

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**



TESIS DOCTORAL

**Estudio de la incidencia del boro en la nutrición de las  
plantas de tomate, rendimientos y calidad de los frutos**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR  
PRESENTADA POR

**María Trinidad Piñero Muñoz**

DIRECTOR:

**Carlos Cadahía López**

Madrid, 2015

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE



5322341984

T1  
543  
Piñ

ESTUDIO DE LA INCIDENCIA DEL BORO EN LA NUTRICION DE LAS  
PLANTAS DE TOMATE, RENDIMIENTOS Y CALIDAD DE LOS FRUTOS

MEMORIA

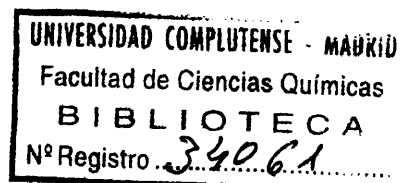
que para optar al Grado de Doctor en Ciencias Químicas

presenta

MARIA TRINIDAD PIÑERO MUÑOZ

b 16537129

i 33947314



Madrid, 1975

Mi gratitud más sincera al Dr. D. Juan-Antonio Pérez Bustamante, Profesor Agregado de Química Analítica de la Facultad de Ciencias de la Universidad Complutense, por apadrinar esta Tesis Doctoral.

De igual modo mi profundo agradecimiento al Dr. e Investigador Científico D. Carlos Cadahía López por su inestimable labor de dirección.

También quiero expresar mi más sincera gratitud al Dr. y Prof. de Investigación D. Valentín Hernando Fernández, por sus valiosísimas ideas y sugerencias.

Mi agradecimiento a la Dra. e Investigador Científico Doña M<sup>ª</sup> Rosario De Felipe Antón y a la Dra. y Colaborador Científico Doña M<sup>ª</sup> del Carmen Polo Sánchez, así como a tdo el Departamento de Fertilidad de Suelos y Nutrición Vegetal del Instituto de Edafología y Biología Vegetal del C. S. I. C., por su inestimable ayuda.

## INDICE GENERAL

	<u>Página</u>
A. INTRODUCCION.....	1
-Problemática actual de la Nutrición Vegetal. Justificación del trabajo realizado.....	2
-Antecedentes bibliográficos.....	8
-Fines que se pretenden en el estudio propuesto.....	17
B. PARTE EXPERIMENTAL.....	20
I. <u>Condiciones de cultivo en medio controlado</u> .....	21
1. Características del invernadero.....	22
2. Soluciones nutritivas empleadas.....	25
3. Semilleros.....	27
4. Trasplante.....	30
II. <u>Metodologías analíticas</u> .....	31
1. Análisis de savia.....	32
1. Elección de la muestra más representativa y corte del metabolismo.....	34
2. Extracción, filtración y conservación.....	35
3. Desproteínización.....	35
4. Fraccionamiento.....	36
5. Determinación de elementos minerales y orgánicos...	36
6. Determinación de aminoácidos. Preparación y análisis de la muestra.....	39

	<u>Página</u>
7. Determinación de glúcidos. Preparación de la muestra..	41
8. Inversión de glúcidos no reductores.....	41
9. Determinación de glúcidos reductores.....	42
10. Determinación de ácidos orgánicos.....	50
2. Análisis foliar.....	51
3. Análisis de fruto.....	51
1. Determinación de glúcidos. Preparación de la muestra y análisis.....	51
2. Determinación de ácidos orgánicos. Preparación de la muestra y análisis.....	52
3. Determinación de aminoácidos. Preparación de la mues- tra y análisis.....	52
4. Determinación de vitamina C. Preparación de la muestra y análisis.....	52
III. <u>Experimentos orientadores</u> .....	54
1. Síntomas visuales.....	57
2. Cortes histológicos.....	61
3. Análisis de macroelementos.....	64
1. Savia.....	64
2. Hoja.....	68
4. Análisis de savia frente al foliar.....	89
IV. <u>Experimentos planteados estadísticamente</u> .....	90
1. Niveles de referencia de deficiencia y toxicidad en Boro.	93
2. Indices de crecimiento.....	94

3. Incidencia del Boro en la absorción y transformación de macroelementos.....	96
1. Nitrógeno.....	97
2. Fósforo.....	115
3. Potasio.....	127
4. Calcio.....	131
5. Sodio y Magnesio.....	135
4. Incidencia del Boro en glúcidos, ácidos orgánicos y aminoácidos contenidos en la savia y fruto.....	135
1. Glúcidos savia.....	140
2. Glúcidos fruto.....	146
3. Acidos orgánicos savia.....	151
4. Acidos orgánicos fruto.....	154
5. Aminoácidos savia.....	155
6. Aminoácidos fruto.....	158
7. Vitamina C fruto.....	163
C. RESUMEN Y DISCUSION GENERAL.....	164
D. CONCLUSIONES.....	174
E. BIBLIOGRAFIA.....	180

A. INTRODUCCION.

## INTRODUCCION

Problemática actual de la nutrición vegetal. Justificación del trabajo realizado.

Los primeros trabajos realizados con el fin de diagnosticar el estado de nutrición de las plantas consistían en la determinación global de los tres elementos fertilizantes fundamentales N, P y K.

Desde un principio, se intentaron relacionar los rendimientos y la fertilización con niveles de referencia deducidos del análisis mineral de la hoja. Dicho análisis ha podido ampliarse en los últimos años gracias a los avances logrados por la metodología instrumental analítica, que nos ha permitido determinar exactamente elementos tales como: Mg, Fe, Zn, Cu, Mo, Mn, Al, S....etc., lo cual, unido a los datos de los tres elementos-fundamentales antes indicados, nos proporciona una información mayor para un diagnóstico adecuado de la nutrición.

El método basado en el análisis mineral de la hoja compara las sanas y enfermas de la misma edad y una misma parcela, conociéndose así la consecuencia de una problema de nutrición aunque no siempre la causa del mismo. Por otra parte, el análisis mineral de la hoja es de gran utilidad para determinar los momentos de máxima absorción por la planta durante el ciclo de cultivo, con el fin de conocer cuando ha de realizarse un abonado racional.

Sin embargo, en la actualidad, el empirismo continúa realmente a la hora de diagnosticar la nutrición de la planta, comprobándose que, por este camino, no pueden llegarse a fijar los criterios fisiológicos para una correcta interpretación de los datos obtenidos.

Por otra parte, se ha llegado a un grado de madurez que permite sacar el máximo partido al método, como lo demuestran los estudios basados en las relaciones binarias entre aniones y cationes que determinan unos óptimos de nutrición representados en diagramas triangulares y ecuaciones que ligan los rendimientos con los niveles de elementos (Homés) (53) (54). No obstante, la generalización de resultados sigue siendo muy problemática.

Además, el estudio estadístico de los resultados nos ha resuelto el problema de conocer si las diferencias son significativas, pero no el significado de dichas diferencias.

Por lo tanto, creemos que, al ser la planta un ser vivo, al menos una parte de la solución para sentar los criterios de interpretación debe estar en poder profundizar en las diferentes fracciones de cada elemento en la planta y conocer la actividad de cada uno de ellos y el papel que desempeñan en la nutrición.

Como consecuencia de todo lo anteriormente expuesto, en los últimos años, los trabajos de investigación en el campo de la nutrición vegetal han evolucionado sensiblemente centrándose fundamentalmente en los siguientes aspectos:

- 1.- Utilización de nuevos materiales de referencia que nos den mayor información (flores, yemas, frutos y jugo de tejidos conductores que, convencionalmente, llamaremos savia).
- 2.- Absorción por raíces de iones y moléculas. Absorción activa y pasiva. Utilización de elementos marcados.
- 3.- Métodos bioquímicos y fisiológicos en el diagnóstico de la nutrición. Determinación de fracciones activas de elementos nutritivos.

- 4.- Estudio de los factores genéticos y ecológicos que influyen en la nutrición de la planta. Variedades.
- 5.- Relación suelo/planta. Evaluación del potencial nutritivo del suelo al interpretar el estado de alimentación de la planta.
- 6.- Otros aspectos como: tratamiento de plagas con niveles adecuados de fertilización o nutrición indirecta de la planta por los tratamientos -- fungicidas.

Cada uno de estos apartados ha dado lugar a una serie -- de líneas de investigación.

En el primer apartado conviene destacar las posibilidades que tiene la savia como índice de fertilización. Entre ellas podríamos citar: estudio dinámico de nutrición, posibilidad de anticiparnos a la manifestación de una deficiencia, conocimiento del problema en el momento de producirse y no una media de todo lo que ha ocurrido durante -- una fracción del ciclo de cultivo( análisis foliar), estudio, no sólo de la absorción, sino también de la transformación de los elementos absorbidos, posibilidad de profundizar en la evolución de un elemento absorbido al estudiar diversas fracciones metabólicas con un significado específico y utilización de la savia como material de referencia para realizar -- un diagnóstico precoz de calidad, relacionando el nivel del índice de -- calidad en savia durante los primeros estadios del ciclo de cultivo con el mismo en el fruto, al final del cultivo.

Las ventajas del análisis de savia son muy grandes -- cuando se desarrolla el método de forma que se estudien las fracciones -- inorgánicas presentes en dicho material de referencia. La razón estriba -- en que, por este sistema, la cantidad de un elemento en forma inorgáni-- ca que se encuentra en el jugo extraído de un tejido conductor, que es -- el material escogido para este tipo de análisis, es función directa de

la absorción que se está realizando por las raíces o, mas bien, de la cantidad que hay disponible en el medio de cultivo, a pesar de que el jugo analizado contiene los iones minerales ascendentes y descendentes que no han sido utilizados en las reacciones metabólicas.

Efectivamente, la cantidad de nutrimentos que es absorbida por las raíces, se traslada por los tejidos conductores a las hojas y los frutos, aunque por esos mismos tejidos descienden también los iones inorgánicos que no han sido utilizados en los procesos de fotosíntesis, trasladándose a otras zonas de la planta donde se hacen mas necesarias.

Sin embargo, los valores obtenidos con el análisis directo de la savia en forma inorgánica nos dan una indicación muy clara de las condiciones de nutrición de la planta en la época en que se toma la muestra, que suele ser precisamente el momento mas interesante de hacer modificaciones de fertilización en el cultivo.

Por otra parte, la relación entre las formas inorgánicas y orgánicas de los elementos analizados nos puede dar una idea de la marcha de los procesos de fotosíntesis en la planta. Por esta causa, también se consideran en el presente estudio las formas orgánicas contenidas en la savia. En el caso del nitrógeno, por ejemplo, se estudian cuatro fracciones distintas con un significado característico de cada una de ellas.

Indudablemente, el razonamiento que hemos empleado es teórico, aunque lógico desde el punto de vista fisiológico, pero no tendría ningún valor si llevado a la práctica no se obtuvieran resultados mucho mas satisfactorios que los que se consiguen con el análisis foliar.

La comprobación se ha realizado en un periodo de quince años, aproximadamente, tiempo en que se viene usando esta técnica tanto en el invernadero como en el campo, al mismo tiempo que se ha ido perfeccionando el método de trabajo, haciéndolo mas sencillo y factible para una aplicación al análisis en serie (29) (49).

Por otra parte, la dificultad que supone una recomendación de abonado basada exclusivamente en un análisis físico y químico de suelo, puede resolverse, al menos en parte, haciendo una corrección de fertilización con un análisis de savia realizado en los primeros estadios del ciclo de cultivo. Es decir, este tipo de análisis supone la posibilidad de anticiparnos a la manifestación externa de un problema de nutrición.

