

UNIVERSIDAD AUTONOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

**CONCENTRACION DE LA SOLUCION NUTRITIVA
Y FUENTES DE NITROGENO EN EL CULTIVO DE
CRISANTEMO (*Dendranthema x grandiflorum*) EN
UN SISTEMA HIDROPONICO ABIERTO**



DIRECCION ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES

T E S I S
QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS
EN HORTICULTURA

PRESENTA:
JOEL PINEDA PINEDA

Chapingo, México. Diciembre de 1996.

DX85939
- 152099

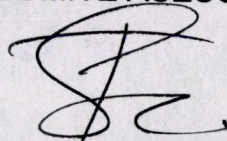


LA PRESENTE TESIS FUE REALIZADA BAJO LA DIRECCION DEL M.C. FELIPE SANCHEZ DEL CASTILLO Y ASESORADA POR LA DRA. MARIA TERESA COLINAS LEON Y EL DR. JAIME SAHAGUN CASTELLANOS; HA SIDO APROBADA Y ACEPTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

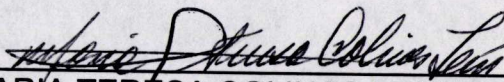
COMITE ASESOR

PRESIDENTE:



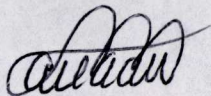
M.C. FELIPE SANCHEZ DEL CASTILLO

SECRETARIO:



DRA. MARIA TERESA COLINAS LEON

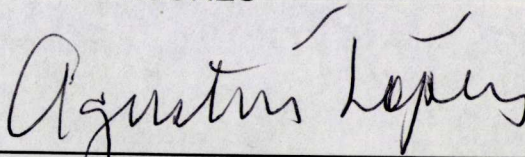
VOCAL:



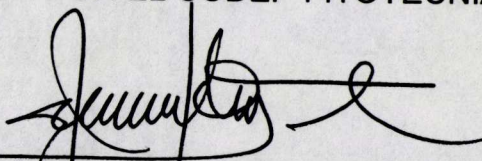
A-30717

DR. JAIME SAHAGUN CASTELLANOS

REVISORES



DR. AGUSTIN LOPEZ HERRERA
REVISOR POR EL CODEP-FITOTECNIA



M.C. EFRAIN CONTRERAS MAGAÑA
REVISOR POR LA COORDINACION GENERAL DE POSGRADO

DEDICATORIA

Con infinito amor a mi esposa *Adriana Marta* y a mi hijo *Oscar Eduardo*

Por la familia que hemos formado, esencia de mi vida

A mis padres: *Cipriano y Maria*

Porque por medio de ellos se me dió la vida
y me han mostrado con su ejemplo como vivirla

A mis hermanos: *Noé, Eva, Abraham y Samuel*

Por el cariño que nos une y enseñarme lo que es la lealtad

A la familia: *Bequena Altmirano*

Con cariño y gran afecto, por el apoyo que me ha brindado

AGRADECIMIENTOS

Al Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autonoma Chapingo por permitirme realizar los estudios de Maestría

Al M.C. Felipe Sánchez del Castillo por la excelente dirección y asesoría en el desarrollo del presente trabajo

A la Dra. Ma. Teresa Colinas León por sus enseñanzas y atinadas sugerencias en esta investigación

Al Dr. Jaime Sahagún Castellanos por sus enseñanzas y acertadas recomendaciones en la conducción del experimento

Al Dr. Agustín López Herrera por el apoyo brindado durante mis estudios y revisión de este trabajo

Al M.C. Efraín Contreras Magaña por la revisión y sugerencias en la presentación de este documento

Al Sr. Antonio Segura por facilitarme equipo y espacio necesario en sus invernaderos para llevar a cabo el experimento

A todos los profesores y generaciones de la Maestría en Horticultura, por llevarla a niveles de excelencia y en especial a los que contribuyeron directamente en mi formación

Al Departamento de Suelos de la Universidad Autonoma Chapingo por hacer posible la realización de mis estudios de maestría

CONTENIDO

	Página
Indice de cuadros	i
Indice de figuras	iv
Indice de fotografías	v
Resumen.....	vi
I. INTRODUCCION	1
II. REVISION BIBLIOGRAFICA	5
2.1. Sistemas de cultivo sin suelo.....	5
2.2. Sustratos de origen volcánico.....	6
2.3. Flujo de nutrimentos a la superficie de las raíces.....	7
2.4. Ruta de entrada de los nutrimentos a la raíz.....	12
2.5. Resistencias al flujo de nutrimentos al interior de la raíz.....	13
2.6. La absorción de nutrimentos por las plantas.....	15
2.6.1. Cinética de la absorción nutrimental controlada por transportadores.....	18
2.6.2. Problemas en la modelación de la absorción nutrimental.....	25
2.6.3. Regulación de la absorción nutrimental por la planta.....	26
2.6.4. Efecto de la concentración en la solución nutritiva sobre la absorción.....	27
2.6.5. Absorción de nutrimentos en solución circulante y en solución estática.....	32
2.6.6. Relación entre absorción, concentración nutrimental y crecimiento.....	32
2.6.7. Respuesta de las plantas a los cambios en el suministro de nutrimentos.....	35
2.7. Fuentes de nitrógeno en hidroponia.....	36
2.8. Absorción de diferentes formas de nitrógeno.....	37
2.8.1. Amonio.....	37
2.8.2. Nitrato.....	37
2.8.3. Urea.....	38
2.8.4. Factores que afectan la absorción del nitrógeno.....	39
2.9. Asimilación del nitrógeno.....	44
2.9.1. Sitios de asimilación.....	44
2.9.2. Amonio.....	46
2.9.3. Nitrato.....	51
2.9.4. Urea.....	54
2.9.5. Factores que afectan la asimilación.....	55
2.10. El papel del NH_3 en el metabolismo de las plantas.....	56
2.11. Efecto del nitrato, amonio y urea en el desarrollo de la planta.....	59

III. OBJETIVOS E HIPOTESIS.....	67
3.1. Objetivos generales.....	67
3.2. Objetivos específicos.....	67
3.3. Hipótesis.....	68
IV. MATERIALES Y METODOS.....	69
4.1. Ubicación del experimento.....	69
4.2. Diseño de tratamientos.....	69
4.3. Diseño experimental.....	70
4.4. Etapas de desarrollo y variables de respuestas evaluadas.....	71
4.5. Instalación y conducción del experimento.....	73
4.5.1. Sustrato empleado.....	73
4.5.2. Riego.....	73
4.5.3. Sistema hidropónico.....	73
4.5.4. Trasplante.....	74
4.5.5. Desbotonamiento.....	74
4.5.6. Control de plagas y enfermedades.....	74
4.6. Análisis de resultados.....	74
V. RESULTADOS Y DISCUSION.....	75
5.1. Efecto de la disminución de concentración de macronutrientes en la solución nutritiva sobre el desarrollo de la planta.....	75
5.1.1. Efecto durante la etapa vegetativa.....	75
5.1.2. Efecto durante la etapa reproductiva I.....	78
5.1.3. Efecto durante la etapa reproductiva II.....	80
5.2. Efecto de la disminución de N, P, ó K en la solución nutritiva sobre el desarrollo de la planta.....	102
5.2.1. Efecto durante la etapa vegetativa.....	102
5.2.2. Efecto durante la etapa reproductiva I.....	104
5.2.3. Efecto durante la etapa reproductiva II.....	108
5.3. Efecto de diferentes fuentes (NO_3^- , urea, NH_4^+) y proporciones (NO_3^- , $\text{NO}_3^-/\text{urea}$, $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$, NH_4^+) de nitrógeno en la solución nutritiva sobre el desarrollo de la planta.....	119
5.3.1. Efecto durante la etapa vegetativa.....	119
5.3.2. Efecto durante la etapa reproductiva I.....	122
5.3.3. Efecto durante la etapa reproductiva II.....	124
VI. CONCLUSIONES.....	146
VII. RECOMENDACIONES.....	147
VIII. BIBLIOGRAFIA.....	148

Índice de cuadros

	Página
Cuadro 1. Coeficientes de difusión (Dj) para algunos nutrimentos	11
Cuadro 2. Cantidades estimadas de nutrimentos suministrados por flujo de masas, difusión e intercepción radical, a las raíces de maíz cultivado en un suelo fértil (% en relación a la cantidad total de nutrimento absorbido)	13
Cuadro 3. Valores de los parámetros de la cinética de absorción para varios nutrimentos y algunos cultivos	22
Cuadro 4. Concentración de nutrimentos normalmente encontrada en la solución de un suelo con buena fertilidad.....	23
Cuadro 5. Concentración (mg L ⁻¹) de nutrimentos en la solución nutritiva usada en los diferentes tratamientos.....	71
Cuadro 6. Prueba de comparación de medias (tukey, $\alpha = 0.05$) de siete variables evaluadas al momento de la suspensión del tratamiento de luz, en plantas que crecieron en una solución nutritiva diluída en macronutrimentos.....	76
Cuadro 7 Prueba de comparación de medias (tukey, $\alpha = 0.05$) de la concentración (%) de algunos nutrimentos en el tejido de las plantas que fueron sometidas a concentraciones diferentes de macronutrimentos en la solución nutritiva.....	77
Cuadro 8. Prueba de comparación de medias (tukey, $\alpha = 0.05$) de algunas características evaluadas durante la aparición visible del 50% del botón floral, en plantas que crecieron en concentraciones diferentes de macronutrimentos en la solución nutritiva.....	79
Cuadro 9. Prueba de comparación de medias (tukey, $\alpha = 0.05$) de la concentración (%) de nutrimentos en el follaje al momento de la aparición visible del 50% del botón floral, en plantas que crecieron en concentraciones diferentes de macronutrimentos en la solución nutritiva.....	80
Cuadro 10. Prueba de comparación de medias (tukey, $\alpha = 0.05$) de algunas características evaluadas al momento de la cosecha, en plantas que crecieron con diferentes niveles de macronutrimentos en la solución nutritiva.....	83
Cuadro 11. Prueba de comparación de medias (tukey, $\alpha = 0.05$) de la concentración (%) de nutrimentos en el follaje al momento de la cosecha, en plantas que crecieron en diferentes niveles de macronutrimentos en la solución nutritiva.....	86

Cuadro 12. Coeficientes de correlación de Pearson entre concentración (%) de nutrimentos en el tejido y algunas variables evaluadas al momento de la cosecha, en plantas que crecieron en diferentes niveles de macronutrimentos en la solución nutritiva (n = 12).....	87
Cuadro 13. Coeficientes de correlación de Pearson entre nutrimentos absorbidos (mg/planta) y algunas variables evaluadas al momento de la cosecha, en plantas que crecieron con diferentes niveles de macronutrimentos en la solución nutritiva (n = 12)	89
Cuadro 14. Coeficientes de correlación de Pearson entre algunas evaluadas al momento de la cosecha, en plantas que crecieron en diferentes niveles de macronutrimentos en la solución nutritiva (n = 16).....	90
Cuadro 15. Prueba de comparación de medias (tukey, $\alpha = 0.05$) de algunas variables evaluadas al momento de la suspensión del tratamiento de luz, en plantas que crecieron en niveles diferentes de N, P ó K en la solución nutritiva.....	102
Cuadro 16. Efecto de la disminución en la concentración de N, P ó K en la solución nutritiva sobre la concentración (%) de nutrimentos en el tejido al momento de la suspensión del tratamiento de luz.....	103
Cuadro 17. Prueba de comparación de medias (tukey, $\alpha = 0.05$) de algunas variables evaluadas al momento de la aparición visible del 50% del botón floral, en plantas que crecieron en diferentes niveles de N, P ó K en la solución nutritiva.....	106
Cuadro 18. Efecto de la disminución en los niveles de N, P ó K en la solución nutritiva sobre la concentración (%) de nutrimentos en el tejido (hojas) al momento de la aparición visible del 50% del botón floral.....	107
Cuadro 19. Prueba de comparación de medias (tukey, $\alpha = 0.05$) de algunas variables evaluadas al momento de la cosecha, en plantas que crecieron con diferentes niveles de N, P ó K en la solución nutritiva.....	109
Cuadro 20. Efecto de la disminución en los niveles de N, P ó K en la solución nutritiva sobre la concentración (%) de nutrimentos en el tejido (hojas) al momento de la cosecha	110
Cuadro 21. Coeficientes de correlación de Pearson entre la concentración (%) de nutrimentos en el tejido (hojas) y algunas variables evaluadas al momento de la cosecha (n=21).....	112
Cuadro 22. Coeficientes de correlación de Pearson entre la cantidad de nutrimentos absorbidos (mg/planta) y algunas variables evaluadas al momento de la cosecha (n=21)	113

Cuadro 23. Prueba de comparación de medias (tukey, $\alpha = 0.05$) de algunas variables evaluadas al momento de la suspensión del tratamiento de luz, en plantas que crecieron con diferente fuente y proporción de N en el medio de nutrición.....	120
Cuadro 24. Prueba de comparación de medias (tukey, $\alpha = 0.05$) de la concentración (%) de algunos nutrimentos en el tejido (hojas) al momento de la suspensión del tratamiento de luz, en plantas que crecieron con diferente fuente y proporción de N en el medio de nutrición.....	121
Cuadro 25. Prueba de comparación de medias (tukey, $\alpha = 0.05$) de algunas variables evaluadas al momento de la aparición visible del 50% del botón floral, en plantas que crecieron con diferente fuente y proporción de nitrógeno en el medio de nutrición.....	123
Cuadro 26. Prueba de comparación de medias (tukey, $\alpha = 0.05$) de la concentración (%) en el follaje de algunos nutrimentos al momento de la aparición visible del 50% del botón floral, en plantas que crecieron en diferente fuente y proporción de nitrógeno en el medio de nutrición.....	124
Cuadro 27. Prueba de comparación de medias (tukey, $\alpha = 0.05$) de algunas variables evaluadas al momento de la cosecha, sobre plantas que crecieron en diferente fuente y proporción de N en el medio de nutrición.....	126
Cuadro 28. Prueba de comparación de medias (tukey, $\alpha = 0.05$) de la concentración (%) en el follaje de algunos nutrimentos al momento de la cosecha, plantas que crecieron con diferente fuente y proporción de N en la solución nutritiva.....	129
Cuadro 29. Coeficientes de correlación de Pearson entre la concentración (%) de nutrimentos en el tejido de la planta y algunas variables evaluadas al momento de la cosecha, en plantas que crecieron con diferente fuente y proporción de N en la solución nutritiva (n=21).....	130
Cuadro 30. Coeficientes de correlación de Pearson entre la cantidad de nutrimentos absorbidos (mg/planta) y algunas variables evaluadas al momento de la cosecha, en plantas que crecieron con diferente fuente y proporción de N en la solución nutritiva (n=21).....	131
Cuadro 31. Coeficientes de correlación de Pearson entre algunas variables evaluadas al momento de la cosecha, en plantas que crecieron con diferente fuente y proporción de N en la solución nutritiva (n = 28).....	131

Índice de figuras

	Página
Figura 1. Relación entre absorción y concentración de nutrimentos de acuerdo al modelo de Michaelis-Menten.....	20
Figura 2. Asimilación del nitrógeno en las plantas por la ruta GS-GOGAT.....	66
Figura 3. Efecto de la disminución en la concentración de macronutrimentos en la solución nutritiva, sobre la altura de planta durante el crecimiento y desarrollo.....	98
Figura 4. Efecto de la disminución en la concentración de macronutrimentos en la solución nutritiva sobre el peso seco de la planta.....	98
Figura 5. Efecto de la disminución en la concentración de macronutrimentos en la solución nutritiva sobre el desarrollo del áreas foliar.....	99
Figura 6. Efecto de la disminución en la concentración de macronutrimentos en la solución nutritiva sobre el peso fresco de la planta.....	99
Figura 7. Efecto de la disminución en la concentración de macronutrimentos en la solución nutritiva, sobre algunas características de la flor.....	100
Figura 8. Efecto de la disminución en la concentración de macronutrimentos en la solución nutritiva, sobre el contenido de humedad de la planta.....	100
Figura 9. Efecto de la concentración de la solución nutritiva sobre la conductividad eléctrica del sustrato (relación 2:1) al final del ciclo del cultivo.....	85
Figura 10. Efecto de la disminución en la concentración de N, P ó K en la solución nutritiva, sobre el peso fresco de la planta.....	117
Figura 11. Efecto de la disminución en la concentración de N, P ó K en la solución nutritiva, sobre el peso seco de la planta.....	117
Figura 12. Efecto de la disminución en la concentración de N, P ó K en la solución nutritiva, sobre el desarrollo de área foliar de la planta.....	118
Figura 13. Efecto de la disminución en la concentración de N, P ó K en la solución nutritiva, sobre algunas características de la flor.....	118
Figura 14. Efecto de la fuente y proporción de nitrógeno sobre la altura de planta durante el crecimiento y desarrollo.....	143

Figura 15. Efecto de la fuente y proporción de nitrógeno sobre el peso fresco de las plantas.....	143
Figura 16. Efecto de la fuente y proporción de nitrógeno sobre la producción de materia seca de las plantas.....	144
Figura 17. Efecto de la fuente y proporción de nitrógeno sobre la expresión de área foliar durante las dos primeras etapas de desarrollo de la planta.....	144
Figura 18. Efecto de la fuente y proporción de nitrógeno sobre algunas características de la flor.....	145
Figura 19. Efecto de la fuente y proporción de nitrógeno sobre el porcentaje de humedad durante el desarrollo de la planta.....	145

Indice de fotografías

Fotografía 1. Diámetro de capítulo de plantas que crecieron con diferentes niveles de macronutrientes en la solución nutritiva.....	101
Fotografía 2. Altura de plantas que crecieron en diferentes niveles de macronutrientes en la solución nutritiva.....	101
Fotografía 3. Capítulos de plantas que crecieron con diferentes niveles de N, P ó K en la solución nutritiva.....	111
Fotografía 4. Diámetro de capítulo de plantas que crecieron con diferentes fuentes y relaciones de N.....	127

RESUMEN

La producción agrícola en México se lleva a cabo bajo una serie de limitantes que en última instancia se traducen en bajos rendimientos. Dentro de las alternativas que pueden ofrecerse a una gran cantidad de productores está la técnica de producción con sistemas hidropónicos bajo sus diferentes modalidades. Los sistemas hidropónicos abiertos ofrecen la ventaja que no requieren de infraestructura cara y se pueden utilizar materiales de la región, como es el caso del cultivo de crisantemo en el área de Texcoco, México, donde se emplea arena y grava de tezontle como sustrato hidropónico con excelentes resultados.

Sin embargo, con ésta técnica de producción el uso indispensable de los fertilizantes incrementa los costos del cultivo, además que con el tiempo las sales que quedan como residuo, disminuyen la vida útil de los sustratos y podrían ser una fuente de contaminación al medio. Ante esta situación, se requiere bajar los costos del sistema por el uso de fertilizantes y efficientizar el uso de los mismos. Por ello, los objetivos de la presente investigación fueron evaluar el efecto que tienen la reducción en concentración de macronutrientes en la solución nutritiva y el uso de diferente fuente y proporción de nitrógeno sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas de crisantemo (*Dendranthema x grandiflorum*) tipo estandar cv Halmark en un sistema hidropónico abierto sin recirculación de la solución.

A partir de la concentración de soluciones nutritivas que se han generalizado en la producción comercial de diferentes cultivos (solución completa, M), se plantearon tres grupos de tratamientos considerando la reducción simultánea al 75%, 50% y 25% de la concentración (Cuadro 5) de todos los macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg, S), así como la disminución al 75% y 50% en N, P ó K. Además, usando la solución completa (M) se probaron como fuente de N al nitrato, amonio y urea; las combinaciones de nitrato/urea y nitrato/amonio fueron de 100/00, 80/20, 50/50 y 00/100.

Los distintos tratamientos fueron aplicados durante todo el ciclo de cultivo (95-100 días), suministrándose la solución nutritiva todos los días (de 9:00 a 16:00 horas

aproximadamente) con un sistema de riego por goteo. La evaluación de las variables de respuesta se efectuó al final de cada una de tres etapas (suspensión del tratamiento de luz, aparición visible del 50% del botón floral y al momento de la cosecha). Para cada grupo de tratamientos se usó un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones. La unidad experimental consistió en dos macetas de 19 L con el sustrato arena de tezontle y 5 plantas por maceta.

Al bajar la concentración simultánea de macronutrientes en la solución nutritiva se encontró que: **a)** Durante la etapa vegetativa (desde trasplante a inducción floral) la reducción al 50% en la concentración de N, P, K, Ca, Mg y S, no produjo disminución significativa en el crecimiento y desarrollo de la planta, pero cuando la reducción en concentración llegó al 75% (25% de M) algunas características como diámetro de tallo, peso fresco y seco de hoja, y peso fresco total disminuyeron significativamente; **b)** Durante la etapa reproductiva I (desde inducción floral hasta la aparición visible del botón floral), algunas características como peso fresco de hoja, tallo y total, peso seco de hoja y área foliar disminuyeron significativamente cuando se usó 50% y 25% de concentración en la solución, mientras que el peso seco de tallo y total solo fueron significativamente inferiores en el tratamiento de 25% de M; **c)** Al momento de la cosecha, con excepción de las características de flor, la mayoría de las variables evaluadas fueron significativamente inferiores sólo en el tratamiento de 25% de M; **d)** No se manifestaron diferencias significativas en las características que determinan la calidad de la flor (peso fresco y seco, diámetro de capítulo, aspecto visual) al bajar la concentración de la solución hasta 25% de M, incluso la altura de tallo y vida en florero aumentaron conforme disminuyó la concentración de la solución, llegando a ser estadísticamente superiores en el tratamiento de 25% de M; **e)** Durante las tres etapas de crecimiento y desarrollo, conforme disminuyó la concentración de la solución nutritiva se encontró menor contenido de nutrientes (N, P, K, Ca y Mg) en el tejido, llegando en algunos casos a ser estadísticamente diferentes entre tratamientos, pero casi nunca llegaron a caer en el rango considerado como deficiente, y **f)** El mayor tiempo de vida en florero tuvo una correlación negativa significativa con el contenido de nutrientes en el tejido, principalmente con N y K.

Al disminuir la concentración de N, P ó K en la solución nutritiva se encontró que: **a)** Durante las tres etapas de crecimiento y desarrollo el efecto de la reducción al 75% y 50% de M fue diferente; el N afectó en menor proporción que el P y K las variables de respuesta evaluadas; **b)** Con excepción del tratamiento de 50% de P que produjo el menor peso seco de flor, la reducción en concentración hasta 50% no afectó negativamente la expresión de la floración, y **c)** El contenido de N, P y K en el tejido nunca llegó a caer en el rango considerado como deficiente, aún en los tratamientos de 50% de M.

El uso de diferentes fuentes y proporciones de nitrógeno produjo los efectos siguientes: **a)** Durante la etapa vegetativa, la relación 50/50 de nitrato/urea y sólo urea propiciaron el mayor desarrollo de la planta, mientras que los tratamientos de sólo nitrato ó amonio el menor desarrollo; **b)** Durante la etapa reproductiva I, el tratamiento de sólo urea y la relación 80/20 de nitrato/urea produjeron los valores más altos en peso fresco y seco de las distintas partes de la planta, mientras que los valores más bajos se encontraron con los tratamientos de sólo nitrato ó amonio; **c)** Al momento de la cosecha los mejores resultados se encontraron con las relaciones 80/20 de nitrato/amonio y nitrato/urea, y 50/50 de nitrato/urea, aunque el tratamiento de sólo nitrato dió resultados satisfactorios; **d)** En el tratamiento de sólo nitrato se encontró el menor contenido nutrimental (N, P, K, Ca, Mg) en el tejido tanto en la etapa vegetativa como reproductiva, así como el mayor tiempo de vida en florero, y **e)** La menor producción con base en peso fresco y seco de hojas tallo y total se encontró en los tratamientos de sólo amonio y la relación 50/50 de nitrato/amonio, mientras que las características de flor (altura de tallo, diámetro de capítulo, peso fresco y seco, vida en florero) sólo fueron significativamente más bajas en el tratamiento de sólo amonio.

SUMMARY

In Mexico agriculture production have several problems that influence low yields generally observed. Open hydroponic systems which have low equipment cost could be used as an alternative in some field conditions. However, fertilizer used in hydroponic increase farming cost and could be a pollution source and decrease the time of substrate used due to residual salts. The objectives of this work were evaluate during growth and development of chrysanthemum (*Dendranthema x grandiflorum*) the effect of low macronutrient concentration in nutrient solution and the use of different ratios and nitrogen source. In an open hydroponic system nutrient solution was added with a dripping irrigation method. Some plant characteristic were measured as a variable responses at the end of vegetative growth, bud flower formation and harvest (plants were grown during 95-100 days). Treatments were arrangement in a randomized completed blocks design with four replications, each of them with ten plants in two pots as experimental unit. Considering nutrient concentration generally used in commercial hydroponic plant growth (standard solution, M) the three groups of treatments designed were: **1)** Simultaneous reduction in 75%, 50% and 25% of macronutrients (N, P, K, Ca, Mg, S). In general, stem diameter, leaf area, fresh and dry weight of leaf, stem and total plant not significantly diminished by concentration reduction in 50% of macronutrients, but concentration reduction until 75% (25% M) affected the most of this characteristics. However, determinant characteristics (flower diameter, fresh and dry weight) of flower quality were not affected, even stem length and flower life were greater and presented negative correlation with tissue nutrient content, especialy N and K but never fall in deficiency range; **2)** Reduction in 75% and 50% of N, P or K of standard nutrient solution. Effect of macronutrients were different, P and K less affected than N during growth and plant development. Flower dry weight was lowest in treatment of 50% P but quality was not affected. N, P and K tissue content never falls in deficiency range not even in treatment of 50% M; **3)** Using nitrate, ammonium and urea as a N source and 100/00, 80/20, 50/50, 00/100 ratios of nitrate/ammonium or Nitrate/urea, during vegetative growth 50/50 ratio of nitrate/urea and solely urea produced the best results whereas nitrate and ammonium the worst; but at harvest time 80/20 ratio of nitrate/ammoium or nitrate/urea and solely nitrate produced better plant growth and solely ammonium treatment affected flower quality (stem length, flower diameter, fresh and dry weight, flower life).

I. INTRODUCCIÓN

Durante las últimas décadas en varias partes del mundo, las necesidades crecientes de alimentos se han satisfecho gracias al avance que se ha logrado en nuevas técnicas de producción. La ingeniería genética, el control de algunos factores ambientales y la nutrición de la planta, han contribuido de manera importante. Sin embargo, esto ha conllevado al uso de diferentes insumos como los pesticidas y fertilizantes, que no siempre se han empleado de manera correcta; de tal manera que se ha quebrantado el equilibrio natural que guardaban las distintas partes del ecosistema, en muchas regiones de la tierra. Al respecto, Kelly (1990) y Vien (1990) señalan que con el nuevo enfoque de producción (producción vegetal sostenida) que se está llevando a cabo en el mundo se requiere minimizar ó incluso eliminar en muchas zonas, el uso de agroquímicos, si se quiere tener éxito en disminuir el impacto negativo sobre el ambiente que generalmente tiene la agricultura convencional.

Se reconoce que para muchas áreas del mundo existen fuertes limitantes para el desarrollo de una agricultura a cielo abierto. Para México por ejemplo, se presentan problemas por falta de agua en una gran superficie cultivable del territorio nacional (distritos de temporal); fenómenos meteorológicos adversos (heladas tempranas y tardías, granizadas, sequía intraestival); alrededor del 65% del territorio nacional tiene topografía accidentada, lo que limita muchas prácticas agrícolas; las unidades de producción están muy fragmentadas (tenencia ejidal y minifundio) y por lo general son de baja fertilidad; en lugares donde se cuenta con agua (distritos de riego) hay problemas de salinidad; entre otros. Ante ésta situación, se requieren técnicas especiales de producción de cultivos que sean una alternativa viable; el uso de acolchados, microtúneles e invernaderos, a los que se puede acoplar los sistemas hidropónicos pueden ser la solución para muchas de éstas condiciones (Sánchez, 1991); lo que necesariamente requiere el uso de fertilizantes.

Es conveniente señalar que a través del desarrollo del cultivo en hidroponia, la concentración de nutrimentos de las soluciones nutritivas que se ha generalizado, es varias veces superior a la concentración que normalmente se encuentra en la solución

de un suelo fértil (que es suficiente para alcanzar un crecimiento y rendimiento óptimo del cultivo). Esto obedece a varias razones (Asher y Edwards, FAO, 1990; 1982; Resh, 1993): **a)** Debe asegurarse las necesidades nutritivas del cultivos sin que lleguen a presentarse deficiencias durante alguna parte de su desarrollo, ya que los sustratos que se emplean normalmente no tienen capacidad de intercambio iónico que reabastezca a la solución como ocurre en el suelo; **b)** A las características del sistema hidropónico empleado; **c)** De las condiciones climáticas, y **d)** Al reuso de la solución durante varios días (2 - 3 semanas). El tiempo de reuso de una solución no puede prolongarse por mucho tiempo ya que se pierde la relación adecuada entre nutrimentos (algunos se diluyen mientras que otros se concentran) por efecto de la absorción diferencial que se da por las raíces de las plantas y a fuentes extra que provienen de la misma agua empleada, del sistema de riego ó como impurezas en los fertilizantes (Resh, 1993; Sánchez y Escalante, 1989).

Durante varios años de investigación en la UACH, se ha desarrollado un sistema hidropónico abierto que ofrece varias ventajas sobre los sistemas cerrados tradicionalmente empleados. Los grandes depósitos, tinas impermeables, equipos poderosos de bombeo para la recirculación de la solución y el análisis químico de la solución, ya no son necesarios, por lo que disminuyen los costos de infraestructura y facilita el manejo del sistema, lo que los hace más accesibles. Sin embargo, su costo de operación es elevado sobre todo por el mayor gasto de fertilizante para preparar la solución nutritiva. Esta situación se traduce en un aumento en el costo de producción del cultivo, sobre todo considerando que los fertilizantes usados en la hidroponia son por lo general de los más caros. Se ha estimado que para un sistema hidropónico abierto se gastan en promedio $6 \text{ L m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ de solución nutritiva, con un costo promedio de \$8.50 pesos por m^3 de solución. Si se consideran $7,000 \text{ m}^2$ de área útil en una hectárea de cultivo hidropónico con un ciclo de cultivo de 100 días, el costo por uso de fertilizante sería de \$35,700 pesos, lo que sumado a los costos de infraestructura, equipo y operación del sistema resulta muy caro para que sea fácilmente aceptado por muchos productores. Así, para que los sistemas hidropónicos puedan ser usados donde

técnicamente es posible, se requiere solucionar algunas limitantes que en muchos casos han impedido su aceptación. Para ello se requiere:

a) Desarrollar sistemas hidropónicos de producción que no requieran de una infraestructura cara, sofisticada e inaccesible al productor convencional (como sucede con muchos sistemas cerrados donde se recircula la solución). Se pueden aprovechar los recursos disponibles en cada región para bajar los costos; **b)** Reducir el costo por uso de fertilizantes, sobre todo el de las fuentes de nitrógeno (nitratos) y potasio como el $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, KNO_3 y K_2SO_4 ; **c)** Disminuir los problemas de acumulación de sales (efectos osmóticos y tóxicos) en el medio de nutrición que normalmente trae consigo la recirculación de soluciones nutritivas a través del tiempo, lo que ayudaría a aumentar la vida útil de los sustratos empleados; **d)** Disminuir la cantidad de iones que se pierden en el agua de drenaje, especialmente los NO_3^- , que es el principal contaminante que se ha encontrado en áreas agrícolas con uso de fertilizantes durante mucho tiempo (Kelly, 1990; Vien, 1990); **e)** Reducir la cantidad de NO_3^- que se encuentran en el tejido vegetal. Al respecto, se ha comprobado que los cultivos que se nutren con sólo NO_3^- como fuente de nitrógeno, acumulan una gran cantidad de NO_3^- en el tejido, los cuales se han relacionado con enfermedades como la metahemoglobinemia y aumento en nitrosaminas en el aparato digestivo (sustancias que son cancerígenas), cuando se consumen esos vegetales (Gunes *et al.* 1994; Pilmeam y Kirkby, 1990); **f)** Evaluar en los diferentes cultivos que pueden establecerse en sistemas hidropónicos, la capacidad de adaptación o tolerancia a diferentes fuentes y relaciones entre fuentes de nitrógeno, que son más baratas en el mercado.

En la investigación con sistemas hidropónicos cerrados (Asher y Edwards, 1982; Adams, 1992) donde hay circulación constante de la solución nutritiva a través de la zona de raíces, se ha encontrado que es posible utilizar soluciones con concentraciones de nutrimentos muy inferiores a la de una solución hidropónica estándar sin que se produzcan efectos negativos sobre el rendimiento de las plantas, pero falta información sobre la respuesta de las plantas a bajas concentraciones de nutrimentos, con sistemas hidropónicos abiertos. Respecto al efecto de diferentes fuentes de nitrógeno sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas en condiciones hidropónicas, la mayoría de los

estudios se han enfocado a evaluar diferentes relaciones $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$, se ha trabajado poco con urea y otras fuentes. Además, falta conocimiento de la nutrición con NH_4^+ y urea para condiciones de alta luminosidad y temperaturas como las que se tienen en México, ya que la mayor parte de la información ha sido generada en otras partes del mundo para condiciones de poca luminosidad y bajas temperaturas.

Con base en lo anterior, en la presente investigación se evaluaron algunos tratamientos para determinar hasta qué punto se puede bajar la concentración de la solución nutritiva, si se pueden usar fuentes de nitrógeno diferentes al NO_3^- (al menos en cierta proporción) sin afectar el crecimiento y desarrollo del cultivo de crisantemo, usando un sistema hidropónico abierto sin recirculación de la solución; el cual de hecho ya se ha estado manejando por algunos productores y es factible de establecerse en muchas áreas de nuestro país con buena rentabilidad económica. Como lo mencionan Kimberly y Nelson (1992), Wild *et al.*, (1987) y Willits *et al.*, (1992) si se puede conocer la relación entre la tasa de crecimiento y la concentración de nutrimentos en la solución nutritiva, será entonces posible diseñar los sistemas que liberen a la zona radicular sólo la cantidad de nutrimentos necesarios para cada etapa del crecimiento y desarrollo sin que se presenten deficiencias nutrimentales, lo que minimizará el potencial de contaminación al medio, disminuirá el costo por uso de fertilizantes y aumentará la eficiencia de los mismos.

II. REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1. Sistemas de cultivo sin suelo

La producción de cultivo sin suelo se divide en cultivo en agua o hidroponia y cultivo en sustratos ya sea orgánicos o inorgánicos (FAO, 1990). En cualquier caso se hace uso de una solución nutritiva. Sin embargo, no siempre existe claridad en los términos usados y con frecuencia se considera dentro de la hidroponia al cultivo en arena, en grava, etc., e incluso hasta se ha tomado el término hidroponia como sinónimo de cultivo sin suelo (FAO, 1990; Resh, 1993).

Autores como Steiner (1976) y Davtyan (1980), se refieren al cultivo sin suelo como a la hidroponia, lo que incluye al desarrollo de plantas en sustratos inorgánicos, excluyendo a los sustratos orgánicos. Por su parte Jensen y Collins (1985) incluyen sustratos orgánicos e inorgánicos como medio para los sistemas hidropónicos en agregado.

Como es evidente no existe un acuerdo sobre lo que se debe definir como cultivo sin suelo o en que magnitud el término hidroponia puede ser igual a cultivo sin suelo. Por lo tanto FAO (1990), propone la siguiente terminología:

- a) El término "hidroponia" que originalmente se refería solo al cultivo en agua, de manera general puede ampliarse para incluir el cultivo en sustratos inertes.
- b) El término "cultivo sin suelo" debe aplicarse a cualquier sistema de producción de cultivos que no se basa en el suelo como medio de enraizamiento; así, aunque los sustratos orgánicos naturales no son inertes pueden ser incluidos. En esta base, el "cultivo sin suelo" es el término mas amplio abarcando tanto a la hidroponia como al uso de sustratos orgánicos naturales.

El término "sustrato" denota un medio sólido de enraizamiento diferente al suelo y se ha escogido en lugar de "agregado" porque tiene una aplicación mas amplia, aunque éste último frecuentemente es el término que se encuentra en la literatura. El término agregado es mas conveniente para sustratos inorgánicos naturales como arenas, gravas, etc., y puede ser extendido a otros materiales inertes como perlita, vermiculita, arcillas quemadas y escoria de hulla de hornos, pero es totalmente inapropiado para sustratos orgánicos

naturales tales como peat moss, aserrín o corteza de árbol. Los diferentes sistemas de cultivo sin suelo pueden subdividirse a su vez, de acuerdo al manejo de la solución nutritiva. Cuando el exceso de solución fluye libremente al drenaje son sistemas abiertos y cuando hay recirculación de solución el sistema es cerrado (FAO, 1990)

Como resultado de la absorción diferencial de los nutrimentos, en los sistemas cerrados la composición de la solución nutritiva esta cambiando constantemente, por esta razón algunos elementos se vuelven mas pronto deficientes que otros, lo que puede determinarse por análisis químicos. Sin embargo la mayoría de las veces no existen las condiciones para efectuar tales análisis, por lo que lo mas seguro para evitar desbalances nutrimentales es cambiarla periódicamente. En sistemas cíclicos (cerrados) en los cuales la solución nutritiva es recirculada, la vida promedio es de 2-3 semanas, dependiendo de las condiciones ambientales (temperatura, humedad, intensidad luminosa), época del año, naturaleza y etapa de desarrollo del cultivo. Durante el verano y cultivos de alto rendimiento, la solución tiene que renovarse cada semana (Resh, 1993).

Aun cuando en los cultivos puede conocerse la proporción entre elementos que es absorbida y en consecuencia aplicarse esas cantidades a la solución nutritiva para compensar la absorción, el uso por largos periodos de la misma solución puede resultar en la acumulación de cantidades tóxicas de metales como zinc, cobre, etc., que provienen de los sistemas de bombeo, impurezas de fertilizantes o de la propia agua. El tiempo de uso de una solución depende principalmente de la velocidad de acumulación de iones extra que no son utilizados por la planta o son usados en muy poca cantidad, razón por la que se recomienda utilizar agua libre de sales (Sánchez y Escalante, 1989; Resh, 1993). La concentración total de elementos debe estar entre 1000 a 1500 mg L⁻¹, lo que correspondería a una conductividad eléctrica de 1.5 a 3.5 mmhos/cm dependiendo del tipo de sal (fertilizante) que se use para proporcionar los nutrimentos (Resh, 1993).

2.2. Sustratos de origen volcánico

Las principales propiedades físicas de un sustrato desde el punto de vista de su uso en hidroponia son el tamaño de partícula, estabilidad, densidad real y aparente, capacidad de

retención de agua y máxima capacidad hídrica. Los materiales volcánicos han sido clasificados como sustratos naturales, porosos y sin capacidad de intercambio iónico. La máxima capacidad hídrica es un concepto similar a la porosidad total usada en los suelos, la diferencia es que en los suelos se refiere al volumen de poros y en hidroponia se habla de cantidad total de agua. La determinación se lleva a cabo inundando un volumen conocido de sustrato por lo menos 4 horas para llenar todos los espacios. Normalmente la capacidad de retención de agua de los materiales volcánicos es de 18 a 19 % (v/v). Sin embargo, puede variar de acuerdo con la granulometría, aumenta conforme el tamaño de partícula es mas pequeña, ya que se incrementa la microporosidad, pero con partículas muy finas puede ocurrir asfixia a las raíces. Un buen sustrato en hidroponia debe tener el 50% (v/v) de su porosidad total como microporosidad (capacidad de retención de agua). Sin embargo se ha demostrado que en el cultivo del tomate en condiciones de invernadero, con 18.6% (v/v) de agua retenida en el sustrato, se obtuvieron buenos rendimientos con solo un riego diario, sin existir diferencia significativa entre rendimientos cuando se aplicaron 2, 3 y 4 riegos diarios (Luque, 1981).

2.3. Flujo de nutrimentos a la superficie de las raíces

La absorción de nutrimentos por las plantas depende de la concentración de los iones en la superficie de la raíz, de la capacidad de absorción por la raíz, naturaleza del nutrimento, contenido de humedad en el medio, y de la demanda por la planta. El proceso completo involucra varias etapas interconectadas que ocurren al mismo tiempo, tales como liberación de nutrimentos a la solución, transporte hacia la superficie de la raíz, absorción por las células de la raíz, translocación y utilización por la planta. Esto significa que la velocidad de cambio en alguna etapa influirá en todo el proceso. De esta manera, la etapa mas lenta se convertirá en el factor limitante en la absorción nutrimental (Fageria *et al.*, 1991; Glass, 1990; Marschner, 1986; Mengel y Kirkby 1987; Tisdale *et al.*, 1993).

En el proceso de absorción, el primer paso es el transporte de los nutrimentos a la cercanía de la raíz y la concentración que se alcance en la superficie es la mejor medida de disponibilidad para la absorción. Existen varios mecanismos que acercan los

nutrimentos a la superficie de la raíz para que puedan ser absorbidos. Dichos mecanismos son: Flujo de masas, difusión, e intercepción radical-intercambio por contacto. Dependiendo de las condiciones del medio y de las características del ion, será la contribución al proceso por el cual se mueva el nutriente (Barber, 1984; Fageria *et al.*, 1991; Marschner, 1986; Tisdale *et al.*, 1993).

a) Flujo de masas. El flujo de masas es un transporte pasivo (movimiento convectivo) de nutrientes hacia la raíz con el agua del medio conforme esta es absorbida y transpirada por la planta (Fageria *et al.*, 1991). La fuerza que dirige el flujo de masas (agua+iones) hacia la raíz, es el gradiente de potencial hídrico que se establece por la pérdida de agua de la transpiración de la planta (Flujo de agua del suelo hacia la atmósfera a través de la planta). Dependiendo de la cantidad de agua transpirada y de la concentración de la solución, serán las cantidades de nutrientes que se pongan en contacto con la superficie de la raíz (Glass, 1990; Fageria *et al.*, 1991; Mengel y Kirkby 1987; Tisdale, *et al.*, 1993). Por lo tanto, el flujo de solutos (J_s , $\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) a la superficie de la raíz está dado por la ecuación:

$$J_s = J_v C_e \dots\dots\dots 1$$

donde J_v = Flujo convectivo hacia la raíz ($\text{m}^3\text{m}^{-2}\text{s}^{-1} = \text{m s}^{-1}$) y

C_e = Concentración de un ion en particular (mol m^{-3})

En el Cuadro 2 se puede apreciar que el flujo de masas, con excepción del P, K y Mn, es el principal mecanismo que acerca los nutrientes a la raíz, cuando no existen limitantes de nutrientes en la solución del suelo.

Cuando las velocidades de transpiración son bajas o la concentración de la solución es diluída, el flujo de solutos hacia la superficie de la raíz contribuye con muy poco en la distribución de los iones. Bajo tales circunstancias se crean zonas de agotamiento alrededor de la superficie de la raíz y el movimiento de los iones se da entonces por difusión o intercepción radical (Barber, 1984b; Glass, 1990; Tisdale *et al.*, 1993).

b) Difusión. La difusión es un proceso espontáneo que conduce a un movimiento neto de una sustancia de una región de alta concentración a otra región donde la sustancia tiene una menor concentración (Fageria *et al.*, 1991; Nobel, 1991; Tisdale *et al.*, 1993). La

difusión resulta del movimiento térmico al azar de las moléculas de soluto y solvente en una solución o de los gases en el caso del aire. El movimiento neto de las sustancias resulta de la existencia de una mayor probabilidad de movimiento de una zona de alta a baja concentración (Barber, 1984a; Nobel, 1991; Tisdale *et al.*, 1993).

Para expresar cuantitativamente la difusión, se puede considerar que el flujo difusivo o densidad de flujo (J), involucra el movimiento de una sustancia a través de un plano o área por unidad de tiempo ($\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) (Nobel, 1991). La fuerza que produce el movimiento es el gradiente de concentración. Un gradiente indica como cambia un cierto parámetro (en éste caso la concentración) con la distancia (Fageria *et al.*, 1991; Nobel, 1991). El gradiente de concentración de una especie j en la dirección x se representa por dc_j/dx . En general la fuerza que dirige la difusión en una dimensión es el gradiente negativo de concentración de la especie j y se representa por $-dc_j/dx$, donde el signo negativo significa que la difusión ocurrirá hacia las zonas de baja concentración (Nobel, 1991). La relación que muestra la dependencia entre densidad de flujo (J , $\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) y gradiente de concentración es la siguiente:

$$J = -D_j(dc_j/dx) \dots\dots\dots 2$$

expresión que es conocida como la primer ley de Fick, donde D_j (m^2s^{-1}) es el coeficiente de difusión de la especie j en un medio homogéneo, c_j es la concentración en mol m^{-3} . La ecuación 2 ha sido ampliamente demostrada experimentalmente (Barber, 1984; Fageria *et al.*, 1991; Nobel, 1991; Mengel, 1985).

La difusión en una solución es importante para el movimiento de los solutos a través de las células y tejidos. Sin embargo podemos preguntarnos ¿Que tan rápido es este proceso? Por ejemplo, si liberamos cierta cantidad de un material en punto, que tanto tiempo tomará detectar esa sustancia a varias distancias? Para contestar esta pregunta se requiere determinar la dependencia de la concentración tanto con el tiempo como con la distancia. En la estimación de que tan lejos difunden las moléculas a través del tiempo, se ha desarrollado (Nobel, 1991) una relación que es muy importante para calcular dicha distancia de difusión:

$$x_e^2 = 4D_j t_e \dots\dots\dots 3$$

De acuerdo con la ecuación 3, la distancia de difusión (x_e) de una población de moléculas de una especie en particular es proporcional a la raíz cuadrada del coeficiente de difusión de la especie (D_j) y al tiempo (t_e) de difusión. En otras palabras, el tiempo de difusión a una distancia dada se incrementa con el cuadrado de la distancia (Nobel, 1991).

Para ilustrar las consecuencias tiempo-distancia de la ecuación 3, se puede considerar cuantitativamente la difusión de moléculas pequeñas en una solución acuosa. Que tiempo (t_e) en promedio podría tomar un soluto pequeño con un D_j de $1 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ para difundir $50 \mu\text{m}$, la distancia a través de una célula?

$$t_e = \frac{(50 \times 10^{-6} \text{ m})^2}{(4)(10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1})} = 0.6 \text{ s}$$

Así, la difusión es un proceso bastante rápido en las distancias subcelulares. Si se considera la difusión de la misma sustancia sobre la distancia de 1 m, el tiempo requerido sería:

$$t_e = \frac{(1 \text{ m})^2}{(4)(10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1})} = 2.5 \times 10^8 \text{ s} = 8 \text{ años}$$

lo que demuestra que la difusión no es un proceso rápido a grandes distancias. Así, los nutrientes inorgánicos en la savia del xilema no ascenderán por difusión a una velocidad suficiente para sostener el crecimiento. La difusión es adecuada para mover solutos dentro de las células y especialmente dentro de organelos. En resumen la difusión es bastante rápida en distancias cortas (menos de $100 \mu\text{m}$) pero extremadamente lenta a grandes distancias (Nobel, 1991).

En la célula la corriente citoplásmica (ciclosis) es más rápida que la difusión. Aunque la relación entre los D_j y los pesos moleculares puede ser compleja, especialmente en solución, moléculas con altos pesos moleculares tienden a un bajo coeficiente de difusión (D_j), el cual depende inversamente de la viscosidad del medio (Nobel, 1991).

La distancia para el movimiento difusivo de los nutrientes en solución hacia la superficie de la raíz usualmente esta en el rango de 0.1 a 15 mm, aunque valores alrededor de 3 mm son comunes (Barber, 1984a, 1984b), de aquí que solo los nutrientes que se

encuentren dentro de esta zona participarán en el movimiento por difusión hacia la raíz (Fageria *et al.* 1991); que según la ecuación 3, el tiempo que tardaría un nutrimento como el P en ponerse en contacto con la raíz si consideramos la difusión en 3 mm y un D_j de 1×10^{-9} , sería de 2250 s ó 37.5 min ó 0.625 hrs.

En el Cuadro 1 donde se muestran los coeficientes de difusión, se puede notar que los valores mas pequeños son para el P y K, lo que corresponde con las estimaciones reportadas en el Cuadro 2, donde estos nutrimentos se mueven básicamente por difusión hacia la superficie de la raíz.

Cuadro 1. Coeficientes de difusión (D_j) para algunos nutrimentos

Nutrimento	Coeficiente de difusión, D_j ($m^2 s^{-1}$)
NO_3^-	1×10^{-6} (Nye, 1969; citado por Barber, 1984b) 10^{-6} - 10^{-7} (Barber, 1984b)
NH_4^+	1.4×10^{-6} (Husted and Low, 1954; citados por Fageria <i>et al.</i> , 1991)
$H_2PO_4^-$	2.4×10^{-11} (Vasey and Barber, 1963; citados por Glass, 1990) 10^{-8} - 10^{-11} (Barber, 1984b)
K^+	1.9×10^{-9} (Nobel, 1991) 1.4×10^{-6} (Husted and Low, 1954; citados por Fageria <i>et al.</i> , 1991) 10^{-7} - 10^{-8} (Barber, 1984b) 2.1 - 9.5×10^{-7} (Baligar, 1984)
Ca^{2+}	1.2×10^{-9} (Nobel, 1991) 0.9 - 4.0×10^{-7} (Baligar, 1984) 3×10^{-7} (Spiegler and Coryell, 1953; Citados por Fageria <i>et al.</i> , 1991)
Mg^{2+}	0.6 - 11.5×10^{-7} (Baligar, 1984)
MoO_4^{2-}	0.5 - 8.4×10^{-7} (Lavy and Barber, 1964; citados por Barber, 1984b)
Cl^-	1.2×10^{-6} (Dutt y Low, 1962; citado por Fageria <i>et al.</i> , 1991)
CO_2	1.7×10^{-9} (Nobel, 1991)

Cuando un ion en la solución está diluido y su difusión es lenta, su concentración en la superficie de la raíz puede ser reducida muy rápidamente (en espacio de unas pocas horas) a casi cero si la demanda de la planta es alta (Fageria *et al.* 1991). En el proceso de difusión están involucrados factores del medio de crecimiento y de la planta, la ecuación 4 ilustra los factores que son más importantes en la determinación de la

velocidad a la cual los nutrimentos difunden hacia la superficie de la raíz (Fageria *et al.*, 1991):

$$dq/dt = DAP(C_1 - C_2/L) \dots\dots\dots 4$$

donde dq/dt representa la velocidad de difusión a la superficie de la raíz; D es el coeficiente de difusión del nutrimento en agua; A es la sección de área considerada y puede asumirse que representa la superficie total absorbente de las raíces de la planta; P es la fracción de volumen ocupada por agua en el medio de desarrollo de las raíces; C_1 es la concentración del nutrimento soluble a la distancia L de la superficie de la raíz y C_2 es la concentración de nutrimento soluble en la superficie de las raíces.

c) Intercepción radical-intercambio por contacto. Conforme las raíces van creciendo se ponen en contacto con mayor volumen de suelo empujando las partículas hacia los lados de la raíz alcanzando directamente los nutrimentos, los cuales pueden ser absorbidos (Fageria *et al.*, 1991). De acuerdo con el área superficial del volumen de raíces, la concentración de los nutrimentos y el volumen explorado en el medio de crecimiento, la intercepción radical-intercambio por contacto, contribuye con alrededor del 1% de los nutrimentos que son absorbidos (Barber, 1984b; Fageria *et al.*, 1991; Glass, 1990); pero cuando el suministro por flujo de masas y difusión se vuelve limitante las plantas adoptan una variedad de estrategias para optimizar la adquisición de nutrimentos y es muy probable que bajo estas condiciones la intercepción radical se incremente (Glass, 1990). En el Cuadro 2 se observa que la intercepción podría suministrar todo el Ca^{2+} , y una parte importante de Mg^{2+} , Zn^{2+} y Mn^{2+} (Barber, 1984b; Fageria *et al.*, 1991; Tisdale *et al.*, 1993).

2.4. Ruta de entrada de los nutrimentos a la raíz

Para que los nutrimentos alcancen el xilema por donde se distribuirán en toda la planta, requieren primero entrar a la raíz. Existen dos rutas básicas de penetración: **a)** Entrada vía simplasto y **b)** Entrada vía apoplasto. Por la ruta simplástica, la penetración de la membrana se da desde la epidermis, normalmente por los pelos radicales. Una vez que

los iones están en el citoplasma se mueven por los plasmodesmos entre células hasta llegar a las células de la estela que rodean al xilema, donde tienen que salir para entrar al xilema. En la ruta apoplástica, los iones se mueven entre los espacios de las paredes celulares hasta que llegan a la endodermis, donde debido al obstáculo que ofrece la banda de caspari, tienen que atravesar la membrana de las células para seguir su movimiento vía simplasto ó pueden retornar a la vía apoplástica hasta llegar al xilema (Clarkson, 1988; Fageria *et al.*, 1991; Marschner, 1986).

Cuadro 2. Cantidades estimadas de nutrimentos suministrados por flujo de masas, difusión e intercepción radical, a las raíces de maíz cultivado en un suelo fértil (% en base a la cantidad total de nutrimento absorbido).

NUTRIMENTO	FLUJO DE MASAS	DIFUSION	INTERCEPCION RADICAL
Nitrógeno	79	20	1
Fósforo	5	93	2
Potasio	18	80	2
Calcio	375	0	150
Magnesio	222	0	33
Azufre	295	0	5
Hierro	66	21	13
Zinc	230	0	43
Manganeso	22	35	43
Cobre	219	0	6
Boro	1000	29	29

Adaptado de Barber, (1984b); Fageria *et al.*, (1991); Tisdale *et al.*, (1993)

2.5. Resistencias al flujo de nutrimentos al interior de la raíz

Las superficies de las raíces no están completamente desnudas. Una pared celular porosa esconde relativamente el acceso a los protoplastos de la solución exterior. Intervienen varios tipos de barreras (Clarkson, 1988).

a) Mucigel. La superficie de la epidermis esta usualmente revestida con un gel que esta compuesto por polisacáridos y ácido poliurónico (Marschner, 1991) conocido como mucigel, el cual se origina tanto de la planta como de los microorganismos (Foster, 1981).