En los últimos años se ha planteado el problema de la toxicidad de productos plaguicidas y las normas dadas por los organismos oficiales no parecen ser muy concretas por no haber una referencia exacta sobre el porcentaje de absorción de dichos productos por la planta ni por su metabolización posterior. El análisis de la savia de diferentes partes de la planta puede aportar nuevos datos para la resolución de dicho problema.

En resumen, podemos decir que el análisis del jugo extraído de tejidos conductores, denominado savia, puede ser utilizado con ciertas ventajas sobre el foliar desde el punto de vista de diagnóstico de nutrición vegetal, aunque consideramos que lo ideal es la utilización conjunta de ambos tipos de análisis, puesto que el análisis foliar presenta ciertas ventajas en cuanto al control de los oligoelementos que no se metabolizan y que se acumulan durante el ciclo de cultivo en la planta para los que tiene una gran sensibilidad.

El éxito de un diagnóstico de nutrición depende, en gran parte, de su precocidad y, por lo tanto, es lógico pensar que los síntomas químicos y bioquímicos, es decir, la incidencia que un factor limitante -- tiene sobre otros elementos y fracciones inorgánicas y orgánicas, deben ser de gran utilidad en este sentido por ser anteriores a cualquier manifestación en los tejidos de la planta.

Los síntomas visuales son la consecuencia final de la acción de un factor limitante que produce, en primer lugar, alteraciones de otros elementos en cuanto a su absorción y metabolismo y, a continuación, alteraciones en la estructura anatómica de la planta. Por fin, se manifiestan externamente con síntomas que son característicos en algunos casos -- y que inducen a confusión en otros y que, según el momento del ciclo, su grado y el cultivo de que se trate, se manifiestan de forma muy distinta.

Por otra parte, los síntomas pueden deberse directamente a la -- deficiencia o toxicidad de un elemento o, indirectamente, a otro que -- provoque aquellas.

Basándonos en estas consideraciones y en un amplio estudio bibliográfico, hemos planteado una serie de ensayos con el fin de controlar precozmente no sólo el estado nutritivo de la planta, sino también -- la cantidad y la calidad del fruto utilizando el análisis de savia como índice de los mismos. Nuestro propósito ha sido buscar relaciones coherentes entre fertilización, savia y fruto, de forma que seamos capaces -- de hacer las correcciones adecuadas en la nutrición y, así, poder anticiparnos a la aparición de un problema determinado, mediante el análisis -- del jugo de los tejidos conductores, para que las correcciones sean efectivas.

Por otra parte, en la nutrición de las plantas no son bien conocidos los mecanismos de la intervención de los oligoelementos en los procesos metabólicos que tienen lugar. La utilidad del método propuesto para conocer los aspectos de la nutrición anteriormente señalados, pretende poner de manifiesto con un estudio concreto que puede servir de punto de partida de una amplia línea de investigación y que consiste en el estudio de la incidencia del oligoelemento Boro sobre los macroelementos, oligoelementos, hidratos de carbono, aminoácidos y ácidos orgánicos contenidos en la planta.

Se pretende establecer una relación de los componentes de la savia antes indicados con los correspondientes en el fruto, utilizando la savia como material de referencia desde los primeros estadios del ciclo de cultivo y empleando el tomate como planta indicadora.

#### Antecedentes bibliográficos.

Hemos realizado un amplio estudio bibliográfico que dividiremos en los siguientes apartados.

#### -Niveles de deficiencia y toxicidad de boro

Los oligoelementos actúan en el metabolismo de las plantas dentro de un margen de concentraciones óptimo. Cuando el oligoelemento está fuera del mencionado margen, se producen deficiencias o toxicidades que influyen en los rendimientos, metabolismo, desarrollo externo de los cultivos.... etc.

En el caso del Boro, si este es deficiente hay reducción en el tamaño de las hojas, puntas de crecimiento ligeramente cloróticas, —

reducción en el peso de las raíces y órganos, aparición de puntos necróticos, en cultivos de tomate según encontramos en (20)(57)(103)(114).

En cultivos de maíz la deficiencia se manifiesta en un marchitamiento de los puntos de crecimiento: acumulación de esparraguina en hojas, y ácido aspártico en raíces (110).

El establecimiento de un nivel óptimo depende, entre otros factores, del cultivo del que se trate. Diversas investigaciones han establecido niveles óptimos aproximados para tomate, maíz, remolacha, caña de azúcar...etc.

Algunos trabajos como los de Dzikovich (42), MacInnes y Albert (75), Oertli (34), Smilde K.V., Longman E. y Suit B.V. (111), Uziak Z. y Murzynski (122), nos presentan las dosis óptimas para diferentes cultivos en diversas condiciones. Asimismo, para la corrección de las deficiencias se establecen diversas soluciones como la pulverización foliar (38) aplicaciones al suelo (38)(130), a raíces (122) . . .etc.

La toxicidad está menos estudiada. No obstante, se conocen algunos de los efectos que produce como la necrosis en las hojas de la caña da azúcar (18), y la clorosis y disminución de desarrollo en cultivos de maíz y tomate, entre otros (43)(17).

#### - Relación del Boro con otros elementos nutritivos.

La incidencia del Boro en los cultivos no podemos considerarla aislada, sino como es de esperar, el Boro interacciona con diversos elementos que refuerzan o debilitan su acción.

Este oligoelemento es un factor limitante de diversos aspectos en la nutrición de las plantas. Así influye en ciertas fases del metabolismo, calidad .....etc.

Refiriéndonos en primer lugar, al cultivo de tomates, la aplicación conjunta del Boro con otros elementos va a ejercer una influencia notable en el cultivo desde las primeras fases de su desarrollo. (46) y (47 ).

Así, podemos señalar que la actividad de ciertas enzimas como la oxidasa en hojas y frutos, aumenta con la aplicación conjunta de B+ Zn y B + Mn (9 ).

Puesto que un índice de la calidad del tomate puede constituirlo el contenido de azúcares y vitamina C, diversos investigadores han estudiado la dependencia de éstos con los nutrientes que la planta recibe, entre los que figura el Boro.

La combinación B+ Mn produce un aumento en la riqueza en vitamina C y en glúcidos así como un decrecimiento en la acidez del fruto( 4). Efecto similar lo produce la aplicación de Boro con Zn, Mn y Cu y mas aún el tratamiento B + Zn (58 )

Investigaciones tales como las de Darkambaev (33) y Tamhare (119) estudian el efecto del Boro juntamente con el Zn, Mn, Fe y Mo en el grado de calidad de los tomates, encontrando que estos elementos contribuyen al aumento de la cantidad de azúcar, vitamina C, rendimientos y decrecimiento de la acidez. Asimismo, las aplicaciones foliares de

$\text{BO}_3\text{H}_3$ ,  $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$  y  $\text{SO}_4\text{Mn}$  (123) producen un efecto favorable en rendimientos y en la actividad de la catalasa y de la clorofila. Algo similar ocurre con  $\text{BO}_3\text{H}_3$ , Duraset y cloruro cálcico (113).

Parece ser que en suelos con un tratamiento básico NPK, las aplicaciones de Boro traen consigo un aumento en calidad y rendimientos. (117).

Es también importante señalar que el tratamiento de las semillas de tomate con B, Mn, Mo y Co impide el desarrollo del virus del mosaico (97).

Según algún otro autor, la absorción de Fe, Cu y Mn se ve afectada por la presencia del Boro en solución (98).

Hemos encontrado asimismo en la bibliografía , otros cultivos, que al igual que el del tomate, se ven afectados por la aplicación de Boro con otros nutrientes.

Refiriéndonos a la caña de azúcar, Alvarez y Nutke (6) obtienen un aumento en los rendimientos si se hace un tratamiento básico de micronutrientes antes de la aplicación de NPK.

Otros investigadores (109), han obtenido un efecto similar empleando un tratamiento de N y  $\text{P}_2\text{O}_5$ ,  $\text{BO}_3\text{H}_3$  y Mo al suelo; se produce una mayor cantidad de proteínas y de glúcidos.

La aplicación conjunta del Boro con otros micronutrientes ejerce sobre el contenido en glúcidos una acción importante. Son dignos de resaltar los efectos ejercidos por B+Mn (69) y B+Zn+Cu+Mo (87).

La absorción de elementos como el Ca, aumenta con la aplicación de Boro en el suelo.(62).

Es importante señalar que, como ocurría en el caso del tomate, algunas enfermedades e incluso las heladas se previenen manteniendo unos ciertos valores para la relación  $B/SiO_2$  (30).

En cuanto a los cultivos de cereales, el Boro, junto con otros elementos ejerce una influencia decisiva en el desarrollo, calidad, contenido de proteínas.....etc(65)

Así, en el caso del trigo, los niveles adecuados de B, Cu, Mn y Zn dan lugar a la formación óptima de clorofila y carotenoides(64) Como decíamos anteriormente, en cuanto a lo que a rendimientos calidad y contenido de proteínas se refiere, encontramos óptimos resultados — tratando el cereal con N, P y spray foliar de Boro (128); del mismo modo, si al tratamiento NPK se le hace una adecuada aplicación de B+Cu+Zn, el contenido proteico aumenta; Dentro de esta misma línea, Sotiriou (112) estudia los efectos en la calidad del trigo, del azufre + Boro+ cinc+ cobre, siendo S + B los que mas influencia ejercen.

En el caso del cultivo de maíz, los resultados obtenidos son análogos . Si antes de la siembra se hace un tratamiento de las semillas con  $BO_3H_3 + SO_4Mn + SO_4Zn$ , se obtiene un aumento en el contenido de proteínas, especialmente cuando se eleva la dosis de NPK.(69).

Pintea y al. (91) establecen que la combinación mas adecuada para la calidad del maíz, en cuanto a oligoelementos en la planta, es la de B + Cu. Dentro de una línea de trabajo análoga Shkol'nik M.y Bozhenko V.P. (107) encontraron que el marchitamiento de las puntas de crecimiento era una consecuencia de la deficiencia de Boro; este problema se resolvió con la aplicación conjunta de B + Mn. (11).

Además de los cultivos citados, existen otros muchos en los que los efectos anteriores son similares. Podemos citar el aumento de sacarosa en hojas "Rosa damascēna" con B+Cu+Mn+Fe+K (37), el incremento de la calidad del melocotón cuando se aplican sprays de B+Zn+Mn+Fe (44), la mayor resistencia a la salinidad, así como el mayor contenido en albúmina de diversas plantas, (78), el aumento en vitamina C y azúcares en fresa por aplicación foliar de  $\text{BO}_3\text{H}_3$  o  $\text{B}_4\text{O}_7\text{Na}_2$  (93). etc.

#### - Incidencia del nivel de Boro en los azúcares.

De acuerdo con lo expuesto anteriormente, parece ser que el contenido en glúcidos de una planta guarda una estrecha relación con los niveles de Boro en la misma.

Esto ha sido encontrado por diversos investigadores en distintos tratamientos y cultivos. Concretamente, en lo que se refiere al del tomate, podemos afirmar que la aplicación de Boro, produce un aumento en el contenido de azúcares en fruto de hasta un 13% (117) si se aplica Boro en suelos. Experimentos sobre el mismo cultivo (46) (122) (123) han obtenido resultados similares por pulverizaciones foliares de  $\text{BO}_3\text{H}_3$  o de  $\text{B}_4\text{O}_7\text{Na}_2$ . También cuando la planta de tomate se cultiva en — solución nutritiva, la cual contenga  $\text{BO}_3\text{H}_3$  al 0,1%, existe un efecto entre el Boro aplicado y el balance de hidratos de carbono.

Efectos similares se producen en otras plantas, tales como la caña de azúcar y en fresa (92) (80) (102) en las que la síntesis de glúcidos se ve favorecida, cuando los niveles de Boro son adecuados, bien sea en suelo, tratamientos foliares o solución.

Según algunos autores parece darse una interrelación clara entre el Boro y el rendimiento en azúcar de la remolacha — azucarera. (48)(68)(55)(83)(74). Tratamientos con NPK + B (1kg/ha) (5) (83), pulverizaciones foliares y aplicaciones de boromanganeso (50 Kg/ha) producen óptimos resultados (131) (39)(86).

-Incidencia del nivel de Boro en proteínas, enzimas y ácidos nucleicos.

El comportamiento de enzimas y ácidos nucleicos desempeña un papel importante y decisivo a lo largo del metabolismo de la planta y, por tanto, en la síntesis de productos finales como son los aminoácidos libres y las proteínas.

Diversos estudios sobre este punto muestran como la actividad de las enzimas en raíces disminuye considerablemente cuando hay deficiencia de Boro (2). Concretamente la de catalasa, peroxidasa, amilasa, invertasa y ATP-asa será notablemente afectada si nutrientes como B, Fe, Mg, K, Ca, N y P, están en niveles por debajo de los óptimos. (3)

La participación del Boro en reacciones enzimáticas ha sido estudiada por diversos investigadores (3) (85) (105) (127). Podemos citar los de Vorisek V, Minarova E y Becka en el cultivo de maíz relacionando la toxicidad de Boro con la actividad de catalasa y deshidrogenasa. Estudios similares en el tomate (77) han demostrado un aumento de la actividad enzimática cuando se trata de la planta con fenilbórico, la relación existente entre el aumento de la actividad de la peroxidasa durante todo el crecimiento y de la catalasa durante la última fase del mismo con los niveles de Boro (88) y el aumento de la biosíntesis de pigmentos y actividad de las arcobinoxidasas cuando se trata el cultivo con solución al 0,01% de Boro. (105).

Existe también una incidencia del Boro en el contenido y metabolismo de ácidos nucleicos y, por, tanto, en la síntesis de aminoácidos y proteínas.

Así, en diversos cultivos, entre ellos los de cereales, las fertilizaciones con Boro, producen un aumento de los ácidos nucleicos RNA y DNA (66). La aplicación del Boro junto con Mn, produce en el trigo una mayor calidad y cantidad en el contenido de proteínas (67).

Investigadores varios entre los que podemos citar a Jyotishi R.P. y Kashyap R (60), al añadir spray foliar de Boro, obtuvieron un máximo nivel de proteínas. La aplicación de fertilizantes con un contenido adecuado de oligoelementos produce en el trigo un aumento en el % de aminoácidos, especialmente en la prolina (125) y un enriquecimiento proteico considerable (63).

En el cultivo de tomate los resultados han sido similares. En las raíces, el Boro influye sobre la síntesis del nitrógeno y, por tanto, en el metabolismo del RNA (56). El decrecimiento de éste último se evita con tratamientos de soluciones de Boro en una concentración de 0,1 ppm (75). Asimismo si a la planta se le añade ácido giberélico, B se produce un retraso en el envejecimiento de las hojas por retrasarse la degradación de clorofila, RNA, DNA y proteínas. (88)

Todos los efectos antes citados se han estudiado también en frutales. Podemos citar los trabajos de Bovay E. y colaboradores (15) en el albaricoquero.

- Incidencia del Boro sobre los rendimientos.

Si, como se ha dicho antes, el Boro incide sobre la actividad de enzimas, metabolismo de ácidos nucleicos y síntesis de glúcidos y proteínas, se deduce, como consecuencia evidente, que los rendimientos dependerán, en gran medida, del nivel de Boro en los cultivos.

En terrenos con deficiencia de Boro, cuando se cultivan cereales (maíz, trigo y arroz principalmente), hay una disminución en los rendimientos hasta de un 15% (1). Concretamente el trigo muestra un aumento considerable en su producción cuando al fertilizante NPK se le añade un suplemento de oligoelementos, entre ellos el Boro (67). En el caso del maíz, si el Boro se aplica en el suelo en dosis adecuadas los rendimientos se hacen mas elevados (12). En cultivos hidropónicos, ocurre algo similar. Podemos citar los experimentos de Martynova M.F. (76) que sólo obtuvo un desarrollo adecuado cuando suministró la adecuada dosis de Boro (0,1-0,5 PPM) siendo mas evidentes los efectos en el tercer estadio de desarrollo.

En otros cultivos cuyo índice de azúcar es el factor mas interesante para valorar los rendimientos, la incidencia del Boro en estos últimos es evidente. Así pues, por ejemplo en fresa la deficiencia del oligoelemento citado produce un descenso notable en la cantidad y calidad de frutos (104). En remolacha cuando se aplica Boro en suelo aumentan significativamente los rendimientos en raíces y hojas (19)(61)(32). Las aplicaciones foliares de soluciones al 0,01 % de Boro consiguen aumentos en la producción de un 6 a un 17% (106). Son significativos también los efectos producidos por aplicación en raíces de solución de borax (0,005-0,1%) (55) o de  $\text{BO}_3\text{H}_3$ ; concretamente cuando

se trata de este último, es interesante señalar el efecto en la acción de la auxina sobre el crecimiento y desarrollo de la planta (124)(129)

Cuando se trata de la caña de azúcar, los oligoelementos-entre ellos el Boro- producen un aumento del peso de los tallos y de los rendimientos(101). Hay un mayor y mas rápido crecimiento en el peso del fruto verde cuando la fertilización se hace con NPK + Boro.

Todo lo dicho anteriormente se ha experimentado en otros muchos cultivos.

Los efectos que produce el bórax en suelo en espinaca, coliflor, repollo y judía, se manifiestan en los rendimientos de sus respectivos frutos (72) (78) . La respuesta de las plantas a la deficiencia y a las dosis adecuadas de Boro han sido demostradas en los mas diversos cultivos (10)(73)(79). Concretamente vamos a citar algunos resultados obtenidos en la planta de tomate. Cuando el Boro es deficiente se produce una inhibición en el crecimiento (82). Para evitar esto, pueden tratarse las semillas con spray foliar de Boro, que además impide el desarrollo del virus del mosaico o bien con  $\text{BO}_3\text{H}_3$  al 0,04 % (82) (118). Las aplicaciones foliares de  $\text{BO}_3\text{H}_3$  al 0,02 % conducen a un avance en la maduración y a una elevación de los rendimientos en un 5,5% (118). Análogos resultados se consiguen cuando se aplica a los suelos una fertilización con NPK + B (59).

Fines que se pretenden con el estudio propuesto:

Los objetivos fundamentales que se persiguen pueden considerarse bajo una doble vertiente: por una parte, y utilizando el cultivo de tomate como planta indicadora, se pretende comprobar la incidencia que niveles deficientes y tóxicos de Boro tienen sobre la nutrición de la planta (ni

veles de elementos contenidos en ella) y rendimientos en fruto y por otra, determinar la utilidad del método propuesto para realizar un diagnóstico precoz de la calidad del fruto de tomate y por tanto, variar ésta para conseguir un nivel óptimo utilizando la savia como material de referencia desde los primeros estadios del ciclo de cultivo.

Se relacionarán los niveles de sustancias minerales, hidratos de carbono, aminoácidos y ácidos orgánicos de la savia, no sólo con el desarrollo de la planta y rendimientos, sino también con los niveles de las sustancias antes indicadas en el fruto, teniendo en cuenta la fracción o fracciones orgánicas y minerales que definen el índice de calidad nutritiva de dicho cultivo, pudiendo establecer así los correspondientes coeficientes de correlación.

La incidencia del Boro en las reacciones metabólicas de la planta deberá originar alteraciones en la fisiología de la misma con el reflejo correspondiente en su patología para cuya comprobación se realizarán los correspondientes cortes histológicos, cuyos resultados se estudiarán mediante una técnica de microscopía. En los períodos más avanzados de desequilibrios nutritivos las alteraciones deberán reflejarse en síntomas visuales que reseñaremos en las correspondientes figuras.

De acuerdo con estos fines, se plantearán, en primer lugar, una serie de experimentos orientadores y basándonos en ellos, otros definitivos con el dispositivo estadístico adecuado según describiremos detalladamente en el apartado correspondiente.

La calidad nutritiva propiamente dicha es la que se considerará en el presente trabajo.

Según Bussler, W. (22) para comprender el mecanismo de los micronutrientes en cuanto a su incidencia en la calidad del fruto, es necesario conocer las interacciones que se producen en el metabolismo

que, en definitiva, va a originar dicha calidad. Por lo tanto, el trabajo se ha enfocado, en gran parte, a conocer en qué fases del metabolismo incide el Boro en sus diferentes niveles de deficiencia, normalidad y toxicidad.

**B. PARTE EXPERIMENTAL.**

B.I. CONDICIONES DE CULTIVO EN MEDIO CONTROLADO.

## 1. CARACTERISTICAS DEL INVERNADERO.

Con el fin de conseguir unas condiciones idóneas para trabajar en medio controlado, hemos utilizado un invernadero dotado de los siguientes dispositivos:

- Elementos de calefacción
- Lámparas de iluminación
- Conductos de aire húmedo.
- Ventiladores.
- Aire comprimido purificado.
- Agua desionizada.
- Higrómetro.
- Termostatos de ambiente.
- Mesas móviles.
- Tanques de soluciones nutritivas.

La temperatura dentro del invernadero se ha procurado -- adaptar a la que corresponde al período vegetativo del Lycopersicum esculentum, fijando una temperatura diurna de 25°C-35°C y una temperatura nocturna de 15°C a 20°C.

De esta forma conseguiremos además una temperatura diurna para una normal fotosíntesis señalada para dicho cultivo.

El mantenimiento de estas temperaturas en el interior <sup>2</sup> del invernadero durante el tiempo frío o caluroso se ha podido conseguir por medio de la calefacción o mediante ventiladores, respectivamente.

Los días con sol, sin llegar a los meses de verano, el calor de radiación es suficiente para sobrepasar los 18°C, lo que puede contrarrestarse introduciendo aire exterior, bien directamente con los ventiladores o pasando aire húmedo, consiguiéndose así la temperatura de seada.

Otro punto a tener en cuenta es el control de la humedad relativa en el interior del invernadero mediante pulverizadores de agua o introduciendo aire húmedo; de esta manera se puede conseguir un grado de humedad propicio para el desarrollo del cultivo del tomate entre 65 y 85% según estudios realizados por anteriores investigadores (121).

La medida de la temperatura y de la humedad se registran gráficamente con un termohigrógrafo.

La iluminación es otro factor a tener en cuenta en el desarrollo de la planta así como en la toma de muestra.

Según estudios realizados por Hernando y Cadahia (50), hay que considerar yuxtaponer los efectos de iluminación y hora de toma de muestra con el fin de cometer el menor error posible en dicha toma y así obtener resultados analíticos comparativos y reproducibles.

Las mínimas variaciones se obtienen entre 79.000 y 97.000 lux y hay que evitar la comparación entre muestras tomadas a primera hora de la mañana y las cercanas a la puesta del sol con las correspondientes a la máxima insolación del día.