Las fisuras y grietas que ocurren de manera natural deben ser la ruta de menor resistencia para la difusión y flujo de masas de los iones y debe representar sitios preferentes de entrada. También la superficie de los pelos radicales esta cubierta por mucigel (Clarkson, 1988). Sin embargo, Marschner (1991) menciona que la presencia de mucigel podría ayudar al movimiento de micronutrientes hacia la superficie de la raíz por medio de la formación de complejos mucigel-micronutriente cuando en el medio existen deficiencias.

b) Capas sin agitar. Todas las partes de la superficie de la raíz están rodeadas por una capa de solución sin agitar. El grosor de esta capa varía de 10 a 100 μM para raíces en solución circulante y es muy probable que sea mayor en soluciones estáticas, quizás mayor que las dimensiones de una célula de la epidermis. La difusión de los iones a través de esta capa limitará la velocidad a la cual pueden ser absorbidos de la solución externa (Pitman, 1982, citado por Clarkson, 1988).

c) Poros de la pared celular. Una vez que los iones han vencido las barreras de la superficie se mueven directamente por la pared celular hasta llegar a la membrana donde pueden encontrar un sitio en un transportador de membrana o pueden moverse en el mismo plano de paredes celulares a través de los poros por un flujo de masas, normalmente dirigido por la transpiración, hasta llegar a la endodermis. Los poros son formados por intersticios entre las microfibrillas de celulosa las cuales se acomodan formando poros tortuosos en tres dimensiones, de tal manera que el movimiento de una célula a otra a través del poro no es lineal. Las dimensiones de los poros se calcula alrededor de 3.5 μm . Además la superficie de la pared tiene una capacidad de intercambio de cationes por lo que los cationes son adsorbidos y se mueven en función de un proceso dinámico de adsorción-desorción hasta llegar a la endodermis (Clarkson, 1988).

d) La endodermis. En la capa de células de la endodermis, se encuentra la banda de Caspari, la cual consiste en una acumulación (de suberina, lignina o precursores de la lignina) en los espacios interfibrilares de los componentes de la pared, los cuales son de naturaleza hidrofóbica y crean una fuerte resistencia al movimiento de materiales a través de la pared, por lo que para seguir el movimiento los iones tienen que atravesar la membrana (Clarkson, 1988). La banda de Caspari aparece cuando se da la maduración

del protoxilema, lo que involucra la muerte de los protoplastos y evidentemente la pérdida de selectividad sobre lo que puede entrar hacia el lumen. Así, la formación de xilema hace imperativo la introducción de una barrera en el apoplasto, de otra manera, la solución del medio de nutrición casi sin modificar, con sus relaciones incorrectas de iones, toxinas y materiales en suspensión podrían llegar hasta los vasos del xilema por el flujo de agua que se establece con la transpiración. En esencia la selectividad que tenían las células que se diferencian en xilema se transfiere a la endodermis (Clarkson, 1988; Marschner, 1986).

5) Exodermis. Aunque no ha sido bien establecida para todas las raíces de las plantas, se ha identificado otra capa similar a la endodermis que se encuentra en la capa de células inmediatamente después de la epidermis. A esta capa se le llama exodermis y puede tener efectos importantes en la absorción nutrimental sobre todo conforme las células maduran que es cuando se forma. Esto hace que aumente el número de barreras a la entrada de iones a la raíz (Clarkson, 1988; Moller, 1993; Pitman, 1988).

2.6. La absorción de nutrimentos por las plantas

Durante varios años se ha trabajado bastante en el estudio de la absorción de nutrimentos pero todavía no se entiende totalmente el proceso. La absorción de nutrimentos puede ser pasiva o activa. En el proceso pasivo los iones se mueven de una zona de alta a baja concentración o a favor de un gradiente químico o energía potencial. En el caso de la absorción activa los iones se mueven en contra de un gradiente de concentración y el movimiento de los iones depende de un gradiente de potencial electroquímico. En el proceso activo los cationes son atraídos hacia el electropotencial negativo, mientras que los aniones son atraídos hacia el electropotencial positivo (Fageria *et al.*, 1991).

Las concentraciones de iones en el citoplasma a menudo son mucho mas altas que las concentraciones en la solución externa, en casos extremos hasta 10,000 veces mas. Por lo tanto las raíces deben ser capaces de absorber los iones en contra de un gradiente electroquímico. Esta absorción requiere de energía metabólica y el proceso es

comunmente llamado absorción activa. (Marschner, 1986; Mengel y Kirkby, 1987; Fageria *et al.*, 1991).

Los potenciales electroquímicos son establecidos a través de las membranas por una distribución desigual de carga. La diferencia entre el potencial de membrana y el potencial actual creado por la distribución en desequilibrio es una medida de la cantidad de energía requerida (Fageria *et al.*, 1991). La ecuación de Nerst modificada puede ser usada para calcular la carga eléctrica (Ting, 1982):

$$Y = RT/ZF(\ln a_i/a_o) \dots\dots\dots 4$$

donde Y es el potencial electroquímico entre las células de la raíz y la solución externa en milivolts (mV); R es la constante de los gases ($8.3 \text{ J mol}^{-1} \text{ }^{\circ}\text{K}^{-1}$); T es la temperatura absoluta ($^{\circ}\text{K}$); Z es la carga neta del ion (adimensional); F la constante de Faraday (96400 J mol^{-1}); a_i la actividad del ion dentro del tejido y a_o la actividad fuera del tejido.

Determinaciones del potencial electroquímico en la célula y en la solución externa y de la concentración del ion en la célula y en la solución externa, pueden indicar si los iones se mueven activa o pasivamente. Los valores de estas determinaciones se ponen en la ecuación 4 para calcular el potencial eléctrico. Para los cationes, un valor negativo de Y indica absorción pasiva y un valor positivo indica absorción activa. Para los aniones, valores negativos indican transporte activo y valores positivos indican transporte pasivo (Glass, 1990; Mengel y Kirkby, 1987)

Las medidas anteriores son válidas solamente cuando se mantienen las condiciones de equilibrio en el sistema, lo que es difícil en condiciones prácticas. La diferencia en potencial eléctrico a través de la membrana es de -60 a -200 mV (citoplasma negativo) (Fageria *et al.*, 1991).

En la actualidad, existen dos teorías principales para explicar el transporte a través de las membranas: Teoría del transportador y teoría de la bomba de iones. El término transportador se refiere a un agente responsable de llevar iones de un lado a otro de las membranas. Tienen propiedades similares a las de las enzimas, aunque a diferencia de estas, no se han aislado y caracterizado totalmente. En el proceso, haciendo uso de energía como ATP, el transportador se une a un ion en particular para el cual tiene

afinidad, formando un complejo que se mueve a través de la membrana, introduciendo hacia el citoplasma nutrientes de la solución externa (Marschner, 1986; Mengel y Kirkby, 1987). La teoría de la bomba de iones fue propuesta inicialmente por Hodges (1973), quien supuso la intervención de una ATPasa para el transporte de cationes. Posteriormente Marschner (1986), redefinió la acción de bombas con el modelo de la bomba electrogénica para explicar el transporte tanto de cationes como de aniones.

Existen evidencias de que esta bomba funciona por la creación de gradientes electroquímicos (diferencias en pH) a través de las membranas, los cuales se establecen usando la energía del ATP, de esta manera se favorece el transporte de cationes y aniones a través de las membranas (en la epidermis, en la endodermis o en cualquier célula) (Marschner, 1986; Nobel, 1991).

En este proceso intervienen transportadores específicos (proteínas) con uno o mas sitios de unión que difunden de un lado al otro de la membrana para transportar los nutrientes (Clarkson, 1988; Nobel, 1991; Marschner, 1986); o se puede dar por canales o poros a través de las proteínas intrínsecas de las membranas por donde se da una difusión facilitada. Estos canales pueden tener una serie de sitios de unión donde las moléculas transportadas se mueven de sitio en sitio a través de la membrana. Una manera alternativa es que las moléculas a ser transportadas se unan a la proteína transportadora en un lado de la membrana y luego por cambios conformacionales del transportador involucrado la substancia será expuesta a la solución del otro lado de la membrana (Nobel, 1991). Los canales pueden mover mas iones (10^6 a 10^8 solutos/s) que los transportadores (10^4 a 10^5 solutos/s) por unidad de tiempo, además existen canales específicos para algunos iones (Ca^{2+} , K^+ , Cl^-) (Nobel, 1991; Tester, 1990).

Aun cuando muchas moléculas pueden atravesar las membranas por los canales, en un flujo pasivo a favor de un gradiente energético, se tiene selectividad para algún tipo de ion en particular, posiblemente debido a sitios específicos de enlace que dependen del tamaño y/o carga del ion (Nobel, 1991). Algunos transportadores no son específicos para algún nutriente en particular, pues algunos iones de características similares compiten por el mismo sitio de unión con el transportador; por ejemplo se ha observado competencia entre K^+ y Rb^+ , en algunas células el mismo transportador que exporta Na^+

importa K^+ (bombas de sodio-potasio), competencia entre Ca^{2+} y Sr^{2+} , Mg^{2+} y Mn^{2+} , Cl^- , I^- y Br^- , y entre SeO_4^{2-} y SO_4^{2-} . Esta competencia entre iones es considerada como una fuerte evidencia de la existencia de los transportadores (Glass, 1990; Marschner, 1986; Nobel, 1991).

En el transcurso del movimiento vía simplasto, una gran cantidad de iones pueden ser tomados por las vacuolas de cada célula con el fin de regular la concentración del citoplasma y evitar trastornos en los procesos metabólicos de las células. Es importante regular la acumulación excesiva de Na^+ , Cl^- y Ca^{2+} en el citoplasma, y el exceso de nutrimentos como los NO_3^- , $H_2PO_4^-$ y SO_4^{2-} los cuales luego son liberados cuando se requieran para algún proceso metabólico (Clarkson, 1988).

2.6.1 Cinética de la absorción nutrimental controlada por transportadores

De acuerdo con Epstein (1976) el transporte de iones a través de las membranas puede ser análogo a las relaciones que se establecen entre una enzima y su sustrato. Se ha observado que la absorción de iones por las plantas sigue una función hiperbólica con el incremento en la concentración (arriba de 200 mmol m^{-3}) en el medio de crecimiento, por lo que puede ser explicada por la cinética de Michaelis-Menten (Ingestad, 1982; Fageria *et al.*, 1991). Una de las variables mas importantes en el estudio de la absorción mediada por transportadores es la concentración externa. Conforme la concentración externa del soluto transportado se incrementa, la velocidad de absorción eventualmente alcanzará un límite superior. Se asume que en este punto, todos los sitios de enlace de los transportadores para un nutrimento en particular se han llenado o saturado. En particular, la velocidad de absorción activa de un nutrimento (I), es a menudo proporcional a la concentración externa de ese nutrimento (C_e) sobre un rango bajo de concentraciones, pero conforme se incrementa la C_e , se alcanzará eventualmente una velocidad máxima de absorción (I_{max}). Se puede describir este tipo de comportamiento como:

$$I = \frac{(I_{max})(C_e)}{K + C_e} \dots\dots\dots 5$$

donde la constante **K** caracteriza la afinidad del transportador por el nutrimento cuando cruza una membrana en particular, y se expresa en unidades de concentración (Fageria *et al.*, 1991; Glass, 1990; Nobel, 1991). Para la absorción de muchos iones por las raíces y otros tejidos de la planta, **I_{max}** es de 30 a 300 mmol m⁻² s⁻¹. La ecuación anterior se aplica tanto a la absorción mediada por transportadores como por canales o poros (Nobel, 1991). La ecuación 5 es similar a la ecuación de Michaelis-Menten, la cual se expresa como:

$$V = \frac{V_{\max}S}{K_m + S} \dots\dots\dots 6$$

que describe la cinética enzimática en las reacciones bioquímicas, la cual en muchos casos se puede usar para describir la absorción de nutrimentos. En esta relación, la concentración del sustrato (**S**) es análoga a **C_e** (mol/L), la velocidad de reacción de la enzima (**V**) es similar a **I** (Absorción o influjo), y la constante de Michaelis-Menten (**K_m**) que representa la concentración del sustrato a la cual se alcanza la mitad de **V_{max}** de la reacción, es equivalente a **K** (Barber, 1984a; Barber, 1984b; Clarkson, 1988; Fageria *et al.*, 1991; Glass, 1990; Nobel, 1991). Las ecuaciones 5 y 6 describen una curva en la cual la absorción se incrementa de una forma lineal asintótica aproximada a la máxima absorción conforme se incrementa la concentración del nutrimento, como se muestra en la figura 1. En tal caso, los parámetros del modelo son la constante de Michaelis-Menten (**K_m**), máxima absorción de nutrimentos (**I_{max}**) y concentración mínima de la solución (**C_{min}**) a la cual cesa la absorción (Barber, 1984b; Rengel, 1993).

Cuando **C_e** es pequeña en relación a **K_m**, **I** es aproximadamente igual a (**I_{max}**)(**C_e**)/**K_m**. El influjo de un nutrimento dado es por lo tanto no solamente proporcional a la concentración externa, como ya fue indicado, sino también es inversamente proporcional a **K_m**. Por consiguiente, un valor bajo de **K_m** representa una alta afinidad por el transportador, lo que indica que el nutrimento es en realidad favorecido o seleccionado por el transporte activo al interior de la célula, aún cuando la concentración externa sea relativamente baja. La ecuación también se aplica a los iones que se mueven en canales donde también ocurre el enlace con solutos. De aquí que el formalismo de Michaelis-

Menten tenga aplicaciones muy amplias en la descripción del movimiento de solutos a través de las membranas (Nobel, 1991).

Una de las características de esta cinética que no ha sido particularmente enfatizada es que la curva de absorción, la cual tiende a ser lineal a concentraciones externas muy bajas, podría no pasar por el intercepto cero como normalmente se ha considerado; sino que la línea de absorción intercepta el eje X, lo que significa que la absorción neta es cero en algún punto de un rango de baja concentración de nutrimentos. Esta concentración es análoga al punto de compensación del CO_2 en la fotosíntesis, y se denomina concentración mínima (**Cmin**) (Glass, 1990), lo que corresponde a aquella concentración en la solución externa a la cual cesa la absorción neta ($I = 0$). Se considera que en este punto el influjo (absorción) es igual a el eflujo (Barber, 1984a; Barber, 1984b; Glass, 1990).

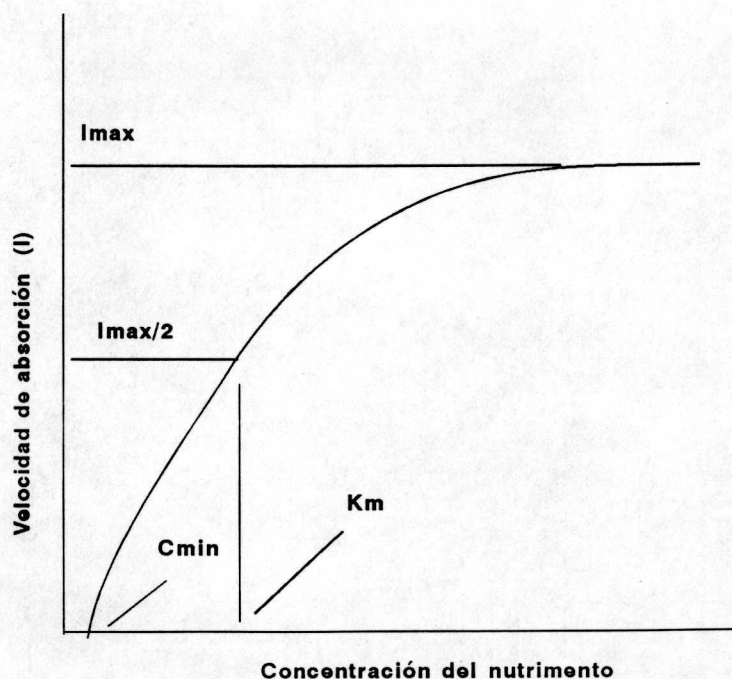


Fig.1 Relación entre absorción y concentración de nutrimentos de acuerdo al modelo de Michaelis-Menten

(adaptada de Clarkson, 1988; Barber, 1984b; Fageria et al., 1991)

Barber (1984a) para calcular el punto cuando el influjo alcanza valores de cero propuso la ecuación siguiente:

$$I = \frac{I_{\max}(C_e - C_{\min})}{K_m + C_e - C_{\min}} \dots\dots\dots 7$$

La **C_{min}** tiene cierta variación entre especies y entre variedades de una especie, esto debido a que tanto el eflujo como el influjo son muy sencitivos a efectos de factores internos y externos (Glass, 1990). En algunos experimentos se ha encontrado que para maíz la **C_{min}** de NO₃⁻ es de 1-4 µmol/L (Fageria *et al.*, 1991), por su parte Barber (1984a) encontró que **C_{min}** es de 3 a 9 µM independientemente de la forma del nitrógeno (NO₃⁻, NH₄⁺); para K⁺ la **C_{min}** es de 2 µM y para P es de 0.2 µM (Barber, 1984b), mientras que para cebada es de 1 µM de K y < 0.1 µM de P (Drew *et al.*, 1984).

No debe olvidarse que los valores de la cinética de absorción varía con la edad de la planta, concentración del nutrimento, temperatura, morfología de la raíz, demanda de la planta y técnica analítica con la que se mide la concentración del nutrimento (Deane-Drummond, 1990; Fageria *et al.*, 1991).

Se ha encontrado una variación aparente en **V_{max}** comparada con **K_m** entre diferentes especies, y en general, la afinidad aparente no varía dentro de una especie, mientras que existen amplias fluctuaciones en la **V_{max}** aparente dependiendo de la velocidad de crecimiento relativo (Deane-Drummond, 1990). En la cinética de absorción **K_m** es la concentración externa a la cual la velocidad de la absorción activa es la mitad de la velocidad máxima, de hecho, los valores observados de **K_m** son parámetros convenientes para describir la absorción de varios solutos (Nobel, 1991). Para la absorción de nitrógeno (NO₃⁻ y NH₄⁺) en maíz, Barber (1984a) encontró valores de **K_m** de 10 a 20 µM (Nobel, 1991).

Si dos diferentes solutos compiten por el mismo sitio en algún transportador, la absorción de un nutrimento disminuirá por la presencia del segundo soluto, lo que se conoce como inhibición competitiva del nutrimento. En el caso de inhibición competitiva, el valor asimptótico para el influjo activo (**I_{max}**) no es afectado, ya que en principio se puede

incrementar C_e lo suficientemente para obtener la misma velocidad máxima para la absorción activa del nutrimento. Sin embargo la mitad de la velocidad máxima ocurrirá a una concentración más alta, así que la K_m aparente aumenta si un soluto competitivo está presente (Nobel, 1991).

Cuadro 3. Valores de los parámetros de la cinética de absorción para varios nutrimentos en algunos cultivos.

Cultivo	Edad (días)	Nutrimento	I_{max} (nmol/m ² /s)	K_m (μmol/L)	C_{min} (μmol/L)	Referencia
Trigo	20-38	P	1.4	6	--	Anghioni <i>et. al.</i> (1981)
	20-40	K	7.0	7	--	Barber, (1984b)
	30-40	Ca	1.6	5	--	Barber, (1984b)
	20-40	Mg	0.4	1	--	Barber, (1984b)
Maíz	18-20	NO ₃ ⁻	10	3	4	Fageria <i>et al.</i> , (1991)
	14-28	P	4	3	0.2	Barber, (1984b)
	18	K	40	16	1	Baligar, (1984)
	18	P	4	5	--	Barber, (1984a)
	18-58	NO ₃ ⁻	0.05-1.0	10-20	3-9	Barber, (1984a)
		NH ₄ ⁺				

Los parámetros que describen la cinética de la absorción son estimados usando condiciones controladas en soluciones nutritivas (Barber, 1984b). A menudo se han observado dos fases (**mecanismo I** de alta afinidad y **mecanismo II** de baja afinidad) en la cinética de absorción (modelo de Michaelis-Menten), que se caracterizan por dos valores de K_m (K_{m1} , K_{m2}) y dos etapas de saturación por el sustrato, para una misma especie ionica. La K_{m1} (valores bajos) ocurre generalmente a concentraciones externas menores a 0.1 mol m⁻³ (Epstein, 1976; Glass, 1990; Nobel, 1991; Tomos y Jones, 1988), donde la absorción de la mayoría de los iones es altamente selectiva, típicamente dependiente de energía e insensitiva al efecto del ion acompañante (Glass, 1990). Estos

valores corresponden al rango de concentración de muchos iones de la solución del suelo (Nobel, 1991). La K_m caracteriza la absorción a valores de concentración por arriba de 1 mol m^{-3} (Epstein, 1976; Glass, 1990; Nobel, 1991; Pilbeam y Kirkby, 1990; Tomos y Jones, 1988). En este rango de concentraciones relativamente altas, la absorción de los iones es caracterizada por una afinidad mucho menor por el sustrato (valores altos de K_m) y hay sensibilidad a la naturaleza del ion acompañante (Glass, 1990).

Cuadro 4. Concentración de nutrimentos normalmente encontrada en la solución de un suelo con buena fertilidad.

NUTRIMENTO	CONCENTRACION (mol m^{-3})*	REFERENCIA
N	1-3 2-20 60 mg L^{-1}	Lawlor, 1991 Pilbeam y Kirkby, (1990) Barber, (1984b)
P	0.0005-0.002 < 5 μM 0.8 mg L^{-1} 1-10 mg L^{-1}	Lawlor, (1991) Glass, (1990) Barber, (1984b) Tisdale <i>et al.</i> , (1993)
K	1-2 14 mg L^{-1}	Lawlor, (1991) Barber, (1984b)
Ca	0.5-1.5 $5 \times 10^{-3} \text{ M}$ 60 mg L^{-1}	Lawlor, (1991) Glass, (1990) Barber, (1984b)
Mg	2-4 40 mg L^{-1}	Lawlor, (1991) Barber, (1984b)
S	0.3-0.7 26 mg L^{-1}	Lawlor, (1991) Barber, (1984b)
Cl	0.001	Lawlor, (1991)
B	0.001	Lawlor, (1991)
Fe	0.001	Lawlor, (1991)
Mn	0.001	Lawlor, (1991)
Zn	7×10^{-4}	Lawlor, (1991)
Cu	3×10^{-4}	Lawlor, (1991)
Mo	5×10^{-4}	Lawlor, (1991)

*Si no se indican unidades

Pilbeam y Kirkby (1990) encontraron que la absorción de NO_3^- en *arabidopsis* presenta los dos mecanismos de absorción. El **mecanismo I**, con una **Km** aproximada de 0.04 mol m^{-3} y una **Vmax** de $4.0 \mu\text{mol h}^{-1}$, opera a concentraciones de $0.01\text{-}0.5 \text{ mol m}^{-3}$; mientras que el **mecanismo II** que opera a mayores concentraciones de la solución externa tuvo una **Km** de 25 mol m^{-3} y una **Vmax** de $700 \mu\text{mol h}^{-1} \text{ g}^{-1}$. Ya que la concentración de los NO_3^- en la solución de suelos fértiles varía de 2 a 20 mol m^{-3} o excepcionalmente 30 mol m^{-3} después de una fertilización, entonces es de esperarse que solo el **mecanismo II** de baja afinidad sea de importancia en condiciones de campo.

A pesar de varios años de estudio y mucha discusión todavía no existe un consenso sobre los mecanismos responsables de la cinética a altas concentraciones (Glass, 1990). Epstein (1976) interpretó las dos fases de absorción (**mecanismo I y II**) como el resultado de las actividades de dos parejas de sitios de transportadores localizados en las membranas. Niessen (1980), atribuye el efecto a la acción de un solo sistema de transporte multifásico localizado en la membrana, el cual exhibe cambios de fase dependientes de la concentración y regula el transporte a concentraciones altas por medio de la difusión facilitada.

Por su parte Kochian y Lucas (1983), basados en los flujos lineales de concentraciones altas de K y en la sensibilidad de estos flujos a los bloqueadores de canales, interpretaron estos flujos como mediados por canales. Tanto **Km** como **Imax** se ha encontrado que varían entre especies y cultivares de una especie. Sin embargo, Barber (1984b), menciona que en condiciones de campo donde las velocidades de difusión determinan el suministro de los nutrimentos a la superficie de la raíz, estas "constantes cinéticas" tiene poca importancia en la adquisición de nutrimentos. Sin embargo, Glass (1990) menciona que una respuesta casi universal de las plantas a la privación de nutrimentos es el incremento de **Imax** y en algunos casos la reducción de los valores de **Km**, por lo tanto, es difícil creer que estas respuestas no tengan significancia en la adquisición de nutrimentos.

En contraste a los estudios de absorción usando el modelo de la cinética enzimática, Boulding (1989) y Boulding *et al.* (1992) describen la absorción de nutrimentos por dos ecuaciones lineales correspondientes a la absorción en soluciones a alta y baja

concentración; simplificando de esta manera los procesos de absorción en la superficie de la raíz a solamente dos componentes de difusión. Con este enfoque, se considera a las raíces como una demanda infinita (todos los nutrientes suministrados a la raíz son absorbidos), lo que es razonable para los nutrientes inmóviles donde la velocidad potencial de absorción usualmente excede el suministro de nutrientes; bajo tales circunstancias, la magnitud del movimiento de iones hacia la raíz define el máximo potencial en la velocidad de absorción (Hoffland, 1992; Hoffland *et al.*, 1990; Robinson, 1989), lo que podría aplicarse de manera razonable para el P, aunque en condiciones de suficiente P en solución podría conducir a sobreestimaciones (Hoffland, 1992).

2.6.2. Problemas en la modelación de la absorción nutrimental

Para la adquisición de nutrientes con baja movilidad en el suelo (como el P), el crecimiento de la raíz y el área superficial son de particular importancia. Aunque existen diferencias genóticas distintivas en el área superficial de las raíces; dentro de un genotipo dado el área superficial se puede modificar en respuesta tanto a factores externos como internos. Por ejemplo, cuando un nutriente se suministra inadecuadamente el crecimiento de la raíz y el área superficial generalmente se incrementa a expensas del crecimiento de la parte aérea (Marschner, 1991).

En suelos bajos en P, los pelos radicales pueden contribuir con 63-90 % del total del P absorbido. En algunos modelos subestiman la absorción de P debido a que no incluyen la contribución de los pelos radicales. Cuando los algoritmos de los modelos que describen la absorción de P por los pelos radicales (basados en su frecuencia, longitud y radio) son incluidos, su habilidad predictiva aumenta considerablemente (Fohse *et al.*, 1991). En el mas simple de los casos, la contribución de los pelos radicales a la absorción de los nutrientes es evaluada considerándolos como una extensión del radio de la raíz (Hoffland *et al.*, 1992).

2.6.3. Regulación de la absorción nutrimental por la planta

Bajo condiciones artificiales de laboratorio, cuando las plantas están privadas de algún nutriente y luego se les supe repentinamente con ese nutriente, se incrementa la capacidad de absorción lo que resulta en una restauración rápida de las concentraciones normales del tejido. Bajo condiciones naturales los flujos repentinos de nutrientes son raros (excepto quizás para los NO_3^-), aunque en sistemas acuáticos esto puede ser más común. De aquí que ha sido sugerido que la regulación de los flujos de iones asociados con la disminución de la concentración externa sea un medio de alcanzar una mayor eficiencia en la adquisición del nutriente limitante (Clarkson, 1985; Glass, 1990).

De un gran número de estudios con diversos organismos, se ha puesto en evidencia que el flujo de nutrientes es regulado en respuesta a mecanismos de retroalimentación o a señales internas como concentración celular (o parámetros dependientes de la concentración tales como volumen, potencial de presión, potencial osmótico) y a velocidades relativas de crecimiento. El propósito final de la regulación de las velocidades de transporte en respuesta a tales señales, es amortiguar al organismo en contra de variaciones en la disponibilidad de nutrientes y para alcanzar los requerimientos de demanda y distribución en la planta (Glass, 1990).

La relación entre la concentración externa y la velocidad de absorción de un ion no es caracterizada por valores fijos de K_m y V_{max} . La relación es más bien variable, dependiendo en particular de la concentración interna del nutriente, que es, el estado nutrimental de la planta. El pretratamiento de la planta y su velocidad de crecimiento (sus requerimientos nutrimentales) son factores importantes de regulación (mecanismo de retroalimentación) en la absorción de iones (Clarkson, 1988).

De manera general bajo condiciones limitantes en el suministro de nutrientes, las plantas pueden desarrollar diferentes estrategias que les permiten compensar las carencias del nutriente. Dentro de éstas se encuentran: **a)** incremento en la relación raíz/parte aérea, **b)** exploración de diferentes estratos en el medio donde crecen las raíces, **c)** uso eficiente del nutriente absorbido, y **d)** mayores velocidades de absorción (Glass, 1990). Aunque más específicamente se mencionan otros mecanismos como: **1)**

aumento en el eflujo de los iones, 2) variación en el número de sitios de unión (transportadores) en la membrana celular, 3) control en el sitio de descarga por el transportador en el citoplasma, 4) variación en la transformación e incorporación al metabolismo, 5) regulación en el transporte en el tonoplasto, 6) efecto de la concentración en la vacuola, 7) velocidad de carga y descarga por floema y xilema, 8) regulación por retroalimentación de la parte aérea sobre la raíz, 9) aumento en el eflujo de H^+ y/o compuestos orgánicos (Marschner, 1986).

2.6.4. Efecto de la concentración en la solución nutritiva sobre la absorción

Para evitar las interacciones que se dan entre los distintos componentes en el suelo, y para que las concentraciones de nutrimentos sean comparables a las que existen en la solución del suelo, los experimentos con concentraciones en solución nutritivas deben ser tan bajas como 10 a 100 $mmol\ m^{-3}$ para algunos iones. Para Ca^{2+} los niveles de concentración de la solución que mostraron los mas altos rendimientos en algunas especies de leguminosas y cereales estuvieron entre 2.5 y 10 $mmol\ m^{-3}$, aunque para plantas calcífugas las concentraciones son todavía menores (0.1 a 0.25 $mmol\ m^{-3}$). El comportamiento para el Mg^{2+} se supone que es similar (Pitman, 1988). Sin embargo con frecuencia se han observado problemas de suministro de los iones a la raíz debido a la disminución en concentración alrededor de la superficie de la raíz, lo que comúnmente se denomina zona de agotamiento (Marschner, 1991; Pitman, 1988). Para un nutrimento en particular la distancia radial, a partir de la raíz, de la zona de agotamiento, depende de varios factores como la fertilidad del suelo, nivel de humedad y longitud de los pelos radicales en particular (Marschner, 1991).

También ocurren gradientes en la concentración de minerales en la rizósfera a lo largo del eje de la raíz desde el ápice hasta la base. Este gradiente refleja las diferencias en características de las zonas de la raíz, por ejemplo: velocidad de respiración, formación de la banda de Caspari y de la exodermis, diferenciación de los vasos del metaxilema y penetración de la banda de Caspari por las raíces laterales. Además la absorción de los

minerales en las diferentes zonas no es igual, el Ca^{2+} y Mg^{2+} se absorben principalmente por las zonas basales y apicales donde las raíces laterales penetran tanto la banda de Caspari como el cortex. En contraste el sitio principal de absorción del K es atrás del ápice (Marschner, 1991).

Si se excluyen concentraciones externas extremadamente altas de un nutrimento dado, y se considera el rango de concentración comúnmente encontrado en la solución del suelo, la absorción dependiente de la concentración difiere de una manera típica entre los elementos minerales. Un ejemplo de estas diferencias se da cuando se evalúa la absorción del K^+ y Na^+ a concentraciones de 0-5 μM . En términos de la cinética de absorción, estos reflejan diferencias en la afinidad por los sitios de unión del transportador en la plasmamembrana de las células de la raíz, hay mayor afinidad por el K^+ (valores bajos de K_m) que por el Na^+ (valores altos de K_m). La isoterma mostrada por el P es similar a la del K^+ , mientras que la del Ca^{2+} y Mg^{2+} es similar a la del Na^+ (Marschner, 1986).

Comparado con los requerimientos para un crecimiento óptimo, las concentraciones de la solución del suelo son usualmente bajas tanto para el K^+ ($< 1\mu\text{M}$) como para el P ($< 0.1\mu\text{M}$); por otro lado, las concentraciones de Ca^{2+} y Mg^{2+} son a menudo considerablemente mas altas. Para satisfacer los diferentes requerimientos de éstos nutrimentos, las plantas tienen sitios de unión en la membrana de la células de la raíz las cuales difieren en afinidad (valores diferentes de K_m) para los diferentes nutrimentos. De acuerdo con esto, cuando el suministro de K^+ (por ejemplo en soluciones nutritivas) es constante, se puede obtener crecimiento óptimo a concentraciones de K^+ abajo de 1 mM, que está en el rango de concentraciones del mecanismo de gran afinidad (**mecanismo I**). Con pocas excepciones, (por ejemplo sustratos salinos) las concentraciones externas de los macronutrimentos en el rango del **mecanismo I** son también suficientes para un crecimiento óptimo de la mayoría de especies de plantas.

En experimentos a largo tiempo, la absorción a concentraciones externas altas refleja lo que se conoce como "consumo de lujo". Sin embargo, en condiciones de campo durante la ontogénesis, la "absorción de lujo" en períodos precedentes puede ser importante porque proveer una reserva interna para períodos de alta demanda o suministro

interrumpido a la raíz, que en condiciones de solución nutritiva se evita, pues por lo menos hay aplicaciones diarias de nutrimentos y de manera continua en sistemas de recirculación lo que permite usar concentraciones muy bajas (Marschner, 1986; Tisdale *et al.*, 1993).

Se ha postulado que la absorción caracterizada por el **mecanismo I** se da básicamente por las células de la epidermis, porque las bajas concentraciones de nutrimentos no permiten el flujo hacia el interior vía apoplasto. Este flujo solo ocurre cuando la concentración es alta (mayor a 1 mol m^{-3}), dando lugar a un incremento en el número de contactos entre iones y sitios de absorción en las células del cortex, lo que repercute en un aumento en la velocidad de absorción, caracterizado por el **mecanismo II** (Bange, 1973; Ehwald, 1973; citados por Clarkson, 1988; Kochian y Lucas, 1983).

La relación entre la concentración externa y la velocidad de absorción de un nutrimento en particular depende también de la duración del experimento. Por ejemplo, para el P la velocidad de absorción en experimentos de largo plazo (semanas) se hace constante a una concentración externa de $5 \mu\text{M}$, mientras que en experimentos de corto plazo (horas) la velocidad de absorción continua incrementandose aún a concentraciones externas considerablemente altas ($100\text{-}1000 \mu\text{M}$). La razón principal de esta discrepancia, es la diferencia en el estado nutricional del P en las plantas (Marschner, 1986). Para el caso del K en el cultivo del rábano usando diferentes concentraciones externas ($1.3\text{-}102 \mu\text{M}$), se incrementó el flujo hacia el interior de la raíz incluso por arriba de la concentración más alta, durante los primeros seis días, pero al día 32 el flujo era constante en todo el rango de concentraciones evaluadas (Wild *et al.*, 1989).

Se debe tomar en cuenta para una correcta interpretación de resultados, que en estudios de corto plazo con raíces aisladas o plantas jóvenes intactas, el precultivo antes de aplicar los tratamientos se lleva a cabo en soluciones nutritivas muy diluidas o en soluciones con CaSO_4 . En estas condiciones de bajas cantidades de sales, la concentración interna de nutrimentos es baja. Después que los nutrimentos son suministrados la velocidad de absorción es muy alta y continúa incrementándose aun en el rango de altas concentraciones por lo menos durante varias horas o pocos días. De aquí en adelante,

conforme se incrementa la concentración interna la velocidad de absorción disminuye (Marschner, 1986).

La magnitud del transporte radial vía simplasto o apoplasto, depende de la formación de pelos radicales y raíces laterales, de la suberización de células en la rizodermis, y de la concentración externa de iones. A bajas concentraciones externas la absorción o entrada de iones al simplasto parece estar restringida a la capa de células de la rizodermis. En estudios con minerales marcados se ha encontrado que su concentración en éstas células es mucho mayor que en las células del cortex. A concentraciones internas bajas (raíces con pocas sales) la acumulación en las vacuolas compite de manera efectiva con el transporte simplástico. En estudios a corto tiempo esta competencia se refleja en el típico retardo de la translocación de iones de la raíz a la parte aérea. Como resultado de esta competencia, cuando el suministro de un nutrimento es subóptimo, las raíces usualmente tienen mayores contenidos del nutrimento (translocación restringida) que la parte aérea de la planta. En estudios de largo tiempo este mecanismo es en parte el responsable de un incremento en la velocidad de crecimiento relativo en favor de las raíces y no de la parte aérea (Marschner, 1986).

Bajo ciertos límites, un incremento en la concentración iónica externa conduce a un incremento en la concentración de iones en el xilema. Sin embargo, la concentración relativa disminuye conforme se aumenta la concentración externa. Este gradiente de concentración entre la solución externa y la savia del xilema disminuye y puede caer abajo de 1 en el caso del Ca^{2+} (Marschner, 1986).

El volumen de flujo exudado muestra un patrón algo diferente y es máximo a una concentración externa de 1 mM. A 0.1 mM este flujo se limita por la concentración de iones en el xilema, mientras que a 10 mM el flujo es limitado por la disponibilidad de agua (el potencial hídrico es muy bajo en la solución externa) y el pequeño gradiente de concentración entre la solución externa y el xilema. El incremento en la concentración de los nutrimentos en el xilema con el aumento de la concentración externa de 1 a 10 mM no es compensado por la disminución del volumen exudado. Así, en contraste a la acumulación en las raíces la cantidad de presión de raíz que conduce al transporte de los nutrimentos puede disminuir a concentraciones externas altas (Marschner, 1986).

En plantas que crecen en concentraciones externas muy diluidas, la concentración de nutrimentos en la savia del xilema disminuye considerablemente conforme se mueve de la raíz a la parte aérea y el agua liberada como gutación está prácticamente libre de sales. Esto se debe a que los nutrimentos son reabsorbidos del xilema por las células vivientes que lo rodean a lo largo del transporte de la savia a la parte aérea (Marschner, 1986). La energía requerida para la absorción del NO_3^- varía de acuerdo a su concentración en la solución externa ya que usualmente está más concentrado en las células de la raíz. El gradiente electroquímico entre la solución externa y la célula que tiene que superarse para que los NO_3^- se absorban por la raíz disminuye conforme se incrementa la concentración de la solución externa (Pilbeam y Kirkby, 1990).

Asumiendo que tanto la concentración de NO_3^- en el citoplasma como el potencial de membrana permanecen constantes durante la absorción, se ha estimado en ryegrass, que el costo de absorción de un mol de NO_3^- es de 28 kJ ó 9 kJ si la concentración de la solución es de 1.5 y 15 mmol m^{-3} respectivamente (Clarkson, 1988).

En experimentos donde después de crecer plantas en soluciones de baja concentración, luego son transferidas a soluciones de mayor concentración, se observa mayor absorción conforme mayor es la concentración de la nueva solución; lo que es explicado en parte por los requerimientos de energía progresivamente menores para la absorción por cada mol de NO_3^- conforme aumenta la concentración de la solución externa (Pilbeam y Kirkby, 1990).

El manejo de la solución para la producción de cultivos con hidroponía depende de si el sistema usado es abierto (con drenaje) o cerrado (sin drenaje). La circulación de la solución nutritiva ahora es aceptada como un medio importante en disminuir la contaminación del ambiente con nutrimentos residuales, principalmente N y P, ya que se pueden regular las descargas de solución nutritiva al medio. Para poder alcanzar el potencial de crecimiento, se requiere información mas precisa acerca de los requerimientos nutrimentales, sobre todo cuando se permite que el exceso de la solución corra hacia el drenaje. La aplicación de nutrimentos debe igualar la absorción de la planta cuando no exista drenaje, de otra manera algunos nutrimentos se acumularán mientras que otros serán agotados (Adams, 1992).

2.6.5. Absorción de nutrimentos en solución circulante y en solución estática

La absorción de nutrimentos por lo general es proporcional a la concentración de los mismos en la solución cerca de las raíces, la cual puede ser agotada localmente en soluciones estáticas, pero puede mantenerse virtualmente constante cuando la solución nutritiva está circulando (Adams, 1992).

Existe una diferencia básica entre las concentraciones de nutrimentos necesarias para sostener el crecimiento en sistemas estáticos y en sistemas de circulación de la solución nutritiva: El flujo de la solución nutritiva a través del sistema radicular virtualmente elimina el gradiente de concentración que se desarrolla en la superficie de las raíces en condiciones estáticas (FAO, 1990). Por esta razón, las concentraciones de nutrimentos en la solución nutritiva que han dado resultados satisfactorios en condiciones estáticas, son relativamente altas. Por ejemplo, para una producción comercial, Schwarz (1979) citado por Sánchez y Escalante (1989), recomienda 200-300 mg L⁻¹ de N, 300-400 mg L⁻¹ de K, 60-80 mg L⁻¹ de P; Hewitt (1978) citado por Sánchez y Escalante (1989) recomienda 250-300 mg L⁻¹ de N, 200-300 mg L⁻¹ de K y 70-80 mg L⁻¹ de P; Maas y Adamson (1980) para el cultivo del tomate recomienda 168 mg L⁻¹ de N, 37 mg L⁻¹ de P y 210 de K; Sonneveld (1980) a su vez recomienda 168 mg L⁻¹ de N, 47 de P y 293 de K; y para producción con la técnica de la película nutritiva, FAO (1990) menciona que una concentración típica es de 150-225 mg L⁻¹ de N, 30-45 mg L⁻¹ de P y 300-500 mg L⁻¹ de K.

2.6.6. Relación entre absorción, concentración nutrimental y crecimiento

Si no esta disponible la cantidad adecuada de nutrimentos entonces el crecimiento de la planta será reducido. La concentración de nutrimentos en la planta representa un balance entre la habilidad de las raíces para absorber los nutrimentos, las necesidades de la planta en crecimiento, y la velocidad de crecimiento de la planta (Pitman, 1988). Sin embargo con frecuencia existen problemas en la expresión e interpretación de valores de nutrimentos. Para una misma especie, plantas con iguales contenidos relativos de N, P, y

K pueden estar creciendo a velocidades relativas diferentes. La concentración en la planta depende tanto de la disponibilidad de nutrientes, de la velocidad de crecimiento de la planta y de la distribución de nutrientes dentro de la planta, aunque los mecanismos precisos no han sido bien entendidos (Marshall y Porter, 1991; Pitman, 1988).

Para mantener al máximo las velocidades de crecimiento genéticamente determinadas, todos los recursos deben ser suministrados a una velocidad igual o mayor que la potencialmente demandada. Si el suministro cae abajo de la demanda, el proceso fotosintético decrece y el crecimiento disminuye (Lawlor, 1991). Para ver el efecto que tiene la concentración de nutrientes sobre la velocidad de crecimiento de la planta se usa el concepto de Tasa relativa de crecimiento (TRC):

$$\text{TRC} = \frac{g}{g_{\text{MS de planta}}} \text{ d}^{-1} = g \text{ g}^{-1} \text{ d}^{-1} \dots\dots\dots 8$$

El potencial en la velocidad de crecimiento puede considerarse equivalente a la máxima tasa relativa de crecimiento (R_{max}) obtenida cuando las concentraciones internas de los nutrientes en el sitio de acción no son limitantes (C_{opt}). TRC es cero (R_{min}), cuando la concentración del nutriente está en el punto mínimo o por abajo de éste (C_{min}). Claramente, la C_{opt} puede diferir de la concentración del nutriente en la solución externa dependiendo de los mecanismos de absorción (Lawlor, 1991).

Para relacionar la nutrición con el crecimiento de la planta se asume que TRC se incrementa linealmente entre R_{min} y R_{max} , esto es, entre C_{min} y C_{opt} . Se ha demostrado que:

$$\text{TRC} = \text{PR}_{\text{min}}(C_{\text{opt}} - C_{\text{min}}) \dots\dots\dots 9$$

Donde min es la concentración mínima del nutriente tomado de entre los demás nutrientes y PR es el factor de productividad que relaciona la TRC con C, la concentración del nutriente. Este factor de proporcionalidad es una medida de la eficiencia del sistema metabólico completo. Este análisis cuantitativo, una forma de la ley de Blackman de factores limitantes, expresa la relación de la velocidad de crecimiento al

suministro externo de nutrimentos y otros recursos y muestra como la deficiencia de un nutrimento disminuye **TRC** abajo de su potencial. **TRC** es independiente de la nutrición cuando todos los nutrimentos exceden **Copt**. Cuando todos los factores del crecimiento están en condiciones óptimas, los factores genéticos son los que determinan la **TRC**. Un suministro limitado de nutrimentos y otros factores del ambiente limitan la expresión total del potencial y la **TRC** disminuirá (Agreen, 1988; Lawlor, 1991).

Se menciona que cuando el suministro satisface la demanda, se mantiene la velocidad de crecimiento exponencial genéticamente determinada. Sin embargo aún con plantas aisladas, existe inevitablemente una superposición creciente del follaje con el tiempo. Conforme la planta incrementa su tamaño, la cantidad de luz interceptada por unidad de follaje declina, con el concomitante decremento en la **TRC**. Plantas en crecimiento de comunidades de una sola especie (monocultivo) a menudo alcanzarán éste estado cuando la tasa absoluta de crecimiento, opuesta a relativa, es constante y cualquier incremento posterior en el área del follaje no produce un incremento significativo en la cantidad de energía radiante interceptada. De aquí, la demanda para la absorción posterior de nutrimentos, comparada con aquella de una planta creciendo sin restricciones en su potencial genético, es reducida porque declina la **TRC** y la concentración de nutrimento requerida para soportar el crecimiento relativo más lento es menor (Marshall y Porter, 1991).

Cuando el suministro de nutrimentos no puede alcanzar la demanda, entonces tanto el crecimiento relativo como el promedio de la concentración de nutrimentos en la planta son reducidos con un efecto neto que se incrementa la cantidad absoluta de crecimiento por unidad de nutrimento absorbido. Esto debe involucrar un cambio en la partición relativa de los nutrimentos (especialmente el carbono) entre los órganos que componen la planta y los procesos bioquímicos dentro de los órganos. Una observación frecuente cuando los nutrimentos limitan el crecimiento es que una alta proporción del carbono fijado es distribuido hacia el crecimiento de las raíces (Marshall y Porter, 1991).

En estudios con varias plantas se ha demostrado que no existen requerimientos mínimos universales de nutrimentos para el crecimiento. Para especies que tienen un potencial de crecimiento rápido existió una reducción en la velocidad de crecimiento relativo, incluso

por debajo de especies de crecimiento lento, cuando el suministro externo de nutrientes se redujo 20 veces (20 mmol m^{-3}) (Rorison, 1991).

2.6.7. Respuesta de las plantas a los cambios en el suministro de nutrientes.

Las diferentes funciones que tienen los nutrientes en el citoplasma y en la vacuola repercute en la variación de concentración entre los compartimentos de la célula. En la vacuola, normalmente existe una alta variación en la concentración ya que la función osmótica puede ser remplazada por otro soluto, mientras que en el citoplasma la función bioquímica de los nutrientes requiere el mantenimiento de concentraciones en un valor mas constante (Leigh y Storey, 1991).

Esta diferencia en comportamiento puede ser usada para explicar las respuestas en crecimiento a los cambios en concentración de algunos nutrientes. Para el caso del K y P se ha demostrado (se supone que también ocurre para los NO_3^-) que la concentración crítica está determinada por el punto en el cual la concentración del citoplasma empieza a disminuir. La disminución en el suministro de estos nutrientes se refleja en la concentración de la vacuola, mientras que la concentración del citoplasma permanece sin cambio para que no se alteren los procesos metabólicos de la célula. Sin embargo, cuando la vacuola alcanza el mínimo cualquier decremento adicional es a expensas del citoplasma, con el consecuente detrimento en el crecimiento de la planta (Lee y Ratcliffe, 1983; Leigh y Storey, 1991; Leigh y Wyn Jones, 1984).

Lo anterior puede explicar porqué la disponibilidad de otros cationes, tales como el Mg^{2+} , Ca^{2+} , y Na^+ pueden afectar el nivel crítico de K^+ . En general la disponibilidad de estos cationes permiten que el crecimiento se mantenga aún a bajas concentraciones de K^+ (disminuye el nivel crítico). Esto puede atribuirse a la habilidad de los cationes de sustituir al K^+ en sus funciones osmóticas en la vacuola. En su ausencia, tienen que acumularse solutos orgánicos para mantener la presión osmótica, por lo que se dividen los asimilados que van a los procesos de crecimiento y el rendimiento disminuye (Leigh y Storey, 1991).

2.7. Fuentes de nitrógeno en hidroponia

En la nutrición de las plantas es posible utilizar diferentes fuentes de nitrógeno ya que se ha encontrado que estas pueden utilizar varias formas del nitrógeno, como NO_3^- , NH_4^+ , urea, (Haynes, 1986; Marschner, 1986; Mengel y Kirkby, 1987; Bidwell, 1979); también puede ser absorbido y utilizado en forma de aminos ó aminoácidos y muchas plantas se benefician de su aplicación. Sin embargo, ciertos aminoácidos pueden ser tóxicos en altas cantidades (prolina). Los cultivos de células ó embriones vegetales a menudo requieren fuentes de N especiales, tales como asparagina, glutamina, glicina y otros aminoácidos (Bidwell, 1979; Mengel y Kirkby, 1987).

Los fertilizantes con nitrato, principalmente $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ y KNO_3 , son convencionalmente las fuentes de nitrógeno en cultivos hidropónicos (Resh, 1993). Estos fertilizantes son preferidos por sus efectos fisiológicamente neutros ó ligeramente alcalinos y baja toxicidad. Sin embargo, se tienen las desventajas de que los NO_3^- fácilmente se acumulan en los cultivos cuando la absorción excede la reducción del NH_4^+ , situación que puede ser crítica sobre todo para cultivos donde la hoja es el órgano de consumo (Gunes *et al.*, 1994; Reinink, 1991; Luo *et al.*, 1993). Altas cantidades de NO_3^- en los alimentos ingeridos se han relacionado con la producción de metahemoglobinemia y formación de nitrosaminas las cuales son cancerígenas (Gunes *et al.*, 1994; Pilbeam y Kirkby, 1990). Además el costo de los fertilizantes con NO_3^- es usualmente más alto en relación a las demás fuentes de nitrógeno. Por lo tanto, es necesario sustituir por lo menos en parte las fuentes de NO_3^- en la producción de cultivos hidropónicos (Luo *et al.*, 1993). Por otro lado la disminución en el uso de NO_3^- reducirá la cantidad de estos que se pierde en el agua de drenaje y que es fuente de contaminación de las aguas del subsuelo. En este sentido y sobre todo en cultivos hidropónicos se pueden usar fuentes de N como aminoácidos, urea, amonio, fosforil triamida ($\text{PO}(\text{NH}_2)_3$) ya sea como sustitución total de los NO_3^- ó sólo parcialmente según lo permitan los cultivos (Gunes *et al.*, 1994).

La urea es una fuente importante de nitrógeno en la agricultura. Sin embargo, en condiciones hidropónicas rara vez se usa, debido a que fácilmente se hidroliza a NH_4^+ el cual puede tener efectos dramáticos en la reducción del pH de la solución nutritiva. Además el uso de urea conlleva al reemplazamiento de sales fisiológicamente neutras ó

ligeramente alcalinas (nitrato de calcio y nitrato de potasio) por sales fisiológicamente ácidas (sulfato de potasio y cloruro de potasio), las cuales contribuyen a bajar el pH (Harper, 1984). Sin embargo, se ha llevado a cabo poca investigación sobre la transformación y factibilidad de la urea como fuente de nitrógeno para la producción de cultivos en condiciones hidropónicas. Se conoce poco la variabilidad genética entre especies en cuanto a su adaptación a la urea en estas condiciones (Luo *et al.*, 1993).

2.8. Absorción de diferentes formas de nitrógeno

2.8.1. Amonio

La absorción del amonio está caracterizada por varias fases que dependen de la especie de planta. Inicialmente se da un movimiento pasivo por el fenómeno de adsorción por las cargas negativas del espacio libre de las células (apoplasto) de la raíz (Botella *et al.*, 1994; Haynes, 1986). Después, se da un movimiento activo en las membranas de la raíz que dependiendo de la concentración externa puede coincidir con las regiones de deficiencia, consumo de lujo, y toxicidad en una curva de crecimiento de las plantas. Las K_m e I_{max} difieren grandemente entre especies, pero los valores de K_m generalmente están en el rango de 10 a 70 μM (Haynes, 1986; Layzell, 1990).

En la literatura se menciona una similitud entre la absorción del amonio y otros cationes monovalentes, particularmente con el potasio. De hecho existe una cierta competencia entre el amonio y el potasio, lo que indica que existe un mecanismo similar de absorción (Haynes, 1986; Layzell, 1990). Las evidencias sugieren que la absorción del potasio está ya sea directamente relacionado con una ATPasa que actúa como una bomba electrogénica de H/K, ó es llevada a cabo por transportadores específicos y ocurre simultáneamente con el cotransporte de protones donde interviene una ATPasa de la membrana (Haynes, 1986).

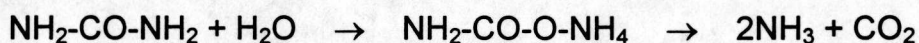
2.8.2. Nitrato

La absorción del NO_3^- es inicialmente más lenta y luego se acelera de manera exponencial donde al parecer es una fase inducible que depende de la concentración interna de nitratos de manera similar como una enzima responde a su sustrato (Haynes,

1986). La absorción de los NO_3^- por las raíces es restringida por inhibidores de la síntesis de proteína y RNA así como por inhibidores de la respiración y fosforilación oxidativa, debido a que es un proceso que requiere energía. Se cree de manera general que la absorción de nitratos está unida a una ATPasa de membrana, aunque también ha sido sugerido un mecanismo de absorción de aniones basado en gradientes quimiosmóticos de transmembrana creados por diferencias de pH (Deane-Drummond, 1990; Haynes, 1986). La absorción neta de nitratos será la diferencia entre el influjo activo a través de la membrana y el eflujo pasivo por gradientes de difusión, ó también controlado de manera activa por la planta cuando ocurre en contra de un gradiente de concentración (Deane-Drummond, 1990; Haynes, 1986; Layzell, 1990).

2.8.3. Urea

La urea puede ser absorbida directamente por las raíces ó por las hojas (Bidwell, 1979, Marschner, 1986, Haynes, 1986). Después de absorbida por la raíz, es rápidamente hidrolizada por la enzima **ureasa** (EC:3.5.1.5) ya sea dentro de las raíces ó después de ser translocada a la parte aérea. En el suelo la hidrólisis normalmente se lleva a cabo antes de que sea absorbida (Harper, 1984; Marschner, 1986). De acuerdo con Tisdale *et al.*, (1993), cuando se aplica urea al suelo, primeramente se forma carbamato de amonio como un intermediario antes de producir NH_3 y CO_2 .