Para la disposición de los experimentos en el invernadero se precisan mesas móviles con el fin de poder variar de lugar los tiestos y conseguir que las condiciones de luz, humedad y temperatura sean las mismas en todo el experimento y así poder minimizar las diferencias debidas a los microclimas del invernadero.

Es necesario el empleo de agua desionizada en el experimento, utilizando para ello resinas cambiadoras de iones.

También hay que tener en cuenta la pureza tanto del material de invernadero como de los reactivos utilizados.

Todos los materiales y productos fueron lavados convenientemente hasta carencia total de Boro y del resto de los elementos nutritivos.

En la figura (I) se puede apreciar un aspecto general del invernadero, así como del tipo de tiesto utilizado.

## 2. SOLUCIONES NUTRITIVAS EMPLEADAS.

Las soluciones nutritivas empleadas para el cultivo del tomate corresponden a la solución de Arnon y Hoagland (8), ligeramente modificada que contenían los macroelementos y oligoelementos en cantidad suficiente a excepción del elemento a estudiar - (Boro).

Este elemento se agregó a las soluciones nutritivas en cantidades correspondientes a cada tratamiento.

La solución nutritiva empleada se indica en la Tabla I

Tabla I

	$\text{NO}_3^-$	$\text{PO}_4\text{H}_2^-$	$\text{SO}_4^-$	$\text{Cl}^-$	Total
$\text{K}^+$	4,0	1,5			5,5
$\text{Ca}^{2+}$	10,0				10,0
$\text{Mg}^{2+}$			2,5		2,5
Na				0,2	0,2
	14,0	1,5	2,5	0,2	18,2 meq./l.sol. nutritiva.

Microelementos:

$SO_4$ Mn. $H_2O$ .....	2,50	mg/l.
$SO_4$ Zn. $7 H_2O$ .....	0,75	mg/l.
$SO_4$ Cu anhidro .....	0,375	mg/l.
$(NH_4)_6 Mo_7 O_{24} \cdot 4H_2O$ .....	0,5	mg/l.
Sequestrene (complejo de Fe) .....	13	mg/l.

Se variaron también los niveles de Boro para cada tratamiento utilizando soluciones controladas de ácido bórico con el fin de conseguir niveles de deficiencia, normalidad y toxicidad.

El grado de pureza de los reactivos y agua desionizada respecto al Boro ha sido controlado periódicamente mediante los análisis correspondientes.

Una vez preparadas las soluciones nutritivas se ajustó el pH de ellas con gotas de solución normal de NaOH ya que el valor óptimo para el desarrollo de las plantas de tomate se encuentra entre 5,5-6,5 siendo el de la solución preparada aproximadamente de 4,5-4,7 antes de añadir la NaOH.

La solución nutritiva se cambió dos veces por semana. Cada ocho o diez días, aproximadamente, se hizo un lavado con agua destilada para evitar la acumulación salina.

### 3. SEMILLEROS.

El medio utilizado fué arena de cuarzo lavada al acido y libre de Boro.

La germinación se efectuó en bandejas de material plástico con el fondo perforado que contenia arena de cuarzo lavada. El tamaño de las particulas según Hewitt (51) debe estar comprendido entre 0,5 y 2 mm, consiguiendose una relación más favorable entre las capacidades de aire y agua.

Se utilizaron semillas *Lycopersicum esculentum*, variedad Marglobe, que se sembraron sobre el lecho de arena cuya profundidad era de unos 10 cms.

El riego se efectuó por capilaridad: los primeros días con agua desionizada y a continuación, se utilizó solución nutritiva 10 veces diluida, conteniendo todos los macroelementos y oligoelementos, a excepción del oligoelemento en estudio, ya que el Boro contenido en la semilla es suficiente para obtener las plantitas aptas para el trasplante.

El sistema ha proporcionado excelentes resultados y, debido a la alta capacidad germinativa de las semillas y a las pequeñas diferencias de peso entre las mismas, se han conseguido plantitas de tamaño muy uniforme.

No se ha podido obtener la deficiencia total de Boro en las plantulas obtenidas debido al contenido de dicho elemento en la semilla y a la imposibilidad de obtener frutos con carencia total de dicho oligoelemento.

Hemos de tener en cuenta la gran influencia que el peso de la semilla ejerce en el posterior crecimiento de la plantita sobre su primer periodo vegetativo.

Las diferencias de crecimiento observadas pueden ser debidas a caracteres genéticos heredados de las plantas madre de las que se obtuvo la semilla, pero ante la imposibilidad de poder clasificarlas de un mismo lote respecto a sus factores genéticos, sólo cabe considerar el tamaño para tratar de aminorar las diferencias en crecimiento originadas exclusivamente por las condiciones de la semilla.

En la figura (II) se presenta como tiene lugar la disposición del semillero.

Una vez que las plantitas han alcanzado la altura de 5-10 cms. con tres o cuatro hojas cada una, el semillero está en condiciones para realizar el trasplante a los tiestos de cultivo donde se realizará el experimento.



Figura I. Aspecto general del invernadero.



Figura II. Disposición del semillero.

#### 4. TRASPLANTE

En el cultivo de tomate, el período de germinación de la semilla es aproximadamente de unos 20 días. Se hizo el trasplante sobre ± tiestos "Riviera", con dispositivo de absorción de la solución nutritiva - por capilaridad para mantener la misma humedad en todos los tiestos, que - contenían 3 Kg de arena de cuarzo, lavada con ClH 1:1 y posteriormente con H<sub>2</sub>O hirviendo.

El trasplante debe realizarse cuando la luz no sea muy - intensa para evitar posibles marchitamientos de las plantitas.

Debe hacerse previamente una selección procurando la mayor homogeneidad de desarrollo en las plantas destinadas a cada experimento.

A partir del momento del trasplante, se trató a las plantas con solución nutritiva diluida al 50% durante 10 días y, finalmente, - con la solución nutritiva adecuada a cada tratamiento.

La periodicidad del riego con solución fué de dos veces - por semana, haciendo antes un lavado previo de la arena con la solución nutritiva correspondiente; los demás días se completó con agua destilada el nivel inicial de la solución nutritiva del depósito inferior del tiesto.

Esta forma de nutrición se decidió tomar como la adecuada después de haber comprobado mediante análisis, que era la única que evitaba los efectos de dilución y de concentración salina, manteniéndose practicamente constante la concentración de la solución nutritiva.

B.II. METODOLOGIAS ANALITICAS.

## 1. ANALISIS DE SAVIA

En la tabla II, se indican esquemáticamente los distintos pasos que se siguen desde la toma de muestra hasta la determinación de los diferentes elementos y fracciones que se consideran en el método propuesto.

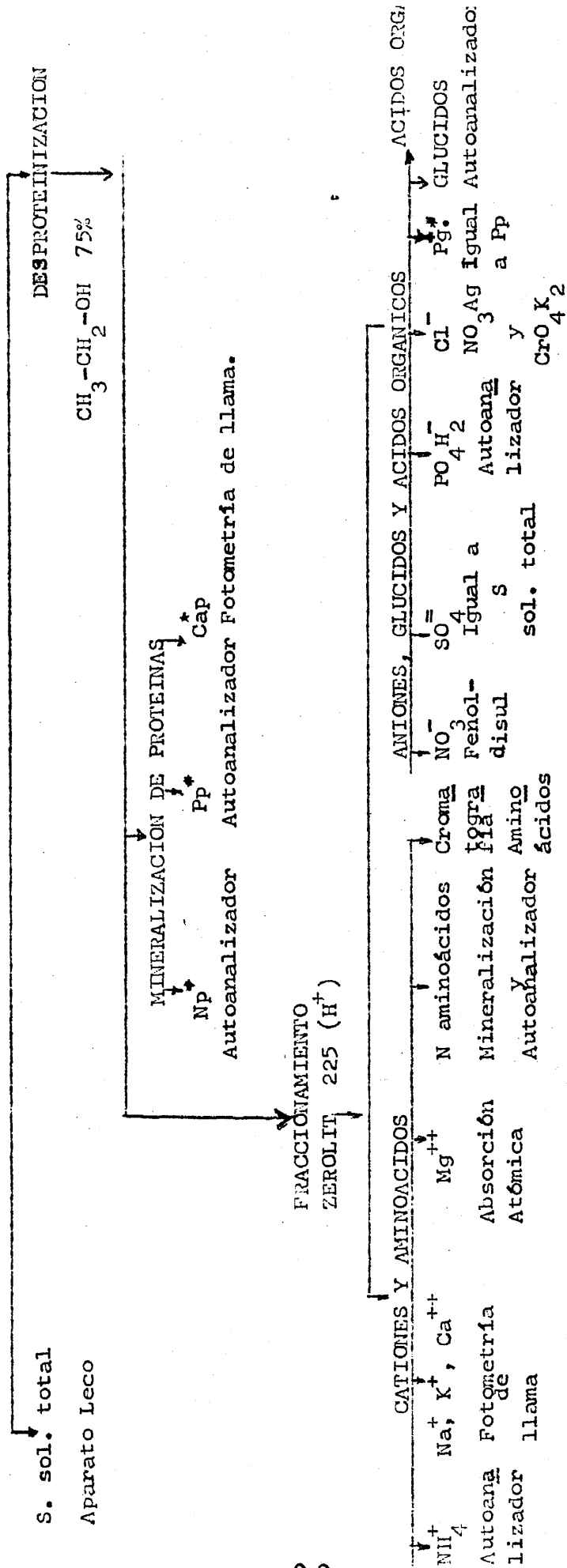
El esquema está basado en las metodologías propuestas por Hernando y Cadaña (50), indicando al mismo tiempo las innovaciones que hemos aportado en lo que se refiere fundamentalmente a la utilización de Autoanalizadores y determinaciones de fracciones orgánicas que describimos con detalle en el presente apartado. El resto de las determinaciones desarrolladas por los dos autores antes indicados, sólo se describen de una forma muy reducida.

—000—

Tabla II

Esquema de operaciones analíticas y separación de fracciones.

TOMA DE MUESTRA. FIJACION. ELIMINACION ELOROFILA. EXTRACCION. FILTRACION. CONSERVACION



\* Los subíndices P y G se refieren a las fracciones proteicas y glucídicas respectivamente.

## 1.1. Elección de la muestra más representativa y corte del metabolismo.

En experimentos de invernadero hemos obtenido resultados -- equivalentes utilizando la savia de un órgano de referencia y la de toda la planta. Sin embargo, dada la irregular distribución de los elementos -- en la planta y los distintos desarrollos obtenidos en los tratamientos en-- sayados, es posible que se cometan errores considerables en algunos ca-- sos si se analiza la savia de toda la planta. Por esta razón, es necesa-- rio estudiar el empleo como muestra de un órgano de referencia que, por -- otra parte, puede darnos una idea bastante exacta de la nutrición de la -- planta por su situación respecto al órgano de reproducción o reserva, ya que puede fijarse su situación exactamente con el fin de que los resulta-- dos sean comparativos.

Para la elección del órgano de referencia, se tuvieron en cuenta los siguientes requisitos:

- a) Debe estar bien definido (posición, orientación .....etc)
- b) Nos debe dar una idea exacta de la subida de nutrimentos desde la raíz hasta la "punta de crecimiento" de la planta, así como de la marcha de las reacciones metabólicas.
- c) Ha de ser posible tomarlo en las diferentes épocas del ciclo que inte-- resan.
- d) Debe presentar durante el mayor tiempo posible variaciones diurnas pe-- queñas en su contenido
- e) Debe presentar el tratamiento correspondiente y dar las mayores dife-- rencias entre tratamientos distintos.
- f) Debe pertenecer a una fracción de planta cuya composición sea muy uni-- forme. Es decir, si se toma un determinado peciolo, en el caso del to-- mate, los que están junto a él deben tener la misma composición para -- que el error de toma de muestra sea pequeño.