El NH_3 producido durante el rompimiento del carbamato de amonio reaccionará de la misma forma que el amoníaco de las otras fuentes de nitrógeno. En condiciones de suficiente humedad ó donde existan fuentes de H, el NH_3 proveniente de la descomposición de la urea se convertirá rápidamente en NH_4^+ y finalmente por nitrificación llegará a formar NO_3^- (Harper, 1984; Tisdale *et al.*, 1993).

La **ureasa** se encuentra de manera universal en los suelos ya que una gran cantidad de bacterias, hongos y actinomicetos del suelo poseen la **ureasa**. Un pequeño grupo de bacterias conocidas como ureo-bacterias tienen una habilidad excepcional para descomponer la urea. La actividad de la **ureasa** tiende a incrementarse con el tamaño de

la población microbiana del suelo y con el contenido de materia orgánica (Tisdale *et al.*, 1993).

Sin embargo, bajo condiciones donde la urea no es hidrolizada, como en sustratos estériles, la urea es utilizada directamente por muchas plantas. Bollard (1959) citado por Harper (1984) enlista varias plantas que tienen la habilidad de utilizar la urea como única fuente de nitrógeno, llegando incluso a producir mayor cantidad de materia seca que con otras fuentes.

Ya que muchos de los fertilizantes usados en cultivo sin suelo a menudo tienen altas proporciones N en forma de urea y amonio, la hidrólisis de la urea y la oxidación del NH_4^+ en el medio son factores importantes en la nutrición de la planta (Nissen, 1989). Las tasas de hidrólisis de la urea y nitrificación son generalmente bajas en un medio sin plantas y en un sustrato como la turba, pero se incrementa con el tiempo (Elliot, 1986; Vatanovetz y Peterson, 1987b). Este incremento está posiblemente relacionado con un incremento en las poblaciones microbianas, ya que también ocurren en medios con ausencia de plantas (Vatanovetz y Peterson, 1987a). Sin embargo, la magnitud de contribución de los microorganismos y *ureasa* exocelular sobre la hidrólisis de la urea en cultivo sin suelo, no ha sido investigado (Nissen, 1989).

2.8.4. Factores que afectan la absorción del nitrógeno

Debido a que normalmente el nitrógeno es absorbido en mayores cantidades que los otros nutrientes, la forma (NH_4^+ ó NO_3^-) de suministro del nitrógeno tiene una influencia considerable en su absorción (Haynes, 1986).

Estudios de distribución de plantas superiores muestran que las especies poseen ciertos atributos bioquímicos y fisiológicos que les permiten sobrevivir y explotar su nicho ecológico. Entre éstos atributos están las adaptaciones para absorber y asimilar la forma disponible del N (NO_3^- ó NH_4^+) presente en su medio de nutrición y la habilidad para usar eficientemente el bajo, fluctuante y a menudo localizado suministro de N (Taylor *et al.*, 1982).

Aunque las tasas de absorción de amonio no son afectadas por la presencia ó ausencia de nitratos, la presencia de amonio sí restringe ó reduce la absorción de los nitratos, lo que implica una preferencia por el NH_4^+ como fuente de N. Este hecho es más notable cuando la temperatura de las raíces es más baja que la del ambiente. Algunos sugieren que éste efecto de inhibición se debe a que los niveles citoplásmicos del amonio inhiben el mecanismo de absorción de los nitratos en la raíz. Otros creen que el producto final de aminoácidos con la nutrición con amonio es lo que inhibe la absorción de nitratos (Dean-Drummond, 1990; Haynes, 1986; Ullrich *et al.*, 1984).

Al respecto, Pilbeam y Kirkby (1990) señalan que en la inhibición de la absorción del NO_3^- por el NH_4^+ pueden estar implicados varios aspectos: a) inhibición en la actividad de la nitrato reductasa, b) depresión de la síntesis de la nitrato reductasa, c) depresión de la síntesis ó activación del sistema de absorción del NO_3^- , ó d) aceleración del eflujo del NO_3^- . Además mencionan que parece no existir competencia directa entre los dos iones por sitio particular de entrada hacia la raíz, ya que la presencia de NO_3^- no afecta la absorción de NH_4^+ . Sin embargo, debe tenerse en mente, que la proporción de NO_3^- que se reduce en la raíz es variable entre especies de plantas, por lo que el efecto del NH_4^+ en la asimilación del NO_3^- tampoco será el mismo en todas las plantas.

En la solución del suelo ó solución nutritiva tanto los cationes como los aniones están presentes en diferentes estados y concentraciones, por lo tanto se esperan varias interacciones en el proceso de absorción (Marschner, 1986).

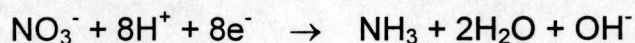
La competencia entre iones durante el proceso de absorción y el aumento de un ion por efecto de otro, son fenómenos fisiológicos comunes durante el proceso de acumulación de iones por las plantas. Generalmente el NH_4^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} y K^+ compiten entre ellos reflejando una competencia por las cargas negativas dentro de la célula, (relaciones de balance catión-anión) ó por los sitios de enlace en la membrana, donde el Mg^{2+} parece tener la menor afinidad. Frecuentemente el NH_4^+ reduce notoriamente la absorción del K^+ , aunque éste no tiene el mismo efecto sobre el amonio. La disminución de los otros cationes cuando la fuente es NH_4 , se debe principalmente al efecto de competencia a nivel de membrana ya sea por el propio amonio ó por el H excretado durante la absorción activa del amonio. Se asume también que una alta proporción del NH_4^+ no es absorbida en esta forma, sino que el NH_3 es el que atraviesa las membranas previa desprotonización

del NH_4^+ , dejando el H^+ en la solución externa. Algunos estudios demuestran que la desprotonización es muy importante a concentraciones altas de NH_4^+ en la solución, de ahí que las altas concentraciones de H^+ en el espacio libre de las raíces puede también inhibir el movimiento de los otros cationes via apoplasto (Haynes, 1986; Marschner, 1986). En comparación con el NO_3^- , la nutrición con NH_4^+ resulta generalmente en un incremento en la absorción de fósforo y azufre (Haynes, 1986).

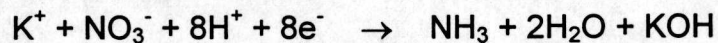
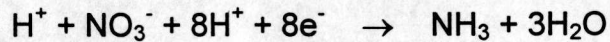
La nutrición con nitratos generalmente tiene un efecto contrario al amonio, esto es, estimula la absorción de cationes (K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , etc.) e inhibe la absorción de aniones, y puede ir acompañada también de la secreción de OH^- y HCO_3^- , todo ello para mantener la electroneutralidad de la planta (Barber, 1984a; Barber, 1984b; Layzell, 1990; Haynes, 1986). Sin embargo, con excepción del cloro, otros aniones no tienen efecto en la absorción del nitrato. El incremento en pH con la nutrición con NO_3^- produce condiciones favorables para la absorción de cationes (Haynes, 1986).

La velocidad de absorción de los cationes afecta la proporción de NO_3^- que son reducidos en las raíces. Con el K^+ como catión acompañante, la translocación del K^+ y los NO_3^- a la parte aérea es rápida, en consecuencia la reducción de los NO_3^- en la raíz es relativamente baja. En contraste cuando el Ca^{2+} ó Na^+ son los cationes acompañantes la reducción en la raíz es considerablemente más alta (Marschner, 1986; Pilbeam y Kirkby, 1990).

Cuando hay una absorción excesiva de cationes se incrementa el pH del citoplasma. Pero como el pH del citoplasma tiene que mantenerse dentro de ciertos rangos, el exceso de cationes es compensado por el aumento en la síntesis de ácidos orgánicos, con el subsecuente transporte de aniones orgánicos ácidos (R-COO^-) y cationes hacia la vacuola (Hageman, 1984; Marschner, 1986). Cuando el NO_3^- es la fuente exclusiva de N, comparativamente se absorbe más carga negativa (aniones) que carga positiva (cationes) debido a la demanda relativamente más alta de las plantas por el nitrógeno. Este exceso de carga negativa es compensada por el eflujo de OH^- de la raíz, lo que produce un incremento en el pH de la solución donde se desarrollan las plantas conforme se da el crecimiento (Pilbeam y Kirkby, 1990). La reducción del NO_3^- es la que origina los OH^- de acuerdo con la siguiente reacción:



También puede ser que para mantener la electroneutralidad al absorberse los NO_3^- , estos sean acompañados por cationes (H^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}) lo que ayuda también a la alcalinización del medio (Hageman, 1984):



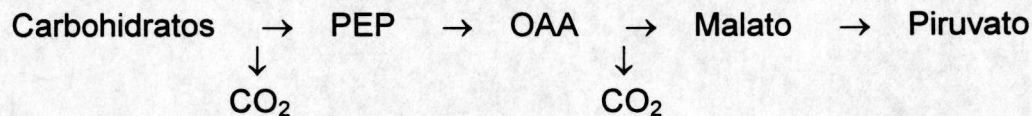
La carga negativa resultante puede ser acumulada dentro de la planta en forma de aniones orgánicos ó ser transferida al medio de nutrición con la secreción de OH^- . La síntesis de aniones orgánicos en respuesta a la reducción de NO_3^- y el consecuente incremento del pH celular, tiene la ventaja de que el OH^- es removido y el pH del citoplasma y la vacuola se mantiene dentro de límites estrechos. En términos de equivalentes la cantidad total de NO_3^- asimilados es igual a la suma de aniones orgánicos dentro de la planta y la cantidad de OH^- excretados al medio exterior (Hageman, 1984; Pilbeam y Kirkby, 1990).

Cuando hay una absorción excesiva de aniones el pH del citoplasma disminuye debido al cotransporte de protones-aniones a través de la membrana. Por lo tanto para mantener un pH más elevado en el citoplasma se requiere un aumento en la decarboxilación de los ácidos orgánicos suministrados de los órganos de almacenamiento (vacuolas). En el citoplasma existe un equilibrio entre la fijación del CO_2 (carboxilación) y la decarboxilación. Este equilibrio es regulado por el pH del citoplasma. Un aumento en el pH activa la enzima **PEP-carboxilasa** y se incrementa tanto la velocidad de fijación del CO_2 como la síntesis de oxaloacetato (OAA). Después que el OAA es reducido a malato por la enzima **malato-deshidrogenasa**, el malato puede ser transportado a la vacuola donde actúa como un contraión para los cationes. De manera alternativa el malato puede ser incorporado a la reserva de ácidos orgánicos del citoplasma del ciclo de Krebs, y otro ácido orgánico de ésta reserva (ácido cítrico) puede ser translocado a la vacuola, donde actúa como contraión para los cationes.

Sin embargo, si los aniones son absorbidos en exceso y así predomina el cotransporte anión-catión, el pH del citoplasma disminuye y la enzima málica es activada conduciendo

a una decarboxilación del malato y producción de CO_2 . Como resultado de estas reacciones se alcanza el equilibrio anión-catión y se estabiliza el pH de las células (Marschner, 1986).

El medio por el cual un cambio en pH dentro del citoplasma puede estimular la acumulación ó rompimiento de aniones orgánicos ácidos se da por el siguiente mecanismo:



La asimilación del NO_3^- puede influir en la dirección de estas reacciones por su efecto en el pH. Un incremento en el pH del citoplasma por la reducción del NO_3^- estimula la la enzima **PEP-carboxilasa** y por lo tanto induce la fijación de CO_2 y la formación transitoria de OAA previo a la acumulación de malato. Por otro lado, una disminución en el pH activa la decarboxilación enzimática del malato para formar piruvato (Hageman, 1984; Pilbeam y Kirky, 1990; Schweizer y Erismann, 1985)

La relación de absorción de cationes/aniones afecta no solamente el contenido de aniones orgánicos ácidos sino también el pH externo de la solución. El exceso en la absorción de aniones incrementa el pH externo, mientras que el exceso de absorción de cationes disminuye el pH externo. Alrededor del 70% de los aniones y cationes absorbidos por la raíz son representados ya sea por los NO_3^- ó por el NH_4^+ . Así, la forma en que es suministrado el N juega un papel importante tanto en el contenido de ácidos orgánicos en la planta como en el pH externo de la solución. El incremento en el pH de la solución por la absorción de NO_3^- es el resultado no solamente de la absorción preferencial de aniones sino también de la reducción de los NO_3^- , la cual produce OH^- . Si la reducción se lleva a cabo en la raíz, éstos OH^- pueden neutralizar los H^+ del citoplasma ó ser liberados a la solución externa. La forma de suministro de N afecta considerablemente tanto la composición mineral como el contenido de ácidos orgánicos en la planta (Marschner, 1986).

2.9. Asimilación del nitrógeno

2.9.1. Sitios de asimilación

Cuando los NO_3^- son absorbidos pueden ser almacenados (normalmente en vacuolas y órganos de almacenamiento) ó reducidos a compuestos orgánicos (aminoácidos y las amidas: glutamina y asparagina) en la raíz ó se pueden translocar sin cambio alguno hacia las hojas donde similarmente pueden almacenarse ó reducirse. Pero si la fuente es el NH_4^+ , virtualmente todo el NH_4^+ absorbido es asimilado rápidamente en la raíz y translocado en compuestos orgánicos (aminoácidos y aminos) a otras partes de la planta (Haynes, 1985; Layzell, 1990; Marschner, 1986). La acumulación de los NO_3^- en las vacuolas puede ser de considerable importancia para el balance anión-cation y para la osmoregulación sobre todo en la especies llamadas nitrofilicas, razones que algunos señalan como determinantes en la preferencia de muchas plantas por los NO_3^- , a pesar de sus altos requerimientos energéticos para su asimilación (Marschner, 1986; Salsac *et al.*, 1987).

Se pueden reconocer tres grandes grupos de plantas en relación al sitio dominante de la reducción del NO_3^- : **a)** en el xilema de plantas leñosas normalmente todo el N está en forma orgánica, por lo que se asume que la reducción del NO_3^- se lleva a cabo principalmente en la raíz. Además en varias de éstas especies no se ha encontrado actividad de la nitrato reductasa en las hojas; **b)** en contraste, existen plantas donde muy poca reducción del NO_3^- se lleva a cabo en la raíz, ya que la sabia del xilema contiene del 95 al 99% del nitrógeno como NO_3^- , y la actividad de la nitrato reductasa en la raíz no se detecta ó es insignificante. Si a éste tipo de plantas se les suministra el N en forma de NH_4^+ ó urea, grandes cantidades de amidas son sintetizadas en la raíz y transportadas por el xilema; y **c)** en la mayoría de las plantas se exhibe un patrón intermedio entre los dos grupos anteriores, con reducción considerable de NO_3^- tanto en hojas como en raíces pues existe actividad de la nitrato reductasa en ambas partes y el N del xilema se encuentra en forma de NO_3^- y orgánica (Haynes, 1986). Sin embargo, las tasas de absorción y la proporción de NO_3^- reducido en la raíz ó las hojas depende de cada especie y cultivares e híbridos dentro de una especie, (Andrews, 1986; Hageman, 1984; Haynes, 1986; Layzell, 1990; Pilbeam y Kirkby, 1990).

En general para plantas tropicales y subtropicales domina la reducción del NO_3^- en las hojas, mientras que en plantas de climas templados, particularmente a bajas concentraciones de NO_3^- en el medio, la reducción se lleva a cabo principalmente en la raíz (Andrews, 1986; Layzell, 1990).

En aquellas especies donde la mayoría de los NO_3^- son reducidos en la parte aérea, son sintetizados aniones orgánicos ácidos en el citoplasma y se almacenan en la vacuola para poder mantener tanto el balance anión-cation como el pH intracelular. Esto podría conducir a problemas osmóticos si la reducción de los NO_3^- no continuara después de la expansión foliar. Sin embargo, existen mecanismos para remover el exceso de solutos osmóticos del tejido: **a)** precipitación del exceso de solutos a formas osmóticamente inactivas. La síntesis de ácido oxálico para la compensación de carga en la reducción de NO_3^- y la precipitación de oxalato de calcio, son comunes en las plantas; **b)** retranslocación del N-reducido (aminoácidos, amidas) junto con cationes móviles por el floema, como el K^+ y Mg^{2+} , hacia áreas de nuevo crecimiento; **c)** retranslocación de aniones orgánicos ácidos, principalmente malato, junto con el K^+ hacia las raíces y liberación de aniones (OH^- y HCO_3^-) después de la decarboxilación. En intercambio por los aniones liberados, el NO_3^- puede ser absorbido sin la absorción de cationes, porque el K^+ interno actúa como un contraión para el transporte de larga distancia (Marschner, 1986; Mengel y Kirkby, 1987).

En algunas plantas un aumento en la concentración externa de NO_3^- aumenta fuertemente la reducción de NO_3^- en las hojas con la consecuente disminución en la raíz. Por otro lado, la mayor capacidad de reducción en la raíz se da durante las primeras etapas de desarrollo y conforme la planta madura la actividad de la raíz tiende a disminuir, mientras que las hojas tienden a reducir la proporción creciente de NO_3^- absorbido. La gran cantidad de carbohidratos que se requieren para la reducción del NO_3^- en las raíces es uno de los factores que limitan la capacidad de las raíces para la reducción de los NO_3^- (Haynes, 1986; Marschner, 1986). En las hojas, pero no en las raíces, la reducción de los NO_3^- y del CO_2 compiten por los reductores y el ATP de la fotosíntesis. Esta competencia podría traer consecuencias ecológicas importantes para la adaptación de las plantas a condiciones de alta y baja luminosidad (Marschner, 1986).

Durante la ontogénesis de una hoja se observa un patrón típico de reducción de NO_3^- . La actividad máxima de la NR ocurre cuando la velocidad de expansión foliar es máxima y

declina rápidamente después de que las hojas están completamente expandidas. En consecuencia los niveles de NO_3^- son altos. En las raíces la actividad de la **NR** es alta en células en expansión de las zonas apicales y disminuye rápidamente hacia las zonas basales de la raíz (Marschner, 1986).

Ya que los NO_3^- casi no se mueven por el floema, los altos niveles de NO_3^- en las hojas totalmente expandidas son de uso limitado para el metabolismo del N en la planta. Por lo tanto los NO_3^- son almacenados en células individuales casi exclusivamente en las vacuolas. La liberación de NO_3^- de las vacuolas al citoplasma puede convertirse en un paso limitante para la reducción del NO_3^- y así para la utilización de NO_3^- almacenado en los procesos del crecimiento. La interrupción del suministro de NO_3^- a la raíz puede por lo tanto conducir a una caída en la actividad de la **NR** en las hojas y crecimiento de la parte aérea, a pesar de que todavía exista un alto contenido de NO_3^- en el tejido. Estos resultados tienen consecuencias importantes para el tiempo de aplicación de los fertilizantes (Marschner, 1986).

En las hojas verdes existe un patrón diferente en la reducción de NO_3^- del que se da en las raíces, dependiendo de las condiciones de luz. De acuerdo con los mecanismos de reducción de NO_3^- , este efecto de la luz refleja la fluctuación en los niveles de carbohidratos y en el correspondiente suministro de equivalentes reductores (ferredoxina y NADPH). Las hojas que crecen en condiciones de luz baja tienen niveles bajos de **NR** y su actividad se incrementa cuando las condiciones normales de luz se restablecen. Plantas que son cultivadas permanentemente en condiciones de baja intensidad lumínica (como en los invernaderos) pueden contener concentraciones de NO_3^- varias veces más altas que aquellas cultivadas con mayor luz (campo abierto). Esto es más evidente en plantas de la familia de las quenopodáceas que acumulan gran cantidad de NO_3^- en las vacuolas para la osmoregulación. En estas plantas la acumulación puede ser mayor en los peciolo que en la lámina foliar, el principal sitio de reducción. Además en ambos sitios la cantidad de NO_3^- disminuye durante el período de luz (Marschner, 1986).

2.9.2. Amonio

A pesar de los diferentes sitios de asimilación del NH_4^+ (raíces, nodulos de las raíces, hojas), las enzimas clave involucradas son en todos los casos, la glutamina-sintetasa (**GS**,

EC:6.3.1.2) y la glutamato-sintetasa ó también conocida como la glutamina - oxoglutarato - aminotransferasa (**GOGAT**, EC: 1.4.1.14). Ambas enzimas se han encontrado en raíces, cloroplastos, y microorganismos fijadores de N₂ y existen evidencias convincentes de que la asimilación de la mayoría si no es que todo el NH₄⁺ derivado de la absorción, fijación del N₂, reducción del NO₃⁻ y de la fotorespiración es mediado por la ruta de la **GS-GOGAT** (Kumar y Abrol, 1990; Marschner, 1986; Layzell, 1990; Lea, 1993).

En la Fig. 2 se resume el proceso global de la asimilación del NH₄⁺ por esta ruta, en la cual el aminoácido glutamato actúa como el aceptor del NH₃ y se forma la amida glutamina. El glutamato es una de las primeras formas de N-orgánico sintetizadas en las plantas, y su metabolismo subsecuente es central para la síntesis de virtualmente todos los compuestos nitrogenados dentro de la planta (Layzell, 1990; Lea, 1993; Marschner, 1986; Oaks, 1994b).

La **GS** tiene una alta afinidad por el NH₃ (valores de Km bajos, 3-5 µM) por lo que es capaz de incorporar el NH₃ aún a concentraciones muy bajas. La **GS** es activada por valores altos de pH y altas concentraciones tanto de Mg como de ATP, y los tres se incrementan en el estroma cuando hay iluminación (Kumar y Abrol, 1990; Marschner, 1986; Lea, 1993; Vance y Griffith, 1990). De acuerdo con Layzell (1990) y Oaks (1994b), la reacción es la siguiente:



La reacción requiere un catión divalente (Mg²⁺, Co²⁺, Mn²⁺) como cofactor de la **GS**. Ya que la **GS** se localiza tanto en citoplasma como en cloroplasto, indica que debe existir más de una forma de la enzima (Kumar y Abrol, 1990). Se han identificado varias isoenzimas de la **GS** (**GS**₂ en plantas C₃, **GS**₁ en plantas C₄ y MAC) (Layzell, 1990), aunque Vance y Griffith (1990), menciona que estas isoenzimas están relacionadas con los diferentes órganos de la planta, en hojas domina **GS**₁ en citoplasma y **GS**₂ en cloroplasto y en raíces domina la **GS**₁. Por otra parte, Lara *et al.*, (1984) encontraron en frijol cinco isoenzimas de la **GS**, dos en las hojas, una en raíces y dos en los nódulos. En las hojas, la **GS** es dependiente de la ferredoxina y la **GOGAT** del NADPH (Kumar y Abrol, 1990). Cuando se inhibe la fotorespiración con sólo la **GS** del citoplasma se puede

alcanzar un crecimiento óptimo de la planta, pero si la fotorespiración es alta, si se elimina la **GS** de los plastidios es letal (Oaks, 1994a).

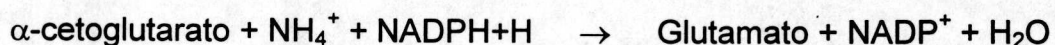
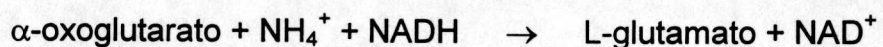
La **GOGAT**, cataliza la transferencia reductiva del grupo amino ($-\text{NH}_2$) de la amida glutamina formada por la **GS** a la posición 2-oxo del 2-oxoglutarato, el cual proviene del ciclo del ácido tricarboxílico, para formar dos moléculas de glutamato. Para esta reacción se requiere ya sea de la ferredoxina reducida (del fotosistema I) ó del NADPH (de la respiración). De las dos moléculas de glutamato formadas, una es para mantener el ciclo de asimilación del NH_4^+ y la otra puede ser utilizada para la biosíntesis de aminoácidos, ácidos nucleicos, proteína, poliaminas, etc., (Kumar y Abrol 1990; Vance y Griffith, 1990; Oaks, 1994b). Como una alternativa cuando el suministro de NH_3 es alto, las dos moléculas de glutamato pueden actuar como aceptores de NH_3 y una molécula de glutamina sale del ciclo (Haynes, 1986; Marschner, 1986).

La **GOGAT** se encuentra en plastidios en raíces (dependiente de NADPH y ferredoxina) y cloroplastos en hojas (dependiente de ferredoxina) (Kumar y Abrol, 1990; Oaks, 1994a). Existen dos tipos de la enzima **GOGAT** que difieren en su naturaleza del donador de electrones (e^-). La ferredoxina es el donador de e^- en cianobacterias, algas verdes y tejidos fotosintéticos de plantas superiores, mientras que los nucleótidos de piridina, generalmente NADPH en bacterias y NADH en plantas superiores, sobre todo en raíces, son los otros donadores (Haynes, 1986; Lea, 1993; Oaks, 1994a). Esta diferencia por el donador de e^- al parecer se debe a que las proteínas de la enzima son diferentes (Lea, 1993).

Una segunda ruta de control de la asimilación del NH_4^+ es representada por la **aspartato aminotransferasa** (AAT, EC:2.6.1.1), la **asparagina sintetasa** (AS, EC:6.3.5.4) y la fosfoenol piruvato carboxilasa (PEPC, EC:4.1.1.3), las cuales controlan el flujo de esqueletos de carbono entre la biosíntesis de ácidos orgánicos y diferentes aminoácidos y la formación de los aminoácidos clave aspartato y asparagina (Oaks, 1994a; Vance y Griffith, 1990).

Otra enzima, la **glutamato deshidrogenasa** (GDH, EC:1.4.1.3), es usualmente también considerada como una enzima que participa en la asimilación del NH_3 bajo ciertas condiciones (Layzell, 1990; Marschner, 1986; Vance y Griffith, 1990), sobre todo a altas concentraciones de NH_4^+ (Marschner, 1986), estrés por falta de luz y senescencia (Kumar

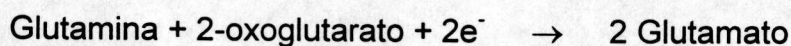
y Abrol, 1990). La **GDH** se encuentra tanto en mitocondria como en cloroplasto y es dependiente del NADH y NADPH respectivamente (Kumar y Abrol, 1990).



Sin embargo, la **GDH** tiene una afinidad muy baja por el NH_3 (altos valores de **K_m**, usualmente arriba de 5 μM) por lo que no podría competir con la **GS** que tiene valores muy bajos en su **K_m**, y se localiza principalmente en las mitocondrias de las células de la raíz y las hojas, lo cual es inconsistente con la necesidad de mantener una concentración de NH_3 intracelular muy baja (Kumar y Abrol 1990; Marschner, 1986; Layzell, 1990). Los valores bajos de **K_m** de la enzima pueden indicar que probablemente la asimilación se lleva a cabo cuando la concentración de NH_4^+ es inusualmente alta; de hecho se encuentran mayores concentraciones de la enzima en raíz que en las hojas cuando la concentración de NH_4^+ en el medio es alta (Haynes, 1986). Sin embargo, esta ruta ha sido cuestionada, Lea (1993) y Vance y Griffith (1990) mencionan que ésta enzima ubicua (la **GDH**) funciona más bien en el catabolismo de la molécula de glutamato para producir 2-oxoglutarato que entra al metabolismo del ciclo del ácido tricarboxílico (Lea, 1990 Oaks, 1994a), y es importante durante el crecimiento ó senescencia (Vance y Griffith, 1990).

Por otra parte, Layzell (1990) menciona que cuando se aplican inhibidores (MSO) de la **GS** y de la **GOGAT** (AZA), se observa una acumulación de NH_4^+ y se bloquea su incorporación a la síntesis de aminoácidos. Al parecer la única puerta de entrada del NH_3 a la síntesis de aminoácidos en las plantas superiores, es a través de la **GS** (Lea, 1993). Aunque no debe descartarse la posibilidad de que en la mitocondria la **GDH** cumpla funciones anapleróticas remplazando los aminoácidos que son incorporados a proteínas ó exportados de las raíces ó parte aérea al xilema y floema (Yamaya y Oaks, 1987). También es posible que la **GDH** pueda tener un papel en la catálisis inversa de la formación de glutamato originando NH_4^+ y 2-oxoglutarato, lo que puede ser una reacción

importante en el remplazamiento de intermediarios del ciclo de Krebs durante el catabolismo de proteínas (Layzell, 1990; Oaks, 1994a).



Entre las fuentes primarias y secundarias de NH_3 , la fotorespiración es predominante en términos cuantitativos. Se ha estimado que más de 80 μM de NH_3/g de tejido/hora son liberados en plantas C_3 . Este NH_3 liberado es reasimilado, en un ciclo de N durante la fororespiración, por la **GS** del citoplasma para producir glutamina, la cual luego entra al cloroplasto donde es acoplada al 2-oxoglutarato por la **GOGAT** para producir dos moléculas de glutamato. Una molécula de glutamato dona un grupo α -amino al glioxilato en el peroxisoma para producir glicina. La segunda molécula de glutamato es usada para sintetizar glutamina. A pesar de la reasimilación de NH_3 en las plantas, es probable que el NH_3 que no pueda ser reincorporado se pierda hacia la atmósfera, proceso que se acentúa durante el desarrollo del grano y durante la senescencia (Kumar y Abrol, 1990).

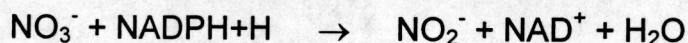
Tanto por los descubrimientos experimentales como por las consideraciones teóricas, parece ser que casi todo el NH_4^+ asimilado es translocado, a la parte aérea ó entre diferentes tejidos, en compuestos ricos en N ($\text{N/C} > 0.4$) como aminoácidos, amidas y compuestos relacionados (glutamina 2N/5C, asparagina 2N/4C, arginina 4N/6C, allantoina 4N/4C) para su posterior utilización, lo que ayuda a eficientizar el uso del carbono (Lea, 1993; Marschner, 1986). La asimilación del NH_4^+ en las raíces requiere de altas cantidades de carbohidratos para proporcionar los esqueletos de carbono en la síntesis de aminoácidos y amidas, independientemente de la fuente de NH_4^+ (reducción del NO_3^- , fijación biológica de N_2 (Marschner, 1986).

Una vez que los compuestos transportadores de N llegan al sitio donde se requieren son hidrolizados para liberar nuevamente NH_3 , el cual se vuelve a reasimilar por la ruta de la **GS-GOGAT**. Por ejemplo, la asparagina que es un compuesto casi universalmente utilizado por las plantas para almacenar y transportar el N, es hidrolizada por la enzima asparaginasa para producir aspartato y NH_3 (Fig. 2) Algunas ureidas (alantoina, ác. alantoico, citrulina; las cuales están basadas en la estructura de la urea), son los principales compuestos transportadores en la fijación biológica de N_2 en algunas

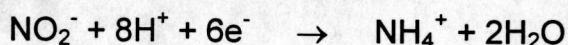
leguminosas y una vez que llegan a las hojas ó a las semillas en desarrollo son metabolizadas a formas utilizables del N. Inicialmente se consideró que después de la hidrólisis de la alantoina a ácido alantoico por la alantoinasa, la ureida era descompuesta en dos moléculas de urea y glioxilato. Sin embargo, el papel de la urea y su consecuente metabolismo por la ureasa para producir CO_2 y NH_3 ha sido cuestionado, por lo que se ha propuesto un segundo mecanismo, en el cual los cuatro átomos de N del ácido alantoico, son liberados directamente como NH_3 , sin producir urea como un intermediario (Fig. 2) (Lea, 1993).

2.9.3. Nitrato

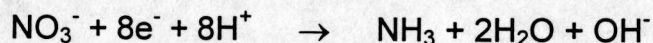
La importancia de la reducción y asimilación del NO_3^- para la vida de las plantas es similar a la reducción y asimilación del CO_2 en la fotosíntesis (Marschner, 1986). De acuerdo con Layzell (1990), Lea (1993) y Vance y Griffith (1990), la reducción se lleva a cabo en dos pasos mediados por las enzimas nitrato reductasa (**NR**, EC:1.6.6.1) que lleva el NO_3^- a NO_2^- y nitrito reductasa (**NiR**, EC:1.6.6.4) que lleva el NO_2^- a NH_4^+ . La reacción catalizada por la **NR** es:



y la reacción catalizada por la **NiR** es:



y de manera general el mecanismo de reducción aceptado actualmente es como sigue (Marschner, 1986):



Sin embargo, de acuerdo con Oaks (1994b) la reducción de NO_3^- a NO_2^- se lleva a cabo por el NADH, el cual resulta de la oxidación del malato que proviene de un intercambio con el oxalacetato entre el cloroplasto y el citoplasma, ó la mitocondria y el citoplasma. Según ésto, dentro del organelo se da la reducción del oxalacetato para formar malato ($\text{oxalacetato} + \text{NADPH} \rightarrow \text{Malato} + \text{NADP}$), el malato se intercambia por otro oxalacetato y

sale al citoplasma, donde es oxidado a oxalacetato produciendo el NADH que se usará en la reducción del NO_3^- (malato + NAD $\rightarrow$ oxalacetato + NADH). Por su parte la reducción de NO_2^- a NH_3 es llevada a cabo en el cloroplasto donde se usa directamente la ferredoxina y ATP que ahí se producen.

En general se considera que la **NR** es una enzima del citoplasma pero algunas evidencias sugieren que se encuentran en la parte externa de las membranas del cloroplasto ó los plastidios en las raíces, para que inmediatamente que se forman los NO_2^- pasen al cloroplasto ó los plastidios para seguir la reducción por la **NiR** que se encuentra en el interior de los plastos (Layzell, 1990; Lea, 1993).

Estas enzimas son de acción y estructura complejas, pero se sabe que la **NR** por ejemplo, tiene varios grupos prostéticos (Marschner, 1986), incluye además varios campos de dominio dados por 2 FAD, 2 Citocromo b_{557} y 2 Molibdenos como cofactores (Layzell, 1990; Vance y Griffith, 1990). Se encuentra localizada en el citoplasma y requiere ya sea de $\text{NADH}+\text{H}$ ó $\text{NADPH}+\text{H}$ como donadores de e^- . Durante la reducción, los e^- son directamente transferidos del reductor, siguiendo la secuencia: $\text{NADH}+\text{H} \rightarrow \text{FAD} \rightarrow \text{Citocromo } b_{557} \rightarrow \text{Mo} \rightarrow \text{NO}_3^-$ (Layzell, 1990; Lea, 1993). El sitio activo donde se da la reducción del NO_3^- está dentro del campo de dominio del Mo (Layzell, 1990). Otro compuesto como el flavin mononucleótido reducido ($\text{FMNH}+\text{H}$) puede donar e^- directamente al Mo para la reducción del NO_3^- (Vance y Griffith, 1990). La **NR** tiene una vida de tan sólo unas horas, está presente en muy bajas cantidades cuando las plantas no reciben NO_3^- , pero puede ser rápidamente inducida después de pocas horas de recibir NO_3^- , por reguladores de crecimiento (citocininas), y por la luz (probablemente a través del fitocromo) (Lea, 1993). La **NR** puede inhibirse por la presencia de NH_4^+ y ciertos aminoácidos y amidas. En las raíces el efecto inhibitorio del NH_4^+ parece ser debido parcialmente a la acidificación, la cual está relacionada con la nutrición con NH_4^+ . También la actividad de la **NR** es muy dependiente de la cantidad de Mo presente en la planta, y la rápida respuesta al suministro de Mo puede ser usada para determinar el estado nutrimental de la planta (Marschner, 1986). Existen algunos sustratos alternativos como los cloratos, bromatos y iodatos que pueden ser reducidos a cloritos, bromitos y ioditos, respectivamente, por la **NR** (Layzell, 1990).

La **NR** también puede catalizar algunas reacciones parciales en las cuales los e^- son pasados a través de uno ó dos de los campos de dominio de la enzima. Aunque estas reacciones no son de importancia fisiológica han servido para conocer la estructura y propiedades de la enzima. Existen dos tipos de reacciones parciales: **a)** las reacciones de la deshidrogenasa reciben e^- del $NADH+H$ al campo de dominio del FAD y los pasan directamente ó a través del Citocromo b_{557} , para reducir citocromo c, ferricianida, azul de metileno ó citrato férrico. Ya que el citrato férrico puede ser usado en la síntesis de porfirinas ésta es una reacción parcial que puede tener relevancia fisiológica, además como lo menciona Layzell (1990), sirve también para mantener activa a la **NR** aún en ausencia de NO_3^- , **b)** las reacciones de la reductasa usan donadores de e^- tales como $FADH+H$ ó metil viológeno reducido para pasar los e^- al campo de dominio del citocromo b_{557} ó Mo para reducir NO_3^- u otros sustratos en el sitio activo del campo de dominio del Mo (Layzell, 1990; Vance y Griffith, 1990).

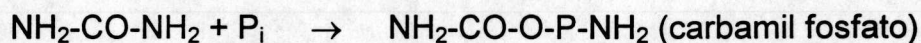
Existen varios elementos que indican que la **NR** es la enzima que controla la reducción de los NO_3^- , ya que es la primera que actúa en la ruta de la asimilación, el producto tóxico (NO_2^-) de su acción rara vez se encuentra en altas cantidades, es una enzima relativamente inestable y su actividad es inducida por el sustrato, además la actividad es como 5 veces más baja que la actividad de la **NiR** y sus valores de **Km** son más altos (Layzell, 1990; Vance y Griffith, 1990). En plantas C_4 las células de la vaina y las células del mesófilo difieren en sus funciones no solamente en la asimilación del CO_2 sino también en la asimilación del NO_3^- . Tanto la **NR** como la **NiR** se localizan en las células del mesófilo y están virtualmente ausentes en las células de la vaina. Esto ha conducido a una especulación interesante de que la mayor eficiencia del N (% de N en la materia seca por producción de materia) en plantas C_4 es debido a la división del trabajo, donde las células del mesófilo utilizan la energía para la reducción del NO_3^- y las células de la vaina para la reducción del CO_2 (Marschner, 1986; Oaks, 1994b). La **NiR** convierte el NO_2^- a NH_4^+ sin la liberación de intermediarios. La **NiR** es también regulada por la presencia de NO_3^- y por la luz (Lea, 1993; Marschner, 1986; Oaks, 1994a), está asociada con los cloroplastos de las hojas y con los proplastidios en las raíces. En las hojas el donador de e^- es la ferredoxina reducida, generada en el día por el fotosistema I y en la oscuridad vía la respiración (Marschner, 1986). En las raíces la ferredoxina está ausente, y otro

compuesto todavía no identificado podría servir como transportador de e^- entre el NADPH y la **NiR** (Marschner, 1986); aunque de acuerdo con Oaks y Hirel (1985) y Bowsher (1992) citados por Oaks (1994b), también en las raíces la ferredoxina es el donador de electrones.

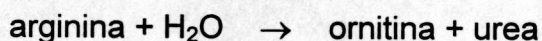
2.9.4. Urea

Una vez que la urea es absorbida se puede hidrolizar, ya sea en las raíces ó después de ser transportada a las hojas, por la enzima **ureasa** (EC:3.5.1.5) para formar NH_3 y CO_2 (Bidwuell, 1979; Harper, 1984; Haynes, 1986) y al parecer no hay diferencias en la incorporación y distribución del carbono proveniente de la urea ó el carbono de la fuente normal (CO_2) (Bidwuell, 1979). La **ureasa** es una enzima ampliamente distribuída entre las plantas y se encuentra en las hojas, raíces y cortex con una actividad mucho más alta en tejidos en crecimiento que senescentes (Haynes, 1986). Al respecto, Harper (1984) menciona que la translocación de la urea a la parte aérea depende de la ausencia de la **ureasa** en las raíces, lo que al parecer depende de cada especie de planta. Bollard (1959) citado por Harper (1984) no detectó actividad de **ureasa** en melón, frijol, jitomate, maíz, papa y apio, aunque se cuestiona también la metodología empleada. El NH_3 formado por la acción de la **ureasa**, es luego metabolizado por la ruta normal de la asimilación del N (vía **GS-GOGAT**) (Bidwuell, 1979; Haynes, 1985; Marschner, 1986; Layzell, 1990; Lea, 1993).

Existe controversia en si la urea puede ser incorporada directamente al metabolismo del N en la planta; Haynes (1986) menciona que no se conoce que la urea sea incorporada a compuestos orgánicos; sin embargo, Bidwuell (1979) y Harper (1984) sugieren que la urea podría ser incorporada directamente al metabolismo del N en la planta al condensarse con la ornitina para formar arginina. Otras alternativas podrían ser la conversión directamente a carbamil fosfato, un precursor de las pirimidinas y del aminoácido citrulina (Bidwell, 1979) ó incorporada directamente a la alantoína via el ácido alantoico (Harper, 1984).



Por otro lado, Haynes (1986) menciona que la urea normalmente se forma en las plantas como resultado de la hidrólisis de la arginina a ornitina catalizada por la enzima **arginasa** (EC:3.5.3.1)



Al respecto, Bidwell (1979) menciona que no se ha encontrado en plantas el ciclo de la ornitina (propio de animales) donde se forma urea, Sin embargo, se han identificado todos sus componentes. Si la urea se absorbe directamente por las plantas es posible que a altas concentraciones pueda afectar la estructura de varias enzimas. Recientemente Wedding *et al.*, (1992) reportan que a concentraciones arriba de 1 M afecta la actividad de la **PEP-carboxilasa**, se supone que cambia la configuración de la enzima alterando los puentes de hidrógeno de su estructura. Se sabe también que la urea tiene efectos similares en enzimas como la **fumarasa**, **glutamato deshidrogenasa** y la **fosfofructokinasa**, por lo que se podrían alterar procesos metabólicos importantes en la planta (Wedding *et al.*, 1992).

2.9.5. Factores que afectan la asimilación

En condiciones de luz, la actividad de la **NR** se incrementa considerablemente (Layzell, 1990; Vance y Griffith, 1990) debido quizás a la mayor concentración de los NO_3^- en las hojas los cuales llegan con el flujo de agua de la transpiración ó porque salen de las reservas de la vacuola donde están almacenados (Layzell, 1990).

Los NO_3^- podrían controlar la acción de la enzima ya sea por la inducción de síntesis, activación, ó control de la degradación de la proteína de la **NR** (Vance y Griffith, 1990). Los reductantes como el $\text{NADH}+\text{H}$, $\text{NADPH}+\text{H}$ y la ferredoxina son sustratos importantes para la **NR** y **NiR**, los cuales pueden estar involucrados en la regulación de la asimilación del NO_3^- en luz y oscuridad. En el tejido fotosintético, las reacciones luminosas en el cloroplasto pueden ser la fuente principal de e^- para la reducción del NO_3^- y la asimilación del NH_4^+ (Layzell, 1990; Turpin y Weger, 1990).

Aunque también pueden recibir los e^- del ciclo de las triosas fosfato ó por ciclos del malato/aspartato. La **NiR** por ser una enzima del cloroplasto puede recibir los electrones

directamente de la ferredoxina reducida. En obscuridad las tasas de asimilación de NO_3^- son más pequeñas y la fuerza reductora debe ser provista a través de la oxidación en la mitocondria ó extra mitocondria de las reservas de carbohidratos almacenados (malato por ejemplo). De manera similar en la raíz y otros órganos no fotosintéticos los carbohidratos suministrados por el floema son oxidados en la mitocondria para proveer el poder reductor a la **NR** y **NiR**. En estas condiciones la asimilación del NO_3^- y NH_4^+ debe competir con otros procesos celulares y la disponibilidad del poder reductor es probable que sea una limitante mayor en tejidos no fotosintéticos ó en obscuridad que en tejidos fotosintéticos y alta luminosidad (Layzell, 1990; Turpin y Weger, 1990; Weger y Turpin, 1989).

Cuando la fuente de N es el NO_3^- se incrementa la actividad de la **NR**, lo cual es lógico ya que esta enzima es sustrato-inducible. Sin embargo, la actividad de la **GS** y la **GOGAT** no cambia considerablemente si las plantas son alimentadas con NH_4^+ ó NO_3^- , presumiblemente porque son utilizadas cualquiera sea la forma de N absorbida inicialmente. Pero cuando sólo se usa NH_4^+ se incrementa la actividad de la **GDH**, por lo que se cree que está involucrada en la asimilación del NH_4^+ cuando es suministrado en altas cantidades (Taylor *et al.*, 1981; Haynes, 1986). Parece ser que las diferencias cuantitativas en los niveles de enzimas, influidos por los controles de síntesis/degradación ó activación/inactivación constituyen la forma por la cual las plantas se adaptan a fluctuaciones en el suministro de N (Haynes, 1986).

2.10. El papel del NH_3 en el metabolismo de las plantas

Un aspecto interesante es que en diferentes procesos metabólicos de las plantas, continuamente se está formando NH_3 (Fig. 2). En la literatura es común referirse indistintamente al NH_3 ó NH_4^+ ya que se encuentran en equilibrio dentro de la célula ($\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} \longleftrightarrow \text{NH}_4^+ + \text{OH}^-$) y en varios procesos fisiológicos no está claro a cual de ellos atribuirle el efecto que estas formas producen en el metabolismo.

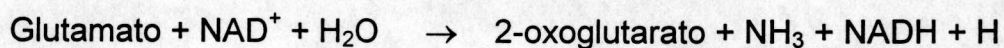
En general, si el NH_4^+ es absorbido ó producido dentro de la planta, rápidamente es asimilado formando aminoácidos, amidas y compuestos relacionados para el transporte subsecuente a la parte aérea, pues es extremadamente tóxico si se acumula en los

tejidos y la planta no tiene otro mecanismo para tratar esta acumulación, que la asimilación (Haynes, 1986; Layzell, 1990; Marschner, 1986; Vance y Griffith, 1990). Esto se debe probablemente a que la evolución de las plantas terrestres se llevó a cabo bajo limitantes de nitrógeno y con NO_3^- como fuente principal disponible, así que, existió poca presión para desarrollar un mecanismo que regulara la acumulación de NH_4^+ (Haynes, 1986). Comparado con el NO_3^- , poco NH_4^+ es almacenado en el tejido de la raíz ó transportado directamente hacia la parte aérea por el xilema (Layzell, 1990).

Existen varias fuentes primarias y secundarias de NH_3 en el tejido de las plantas. Las principales rutas se describen a continuación: **a)** El NH_3 es el producto inicial de la asimilación (reducción) del NO_3^- y de la fijación biológica del N_2 , **b)** La absorción del propio NH_4^+ y el que resulta de la hidrólisis de la urea **c)** Durante el metabolismo de la glisina, asparagina, ácido alantoico, arginina cisteína, fenilalanina, tirosina, canavanina, mono y diaminas, entre otras, hay liberación de NH_3 (Kumar y Abrol, 1990; Haynes, 1986; Marschner, 1986; Vance y Griffith, 1990). Por ejemplo, el NH_3 es liberado en grandes cantidades durante la fotorespiración en la conversión de glisina a serina ($2 \text{ Glisina} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Serina} + \text{CO}_2 + \text{NH}_3 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^-$), y luego es reasimilado en su mayor parte en los cloroplastos por la ruta **GS-GOGAT** (Canvin, 1990; Joy, 1988; Layzell, 1990; Lea, 1993). La fotorespiración involucra la oxidación de intermediarios del proceso de fotosíntesis, lo que resulta en un retorno de CO_2 a la atmósfera. Es un proceso que ocurre principalmente en plantas C_3 en condiciones de alta luminosidad y temperatura, donde el O_2 compite con el CO_2 por la **ribulosa bisfosfato carboxilasa/oxigenasa** (Rubisco). La actividad oxigenasa de esta enzima forma 2 fosfoglicolatos los cuales entran al ciclo del glicolato para convertirse en ácido 3-fosfoglicérico (Canvin, 1990; Layzell, 1990). Se ha calculado que bajo condiciones normales de crecimiento, el flujo de NH_3 producido por la fotorespiración puede ser de mayor magnitud que el que se fija durante la asimilación primaria de NH_3 (Haynes, 1986; Lea, 1993; Oaks, 1994a), llegando a alcanzar valores superiores (10-20 veces) (Layzell, 1990) ó mayores Canvin (1990). Así, la asimilación del NH_3 en las hojas es probable que sea cuantitativamente más importante que la asimilación primaria y si no se llevara a cabo, entonces serían rápidamente agotadas las reservas del nitrógeno orgánico en la planta. La acción combinada de la **GS** y de la **GOGAT** juegan un papel principal en la reasimilación del NH_3 . El NH_3 liberado por la

glicina en la mitocondria es reasimilado por la **GS** del citoplasma a glutamina. Luego la glutamina y el 2-oxoglutarato se mueven al cloroplasto donde en la presencia de ferredoxina y **GOGAT**, se forman dos moléculas de glutamato. Una de éstas moléculas se convierte en el aceptor de otra molécula de NH_3 . Puede existir cierta pérdida de NH_3 hacia la atmósfera sobre todo en tejidos senescentes (Haynes, 1986). Ya que la fotorespiración es más importante en plantas C_3 , entonces la formación de NH_4^+ por esta ruta será de poca importancia en plantas C_4 . De hecho se ha observado una acumulación de NO_3^- en plantas C_3 durante la fotorespiración, lo que se atribuye a una competencia directa por el poder reductor para las reacciones de la asimilación del NO_3^- y para llevar a cabo la fotorespiración (Oaks, 1994b), **d)** Durante el rompimiento de las moléculas transportadoras de N (glutamina, asparagina, arginina, ureidas, etc.) se libera NH_3 , el cual también es reasimilado por la ruta **GS-GOGAT**. Se sabe que la alantoína es convertida a ácido alantoico via la alantoinasa. El ácido alantoico es clave para producir glyoxilato y urea la cual por acción de la ureasa se rompe para producir CO_2 y NH_3 (Kumar y Abrol, 1990; Shelp, 1985).

e) En algunas reacciones metabólicas que involucran aminoácidos hay liberación de NH_3 ; específicamente, en la conversión de fenilalanina a cinamato en la producción de ligninas, en la conversión de cistationina a homocisteína en el proceso de síntesis de la metionina, y en la conversión de treonina a 2-oxobutirato en la biosíntesis de isoleucina, **f)** En el catabolismo de proteínas, mediante la hidrólisis en los procesos de germinación de semillas y senescencia de las hojas, existen evidencias de que antes de que se formen los compuestos transportadores, se libera NH_3 , probablemente por la operación de la **GDH**:



El grupo amino de los aminoácidos puede ser canalizado a través del glutamato, liberando 2-oxo-ácidos que pueden ser metabolizados para la producción de energía (Joy, 1988; Lea, 1993). Durante la senescencia existe una degradación (proteolisis) rápida de la Rubisco y otras proteínas, que después de una serie de reacciones que involucran a la glutamina y asparagina, finalmente hay formación de NH_3 . Muchas de las reacciones que involucran deaminaciones contribuyen a la reserva interna de NH_3 .

Ciertos aminoácidos como la arginina, cisteína, serina, triptofano y fenilalanina son deaminados durante su catabolismo con la liberación de NH_3 . La arginina por acción de la arginasa produce ornitina y urea. La ornitina puede ser transaminada para dar semialdehído glutámico, el cual se transforma en glutamato. La urea formada es hidrolizada a CO_2 y NH_3 ; así, de los cuatro átomos de N en la arginina, dos pueden ser salvados en el grupo amino del glutamato y dos son liberados como NH_3 . La arginina también puede ser degradada por otra ruta que involucra la acción de las enzimas arginina decarboxilasa, agmatinas iminohidrolasa y la N-carbamil putrescina aminohidrolasa para producir putrescina, CO_2 y NH_3 . Ciertas leguminosas almacenan gran cantidad de aminoácidos no proteicos como canavanina en las semillas, la cual durante la germinación se rompe rápidamente a canalina y urea por la enzima aginasa (Kumar y Abrol, 1990).

Los controles que operan en el metabolismo del N tienden a asegurar que no sea generado NH_3 internamente bajo condiciones que no pueda ser asimilado. Por ejemplo, la reducción del NO_3^- dentro de las hojas sólo ocurre en la presencia de luz y CO_2 (condiciones necesarias para la síntesis de carbohidratos) y en las raíces cuando existe suficiente suministro de carbohidratos para producir la energía que se requiere en la reducción y al mismo tiempo los esqueletos de carbono para la asimilación (Haynes, 1986), aunque la regulación de la asimilación del N está influenciada por varios factores y muchas veces no es completamente entendida debido a la interacción que existe entre estos factores. Por ejemplo, la actividad de la **NR** fluctúa en respuesta a cambios en las condiciones ambientales como luz, temperatura, pH, presión de CO_2 y O_2 , potencial hídrico, fuente de N, entre otros. Además, la regulación parece ser diferente entre especies así como entre las diferentes partes de la planta (Guerrero *et al.*, 1981; Lee, 1980).

2.11. Efecto del nitrato, amonio y urea en el desarrollo de la planta

Como regla general las plantas calcífugas (plantas adaptadas a suelos ácidos) y plantas adaptadas a bajos potenciales redox (como el arroz) tienen preferencia por el NH_4^+ . Por el

contrario las plantas calcícolas (plantas que prefieren suelos calcáreos y valores altos de pH) utilizan preferentemente el NO_3^- (Marschner, 1986).

Las ventajas de alguna forma de absorción depende de las condiciones del medio y del tipo de plantas. Algunas ventajas del uso de NO_3^- sobre el NH_4^+ pueden estar relacionadas con la dificultad que muchas plantas tienen para regular la cantidad total del NH_4^+ en el tejido, así como los efectos negativos de la acidificación del medio que resultan con la nutrición con NH_4^+ , se ha mencionado también que la asimilación que el NO_3^- juega un papel importante en la osmoregulación controlada por la vacuola. Por otro lado las plantas que se alimentan con NH_4^+ pueden tener algunas ventajas sobre aquellas que se alimentan con NO_3^- , dentro de los que se mencionan la ausencia de requerimientos de síntesis de **NR**, la inhabilidad de regular la absorción de cationes asociados con la absorción de NO_3^- y un menor costo energético asociado con la nutrición con NH_4^+ . De manera general el costo de asimilación es $\text{NH}_4^+ < \text{NO}_3^- < \text{N}_2$ (Haynes, 1986; Layzell, 1990; Raven, 1985). Sin embargo, la presencia de NH_4^+ en lugar de NO_3^- interfiere con la absorción de nutrimentos, principalmente los cationes. El daño a las raíces por el pH bajo también afecta la absorción de nutrimentos. Por otra parte, existen evidencias de que varios compuestos de bajo peso molecular están involucrados en el transporte de larga distancia de ciertos metales pesados en el floema. En exudados del xilema una alta proporción de Mn parece estar acomplejado a carbohidratos-aminoácidos de bajo peso molecular ó unidos a péptidos. El Cu sólo se transporta por el xilema en forma quelatada, muy probablemente con la asparagina, histidina y glutamina; en este sentido, el NH_4^+ tendría los mejores resultados dado que normalmente forma este tipo de compuestos para ser transportados a la parte aérea. El nivel y la forma de suministro de N tiene por lo tanto un efecto importante en el transporte de ciertos metales pasados via xilema (Marschner, 1986).