Para la extracción de la savia se toman pecioloos a la altura de la segunda floración. El número de pecioloos debe variar en función del número de determinaciones a realizar.

Las épocas idóneas para interpretar mas exactamente el análisis de savia y para el cultivo de tomate son:

- 1ª) Comienzo de la floración.
- 2ª) Comienzo de la fructificación.

Para que los resultados sean comparativos con fines de investigación, las muestras deben ser tomadas durante un determinado intervalo de tiempo, a lo largo del día, y a ser posible con una iluminación semejante. Después de eliminar los foliolos del tejido conductor, se fracciona en pedazos de 0,5 a 1 cm., sobre un frasco con éter etílico a  $-60^{\circ}\text{C}$  ó  $-70^{\circ}\text{C}$  (Temperatura que alcanza el éter introducido en nieve carbónica). A continuación se guardan los frascos en un congelador.

### 1.2. Extracción, filtración y conservación

Se procede a la extracción en vitrina, operándose a una temperatura de 0 a  $5^{\circ}\text{C}$ .-La separación del éter del jugo conductor se realiza prensando previamente los pecioloos una vez separada la savia, se filtra y se conserva en congelador a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

### 1.3. Desproteínización

Se precipitan las proteínas con alcohol absoluto desionizado. La fracción proteica se purifica por lavado.

#### 1.4. Fracionamiento

Se pasan los líquidos procedentes de la centrifugación por una resina - catiónica y fuertemente sulfonada (ej Amberlita IRA-120  $H^+$ ) ó Zerolit 225 ( $H^+$ ). El líquido que percola contiene aniones, glúcidos y ácidos orgánicos. Los cationes y aminoácidos se recogen pasando a través de la resina CLH 4 N.

#### 1.5. Determinación de elementos minerales y orgánicos

##### NITROGENO

##### - $N(NO_3^-)$ . Nitrato.

El principio del método se fundó en el color desarrollado en medio ligeramente básico entre el ión  $NO_3^-$  y un reactivo de ácido fenoldisulfónico. Es necesario eliminar los  $Cl^-$  por precipitación con la cantidad correspondiente de  $SO_4 Ag_2$ . El método corresponde exactamente al descrito por Hernando y Cadahía (50).

##### - Nitrógeno proteico.

Se utiliza para su valoración un sistema autoanalizador Technicon tomando como base el método propuesto por Cadahía (25).

Las variaciones que hemos introducido en dicho método son:

- Solución de lavado en medio sulfúrico: 2 ml  $SO_4 H_2$  / 25 ml de  $H_2O$ .
- Curva de 0 a 50 ppm en dicho medio, que es el mismo en que se encuentra el mineralizado de proteínas.

##### - Nitrógeno de aminoácidos.

Se realiza esta valoración en la solución resultante de la mineralización de cationes y mediante el sistema autoanalizador. La curva

y la solución de lavado son las mismas que para el N proteico.

- Nitrógeno amoniacal N ( $\text{NH}_4^+$ )

Se determina esta fracción en la solución de cationes utilizándose un procedimiento similar a los anteriormente expuestos para N proteico y N aminoácidos. Las modificaciones que hemos introducido son:

- Solución de lavado en medio clorhidrico ( 40 ml de  $\text{ClH} \text{ 4N} / 100 \text{ ml } \text{H}_2\text{O}$ ).
- Curva de 0 a 6 ppm en dicho medio, que corresponde al de la solución de cationes.

FOSFORO

- Fósforo mineral ( $\text{PO}_4 \text{ H}_2^-$ ).

Se determina esta fracción en la solución de aniones. El método analítico se funda en el color desarrollado por la reducción — del fosfomolibdato amónico con ácido ascórbico (21). La medida se realiza en un sistema autoanalizador Technicon basado en la metodología propuesta por Cadahía (25).

Las modificaciones que hemos introducido corresponden a que la curva patrón se prepara en medio hidroalcohólico (33 ml alcohol / 100 ml  $\text{H}_2\text{O}$ ) y la solución de lavado también en el mismo medio.

- Fósforo proteico.

El procedimiento analítico es similar al anterior . La determinación se realiza en la solución del mineralizado de proteínas. La curva se prepara de 0 a 10 ppm en medio sulfúrico. Dicho medio es el que — también se utiliza como solución de lavado, del mismo modo que se indicó — para N aminoácidos y N proteico.

## AZUFRE

### - Sulfatos

Se utilizó el método de Lachica Garrido (71): una parte alícuota de la solución de aniones se precipita en medio ácido con un reactivo de  $\text{Cl}_2\text{Ba}$  al 10% y Tween 80 (polioxietilen-sorbitan monoleato) en la proporción de 80 ml del primero y 20 ml del segundo.

### - Azufre soluble total

Se liofilizó la muestra de savia (0,5 ml), procediéndose a continuación a la oxidación del S en horno de inducción Leco y posterior valoración del  $\text{SO}_2$  producido según el método de Cadahía (24).

## CLORURO

Se determinan por el procedimiento volumétrico basado en la reacción entre el ión  $\text{Cl}^-$  y el  $\text{NO}_3\text{Ag}$  empleando  $\text{CrO}_4\text{K}_2$  como indicador (método Mohr).

## DETERMINACIÓN DE CATIONES

### + Sodio, potasio, calcio y magnesio.

Se determinan directamente en la solución de cationes. Se emplea un fotómetro de llama para Na, K y Ca. Para el Mg se emplea un espectrofotómetro de absorción atómica.

### - Calcio precipitado en la fracción proteica

En la solución mineralizada de proteínas se encuentra una fracción de calcio que precipita con aniones orgánicos. La determinación se realiza utilizando el espectrofotómetro de emisión.

## 1.6. Determinación de aminoácidos.

### - Preparación de la muestra.

Hemos puesto a punto un procedimiento basado en los trabajos de Decau(36) y de Bendille C, Gervais C, Coic y Gaborit T. (120).

El procedimiento utilizado es el siguiente:

- Se tratan 4 ml. de savia, a los que se han añadido 2,5 ml de solución 2,5 mM de norleucina como patrón interno, con 12 ml. de alcohol absoluto desionizado. Se deja precipitar en nevera durante toda la noche.
- Se centrifuga a 3.000 r.p.m. durante quince minutos.
- Se lava dos veces con 10 ml de alcohol del 75% y se vuelve a centrifugar en las condiciones antes indicadas.
- El volumen de la solución resultante se lleva a sequedad en rotavapor a una temperatura menor de 40°C.
- Por fin se disuelve el residuo, una vez frío, en 2,5 ml de ClH 0,1 N. Se utilizan 0,3 ml. para desarrollar el cromatograma correspondiente en el autoanalizador.

### - Método analítico.

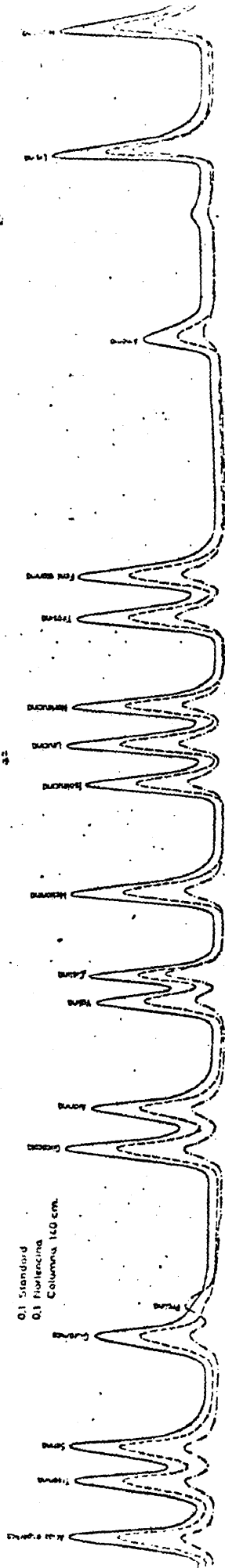
- El método se basa en el color desarrollado entre los diferentes aminoácidos y un reactivo de ninhidrina.

Los cromatogramas se desarrollaron en un Sistema Autoanalizador Technicon NC<sub>1</sub>. Según la metodología del trabajo de Polo M.C. (94).

### - Resultados.

Un modelo de cromatograma patrón se indica en la figura ( III).

Figura III. Cromatograma patrón de aminoácidos.



### 1.7. Determinación de glúcidos. Preparación de la muestra.

Hechos puesto a punto el siguiente procedimiento:

- Estabilizada la muestra de tejido conductor en un congelador a  $-30^{\circ}\text{C}$ , se procede a la desproteínización.
- Se toman 1 ó 2 ml. de jugo y se desproteínizan con 3 ó 6 ml. de alcohol absoluto libre de glúcidos reductores y se deja en nevera toda la noche.
- Se centrifuga a 3.000 r.p.m. durante quince minutos y se lava dos veces con alcohol del 75% centrifugándose cada vez a las mismas revoluciones y durante el mismo tiempo.
- Los líquidos sobrantes se llevan a 25 ml. con agua y se miden directamente en el Sistema Autoanalizador según se describe mas adelante.

En la valoración global no interfieren ni elementos minerales ni fracciones orgánicas presentes en la muestra según hemos comprobado experimentalmente.

### 1.8. Inversión de glúcidos no reductores.

- 12,5 ml. de la solución anterior se hidrolizan con 0,5 ml. de  $\text{ClH}$  — concentrado en matraz de 25 ml. Se tapa con papel de aluminio y se sumerge en baño de agua hirviendo durante una hora.
- Se lleva a 25 ml. con agua y se miden los azúcares por el método elegido.
- Si fuera necesario, antes de proceder a la medida, se filtrará la muestra preparada.

## 1.9. Determinación de glúcidos reductores (26)

Hemos puesto en marcha un procedimiento basado en el método Hoffman modificado (28), utilizado en la determinación automática de glúcidos reductores en sangre.

Hemos adaptado dicho procedimiento al análisis de glúcidos reductores en la savia con un Sistema Autoanalizador.

El proceso realizado en el Autoanalizador consiste en tomar un flujo determinado, de problemas y patrones por una serie de tuberías de diámetro adecuado.

Se impulsan las soluciones a un colorímetro llegando la señal correspondiente a un registrador gráfico. Se realiza todo el proceso automáticamente.

Las características de la técnica que expondremos mas adelante permiten la determinación de concentraciones de glúcidos de hasta 2.000 mg/l sin realizar diluciones, Esto, juntamente con la eliminación de errores manuales y la velocidad del análisis: 60 muestras por hora, hacen ésta técnica idónea para nuestro caso.

### - Fundamento.

Para valorar los glúcidos reductores se utiliza la reacción de óxido-reducción del ferricianuro o ferrocianuro incoloro. Por tanto se trata de una técnica colorimétrica inversa. La densidad óptica de la solución decolorada se mide a 420 nm.

### - Reactivos.

- Ferricianuro potásico alcalino.

$\text{Fe}(\text{CN})_6\text{K}_3$  ----- 0,38 g.

$\text{CO}_3\text{Na}_2$  .- - - - - 20,0 g.  
 $\text{H}_2\text{O}$  destilada - - - - - hasta 1.000 ml.  
Detergente Brij-35 - - - - - 0,5 ml.

Se filtra la solución y se almacena en botella marrón.

- Soluciones patrones.

- Solución patrón madre de glucosa:

10,000 g de glucosa en un litro de agua desionizada, destilada y saturada con ácido benzoico.

Soluciones patrones de trabajo:

- Diluir la solución madre con solución saturada de ácido benzoico en las siguientes cantidades: 0; 0,5; 1; 2; 3; 4; 4,5; 5; 5; 10; 15 y 20 ml. llevados a 100 ml. Se obtienen así las concentraciones de 0, 50, 100, 200, — 300, 400, 450, 500, 1.000, 1.500 y 2.000 ppm.

En función de la muestra a analizar pueden utilizarse dos tipos de tubería de toma de muestra de diferente diámetro según se indica en el esquema correspondiente con el fin de efectuar la medida de soluciones patrones entre 0 y 500 ppm o entre 0 y 2.000 ppm, aumentando o disminuyendo a voluntad la sensibilidad del método y evitando en parte los errores de dilución.

En la figura (IV) se indican las gráficas obtenidas entre 0 y 500 ppm y entre 0 y 2.000 ppm.

- Aparato.

La disposición del aparato utilizado en el laboratorio se expone en la figura(V.).

FIGURA IV.- Gráficas patrones de azúcares reductores (glucosa) con sensibilidades diferentes.

Gráficas patrones

- x Sensibilidad de 0 a 500 p.p.m. (tubería 0,80 ml./min.)
- o Sensibilidad de 0 a 2000 p.p.m. (tubería 0,16 ml./min.)

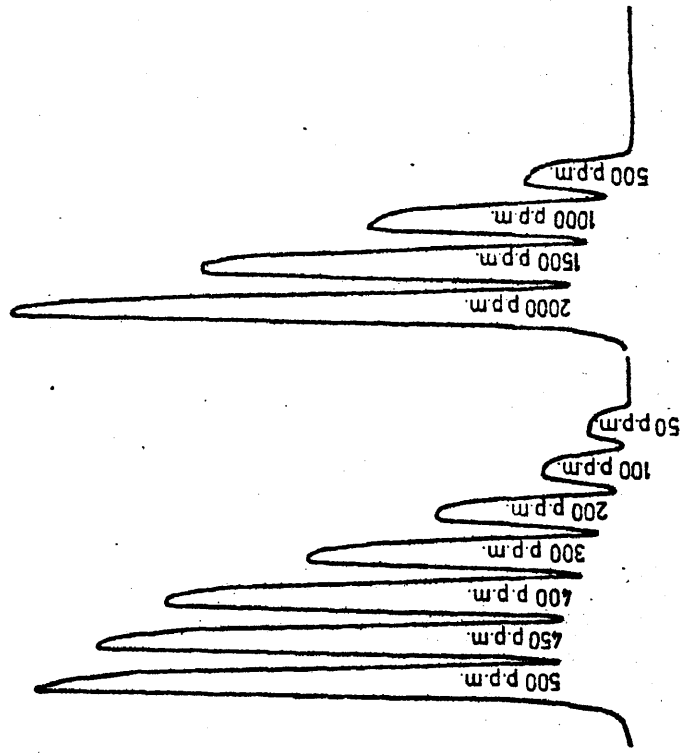
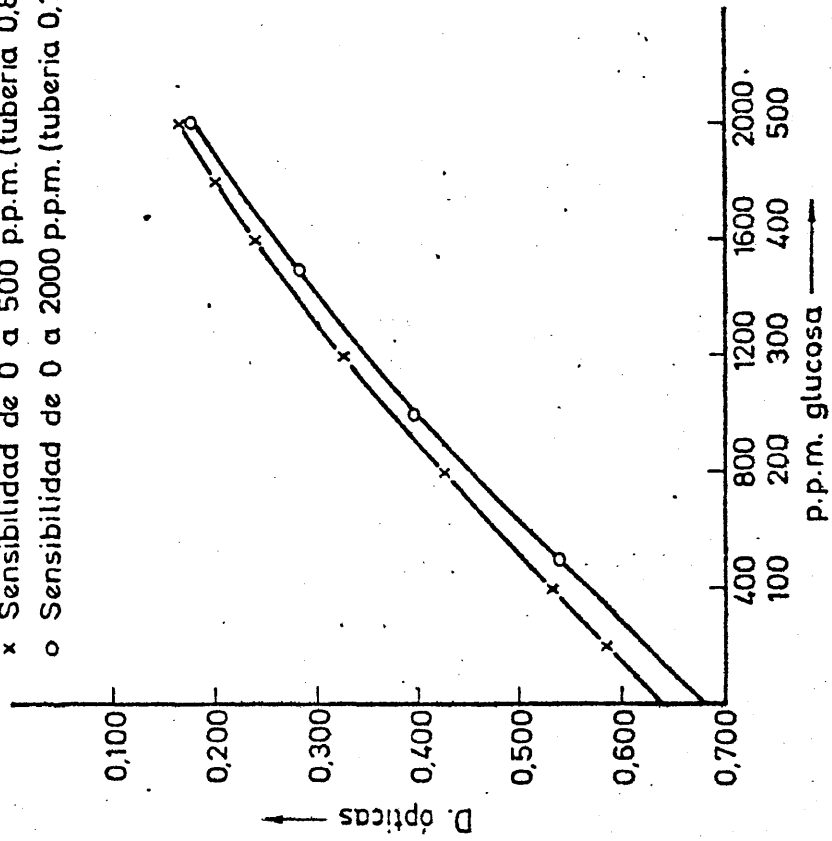




Figura V. Disposición del aparato utilizado en el laboratorio para la determinación de glúcidos.

El montaje del sistema autoanalizador se indica en la figura (VI ).

En ella se observa que los módulos empleados son: muestreador o distribuidor automático de muestras, bomba proporcionadora, baño, - colorímetro y registrador cuyo fundamento se ha indicado en un trabajo anteriormente publicado (26 ).

La tubería (1) que succiona la muestra se une a otra(2) — que transporta agua para diluir convenientemente dicha muestra; además se — utiliza otra tercera tubería(3) de aire para fraccionar el flujo con el — fin de facilitar la mezcla y evitar contaminaciones de una muestra a otra.

El agua lleva un detergente, Brij 35, en una concentración de 0,5 ml de solución al 30% /litro de agua, para facilitar el deslizamiento de líquidos por las paredes de las tuberías de plástico.

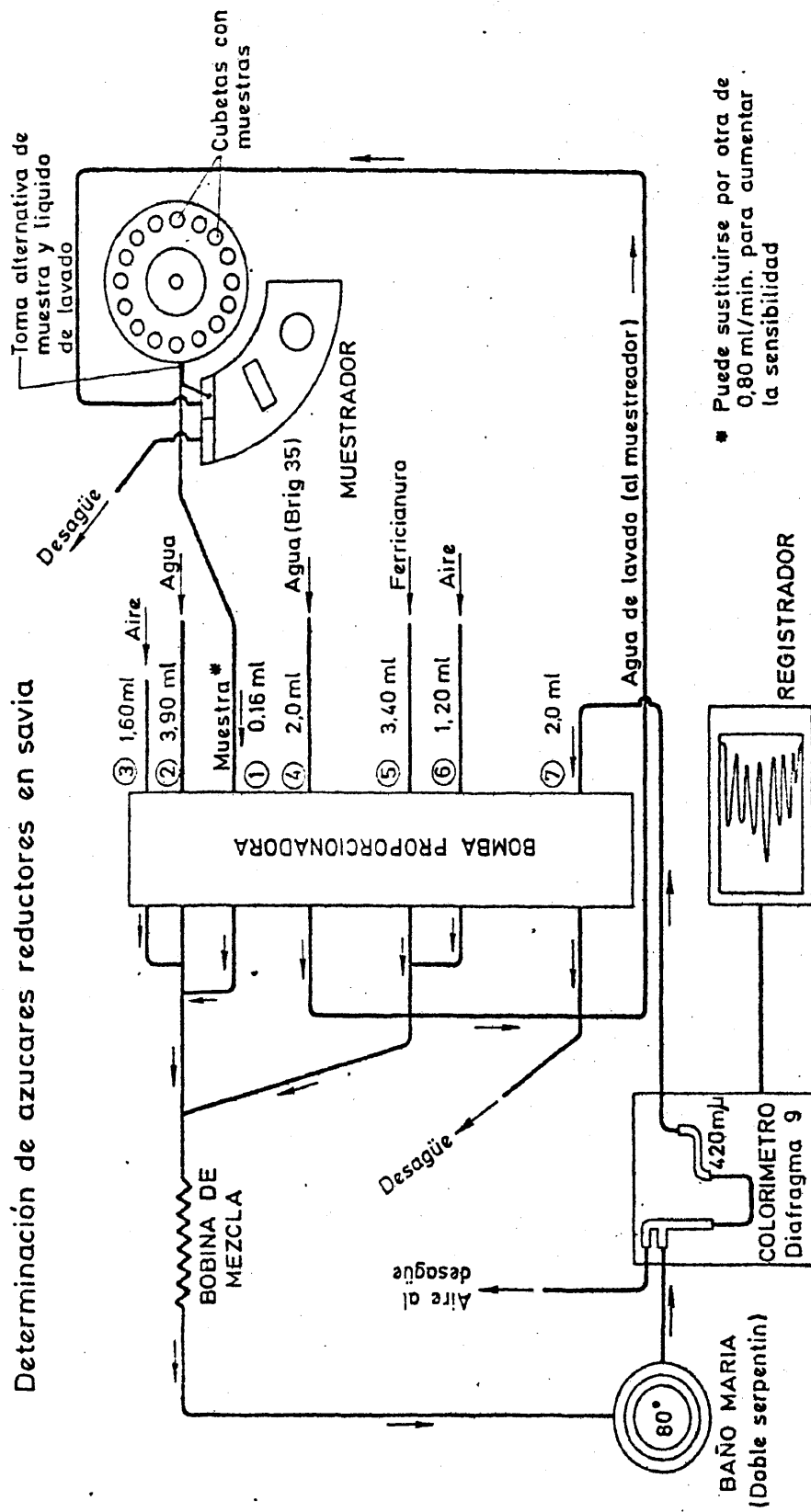
Por la tubería (4) se bombea el líquido de lavado que es  $H_2O$  desionizada, sobre el muestreador para que pase a continuación por el sistema entre cada dos muestras. El exceso de dicho líquido se envía al — desagüe por la tubería que se indica en la figura. Por la tubería(5) se pasa el reactivo de ferricianuro y se mezcla con el aire que pasa por la (6)

El problema diluido y el reactivo se mezclan en la bobina de la figura y, a continuación, se pasan por un baño de aceite de doble - circuito a 80°C.

Después de producirse la decoloración se pasa el problema al colorímetro, obteniéndose la señal correspondiente en el registrador.

Para arrastrar al desagüe el líquido que sale de la cubeta del colorímetro(flujo continuo), se conecta la salida con la bomba peristáltica que succiona por la tubería (7) hasta el desagüe.

Figura VI  
**SISTEMA AUTOANALIZADOR TECNICON**  
 Determinación de azúcares reductores en savia



\* Puede sustituirse por otra de 0,80 ml/min. para aumentar la sensibilidad

El líquido que llega al colorímetro lo hace junto con aire, siendo necesario eliminar este antes de que se introduzca en la cubeta de flujo continuo para lo cual se aplica en el colorímetro el dispositivo que se indica en la figura a fin de llevar las burbujas de aire al desagüe.