Se ha encontrado que la mayoría de las plantas se ven afectadas cuando la fuente de nitrógeno es sólo NH_4^+ , y para obtener rendimientos máximos la cantidad de NO_3^- en la solución debe ser por lo menos del 75%. Sólo las plantas (pinos, algunos pastos, arroz, azaleas, mirtilos, en general plantas calcífugas) adaptadas a condiciones de pH ácido e inundación prefieren el NH_4^+ en su nutrición. Aunque también existen varios reportes donde no se encuentra diferencia entre NO_3^- y NH_4^+ cuando las plantas crecen a bajas

concentraciones de nitrógeno, ó cuando se usan las dos fuentes de nitrógeno (Goyal y Huffaker, 1984). Ya que tanto la absorción de NO_3^- como de NH_4^+ son procesos activos, el suministro de carbohidratos (energía) tiene influencia en su absorción. El ritmo diurno en la absorción de NO_3^- , el cual es mayor alrededor del medio día, coincide perfectamente con la translocación de fotosintatos hacia la raíz. La disminución en la absorción del NH_4^+ durante la noche se debe aparentemente al agotamiento de la reserva de carbohidratos en la raíz que son usados para la asimilación del NH_4^+ . Parece ser que el suministro de esqueletos de carbono para la asimilación inmediata y detoxificación del NH_4^+ absorbido puede limitar su absorción. Tal efecto es menos importante durante la absorción del NO_3^- ya que éste no es tóxico como el NH_4 y puede acumularse en la vacuola de la raíz ó translocado a las partes aéreas (Hageman, 1984; Haynes, 1986).

Para establecer el mejor uso de fuentes de NH_4^+ ó de NO_3^- se han tenido problemas debido a que son varios los factores que están involucrados: **a)** Las características de los iones son diferentes uno es un catión (NH_4^+) y el otro es un anión (NO_3^-), **b)** las sales que se usan como fertilizantes de las dos formas de nitrógeno están asociadas con diferente ion acompañante, lo que en algunos casos puede afectar ya sea directa ó indirectamente el desarrollo de las plantas, **c)** el efecto en el pH del medio al darse la absorción es contrario según la forma de nitrógeno, ácido con NH_4^+ y alcalino con NO_3^- ; lo que afecta de manera diferente la disponibilidad de los demás nutrimentos, **d)** cuando se usa NH_4^+ debe tenerse en cuenta que cierta cantidad se transformará en NO_3^- aun cuando se empleen sustratos estériles como en la hidropónia (Hageman, 1984).

Otra fuente de N como la urea, es **per se** algunas veces tóxica para las plantas. Esta toxicidad es usualmente debido a la alta actividad de la **ureasa** en los tejidos, la cual causa la rápida hidrólisis de la urea con la consecuente acumulación de NH_4^+ en la planta (Harper, 1984). También las plantas pueden ser dañadas por subproductos de la hidrólisis de la urea tales como cianato de amonio (NH_4OCN) y formato amino-amonio ($\text{NH}_2\text{-CO-NH}_4$); ó por productos del proceso de producción tales como el biuret ($\text{NH}_2\text{-CO-NH-ONH}_2$), aunque la concentración por lo general no es tan alta para afectar el crecimiento de la planta. La urea en combinación con el biuret, pero no independientemente, afectan la síntesis de proteína (Goyal y Huffaker, 1984; Luo *et al.*, 1993)

Con la investigación de la nutrición con NH_4^+ en varias plantas han sugerido algunas causas de la toxicidad del NH_4^+ . Las principales se describen a continuación:

a) Acidificación del pH de la rizósfera. Ello conlleva a la toxicidad del propio H^+ y al aumento en la cantidad de metales tóxicos solubles. Situación que puede revertirse agregando CaCO_3 a la solución (Haynes, 1986; Marschner, 1986; Layzell, 1990). Esto parece producir una mayor incorporación del NH_4^+ absorbido a aminoácidos, amidas, y N soluble en ethanol por los tejidos de la raíz y por lo tanto se limita el transporte del NH_4 hacia las partes aéreas. El mecanismo por medio del cual al incrementar el pH del medio fomenta la asimilación del NH_4^+ es desconocido (Reisenahuer *et al.*, 1982), aunque Marchner (1986) menciona que la formación de NH_4OH y NH_3 podrían estar involucrados.

b) Deficiencia de cationes (principalmente K, Ca y Mg). La cual resulta de una competencia por el propio NH_4^+ ó por el H^+ secretado durante la absorción activa del NH_4^+ . Con la disminución de pH y deficiencia de K se incrementan los niveles de di y poliaminas, principalmente la putrescina, que puede considerarse como un mecanismo homeostático de respuesta de las raíces, para mantener el pH celular por la síntesis de compuestos básicos (Marschner, 1986).

c) Estrés de agua en la planta. Se ha observado un marchitamiento como síntoma de toxicidad de NH_4^+ . Se ha demostrado que la nutrición con NH_4^+ resulta en un decremento en la absorción de agua, en los exudados del xilema y en el potencial hídrico de la hoja (Pill y Lambeth, 1980), por su parte Lips *et al.*, (1990) menciona que la eficiencia en el uso del agua en plantas abastecidas con NH_4^+ es baja y dependiente de la concentración de K en la solución nutritiva.

d) Efecto en el metabolismo de carbohidratos. La reducción en rendimiento causada por la excesiva cantidad de NH_4^+ puede ser atribuida a una perturbación metabólica asociada con la detoxificación del NH_4^+ dentro de la raíz. Esta detoxificación resulta en una demanda de esqueletos de carbono dentro de la planta, la cual es suministrada por intermediarios de la glicólisis y del ciclo de krebs. Existen evidencias de que los niveles de ácidos tricarboxílicos (málico, oxálico) disminuyen marcadamente y hay un incremento inmediato en los niveles de amidas (glutamina) cuando las plantas son sometidas a altos niveles externos de NH_4^+ . Estas observaciones sugieren que durante la asimilación del NH_4^+ existe una gran demanda de carbohidratos y de las reacciones de degradación que

provean los sustratos necesarios para la formación de amidas. Las tasas más altas en respiración y la alta demanda de carbohidratos de reserva durante la nutrición con NH_4^+ , son particularmente dañinos cuando la planta empieza a translocar el NH_4^+ a la parte aérea. Se ha encontrado mayor cantidad de aminoácidos libres (arginina, asparagina, glutamina alanina, glicina, serina), N en proteína y proteína soluble de membranas con la nutrición con NH_4^+ que con NO_3^- , aunque en la cantidad total de N absorbido pueda existir ó no cierta variación. Para explicar la cantidad elevada de aminoácidos libres, se ha sugerido que el NH_4^+ juega un papel regulador en la distribución del tráfico de carbono de la biosíntesis de carbohidratos a la síntesis de aminoácidos, debido a la activación de la piruvato-kinasa (Goyal y Huffaker, 1984).y a la **PEP-carboxilasa** en una ruta anaplerótica (Goyal y Huffaker, 1984; Sandoval, 1992). El NH_4^+ afecta también la síntesis de carbohidratos, ya que incrementa la la transferencia del carbono incorporado fotosintéticamente a la síntesis de esqueletos para aminoácidos a expensas de la síntesis de sacarosa por la activación de la piruvato-kinasa. Se ha encontrado en hojas altos niveles de glucosa, fructosa, uridin-difosfoglucosa, glucosa 1-fosfato y fructosa 6-fosfato y bajos niveles de almidón, compuestos de uridina que contienen un azúcar ó un derivado de azúcar, y glucosa 6-fosfato durante la toxicidad don NH_4^+ . La glucosa y fructosa acumuladas son el producto del carbono recién fijado y no un producto de la degradación de polímeros de glucosa. La translocación de glucosa después de su síntesis, por lo menos para la formación de almidón, puede ser inhibida, lo que resulta en un desorden en el metabolismo de carbohidratos durante la toxicidad del NH_4^+ (Goyal y Huffaker, 1984).

e) Efecto en fotosíntesis. En el efecto del NH_4^+ en la fijación fotosintética de CO_2 se han encontrado tanto respuestas positivas como negativas. Los efectos positivos al parecer se deben a a un incremento en la síntesis y activación de la **Rubisco** donde podrían estar involucrados cambios de pH del estroma. La estimulación en la fijación de CO_2 también podría ser una respuesta al nitrógeno reducido debido a una demanda adicional por carbono, ya que la estimulación ocurre solamente cuando no existe otra fuente de nitrógeno reducido (Goyal y Huffaker, 1984 Lips *et al.*, 1990), pero también se ha encontrado que los iones NH_4^+ afectan la fotosíntesis desacoplando la fotofosforilación no cíclica, ya que rompen el gradiente electroquímico que se establece entre interior del

tilacoide y el estroma en el cloroplasto. De hecho, los síntomas de toxicidad que se manifiestan con amarillamiento y necrosis, indican un rompimiento en la estructura de integridad del cloroplasto, principalmente en la clorofila (Goyal *et al.*, 1982; Haynes, 1986; Reisenauer *et al.*, 1982). Al respecto, Goyal y Huffaker (1984) mencionan que ha sido demostrado que el NH_4^+ puede actuar como un desacoplador de la fotofosforilación en cloroplastos aislados, lo que resulta en un incremento de las formas de baja energía de nucleótidos de adenosina (AMP y ADP) y cosecuentemente una disminución en la cantidad de ATP. Concentraciones tan bajas como 0.6 mM de NH_4^+ inhiben en más de un 50% la formación de ATP. En los cloroplastos, la reducción de los NO_3^- estimulada por la luz y el aumento en la asimilación del NH_3 deben por lo tanto estar eficientemente coordinados para prevenir niveles altos de NH_3 que podrían desacoplar la fotofosforilación. El NH_4^+ y en particular su compañero de equilibrio ($\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{NH}_4^+ + \text{OH}^-$), el NH_3 , son tóxicos a concentraciones bastante bajas (Femsom *et al.*, 1990), aunque existen algunas especies que prefieren el NH_4^+ para su nutrición (Haynes, 1986; Mengel y Kirkby, 1987). Se ha reportado para el frijol, que la aplicación de NH_3 puede inhibir la carga y descarga del floema por lo que el transporte se interrumpe. Para que se produzcan los efectos negativos es importante el pH de la solución, ya que a valores de 6.5 la forma que predomina es el NH_4^+ el cual no tiene efecto negativo en el transporte, como tampoco puede atribuirse los efectos negativos al pH (Femsom *et al.*, 1990; Pickar y Minchin, 1992). La toxicidad de NH_3 podría estar relacionada con la penetración de éste a través de las biomembranas. Por ejemplo, el NH_3 pero no el NH_4 , difunde rápidamente a través de la membrana externa del cloroplasto (Marschner, 1986).

f) Efecto en respiración. Los efectos del NH_4 en la respiración son también contradictorios. En cebada la aplicación de NH_3 pero no el NH_4^+ , disminuyó la respiración ya que inhibió la oxidación de NADH, lo que bloquea la cadena de transporte de electrones. Por otro lado el NH_4^+ aumenta la respiración y el catabolismo de carbohidratos (especialmente ácidos orgánicos como el cetoglutarico) para suministrar esqueletos carbonados para su asimilación (Goyal y Huffaker, 1984). En algunos experimentos usando concentraciones tóxicas de NH_4^+ (15 mM) se ha observado que se producen altas cantidades de NH_3 , el cual junto con el NH_4^+ producen los efectos tóxicos como la reducción en la respiración (en las mitocondrias inhiben las reacciones que dependen de

NADH) y daños a las membranas (destrucción de antocianinas) (Hageman, 1984). Sin embargo, Oaks (1994a) menciona que en la mitocondria el complejo piruvato deshidrogenasa es irreversiblemente inhibido en presencia de luz y el grado de inhibición está relacionado con el nivel de fosforilación, la cual es activada por cationes monovalentes especialmente el NH_4^+ . Por otra parte, Marschner (1986) menciona que el NH_4^+ a diferencia del NO_3^- incrementa la respiración y la ruta alternativa de la respiración en la raíz. Este efecto es atribuido tanto al incremento de exudados de la raíz como a la necesidad de incrementar el flujo de sustrato en el ciclo del ácido tricarboxílico para suministrar más esqueletos de carbono para la asimilación del NH_4 , aunque en algas se ha encontrado que la asimilación del NO_3^- y no el NH_4^+ aumenta la acción del ciclo de las pentosas fosfato (Huppe *et al.*, 1992).

g) Efecto en la actividad enzimática. La fuente de NH_4^+ puede inhibir la actividad de la almidón sintetasa. En condiciones de toxicidad de NH_4^+ se incrementa la actividad de la **GDH** (Haynes, 1986; Layzell, 1990), y de todas las enzimas de la glicólisis, ciclo de krebs y cadena de transporte de electrones, con excepción de las aldolasas y las ATPasas. De todas, la que más se incrementa es la fosfofructokinasa. La razón de ello es que se requiere generar esqueletos carbonados para la detoxificación de NH_4^+ (Goyal y Huffaker, 1984). También se ha encontrado en diferentes especies (tanto C_3 como C_4), que el NH_4^+ , incrementa en la raíz la actividad de la PEP-carboxilasa (Arnozis *et al.*, 1988; Findenegg *et al.*, 1989; Sandoval, 1992) lo que al parecer se debe a un aumento en la demanda de esqueletos carbonados para asimilar el amonio (Arnozis y Findenegg, 1986; Salsac *et al.*, 1987) y una vez que la enzima se satura (se alcanza V_{max}) se empiezan a manifestar los efectos nocivos del exceso de NH_4^+ (Arnozis y Barneix, 1989). Recientemente, Justin y Pang (1992) encontraron que en maíz la nutrición con NH_4^+ produce un movimiento de NH_3 hacia la vacuola, el cual al ganar un H^+ para formar NH_4^+ produce una acumulación de NH_4^+ y una alcalinización de la vacuola. Esto podría traer como consecuencia el rompimiento de gradientes de pH entre citoplasma y vacuola que mantiene el funcionamiento de las bombas de protones, mecanismo mediante el cual se acumulan muchos metabolitos y iones inorgánicos en la vacuola; además el propio movimiento del NH_3 hacia vacuola puede afectar la acción de estas bombas del tonoplasto.

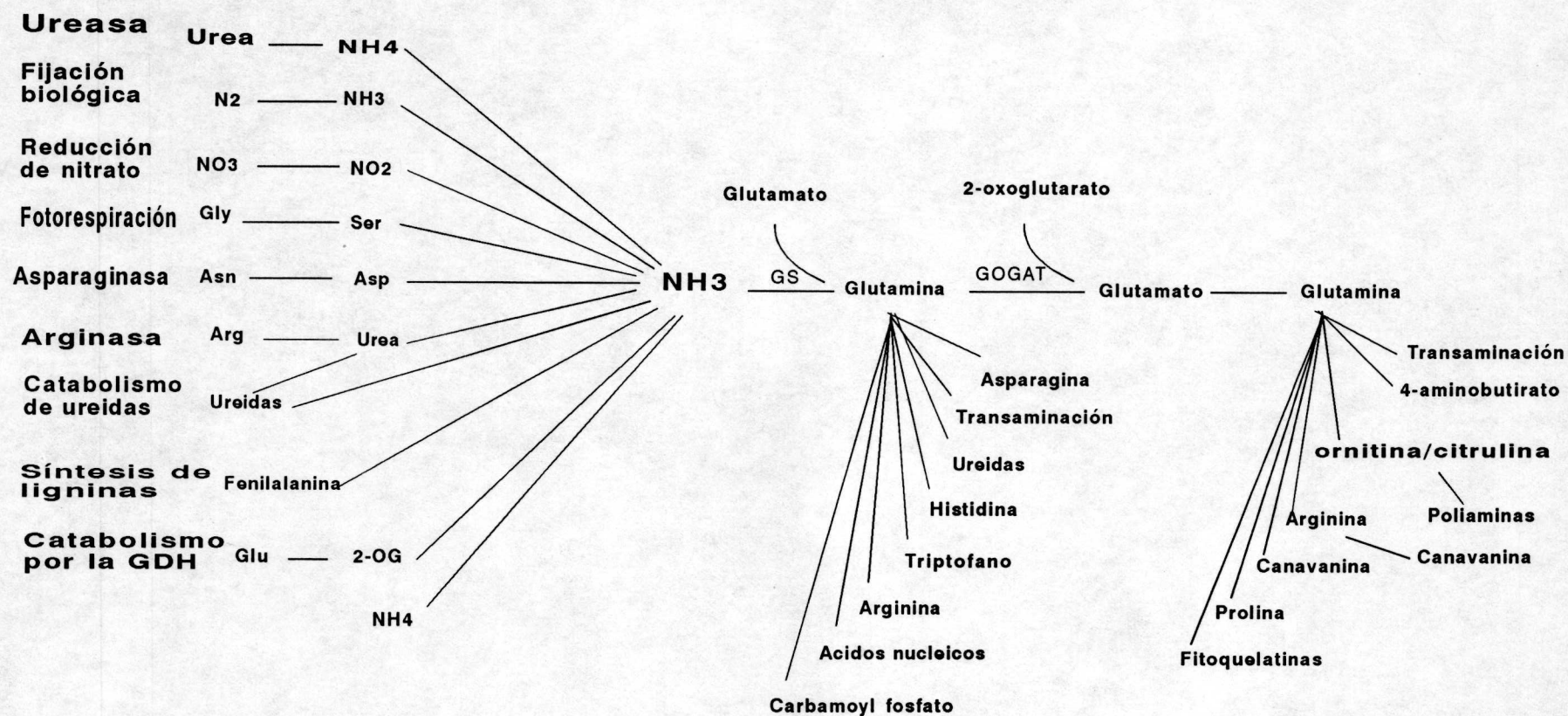


Fig.2 Asimilación del nitrógeno en las plantas por la ruta GS-GOGAT
 (Adaptado de Layzell, 1990; Lea, 1993; Marschner, 1986; Oaks, 1994b)

III. OBJETIVOS E HIPOTESIS

3.1. Objetivos generales

1. Evaluar durante diferentes etapas del cultivo de crisantemo para flor de corte, los efectos que se producen sobre algunos indicadores de crecimiento y desarrollo por el uso de soluciones nutritivas diluidas en macronutrientos, en un sistema hidropónico abierto sin recirculación.
2. Comparar durante diferentes etapas del cultivo de crisantemo para flor de corte, los efectos que se producen sobre algunos indicadores de crecimiento y desarrollo por el uso de diferentes fuentes de nitrógeno, en un sistema hidropónico abierto sin recirculación de la solución nutritiva.

3.2. Objetivos específicos

1. Determinar el efecto que tiene sobre el crecimiento y desarrollo de la planta, la reducción simultánea en concentración de macronutrientos (N, P, K, Ca, Mg y S) en la solución nutritiva.
2. Determinar el efecto que tiene sobre el crecimiento y desarrollo de la planta, la reducción en concentración de N, P ó K a partir de una solución nutritiva estandar.
3. Determinar hasta que nivel en la reducción de concentración de macronutrientos, se producen efectos negativos sobre la calidad de flor del crisantemo.
4. Determinar el efecto que tiene sobre el crecimiento y desarrollo de la planta, la nutrición con nitrógeno cuando éste se proporciona como nitrato, amonio ó urea.
5. Determinar el efecto que tiene sobre el crecimiento y desarrollo de la planta, la nutrición con diferentes relaciones de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ y $\text{NO}_3^-/\text{urea}$.

3.3. Hipótesis

1. Se puede alcanzar un crecimiento y desarrollo adecuado de las plantas, a concentraciones de la solución nutritiva mucho menores de las que se han generalizado para cultivos hidropónicos, mientras la velocidad de suministro de nutrimentos no limite la velocidad de absorción de los mismos.
2. El contenido nutrimental en el tejido vegetal permanece dentro del rango considerado adecuado, a concentraciones de la solución nutritiva mucho menores de las que se han generalizado en cultivos hidropónicos.
3. En condiciones de hidroponia, al bajar la concentración de los macronutrimentos en la solución nutritiva, el efecto que se presenta de cada uno de ellos sobre algunos parámetros de crecimiento y desarrollo, es diferente.
4. Las características de la flor se afectan en igual magnitud que los demás órganos de la planta al bajar la concentración de macronutrimentos en la solución nutritiva.
5. No existe diferencia en el crecimiento y desarrollo de las plantas cuando el nitrógeno se suministra en forma de nitrato, amonio ó urea.
6. Cuando se combina el nitrato con amonio ó urea, se obtiene un mejor crecimiento y desarrollo de las plantas.

IV. MATERIALES Y METODOS

4.1. Ubicación del experimento

El experimento se llevó a cabo en dos ciclos de cultivo, durante los meses de marzo a noviembre de 1995. Se utilizaron los invernaderos de un productor cooperante, ubicados en la colonia Netzahualcoyotl municipio de Texcoco, Edo. de México. De acuerdo con Garcia (1986), el clima de la zona se clasifica como un C(Wo)(W)b(i)g que corresponde a un templado subhúmedo con precipitación media anual de 645 mm, temperatura media anual de 15 °C, con heladas tempranas a fines de septiembre y tardías en abril.

4.2. Diseño de tratamientos

De acuerdo con los objetivos planteados, la designación de los tratamientos se hizo tomando en cuenta las concentraciones promedio de nutrimentos en soluciones nutritivas que se han generalizado en su uso en diferentes cultivos (FAO, 1990; Resh, 1993; Sánchez y Escalante, 1989). Para preparar ésta solución completa (M) (Cuadro 5) se usaron los fertilizantes comerciales siguientes: Nitrato de calcio, nitrato de potasio, sulfato de potasio, sulfato de amonio, superfosfato de calcio triple, sulfato de magnesio, sulfato de hierro, sulfato de manganeso, sulfato de zinc, sulfato de cobre, ácido bórico, molibdato de amonio.

La solución nutritiva se formó como a continuación se indica. Se preparó una solución madre de cada uno de los micronutrimentos, a partir de la cual sólo se tomaba la alícuota correspondiente que se adicionaba a un garrafón de 19 L donde se tenía la solución de macronutrimentos de acuerdo a cada tratamiento. La solución con los macronutrimentos se preparaba al agotarse los 19 L, para lo cual se pesaba la cantidad de fertilizante que aportaban los diferentes nutrimentos de cada tratamiento.

Esta concentración promedio se tomó como el tratamiento testigo (T_1 , M), a partir de la cual (Cuadro 5), se formaron distintos grupos de tratamientos: Reducciones en diferente proporción de todos los macronutrimentos (N, P, K, Ca, Mg y S) (T_2 , T_3 , T_4); reducciones por separado para nitrógeno (T_6 , T_7), fósforo (T_8 , T_9) ó potasio (T_{10} , T_{11}). Además usando la concentración promedio (M) de nutrimentos se consideró la forma y

proporción (NO_3^- , Urea, NH_4^+ , $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$, $\text{NO}_3^-/\text{urea}$) del total de nitrógeno suministrado (T_{12} , T_{13} , T_{14} , T_{15} , T_{16} , T_{17}). De esta manera, resultaron los tratamientos siguientes:

T_1 = Concentración nutrimental promedio empleada para la nutrición de los cultivos en hidroponia (M, 100%) (80% NO_3^- + 20% NH_4^+). Fuente: Nitrato de calcio, nitrato de potasio y sulfato de amonio

T_2 = 75% de M

T_3 = 50% de M

T_4 = 25% de M

T_5 = M con solo 75% de nitrógeno

T_6 = M con solo 75% de fósforo

T_7 = M con solo 75% de potasio

T_8 = M con solo 50% de nitrógeno

T_9 = M con solo 50% de fósforo

T_{10} = M con solo 50% de potasio

T_{11} = M con 100% NO_3^- + 0% NH_4^+ ó Urea. Fuente: Nitrato de calcio y nitrato de potasio

T_{12} = M con 50% NO_3^- + 50% Urea. Fuentes: Nitrato de calcio y Urea

T_{13} = M con 50% NO_3^- + 50% NH_4^+ . Fuente: Nitrato de calcio y Sulfato de amonio

T_{14} = M con 0% NO_3^- + 100% Urea. Fuente: Urea

T_{15} = M con 0% NO_3^- + 100% NH_4^+ . Fuente: Sulfato de amonio

T_{16} = M con 80% NO_3^- + 20% Urea. Fuente: Nitrato de calcio y Urea

NOTA: En los tratamientos que sólo llevaron amonio ó urea, el calcio y potasio fueron suministrados con óxido de calcio y sulfato de potasio respectivamente. La cantidad de sulfatos fue variable debido a que se dejó libre al azufre para facilitar el ajuste de los demás nutrimentos con las fuentes empleadas.

4.3. Diseño experimental

Para la distribución de los tratamientos en el invernadero, se usó una cama de 1.2 m de ancho por 12 m de largo, empleando para cada grupo (T_1 a T_4 , T_5 a T_{10} , T_{11} a T_{16}) de

tratamientos un diseño en bloques completos al azar con cuatro repeticiones. La unidad experimental consistió de dos macetas con cinco plantas cada una; de las cuales se usaron dos en la primer etapa, dos en la segunda etapa y seis en la tercer etapa de desarrollo definidas en el siguiente apartado, para la medición de las variables de respuesta contempladas.

Cuadro 5. Concentración (mg L^{-1}) de nutrimentos en la solución nutritiva usada en los diferentes tratamiento

NUTRIMENTO	SOLUCION COMPLETA (M, 100%)	CONCENTRACION AL 75% DE M	CONCENTRACION AL 50% DE M	CONCENTRACION AL 25% DE M
Nitrógeno	250	187.5	125	62.5
Fósforo	75	55	37	18.75
Potasio	250	187.5	125	62.5
Calcio	300	225	150	75
Magnesio	75	56.25	40*	40*
Azufre	300	225	150	75
Hierro	2.5	2.5	2.5	2.5
Manganeso	1.0	1.0	1.0	1.0
Boro	0.50	0.50	0.50	0.50
Cobre	0.25	0.25	0.25	0.25
Zinc	0.25	0.25	0.25	0.25
Molibdeno	0.20	0.20	0.20	0.20

*Cantidad de Mg en el agua empleada

4.4. Etapas de desarrollo y variables de respuesta evaluadas

La evaluación del efecto de los distintos tratamientos se realizó aplicando el mismo tratamiento durante todo el ciclo del cultivo, pero las variables de respuesta se midieron al final de cada una de tres etapas de desarrollo del cultivo, consideradas como puntos de transición importantes en la vida de la planta de crisantemo.

- a) Etapa vegetativa. Desde trasplante hasta suspensión de luz (30-35 días).
- b) Etapa reproductiva I. Desde suspensión de luz hasta la aparición visible del 50% del botón floral (30-35 días).

c) Etapa reproductiva II. Desde aparición visible del 50% del botón floral hasta la cosecha (30-35 días).

Las variables de respuesta que se midieron al final de cada etapa previamente definidas (las observaciones de flor no aplican en la primer y segunda etapa) fueron las siguientes:

- a) Altura de planta (cm).** Promedio de seis plantas por unidad experimental.
- b) Diámetro de tallo (mm).** Promedio de seis plantas por unidad experimental. En la etapa vegetativa y etapa reproductiva I se midió a la mitad de la altura de planta, y en la etapa reproductiva II en la parte terminal (pedúnculo).
- c) Área foliar (cm²).** Promedio de dos plantas por unidad experimental. Determinada con un integrador de área, marca LICOR LI-3000.
- d) Diámetro de flor (cm).** Promedio de seis capítulos por unidad experimental.
- e) Expresión visual del color y patrón de crecimiento (síntomatología típica y atípica).**
- f) Vida de anaquel de las flores (días).** Promedio de cuatro flores por unidad experimental. Determinada en agua de la llave, la cual se cambiaba cada tercer día y se efectuaba un corte en la base del tallo. Se consideró la muerte de la flor cuando ocurrió cualquiera de los siguientes eventos: **g1)** Pérdida de la turgencia de los pétalos de tal manera que se observaban flácidos, arrugados y caídos de su posición normal, pérdida del color blanco típico a coloraciones cafés en más del 50 % del pétalo; **g2)** Desprendimiento total de los pétalos del receptáculo.
- g) Peso fresco de hoja, tallo y flor (g).** Promedio de dos plantas por unidad experimental.
- h) Peso seco de hoja, tallo y flor (g).** Promedio de dos plantas por unidad experimental. Material secado a peso constante a una temperatura de 70 °C en una estufa de aire forzado.
- i) Análisis químico de nutrientes (N, P, K, Ca, Mg) en el tejido.** Determinados a partir de una digestión húmeda triácida por el método de microkjeldhal (N), azul de molibdato (P) y absorción atómica (K, Ca, Mg). En la primer etapa se analizó toda la parte aérea de la planta, y en la segunda y tercer etapa se tomó una muestra compuesta formada por la

cuarta ó quinta hoja a partir del ápice (hoja reciente completamente desarrollada) de ocho y seis plantas por unidad experimental, respectivamente.

4.5. Instalación y conducción del experimento

4.5.1. Sustrato empleado. Para el desarrollo del experimento se usaron botes de plástico de 19 L de capacidad, los cuales se llenaron con el sustrato de origen volcánico conocido como tezontle, con tamaño de partículas menor de 5 mm. De acuerdo con pruebas realizadas sobre el sustrato a una profundidad de 35 cm (botes de 19 L), éste tenía un espacio poroso total de 52% (9.88 L) y una capacidad máxima de retención de agua del 24% (4.56 L) en base a volumen, lo que se considera como valores adecuados (Luque, 1981).

4.5.2. Riego. El requerimiento diario de riego se determinó usando el promedio diario de agua evapotranspirada de cuatro macetas con plantas. La forma de calcularla fue midiendo el volumen de agua a saturación y volumen de agua drenado, por diferencia se obtuvo el consumo diario de agua. De esta manera, partiendo de un sustrato mojado con su máxima capacidad de retención, se aplicó solamente el agua evapotranspirada diariamente, evitando con ello un déficit de agua a la planta y pérdida de solución por drenaje. Sin embargo los botes tenían una perforación en la base para facilitar el drenaje en caso de exceso y evitar problemas de falta de aireación. Antes del riego se ajustaba el pH a 6.5 con ácido sulfúrico y ácido clorhídrico.

4.5.3. Sistema hidropónico. El experimento se llevó a cabo en un sistema sin recirculación de la solución nutritiva (sistema abierto). La aplicación de la solución nutritiva se efectuó con un equipo dosificador como el que se usa en los hospitales para la aplicación de sueros. De esta manera se pudo controlar el suministro de solución como si fuera un sistema de riego por goteo, asegurando una dosificación constante de agua durante el tiempo de aplicación (normalmente de 9:00 a 16:00 hrs).

4.5.4. Trasplante. El trasplante se llevó a cabo usando esquejes con 15-18 días de enraizados. La especie utilizada fue crisantemo (*Dendranthema x grandiflorum*) tipo standard cv Halmark. En los primeros cuatro días, además de la solución nutritiva de los tratamientos respectivos se aplicaron riegos sobre el follaje cada hora durante el día, con el fin de evitar la deshidratación para asegurar el establecimiento de la planta.

4.5.5. Desbotonamiento. A los 8 - 10 días de iniciada la tercer etapa (desde aparición visible del 50% del botón floral hasta la cosecha), se eliminaron todos los botones florales axilares, dejando solo el botón terminal.

4.5.6. Control de plagas y enfermedades. Durante el desarrollo del cultivo se efectuaron aplicaciones de insecticidas, acaricidas y fungicidas de manera periódica (cada 8-10 días) para prevenir el ataque de plagas y enfermedades. A pesar de ello se tuvo que controlar la presencia de trips y araña roja.

4.6. Análisis de resultados

Con los valores de las distintas variables evaluadas se efectuó un análisis de varianza y una prueba de medias (Tukey, $\alpha = 0.05$) por grupo de tratamientos (T_1 a T_4 , T_5 a T_{10} , T_{11} a T_{16}), así como correlaciones de Pearson entre algunas variables, para lo cual se utilizó el paquete computacional SAS (Statistical Analysis System).

V. RESULTADOS Y DISCUSION

5.1 Efecto de la disminución de la concentración de nutrimentos (N, P, K, Ca, Mg y S) en la solución nutritiva sobre el desarrollo de la planta

5.1.1. Efecto durante la etapa vegetativa (desde trasplante hasta suspensión del tratamiento de luz)

En el Cuadro 6 se presenta la prueba de medias para algunas variables evaluadas al momento de la suspensión del tratamiento de luz. Es de notarse que en esta primera etapa no encontraron diferencias significativas entre las medias de los efectos de tratamientos en las variables altura de planta (ALT), peso seco de tallo (PST), peso seco total (PSTOT) y área foliar (AF). Sin embargo, el tratamiento con sólo 25% de concentración de macronutrimentos en el medio de nutrición, fue significativamente inferior al tratamiento testigo (100% de concentración nutrimental, M), sobre las variables diámetro de tallo (DT), peso fresco de hoja (PFH), peso fresco total (PFTOT) y peso seco de hoja (PSH). De manera complementaria en las figuras 3, 4, 5, y 6 se muestran los promedios de diferentes variables, donde se puede apreciar la variación en respuesta a los diferentes tratamientos. Estos resultados ponen de manifiesto que al menos durante el primer mes de crecimiento de las plantas, es posible utilizar concentraciones de macronutrimentos (N, P, K, Ca, Mg, S) mucho menores de las que normalmente se recomiendan en los sistemas hidropónicos (FAO, 1990; Resh, 1993; Sánchez y Escalante 1989) ya sea para sistemas abiertos o cerrados donde se utiliza la recirculación de la solución.

En el análisis químico de nutrimentos en el tejido de la planta (parte aérea) se encontró que la cantidad de cationes (K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}) fue estadísticamente igual en los tratamientos de 100%, 75% y 50% de concentración de la solución nutritiva, mientras que el tratamiento con sólo 25% sí mostró diferencias significativas para el potasio, lo que se puede corroborar al observar el Cuadro 7. Para el caso del nitrógeno y fósforo las diferencias en concentración fueron más notorias, de tal manera que el tratamiento testigo (100%) fue significativamente superior a los demás tratamientos (75%, 50% 25%), los cuales, con

excepción para el caso del nitrógeno en el tratamiento con 25% de concentración, fueron estadísticamente iguales.

Cuadro 6. Prueba de comparación de medias (Tukey, $\alpha=0.05$) de siete variables evaluadas al momento de la suspensión del tratamiento de luz, en plantas que crecieron en una solución nutritiva diluida en macronutrientes

TRATAMIENTO	ALT (cm)	DT (mm)	PFH (g)	PFT (g)	PFTOT (g)	PSH (g)	PST (g)	PSTOT (g)	AF (cm ²)	HUM (%)
100% (M)	24.68 A	8.025 A	9.495 A	7.445 A	16.940 A	1.620 A	0.697 A	2.318 A	282.75 A	86.219 A
75% de M	24.54 A	8.050 A	7.720 AB	5.177 B	12.898 AB	1.473 A	0.655 A	2.128 A	257.97 A	83.426 B
50% de M	24.56 A	7.575 AB	7.518 AB	6.762 A	14.280 AB	1.427 A	0.703 A	2.135 A	272.89 A	85.058 AB
25% de M	24.16 A	6.850 B	6.360 B	5.633 A	11.993 B	1.275 B	0.620 A	1.895 A	235.60 A	84.167 B
CV	4.4906	6.2285	13.8283	16.7704	14.1521	11.7190	12.3278	11.2449	11.3256	0.9287
DMS	2.4025	1.048	2.372	2.3154	4.3822	0.3748	0.1823	0.5259	67.314	1.739

NOTA: Valores de columna con la misma letra son estadísticamente iguales CV = Coeficiente de variación DMS = Diferencia mínima significativa

ALT = Altura de planta DT = Diámetro de tallo PFH = Peso fresco de hoja PFT = Peso fresco de tallo PFTOT = Peso fresco total

PSH = Peso seco de hoja PST = Peso seco de tallo PSTOT = Peso seco total AF = Área foliar HUM = Humedad

De acuerdo con Arbos (1990), Benton *et al.* (1991) y Reuter y Robinson (1986) el contenido de Ca en todos los tratamientos es bajo, aunque sin llegar a ser deficiente; el contenido de Mg está en el rango considerado como adecuado pero en el punto más alto. Para el P y K todos los valores están dentro del rango adecuado y sólo el N se encuentra deficiente (menos de 3%), aún en el tratamiento de solución completa, ya que de acuerdo con Willits *et al.* (1992) y King *et al.*, (1995) la concentración normal está entre 3 y 5%. De acuerdo con estos resultados y como se verá en las siguientes etapas, en todos los casos los niveles de N caerían dentro del rango considerado como deficiente, lo que no se esperaba por lo menos para el tratamiento de solución completa (M). Es de notarse, que las diferencias en los contenidos de N entre los tratamientos muestran consistencia en casi todos los casos, con una tendencia a disminuir conforme había menos nitrógeno en la solución nutritiva. Es muy probable que el método de análisis químico para la determinación del N haya subestimado la cantidad en el tejido. Por esta razón, se consideró que el contenido de N en el tejido cuando las plantas se nutrieron con la solución completa (M) era la adecuada (3-5 %) y se le dió un valor de 100, a partir del cual se calculó el aumento ó reducción en el contenido de N en el tejido de las plantas de los

demás tratamientos. De esta manera, considerando los rangos reportados por Arbos (1990), Benton *et al.*, (1991), Reuter y Robinson (1986), Willits *et al.*, (1992) y King *et al.* (1995), sólo contenidos de N en el tejido abajo del 75% podrían caer en la zona de deficiencia. Esto significa que aún el tratamiento de 25% de M, aportó el N suficiente para la planta (Cuadro 7).

Cuadro 7. Prueba de comparación de medias (Tukey, $\alpha=0.05$) de la concentración (%) de algunos nutrimentos en el tejido de las plantas que fueron sometidas a concentraciones diferentes de macronutrimentos en la solución nutritiva

TRATAMIENTO	N	P	K	Ca	Mg	N+P	K+Ca+Mg
100 % (M)	2.053 A (100)	0.548 A	6.980 A	0.346 A	0.945 A	3.603 A	8.272 A
75% de M	1.866 B (91)*	0.388 B	6.287 AB	0.329 A	0.889 A	2.255 B	7.505 AB
50% de M	1.820 B (89)*	0.372 B	6.147AB	0.283 A	0.987 A	2.192 B	7.417 AB
25% de M	1.586 C (77)*	0.321 B	5.090 B	0.261 A	0.915 A	1.907 B	6.267 B
C.V	3.6031	7.2098	9.0327	21.6864	5.564	3.2189	7.2128
DMS	0.1865	0.0831	1.5640	0.1869	0.1470	0.2038	1.6057

NOTA: Valores de columna con la misma letra son estadísticamente iguales

DMS = Diferencia mínima significativa

*Contenido de N en relación al 100% del tratamiento con solución completa (M)

En la suma de nutrimentos (N+P y K+Ca+Mg) se puede apreciar que a medida que disminuyó la concentración de nutrimentos en la solución nutritiva, la concentración en el tejido fue menor, y como ya se mencionó en algunos casos llegó a ser estadísticamente inferior. Si se considera que todos los demás factores que pudieron influir en el desarrollo de la planta fueron constantes para todos los tratamientos, es posible que esta diferencia en contenidos nutrimentales sea la causa del menor diámetro de tallo, menor peso fresco de hojas, menor peso fresco total, y menor peso seco de hojas previamente señalado, para el tratamiento con sólo 25% de M. Cabe mencionar que en ésta etapa, de manera visible en el aspecto de la planta, sólo este tratamiento mostró un desarrollo menor y una coloración verde clara en el follaje, mientras que el resto de las plantas de los demás tratamientos tenían un verde normal. Es interesante notar que a pesar de las diferencias tan grandes en concentración de la solución nutritiva (Cuadro 5), las diferencias (cuando las hubo) en las variables de respuesta de la planta no fueron tan marcadas.

5.1.2. Efecto durante la etapa reproductiva I (desde suspensión del tratamiento de luz hasta la aparición visible del 50% del botón floral)

Una segunda etapa en el desarrollo de las plantas de crisantemo, que se caracteriza por un crecimiento rápido y cambios morfológicos notables, es desde el momento de la suspensión del tratamiento de luz hasta la aparición visible del botón floral. En cuanto se suspende la aplicación de luz se da el proceso de inducción floral lo que va acompañado de altos requerimientos de nutrientes, que si no se proporcionan de manera suficiente podría afectarse la calidad de la producción (Nell, 1993; Kofranek, 1992). Al respecto King *et al.* (1995) encontraron con base en el desarrollo de toda la planta de crisantemo, que el período de mayor demanda de N se dió entre los 30 a 60 días, lo que a su vez correspondió con el tiempo de rápido crecimiento vegetativo y desarrollo inicial de la inflorescencia. Debido a lo anterior, al final de esta etapa (etapa de botón) se volvieron a medir algunos parámetros que indicaran el estado de nutrición de las plantas entre tratamientos. En las figuras 3, 4, 6, y 8 se reportan las principales variables evaluadas que manifiestan las características de desarrollo de la planta y en el Cuadro 8 se presenta la prueba de medias sobre dichas variables.

Como puede apreciarse sólo la altura de planta se mantuvo sin variación entre tratamientos; pero las demás variables presentan claras diferencias. Por ejemplo, en los tratamientos de 100% (M) y 75% de M, el diámetro de tallo, peso fresco de hoja (PFH), peso fresco de tallo (PFT), peso fresco total (PFTOT), peso seco de hoja (PSH) y área foliar (AF) son estadísticamente iguales, resultando diferentes los mismos parámetros en los tratamientos de 50% y 25% de M, tanto entre ellos como con respecto a los trataminetos de 75% y 100%. A pesar de estas diferencias entre algunas partes y características de las planta, el peso seco de tallo (PST) y producción de materia seca total (PSTOT) (parte aérea) sólo fue significativamente inferior en el tratamiento de más baja concentración (25% de M). Un aspecto que es importante resaltar se refiere al porcentaje de humedad (HUM), el cual disminuyó conforme bajó la concentración de la solución nutritiva, lo que hace menor las diferencias en peso seco total y de tallo entre tratamientos.

Liu y Shelp (1993) relacionan este contenido menor de humedad con un aumento en la eficiencia del uso del agua.

Además de las variables anteriormente descritas, en el Cuadro 9 se reportan los valores del análisis químico de nutrimentos del follaje de la planta. De manera general, con excepción del Mg, la concentración de los nutrimentos evaluados disminuyó conforme bajó la concentración de los mismos en la solución nutritiva, aunque para Ca y Mg las diferencias no son significativas. Los resultados muestran que los tratamientos de 50% y 25% de concentración en la solución son significativamente inferiores a los tratamientos de 100% y 75% con respecto al N y K. En cuanto al P, los tres tratamientos que usaron menor concentración (75%, 50%, 25%) son estadísticamente iguales, y diferentes del tratamiento con 100%. De acuerdo con estos resultados se puede decir que la reducción en más del 50% en la concentración de la solución nutritiva repercute de manera negativa en la cantidad total de nutrimentos (N+P y K+Ca+Mg) en el follaje de las plantas.

Cuadro 8. Prueba de comparación de medias (Tukey, $\alpha=0.05$) de algunas características evaluadas durante la aparición visible del 50% del botón floral, en plantas que crecieron en concentraciones diferentes de macronutrimentos en la solución nutritiva

TRATAMIENTO	ALT (cm)	DT (mm)	PFH (g)	PFT (g)	PFTOT (g)	PSH (g)	PST (g)	PSTOT (g)	AF (cm ²)	HUM (%)
100% (M)	76.540 A	9.575 A	60.662 A	41.750 A	102.175 A	11.110 AB	6.857 A	17.970 A	1710.23 A	82.40 A
75% de M	79.737 A	9.300 AB	53.690 A	40.550 A	94.240 A	11.740 A	6.670 A	18.410 A	1502.85 A	80.46 B
50% de M	79.227 A	8.475 B	46.497 B	32.207 B	78.705 B	10.285 B	6.082 AB	16.437 A	1235.42 B	79.15 B
25% de M	75.688 A	7.275 C	33.800 C	23.370 C	57.170 C	8.692 C	5.085 B	13.775 B	894.44 C	75.87 C
CV	4.899	4.9697	6.5568	8.2239	6.3089	5.0639	8.1258	5.8238	9.2090	23.4678
DMS	8.4146	0.0950	7.0434	6.2576	11.4110	1.1689	1.1088	2.1402	271.54	1.8028

NOTA: Valores de columna con la misma letra son estadísticamente iguales CV = Coeficiente de variación DMS = Diferencia mínima significativa

ALT = Altura de planta DT = Diámetro de tallo PFH = Peso fresco de hoja PFT = Peso fresco de tallo PFTOT = Peso fresco total

PSH = Peso seco de hoja PST = Peso seco de tallo PSTOT = Peso seco total AF = Área foliar HUM = Humedad

Según Arbos (1990), Benton *et al.* (1991) y Reuter y Robinson (1986), el contenido de Ca es bajo aunque sin llegar a ser deficiente, mientras que el contenido de Mg es adecuado. Así mismo el contenido de P y K es adecuado. En cuanto al N, considerando la reducción en porcentaje sólo el tratamiento de 25% de M está en la zona de deficiencia. Es de notar que en todos los casos, ya sea que el contenido sea el adecuado o deficiente, se cumple

que a menor concentración de nutrimentos en la solución nutritiva, menor contenido del nutrimento en el tejido. En general para esta segunda etapa, varias características de la planta y contenidos de nutrimentos en el tejido se vieron afectadas con los tatamientos de 50 y 25 % de concentración en la solución, aunque sólo el N llegó al nivel considerado como deficiente (Willits *et al.*, 1992; King *et al.*, 1995).

Cuadro 9. Prueba de comparación de medias (Tukey, $\alpha=0.05$) de la concentración (%) de nutrimentos en el follaje al momento de la aparición visible del botón floral, en plantas que crecieron en concentraciones diferentes de macronutrimentos en la solución nutritiva

TRATAMIENTO	N	P	K	Ca	Mg	N+P	K+Ca+Mg
100 % (M)	1.960 A (100)	0.321 A	6.257 A	0.342 A	0.648 A	2.281 A	7.247 A
75% de M	1.913 A (98)	0.253 B	5.700 A	0.331 A	0.695 A	2.167 AB	6.727 A
50% de M	1.586 B (81)	0.253 B	4.923 B	0.330 A	0.664 A	1.831 BC	5.918 B
25% de M	1.306 B (67)	0.245 B	4.313 C	0.308 A	0.579 A	1.560 C	5.201 C
C.V	6.6149	8.8074	3.7809	8.6356	9.3457	6.5582	3.6689
DMS	0.3163	0.0667	0.5662	0.0800	0.1709	0.3633	0.6505

NOTA: Valores de columna con la misma letra son estadísticamente iguales

DMS = Diferencia mínima significativa

*Contenido de N en relación al 100% del tratamiento de solución completa (M)

5.1.3. Efecto durante la etapa reproductiva II (desde aparición visible del 50% del botón floral hasta la cosecha)

En el estudio de diferentes factores que tienen influencia sobre la producción, es importante su evaluación durante todo el ciclo de vida de la planta. En el caso de plantas ornamentales la calidad del follaje y flor es de gran importancia. En el Cuadro 10 y figuras 3, 4, 6, 7, 8, se reportan los resultados de algunas variables evaluadas al momento del corte de las flores. Como puede observarse, existe cierta variación entre parámetros evaluados sobre la hoja, el tallo o valores totales que se aplican a toda la parte aérea, como el peso seco total (PSTOT), y peso fresco total (PFTOT). Con respecto al peso fresco de hoja (PFH), peso fresco de tallo (PFT), peso fresco total (PFTOT) y peso seco de hoja (PSH), las plantas que crecieron en el tratamiento de 25% de concentración de la solución presentan valores significativamente inferiores en relación a los tratamientos de

50%, 75% y 100% entre los cuales no existen diferencias estadísticamente significativas. En cuanto al peso seco de tallo (PST) y peso seco total (PSTOT) el tratamiento con 25% produjo también las cantidades más pequeñas y es de notar que los valores más altos corresponden al tratamiento con 50% de concentración en la solución. En resumen se puede decir que con excepción de las características de flor, para la mayoría de las variables evaluadas sólo el tratamiento de 25% es significativamente inferior a los demás.

En esta etapa los efectos del uso de soluciones de menor concentración sobre parámetros que afectan la calidad de la flor fueron de gran trascendencia, los principales resultados se pueden ver en la figura 7. En cuanto a la altura de planta las diferencias entre tratamientos son significativas en favor de los tratamientos de menor concentración en el medio de nutrición, donde se aprecia que a medida que disminuyó la concentración aumentó la altura de planta (característica que en las dos primeras etapas fue igual entre tratamientos), aunque con tallos más delgados, pero sin ser estadísticamente diferentes. Otras características como el peso fresco de flor (PFF), peso seco de flor (PSF) y diámetro de flor (DF), resultaron con poca variación, de tal manera que se consideran iguales estadísticamente, aunque en algunos casos (PSF) la tendencia fue a disminuir conforme la concentración en la solución fue menor.

Con lo que respecta a la vida en florero (VF) es claro que a medida que disminuyó la concentración en la solución nutritiva aumentó el tiempo de vida, llegando a ser significativamente superior el tratamiento con 25% de concentración en relación a los demás. Este comportamiento en las características de flor es digno de resaltar ya que como se ha observado en las dos primeras etapas para la mayoría de las variables evaluadas y en esta última etapa para otras características de la planta, los tratamientos de menor concentración casi siempre produjeron alguna restricción en la manifestación de varias de las variables evaluadas, aunque las diferencias no siempre fueron significativas. Al respecto, Kofranek (1992) y King *et al.*, (1995) recomiendan que para maximizar la calidad de plantas de crisantemo, debe reducirse ó suspenderse la aplicación de N cuando las inflorescencias tienen de 1.0 a 1.5 cm de diámetro, ya que la aplicación continua después de esta etapa produce malformación y follaje quebradizo, y se reduce la vida de anaquel de las flores (Nell *et al.*, 1989). La disminución en los requerimientos de N después

de la iniciación de las flores es atribuida a que la removilización del N del tejido vegetativo soporta el desarrollo de la inflorescencia en etapas posteriores (Woodson y Boodley, 1983). Referente a la calidad de ornamentales, Nell (1995) menciona que la longevidad de las plantas de flores ya sea en maceta o para corte, son afectadas por el tipo de cultivar y las prácticas de cultivo usadas durante la producción. Los factores que actúan antes de la cosecha pueden contribuir con un 70% en la vida de las plantas con flores. La longevidad está relacionada directamente al tipo de cultivar. En crisantemo la longevidad se ha aumentado en un 100% seleccionando el mejor cultivar. El manejo adecuado de la fertilización durante el ciclo de cultivo, puede incrementar la longevidad de un 40-50 %. Al respecto, Kofranek (1992) indica que el crisantemo requiere altos niveles de N y K durante el crecimiento vegetativo. El N es particularmente importante en las etapas iniciales y una deficiencia sufrida durante este periodo no podrá corregirse con aplicaciones posteriores. De acuerdo con King *et al.*, (1995) los altos requerimientos de nutrimentos en esta etapa podrían ser atribuidos al bajo nivel de nutrimentos (bajan las reservas) que adquieren las plántulas después de enraizado el esqueje, los cuales se requieren para formar las nuevas raíces adventicias después de trasplantados y promover el desarrollo de los primordios foliares. Durante periodos de días cortos los requerimientos nutrimentales del crisantemo disminuyen y debe cesar la aplicación de fertilizantes al tiempo que los botones florales muestran el color. Altos niveles de N en esta etapa producirán un follaje quebradizo y flores de textura muy blandas (baja consistencia). Nell (1995) al cultivar crisantemos en maceta sin aplicación de fertilizantes en las últimas tres semanas de producción, observó que las plantas tardaron de 10-14 días más con presencia de flores, que plantas que se fertilizaron durante todo el cultivo.

Nell (1993) indica que el incremento específico en longevidad que resulta de suspensión de la fertilización está relacionado con el nivel de fertilización durante el crecimiento y desarrollo y el tipo de cultivar empleado. Para el cultivo de crisantemo en maceta la aplicación de altos niveles de fertilizante disminuyen la longevidad de la planta. Plantas que crecieron con 150 mg L^{-1} de N duraron de 7-14 días más que plantas que recibieron 450 mg L^{-1} de N; dependiendo del cultivar y del medio de crecimiento. Así mismo la suspensión de la fertilización en la etapa de desbotonamiento aumenta la longevidad de 7-10 días sin

producir efectos negativos como reducción de color de las hojas o tamaño de flor; características que se han tomado en cuenta en la selección de los diferentes cultivares de crisantemo, pues se requieren plantas de color verde intenso, que las hojas viejas no pierdan su color al momento de la floración (Elliott y Nelson, 1983).

Cuadro 10. Prueba de comparación de medias (Tukey, $\alpha=0.05$) de algunas características evaluadas al momento de la cosecha, sobre plantas que crecieron con diferentes niveles de macronutrientes en la solución nutritiva

TRATA- MIENTO	ALT (cm)	DP (mm)	PFF (g)	PFH (g)	PFT (g)	PFTOT (g)	PSF (g)	PSH (g)	PST (g)	PSTOT (g)	DF (cm)	VF (días)	HUM (%)
100% (M)	97.44 B	8.250 A	51.513 A	98.928 A	71.138 A	221.58 A	6.500 A	15.850 A	15.578 AB	37.927 A	13.675 A	13.988 B	82.899 A
75% de M	101.44 AB	8.075 A	55.815 A	86.445 A	67.653 A	209.91 A	5.990 A	14.560 A	16.270 AB	36.823 AB	14.215 A	14.102 B	82.332 A
50% de M	102.41 AB	7.800 A	44.998 A	85.703 A	67.275 A	197.98 A	5.360 A	16.335 A	18.483 A	40.135 A	14.467 A	14.290 B	79.925 A
25% de M	104.07 A	7.500 A	42.930 A	51.707 B	51.192 B	146.33 B	5.100 A	10.220 B	14.057 B	29.380 B	14.258 A	17.457 A	79.731 A
C.V	2.8006	5.9782	14.2024	7.5118	7.0962	6.7609	12.2023	11.1978	10.2428	9.5701	4.2280	9.0886	2.1502
DMS	6.2964	1.0730	15.3040	13.3810	10.0750	28.9460	1.5465	3.5203	3.6396	7.6192	1.3210	2.9689	3.8550

NOTA. Valores de columna con la misma letra son estadísticamente iguales CV = Coeficiente de variación DMS = Diferencia mínima significativa

ALT = Altura de planta DP = Diámetro de pedúnculo PFF = Peso fresco de flor PFH = Peso fresco de hoja PFT = Peso fresco de tallo
TOT = Peso fresco tota IPSF = Peso seco de flor PSH = Peso seco de hoja PST = Peso seco de tallo PSTOT = Peso seco total
DF = Diámetro de flor VF = Vida en florero HUM = Humedad

Por su parte, Reyes *et al.*, (1995) evaluaron la aplicación de 150 y 450 mg L⁻¹ de un fertilizante (20N - 4.7P - 16.6K) sobre dos cultivares de crisantemo para ver el efecto en la clorosis y necrosis del follaje. Después del embarque para el mercado, se desarrolló la clorosis en el limbo y necrosis en los bordes de la hoja. La necrosis fue más severa en el tratamiento con 450 mg L⁻¹. En plantas que no se embarcaron casi no se desarrolló clorosis ni necrosis. Al tiempo de floración se encontró 50 % menos carbohidratos en las raíces de plantas que recibieron el tratamiento más alto de fertilización (450 mg L⁻¹), por lo que sugirieron que la clorosis y necrosis está relacionada con el nivel de carbohidratos.