El flujo que pasa por las tuberías se indica en la figura (VI) y el tiempo de muestreo es de 40 segundos para la muestra y de — 20 segundos para el líquido de lavado entre cada dos muestras; es decir, cada minuto se analiza una muestra, resultando la velocidad del análisis de 60 muestras /hora.

- Procedimiento.

Se introducen las soluciones problemas previamente neutralizadas (hay que comprobar que no hay precipitaciones al pH básico al que se desarrolla el color), así como los distintos puntos de la gráfica patrón. Se pone en marcha el aparato que irá tomando muestras a razón de 60/hora, produciéndose en el registrador los picos de los problemas cuyas alturas se relacionan con los de las soluciones patrones.

- Estabilidad de color y error analítico:

El procedimiento descrito elimina completamente los errores derivados de la inestabilidad del color, puesto que todos los problemas y las soluciones patrones se miden exactamente en el mismo tiempo después de mezclados con el reactivo. Por otra parte, los errores de manipulación desaparecen prácticamente puesto que las dosificaciones y todas las operaciones de la técnica las realiza el aparato automáticamente.

El coeficiente de variación, calculado con cinco series de muestras diez veces repetidas, corresponde a 1,1% para el método.

analítico propiamente dicho y 1,7% para el método completo, es decir, referido a la preparación de la muestra mas el método analítico.

Por otra parte, se comprobaron las posibles interferencias del método con los resultados que se expresan en la tabla III

Tabla III

Ensayo de interferencias.-Método Autoanalizador.

Valores medios de cinco repeticiones

Muestras conocidas	cantidad presente	cantidad encontrada	Desviaciones
1	1.600	1.575	1,6%
2	"	1.580	1,3%
3	"	1.580	1,3%
4	"	1.575	1,1%
Muestras conocidas	cantidad añadida	cantidad encontrada	Desviaciones
ST <sub>1</sub>	0	248	
ST <sub>2</sub>	54	300	0,7%
ST <sub>3</sub>	203	433	3,9%
ST <sub>4</sub>	255	480	4,5%
SR <sub>1</sub>	0	249	
SR <sub>2</sub>	55	312	2,6%
SR <sub>3</sub>	215	450	3,0%
SR <sub>4</sub>	253	505	0,6%

Las referencias de las muestras de la tabla III se exponen en la página siguiente.

- 1.- glucosa disuelta en agua (1.600 ppm)
- 2.- " " " alcohol del 75%
- 3.- " " " " " " eliminado en rotavapor.
- 4.- Muestra 1, conteniendo minerales y aminoácidos correspondientes a 4 ml de savia: (10 mg de leucina, 10 mg de  $\text{NO}_3\text{K}$ , 10 mg de  $\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$ , 5 mg de  $\text{ClK}$ , 4 mg de  $\text{SO}_4\text{Mg}$ ).

ST<sub>1</sub> a ST<sub>4</sub>: muestra de savia de tomate.

SR<sub>1</sub> a SR<sub>4</sub>: muestra de savia de remolacha.

Las desviaciones son aceptables ya que al error analítico hay que sumarle los errores de manipulación con el fin de preparar las diferentes soluciones para el ensayo de interferencias.

Por lo tanto, consideramos que no existen interferencias en el método propuesto.

#### 1.10. Determinación de ácidos orgánicos.

Hemos seguido dos metodologías para su valoración:

Primeramente, se determinaron hallando simplemente la diferencias entre miliequivalentes cationes y miliequivalentes aniones determinados en el análisis de savia. Dicha metodología arrastra todos los errores de preparación de muestra y análisis cometidos en el proceso analítico. Por esta razón adoptamos otro método basado en el procedimiento que se utiliza en la Station d'Agronomie du Sudouest (Francia). (116).

-1 ml de savia se valora potenciométricamente con NaOH 0,005 N siendo el P.E. el máximo valor de  $DpH/Dcc$ , es decir, el punto de inflexión de la curva de valoración según Furman (45).

## 2. ANALISIS FOLIAR

En los ensayos orientadores que se describen en la parte experimental del presente estudio, se realizaron análisis de hoja según los métodos normalizados por el "Comité Interinstitutos para el estudio de técnicas analíticas" (31).

## 3. ANALISIS FRUTO.

Se han seguido las mismas metodologías analíticas que para la savia con las correspondientes variaciones en la preparación de las muestras. Hemos determinado azúcares, ácidos orgánicos, aminoácidos y vitamina C.

### 3.1. Determinación de glúcidos. Preparación de la muestra y análisis.

20 g. de pulpa fresca o su equivalente de material liofilizado se introducen en un erlenmeyer de 100 cc. se añaden 80 cc. de  $H_2O$  y se lleva a un baño a 50-60°C durante treinta minutos. Se deja enfriar y se filtra en un Buchner llevando el filtrado a 500 ml. De aquí se toma una parte -- alícuota para la determinación de azúcares que se realizará en una -- Autoanalizador Technicon.

### 3.2. Determinación de ácidos orgánicos. Preparación de la muestra y análisis.

- Se toman 50 g. de pulpa fresca a los que se añaden 100 cc de agua; se lleva a un baño a 50-60°C durante treinta minutos. Se filtra en un Bucher llevando el filtrado a 250 ml. De aquí se toman 100 cc y se valoran con Na OH 0,2N haciendo una valoración potenciométrica.

Un ejemplo de valoración se indica en la figura VII donde se expone el resultado obtenido para el tratamiento normal T-0,5.

### 3.3. Determinación de aminoácidos. Preparación de la muestra y análisis (100)

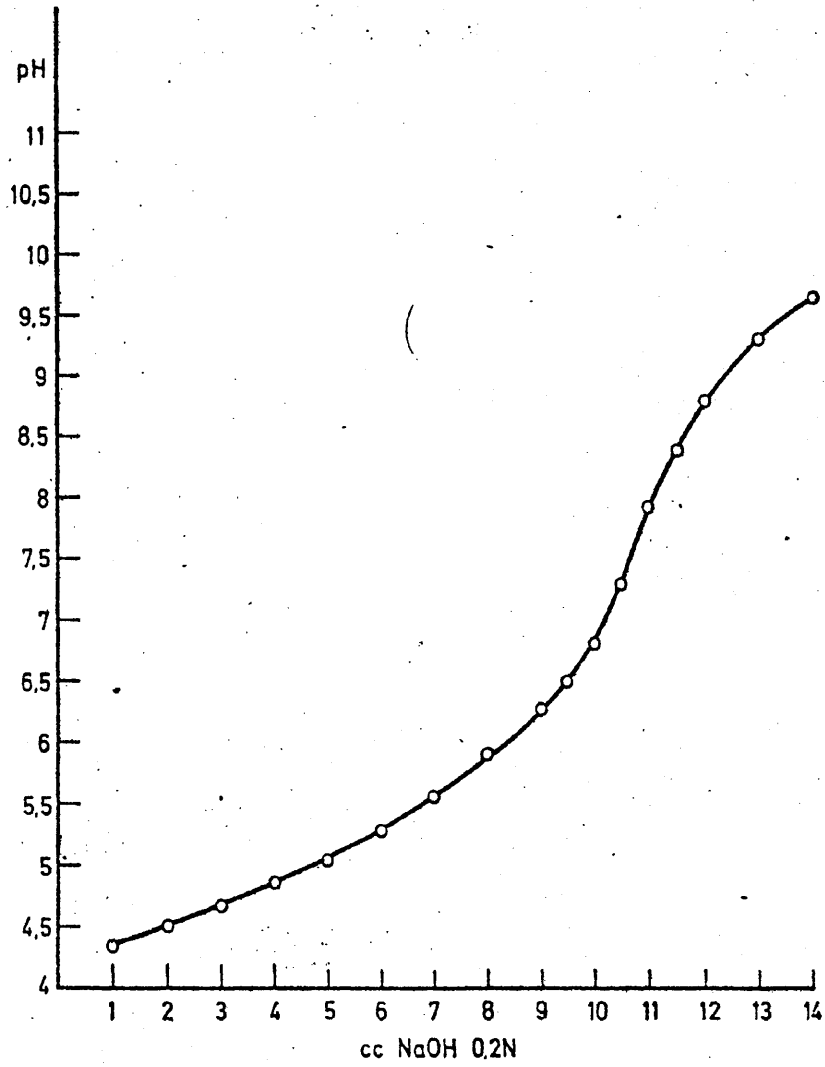
- Se toma un gramo de material liofilizado y se macera en un mortero con 20 ml. de alcohol de 96°.
- Se pasa a un tubo de centrifuga y se centrifuga a 3.000 r.p.m. durante quince minutos.
- El residuo se lava con alcohol de 80°, 60° y agua destilada sucesivamente, en fracciones de 10 ml.
- Se unen los líquidos procedentes de los diferentes lavados y se concentran en rotavapor hasta sequedad.
- Se disuelve el residuo en 2,5 ml. de ClH 0,1N.
- De aquí se toman 0,3 ml. para desarrollar el cromatograma en el Autoanalizador según se indicó para las muestras de savia.

### 3.4. Determinación de vitamina C. Preparación de la muestra y análisis.

- Se toma 1 gr. de fruto liofilizado y se le añade agua hasta 10 ml.
- A continuación se añaden 10 ml de reactivo ácido metafosfórico-acético(7), se mezcla bien y se filtra.
- Se toman 10 ml para la valoración de vitamina C.
- Dicha valoración, se hace de acuerdo con el método para valoración de vitamina C según la A.O.A.C. (7).

Figura VII

ACIDEZ TOTAL EN FRUTO  
Muestra T-0,5



**B.III. EXPERIMENTOS ORIENTADORES.**

## PLANTEAMIENTO EXPERIMENTAL

Durante muchos años el estudio de los oligoelementos se ha limitado al -- análisis de sus niveles totales en la planta. Sin embargo, las anomalías surgidas en la interpretación de resultados, por no estar de acuerdo los datos analíticos con la realidad, hicieron ver la necesidad de un conocimiento mas profundo de dos facetas fundamentales de estos elementos. Por una parte, el conocimiento de la fracción activa de cada uno de ellos aclararía la relación: concentración total de oligoelementos en la planta/concentración activa del mismo y por otra parte, los síntomas químicos y bioquímicos de la incidencia de los oligoelementos sobre el resto de los elementos nutritivos así como sobre sustancias orgánicas tales como azúcares, aminoácidos y ácidos orgánicos contenidos en la planta, nos permitirían profundizar en el conocimiento del oligoelemento en estudio.

Esta segunda faceta corresponde a la idea básica de nuestro planteamiento experimental dado que, teniendo en cuenta las características del material que utilizamos como referencia, es decir, la savia, podemos estudiar exhaustivamente los elementos que, como en el caso del -- nitrógeno, se determina en diferentes fracciones como  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NH}_4^+$ , N aminoácidos y N proteico, así como el índice metabólico  $\text{N mineral} / \text{N soluble total}$  total en el material savia.

Por otra parte, y utilizando el tomate como planta indicadora, se estudia la relación existente entre la composición de la savia del tejido próximo al fruto y la de este último con el fin de poder establecer un diagnóstico precoz de calidad, utilizando la savia como material de referencia desde los primeros estadios del ciclo de cultivo, relacionando los niveles de sustancias minerales, hidratos de carbono, aminoácidos y ácidos orgánicos de la savia con los correspondientes en el fruto, -

teniendo en cuenta la fracción o fracciones orgánicas y minerales que, junto con la vitamina C, definen el índice de calidad del tomate desde el punto de vista de nutrición propiamente dicha.