En otros cultivos como en *Tapeininochilus ananassae*, Broschat (1995) al aplicar 1110, 2220 y 4440 mg L⁻¹ de osmocote (17N - 3P - 10K) encontró que las plantas que recibieron la dosis 2220 mg L⁻¹ produjeron más flores y las que recibieron la dosis alta produjeron pocas flores y el tiempo de vida postcosecha fue significativamente más bajo (5.4 días) en comparación con el tratamiento de 2220 mg L⁻¹ (11.5 días).

Con estos resultados se puede decir, que el efecto de bajar la concentración en más del 50%, de lo que normalmente se recomienda en el medio de nutrición de la planta, puede afectar negativamente el desarrollo de algunas partes de la planta, como por ejemplo, peso fresco y seco de la hoja, área foliar, diámetro de tallo, peso fresco y seco del tallo; pero estos cambios tuvieron poca repercusión (diferencias no significativas, Cuadro 10) en la manifestación de las características de la flor como el diámetro de capítulo, peso fresco y seco; incluso se mejoró la altura de planta (longitud de tallo) y vida postcosecha de manera significativa, características altamente deseables en el cultivo del crisantemo para flor de corte, pues son parámetros que incrementan el valor comercial de esta flor. En las fotografías 1 y 2 se puede comparar el aspecto de las flores desarrolladas en los diferentes tratamientos.

Otro efecto que se observó al bajar la concentración de la solución nutritiva, fue la disminución en cantidad de sales que quedaron como residuo en el sustrato al final del ciclo de cultivo. En la figura 9 se muestra que la conductividad eléctrica disminuyó a casi la mitad cuando la concentración de la solución completa (M) se redujo a 75% en macronutrientes (25% de M), situación que es importante considerar si se quiere aumentar la vida útil de los sustratos ó disminuir el número de lavados que se da periódicamente a los mismos, sobre todo en los sistemas abiertos donde no hay una recirculación de la solución con limitantes de drenaje.

Nuevamente como en las etapas anteriores se efectuaron análisis químicos de nutrientes en el follaje de las plantas, para los cuales se puede ver una prueba de medias en el Cuadro 11. De manera similar a las otras etapas, tampoco existe diferencias significativas en la concentración de Ca y Mg, pero para el K y P la concentración disminuye conforme la concentración en la solución nutritiva se hace menor, en ambos casos, en los tratamientos de 25% y 50% las diferencias son significativas en relación a los tratamientos de 75% y 100% de concentración de la solución, mientras que para el N no existen diferencias entre los niveles de 100%, 75% y 50%, sólo el de 25% es inferior. Si se considera la suma de los nutrientes analizados (K+Ca+Mg y N+P), los tratamientos de 50% y 25% tuvieron las concentraciones significativamente más bajas. De acuerdo con estos resultados, si las diferencias en los efectos de los tratamientos, sobre algunas variables ya discutidas

anteriormente, se explicaran por los contenidos nutrimentales, sería el K, P y N los responsables de esas diferencias. Sin embargo, de acuerdo con Arbos (1990), Benton *et al.*, (1991) y Reuter y Robinson (1986) el contenido de Ca en todos los tratamientos es bajo pero sin llegar a ser deficiente, mientras que el contenido de Mg es de adecuado a alto (exceso), con estos últimos valores a medida que la concentración de nutrimentos en la solución fue menor. Los contenidos de K y P son adecuados, con excepción del P en el tratamiento de 25 % de M que es bajo pero sin llegar a ser deficiente. Para el caso del N, tomando en cuenta la reducción en contenido (%), aún en el tratamiento de 25% de M, los niveles no son deficientes.

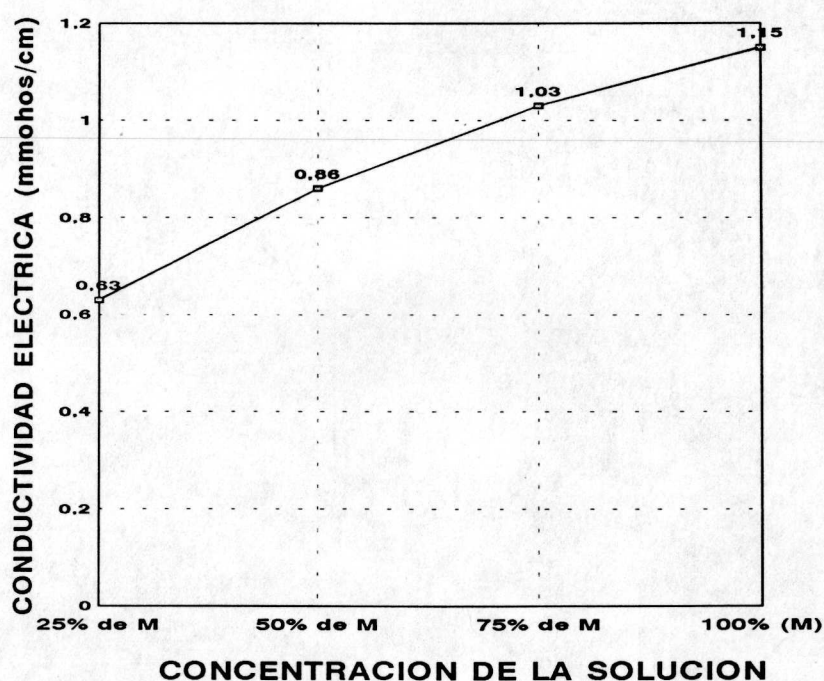


Fig. 9 Efecto de la concentración de la solución nutritiva sobre la conductividad eléctrica del sustrato (relación 2:1) al final del ciclo del cultivo

Según lo observado en las tres etapas de crecimiento, la reducción en el suministro de nutrimentos (N, P, K, Ca, Mg, S) en la solución nutritiva, sí produjo una disminución en la cantidad de N, P, K, y Ca en el tejido de la planta, aunque con excepción del N en la segunda etapa en el tratamiento de 25% de M, nunca llegaron a ubicarse en el rango de deficiencia; en la mayoría de los casos fue adecuada ó baja para algunos (marginal), según

los rangos que establecen Arbos (1990), Benton *et al.*, (1991), King *et al.*, (1995), Reuter y Robinson (1986) y Willits *et al.*, (1992). Considerando que el nivel nutrimental tiene un efecto importante en el crecimiento de las diferentes partes de la planta, estos resultados podrían explicar porqué sólo en algunas variables existieron diferencias significativas entre tratamientos, mientras que en otras no hubo diferencias. Es conveniente mencionar que de acuerdo con el crecimiento, desarrollo y coloración del follaje, sólo el tratamiento con 25 % de M produjo síntomas de deficiencias nutrimentales (tallos más delgados, menor área foliar, menor peso fresco, y coloración verde claro del follaje). Con lo respecta al Mg es de señalar que el agua empleada traía suficiente cantidad de este elemento (40 mg L⁻¹), situación que favoreció su absorción y por eso llegó a encontrarse en altas cantidades en varios casos, aunque no en niveles considerados tóxicos (Benton *et al.*, 1991; Reuter y Robinson, 1986). De hecho, los valores más altos se encuentran en los tratamientos de menor concentración nutrimental en la solución, que de acuerdo con Marschner (1986) y Mengel y Kirkby (1987) pudieron existir efectos de competencia con los demás cationes (Ca²⁺ y K⁺ principalmente), situación que podría ser la causa de los menores contenidos de Ca en el tejido si se comparan con los de Mg.

Cuadro 11. Prueba de comparación de medias (Tukey, $\alpha=0.05$) de la concentración (%) de nutrimentos en el follaje al momento de la cosecha, sobre plantas que crecieron en diferentes niveles de macronutrimentos en la solución nutritiva

TRATAMIENTO	N	P	K	Ca	Mg	N+P	K+Ca+Mg
100 %	1.447 AB (100)	0.440 A	6.397 A	0.426 A	0.887 A	1.887 AB	7.711 A
75%	1.913 A (132)*	0.304 AB	6.480 A	0.245 A	0.963 A	2.217 A	7.688 A
50%	1.447 AB (100*)	0.245 B	5.313 B	0.361 A	1.047 A	1.692 AB	6.722 B
25%	1.217 B (84)*	0.211 B	4.537 C	0.457 A	1.035 A	1.428 B	6.024 C
C.V	15.0984	19.1656	3.6942	22.5712	6.4335	13.7951	2.5474
DMS	0.6426	0.1626	0.5933	0.2370	0.1788	0.7042	0.5066

NOTA: Valores de columna con la misma letra son estadísticamente iguales

DMS = Diferencia mínima significativa

*Contenido de N en relación al 100% del tratamiento de solución completa (M)

Para explicar, al menos en parte, los resultados obtenidos al final del ciclo del cultivo, se realizaron algunas pruebas de correlación entre las variables evaluadas. El Cuadro 12

presenta la correlación entre nutrientes (expresados en base a concentración en el tejido), humedad (HUM) y vida en florero (VF). Algunas correlaciones que tienen especial importancia son las que resultan entre vida en florero y suma de cationes (K+Ca+Mg), así como con la suma de todos los nutrientes evaluados (N+P+K+Ca+Mg), las cuales resultan negativas; además debe notarse que de todos los nutrientes el K es el que aparentemente determinó en mayor grado la vida postcosecha. Esto significa, por lo menos en parte, que el mayor tiempo en florero de las plantas que crecieron en el nivel más bajo (25%) de concentración en la solución nutritiva, se debe a que estas plantas tuvieron menores concentraciones de nutrientes en sus tejidos, situación que pudo influir en los contenidos de humedad (HUM) en las plantas, que en general es mayor conforme más nutrientes se encontraban en sus tejidos (Cuadros 10 y 11).

Cuadro 12. Coeficientes de correlación de Pearson entre concentración (%) de nutrientes en el tejido (hojas) y algunas variables evaluadas al momento de la cosecha, en plantas que crecieron en diferentes niveles de macronutrientes en la solución nutritiva (n=12)

	N	P	K	Ca	Mg	VF	HUM	N+P	K+Ca+Mg	N+P+K+Ca+Mg
N		0.2623	0.6672*	-0.6848*	-0.0475	-0.4814	0.1546	0.9611**	0.6526*	0.7879**
P			0.7064*	0.0509	-0.6430*	-0.4653	0.8423**	0.5184	0.7385**	0.7011*
K				-0.5035	-0.6233*	-0.6684*	0.6350*	0.7932**	0.9936**	0.9754**
Ca					-0.0038	0.4484	0.2155	-0.5923*	-0.4275	-0.5036
Mg						0.5240	-0.5642	-0.2259	-0.5991*	-0.5037
VF							-0.2156	-0.5596	-0.6365*	-0.6421*
HUM								0.3778	0.6896*	0.6192*
N+P									0.7894**	0.8987**
K+Ca+Mg										0.9786**
N+P+K+Ca+Mg										

*Correlación significativa

**Correlación altamente significativa

PSTOT = Peso seco total (g)

VF = Vida en florero (días)

Debe mencionarse aquí, que durante el tiempo que las plantas estuvieron en florero se observó una mayor absorción de agua por el tallo en las plantas de los tratamientos de mayor concentración en la solución (M y 75% de M), lo que a su vez produjo en varias flores un desprendimiento de las partes de la flor y en consecuencia se redujo su vida en florero. En las flores que se observó el desprendimiento, el receptáculo mostró síntomas de

putrefacción (probablemente efecto de exceso de humedad) de tal manera que no se pudo mantener el punto de unión con los pétalos, desintegrándose la forma de la flor. De manera contraria, se observó también que las plantas (tallos y hojas) del tratamiento de 25% de M absorbieron menor cantidad de agua (aunque no se pudo cuantificar), y las flores nunca llegaron a desprenderse del receptáculo. Nótese la correlación positiva entre contenido de humedad y concentración de cationes (K, Ca, Mg), así como con la suma total de concentración de nutrientes (N+P+K+Ca+Mg) lo que podría indicar una disminución en potenciales osmóticos y por eso a mayor concentración de nutrientes mayor absorción de agua, situación que pudo perjudicar el tiempo de vida en florero. Aunque algunas correlaciones son significativas o altamente significativas no tienen relación clara con los efectos de tratamientos, por ejemplo, era de esperarse que la concentración de algún nutriente en particular correlacione positivamente con la suma total de los nutrientes, que con excepción del Ca, las demás correlaciones son significativas o altamente significativas.

Con frecuencia, cuando se interpretan valores de nutrientes con base en concentración o con base en cantidad absorbida, pueden resultar conclusiones diferentes. Debido a esto, en el Cuadro 13 se presentan coeficientes de correlación pero con base en cantidad absorbida (mg/planta). Nótese que el peso seco total (PSTOT) en general correlaciona positivamente con la cantidad de nutrientes absorbidos, que la vida en florero (VF) disminuye conforme se absorbieron más nutrientes especialmente K y N, que como sabemos son los dos nutrientes que más contribuyen al desarrollo de potenciales osmóticos negativos en las células. Algunas correlaciones, al igual que en el Cuadro 12, aunque son significativas no tienen relevancia en la interpretación de resultados.

Además de la concentración o absorción de nutrientes que pudieron influir en las características de flor al final del ciclo de cultivo, el efecto de otras variables pudo ser también importante. En el Cuadro 14 se muestran los coeficientes de correlación entre variables. De las características de flor, se puede apreciar que el peso fresco de flor (PFF) podría depender del desarrollo de otras partes de la planta como el peso fresco de la hoja (PFH), peso fresco total (PFTOT) y del contenido de humedad (HUM); así como el peso seco de flor (PSF) dependería del peso seco de hoja (PSH), del peso seco total (PSTOT),

del diámetro de pedúnculo (DP), del peso fresco de la hoja (PFH), Tallo (PFT) y total (PFTOT), pues las correlaciones positivas entre estas variables son significativas. El diámetro de flor no tiene una relación clara con alguna variable que como puede verse en el Cuadro 10 y figura 7 no hay diferencias entre tratamientos. Finalmente, otras correlaciones de interés son las que se dan entre la vida en florero (VF) y los pesos frescos y secos de las distintas partes de la planta (hoja, tallo y total); las cuales muestran una relación inversa.

Cuadro 13. Coeficientes de correlación de Pearson entre nutrientes absorbidos (mg/planta) y algunas variables evaluadas al momento de la cosecha, en plantas que crecieron con diferentes niveles de macronutrientes en la solución nutritiva (n = 12)

	PSTOT	VF	HUM	N	P	K	Ca	Mg	N+P	K+Ca+Mg	N+P+K+Ca+Mg
PSTOT		-0.6405*	-0.1925	0.8148**	0.5620	0.8778**	0.0451	0.8506**	0.8416**	0.9170**	0.9118**
VF			-0.0771	-0.6403*	-0.5614	-0.7300**	0.1058	-0.3388	-0.6897*	-0.7157**	-0.7200**
HUM				0.0137	0.4102	0.1678	0.1587	-0.3800	0.1090	0.1307	0.1272
N					0.4558	0.8560**	-0.3240	0.6718*	0.9775**	0.8535**	0.8974**
P						0.7610**	0.3053	0.1713	0.6331*	0.7558**	0.7364**
K							-0.0847	0.5557	0.9245**	0.9937**	0.9913**
Ca								0.0182	-0.2095	-0.0107	-0.0600
Mg									0.6248*	0.6263*	0.6353*
N+P										0.9211**	0.9547**
K+Ca+Mg											0.9952**
N+P+K+Ca+Mg											

*Correlación significativa

**Correlación altamente significativa

PSTOT = Peso seco total (g)

VF = Vida en florero (días)

De acuerdo con los resultados obtenidos en este experimento, resulta claro que bajo las condiciones en que se llevó a cabo (sistema abierto y no recirculación de la solución), las cuales pueden ser fácilmente implementadas en los sistemas de producción, se puede reducir la concentración de todos los macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg y S) en la solución nutritiva hasta en un 50% de lo que normalmente se recomienda en los cultivos hidropónicos (Resh, 1993; FAO, 1990; Sánchez y Escalante, 1989) sin afectar la calidad comercial (Follaje y flor) de la flor del crisantemo. Esto se debe probablemente a que con el sistema empleado, aunque no existió una circulación de la solución, sí hubo un movimiento de solución en el medio de nutrición de las plantas. Se supone que con el goteo constante

durante las horas de mayor transpiración (de las 9:00 a las 15:00 hrs) el agua que se estaba perdiendo era repuesta inmediatamente, de tal manera que la planta nunca estuvo sujeta a un estrés hídrico.

Cuadro 14. Coeficientes de correlación de Pearson entre algunas variables evaluadas al momento de la cosecha, en plantas que crecieron en diferentes niveles de macronutrientes (n = 16)

	ALT	DP	PFF	PFH	PFT	PFTOT	PSF	PST	PSH	PSTOT	DF	VF	HUM
ALT		-0.0407	-0.0237	-0.4153	-0.4277	-0.3714	-0.3510	-0.0765	-0.3346	-0.2775	0.3661	0.4196	-0.2243
DP			0.3753	0.4718	0.4468	0.5001*	0.6181*	0.3179	0.4297	0.4725	0.1618	-0.4321	0.1642
PFF				0.5113*	0.4531	0.6722**	0.3282	-0.1011	0.2298	0.1405	0.1835	-0.1212	0.7827**
PFH					0.9323**	0.9736**	0.6158*	0.4735	0.8601**	0.7793**	-0.2409	-0.6575**	0.4935
PFT						0.9344**	0.5872*	0.6179*	0.8024**	0.8020**	-0.1265	-0.6653**	0.4225
PFTOT							0.6105*	0.4298	0.7866**	0.7191**	-0.1308	-0.5996*	0.5976*
PSF								0.3387	0.5788*	0.6275**	-0.3408	-0.3643	0.1498
PSH									0.7190**	0.8737**	0.1523	-0.4920*	-0.3936
PST										0.9538**	-0.1187	-0.7152**	0.0240
PSTOT											-0.0592	-0.6673**	-0.1255
DF												0.1240	-0.1192
VF													-0.1129
HUM													

*Correlación significativa

** Correlación altamente significativa

ALT = Altura de planta (cm)

DP = Diámetro de pedúnculo (mm)

PFF = Peso fresco de flor (g)

PFH = Peso fresco de hoja (g)

PFT = Peso fresco de tallo (g)

PFTOT = Peso fresco total (g)

PSF = Peso seco de flor (g)

PST = Peso seco de tallo (g)

PSH = Peso seco de hoja (g)

PSTOT = Peso seco total (g)

DF = Diámetro de flor (cm)

VF = Vida en florero (días)

HUM = Humedad (%)

Este mecanismo de suministro de la solución favoreció el abasto no sólo de agua sino también el acercamiento de los nutrientes a la superficie de la raíz, de tal manera que se redujo la zona de agotamiento que normalmente se crea en la vecindad de las raíces por efecto de la absorción nutricional. Aunque al parecer con el tratamiento de 25% de concentración de la solución no se logró evitar esta zona de agotamiento, pues de acuerdo con lo discutido para cada etapa de crecimiento, en la mayoría de los casos, no fue suficiente para abastecer las necesidades de la planta, lo que se reflejó en el menor desarrollo de la planta. Debe considerarse que aún ésta concentración de 25 % de M (Cuadro 5) es superior a las concentraciones que en experimentos de recirculación constante de nutrientes, han permitido obtener rendimientos máximos de los cultivos. Por ejemplo para este mismo cultivo, Elliott y Nelson (1983) encontraron que el mantener constante una concentración de N (0.03 mol m^{-3}) fue suficiente para soportar un crecimiento

adecuado, el cual no cambió cuando se usó una concentración de 0.03 a 1.0 mol m⁻³ y de 0.25 a 5.0 mol m⁻³ en dos experimentos, lo que significa que con nuestro sistema (sistema abierto de no recirculación de la solución) en el tramiento con sólo 25% de M sí se llegó a crear la zona de agotamiento, por lo menos para algunos nutrimentos como el P y K que se mueven básicamente por difusión, que de acuerdo con los cálculos de la ecuación 3 (apartado 2.3) tardarían en moverse unos 3 mm de 30 a 60 min en promedio.

Aunque Clarkson (1988), menciona que los efectos de esta zona de agotamiento serán mayores para los nutrimentos que se absorben rápidamente y en altas cantidades como los NO₃⁻. Pitman (1982) (citado por Clarkson, 1988), estimó que la velocidad potencial de absorción de NO₃⁻ de una solución de 10 mol m⁻³ (140 mg L⁻¹) es reducida en un 10 y 40 % para capas sin agitar de 10 y 100 µm de espesor, respectivamente. Lo anterior se debe a que la concentración en la superficie de la raíz es mucho menor que en el medio circundante. De aquí es evidente, que a menor concentración de la solución externa mayor será el agotamiento en la superficie, y un incremento en la velocidad de absorción tendrá el mismo efecto. Sin embargo, cuando las plantas están transpirando, el flujo de masas de la solución hacia la superficie de la raíz puede contrarrestar hasta cierto punto este agotamiento, pero el efecto sólo será significativo donde la concentración externa sea relativamente alta para mover suficientes nutrimentos a la superficie radical (Clarkson, 1988; Wild *et al.*, 1989). Para poder bajar la concentración de la solución a niveles inferiores de 25% de M (Cuadro 5) sin que se produzca la zona de agotamiento, se requiere que el flujo de la solución a través del área radicular sea más rápido que el proporcionado por nuestro sistema. Por ejemplo Wild *et al.*, (1989) y Asher y Edwards (1982) mencionan que se requieren flujos constantes arriba de 700 ml min⁻¹ para evitar la formación de zonas de agotamiento con el sistema de la película nutritiva, y se pueden usar soluciones nutritivas con concentraciones similares a las que se encuentran en la solución del suelo.

Para varios cultivos desde hace tiempo, algunos investigadores han tratado de reducir al mínimo la concentración de los nutrimentos en la solución nutritiva sin que se afecte la producción del cultivo, pero no siempre se ha tenido éxito. Sin embargo sí se ha demostrado que es posible alcanzar el potencial de producción de los cultivos con

concentraciones de la solución extremadamente bajas (Asher y Ozane, 1967, citados por Pitman, 1988; Glass, 1990). En esos experimentos se evaluó el efecto que tiene la concentración de la solución externa en el crecimiento de las plantas y su contenido nutrimental. Se encontró que las plantas son capaces de alcanzar un crecimiento óptimo a concentraciones de la solución externa extremadamente bajas, sobre todo cuando el suministro es constante. Asher y Loneragan (1967) (citados por Pitman, 1988), encontraron en promedio para 10 especies, que con sólo 5 mmol m^{-3} de fósforo en solución se alcanzó el 97% del máximo rendimiento, mientras que a concentraciones de 25 mmol m^{-3} el rendimiento sólo se incrementó a 98% y los contenidos de fósforo en el tejido tampoco cambiaron significativamente, pues fueron de 25 y $27 \mu\text{mol/g}$ de peso fresco, respectivamente.

El uso de soluciones diluídas puede ser posible si se asegura el suministro a la superficie de la raíz de una cantidad de nutrimentos, que no limite la velocidad de absorción que se requiere para satisfacer las necesidades de la planta. Clarkson (1988) menciona que si la velocidad con que llegan los nutrimentos a la superficie de la raíz es menor que la velocidad con que son absorbidos por las células de la epidermis, parece improbable que se muevan por el apoplasto para penetrar en las células del interior. Se argumenta razonablemente que en soluciones de nutrimentos muy diluídas la mayor parte de la absorción se lleva a cabo en la epidermis, ya que el flujo por difusión es tortuoso por los poros del apoplasto, lo que reducirá la cantidad de nutrimentos que se absorben. Es por ello que para el suministro de nutrimentos, como lo señalan FAO (1990) y Resh (1993), la concentración de las soluciones nutritivas que se recomiendan en los diferentes cultivos y sistemas hidropónicos (Cuadro 5) tiene concentraciones relativamente altas, incluso muy por encima de las concentraciones que normalmente se encuentran en la solución de suelos fértiles (Cuadro 3).

Como se mencionó anteriormente, la demanda de las plantas para la mayoría de los nutrimentos inorgánicos puede ser satisfecha a concentraciones externas bastante bajas, si los nutrimentos son abastecidos constantemente. Se ha observado en estudios a largo plazo, que si la concentración externa se eleva se producen sólo pequeños incrementos en la concentración interna de los nutrimentos (Glass y Siddiqui, 1984). Bajo estas

condiciones de suministro constante de nutrimentos el proceso de absorción es esencialmente independiente de la concentración externa, excepto a valores aproximados a la concentración a la cual cesa la absorción (**C_{min}**) (Glass, 1990).

Ya que la concentración mínima (**C_{min}**) describe el nivel de concentración en la solución a la cual cesa la absorción de un nutrimento en particular (Barber, 1984a; Marschner, 1986), y normalmente se alcanza antes de que los iones sean completamente agotados (Marschner, 1986), significa que si la **C_e** está muy por debajo de la **C_{min}** para una planta, ésta no será capaz de absorber a ese nutrimento en particular, de hecho podría retornar algo a la solución de lo que ya había sido absorbido, como sucede en el fósforo en suelos muy deficientes (Barber, 1984a). Esto es el resultado ya sea de la afinidad limitada por los iones en el sitio del transportador o el resultado de un equilibrio que se establece entre el eflujo e influjo. Esta **C_{min}** difiere entre iones y tipo de plantas. En maíz se ha encontrado que para el caso del K la **C_{min}** = 2 μ M y para el P la **C_{min}** = 0.2 μ M, mientras que para avena la **C_{min}** = 1 μ M y < 0.1 μ M, respectivamente. La **C_{min}** es un factor importante en la absorción de iones de la solución, porque es la concentración más baja a la cual las raíces pueden extraer un ion de la solución y por lo tanto determina los gradientes de difusión de la rizósfera (marschner, 1986), que como ya se ha mencionado afectaría principalmente a aquellos iones que se mueven por difusión (P, K, etc), ver Cuadro 4.

Valores bajos de **C_{min}** le permitirán a la planta crecer en medios con bajas concentraciones de nutrimentos en la solución y el efecto de ésta **C_{min}** será más significativo donde la **C_e** sea del mismo orden de magnitud que la **C_{min}**. El efecto es proporcional a $\frac{C_e - C_{min_1}}{C_e - C_{min_2}}$ (Barber, 1984b). Las variantes en sistemas de producción hidropónicos que actualmente existen obedecen en gran parte a las necesidades de optimizar la nutrición de la planta, así como reducir la cantidad de residuos que se mandan al drenaje; tal es el caso de los sistemas de recirculación de la solución. Con estos sistemas se ha encontrado que se puede reducir la zona de agotamiento de nutrimentos. Ya que los niveles de nutrimentos en la superficie de la raíz difieren con el tiempo de los niveles iniciales de la solución del suelo, se podría afectar el balance de nutrimentos requeridos para alcanzar el crecimiento máximo de la planta. La acumulación ó agotamiento en la superficie de la raíz no ocurre en soluciones nutritivas cuando se usan

sistemas de recirculación, de aquí que los resultados obtenidos en condiciones hidropónicas comparados con los obtenidos en cultivo en suelo, deben considerar la variación en los niveles debido a diferencias en la velocidad de suministro (Barber, 1984a). Además, muchas plantas pueden tolerar concentraciones relativamente bajas de nutrimentos, pues los pelos radicales se proyectan de la superficie de la raíz a menudo a considerables distancias en el medio circundante, están estratégicamente ubicados para absorber los iones cuyo movimiento a la superficie de la raíz es limitado por la difusión ó para iones que están muy diluídos (Clarkson, 1985; 1988). Las diferencias genotípicas en las respuestas de crecimiento a la concentración de nutrimentos en el medio puede ser el resultado de estas diferencias en la adquisición y/o utilización de los nutrimentos absorbidos (Glass, 1990). Para mejorar la adquisición de nutrimentos la morfología de la raíz es afectada, la formación de pelos radicales se incrementa fuertemente con la deficiencia de algunos nutrimentos (N, P) (Marschner, 1986). Los pelos radicales son altamente eficientes en absorber nutrimentos inmóviles (especialmente P) debido a su pequeño radio y a su crecimiento perpendicular con respecto al eje principal de la raíz. Esto hace que la concentración de P en la interfase solución-pelo radical disminuya más lentamente por lo que la absorción permanece más alta de lo normalmente esperado (Fohse, 1991).

Del análisis químico de macronutrimentos en las tres etapas de desarrollo, la poca variación encontrada para Ca y Mg, podría explicarse de acuerdo con lo que mencionan algunos investigadores. Cuando se miden parámetros de la planta para evaluar la absorción de nutrimentos como Ca y Mg, con frecuencia no existen diferencias ya que se introduce una influencia más grande en la predicción de la absorción debido a que éstos son nutrimentos que se suministran por flujo de masas en grandes cantidades, por lo que generalmente previenen un agotamiento y con frecuencia causan una acumulación alrededor de la raíz (Barber, 1984a; Kelly *et al.*, 1992; Rengel, 1991). Un desbalance entre el suministro y la absorción de Ca y Mg podría requerir el desarrollo de un modelo matemático por separado, para predecir la absorción y para estudiar los procesos de transporte de estos nutrimentos en la superficie de la raíz. Los modelos actuales de

simulación generalmente sobreestiman la absorción ya sea de los nutrientes móviles o inmóviles bajo condiciones no limitantes de nutrientes (Rengel, 1993).

De acuerdo con Barber (1984a), la suficiencia de un nutriente para obtener un crecimiento máximo depende del nivel del nutriente en la solución, y la velocidad de absorción por unidad de superficie de raíz (influjo) depende de la concentración que se mantenga en la superficie de la raíz. Conforme un nutriente se incrementa por arriba del nivel requerido para alcanzar la velocidad máxima de absorción (I_{max}), el crecimiento de la planta puede disminuir ya que la alta concentración externa (C_e) favorece la absorción del nutriente, de tal manera que disminuye la absorción de otros nutrientes y el balance nutricional requerido para lograr un crecimiento máximo no está presente. Además se puede obtener un rendimiento máximo sin alcanzar I_{max} . Conforme se incrementa C_e el nivel del nutriente en la planta se incrementará porque aumenta la absorción (I). Este nivel de nutriente aumenta el rendimiento; sin embargo, usualmente se alcanza el rendimiento máximo antes de que la absorción del nutriente alcance su máximo. De aquí, que para lograr un balance nutricional y un rendimiento máximo, el nivel adecuado en la concentración de un nutriente fuera de la raíz (C_e) es aquel que es menor al nivel que produce la absorción máxima (I_{max}) del nutriente en particular, pero lo suficientemente alto para producir el máximo rendimiento (Barber, 1984a, 1984b). De acuerdo con Agreen (1989), Ingestat, (1989), Willits *et al.*, (1992) ésta es la situación que establece las condiciones constantes de nutrición de la planta (Velocidades constantes de crecimiento relativo sin variación en la concentración nutricional en el tejido).

Cuando se crean deficiencias nutricionales las plantas pueden reaccionar de diferentes maneras. Algunas de las cuales son: **a)** Un aumento en la capacidad de absorción para el ion deficiente (se incrementa I_{max}), **b)** se da un aumento en la afinidad del mecanismo de absorción por el ion deficiente (disminuye K_m) y **c)** se incrementa la proporción de movimiento y translocación del ion absorbido (Clarkson, 1988).

Incrementando I_{max} se tiene un gran efecto en la absorción cuanto más grande sea C_e . Si el flujo de masas suministra los nutrientes a la raíz a una velocidad más grande que I_{max} , entonces incrementando I_{max} se incrementará proporcionalmente la absorción. Por otro lado, cuando la C_e de un nutriente es baja y la difusión es el principal mecanismo

que lleva el nutrimento a la superficie de la raíz, el suministro a la solución será el factor limitante en la absorción del nutrimento (Barber, 1984b), lo que puede ocurrir con frecuencia para el P y K. Para el caso del K, esto inducirá una liberación del K-no intercambiable y el intemperismo de minerales arcillosos en la interfase suelo-raíz (Marschner, 1991).

Si se reduce la K_m se produce una mayor absorción a la misma C_e . Si K_m cambia se tendrá el mayor efecto en la absorción donde los niveles del nutrimento en la solución sean considerablemente más bajos de los niveles requeridos para alcanzar I_{max} . Aunque (Barber, 1984a) menciona que es difícil encontrar cultivos que varíen grandemente en su K_m , que no es una propiedad de las plantas el desarrollar fácilmente los mecanismos que las hagan más eficientes en su absorción nutrimental. Sin embargo, como lo menciona Glass (1990), una respuesta casi universal de las plantas a la privación de nutrimentos es el incremento de I_{max} y en algunos casos la reducción de K_m , por lo que es difícil creer que estos cambios no tengan significancia en la adquisición de nutrimentos.

Si la concentración de un nutrimento en la solución (C_e) es suficientemente alta, de tal manera que la absorción se aproxime a I_{max} , el incremento en el influjo de agua (J_v) por la planta, tendrá poco efecto en la absorción nutrimental. Si la concentración del nutrimento en la solución es baja, como es común para los fosfatos, entonces el incrementar el flujo de agua tampoco tendrá efecto en la absorción. En este caso el flujo de masas suministrará solamente una pequeña fracción de los nutrimentos que alcancen la superficie de la raíz (Barber, 1984a), ésta podría ser la causa de la respuesta diferencial a la disminución de la concentración de los macronutrimentos aquí evaluada.

El efecto del influjo de agua sobre la absorción de nutrimentos, depende tanto de la concentración inicial de la solución como de I_{max} . Si $(J_v)(C_e) = I_{max}$, el flujo de masas suministrará los nutrimentos a la superficie de la raíz a la misma velocidad con que las raíces los absorben, de aquí que no existan cambios en la C_e en la superficie de la raíz. Si $(J_v)(C_e) < I_{max}$, la absorción por las raíces reducirá la C_e en la superficie de la raíz. Si $(J_v)(C_e) > I_{max}$, los iones en cuestión se acumularán en la superficie de la raíz, llegando incluso a rebasar la capacidad de solubilidad, que pueden producirse algunos precipitados de sales ($CaSO_4$, $CaCO_3$) en la superficie de la raíz (pedotúbulos), sobre todo cuando la

solución es rica en calcio. En suelos salinos llegan a producirse acumulaciones de sales en la rizósfera con los consecuentes efectos negativos en las relaciones hídricas de la planta (Barber, 1984a; 1984b; Marschner, 1991).

En resumen la disminución en concentración de la solución nutritiva de macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg, S) produjo los siguientes efectos sobre las plantas: **a)** Durante la etapa vegetativa (desde trasplante a inducción floral) la reducción al 50 % en la concentración de N, P, K, Ca, Mg y S de la solución nutritiva, no produjo disminución significativa en el crecimiento y desarrollo de la planta, pero cuando la reducción en concentración llegó al 75% (25 % de M) algunas características como diámetro de tallo, peso fresco y seco de hoja y peso fresco total disminuyeron significativamente, **b)** Durante la etapa reproductiva I (desde inducción floral hasta aparición visible del botón floral), algunas características como peso fresco de hoja, tallo y total, peso seco de hoja y área foliar disminuyeron significativamente cuando se usó 50% y 25% de concentración de la solución; mientras que peso seco de tallo y total solo fue significativamente inferior en el tratamiento de 25% de concentración de la solución nutritiva, **c)** Al momento de la cosecha, con excepción de las características de flor, la mayoría de las variables evaluadas fueron significativamente inferiores solo en el tratamiento de 25% de M de concentración de la solución nutritiva, **d)** No se manifestaron diferencias significativas en las características que determinan la calidad de la flor (peso fresco y seco, diámetro de capítulo, aspecto visual) al bajar la concentración de la solución nutritiva, incluso la altura de planta y vida en florero aumentaron conforme disminuyó la concentración de la solución, llegando a ser estadísticamente superiores en el tratamiento de 25 % de M, **e)** Durante las diferentes etapas de crecimiento y desarrollo, conforme disminuyó la concentración de la solución nutritiva, se encontró menor contenido de nutrientes (N, P, K, Ca, Mg) en el tejido, llegando en algunos casos a ser estadísticamente diferentes entre tratamientos, pero casi nunca llegaron a caer en el rango considerado como deficiente, y **f)** El mayor tiempo de vida en florero tuvo una correlación negativa con el contenido de nutrientes en el tejido, principalmente con el N y K.

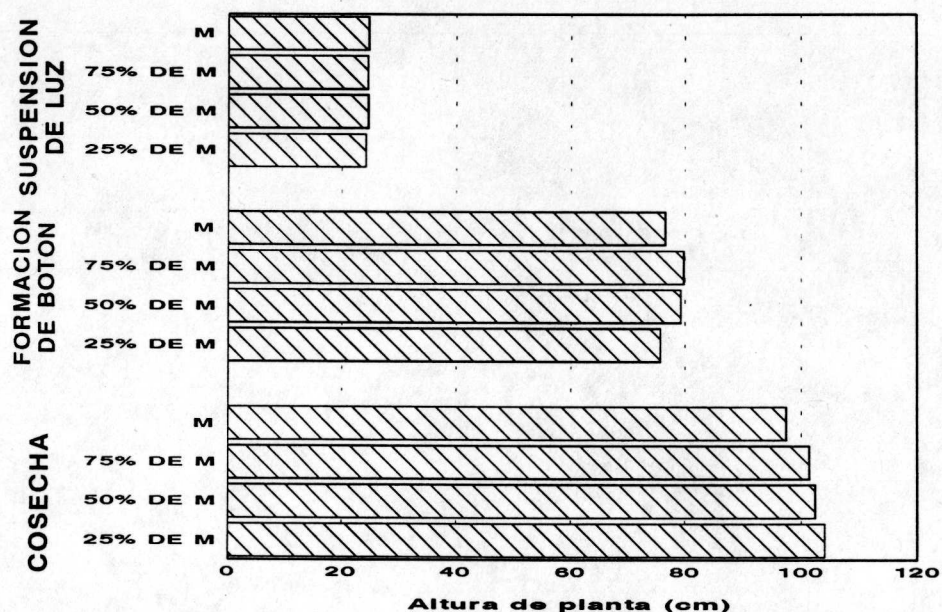


Fig.3 Efecto de la disminución en la concentración de macronutrientes en la solución nutritiva, sobre la altura de planta durante el crecimiento y desarrollo

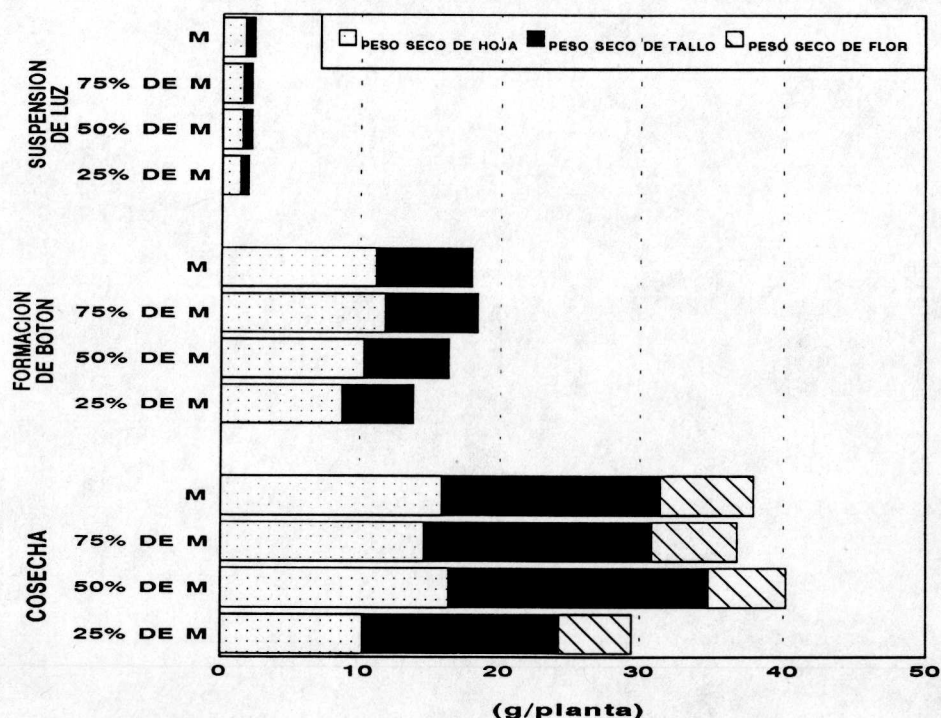


Fig.4 Efecto de la disminución en la concentración de macronutrientes en la solución nutritiva, sobre el peso seco de la planta

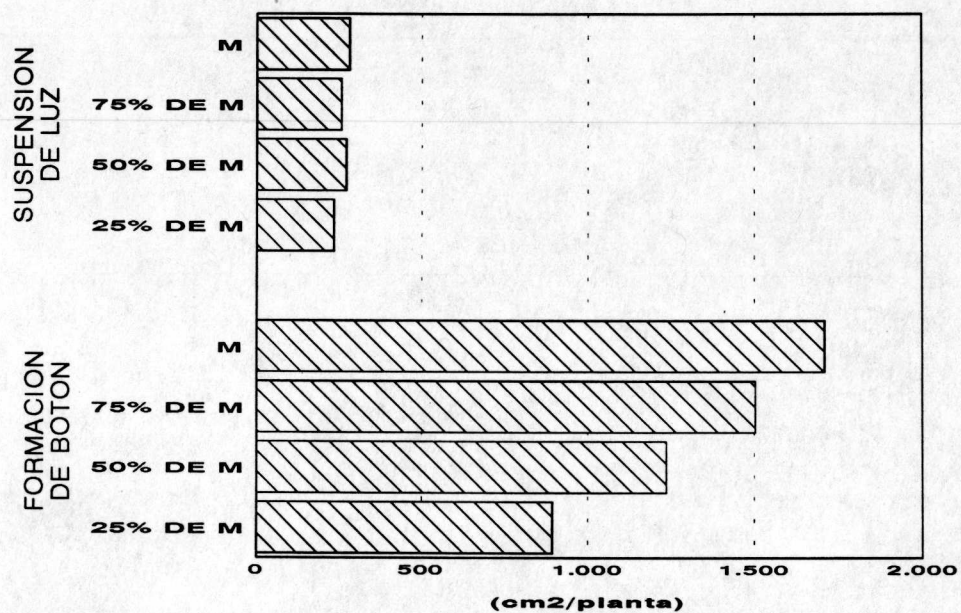


Fig.5 Efecto de la disminución en la concentración de macronutrientes en la solución nutritiva sobre el desarrollo del área foliar

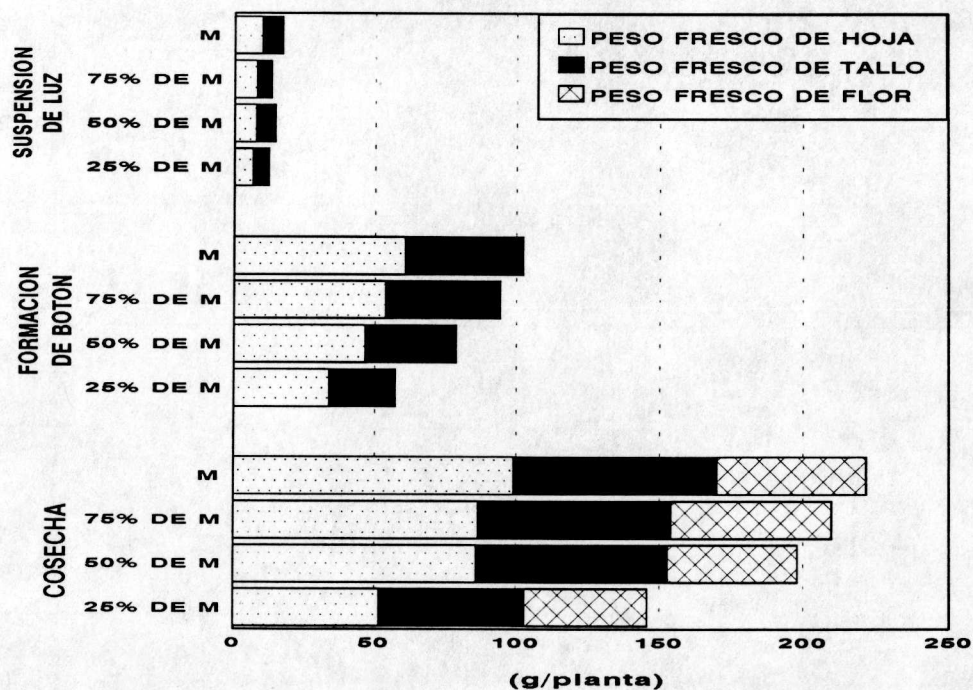


Fig.6 Efecto de la disminución en la concentración de macronutrientes en la solución nutritiva sobre el peso fresco de la planta

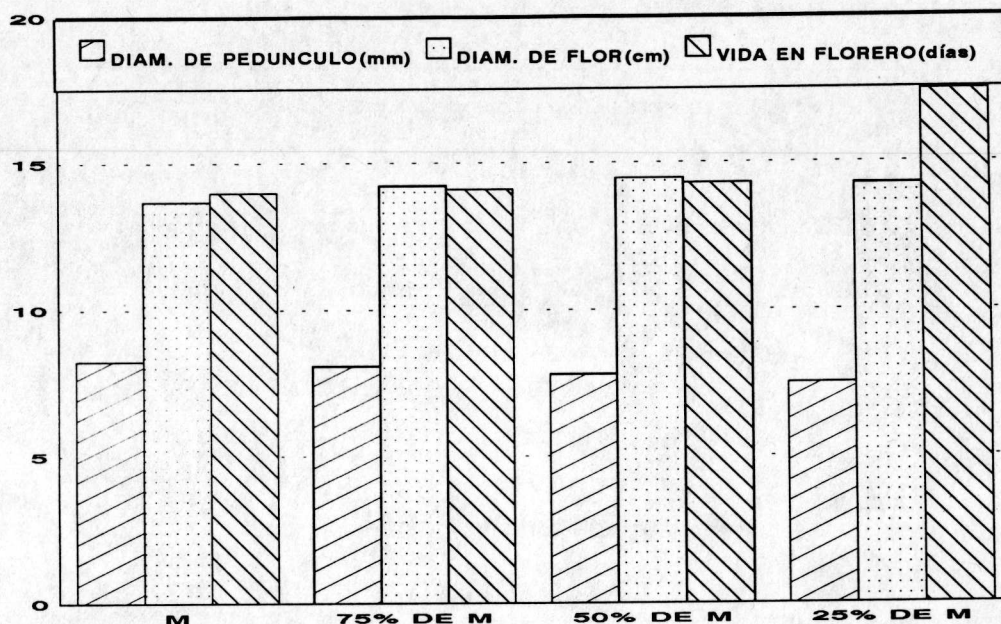


Fig.7 Efecto de la disminución en la concentración de macronutrientes en la solución nutritiva, sobre algunas características de la flor

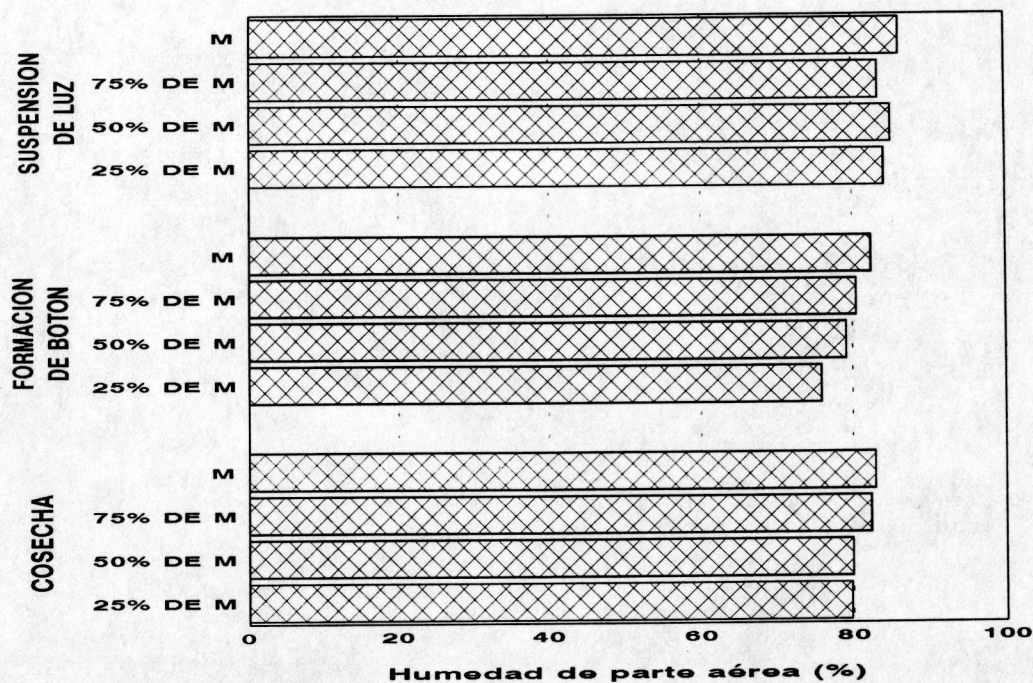
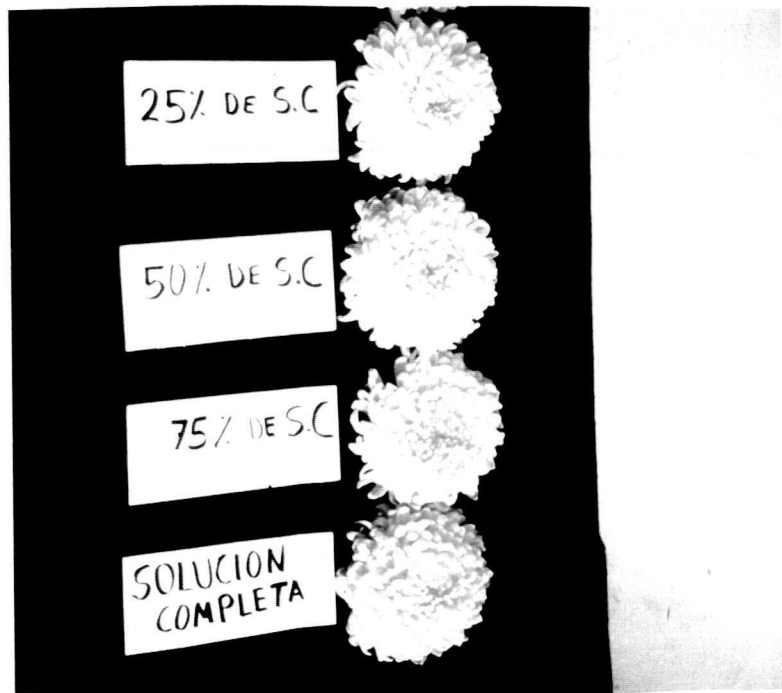


Fig.8 Efecto de la disminución en la concentración de macronutrientes en la solución nutritiva, sobre el contenido de humedad de la planta



Fotografía 1. Diámetro de capitulo de plantas que crecieron con diferentes niveles de macronutrientes en la solución nutritiva



Fotografía 2. Altura de plantas que crecieron en diferentes niveles de macronutrientes en la solución nutritiva

5.2. Efecto de la disminución en concentración de N, P ó K en la solución nutritiva sobre el desarrollo de las plantas

5.2.1. Efecto durante la etapa vegetativa (desde trasplante hasta suspensión del tratamiento de luz)

Otra forma de bajar la concentración de la solución nutritiva fue disminuyendo la cantidad de N, P ó K a 75% ó 50% del nivel normal (M) de cada nutrimento. En general la disminución del nivel de concentración de alguno de ellos no afectó la altura de planta (ALT), el diámetro de tallo (DT) y el contenido de humedad (HUM) hasta el momento de la suspensión del tratamiento de luz (Cuadro 15 y figuras 10, 11 y 12). Se observa que entre las otras variables no existe una tendencia clara en las respuestas de la planta al bajar los niveles de nutrimentos, aunque sí puede apreciarse que los tratamientos con bajos niveles de fósforo no disminuyeron su producción tanto en peso fresco como seco, incluso en algunos casos están por arriba del tratamiento con solución completa (M).

Cuadro 15. Prueba de comparación de medias (Tukey, $\alpha=0.05$) de algunas variables evaluadas al momento de la suspensión del tratamiento de luz, en plantas que crecieron en diferentes niveles de N, P ó K en la solución nutritiva

TRATAMIENTO	ALT (cm)	DT (mm)	PFH (g)	PFT (g)	PFTOT (g)	PSH (g)	PST (g)	PSTOT (g)	AF (cm ²)	HUM (%)
M	24.567 A	7.950 A	9.400 AB	7.602 AB	17.003 AB	1.630 ABC	0.695 ABC	2.375 ABC	280.53 AB	86.268 A
M-75% N	26.925 A	8.100 A	8.450 AB	5.920 AB	14.278 AB	1.290 BC	0.647 BC	1.937 BC	235.83 AB	86.343 A
M-75% P	25.652 A	7.625 A	9.853 AB	6.220 AB	16.135 AB	1.820 AB	0.427 ABC	2.548 AB	323.46 A	83.513 A
M-75% K	27.830 A	8.225 A	7.645 B	5.047 B	12.692 B	1.135 C	0.572 C	1.707 C	180.03 B	86.531 A
M-50% N	27.467 A	7.450 A	11.528 AB	7.467 AB	18.995 AB	1.695 AB	0.890 BC	2.585 AB	274.33 AB	86.172 A
M-50% P	25.623 A	7.725 A	12.520 A	7.835 A	20.362 A	1.970 A	0.945 A	2.903 A	327.72 A	85.810 A
M-50% K	26.595 A	8.200 A	9.900 AB	5.758 AB	15.657 AB	1.527 ABC	0.687 ABC	2.215 ABC	256.37 AB	85.873 A
C.V	7.1400	8.1174	18.6247	17.4763	17.5360	17.8867	15.6475	14.8894	19.4582	2.3397
DMS	4.4010	1.4860	4.3089	2.6747	6.7386	0.6608	0.2698	0.8061	121.990	4.6893

Valores de columna con la misma letra son estadísticamente iguales

C.V = Coeficiente de variación

DMS = Diferencia mínima significativa

ALT = Altura de planta

DT = Diámetro de tallo

PFH = Peso fresco de hoja

PFT = Peso fresco de tallo

AF = Área foliar

PFTOT = Peso fresco total

PSH = Peso seco de hoja

PST = Peso seco de tallo

PSTOT = Peso seco total

HUM = Humedad

También puede verse que la disminución en los niveles de K redujo en mayor proporción la manifestación de las diferentes variables, aunque curiosamente el efecto más negativo fue con el nivel de 75% y no con el de 50% de K en la solución. En esta etapa, el análisis de la concentración de nutrimentos en la parte aérea de la planta se reporta en el Cuadro 16, donde se puede notar que no existen diferencias entre tratamientos en la variable N, Ca, N+P. Sin embargo, la cantidad de P y K en el tratamiento con solución normal fue significativamente superior en relación a los tratamientos que tuvieron un nivel inferior de P ó K en la solución. Es de notarse también, que los niveles más bajos de K y suma de cationes (K+Ca+Mg) corresponden al tratamiento con sólo 75% de K en solución, que fue el tratamiento que produjo menor peso fresco total (hoja+tallo), menor peso seco total (hoja+tallo) y menor área foliar. Al parecer la disminución en la concentración de los nutrimentos primarios N, P ó K afectó de diferente manera la absorción de nutrimentos en la planta. De estos tres nutrimentos, la absorción del N fue la que menos se afectó. Al respecto, Clement *et al.*, (1978) encontraron en ryegrass que las velocidades de absorción de NO_3^- y de crecimiento, son constantes en un amplio rango de concentración, existiendo además muy poca variación en la concentración de N en el tejido.

Cuadro 16. Efecto de la disminución en la concentración de N, P ó K en la solución nutritiva sobre la concentración (%) de nutrimentos en el tejido al momento de la suspensión del tratamiento de luz

TRATAMIENTO	N	P	K	Ca	Mg	N+P	K+Ca+Mg
M	2.287 A (100)	0.541 A	6.147 A	0.339 A	0.912 A	2.828 A	7.398 A
M-75% N	2.427 A (106)*	0.364 B	4.953 B	0.345 A	0.830 AB	2.790 A	6.128 B
M-75% P	2.053 A (90)*	0.372 B	4.647 B	0.311 A	0.772 AB	2.425 A	5.730 B
M-75% K	2.053 A (90)*	0.431 AB	4.340 B	0.353 A	0.778 AB	2.485 A	5.471 B
M-50% N	2.007 A (88)*	0.338 B	4.507 B	0.315 A	0.821 AB	2.345 A	5.644 B
M-50% P	2.250 A (98)*	0.346 B	4.560 B	0.356 A	0.716 B	2.597 A	5.632 B
M-50% K	2.220 A (97)*	0.456 AB	4.423 B	0.329 A	0.864 AB	2.676 A	5.617 B
C.V	11.8651	11.4535	6.7947	11.8972	7.9197	10.8585	5.9323
DMS	0.7409	0.1332	0.9314	0.1141	0.1841	0.8044	1.0079

NOTA: Valores de columna con la misma letra son estadísticamente iguales

C.V = Coeficiente de variación

DMS = Diferencia mínima significativa

*Contenido de N en el tejido en relación al 100% del tratamiento de solución completa (M)

Por su parte Clarkson (1985) menciona que a concentraciones moderadas de fósforo en la solución del suelo, las propiedades cinéticas del transportador de fosfatos en solución no parece limitar la absorción de P, ó ser relevante en la productividad de la planta. Fohse *et al.*, (1991) consideran que cuando los niveles de P en los suelos son bajos, no debe olvidarse que los pelos radicales pueden contribuir con 63-90 % del total de P absorbido, y que en algunos modelos se subestima la absorción de P por no incluir esta contribución. A pesar de lo anterior, en ningún caso el contenido de N, P y K llegó a caer en el rango considerado como deficiente, los valores están en el nivel adecuado (Arbos, 1992; Benton *et al.*, 1991; Reuter y Robinson, 1986), el Mg está en el rango adecuado pero en el punto más alto y el Ca es bajo pero sin llegar a ser deficiente. Sin embargo, debe considerarse que los valores del Mg son más altos que los de Ca, situación que debería ser contraria.

5.2.2. Efecto durante la etapa reproductiva I (desde suspensión del tratamiento de luz hasta la aparición visible del 50% del botón floral)

En el Cuadro 17 y figuras 10, 11 y 12, se puede observar que la disminución en los niveles de N, P ó K no produjo diferencias significativas en algunas características como diámetro de tallo (DT), peso fresco de tallo (PFT), peso seco de tallo (PST)) y área foliar (AF) entre tratamientos. Con lo que respecta a las demás variables se puede notar que la disminución al 75% y 50% de P y 50% K en la solución repercutieron en los valores más bajos de peso fresco de hojas (PFH) y peso fresco total (PFTOT), así como la menor producción de materia seca en hojas (PSH) y total (PSTOT). De manera contraria la disminución en los niveles de N mantuvieron las expresiones de estas variables similares al tratamiento de solución completa, incluso en algunos casos, como en peso fresco de hoja y peso seco total, el incremento fue significativamente superior.

En la mayoría de los modelos que han sido desarrollados y evaluados para determinar la dinámica del P y K se ha comprobado que se suministran principalmente por difusión. Su absorción es relativamente rápida comparada con la velocidad de suministro a los sitios de absorción, por lo que experimentalmente se ha probado y calculado teóricamente una zona

de agotamiento alrededor de la superficie de la raíz (Barber, 1984a). Tales agotamientos de nutrientes alrededor de la superficie de la raíz parecen tener mucha influencia en la estimación de la absorción bajo condiciones de suelo o solución nutritiva. Lo que es totalmente claro es que si la absorción del P y K ocurre bastante rápido para causar un agotamiento en la superficie de la raíz, la absorción será determinada principalmente por las características de suministro ya sea del suelo o de la solución nutritiva, y no por parámetros de la planta, resultando de esta manera una correlación entre la absorción predicha y la observada (Classen, 1986; Foshe *et al.*, 1991).

Por otra parte es notorio también, que cualquier disminución en los niveles de N, P o K se expresó en una mayor altura de planta en comparación al tratamiento de solución completa, llegando incluso para el caso del nivel de 50% de N y P a ser significativamente superior. Estos resultados en altura de planta son similares al experimento anterior, donde la reducción en la concentración de la solución nutritiva de los macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg, y S) produjo las mayores alturas de planta. En esta etapa, la concentración de macronutrientes en el tejido de las plantas se reporta en el Cuadro 18. De manera similar a la primer etapa, no existen diferencias significativas entre tratamientos, con respecto a las variables N, Ca y N+P, aunque el contenido de N (1.4%) en el tratamiento de 50% de M podría ser deficiente (King *et al.*, 1995; Willits *et al.*, 1992). Para la variable P, la disminución a 50% del nivel normal en la solución, sí resultó en una disminución significativa en la concentración del elemento en el tejido. Para el K, en el nivel más bajo empleado (50%) se encontró la menor concentración en el tejido; además, se observó que éste nutriente tuvo un efecto antagónico sobre el Mg, el cual se encuentra en mayor concentración sólo en los tratamientos que tuvieron los niveles más bajos de K. A pesar de estas diferencias significativas, los niveles se mantienen dentro del rango considerado adecuado (Arbos, 1990; Benton *et al.*, 1991; Reuter y Robinson, 1986).

Como lo mencionan Rengel y Robinson (1992), debe recordarse que el resultado del agotamiento de unos nutrientes y la acumulación de otros en la interfase solución-raíz, puede crear relaciones entre nutrientes significativamente diferentes de las del resto del volumen de la solución. Por lo tanto los efectos complementarios de iones pueden ser detectados en la interfase solución-raíz, aún cuando la concentración de iones en el volumen

de la solución no indique tales efectos. Esta observación indica que el estudio de la absorción de un nutrimento a la vez, es una sobresimplificación de la situación real más comunmente encontrada, por lo que es necesario desarrollar modelos que calculen simultáneamente la absorción de varios nutrimentos tomando en cuenta la interacción entre ellos (Rengel, 1993).

Cuadro 17. Prueba de comparación de medias (Tukey, $\alpha=0.05$) de algunas variables evaluadas al momento de la aparición visible del 50% del botón floral, en plantas que crecieron en diferentes niveles de N, P ó K en la solución nutritiva

TRATAMIENTO	ALT (cm)	DIAM (mm)	PFH (g)	PFT (g)	PFTOT (g)	PSH (g)	PST (g)	PSTOT (g)	AF (cm ²)	HUM (%)
M	77.725 B	9.375 A	61.205 AB	40.823 A	102.028 AB	11.293 A	7.362 A	18.660 AB	1685.80 A	81.687 B
M-75% N	83.750 AB	9.375 A	68.970 AB	41.913 A	110.778 AB	10.700 AB	7.300 A	19.000 A	1581.00 A	82.767 AB
M-75% P	84.188 AB	9.250 A	52.520 B	37.850 A	90.370 B	8.540 AB	6.033 A	14.573 AB	1386.70 A	83.839 AB
M-75% K	82.938 AB	9.200 A	65.000 AB	42.643 A	107.643 AB	9.858 AB	6.708 A	16.565 AB	1607.60 A	84.500 AB
M-50% N	89.188 A	8.875 A	76.650 A	41.660 A	118.310 A	10.155 AB	7.522 A	17.680 AB	1555.40 A	85.086 A
M-50% P	88.813 A	9.350 A	55.950 B	36.765 A	92.715 B	8.105 B	6.115 A	14.305 B	1417.10 A	84.533 AB
M-50% K	84.750 AB	9.650 A	55.200 B	38.675 A	93.820 AB	8.692 ABC	5.842 A	14.563 B	1432.10 A	84.422 AB
C.V	4.8448	3.6136	11.4035	11.4588	10.5434	12.5786	10.9350	11.3932	11.3293	1.7080
DMS	9.5531	0.785	16.5780	10.722	25.187	2.8275	1.7112	4.3866	403.3200	3.3463

NOTA: Valores de columna con la misma letra son estadísticamente iguales C.V = Coeficiente de variación DMS = Diferencia mínima significativa

ALT = Altura de planta DIAM = Diámetro PFH = Peso fresco de hoja PFT = Peso fresco de tallo PFTOT = Peso fresco total
PSH = Peso seco de hoja PST = Peso seco de tallo PSTOT = Peso seco total AF = Area foliar HUM = Humedad

Sin embargo, Marschner (1986) dice que debido a que la absorción de cationes y aniones es regulada de manera diferente, no necesariamente ocurren interacciones directas entre ellos. Por ejemplo, a bajas concentraciones externas la velocidad de absorción de cationes no es afectada por el ion acompañante y viceversa. Pero a altas concentraciones externas, iones con baja velocidad de absorción (por ejemplo: SO_4^{2-} y Ca^{2+}) disminuyen considerablemente la velocidad de absorción del K^+ y Cl^- , respectivamente. Velocidades de absorción diferentes entre cationes y aniones requieren una compensación de carga eléctrica tanto dentro de la célula como en la solución externa. A concentraciones externas altas la compensación de carga dentro de la célula se convierte en un factor limitante para la absorción de K^+ y Cl^- cuando los iones acompañantes son el SO_4^{2-} y Ca^{2+} , respectivamente. Bajo estas

condiciones puede ocurrir competencia no específica entre iones de la misma carga. Por ejemplo, cationes como el K que atraviesan rápidamente las membranas, disminuyen la velocidad de absorción de cationes más lentos como el Ca^{2+} y Mg^{2+} , no por la competencia de los sitios de transportadores específicos de la membrana sino por competencia no específica por los iones nativos del citoplasma ó vacuolas.

Cuadro 18. Efecto de la disminución en los niveles de N, P ó K en la solución nutritiva sobre la concentración (%) de nutrimentos en el tejido (hojas) al momento de la aparición visible del 50% del botón floral

TRATAMIENTO	N	P	K	Ca	Mg	N+P	K+Ca+Mg
M	2.007 A (100)	0.304 A	6.147 AB	0.355 A	0.673 BC	2.311 A	7.175 AB
M-75% N	1.773 A (88)*	0.262 AB	5.647 B	0.401 A	0.659 BC	2.035 A	7.455 A
M-75% P	2.053 A (102)*	0.219 AB	6.343 AB	0.413 A	0.698 B	1.273 A	6.707 B
M-75% K	2.020 A (101)*	0.304 A	6.093 AB	0.409 A	0.729 B	2.324 A	7.232 AB
M-50% N	1.400 A (70)*	0.241 AB	6.257 AB	0.431 A	0.592 C	1.641 A	7.280 AB
M-50% P	1.727 A (86)*	0.219 B	6.620 A	0.374 A	0.599 C	1.946 A	7.594 A
M-50% K	1.773 A (88)*	0.295 A	5.787 B	0.391 A	0.893 A	2.069 A	7.070 AB
C.V	13.3131	8.5692	4.4481	13.2823	4.8102	11.8746	3.5850
DMS	0.6931	0.0646	0.7789	0.1505	0.0951	0.7077	0.7393

NOTA: Valores de columna con la misma letra son estadísticamente iguales

C.V = Coeficiente de variación

DMS = Diferencia mínima significativa

*Contenido de N en relación al 100% del tratamiento de solución completa (M)

En el rango de bajas concentraciones la velocidad de absorción de iones como el K es gobernada por la cinética de saturación de los sitios del transportador de las membranas. Sin embargo, con un incremento en la concentración externa, la velocidad de absorción se incrementa. En este rango de alta concentración ($>1\mu\text{M}$ de K) la absorción es menos selectiva (se da competencia entre K, Ca, Mg y Na) y menos sensitiva a inhibidores metabólicos como el 2-4DNP, pero los efectos del ion acompañante y la velocidad de transpiración de la planta son mucho más grandes. En este sentido, la relevancia de muchos estudios de absorción en raíces puede ser cuestionada si se usan concentraciones más grandes de $10\mu\text{M}$ y $1\mu\text{M}$ de K y P, respectivamente (Marschner, 1986). De acuerdo con los resultados de los Cuadros 17 y 18, la reducción en los valores de peso fresco y peso seco de hojas y total está relacionada con la nutrición con P y K, los cuales al parecer llegaron a

niveles limitantes cuando se aplicó sólo el 50% de lo normalmente empleado, aunque de acuerdo con Benton *et al.*, (1991) y Reuter y Robinson (1986) los niveles no son todavía deficientes.

5.2.3. Efecto durante la etapa reproductiva II (desde aparición visible del 50% del botón floral hasta la cosecha)

Finalmente, la tercer evaluación de algunas características de la planta se efectuaron al momento de la cosecha (Cuadros 19 y 20, figuras 10, 11 y 13). En esta etapa, sólo la reducción al 50% del N en la solución limitó la expresión de las variables peso fresco de hoja (PFH), peso fresco de tallo (PFT), peso fresco total (PFTOT), peso seco de hoja (PSH), peso seco de tallo (PST) y peso seco total (PSTOT); aunque también el nivel más bajo (50%) de P y K está relacionado con el menor peso seco de hoja. Como lo mencionan Barber (1984b) y Glass (1990), una de las principales características de los organismos vivos, y particularmente de las plantas, es su capacidad para seleccionar la acumulación de algunos elementos y la exclusión de otros para crear el ambiente químico donde ocurren los procesos dentro de la célula. Esto ha involucrado la evolución de mecanismos celulares para la acumulación, exclusión y compartimentalización de iones, así como adaptaciones en toda la planta y estrategias morfológicas y de desarrollo para asegurar el suministro adecuado de los nutrientes inorgánicos. La concentración de nutrientes en la solución puede ser demasiado alta o demasiado baja en relación a las requeridas por las plantas, por lo que pueden limitar severamente el crecimiento y la producción del cultivo. Afortunadamente la absorción de nutrientes es selectiva por las raíces, así que las plantas pueden tolerar un rango en los niveles de nutrientes en la solución y mantener todavía un balance apropiado de los nutrientes absorbidos y translocados a la parte aérea.

Con lo que respecta a la altura de planta, se observa que los niveles más bajos (50%) de los macronutrientes (N; P; K) están relacionados con la mayor altura de planta, aunque las diferencias no son significativas; efecto que ya se había notado en las etapas anteriores y en el experimento de reducción en concentración de todos los macronutrientes (apartado 5.1.3). Debido a que el órgano de interés en el cultivo del crisantemo es la flor, al momento de la cosecha es muy importante evaluar la expresión de algunas características que

determinan la calidad de la misma, como son el diámetro de pedúnculo (DP), peso fresco de flor (PFF), peso seco de flor (PSF), diámetro de flor (DF) y vida en florero (VF) (Cuadro 19 y figura 13). Como podrá notarse no existen diferencias significativas entre tratamientos en las variables peso fresco de flor, diámetro de flor y días en florero, aunque esta variable tiende a aumentar con los niveles más bajos (50%) de N y P. En la fotografía 3 se muestra el diámetro de capítulo de las plantas que crecieron en los tratamientos donde se redujo el nivel de N, P ó K en la solución nutritiva. Para el caso de otras variables como el diámetro de pedúnculo y peso seco de flor, la reducción del nivel (75% y 50%) de P está relacionado con los valores significativamente más bajos, aunque el peso seco de flor también fue afectado de manera negativa por los niveles más bajos de N y K. Sin embargo, estas diferencias no pudieron apreciarse a simple vista, pues el cultivo se mostraba homogéneo.

Cuadro 19. Prueba de comparación de medias (Tukey, $\alpha=0.05$) de algunas variables evaluadas al momento de la cosecha, en plantas que crecieron con diferentes niveles de N, P ó K en la solución nutritiva

TRATAMIENTO	ALT (cm)	DP (mm)	PFF (g)	PFH (g)	PFT (g)	PFTOT (g)	PSF (g)	PSH (g)	PST (g)	PSTOT (g)	DF (cm)	VF (Días)	HUM (%)
M	97.933 A	8.125 A	51.640 A	95.420 A	71.963 ABC	219.020 A	6.465 A	15.665 AB	15.610 AB	37.745 AB	13.718 A	15.438 A	82.745 AB
M-75% N	97.337 A	7.700 AB	48.915 A	102.375 A	73.373 AB	224.660 A	6.152 AB	17.448 A	18.402 A	42.008 A	14.040 A	14.480 A	81.282 B
M-75% P	98.228 A	7.500 B	42.838 A	90.095 AB	65.950 BC	198.880 AB	5.210 B	14.845 BC	15.143 AB	35.003 BC	13.505 A	13.540 A	82.412 AB
M-75% K	96.250 A	7.850 AB	48.233 A	83.565 AB	63.588 BC	195.390 AB	5.977 AB	13.677 BC	14.093 B	33.753 BC	13.913 A	15.915 A	82.577 AB
M-50% N	101.865 A	7.650 AB	42.478 A	75.200 B	57.405 C	175.080 B	5.285 B	12.070 C	13.860 B	31.217 C	14.042 A	16.000 A	82.150 AB
M-50% P	100.935 A	7.775 AB	42.838 A	82.558 AB	66.723 ABC	193.210 AB	5.235 B	12.790 C	14.718 B	32.745 BC	13.465 A	17.227 A	83.156 AB
M-50% K	98.250 A	7.500 B	52.930 A	94.165 AB	81.382 A	228.440 A	5.272 B	16.253 AB	14.700 B	36.225 BC	13.250 A	14.063 A	84.041 A
C.V	4.1306	3.3418	12.5254	9.65465	9.58208	8.50394	8.2844	7.49946	9.86490	6.9358	3.2108	11.5414	1.3026
DMS	9.5315	0.6030	13.8380	20.0890	20.0890	40.7250	1.0950	2.6526	3.5077	5.7577	1.0282	4.1091	2.5144

Valores de columna con la misma letra son estadísticamente iguales C.V = Coeficiente de variación DMS = Diferencia mínima significativa

DP= Diámetro de pedúnculo PFH = Peso fresco de hoja PFT = Peso fresco de tallo PFTOT = Peso fresco total PSH = Peso seco de hoja

PST = Peso seco de tallo PSTOT = Peso seco total AF.= Area foliar HUM = Humedad ALT = Altura de planta

El análisis químico de tejido de los macronutrientes se puede observar en el Cuadro 20. De manera similar a la primer y segunda etapa, para el caso del N no existen diferencias significativas entre tratamientos, aun cuando la menor concentración en el tejido sí corresponde a los tratamientos donde se redujo el nivel de N en la solución. Para el caso del P y K, la disminución de los mismos a 50% de concentración en el medio de nutrición sí afectó significativamente la cantidad que se encontró en el tejido. El Ca y Mg no presentan una tendencia clara, aunque los niveles más bajos en el tejido corresponden cuando se usó

la menor concentración (50%) de P y K, respectivamente. En la suma de N+P y K+Ca+Mg, es claro que la menor cantidad corresponde a los tratamientos con los niveles más bajos (50%) de N y K respectivamente, lo cual era de esperarse ya que estos dos nutrimentos son los que se absorben en mayor cantidad. De acuerdo con Benton *et al.*, (1991) y Reuter y Robinson (1986) la concentración de Mg está en el rango normal aunque en el punto más alto, el Ca es bajo pero sin ser deficiente y el K no presenta variación, aún en el tratamiento de 50% de M está en el nivel adecuado; el P permanece dentro del rango normal aunque en el tratamiento de 50% de M es marginal pero sin ser deficiente y finalmente el N está en el rango adecuado en todos los tratamientos si se considera la reducción en el contenido en relación al tratamiento de solución completa (King *et al.*, 1995; Willits *et al.*, 1992).

Cuadro 20. Efecto de la disminución en los niveles de N, P ó K en la solución nutritiva sobre la concentración (%) de nutrimentos en el tejido (hojas) al momento de la cosecha

TRATAMIENTO	N	P	K	Ca	Mg	N+P	K+Ca+Mg
M	1.913 A (100)	0.406 ABC	6.173 BC	0.388 AB	0.892 B	2.319 AB	7.454 B
M-75% N	1.633 A (85)*	0.380 ABC	6.423 ABC	0.425 AB	1.003 AB	2.614 A	7.851 AB
M-75% P	1.727 A (90)*	0.355 BCD	6.370 ABC	0.398 AB	0.900 B	2.082 AB	7.668 AB
M-75% K	1.913 A (100)*	0.498 A	6.003 C	0.500 A	1.023 AB	2.412 A	7.527 B
M-50% N	1.633 A (85)*	0.304 CD	6.600 AB	0.471 AB	0.978 AB	1.938 B	8.050 A
M-50% P	1.727 A (90)*	0.228 D	6.617 A	0.380 B	0.945 AB	1.955 AB	7.942 AB
M-50% K	1.820 A (95)*	0.439 AB	5.173 D	0.388 AB	1.068 A	2.260 AB	6.631 C
C.V	7.9872	12.5415	2.4421	9.4165	5.5389	7.6902	2.4078
DMS	0.4032	0.1337	0.4323	0.1135	0.1540	0.4702	0.5222

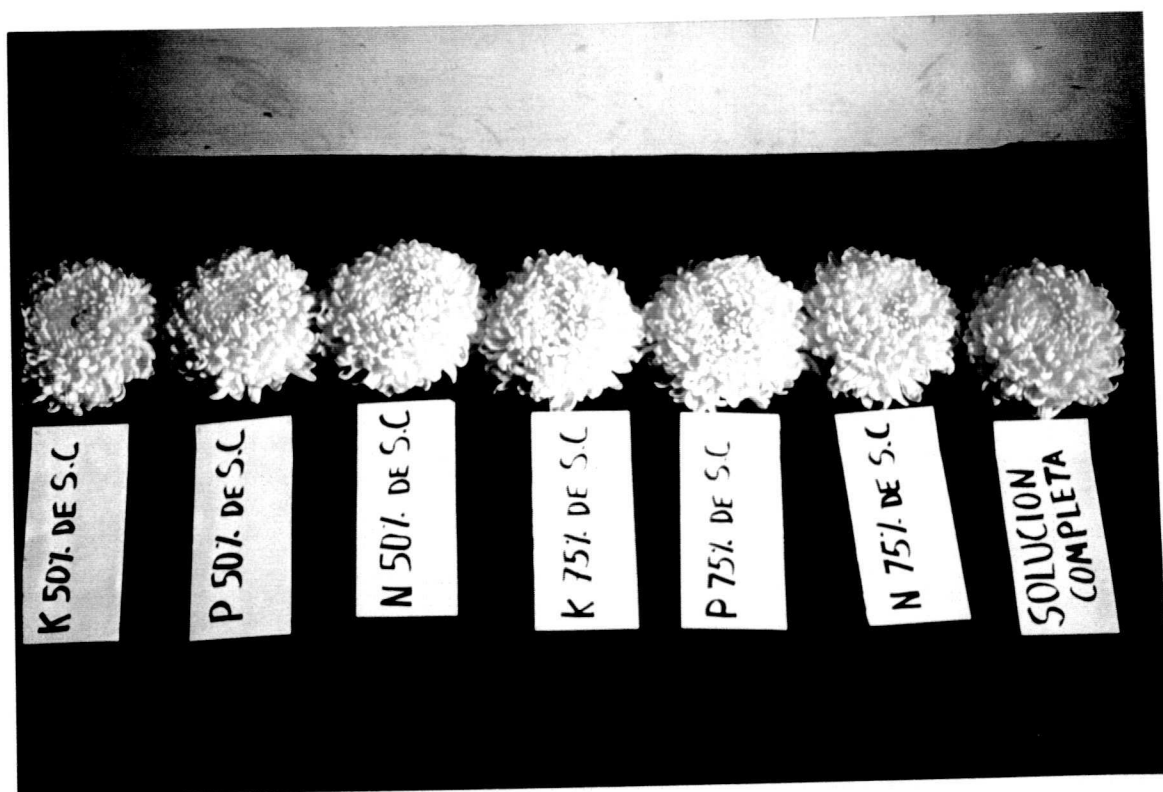
NOTA: Valores de columna con la misma letra son estadísticamente iguales

C.V = Coeficiente de variación

DMS = Diferencia mínima significativa

Aun cuando estadísticamente no existieron diferencias en la cantidad de N, las concentraciones más bajas en el tejido corresponden con la menor producción de peso fresco y peso seco observado en diferentes partes de la planta, como se observa en el Cuadro 19. En otros casos, como en peso seco de flor, peso seco de hoja, peso seco de tallo y diámetro de pedúnculo la falta de K ó P pueden ser los responsables. En varios experimentos se ha evaluado la disminución de la concentración de nutrimentos en la solución nutritiva, por ejemplo, Asher y Ozane (1967) (citados por Pitman, 1988), encontraron en promedio para 14 especies que con 95 mmol m⁻³ de K en solución, se

alcanzó el 91 % del máximo rendimiento, y aumentando a 1000 mmol m^{-3} sólo se incrementó hasta el 97 %. El contenido de K en el tejido de la parte aérea aumentó de 162 a $190 \mu\text{mol/g}$ de peso fresco. También Siddiqui y Glass (1983) observaron que algunas variedades de cebada alcanzaron su máximo rendimiento a $10 \mu\text{M}$ de K, mientras que otras requirieron 50 ó $100 \mu\text{M}$. Clement *et al.*, (1978) (citados por Glass, 1990), encontraron que entre $14.4 \mu\text{M}$ y 14.3 mM de NO_3^- , la absorción y crecimiento en ryegrass fue independiente de la concentración de NO_3^- en el medio.



Fotografía 3. Capítulos de plantas que crecieron con diferentes niveles de N, P ó K en la solución nutritiva

Para explicar y relacionar parte de los resultados observados, en los Cuadros 21 y 22 se muestra la correlación entre concentración y absorción de nutrimentos y algunas características al momento de la cosecha. En general, cuando existió correlación significativa

entre los diferentes nutrimentos, ésta fue positiva. Es de resaltar que la cantidad de peso seco total depende de la cantidad de nutrimentos absorbidos. Además de los efectos de nutrimentos, en esta etapa, interesa buscar otras variables que tienen una correlación con las características de flor. Con excepción de diámetro de flor (DF) y porcentaje de humedad (HUM) que muestran una correlación negativa significativa, no se encontró correlación significativa entre peso fresco de flor (PFF), diámetro de flor (DF), vida en florero (VF) y las demás variables evaluadas. Esto podría significar que la expresión de algunas características de flor no depende o tiene poca relación con otras características de la planta, las cuales sí cambiaron en muchos casos por efecto de tratamientos, pero no se tradujo en efectos sobre la flor.

Cuadro 21. Coeficientes de correlación de Pearson entre la concentración (%) de nutrimentos en el tejido (hojas) y algunas variables evaluadas al momento de la cosecha (n=21)

	N	P	K	Ca	Mg	VF	HUM	N+P	K+Ca+Mg	N+P+K+Ca+Mg
N		0.5303*	-0.3073	0.1526	0.1623	-0.3339	0.4036	0.9378**	-0.2757	0.1807
P			-0.5872**	0.3848	0.2928	-0.3497	0.1172	0.7915**	-0.5187*	-0.1605
K				0.0536	-0.4208	0.2793	-0.2962	-0.4619*	0.9782**	0.8332**
Ca					0.2131	0.2225	-0.1544	0.2675	0.2061	0.3633
Mg						-0.1011	0.0107	0.2369	-0.2538	-0.1559
VF							0.1089	-0.3838	0.3059	0.1374
HUM								0.3390	-0.3240	-0.1803
N+P									-0.4103	0.0645
K+Ca+Mg										0.8832**
N+P+K+Ca+Mg										

*Correlación significativa

**Correlación altamente significativa

VF = Vida en florero (días)

HUM = Humedad (%)

En estudios de absorción de nutrimentos (Barber, 1984a, 1984b) se ha encontrado que la variación del influjo (I) con la concentración externa (C_e) es diferente para el N, P ó K. El valor de K_m para el N es muy bajo en comparación a las C_e que normalmente se encuentran en el medio de nutrición. Además con los NO_3^- no hay amortiguamiento de la fase sólida del suelo, de aquí que el influjo permanezca a niveles cercanos a I_{max} hasta que es casi totalmente agotado. Los principales parámetros de significancia son el área superficial de la raíz, la velocidad de absorción (I_{max}) y la cantidad de N en la solución (C_e).

Debido a los altos valores en el coeficiente de difusión (D_j) para los NO_3^- y a la competencia entre las raíces, se puede absorber una gran fracción de los NO_3^- presentes en la solución. Es la cantidad finita de los nitratos en solución lo que se convierte en el factor limitante en la absorción del N (Barber, 1984b; Wild *et al.*, 1989). Esta podría ser la razón principal del porqué la reducción de N aun al 50 % de M no limitó el crecimiento y desarrollo de las planta en igual magnitud que el P y K. Adams (1992) y Massey y Winsor (1980) mencionan que el crecimiento de la planta, el rendimiento y la calidad del fruto de jitomate pueden ser afectados por niveles inadecuados (deficiencias ó excesos) de nutrimentos.

Cuadro 22. Coeficientes de correlación de Pearson entre la cantidad de nutrimentos absorbidos (mg/planta) y algunas variables evaluadas al momento de la cosecha (n = 21)

	PSTOT	VF	HUM	N	P	K	Ca	Mg	N+P	K+Ca+Mg	N+P+K+Ca+Mg
PSTOT		-0.2324	-0.2465	0.7520**	0.6046**	0.7997**	0.6729**	0.8592**	0.7491**	8.8688**	0.9277**
VF			0.0218	-0.2793	-0.3681	-0.0443	0.0436	-0.2216	-0.3972	-0.0992	-0.1744
HUM				-0.0087	0.0217	-0.4514	-0.3587	-0.1276	0.0001	-0.4332*	-0.3513
N					0.7482**	0.4800*	0.5782**	0.6947**	0.9789**	0.5625**	0.7478**
P						0.2220	0.6483**	0.6313**	0.8679**	0.3371	0.5320*
K							0.5530**	0.5654**	0.4277	0.9854**	0.9277**
Ca								0.6766**	0.6324**	0.6539**	0.7187**
Mg									0.7144**	0.6904**	0.7727**
N+P										0.5249*	0.7235**
K+Ca+Mg											0.9673**
N+P+K+Ca+Mg											

*Correlación significativa

**Correlación altamente significativa

PSTOT = Peso seco total (g)

VF = Vida en florero (días)

Estudios con la técnica de la película nutritiva ha mostrado que, en la mayoría de los casos, las respuestas a la concentración de nutrimentos son más pequeñas de las esperadas. Bajas concentraciones de N ($10\text{-}80\text{ mg L}^{-1}$) que fueron mantenidas continuamente sin la creación de zonas de agotamiento tuvieron poco efecto en el crecimiento, rendimiento y calidad del fruto de jitomate. En pepino con aplicaciones de P que variaron de $3\text{-}81\text{ mg L}^{-1}$ hubo poca respuesta en producción (Massey y Winsor, 1980). FAO (1990) reporta las investigaciones de algunos experimentos en los que usando soluciones nutritivas circulantes se alcanzaron rendimientos máximos para varios cultivos con el empleo de sólo 3.7 mg L^{-1}

de K. Para el cultivo del tomate, el crecimiento y el rendimiento total no fueron significativamente diferentes cuando crecieron en un rango de concentración de 10-320 mg L⁻¹ de NO₃⁻. De manera similar cuando el jitomate creció en un rango de concentración de P de 5-200 mg L⁻¹ sólo existieron pequeñas diferencias en rendimiento, obteniéndose los más altos rendimientos entre 5-10 mg L⁻¹. Sin embargo, en la práctica aún con sistemas comerciales de solución nutritiva circulante, es altamente deseable trabajar a altas concentraciones para asegurar en todo momento una reserva de nutrimentos dentro del sistema y para permitir el control de los niveles de nutrimentos con mediciones de conductividad eléctrica. Como la mayoría de las aguas de riego contienen cantidades considerables de sales, no sería práctico monitorear concentraciones relativamente bajas de nutrimentos en un medio donde normalmente hay acumulación de calcio, sulfatos y cloro (Asher y Edwards, 1982; FAO, 1990). Con el cultivo del pepino, una reducción simultánea en las concentraciones aplicadas de N, P y K de 175, 40 y 300 mg L⁻¹ a 60, 15 y 100, respectivamente, no tuvo efecto en el rendimiento y calidad de fruto; aunque la absorción correspondiente de los nutrimentos en cuestión disminuyó en 9, 20 y 14 %. En este mismo cultivo, la disminución de la concentración de Ca y Mg de 250 y 50 mg L⁻¹ a 60 y 15 mg L⁻¹, respectivamente, redujo el rendimiento final después de 12 semanas de estar cosechando en un 11 y 16 %, respectivamente. Los primeros rendimientos fueron reducidos en un 8-9 %, pero el efecto de la deficiencia de Mg se incrementó severamente en las últimas 4 semanas de cosecha; la reducción debido a las bajas concentraciones de Ca y Mg fueron de 17 y 31 %, respectivamente, y la absorción correspondiente fue reducida en un 61 y 80 % (Adams, 1992).

Los datos anteriores y los observados en este experimento soportan la hipótesis de que las plantas pueden absorber suficientes nutrimentos para un crecimiento normal a concentraciones relativamente bajas, cuando la solución no está estática. Según Adams (1992), esto se debe al incremento compensatorio en la velocidad de absorción, especialmente con el P y K, en adición al efecto de la solución circulante, la cual previene del agotamiento local alrededor de las raíces. De acuerdo con resultados de experimentos con solución circulante, Ingestat (1982) sostiene que solo una fracción de la capacidad del **mecanismo I** (el cual actúa a bajas concentraciones) es suficiente para satisfacer los

requerimientos de absorción, ya que con sólo $1\text{-}20\text{ mmol m}^{-3}$, $1\text{-}10\text{ mmol m}^{-3}$ y $1\text{-}24\text{ mmol m}^{-3}$ de N (NO_3^-), P y K, respectivamente, son suficientes para alcanzar el rendimiento máximo del cultivo. Estas concentraciones corresponden a la parte más baja del rango de funcionamiento del **mecanismo I**, incluso muchos valores están por debajo de los reportados para **Km** ($25\text{-}40\text{ mmol m}^{-3}$ para NO_3^- , $8\text{-}34\text{ mmol m}^{-3}$ para K y 6 mmol m^{-3} para P) (Doddema y Telkamp, 1979, citados por Ingestat, 1982; Epstein, 1976).

Así, es posible obtener un crecimiento normal cuando se mantienen continuamente las concentraciones de nutrimentos y nunca se permite el agotamiento en la superficie de la raíz por debajo de la concentración que limite su velocidad de absorción; existe sin embargo una relación definida entre la absorción total y la concentración de nutrimentos en el tejido. Al respecto Wild *et al.*, (1989) mencionan que una conclusión general que se ha obtenido al estudiar el efecto de diferentes concentraciones externas de N, P y K sobre la composición del tejido, es que las plantas pueden regular la concentración interna de nutrimentos en un amplio rango de concentración externa de tal manera que no se restrinja el crecimiento. Se ha encontrado que bajo condiciones constantes de suministro de nutrimentos a concentraciones relativamente bajas, se da una absorción constante de nutrimentos y por lo tanto no hay variación en el contenido nutrimental del tejido, situación que se traduce en tasas de crecimiento constante alcanzándose el potencial de crecimiento máximo; pero cuando el suministro no es constante, la absorción de nutrimentos puede cambiar rápidamente en respuesta al cambio en la concentración externa y puede existir variación en el crecimiento (Ingestat, 1981; Ingestat, 1982; Ingestat, 1987; Ingestat y Agreen, 1992; Wild *et al.*, 1989). De acuerdo con Wild *et al.*, (1989) estos resultados se deben a que (1) la velocidad de absorción de nutrimentos depende en parte del número y actividad de los transportadores de iones en el cortex de la raíz, (2) el número de transportadores que recibe nutrimentos depende de la concentración externa y responden de manera rápida a un cambio en la concentración. Si la concentración es alta más transportadores reciben nutrimentos, pero su actividad es baja; si la concentración es baja menos transportadores reciben nutrimentos, pero su actividad es alta, y (3) la actividad de los transportadores es controlada por la planta, probablemente en relación a la demanda metabólica.

En resumen la disminución en concentración de la solución nutritiva de N, P ó K produjo los siguientes efectos sobre las plantas: **a)** Durante las diferentes etapas de crecimiento y desarrollo, el efecto de la disminución en concentración (75% y 50 % de M) de N, P ó K fue diferente; el N afectó en menor proporción el crecimiento y desarrollo de la planta, mientras que la reducción de P y K a 50 % de M, en algunos casos redujo significativamente la expresión de algunas características (peso fresco y seco de hojas y total), esto significa que en el experimento previamente discutido donde se redujo simultáneamente la concentración de los macronutrientes, en la disminución de los valores de algunas variables pudieron también estar implicados el P y K, principalmente; **b)** La reducción de N y P a 50 % de M, produjo la mayor altura de planta, lo que está de acuerdo con lo observado en el experimento de reducción simultánea en la concentración de macronutrientes; **c)** Con excepción del tratamiento de 50 % de P, que produjo el menor peso seco de flor, la reducción en la concentración de N, P ó K no presentó efectos negativos sobre la manifestación de la floración y **d)** Con excepción del N, el contenido de P, K, Ca y Mg en el tejido nunca llegaron a caer en el rango considerado como deficiente.

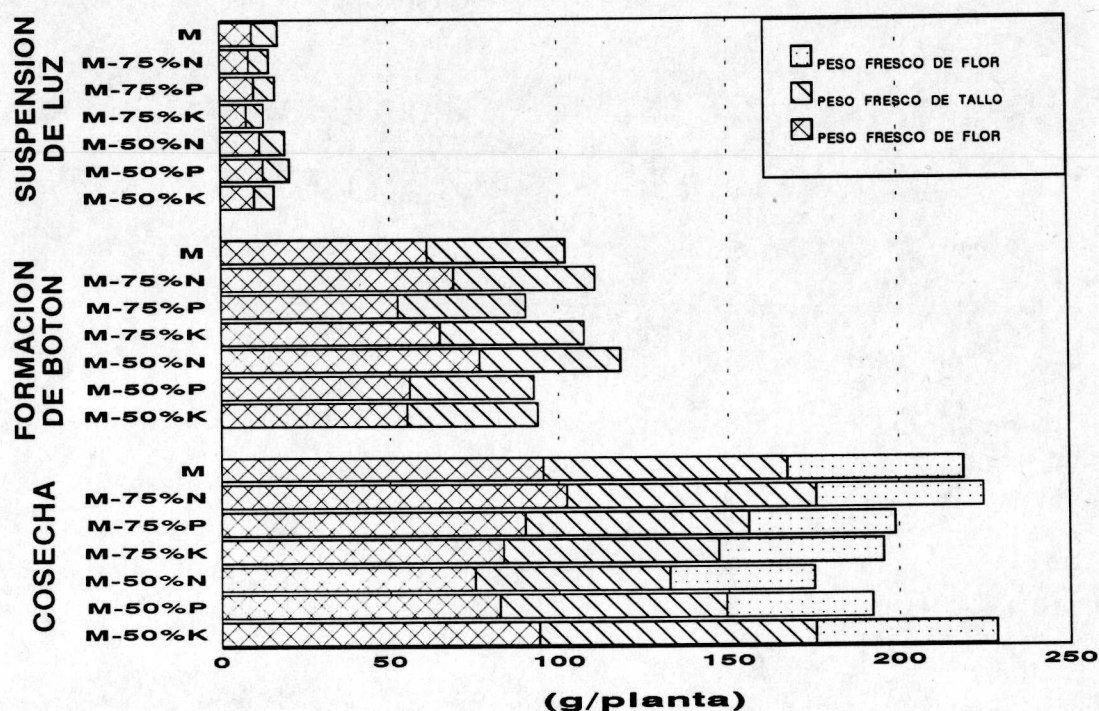


Fig.10 Efecto de la disminución en la concentración de N, P ó K en la solución nutritiva, sobre el peso fresco de la planta

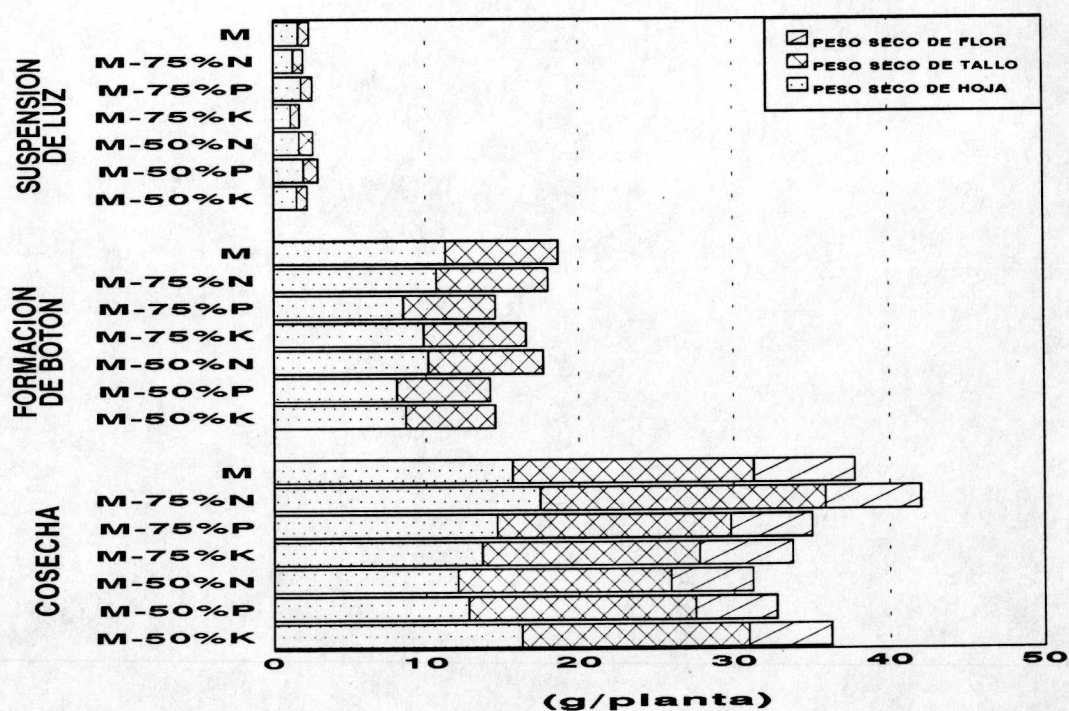


Fig.11 Efecto de la disminución de la concentración de N, P ó K en la solución nutritiva, sobre el peso seco de la planta

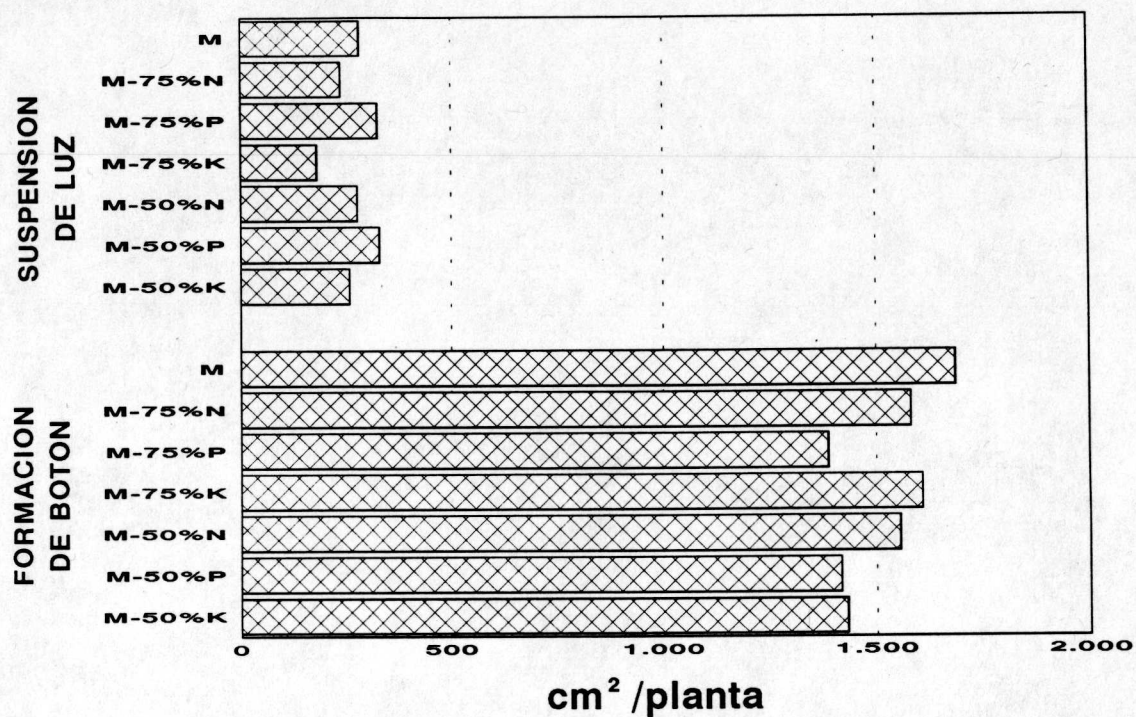


Fig.12 Efecto de la disminución en la concentración de N, P ó K en la solución nutritiva, sobre el desarrollo de área foliar de la planta

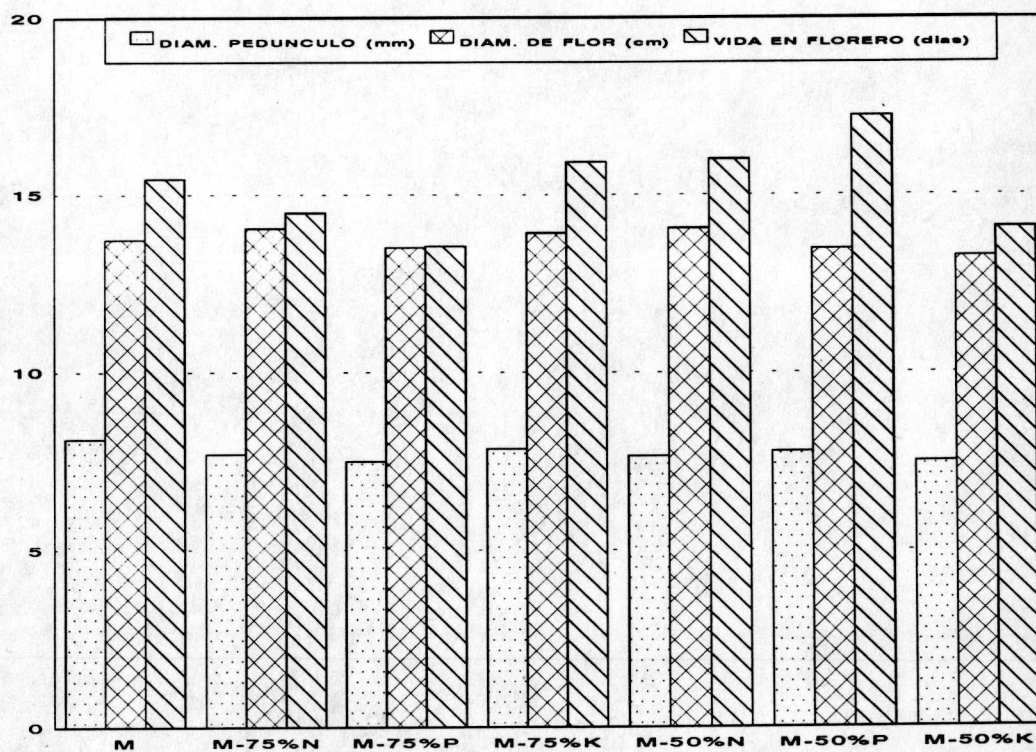


Fig.13 Efecto de la disminución en la concentración de N, P ó K en la solución nutritiva, sobre algunas características de la flor

5.3. Efecto de diferentes fuentes (NO_3^- , urea, NH_4^+) y proporciones (NO_3^- , $\text{NO}_3^-/\text{urea}$, $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$, NH_4^+) de nitrógeno sobre el desarrollo de las plantas

5.3.1. Efecto durante la etapa vegetativa (desde trasplante hasta suspensión del tratamiento de luz)

En el Cuadro 23 y figuras 14, 15, 16, 17 y 19 se presentan los resultados de algunas características de las plantas evaluadas al momento de la suspensión del tratamiento de luz. Como puede notarse, la fuente y proporción de N usada afectó de manera significativa la expresión de las distintas partes de la planta. En el caso de la altura de planta (ALT) y diámetro de tallo (DT), los valores mayores se registraron con la relación 50/50 de NO_3^- /urea, mientras que los valores más bajos se produjeron cuando sólo se usó NH_4^+ . En lo que se refiere al peso fresco de hoja (PFH), tallo (PFT) y total (PFTOT), y peso seco de hoja (PSH), tallo (PST) y total (PSTOT), las relaciones de NO_3^- ya sea con urea ó NH_4^+ , incluso sólo urea, produjeron los valores más altos, y contrasta con los valores más bajos encontrados cuando se usó sólo NO_3^- o sólo NH_4^+ . Para el área foliar (AF) es de notarse que los valores más altos corresponden cuando se usó 50 ó 100% de urea y los valores más bajos cuando se empleó sólo NO_3^- ó NH_4^+ .

También es de considerar que el tratamiento 80/20 de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$, que representa la proporción que normalmente ha dado buenos resultados en otros cultivos, produjo valores intermedios en las distintas variables evaluadas. Considerando los resultados hasta esta primer etapa (33 días después del trasplante), se puede decir que los tratamientos con 50 y 100% de urea produjeron un mayor desarrollo de la planta, y los tratamientos de sólo NO_3^- ó NH_4^+ el menor desarrollo.

La menor producción de biomasa cuando sólo se usó NO_3^- está probablemente relacionada con el mayor gasto de reductantes para la asimilación del NO_3^- , lo que conlleva a una movilización más alta de carbono y velocidades relativas más altas de liberación de CO_2 (Hupe y Turpin, 1994), y con respecto al amonio los efectos tóxicos del NH_4^+ tal vez sean los responsables (Haynes, 1986; Marschner, 1986).

Cuadro 23. Prueba de comparación de medias (tukey, $\alpha=0.05$) de algunas variables evaluadas al momento de la suspensión del tratamiento de luz, en plantas que crecieron con diferente fuente y proporción de N en el medio de nutrición

TRATAMIENTO	ALT (cm)	DT (mm)	PFH (g)	PFT (g)	PFTOT (g)	PSH (g)	PST (g)	PSTOT (g)	AF (cm ²)	HUM (%)
NO ₃ /NH ₄ 100/00	24.903 B	6.750 B	8.768 C	5.522 CD	14.290 B	1.377 CD	0.668 BC	2.038 BC	243.72 CD	85.750 A
NO ₃ /UREA 50/50	28.505 A	8.025 A	14.680 A	9.060 A	23.740 A	2.235 A	0.957 A	2.945 A	366.70 AB	87.287 A
NO ₃ /NH ₄ 50/50	25.217 B	7.200 AB	13.192 AB	8.302 AB	21.495 A	2.060 AB	0.935 A	2.995 A	317.69 ABC	85.973 A
NO ₃ /UREA 00/100	25.780 B	6.925 AB	14.575 A	8.055 ABC	22.630 A	2.040 AB	0.857 AB	2.898 A	380.33 A	87.204 A
NO ₃ /NH ₄ 00/100	18.915 C	5.125 C	8.730 C	4.012 D	12.743 B	1.055 D	0.435 C	1.490 C	190.12 D	88.203 A
NO ₃ /UREA 80/20	24.905 B	6.875 AB	9.000 BC	5.860 BCD	14.860 B	1.322 CD	0.807 AB	2.105 BC	293.14 ABC	85.673 A
NO ₃ /NH ₄ 80/20	24.865 B	7.975 A	9.365 BC	7.865 ABC	17.230 AB	1.638 BC	0.722 AB	2.360 AB	234.27 BCD	86.263 A
C.V	3.7410	7.2002	16.5646	15.767	15.3781	11.5343	14.9643	13.3552	14.5518	1.8784
DMS	2.1627	1.1750	4.3299	2.5619	6.5184	0.4515	0.2685	0.7503	100.3500	3.8019

Valores de columna con la misma letra son estadísticamente iguales C.V = Coeficiente de variación DMS = Diferencia mínima significativa

ALT = Altura de planta DT = Diámetro de tallo PFH = Peso fresco de hoja PFT = Peso fresco de tallo PFTOT = Peso fresco total

PSH = Peso seco de hoja PST = Peso seco de tallo PSTOT = Peso seco total AF = Area foliar HUM = Humedad

En el Cuadro 24 se encuentran los resultados del análisis químico de nutrimentos, donde se observa que la mayor concentración de N se encuentra cuando se aplicó 100% urea y la relación 50/50 de NO₃⁻/NH₄⁺, que estadísticamente son superiores a cuando sólo se empleó NO₃⁻ que resultó con la menor concentración. Para el P se puede notar que los valores más altos corresponden a los tratamientos con mayor cantidad de NH₄⁺ y los más bajos a los tratamientos que proporcionaron más NO₃⁻. Estos resultados son consistentes con lo observado para otros cultivos, donde la aplicación del NH₄⁺ favorece la absorción de aniones y cuando se aplica NO₃⁻ disminuye la absorción de otros aniones como el H₂PO₄⁻ (Haynes, 1986; Marschner, 1986; Mengel y Kirkby, 1987). Al respecto, Goyal y Huffacker (1984) mencionan que el incremento en la absorción de P cuando la fuente de nitrógeno es el NH₄⁺ se debe aparentemente a que la disminución del pH de la rizósfera favorece la absorción de H₂PO₄⁻. La razón de ello es que a medida que baja el pH se favorece la

formación de H_2PO_4^- que es absorbido varias veces más rápido que la forma HPO_4^{2-} , además se ha encontrado que el HPO_4^{2-} se precipita en la rizósfera en ausencia de NH_4^+ .

Cuadro 24. Prueba de comparación de medias (Tukey, $\alpha=0.05$) de la concentración (%) de algunos nutrimentos en el tejido al momento de la suspensión del tratamiento de luz, en plantas que crecieron con diferente fuente y proporción de N en el medio de nutrición

TRATAMIENTO	N	P	K	Ca	Mg	N+P	K+Ca+Mg
NO ₃ /NH ₄ 100/00	1.867 B	0.355 DE	4.700 C	0.345 A	0.709 B	2.222 C	5.755 B
NO ₃ /UREA 50/50	2.360 AB	0.440 CD	5.843 AB	0.323 A	0.756 B	2.800 BC	6.924 A
NO ₃ /NH ₄ 50/50	2.613 A	0.626 A	5.703 ABC	0.313 A	0.875 B	3.239 AB	6.892 A
NO ₃ /UREA 00/100	2.847 A	0.473 BC	6.313 A	0.306 A	0.820 B	3.320 A	7.440 A
NO ₃ /NH ₄ 00/100	2.347 AB	0.558 AB	5.063 BC	0.346 A	1.167 A	2.905 ABC	6.577 AB
NO ₃ /UREA 80/20	2.160 AB	0.321 E	5.373 ABC	0.339 A	0.0725 B	2.481 BC	6.438 AB
NO ₃ /NH ₄ 80/20	2.240 AB	0.524 BC	6.063 AB	0.360 A	0.932 AB	2.764 ABC	7.356 A
C.V	11.0649	6.8521	6.4578	9.9320	10.6654	9.5369	5.8273
DMS	0.7423	0.0922	1.0297	0.0947	0.2606	0.7682	1.1272

NOTA: Valores de columna con la misma letra son estadísticamente iguales C.V = Coeficiente de variación DMS = Diferencia mínima significativa

Respecto al K, la cantidad en el tejido fue menor cuando sólo se empleó NO_3^- ó NH_4^+ , con resultados estadísticamente iguales cuando se empleó cualquier combinación de fuentes (NO_3^- , NH_4^+ , urea) aunque el valor más altos ocurrió con el tratamiento de sólo urea. Para los cationes Ca y Mg no existen diferencias significativas, con excepción del Mg en el tratamiento de sólo NH_4^+ , que es estadísticamente superior. Estos resultados, son opuestos a lo que normalmente se observa cuando en el medio de nutrición domina el N en forma de NH_4^+ , que es la inhibición de absorción de otros cationes como K, Ca y Mg (Marschner, 1986; Mengel y Kirkby, 1987; Wild *et al.*, 1989). Aunque en algunos experimentos al evaluar la nutrición con diferentes relaciones $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ a distintas temperaturas se ha encontrado que el NH_4^+ inhibe la absorción de cationes sólo a temperaturas abajo de 12 °C (Imad *et al.*, 1994). Al respecto, Sarro *et al.*, (1994) usando

diferentes relaciones de $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ en el cultivo de pepino, observaron que el efecto negativo del NH_4^+ sobre la absorción de otros cationes como el Ca, Mg y K sólo se presentó cuando en el medio había más del 40 % del N total en forma de NH_4^+ , y el efecto negativo sobre la absorción de K y menor rendimiento, solamente fue significativo cuando la relación Ca/K fue inferior a 0.33, y en el presente experimento fue de 1.2. Sin embargo Goyal y Huffacker (1984) mencionan que en plantas donde el uso de amonio reduce la absorción de cationes, el empleo de altas relaciones Ca/ NH_4^+ y K/ NH_4^+ no disminuye el efecto tóxico del amonio. Aparentemente los efectos de la nutrición con NH_4^+ son múltiples. Por otro lado, es de resaltar que cuando se usó sólo NO_3^- , resultó en una concentración significativamente menor de casi todos los nutrimentos, en relación a los demás tratamientos analizados, situación que es contraria a lo normalmente observado, pues por lo general cuando se usa NO_3^- como única fuente de N, se incrementa la cantidad de cationes (K, Ca, Mg) en la planta (Marschner, 1986; Mengel y Kirkby, 1987).

5.3.2. Efecto durante la etapa reproductiva I (desde suspensión del tratamiento de luz hasta la aparición visible del 50% del botón floral)

En esta segunda etapa de desarrollo de las plantas las características evaluadas se reportan en el Cuadro 25 y figuras 14, 15, 16, 17 y 19. La altura de planta en los tratamientos de sólo NO_3^- y relación 80/20 de NO_3^- /urea fue significativamente superior a la altura de las plantas de los tratamientos de sólo NH_4^+ así como la relación 80/20 de NO_3^- / NH_4^+ , esto significa que el NO_3^- favorece la elongación del tallo y el NH_4^+ la inhibe. Con excepción del tratamiento de sólo NH_4^+ que es significativamente inferior en diámetro de tallo, los demás tratamientos no muestran diferencias entre ellos en cuanto a este parámetro.

En la variable peso fresco de hoja (PFH), tallo (PFT) y total (PFTOT), así como peso seco de hoja (PSH), tallo (PST) y total (PSTOT); los tratamientos de sólo NO_3^- ó NH_4^+ son los que tienen los rendimientos significativamente más bajos en relación a los otros tratamientos, donde sobresalen con los valores más altos los tratamientos de sólo urea y

las relaciones 80/20 de $\text{NO}_3^-/\text{urea}$ y 50/50 de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$. En cuanto al área foliar (AF), los tratamientos de sólo NH_4^+ ó NO_3^- siguen siendo significativamente más bajos, pero el valor más alto corresponde ahora a la relación 80/20 de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$. Al respecto, Lips *et al.*, (1990) señalan que las plantas abastecidas con amonio y nitrato muestran alta velocidad de expansión foliar y por lo tanto mayor área fotosintética. Si sólo se suministra NO_3^- la respiración de la raíz en base a fotosíntesis de follaje es mayor que cuando se usa NO_3^- mas NH_4^+ , lo que significa que plantas abastecidas con NO_3^- y NH_4^+ son energéticamente más eficientes, tal vez debido a mayor expansión foliar y tasas bajas de respiración en la raíz.

Cuadro 25. Prueba de comparación de medias (Tukey, $\alpha=0.05$) de algunas variables evaluadas al momento de la aparición visible del 50 % del botón floral, en plantas que crecieron con diferente fuente y proporción de N en el medio de nutrición

TRATAMIENTO	ALT (cm)	DT (mm)	PFH (g)	PFT (g)	PFTOT (g)	PSH (g)	PST (g)	PSTOT (g)	AF (cm ²)	HUM (%)
NO3/NH4 100/00	86.275 A	8.875 A	46.402 C	32.505 CD	78.908 C	9.148 BC	5.057 B	14.205 CD	1176.30 CD	81.903 AB
NO3/UREA 50/50	82.987 ABC	9.600 A	51.003 BC	35.028 BC	86.030 BC	9.993 BC	6.035 AB	16.030 BC	1218.90 BCD	81.347 AB
NO3/NH4 50/50	82.400 ABC	9.275 A	62.600 AB	42.250 A	107.847 AB	11.938 AB	6.652 A	18.590 AB	1513.50 ABC	82.700 A
NO3/UREA 00/100	83.900 AB	9.525 A	65.403 A	42.870 AB	108.272 A	12.795 A	6.675 A	19.472 A	1600.10 AB	82.002 AB
NO3/NH4 00/100	75.300 C	7.825 B	30.547 D	24.977 D	55.525 D	7.525 D	3.618 C	11.143 D	885.50 D	79.813 B
NO4/UREA 80/20	87.050 A	8.875 A	67.955 A	41.520 AB	109.475 A	11.040 ABC	6.770 A	17.812 AB	1495.90 ABC	83.752 A
NO3/NH4 80/20	75.978 BC	9.150 A	61.375 AB	40.250 ABC	101.625 AB	10.933 ABC	6.772 A	17.680 AB	1684.20 A	82.594 A
C.V	4.2768	4.5017	10.9226	14.4614	10.0935	8.9288	10.1479	8.7198	12.2426	1.3643
DMS	8.1928	0.9490	14.6470	8.8855	21.8210	2.1843	1.4085	3.3453	391.2600	2.6145

Valores de columna con la misma letra son estadísticamente iguales

C.V = Coeficiente de variación

DMS = Diferencia mínima significativa

ALT = Altura de planta

DT = Diámetro de tallo

PFH = Peso fresco de hoja

PFT = Peso fresco de tallo

PFTOT = Peso fresco total

PSH = Peso seco de hoja

PST = Peso seco de tallo

PSTOT = Peso seco total

AF = Area foliar

HUM = Humedad

En esta etapa, al contrario de la etapa anterior, el menor porcentaje de humedad (HUM) se encontró en el tratamiento de sólo NH_4^+ , lo que también ha sido observado para betabel y jitomate (Hageman, 1984). La concentración de nutrimentos en el tejido al final de la

segunda etapa se reporta en el Cuadro 26. Las plantas que más N, P y K tuvieron, y que son estadísticamente diferentes a las demás, son las que crecieron en el tratamiento con sólo NH_4^+ , aunque aquí se trata más bien de un efecto de concentración pues es donde se registró la menor producción de materia seca. También de manera general, como en la primer etapa, se sigue manifestando una menor concentración de nutrimentos en las plantas del tratamiento de sólo NO_3^- , sobre todo de P y K, que junto con la relación 80/20 de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ presentan la menor cantidad de cationes en el tejido.

Cuadro 26. Prueba de comparación de medias (Tukey, $\alpha=0.05$) de la concentración (%) en el follaje de algunos nutrimentos al momento de la aparición visible del 50% del botón floral, en plantas que crecieron en diferente fuente y proporción de N en el medio de nutrición

TRATAMIENTO	N	P	K	Ca	Mg	N+P	K+Ca+Mg
NO3/NH4 100/00	2.006 BC	0.211 C	6.617 BC	0.376 AB	0.672 A	2.218 BC	7.666 CD
NO3/UREA 50/50	1.866 BC	0.270 BC	6.757 BC	0.463 A	0.706 A	2.137 BC	7.926 ABCD
NO3/NH4 50/50	2.053 BC	0.406 A	7.343 AB	0.343 B	0.738 A	2.459 B	8.425 AB
NO3/UREA 00/100	2.146 BC	0.287 BC	7.257 AB	0.369 AB	0.640 A	2.434 BC	8.267 ABC
NO3/NH4 00/100	2.473 A	0.389 A	7.673 A	0.337 B	0.628 A	2.862 A	8.639 A
NO3/UREA 80/20	1.773 C	0.312 AB	6.897 ABC	0.342 B	0.645 A	2.086 C	7.884 BCD
NO3/NH4 80/20	2.006 BC	0.312 AB	6.203 C	0.369 AB	0.646 A	2.319 BC	7.215 D
C.V	5.5851	10.8504	4.2042	11.3230	6.0298	5.1891	3.2759
DMS	0.3267	0.0969	0.8366	0.1201	0.1151	0.3499	0.7492

NOTA: Valores de columna con la misma letra son estadísticamente iguales C.V = Coeficiente de variación DMS = Diferencia mínima significativa

5.3.3. Efecto durante la etapa reproductiva II (desde aparición visible del 50% del botón floral hasta la cosecha)

Finalmente, en el Cuadro 27 y figuras 14, 15, 16, 17, 18 y 19 se presentan algunas variables evaluadas al momento de la cosecha. En altura de planta sólo los tratamientos

con NO_3^- ó NH_4^+ fueron estadísticamente diferentes entre sí, con la mayor y menor altura, respectivamente, pero cada uno estadísticamente igual a los demás tratamientos. En diámetro de pedúnculo (DP) no existe diferencia entre tratamientos. En cuanto al peso fresco de hoja (PFH), tallo (PFT) y total (PFTOT), así como peso seco de hoja (PSH), tallo (PST) y total (PSTOT), los tratamientos de sólo NH_4^+ y la relación 50/50 de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ son significativamente los más bajos, mientras que la relación 80/20 de $\text{NO}_3^-/\text{urea}$ y $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ son significativamente los más altos, aunque no diferentes de los demás tratamientos que llevaron urea. Esto significa que cuando en el medio domina la fuente de N como NH_4^+ , las plantas no se desarrollan de manera normal, pero pueden crecer satisfactoriamente con NO_3^- ó urea y sobre todo cuando se combinan las fuentes $\text{NO}_3^-/\text{urea}$ y $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$, pero incluyendo menos del 50% de NH_4^+ . Varios autores coinciden en señalar que el empleo del NH_4^+ puede ayudar a incrementar los rendimientos en las plantas pero sólo cuando no es la forma de N que domina en el medio de nutrición (Haynes, 1986; Marchner, 1986; Mengel y Kirkby, 1987), aunque en algunas especies el NH_4^+ puede ser suministrado como fuente principal sin producir efectos detrimentales (Gunes *et al.*, 1993).

Durante las diferentes etapas de desarrollo del crisantemo, King *et al.*, (1995) no encontraron diferencias significativas en la absorción de NO_3^- ó NH_4^+ cuando en el medio de nutrición se encontraban en proporciones iguales (1 mM de cada uno), aunque en los primeros 30 días existió cierta preferencia por el NH_4^+ . Por su parte, Elliott y Nelson (1983) encontraron que la combinación de NO_3^- y NH_4^+ maximizó la eficiencia de absorción del N, y sólo valores arriba de 40% de NH_4^+ en la solución inhibieron la absorción de NO_3^- . Esta observación fue atribuida a que durante los primeros 30 días la energía y esqueletos carbonados producidos por la fotosíntesis todavía era limitada para abastecer las necesidades de la planta, por lo que disminuyó la reducción de NO_3^- y se utilizó preferentemente el NH_4^+ que su asimilación tiene menor costo energético (Elliott y Nelson, 1983; King *et al.*, 1995). También Hetch y Mohr (1990) observaron que el empleo de la relación 50/50 de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ disminuyó la acumulación de NH_4^+ en el tejido, debido probablemente a que los NO_3^- y la luz (tal vez un efecto mediado por el fitocromo) aumentaron la fijación del NH_4^+ por la ruta **GS-GOGAT**. Se ha atribuido la inhibición en la absorción de NO_3^- a la acumulación citoplásmica del NH_4^+ o a algún producto de su

asimilación (Elliott y Nelson, 1983), como lo mencionan Justin y Pang (1992) el NH_4^+ puede inactivar las bombas del tonoplasto que participan en la acumulación de solutos en la vacuola donde se almacena el NO_3^- .

Cuadro 27. Prueba de comparación de medias (Tukey, $\alpha=0.05$) de algunas variables evaluadas al momento de la cosecha, sobre plantas que crecieron en diferente fuente y proporción de N en el medio de nutrición

	ALT (m)	DP (mm)	PFF (g)	PFH (g)	PFT (g)	PFTOT (g)	PSF (g)	PSH (g)	PST (g)	PSTOT (g)	DF (cm)	VF (días)	HUM (%)
NO ₃ /NH ₄ 100/00	100.927 A	7.900 A	43.853 BC	93.815 AB	64.332 A	202.580 AB	5.775 AB	15.260 AB	14.372 A	35.203 AB	13.963 AB	16.375 A	82.529 B
NO ₃ /UREA 50/50	95.695 AB	8.100 A	45.645 ABC	99.028 A	67.317 A	211.990 AB	5.557 B	15.705 AB	15.508 A	36.768 A	13.935 AB	14.083 AB	82.653 AB
NO ₃ /NH ₄ 50/50	95.425 AB	7.875 A	47.800 AB	81.088 B	64.332 A	193.220 B	5.475 B	13.040 B	12.565 A	31.082 B	14.122 AB	13.165 BC	83.905 AB
NO ₃ /UREA 00/100	97.475 AB	8.200 A	47.928 AB	96.525 AB	67.397 A	211.740 AB	5.720 AB	15.540 AB	15.022 A	36.290 A	13.655 AB	13.750 B	82.867 AB
NO ₃ /NH ₄ 00/100	88.808 B	7.625 A	39.000 C	56.600 C	54.022 B	150.147 C	4.332 C	9.670 C	9.057 B	23.082 C	13.380 B	11.000 C	84.643 A
NO ₃ /UREA 80/20	97.865 AB	7.850 A	47.538 AB	99.025 A	71.343 A	218.005 A	5.582 AB	16.090 A	15.405 A	37.080 A	14.425 A	13.915 AB	82.969 AB
NO ₃ /NH ₄ 80/20	97.147 AB	8.125 A	51.660 A	97.100 AB	70.680 A	219.450 A	6.552 A	15.635 AB	15.578 A	37.765 A	13.508 AB	14.498 AB	82.796 AB
C.V	4.0362	4.2915	6.7261	8.3107	4.6544	5.19541	7.57123	7.9084	10.5157	6.0945	3.0728	8.1243	1.0478
DMS	9.0717	0.7980	7.2612	17.2910	7.1467	24.4030	0.9804	2.665	3.4226	4.8264	0.9648	2.6247	2.0370

Valores de columna con la misma letra son estadísticamente iguales

C.V = Coeficiente de variación

DMS = Diferencia mínima significativa

ALT = Altura de planta

DP = Diámetro de pedunculo

PFF = Peso fresco de flor

PFH = Peso fresco de hoja

PFT = Peso fresco de tallo

PFTOT = Peso fresco total

PSF = Peso seco de flor

PSH = Peso seco de hoja

PST = Peso seco de tallo

PSTOT = Peso seco total

DF = Diámetro de flor

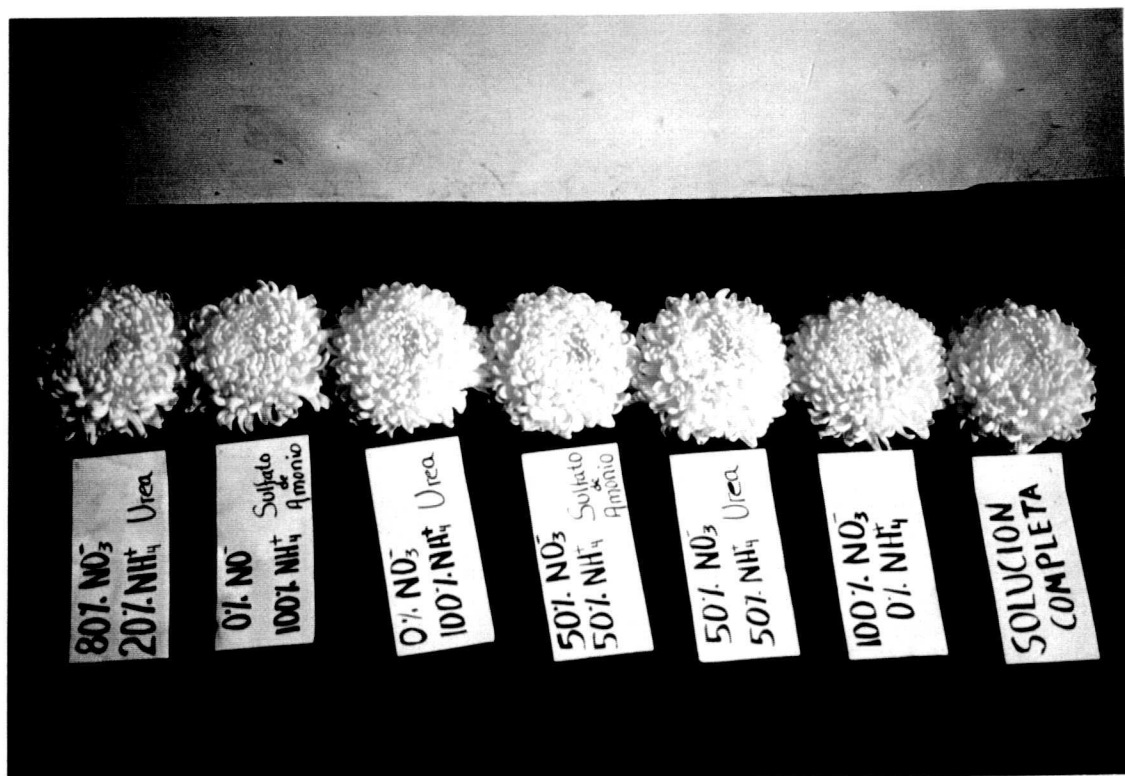
VF = Vida en florero

HUM = Humedad

En lo que se refiere al contenido de humedad (HUM), es de notar que el mayor porcentaje se encontró en el tratamiento con sólo NH_4^+ y el menor en el de sólo NO_3^- , que son significativamente diferentes entre sí, pero igual a todo los demás. De acuerdo con Luo *et al.*, (1993) esto significa que las plantas que se nutren con sólo NH_4^+ tienen menor eficiencia en el uso del agua.

En cuanto a las características de flor (Cuadro 27 y figura 18), puede observarse que el peso fresco (PFF) es estadísticamente igual en todos los tratamientos que combinaron NO_3^- ya sea con urea ó NH_4^+ , o cuando sólo se usó urea, pero el valor es el más bajo cuando sólo se aplicó el NH_4^+ , que estadísticamente es igual al tratamiento de sólo NO_3^- . En peso seco (PSF) sólo el tratamiento de NH_4^+ es significativamente inferior a todos los demás y la relación 80/20 de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ significativamente superior a todos. En el diámetro

de flor (DF) sólo el tratamiento de NH_4^+ es estadísticamente diferente de la relación 80/20 de $\text{NO}_3^-/\text{urea}$, a los que corresponde el menor y mayor valor, respectivamente, pero estadísticamente iguales a los demás tratamientos (se puede hacer una comparación visual en la fotografía 4).



Fotografía 4. Diámetro de capítulo de plantas que crecieron con diferentes fuentes y relaciones de N

En los tratamientos de sólo NO_3^- , y la relación 80/20 de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ y $\text{NO}_3^-/\text{urea}$, así como el de 50/50 de $\text{NO}_3^-/\text{urea}$; la vida en florero (VF) fue superior a todos los demás tratamientos, donde la menor vida en florero corresponde al tratamiento de sólo NH_4^+ y a la relación 50/50 de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$. La tendencia general observada es que la vida en florero aumentó donde había más NO_3^- y disminuyó donde había más NH_4^+ . Estos resultados están de acuerdo con lo reportado con Nell (1993) quien encontró que la longevidad del cultivo de

crisantemo en maceta está relacionada con el nivel de fertilización durante el crecimiento y desarrollo, con los mejores resultados cuando se usó de 60 a 70% del nitrógeno en forma de NO_3^- y el resto como NH_4^+ ó urea. También estos resultados están de acuerdo con lo reportado en la primera parte de este trabajo (apartado 5.1) donde se observó una correlación negativa entre absorción de nutrimentos y vida en florero, como ya se mencionó anteriormente, en el tratamiento de sólo NO_3^- fue donde hubo menor contenido de nutrimentos.

La cantidad de N en el tejido (Cuadro 28) no presenta mucha variación, sólo el tratamiento de NO_3^- y la relación 80/20 de NO_3^- /urea son estadísticamente inferiores al tratamiento 80/20 de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$, que a su vez son iguales a todos los demás. En cuanto al P, sólo el tratamiento de NO_3^- es significativamente inferior a todos los demás que estadísticamente son iguales. Para los cationes K y Mg no hay diferencia y para el Ca la mayor cantidad corresponde al tratamiento de sólo urea y la menor cantidad para la relación 80/20 de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$. En general existe poca variación entre la suma de nutrimentos en el tejido, a diferencia de las etapas anteriores, que presentó más variación. De acuerdo con los valores observados en el contenido de nutrimentos (N, P, K, Ca, Mg) en las diferentes etapas y considerando que hubo una subestimación en la determinación del N (ver apartado 5.1.1) ningún nutrimento se encuentra en niveles considerados deficientes, y por lo general hay mucho más Mg que Ca (que incluso llega a ser bajo pero no deficiente), situación que debería ser contraria (Arbos, 1990; Benton *et al.*, 1991; Reuter y Robinson, 1986; Willits *et al.*, 1992).

En los Cuadros 29 y 30 se presenta la correlación entre algunas variables, donde los nutrimentos se expresan en base a concentración (%) ó en base a cantidad de nutrimento absorbido (mg/planta). De las correlaciones que tiene importancia observar son las de la variable vida en florero (VF) en relación con la nutrición de la planta. Nótese que existe una correlación negativa significativa con la concentración de N y P en el tejido y una correlación positiva significativa con la cantidad de Ca y Mg absorbida y altamente significativa con el K absorbido. También la vida en florero tiene una relación positiva con la producción de materia seca total, la cual a su vez depende de la cantidad de nutrimentos absorbidos.

Cuadro 28. Prueba de comparación de medias (Tukey, $\alpha=0.05$) de la concentración (%) en el follaje de algunos nutrimentos al momento de la cosecha, en plantas que crecieron con diferente fuente y proporción de N en la solución nutritiva

TRATAMIENTO	N	P	K	Ca	Mg	N+P	K+Ca+Mg
NO ₃ /NH ₄ 100/00	1.447 B	0.236 B	6.420 A	0.435 ABC	0.872 A	1.683 B	17.728 A
NO ₃ /UREA 50/50	1.773 AB	0.448 A	6.397 A	0.515 AB	1.033 A	2.221 A	7.945 A
NO ₃ /NH ₄ 50/50	1.727 AB	0.473 A	6.730 A	0.509 AB	1.020 A	2.200 A	8.259 A
NO ₃ /UREA 00/100	1.773 AB	0.456 A	6.953 A	0.549 A	0.786 A	2.230 A	9.271 A
NO ₃ /NH ₄ 00/100	1.867 AB	0.532 A	6.650 A	0.422 BC	0.869 A	2.399 A	7.942 A
NO ₃ /UREA 80/20	1.447 B	0.516 A	6.317 A	0.431 BC	0.864 A	1.963 AB	7.612 A
NO ₃ /NH ₄ 80/20	1.960 A	0.448 A	6.257 A	0.380 C	0.916 A	2.408 A	7.553
C.V	10.1391	8.0197	10.3666	8.7074	23.8354	7.5044	10.5448
DMS	0.4964	0.1019	1.9773	0.1153	0.6171	0.4628	2.4240

NOTA: Valores de columna con la misma letra son estadísticamente iguales C.V = Coeficiente de variación DMS = Diferencia mínima significativa

Una observación general sobre el tiempo en que se alcanzó el desarrollo completo de la flor, es que los tratamientos que tenían 50% ó 100% de NH₄⁺ llegaron más pronto a la cosecha. Al respecto Griffith y Streefer (1994) observaron en ryegrass que las combinaciones de NH₄⁺/NO₃⁻ ó sólo NH₄⁺ desarrollaron más rápido las estructuras reproductivas. Este comportamiento quizás sea debido a lo que menciona Marschner (1986) de que los compuestos reducidos del N cuando éste se suministra en forma de NH₄⁺ al medio de nutrición, son translocados principalmente a los puntos en crecimiento donde estan las estructuras reproductivas. Por su parte Elliott y Nelson (1983) mencionan que en el crisantemo, la baja redistribución del N para soportar el crecimiento de los meristemas de la parte aérea podrían limitar la utilización del N si sólo se suministra en forma de NO₃⁻. Estos autores sugieren que la estimulación del crecimiento cuando se mezcla NH₄⁺ y NO₃⁻ se debe al incremento en la movilidad de N orgánico a los sitios de rápido crecimiento. El N orgánico puede ser crítico para mantener el crecimiento y desarrollo de los meristemas apicales, los cuales son deficientes en esqueletos de

carbono y reductantes para la asimilación del NO_3^- , que es la principal forma que se transporta al follaje (80%) cuando se suministran sólo NO_3^- .

Al respecto, Marschner (1986) menciona que en manzana la aplicación de NH_4^+ es más efectiva que los NO_3^- para promover la inducción floral. Aunque sorpresivamente tratamientos de 24 horas son más efectivos que tratamientos durante 8 semanas. Aunque se han encontrado concentraciones más altas de ciertos aminoácidos y aminos (arginina y asparagina) en plantas suministradas con NH_4^+ , se puede asumir que no son estos compuestos sino otros como las hormonas y poliaminas (mensajeros secundarios) las que son responsables de la promoción de la morfogénesis floral. Esto se ha comprobado para el caso de las citocininas donde la exportación hacia la parte aérea es más abundante cuando la fuente de N es el NH_4^+ comparado con el NO_3^- , así como un aumento en la cantidad de poliaminas cuando la nutrición es con NH_4^+ ó hay deficiencia de K que a su vez puede ser debida al uso del NH_4^+ . El NO_3^- promueve mayor elongación que el NH_4^+ , mientras que sólo suministro de NH_4^+ incrementa el número de nuevos brotes florales (Marschner, 1986).

Cuadro 29. Coeficientes de correlación de Pearson entre la concentración (%) de nutrimentos en el tejido de la planta y algunas variables evaluadas al momento de la cosecha, en plantas que crecieron con diferente fuente y proporción de N en la solución nutritiva (n = 21)

VARIABLE	N	P	K	Ca	Mg	VF	HUM	N+P	K+Ca+Mg	N+P+K+Ca+Mg
N		0.2918	-0.0487	-0.1418	-0.0670	-0.5267*	0.0796	0.9424**	-0.0689	0.2140
P			0.0601	0.0427	0.1430	-0.6840**	0.3684	0.5948	0.0886	0.2622
K				0.6260**	0.1673	-0.0191	-0.1013	-0.0199	0.9739**	0.9317**
Ca					0.1002	0.0475	-0.1493	0.1042	0.6544**	0.5991**
Mg						0.0662	-0.1138	-0.0063	0.3789	0.13630
VF							-0.2505	-0.6817**	0.0013	-0.2016
HUM								0.1957	-0.1267	-0.0637
N+P									-0.0269	0.2715
K+Ca+Mg										0.9547**
N+P+K+Ca+Mg										

*Correlación significativa

**Correlación altamente significativa

VF = Vida en florero (días)

HUM = Humedad (%)

Cuadro 30. Coeficientes de correlación de Pearson entre la cantidad de nutrimentos absorbidos (mg/planta) y algunas variables evaluadas al momento de la cosecha, en plantas que crecieron con diferente fuente y proporción de N en la solución nutritiva (n=21)

VARIABLE	PSTOT	VF	HUM	N	P	K	Ca	Mg	N+P	K+Ca+Mg	N+P+K+Ca+Mg
PS		0.6711**	-0.6944**	0.6725**	0.4720*	0.7782**	0.7375**	0.6481**	0.6979**	0.8047**	0.8432**
VF			-0.2505	0.1949	-0.1455	0.4768*	0.4557*	0.3976	0.1229	0.4934*	0.4562*
HUM				-0.5477*	-0.1818	-0.5632**	-0.5444*	-0.4569*	-0.5115*	-0.5812**	-0.6105**
N					0.4542*	0.5066*	0.4212	0.4100	0.9682**	0.5182*	0.6465**
P						0.4061	0.4034	0.4331*	0.6626**	0.4361*	0.5137*
K							0.8417**	0.6028**	0.5399*	0.9909**	0.9746**
Ca								0.5535**	0.4673*	0.8599**	0.8455**
Mg									0.4673*	0.7009**	0.7062**
N+P										0.5581**	0.6878**
K+Ca+Mg											0.9862**
N+P+K+Ca+Mg											

*Correlación significativa **Correlación altamente significativa PSTOT = Peso seco total (g) VF = Vida en florero (días) HUM = Humedad (%)

Por último se presenta el Cuadro 31 para mostrar la correlación entre algunas variables. Obsérvese que el diámetro de flor (DF) no tiene una relación clara con otras partes de la planta, pero tiene correlación positiva altamente significativa con altura de planta (ALT), peso fresco de flor (PFF), peso fresco total (PFTOT), peso seco de flor (PSF), peso seco de hoja (PSH) y peso seco total (PSTOT).

Cuadro 31. Coeficientes de correlación de Pearson entre algunas variables evaluadas al momento de la cosecha, en plantas que crecieron con diferente fuente y proporción de N en la solución nutritiva (n = 28)

VARIABLE	ALT	DP	PFF	PFH	PFT	PFTOT	PSF	PSH	PST	PSTOT	DF	VF	HUM
ALT		0.4478*	0.4503*	0.4779*	0.3549	0.4820**	0.4549*	0.4773*	0.5066**	0.5276**	0.2320	0.5586**	-0.4459*
DP			0.5126**	0.3101	0.2559	0.3570	0.3982*	0.2419	0.2500	0.2869	0.1238	0.2158	-0.0494
PFF				0.6009**	0.5881**	0.7222**	0.8130**	0.5311**	0.4398*	0.5683**	0.1253	0.3420	-0.0263
PFH					0.8656**	0.9768**	0.7408**	0.9820**	0.8364**	0.9596**	0.1854	0.6548**	-0.5592**
PFT						0.9243**	0.6630**	0.8643**	0.7452**	0.8506**	0.2064	0.5443	-0.3821*
PFTOT							0.7967**	0.9525**	0.8103**	0.9409**	0.1947	0.6257**	-0.4611*
PSF								0.7134**	0.5399**	0.7261**	0.0787	0.5036**	-0.3110
PSH									0.8295**	0.9609**	0.2188	0.6303**	-0.6129**
PST										0.9426**	0.1296	0.4731*	-0.8339**
PSTOT											0.1747	0.5883**	-0.7311**
DF												0.0787	-0.0630
VF													-0.3156
HUM													

*Correlación significativa **Correlación altamente significativa ALT = Altura de planta (cm) DP = Diámetro de pedúnculo (mm) HUM = Humedad (%)

PFF = Peso fresco de flor (g) PFH = Peso fresco de hoja (g) PFT = Peso fresco de tallo (g) PFTOT = Peso fresco total (g) VF = Vida en florero (días)

PSF = Peso seco de flor (g) PSH = Peso seco de hoja (g) PST = Peso seco de tallo (g) PSTOT = Peso seco total (g) DF = Diámetro de flor (cm)

De acuerdo con los resultados de éste experimento es claro que el uso de NO_3^- como única fuente de N produce resultados satisfactorios en el crecimiento y desarrollo del crisantemo (aunque no fueron los mejores), lo que era de esperarse pues es la forma que prefieren la mayoría de las plantas (Haynes, 1986; Marschner, 1986; Mengel y Kirkby, 1987) y la forma de N que normalmente se usa en las soluciones nutritivas (Asher y Edwards, 1982; FAO, 1990; Wild *et al.*, 1989), aunque en algunos casos altos niveles de NO_3^- pueden causar deficiencia de hierro, la cual es corregida cambiando la fuente a NH_4^+ . La causa de la clorosis férrica con la nutrición con NO_3^- se debe en parte a la acumulación de aniones orgánicos ácidos (ác. fumárico, ác. succínico, ác. malónico, ác. málico, ác. oxálico, ác. cítrico), lo que provoca la quelatación del hierro inactivándolo. Esta acumulación ha sido explicada como una respuesta celular para contrarrestar los OH^- producidos durante la reducción del NO_3^- , y poder mantener el pH intracelular (Goyal y Huffaker, 1984; Marschner, 1986; Mengel y Kirkby, 1987).

La energía adicional requerida para la asimilación del NO_3^- soporta el argumento de que el crecimiento puede ser energéticamente más limitado cuando la fuente de N es el NO_3^- que cuando es NH_4^+ . Además, Bloom *et al.*, (1992) encontraron en cebada que los costos de respiración en la raíz para absorber y asimilar los NO_3^- y el NH_4^+ fueron de 23 % y 14 % del total de catabolismo de carbono para la asimilación del N, respectivamente. Raven (1985) reporta que los costos totales de asimilación del NH_4^+ incluyendo los costos de absorción en las células radicales y los procesos asociados de regulación de pH/balance de carga, los costos de transporte dentro de la raíz y hacia la parte aérea del N asimilado, se han calculado en 9.45 mol de fotones por mol de NH_4^+ asimilado y transportado. Para el caso del NO_3^- , el costo energético de la absorción, reducción y asimilación, depende del sitio y de los procesos involucrados; por ejemplo, si la asimilación se lleva a cabo en la raíz con la regulación del pH por medio de la extrusión de OH^- , el costo es de 32 mol de fotones por mol de NO_3^- ; si la asimilación ocurre en la raíz con síntesis y almacenamiento de ácido málico, el costo es de 44.7 mol de fotones por mol de NO_3^- ; si la asimilación ocurre en la raíz con la síntesis y almacenamiento de ácido oxálico, el costo es de 44.6 mol de fotones por mol de NO_3^- ; y 62.22 mol de fotones si la ruta es la del ácido ascórbico; si la asimilación ocurre en las hojas con síntesis y almacenamiento de ác. málico el costo

es de 35.45 mol de fotones por mol de NO_3^- y si es con síntesis y almacenamiento con ácido oxálico el costo es de 59.68 mol de fotones por mol de NO_3^- .

Por su parte, Salsac *et al.*, (1987) señalan que los requerimientos de energía para la asimilación del NO_3^- son de 20 a 21 ATP/mol de NO_3^- mientras que para el NH_4^+ es de 5 ATP/mol de NH_4^+ . Estos costos mayores en la asimilación del NO_3^- podrían ser la causa de que en este experimento la fuente de NO_3^- fue inferior que cuando se combinó con amonio ó urea; sin embargo, tales incrementos en materia seca no podrían ser explicados solamente en base a los costos diferenciales en la asimilación de las diferentes formas del nitrógeno (Alexander, 1991; Barber *et al.*, 1994; Haynes, 1986) por lo que tendría que evaluarse la capacidad de usar las diferentes formas del N en las diferentes especies de plantas y variedades. Debe considerarse que en diferentes cultivos donde se ha evaluado el efecto de la radiación en la asimilación del N se han encontrado respuestas contradictorias. Haynes (1986) y Marchner (1986) reportan que bajo condiciones de alta luminosidad (las cuales se presentaron durante este experimento) los costos energéticos en la asimilación son insignificantes ya que con la radiación se genera un alto poder reductor. Zornoza *et al.*, (1989) encontraron en pimiento que más del 20% de NH_4^+ en el medio de nutrición dañó a la planta cuando la intensidad luminosa rebasó los 300 w m^{-2} . Andrews (1986) y Layzell (1990) indican que con baja cantidad de luz, los requerimientos energéticos para la asimilación del N pueden competir con la fijación del CO_2 por los reductantes ($\text{NADPH}+\text{H}$, $\text{NADH}+\text{H}$) y ATP disponibles, mientras que con alta luminosidad, cuando las reacciones lumínicas producen un exceso de poder reductor el costo de la asimilación del N es insignificante para la planta. El menor costo en la asimilación del NO_3^- en la parte aérea en comparación de la raíz puede ser la causa de la predominancia de la asimilación del NO_3^- en el follaje en muchas especies de plantas, sobre todo tropicales y subtropicales. Para algunas plantas se ha encontrado (Hall *et al.*, 1984) que cuando se usa más NH_4^+ que NO_3^- pueden llegar a producir mayor cantidad de materia seca y se ha atribuido principalmente a un incremento en la asimilación del CO_2 fotosintético cuando la fuente es el NH_4^+ . En estos casos las altas relaciones $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ producen una mayor eficiencia en el uso de la radiación fotosintética para la producción de materia seca y en

condiciones de invernadero podría ser mayor esta eficiencia debido a la mayor cantidad de luz difusa (Barber *et al.*, 1994; Sinclair *et al.*, 1992).

Imad *et al.*, (1994) en un experimento con relaciones $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ de 10/0, 8/2 y 6/4 encontraron que a temperaturas arriba de 25 °C la relación 10/0 produjo los mayores rendimientos, lo que se atribuyó a la inhibición del transporte de carbohidratos a la raíz con la consecuente acumulación en la parte aérea, por lo que se favoreció la asimilación del NO_3^- que ocurre en la parte aérea, lo que no sucedió cuando se combinaron las dos formas de N. Estos autores mencionan que además de la acumulación de NH_4^+ en el citoplasma de las células radicales, lo que a su vez produce una disminución en el pH llegando a crear toxicidad, a temperaturas arriba de 25 °C ocurre una carencia de carbohidratos para el metabolismo del NH_4^+ . En estas condiciones la respiración de la raíz y el metabolismo del NH_4^+ , consumen carbohidratos a velocidades más altas de las que son transportados desde las hojas, situación que llega a producir la muerte de las raíces. La velocidad de transporte de carbohidratos varía entre especies de plantas, y ésta es probablemente la razón principal de las diferentes sensibilidades entre plantas a la concentración de NH_4^+ en la solución nutritiva. Es conveniente mencionar que las temperaturas diurnas promedio durante el ciclo del cultivo fueron altas (Arriba de 30 °C).

Por otra parte cuando se usó sólo NH_4^+ se afectó negativamente el crecimiento y desarrollo, lo que pudo estar relacionado con diferentes efectos tóxicos. En general las plantas presentaron una restricción inmediata en el crecimiento, clorosis en algunas hojas, necrosis marginal, manchas necróticas, algunas lesiones al tallo que son síntomas de toxicidad de NH_4^+ , aunque en ningún caso hubo muerte de la planta. La toxicidad de NH_4^+ es también caracterizada por una gran restricción en el crecimiento de la raíz, con la producción de raíces cortas, delgadas, con menos ramificación y de colores oscuros. Si las plantas han evolucionado con bajo suministro de NH_4^+ donde la principal forma disponible es el NO_3^- , entonces no están adaptadas para usar sólo el NH_4^+ como fuente principal de N (Haynes, 1986).

La toxicidad del NH_4^+ se presenta principalmente cuando el origen es el medio externo ya que se incrementa la concentración en el citoplasma, sumándose al que se produce internamente por diferentes procesos metabólicos que conllevan a la formación de NH_3

(Haynes, 1986; Layzell, 1990; Marschner, 1986; Vance y Griffith, 1990), situación que en este experimento pudo ser la responsable del efecto negativo de los tratamientos con 50% y 100% de NH_4^+ , sobre todo considerando que el crisantemo es una planta C_3 y la radiación fue alta durante todo el ciclo de cultivo; se infiere que el nivel de NH_4^+ en las células fue alto debido a la fotorrespiración y al absorbido de la solución nutritiva, la cual tenía una concentración alta de NH_4^+ . Probablemente usando soluciones diluídas se pueda evitar la reducción en crecimiento y los daños frecuentemente observados con la nutrición con solo NH_4^+ , así lo demuestran algunos experimentos (Hageman, 1984).

A pesar de lo anterior, en el presente trabajo se pudo observar que en términos de crecimiento de toda la planta, la presencia de NH_4^+ en el medio de nutrición en combinación con NO_3^- , fue benéfico ya que los tratamientos que tuvieron las dos fuentes de N produjeron los mejores resultados. Marschner (1986) y Pilbeam y Kirkby (1990) señalan que la razón exacta de la superioridad al combinar las dos fuentes de N no está clara, aunque una razón posible se atribuye a los niveles más altos de N reducido que se encuentra en el xilema cuando se usan las dos fuentes de N en comparación con sólo NO_3^- (Haynes, 1986). Al respecto, Lewis *et al.*, (1982) encontraron en cebada que con sólo NO_3^- en la solución se exportó más nitrógeno por la raíz hacia las hojas que cuando sólo se usó NH_4^+ o una mezcla de $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$. Sin embargo, mucho del nitrógeno exportado en las plantas con sólo NO_3^- en la solución, permaneció en las hojas como NO_3^- , mientras que el NO_3^- exportado cuando se emplearon relaciones $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ fue rápidamente asimilado a compuesto nitrogenados orgánicos en las hojas. En consecuencia, las plantas que crecieron con relaciones $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ tuvieron la mayor proporción de nitrógeno reducido tanto en la raíz como en las hojas, de tal manera que el balance de las rutas de asimilación operando en diferentes partes de la planta fue óptimo para el crecimiento. Otros investigadores (Below y Heberer, 1990; Gentry *et al.*, 1989; Hagin *et al.*, 1990; Shaviv *et al.*, 1990) reportan que la mayor producción de materia seca que se da al combinar nitrato con amonio se debe a un aumento en la absorción de nutrimentos, especialmente N, P y K; lo que está de acuerdo con lo observado en este trabajo (Cuadros 23 y 24).

Una observación general con la nutrición con NH_4^+ es que las plantas absorben un exceso de carga positiva, así que existe una extrusión de H^+ para mantener la electroneutralidad. Esto conlleva a que se alcancen valores muy bajos de pH (alrededor de 3). Con la nutrición con nitratos existe un eflujo de iones OH^- y HCO_3^- , por lo que el pH de la rizósfera se alcaliniza. Estos cambios en pH tienen efectos negativos en la absorción de sus propios iones. Por ejemplo, en soluciones nutritivas la máxima absorción del NH_4^+ se da a pH de 6 a 8 y para el NO_3^- a pH de 3 a 6. Así, el pH para la máxima absorción de los iones respectivos y el pH hacia el cual tiende la rizósfera según sea la fuente de nitrógeno son contrarios (Hageman, 1984; Haynes, 1986; Goyal y Huffaker, 1984), pero cuando se utiliza la combinación de fuentes estos efectos contrarios se neutralizan, de tal manera que se favorece la asimilación de ambas formas de N.

En varias investigaciones se ha puesto de manifiesto la efectividad de la combinación de NO_3^- con NH_4^+ . Hageman (1984) reporta que para maíz usando relaciones $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ de 1/3, 1/1 y 3/1 se produjo más materia seca que cuando sólo se usó NO_3^- o NH_4^+ como única fuente. Existieron también diferencias significativas en la producción de materia seca de raíces y tallos pero no entre hojas cuando las plantas crecieron en la relación 1/1 comparado con sólo NO_3^- . Liu y Shelp (1993) usando relaciones $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ de 100/0, 75/25, 50/50 25/75 y 0/100 encontraron que plantas de brócoli no desarrollaron bien en la relación 100/0, se manifestaron síntomas de toxicidad como atrofiamiento, follaje verde oscuro con necrosis marginal en las hojas viejas y acumulación de NH_4^+ en el tejido. Los máximos rendimientos y menor tiempo a la cosecha, así como menor acumulación de NH_4^+ y NO_3^- se encontró en la relación 75/25, aunque la calidad comercial fue adecuada en las relaciones que tenían desde 25 a 75 % de cada fuente, con una concentración total de N de 18 mM. Sólo cuando se usó puro NH_4^+ las inflorescencias presentaron menor calidad comercial, el menor rendimiento y el máximo porcentaje de contenido de agua, lo que indica una baja eficiencia en el uso del agua. En plantas de trigo y maíz, Hall *et al.*, (1984) encontró que la combinación de $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ produjo más biomasa que las que sólo tenían NO_3^- ; lo que se atribuyó a un incremento en la capacidad fotosintética de las plantas suministradas con NH_4^+ (en el caso del maíz pudo comprobarse que presentaron mayores

tasas de fijación de CO_2) y a la menor energía gastada en la asimilación del NH_4^+ en comparación con el NO_3^- , que pudo traducirse en mayor producción de biomasa.

En algunos experimentos con maíz se ha encontrado que la eficiencia en el uso de la radiación para la producción total de materia seca es mayor cuando se usan altas relaciones $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ (Alexander *et al.*, 1991). Barber *et al.*, (1994) encontraron una eficiencia de 35% más alta en plantas nutridas con una relación $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ de 8/1 en comparación con la relación 1/8. Se cree que estas eficiencias podrían ser mayores en condiciones de invernadero debido a un incremento en la fracción de luz difusa. Sin embargo, tales diferencias no podrían explicarse solamente por los costos energéticos que implica la asimilación de las diferentes formas del N. También se encontró que se distribuyó mayor materia seca al tallo con relaciones $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ de 1/8 que con 8/1, ya que con esta relación la materia se distribuyó en mayor proporción a las hojas.

También Griffith y Streeter (1994) al usar relaciones $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ de 100/0, 75/25, 50/50, 25/75 y 0/100 encontraron la mayor producción de materia seca al combinar las dos fuentes que cuando se usó una sola por separado. La mayor cantidad de N en el tejido ocurrió con el uso de una sola fuente, pero la mayor cantidad de N reducido correspondió a niveles de 50% o mayores de NH_4^+ . Al momento de la antesis la mayor cantidad de carbohidratos solubles en agua se encontraron cuando se combinaron las dos fuentes de N. La forma y nivel de N suministrado a las plantas puede influir en la distribución y acumulación de carbohidratos en las diferentes partes de la planta debido a las diferencias energéticas en la absorción y asimilación del NO_3^- y NH_4^+ (Salsac *et al.*, 1987). Barta (1975) (citado por Griffith y Streeter, 1994) demostró que una mayor cantidad del carbono recién fijado por la fotosíntesis fue translocado a la raíz de las plantas que recibieron sólo NO_3^- en comparación con las que recibieron sólo NH_4^+ . Este efecto supuestamente ocurre porque la absorción del NO_3^- , contraria a la del NH_4^+ , es un proceso activo que demanda energía. Comparativamente, la absorción y asimilación del NH_4^+ en las raíces tiene menor demanda de carbono y energía que los NO_3^- , lo que resulta en mayor disponibilidad de carbono para el uso en otros sitios de crecimiento potencial (meristemas). Esto podría explicar el porqué, la iniciación de estructuras reproductivas, crecimiento y desarrollo son

acelerados bajo un medio enriquecido con NH_4^+ en comparación cuando todo el N es NO_3^- (Griffith y Streeter, 1994).

También en este trabajo se encontró que la urea por sí sola y mejor cuando se combinó con NO_3^- produjo resultados aceptables en el crecimiento y desarrollo de las plantas de crisantemo, incluso en la primer etapa el tratamiento de sólo urea fue el mejor. Al respecto, Marschner (1986) menciona que la urea puede ser clasificada, de acuerdo con su efecto en el crecimiento y metabolismo, de alguna manera entre el NO_3^- y el NH_4^+ .

Gunes *et al.*, (1994) al evaluar en lechuga (*Lactuca sativa* L) diferentes fuentes de N, como urea, aminoácidos, NO_3^- y fosforil triamida, encontraron que no hubo diferencias en la concentración total de N absorbido, mientras que la concentración de NO_3^- fue menor en los tratamientos de urea y aminoácidos. Se observó que la absorción de cloro aumentó posiblemente para compensar la baja de los NO_3^- en la función osmótica, de tal manera que la cantidad total $\text{Cl}^- + \text{NO}_3^-$ permaneció constante bajo cualquier tratamiento. Resultados similares han sido encontrados por Van der Boom *et al.*, (1990), cuando la sustitución del 20% de los NO_3^- por NH_4^+ fue realizada y por Imad *et al.*, (1994) para el jitomate, donde tampoco existió diferencia entre peso seco, peso fresco y N total absorbido. La razón posible de que haya bajado la concentración de NO_3^- cuando se usó urea o fosforil amida es que estos compuestos liberan lentamente pero de manera continua el NH_4^+ . Aunque la urea puede tener efectos adversos ya sea por el NH_4^+ que se produce por hidrólisis el cual baja el pH, disminuye la absorción de nutrimento o puede ser tóxica per se (Luo *et al.*, 1993). La mayor concentración de Cl^- y la menor concentración de NO_3^- en el tratamiento de fosforil amida, se atribuyó a efectos del balance iónico por la absorción de NH_4^+ disponible por el rompimiento de los aminoácidos del fertilizante. Las plantas que se nutren con NH_4^+ en lugar de NO_3^- normalmente tienen menor cantidad de cationes (Ca, Mg, K) y aniones orgánicos (malato, citrato, oxalato, etc) y la mayor proporción de la carga del catión (NH_4^+) fue satisfecha por aniones inorgánicos diferentes al NO_3^- (Cl^- , H_2PO_4^- , SO_4^{2-}). Ya que el Cl^- es fácilmente absorbido puede reemplazar aniones orgánicos y al NO_3^- , sobre todo en las funciones osmóticas (Gunes *et al.*, 1994; Imad *et al.*, 1994). Este efecto de la nutrición con NH_4^+ al favorecer la absorción del Cl^- ha sido también observada en papas.

En arboles de manzana la cantidad de flores es afectada por la fuente y tiempo de aplicación del N. La aplicación de urea durante la diferenciación de las yemas florales resulta en un marcado incremento en el número de flores producidas en el año siguiente y es un procedimiento efectivo para disminuir las fluctuaciones en rendimiento de un año a otro (Marschner, 1986). Luo *et al.*, (1993) evaluaron la urea y el NO_3^- como fuente de nitrógeno en tres hortalizas de hoja; espinaca, lechuga y una especie de brassica. Se encontró que la hidrólisis de la urea a NH_4^+ en la solución nutritiva, con la consecuente transformación a NO_3^- , fue afectada por la temperatura de la cámara de crecimiento. Abajo de 15°C sólo una pequeña fracción de la urea se transformó a formas inorgánicas, pero conforme se incrementó la temperatura hasta 30°C la transformación fue casi total. Esto indica que bajo condiciones adecuadas de crecimiento, con urea en la solución, después de cierto tiempo existirán tanto formas orgánicas como inorgánicas (NH_4^+ , NO_3^-) de nitrógeno, lo que podría explicar las respuestas positivas a la aplicación de urea en soluciones nutritivas. El cambio en el pH de la solución bajó significativamente con la urea y aumentó ligeramente con el NO_3^- . La disminución del pH se debe probablemente a la hidrólisis de la urea para formar NH_4^+ , el cual al ser absorbido preferencialmente resulta en una excreción de H^+ ; además la ausencia de nitrato de calcio y nitrato de potasio (con efectos ligeramente alcalinos) y la presencia de sulfato de potasio (con efectos ácidos) en la solución testigo (sin nitrógeno) produjeron también un abatimiento similar en el pH, por lo que al parecer esta es la causa más importante de la disminución del pH. De las tres especies provadas la espinaca presentó un adecuado desarrollo con la relación nitrato/urea (4/2 mM) y con sólo urea (4 mM); aunque la especie de brassica también dió buen resultado con la misma relación de nitrato/urea. Sin embargo la lechuga no toleró la aplicación de urea. Sorpresivamente el pH de la solución disminuyó más en la especie que mejores resultados produjo, lo que significa que es la tolerancia al pH y no el evitar el pH lo que está relacionado con la adaptabilidad a la urea en el medio de nutrición. También la absorción de cationes (Ca, Mg, K) y P fue reducida al emplear la urea en comparación con el NO_3^- , de manera similar en las tres especies, por lo que la diferencia en adaptación no se debe a la absorción nutrimental. La absorción total de nitrógeno en las tres especies se redujo en más del 50% cuando se usó urea, quizás debido a la menor cantidad de N,

solamente disponible después de la hidrólisis. La actividad de la ureasa en la raíz se incrementó significativamente sólo en las especies que no toleraron la urea. Es posible que las rutas metabólicas sean un factor importante en la determinación de la tolerancia a la aplicación de urea. Como ya se mencionó, algo de urea puede ser absorbida como una molécula intacta y después ser hidrolizada previo a la asimilación en el interior de la célula (ruta de la **ureasa**) o puede ser metabolizada directamente a alantoina por la vía del ácido alantoico (ruta sin **ureasa**). Las plantas que tienen la ruta sin **ureasa** pueden ser más tolerantes a la aplicación de urea debido a que no hay acumulación de NH_3 por la hidrólisis. Para plantas con la ruta de la **ureasa**, el nivel de actividad de la **ureasa** en la planta tiene una relación inversa con la tolerancia a la urea, ya que a mayor actividad de la **ureasa** se produce mayor acumulación de NH_3 resultando en una toxicidad (Harper, 1984; Luo *et al.*, 1993). En este estudio la baja actividad de la **ureasa** en la espinaca puede explicar parcialmente la adaptación a la urea (Luo *et al.*, 1993).

En condiciones de campo se ha atribuido que la mayor toxicidad de la urea respecto al sulfato de amonio se debe a que en la zona de aplicación de la urea se incrementa considerablemente el pH (arriba de 8) y bajo esta condición existe mayor formación de NH_3 (que es tóxico) que en pH ácido, el cual resulta de la aplicación del sulfato de amonio (Goyal y Huffaker, 1984).

Nissen (1989) al evaluar en cultivo sin suelo, el efecto que tienen algunos tratamientos con acción biocida (irradiación gamma, tolueno, autoclave) y algunos fungicidas en la hidrólisis de la urea y la nitrificación, encontró que el tolueno y la irradiación no tienen efecto en la hidrólisis de la urea, pero el autoclave sí la inhibe. Así mismo la autoclave y el tolueno inhiben la acumulación de NO_2^- . En cuanto al efecto de los fungicidas se encontró que éstos retardaron la hidrólisis de la urea, pero el efecto fue transitorio (de 24 a 72 hrs). El efecto de los fungicidas sobre la acumulación de NO_2^- fue variable, algunos la inhibieron mientras que otros la promovieron (Nissen, 1989).

Los resultados anteriores ponen de manifiesto que la aplicación de fungicidas pueden tener efectos importantes en la transformación del N en cultivos sin suelo, lo que podría tener efectos importantes en el crecimiento de la planta. En particular la supresión de la oxidación del NH_4^+ y la acumulación del NO_2^- puede conducir a una toxicidad para las

plantas. La insensibilidad de la hidrólisis de la urea al tolueno y a la irradiación gamma indica que el proceso es catalizado preferentemente por la actividad de la **ureasa** exocelular. Estos tratamientos debieron tener poco efecto en la **ureasa** exocelular mientras que afectaron a los microorganismos vivos. El efecto retardado de los fungicidas sobre la hidrólisis de la urea indica que los hongos u otros microorganismos pueden tener alguna contribución. La desaparición de la urea en las muestras de la autoclave indica que algo de hidrólisis puede ser independiente de la actividad biológica. En resumen, los resultados anteriores ponen de manifiesto que en cultivo sin suelo existe también la hidrólisis de la urea y la nitrificación del NH_4^+ y están involucrados microorganismos tanto quimiótrofos como heterótrofos (Nissen, 1989). Sin embargo, Griffith y Streefer (1994) no detectaron NO_3^- en la solución cuando sólo se usó NH_4^+ como fuente de N, además tampoco se encontraron NO_3^- en el tejido del ryegrass cuando crecieron en solución con sólo NH_4^+ .

Se ha reportado que existe una gran actividad de la **ureasa** en la rizósfera donde hay una gran actividad microbiana y puede ser secretada por las raíces de las plantas. La actividad de la **ureasa** en la rizósfera varía dependiendo de la especie de planta y de la estación del año. La velocidad de la hidrólisis de la urea es probablemente más alta cuando los niveles de humedad son óptimos. Sin embargo, debido a que con la aplicación de la urea se incrementa el pH y a la presencia de NH_3 después de cierto tiempo de estarse llevando a cabo la hidrólisis, la acción enzimática de la **ureasa** puede ser inhibida (Tisdale *et al.*, 1993). La absorción de la urea por la raíz, es por lo general más lenta que la absorción del NH_4^+ y NO_3^- aún cuando en el medio exista más urea, aunque su absorción es independiente de la concentración del NO_3^- , pero podría ser competitivamente inhibida por el NH_4^+ ; lo que al parecer se debe a que está involucrado el mismo sitio y/o mecanismo en su absorción. Las evidencias sugieren que la urea puede ser absorbida de manera intacta por la raíz, ya sea de manera pasiva o activa dependiendo de la especie de planta. En frijol, la absorción fue inhibida por falta de aereación y por el dinitrofenol, lo que sugiere una absorción activa. Pero en maíz, no se encontró influencia en la absorción cuando se aplicó cianida de potasio, dinitrofenol, y azida de sodio, lo que sugiere una absorción pasiva (Harper, 1984).

En resumen el uso de diferentes fuentes y proporciones de nitrógeno produjo los efectos siguientes: **a)** Durante la etapa vegetativa, la relación 50/50 de NO_3^- /urea y sólo urea, propiciaron el mayor desarrollo de la planta, mientras que los tratamientos de sólo NO_3^- ó NH_4^+ el menor desarrollo; **b)** Durante la etapa reproductiva I, el tratamiento de sólo urea y la relación 80/20 de NO_3^- /urea, produjeron los valores más altos en peso fresco y seco de las distintas partes de la planta, mientras que los valores más bajos se encontraron con los tratamientos de sólo NO_3^- ó NH_4^+ ; **c)** Al momento de la cosecha, los mejores resultados se encontraron con las relaciones 80/20 de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ y NO_3^- /urea, y 50/50 de NO_3^- /urea, aunque el tratamiento de sólo NO_3^- ó urea dió resultados satisfactorios; **d)** En el tratamiento de sólo NO_3^- se encontró el menor contenido nutrimental (N, P, K, Ca, Mg) en el tejido, tanto en la etapa vegetativa como reproductiva; **e)** La menor producción en base a peso fresco y seco de hojas, tallo y total, se encontró en los tratamientos de 100 % y 50 % de NH_4^+ , mientras que las características de flor (altura de tallo, vida en florero, diámetro de capítulo, peso fresco y seco) sólo fueron significativamente más bajas en el tratamiento de sólo NH_4^+ ; **f)** La vida en florero y altura de planta fueron superiores en los tratamientos donde había mas NO_3^- .

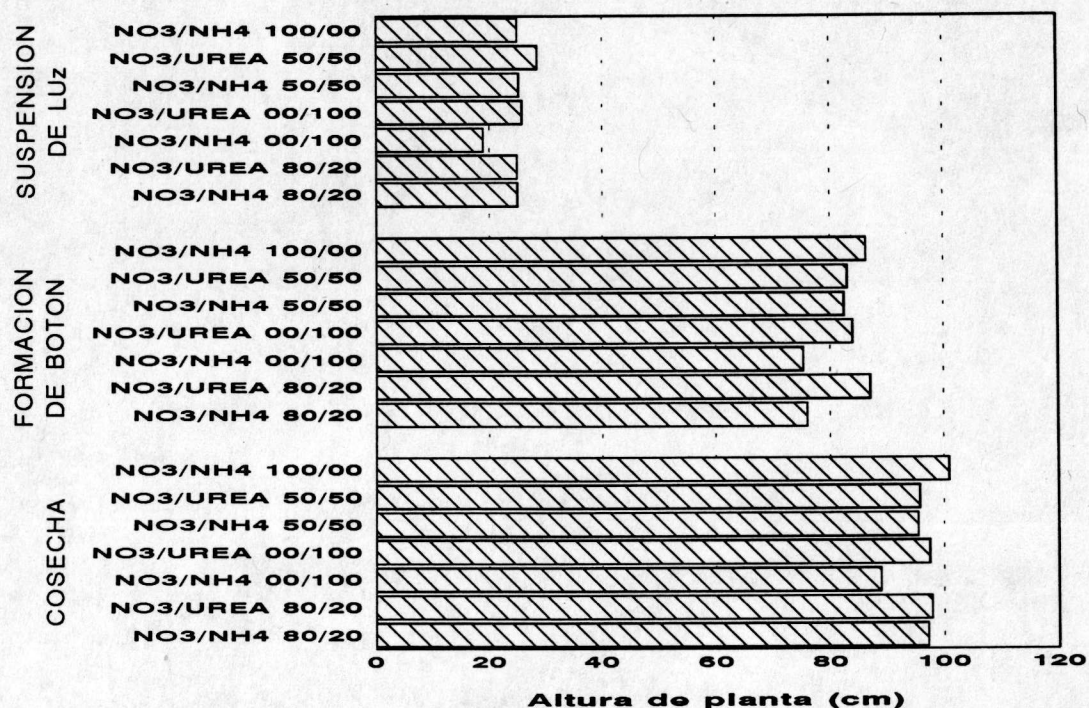


Fig.14 Efecto de la fuente y proporción de nitrógeno sobre la altura de planta durante el crecimiento y desarrollo

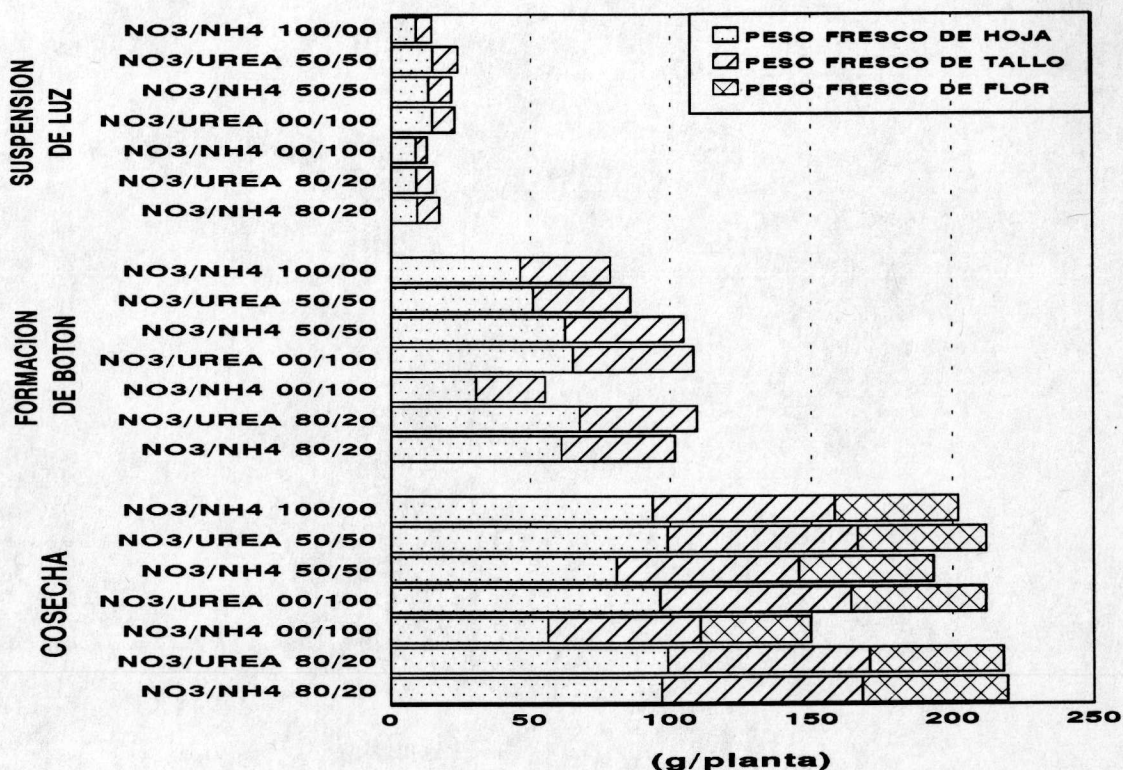


Fig.15 Efecto de la fuente y proporción de nitrógeno sobre el peso fresco de las plantas

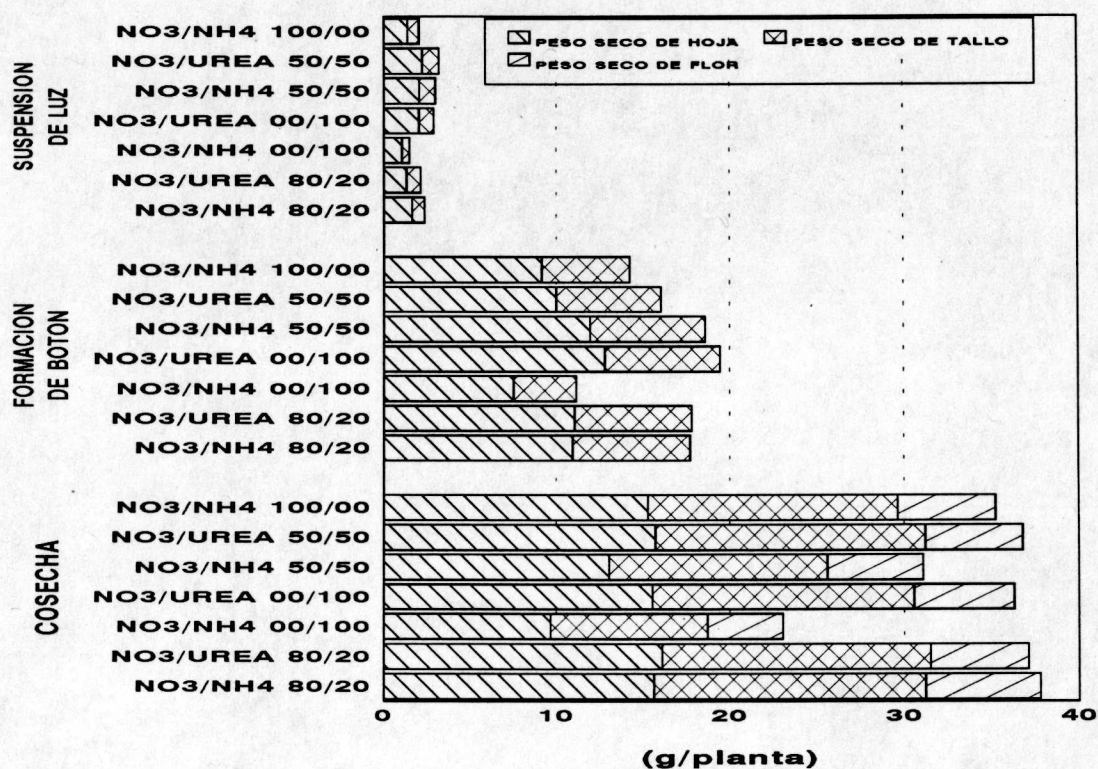


Fig.16 Efecto de la fuente y proporción de nitrógeno sobre la producción de materia seca de las plantas

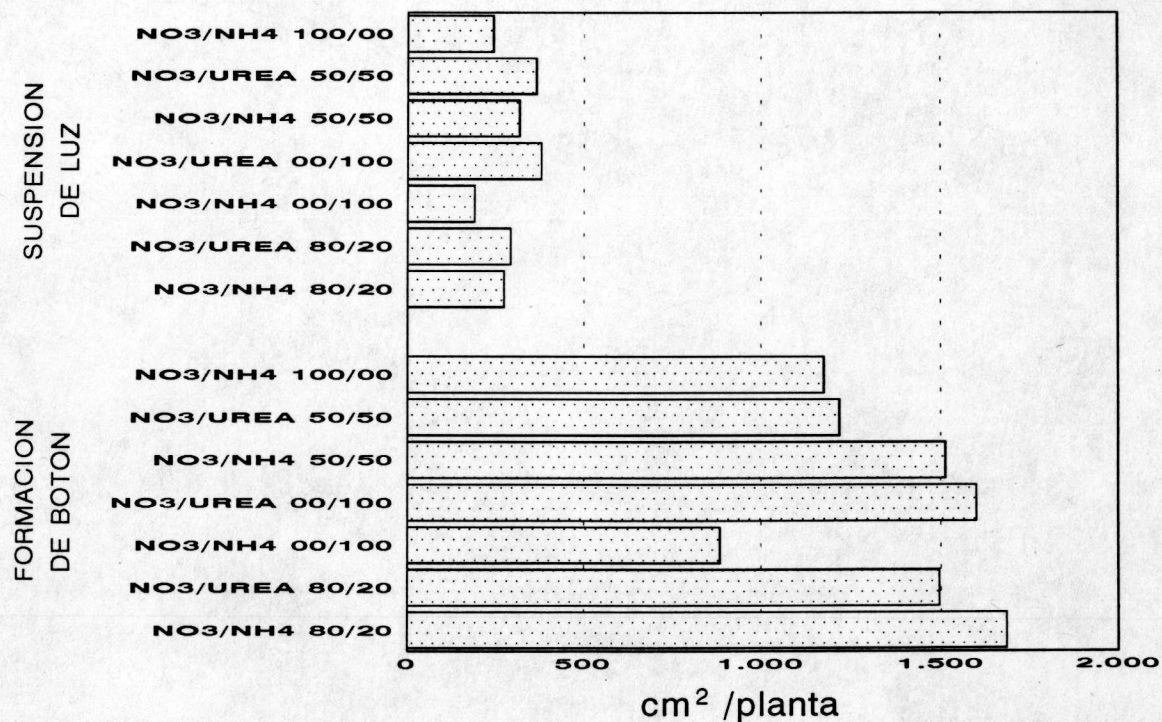


Fig.17 Efecto de la fuente y proporción de nitrógeno sobre la expresión de área foliar durante las dos primeras etapas de desarrollo de la planta

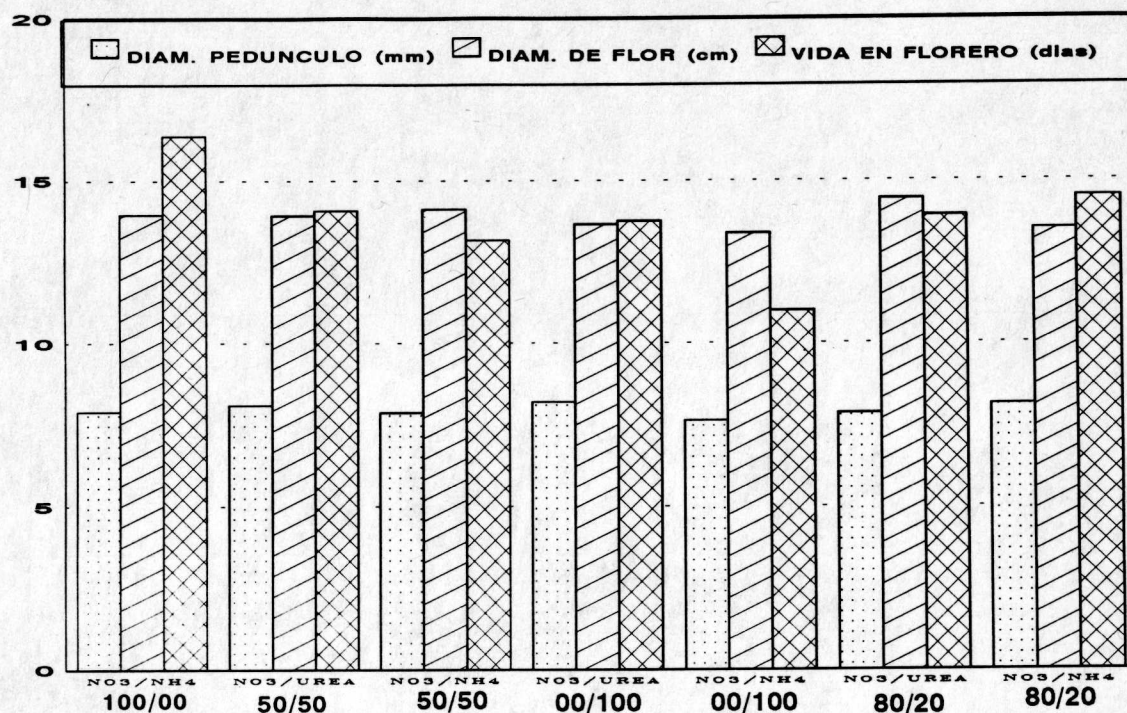


Fig.18 Efecto de la fuente y proporción de nitrógeno sobre algunas características de la flor

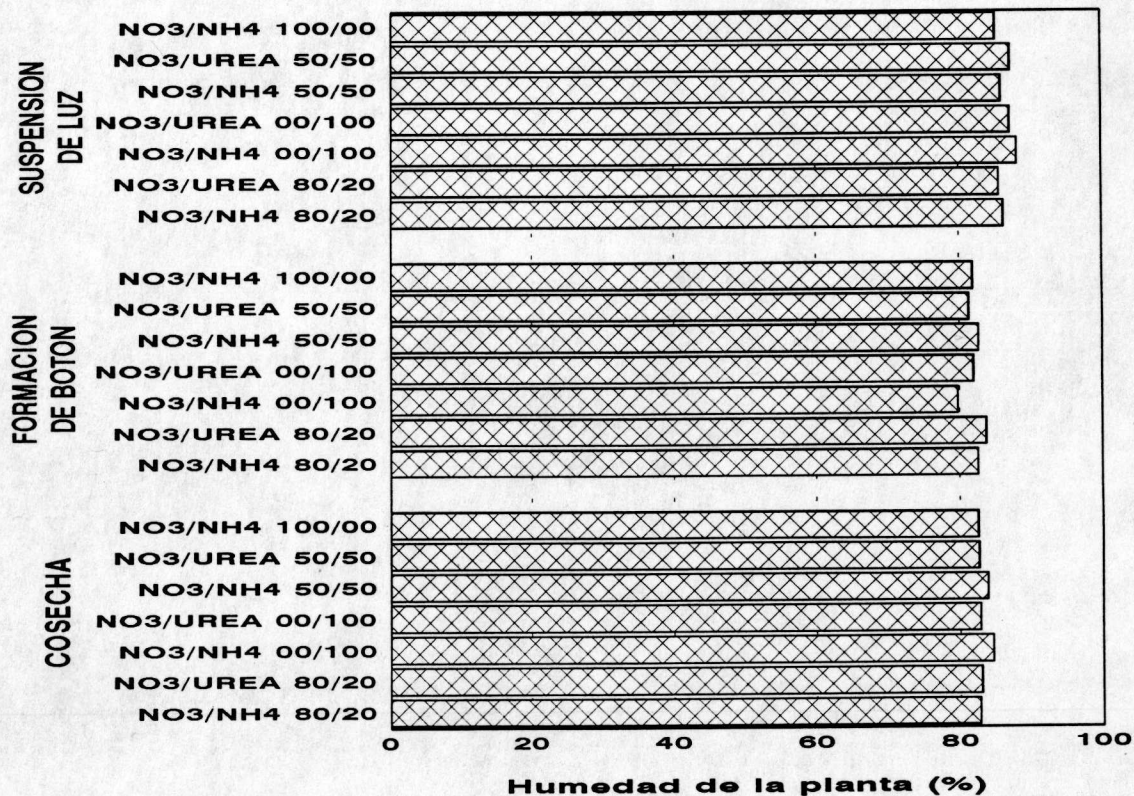


Fig.19 Efecto de la fuente y proporción de nitrógeno sobre el porcentaje de humedad durante el desarrollo de la planta

VI. CONCLUSIONES

1. En el sistema hidropónico utilizado (sistema abierto), la reducción simultánea hasta en un 50% de concentración de macronutrientes en la solución nutritiva, durante diferentes etapas del cultivo de crisantemo, no produjo efectos negativos sobre el crecimiento y desarrollo de la planta, lo que soporta la hipótesis 1.
2. La disminución en concentración de macronutrientes hasta 25% de la solución nutritiva, no se manifestó en contenidos considerados deficientes de N, P, K, Ca y Mg en el tejido vegetal, lo que es consistente con la hipótesis 2.
3. La expresión del crecimiento y desarrollo de las plantas a través de los parámetros evaluados, fue más sensible a la disminución en concentración de la solución nutritiva de P y K en relación a los demás macronutrientes, lo que apoya la hipótesis 3.
4. La disminución simultánea en la concentración de macronutrientes en la solución nutritiva produjo efectos diferentes en los distintos órganos de la planta, pero no disminuyó la calidad de la flor; por el contrario, se mejoraron algunas características como longitud de tallo y vida en florero cuando la reducción en concentración llegó al 75% (25% de M), por lo que no se puede sustentar la hipótesis 4.
5. La forma en que se suministró el nitrógeno (nitrato, amonio, urea) al medio de nutrición durante las distintas etapas del cultivo, afectó de manera diferente al crecimiento y desarrollo de las plantas, por lo que no es aceptable la hipótesis 5.
6. Durante las diferentes etapas del cultivo, la combinación de nitrato con urea y en segundo lugar nitrato con amonio se tradujo en un mejor crecimiento y desarrollo de las plantas, que cuando cada fuente fue aplicada al 100%, lo que es consistente con la hipótesis 6.

VII. RECOMENDACIONES

1. Sería conveniente realizar experimentos donde en cada etapa de desarrollo del cultivo, se evalúen diferentes concentraciones de macronutrientes en la solución nutritiva, lo que ayudará a precisar las necesidades específicas durante el ciclo de vida de la planta y determinar la mejor concentración que aumente la eficiencia de los fertilizantes.
2. En la literatura se reporta que las respuestas de las plantas a la aplicación de diferentes fuentes de nitrógeno pueden variar dependiendo de las condiciones climáticas, sobre todo luz y temperaturas; por lo que es conveniente evaluar estos factores en futuros experimentos, considerando la variación que existe durante las diferentes épocas del año.
3. En este experimento se observó que la reducción relativa en la concentración de nitrógeno, en relación a todos los macronutrientes, fue de las que menos afectó el crecimiento y desarrollo de las plantas. Se menciona en la literatura que la toxicidad de NH_4^+ disminuye cuando se usan bajas concentraciones, por lo que es recomendable evaluar fuentes de nitrógeno usando bajas concentraciones en la solución nutritiva.
4. En el cultivo de crisantemo en sistemas hidropónicos abiertos, se puede reducir la concentración de macronutrientes en la solución hasta en un 50%, y es posible y conveniente sustituir al NO_3^- con un 25 a 50% de urea ó NH_4^+ , aunque no se han ensayado estas combinaciones a bajas concentraciones de la solución nutritiva.

VIII. BIBLIOGRAFIA

- Adams, P. 1992. Crop nutrition in hydroponics. *Acta Horticulturae* 323:289-297
- Agreen, G. I. 1988. Ideal nutrient productivities and nutrient proportions in plant growth. *Plant Cell. Environ.* 11:613-620
- Alexander, K. G., Miller M. H. y E. G. Beauchamp. 1991. The effect of an NH_4^+ -enhanced nitrogen source on the growth and yield of hydroponically grown maize (*Zea mays* L.). *J. Plant. Nutr.* 14:31-44
- Andreas, M. 1986. The partitioning of nitrate assimilation between root and shoot of higher plants. *Plant Cell. Environ.* 9:511-519
- Anghinoni, I., Baligar V. C. y S. A. Barber. 1981. Growth and uptake rates of P, K, Ca, and Mg in wheat. *J. Plant Nutr.* 6:923-933
- Arbos, L. A. M. 1999. El crisantemo: Cultivo, multiplicación y enfermedades. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.
- Arnozis, P. A. y G. R. Findenegg. 1986. Phosphoenolpyruvate carboxylase activity in plants grown with either NO_3 or NH_4 as inorganic nitrogen source. *J. Plant Physiol.* 132:23-27
- Asher, C. J. y D. G. Edwards. 1982. I.3. Modern Solution Culture Techniques. En: A. Lauchli y R. L. Breleski (eds). *Inorganic Plant Nutrition. Encyclopedia of Plant Physiology. New Series. Volume 15 A.* Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York Tokyo.
- Asher, C. J. y P. G. Ozanne. 1967. Growth and potassium content of plants in solution cultures maintained at constant potassium concentrations. *Soil Sci.* 103:155-162
- Baker, A. D. y J. L. Hill. 1988. Introduction and general principles. En: A. D. Baker y J. L. Hill (eds). *Solute Transport in Plant Cells and Tissues.* Longman Scientific & Technical. New York.
- Baligar, V. C. 1984. Effective diffusion coefficient of cations as influenced by physical and chemical properties of selected Indiana soils. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 15:1367-1376
- Barber, L. K. 1994. Ammonium/nitrate ratio effects on dry matter partitioning and radiation use efficiency of corn. *J. Plant Nutr.* 17(5):869-882
- Barber, A. S. 1984a. Nutrient balance and nitrogen use. En: D. R. Hauck (ed). *Nitrogen in Crop Production.* ASA. CSSA. SSSA. Madison, Wisconsin. USA.
- Barber, A. S. 1984b. *Soil nutrient availability: A Mechanistic Approach.* John Wiley & Sons. Toronto.

Below, F. E. y J. A. Heberer. 1990. Time availability influences mixed-nitrogen-induced increased in growth and yield wheat. *J. Plant Nutr.* 13:667-676

Benton, J. J., Wolf B. y H. A. Mills. 1991. *Plant Analysis Handbook. A practical sampling, preparation analysis and interpretation guide.* Micro-Macro Publishing, Inc. Athens, Georgia.

Bidwuell, R. G. C. 1979. *Fisiología Vegetal.* AGT Editor. México.

Bloom, J. A., Sukrapanna, S. S. y R. L. Warner. 1992. Root respiration associated with ammonium and nitrate absorption and assimilation by barley. *Plant Physiol.* 99:1294-1301

Botella, A. M., Cerda A. y V. Martinez. 1994. Nitrate and ammonium uptake by wheat seedlings as affected by salinity and light. *J. Plant Nutr.* 17(5):839-850

Boulding, D. R. 1989. A multiple ion uptake model. *J. Soil Sci.* 40: 309-319

Boulding, D. R., Miyasaka, S. C., y D. L. Grunes. 1992. Cation acumulation by winter wheat forage II. Correlation whit multi-ion model. *J. Plant Nutr.* 15: 1081-1097

Broschat, K. T. 1995. Fertilization rate affects production and postharvest quality of *Tapeinochilus ananassae* flowers. *HortScience* (5):1023-1014

Canvin, D. T. 1990. Photorespiration and CO₂-concentrating mechanism. En: D.T. Dennis y D. H. Turpin (eds). *Plant Physiology, Biochemistry and Molecular Biology.* Longman Scientific-Technical, Singapore.

Clarkson, T. D. 1988. Movements of ions across roots. En: A. D. Baker y J. L. Hall (eds). *Solute Transport in Plants Cells and Tissues.* Longman Scientific & Technical. New York.

Classen, N., Syring, K. M. y A Junk. 1986. Verification of the mathematical model by simulating potassium uptake from soil. *Plant and Soil* 95: 209-220

Davtyan, G. S. 1980. Classification of Hydroponic Methods of Plant Production. *Proccedings 5th Int. Congr. Soilless Culture*, 45-52. ISOSC, Wageningen.

Dean-Drummond, E. C. 1990. Biochemical and biophysical aspects of nitrate uptake and its regulation. En: Y. P. Abrol (ed). *Nitrogen in Higher Plants.* Research Studies Press. LTD. Jhon Wiley & Sons, Inc.

Drew, M. C. y L. R. Saker. 1984. Uptake and long-distance transport of phosphate and potassium and chloride in relation to internal ion concentration in barley: Evidence of non allosteric regulation. *Planta* 160:500-507

Elliott, G. C. 1988b. Influence of fertigation method on the development of urea hydrolytic activity in soilless potting media. *HortScience.* 23(6)

Elliott, G. C. 1989. Effects of inhibitors of microbial activity on urea hydrolysis and nitrification in a soilless potting medium. *Acta Horticulturae*. 238:173-180

Elliott, G. C. 1986. Urea hydrolysis in potting media. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 111:862-866

Elliott, G. C. 1988a. Rapid determination of urea hydrolysis and nitrification in potting media. *HortScience*. 23(6)

Elliott, G. C. y P. V. Nelson. 1983. Relationship among nitrogen accumulation, nitrogen assimilation and plant growth in chrysanthemum. *Physiol. Plant.* 57:250-259

Epstein, E. 1976. Kinetics of ion transport and the carrier concept. In U. Luttge y M. G. Pitman (eds). *Transport in Plants. Encyclopedia of Plant Physiology, New Series, Vol. 2B.* Springer-Verlag, Berlin.

Fageria, N. K., Baligar V. C. y A. C. Jones. 1991. *Growth and Mineral Nutrition of Field Crops.* Marcel Dekker Inc. New York.

FAO. 1990. Soilless culture for horticultural crop production. *Plant production and protection. Paper 101.* Roma.

Findenegg, G. R., Neuman J. A. y P. A. Arnozis. 1989. Effect of external pH and Cl on the accumulation of NH_4 -ions in the leaves of sugar beet. *J. Plant Nutr.* 12:593-601

Fohse, D., Classen, N. y A. Jungk. 1991. Phosphorus efficiency of plants. II. Significance of root radius, root hairs and cation-anion balance for phosphorus influx in seven plant species. *Plant and Soil* 132: 261-272

Foster, R. G. 1981. The ultrastructure and histochemistry of the rhizosphere. *New Phytologist*. 89:263-273

Femsom, D. S., Thomson, R. G. y C. D. Caldwell. 1990. Ammonia gas temporarily interrupts translocation of ^{14}C photosynthate in sunflower. *J. Exp. Bot.* 41:11-14

García, E. 1986. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen para adaptarlos a las condiciones de la república mexicana. UNAM, México.

Gentry, L. E., Wang X. T. y F. E. Below. 1989. Nutrient uptake by wheat seedling that differ in response to mixed nitrogen nutrition. *J. Plant Nutr.* 12:363-373

Glass, M. D. A. 1990. Ion Absorption and Utilization: The Cellular Level. En: V. C Baligar y R. R. Duncan (eds). *Crops as Enhancer of Nutrient Use.* Academic Press Inc. San Diego, California.

Glass, M. D. A. y M. D. Siddiqui. 1984. The control of nutrient uptake rates in relation to the inorganic composition of plants. *Adv. Plant Nutr.* 1:103-147

Goyal, S. S. y R. C. Huffaker. 1984. Nitrogen toxicity in palnts. En: R. D. Hauck (ed). Nitrogen in Crop Production. ASA, CSSA. SSSA. Madison, Wisconsin. USA.

Goyal, S. S., Huffaker, R. C. y O. A. Lorenz. 1982. Inhibitory effect of ammoniacal nitrogen on growth of radish plants. II. Investigation on the possible causes of ammonium toxicity to radish plants and its reversal by nitrate. J. Am. Soc. Hortic. Sci. 107:130-135

Griffith, M. S. y D. J. Streeter. 1994. Nitrate and ammonium nutrition in ryegrass: Changes in growth and chemical composition under hydroponic conditions. J. Plant Nutr. 17(1):71-81

Guerrero, M. G., Vega, J. M. y M. Losada. 1981. The assimilatory nitrate-reducing system and its regulation. Ann. Rev. Plant Physiol. 32:169-204

Gunes, A., Post K. N. W., Kirkby A. E. y M. Aktas. 1994. Influence of partial replacement of nitrate by amino acid nitrogen or urea in the nutrient medium on nitrate accumulation in NFT grown winter lettuce. J. Plant Nutr. 17(11):1929-1938

Hageman, H. R. 1984. Ammonium versus nitrate nutrition of higher plants. En: D. R. Hauck (ed). Nitrogen in Crop Production. ASA. CSSA. SSSA. Madison, Wisconsin. USA.

Hagin, J., Olsen J. S. y A. Shaviv. 1990. Review of interaction of ammonium-nitrate and potassium nutrition of crops. J. Plant Nutr. 13:1211-1226

Hall, N. P., J. Reggiani, J. Franklin, A. J. Keys y P. J. Lea. 1984. An investigation into the interaction between nitrogen nutrition, photosynthesis and photorespiration. Photosynthesis Res. 5:361-369

Harper, E. J. 1984. Uptake of organic nitrogen forms by roots and leaves. En: D. R. Hauck (ed). Nitrogen in Crop Production. ASA. CSSA. SSSA. Madison, Wisconsin. USA.

Haynes, R. J. 1986. Mineral nitrogen in the plant-soil-system. Academic Press Inc. Orlando, Florida.

Hetch, U. y H. Mohr. 1990. Factors controlling nitrate and ammonium accumulation in mustard (*Sinapis alba*) seedlings. Physiol. Plant. 78:379-387

Hoffland, E. 1992. Quantitative evaluation of the role of organic acid exudation in the mobilization of rock phosphate by rape. Plant and Soil. 140:279-289

Hoffland, E., Findeneg G. R., Leffelaar P. A. y A. J. Nelemans. 1990. Use of a simulation model to quantify the amount of phosphate released from rock phosphate by rape. Soil Sci. 112:170-175

Huppe, C. H., Nanlerverghe C. G. y D. H. Turpin. 1992. Evidence for activation of the oxidative pentose phosphate pathway during photosynthetic assimilation of NO_3^- but not NH_4^+ by a green alga. Plant Physiol. 100:2096-2099

Imad, A., Kafkafi U. Sugimoto Y. y S. Inanaga. 1994. Response of sand-grown tomato supplied with varying ratios of nitrate/ammonium to constant and variable root temperatures. J. Plant Nutr.. 17(11):2001-2024

Ingestad, T. 1987. New Concepts on Soils Fertility and Plant Nutrition as Illustrated by Research on Forest Trees and Stands. Geoderma (40):237-252

Ingestad, T. 1981. Nutrition and growth of birch and grey alder seedlings in low conductivity solutions and varied relative rates of nutrient addition. Physiol. Plant. (52):454-466

Ingestad, T. 1982. Relative addition rate and external concentration; Driving variables used in plant nutrition research. Plant Cell Environ. (5):443-453

Ingestad, T. y G. Y. Agreen. 1992. Theories and methods on plant nutrition and growth. Physiol. Plant. (84):177-184

Jensen, M. H. y W. L. Collins. 1985. Hydroponic vegetables production. Hort. Rev. 7:483-558

Joy, K. W. 1988. Ammonia, glutamine and asparagine: A carbon-nitrogen interface. Can. J. Bot. 66:2103-2109

Justin, K. M. R. y M. K. L. Pang. 1992. Estimation of ammonium ion distribution between cytoplasm and vacuole using nuclear magnetic resonance spectroscopy. Plant Physiol. 100:1571-1574

Kelly, C. W. 1990. Minimal use of synthetic fertilizer in vegetable production. HortScience. 25(2):168-169

Kelly, J. M., Barber, S. A. y G. S. Edwards. 1992. Modeling magnesium, phosphorus and potassium uptake by loblolly pine seedling using a Ba-Cushman approach. Plant and Soil 139: 209-218

Kimberly, A. W. y P. V. Nelson. 1992. Growth of chrysanthemum at low, relatively steady nutrient levels in a commercial-style substrate. HortScience. 27(8):877-880

King, J. J, Peterson, L. A y D. P. Stimart. 1995. Ammonium and Nitrate Uptake throughtout Development in *Dendranthema x grandiflorum*. HortScience 30(3):499-503

Kochian, L. V. y W. J. Lucas. 1983. Potassium transport in corn roots. II. The significancy of root periphery. Plant. Physiol. 73:208-215

Kofranek, A. 1992. Cut crysanthemum. En: R. A. Laeson (ed). Introduction to floriculture. 2nd ed. Academic, New York.

- Kuman, A. P. y Y. P. Abrol. 1990. Ammonia assimilation in Higher plants. En: Y. P. Abrol (ed). Nitrogen in Higher Plants. Research Studies Press LTD. Jhon Wiley & Sons Inc.
- Lara, M., Porta, H., Padilla, J., Folch, J. y F. Sánchez. 1984. Heterogenety of glutamine shyntetase polypeptides in *Phaseolus vulgaris* L. Plant Physiol. 76:1019-1023
- Layzell, B. D. 1990. N_2 fixation, NO_3^- reduction and NH_4^+ assimilation. En: T. D. Dennis y H. D. Turpin (eds). Plant Physiology, Biochemistry and Molecular Biology. Longman Scientific & Technical. England.
- Lawlor, D. W. 1991. Concepts of nutrition in relation to cellular process and environment. En: J. R. Porter y D. W. Lawlor (eds). Plant Growth: Interaction with nutrition and environment. Cambridge Universiry Press. Great Britain.
- Lea, J. P. 1993. Nitrogen Metabolism. En: J. P. Lea y C. R. Leegood (eds). Plant Biochemistry and Molecular Biology. Jhon Wiley & Sons. Chichester, England.
- Lee, R. B. 1980. Sources of reductant to nitrate assimilation in non-photosynthetic tissue: A review. Plant Cell Environ. 3:65-90
- Lee, R. B. y R. G. Ratcliffe. 1983. Phosphorus nutrition and the intracellular distribution of inorganic phosphate in pea roots tips: A cuantitative study using ^{31}P -NMR. J. Exp. Bot. 34:1222-1244
- Leigh, R. A. y R. Storey. 1991. Nutrient comparmentation in cells and its relevance to the nutrition of the whole plant. En: J. R. Porter y D. W. Lawlor (eds). Plant Growth: Interaction with nutrition and environment. Cambridge University Press. Great Britain.
- Leigh, R. A. y R. G. Wyn Jones. 1984. A hypothesis relating the critical potasium concentration for growth to the distribution and functions of this ion in the plant cell. New Phytol. 97:1-13
- Lips, S. H., Leidi O. E., Silberbush M., Soareg M. Y. M. y O. E. M. Lewis. 1990. Physiological aspects of ammonium and nitrate fertilization. J. Plant Nutr. 13:1271-1289
- Liu, L y B. J. Shelp. 1993. Nitrogen partitioning in greenhouse-grown broccoli in response to varying $NH_4^+ : NO_3^-$ ratios. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 24(1&2):45-60
- Luo, J., Lian Z. y X. Yan. 1993. Urea tr Porter, transformation and the adaptability of thre leafy vegetables to urea as a source of nitrogen in hydroponic culture. J. Plant Nutr. 16(5):797-812
- Luque, A. 1981. Physical and physicochemical properties of the volcanic materials use in hydropony. Acta Horticulturae 126:51-56
- Marschner, H. 1986. Mineral nutrition of Higher plants. Academic Press. London.

Marschner, H. 1991. Plant-soil relationships: Acquisition of mineral nutrients by roots from soils. En: J. R. Porter y D. H. Lawlor (eds). Plant growth: Interactions with nutrition and environment. Cambridge University Press. Great Britain.

Marshall, B. y J. R. Porter. 1991. Concepts of nutritional and environment interactions determining plant productivity. En: J. R. Porter y D. H. Lawlor (eds). Plant growth: Interactions with nutrition and environment. Cambridge University Press. Great Britain.

Maas, E. F. y R. M. Adamson. 1980. Soilless Culture of Comercial Greenhouse Tomatoes. Acta Hort., 98:134-142

Massey, D. y G. W. Winsor. 1980. Some responses of tomatoes to nitrogen in recirculating solutions. Acta Hort. 98:127-137

Mengel, M. y E. A. Kirkby. 1987. Principles of Plant Nutrition. 4th Edition. International Potash Institute, Bern, Switzerland.

Moller, M. Y. 1993. Membranas celulares y transporte. En: J. Azcon-Bieto y M. Talon (eds). Fisiología y Bioquímica Vegetal. Editorial Interamericana-McGraw-Hill. Madrid.

Nell, A. T. 1993. Flowering Potted Plants. Prolonging Shelf Performance. Ball Publishing. Batavia Illinois, USA.

Nell, A. T. (1995). Production factors affecting the longevity and quality of flowering plants. HortScience 30 (5)

Nell, A. T., J. E. Barret y R. T. Leonard. 1989. Fertilization termination influence postharvest performance of pot crysanthemum. HortScience. 24:996-998

Niemiera, A. X. y R. D. Wright. 1986. The influence of nitrification on the medium solution and growth of Holly, Azalea and Juniper in a pine bark medium. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 111:708-712

Nissen, P. 1980. Multiphasic uptake of potassium by barley roots of low and high potassium content: Separate sites for uptake and transitions. Physiol. Plant. 48:193-200

Nobel, S. P. 1991. Physicochemical and Environmental Plant Physiology. Academic Press Inc. San Diego, California.

Oaks, A. 1994a. Efficiency of nitrogen utilization in C₃ and C₄ cereals. Plant Physiol. 106:407-414

Oaks, A. 1994b. Pimary nitrogen assimilation in higher plants and its regulation. Can. J. Bot. 72:739-750

Pickard, F. W. y P. E. H. Minchin. 1992. The inhibition of phloem translocation by ammonia. *J. Exp. Bot.* 43(246):51-54

Pilbeam, J. D. y E. A. Kirkby. 1990. The physiology of nitrate uptake. En: Y. P. Abrol (ed). *Nitrogen in Higher Plants*. Research Studies Press LTD. Jhon Wiley & Sons Inc.

Pill, W. G. y B. H. Lambeth. 1980. Effect of soil water regime and nitrogen form on blossom-end rot, yield, water relations, and elemental composition of tomato. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 105:730-734

Pitman, G. M. 1988. Whole plants. En: D. A. Baker y J. L. Hall (eds). *Solute Transport in Plant Cells and Tissues*. Longman Scientific & Technical. New York.

Raven, A. J. 1985. Regulation of pH and generation of osmolarity in vascular plants: A cost-benefit analysis in relation to efficiency of use of energy, nitrogen and water. *New Phytol.* 101:25-77

Reinink, K. 1991. Genotype x environmental interaction for nitrate concentration in lettuce. *Plant Breeding.* 107:39-49

Rengel, Z. 1993. Mechanistic simulation models of nutrient uptake: A review. *Plant and Soil* 152:161-173

Rengel, Z. y D. L. Robinson. 1992. Modeling magnesium uptake from an acid soil. I. Nutrient relationships at the soil root interface. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 54: 785-791

Resh, M. H. 1993. *Hydroponic Food Production*. Woodbridge Press Publishing Company. Santa Barbara, California.

Reuter, J. D y J. B. Robinson (eds). 1986. *Plant Analysis. An Interpretation Manual*. Inkata Press. Melbourne, Sydney.

Reyes, T., Nell A. T. y J. E. Barret. 1995. *HortScience* 30(5)

Robinson, D. 1986. Limits to nutrient inflow rates in roots and root systems. *Physiol. plant.* 68: 551-559

Rorison, I. H. 1991. Ecophysiological aspects of nutrition. En: J. R. Porter y D. W. Lawlor (eds). *Plant growth: Interactions with nutrition and environment*. Cambridge University Press. Great Briain.

Salsac, L., S. Chaillou, J. Morot-Gaudry, C. Lesaint y E. Jolivet. 1987. Nitrate and ammonium nutrition in plants. *Plnt. Physiol. Biochem.* 25:805-812

Sánchez, del C. F. 1991. Apuntes del curso Sistemas Especiales para la Producción de Hortalizas y Flores. Depto. de Fitotecnia. UACH.

Sánchez, del C. F. y E. R. Escacalante. 1989. Hidroponia: Un sistema de producción. Tercera edición. UACH. Chapingo, México.

Sandoval, V. M. 1991. Efecto de diferentes relaciones amonio/nitrato sobre el cultivo de trigo (*Triticum aestivum* L cv. Salamanca s-75). Tesis de Maestría. C.P. Montecillos, México.

Sarro, J. M., Paz M. R., Caceres D. M. y J. M. Peñalosa. 1994. Effect of calcium/potassium ratio ammonium supply on nutrition and yields of cucumber plants. *J. Plant Nutr.* 17(9):1489-1500

Schweizer, P. y K. H. Erismann. 1985. Effect of nitrate and ammonium nutrition of nonnodulated *Phaseolus vulgaris* L on phosphoenolpyruvate carboxylase and pyruvate kinase activity. *Plant. Physiol.* 78:455-458

Shaviv, A., Hazan O. Neuman P. M. y J. Hagin. 1990. Increasing salt tolerance of wheat mixed ammonium nitrate nutrition. *J. Plant Nutr.* 13:1277-1239

Shelp, B. J., Sieciechowics K., Ireland R. y K. W. Joy. 1985. Determination of urea and ammonia in leaf extracts: Application to ureide metabolism. *Can. J. Bot.* 63:1135-1140

Siddiqi, M. Y. y A. D. M. Glass. 1983. Studies of the growth and mineral nutrition of Barley varieties. I. Effects of potassium supply on the uptake of potassium and growth. *Can. J. Bot.* 61:671-678

Sinclair, T. R., T. Shiraiwa y G. L. Hammer. 1992. Variation in crop radiation-use efficiency with increased diffuse radiation. *Crop Sci.* 32:1281-1284

Sonneveld, C. 1980. Growing cucumbers and tomatoes in Rockwool. Proceedings 5th Int. Congr. Soilless Culture. ISOSC, Wageningen.

Steiner, A. A. 1976. The development of soilless culture as an introduction to the congress. Proceedings 4th Int. Congr. Soilless Culture. IWOSC, Wageningen.

Taylor, A. A. y D. C. Havill. 1981. The effect of inorganic nitrogen on the major enzymes of ammonia assimilation in grassland plants. *New Phytol.* 87:53.62

Taylor, A. A., De-Felipe, J. y D. C. Havill. 1982. Seasonal variation in nitrogen availability and utilization in an acidic and calcareous soil. *New Phytol.* 92:141-152

Tester, M. 1990. Tansley Review No. 21. Plant ion channels: Whole cell and single channel studies. *New Phytologist.* 114:305-340

Tisdale, L. S., Nelson L. W., Beaton D. J. y J. L. Havlin. 1993. Soil Fertility and Fertilizers. Fifth edition. Macmillan Publishing Company. New York.

- Tomos, D. A. y R. G. Wyn Jones. 1988. Some transport properties of cells within tissues. En: D. A. Baker y J. L. Hall (eds). *Solute Transport in Plant Cells and Tissues*. Longman Scientific & Technical. New York.
- Turpin, D. H. y H. G. Weger. 1990. Interaction between photosynthesis, respiration and nitrogen assimilation. En: D. T. Dennis y D. H. Turpin (eds). *Plant Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*. Longman Scientific & Technical. England.
- Ullrich, W. R., Larsson M., Larsson, C. M., Lesch, S. y A. Novacky. 1984. Ammonium uptake in *Lemna gibba* GI: Related membrane potential changes and inhibition of anion uptake. *Physiol. Plant.* 61:369-376
- Van der Boom, J., Steenhuizen J. W. y E. G. Steingrover. 1990. Growth and nitrate concentration of lettuce as affected by total nitrogen and chloride concentration, $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ ratio and temperature of recirculating nutrient solution. *HortScience*. 65(3):309-321
- Vance, C. P. y S. M. Griffith. 1990. The biology of nitrogen metabolism. En: T. D. Dennis y H. D. Turpin (eds). *Plant Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*. Longman Scientific & Technical. England.
- Vetanovetz, R. P. y J. C. Peterson. 1987a. The effects of plant root growth on the fate of urea in sphagnum peat moss as affected by lime rate. *HortScience*. 22
- Vetanovetz, R. P. y J. C. Peterson. 1987b. Urease activity and pH changes in a peat moss-based potting medium as influenced by lime source and lime rate following the addition of urea. *J. Plant Nutr.* 10:1889-1896
- Vien, H. C. 1990. Sustainable commercial vegetable production with minimal use of synthetic fertilizers and pesticides: A postlude. *HortScience*. 25(2):170-171
- Wallsgrave, R. M., Keys, A. J., Lea, P. y B. J. Mifflin. 1983. Photosynthesis, photorespiration, and nitrogen metabolism. *Plant Cell Environ.* 6:301-309
- Wedding, T. R., Dole, P. Chardot, P. T. y Min-Xian Wu. 1992. Inactivation of maize phosphoenolpyruvate carboxylase by urea. *Plant Physiol.* 100:1366-1368
- Weger, H. G. y D. H. Turpin. 1989. Mitochondrial respiration can support NO_3^- and NO_2^- reduction during photosynthesis: Interaction between photosynthesis, respiration, and N assimilation in the N-limited green alga *Selenastrum minutum*. *Plant Physiol.* 89:409-415
- Wild, A., L. H. P. Jones y J. H. Macduff. 1989. Uptake of mineral nutrients and crop growth: The use of flowing nutrient solutions. *Advances in Agronomy* (41):171-219
- Willits, D. H., Nelson P. V., Peet M. M., M. A. Depa y J. S. Kuehny. 1992. Modeling nutrient uptake in chrysanthemum as a function of growth rate. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 117:769-774

Woodson, W. R. y J. W. Boodley. 1983. Accumulation and partitioning of nitrogen and dry matter during the growth of chrysanthemum. HortScience 18:196-197

Wright, R. D. 1987. Nitrogen availability from urea in pine bark medium. HortScience. 22:70-72

Yamaya, T. y A Oaks. 1987. Synthesis of glutamate by mitochondria an anaplerotic function for glutamate dehydrogenase. Physiol. Plant. 70:749-756

Zornoza, P., Caselles J. y O. Carpena. 1989. Effect of $\text{NO}_3:\text{NH}_4$ ratio and light intensity of nitrogen partitioning in pepper plants. J. Plant Nutr. 12:307-316.