Paralelamente se estudió la incidencia del Boro en la estructura anatómica de las planta con el fin de conocer las consecuencias de las alteraciones producidas por un nivel inadecuado de Boro sobre las concentraciones de macronutrientes, en su metabolismo y por lo tanto en diversas fracciones orgánicas de la planta.

- Experimentos orientadores:

Planteamos, en primer lugar, un ensayo con el cultivo de tomate en el medio controlado que ya describimos en la primera parte del presente estudio.

Se ensayaron los siguientes niveles de Boro:

Deficiencia	Normalidad	Toxicidad
0, y 0,05 ppm B	0,5 ppm B	5 y 10 ppm B

No se hizo, en principio, planteamiento estadístico pues la finalidad del ensayo era orientarnos sobre el problema a estudiar en el sentido de conocer niveles de ligera deficiencia y toxicidad y poner a punto las metodologías a seguir en una serie final de ensayos donde se estudiará la significación de los datos en función de una serie de repeticiones planteadas estadísticamente.

Así pudimos ahorrar mucho trabajo al centrarnos en la comparación del tratamiento normal con los que son ligeramente deficientes y tóxicos. Por otra parte, en las dos series de ensayos podríamos aquilatar lo suficiente para establecer los niveles de Boro a partir de los caules comienzan la deficiencia y la toxicidad.

## 1. SINTOMAS VISUALES.

Aproximadamente al mes del trasplante empiezan a aparecer los síntomas de deficiencia y toxicidad. La primera se manifiesta por una clorosis de las hojas más jóvenes y menor desarrollo de las plantas; las flores caen y aparece también un agostamiento.

Los botones florales, no se desarrollan y terminan por secarse si la deficiencia es muy acusada.

En general los síntomas se presentan fundamentalmente en la punta de crecimiento de la planta.

Los tallos se hacen frágiles.

En las figuras VIII y IX se indican algunos de los síntomas descritos. Entre 0,07 y 0,05 ppm, puede observarse (fig IX) el paso crítico de la deficiencia a la normalidad.

La toxicidad empieza a manifestarse en las hojas — más viejas, cuyos bordes se encorvan, al mismo tiempo que aparecen manchas necróticas muy características por toda la superficie foliar que se observan en el haz y envés de la hoja. El efecto de la toxicidad : aparecía más precozmente que de la deficiencia. No se observa ningún síntoma en el punto de crecimiento. El síntoma se observa para valores superiores a 0,5 ppm de B en la solución nutritiva. Los tallos apenas son afectados por la toxicidad de Boro.

La pequeña movilidad del Boro es la causa según — Bussler de que la deficiencia se manifieste en las hojas jóvenes y la toxicidad en las viejas fundamentalmente.

En las figuras XI y XII se indican los síntomas visuales descritos.



Figura VIII. Detalle de la punta de crecimiento en la deficiencia de Boro.



Figura IX. Paso crítico de la deficiencia a la normalidad en Boro.

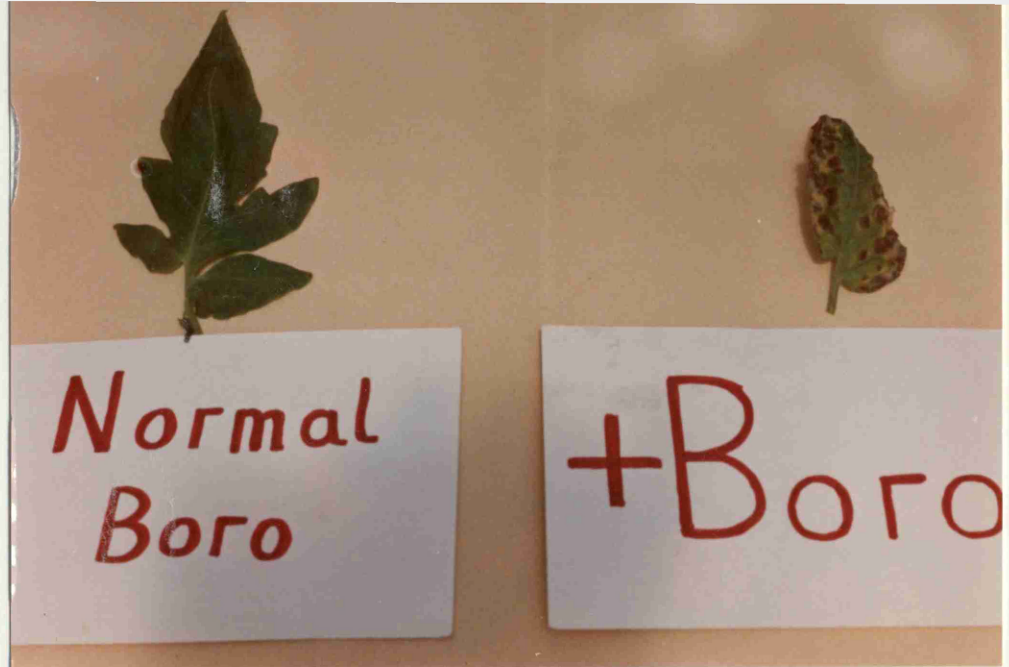


Figura X. Comparación entre la normalidad y el comienzo de la toxicidad en Boro.

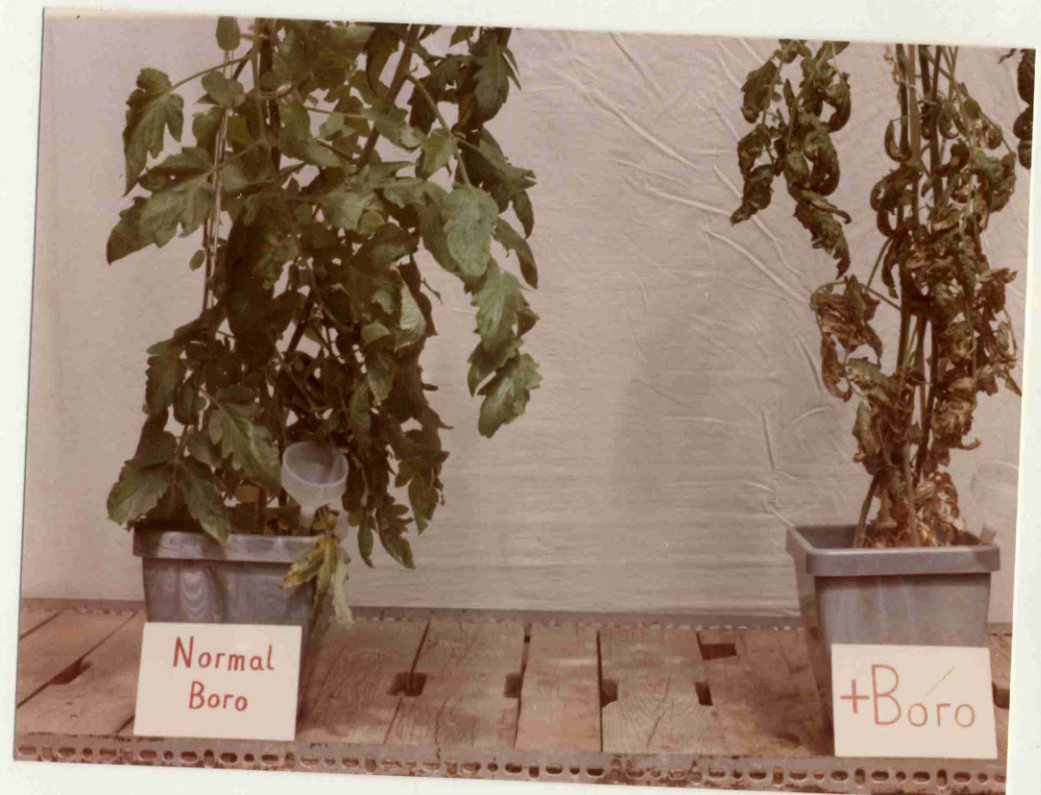


Figura XI. Efecto de la toxicidad de Boro en las hojas más viejas.

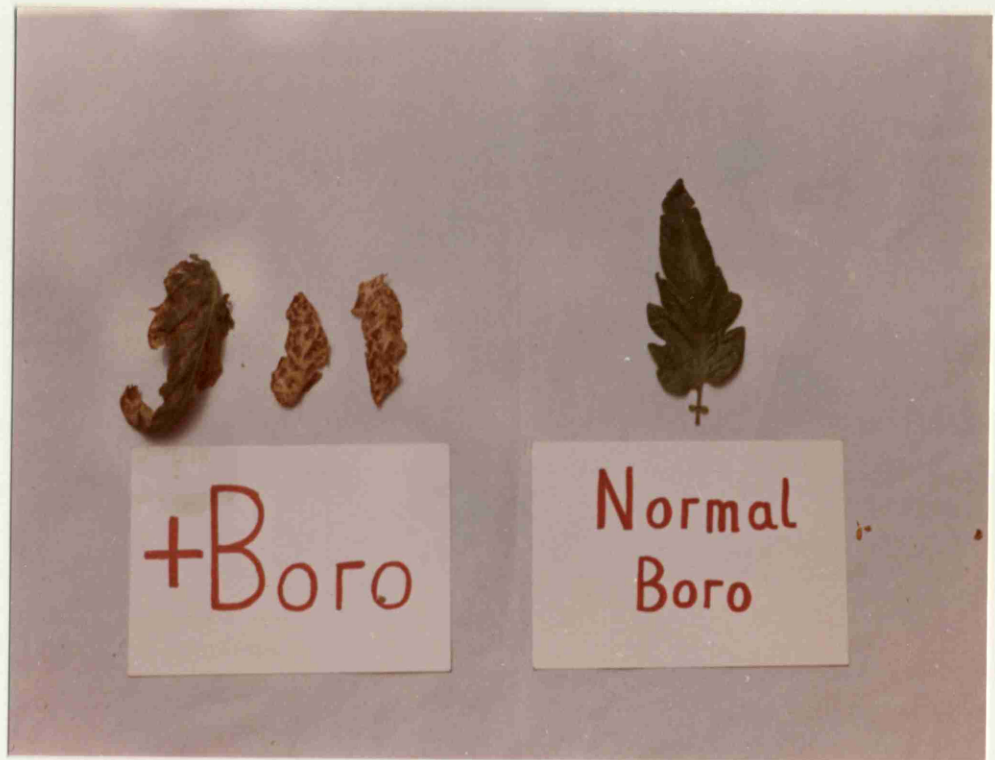


Figura XII= Comparación entre la normalidad y los diferentes grados de toxicidad en Boro.

## 2. CORTES HISTOLOGICOS.

Como complemento de lo anteriormente expuesto y a fin de comprobar las consecuencias de las alteraciones metabólicas que se han observado, realizamos una serie de cortes histológicos en hoja y que se indican en el apartado correspondiente, según el método de De Felipe y Grossenbacher (35).

En las figuras XIII, XIV y XV, se exponen los resultados correspondientes a los tratamientos deficiente normal y tóxico en Boro. En este último no se aprecian diferencias respecto al normal. Pero si comparamos el normal con el deficiente, observamos en el primero - que:

- Vasos xilemáticos más lignificados, especialmente en el xilema ma duro.
- Hay un aumento de lignina en los pelos de la hoja.
- Está más lignificado el colénquima del nervio medio.
- No hay variación en el mesófilo.

Estos resultados coinciden con los obtenidos por Dutta and Mcilrath (41) y Perkins and Aronoff (90).

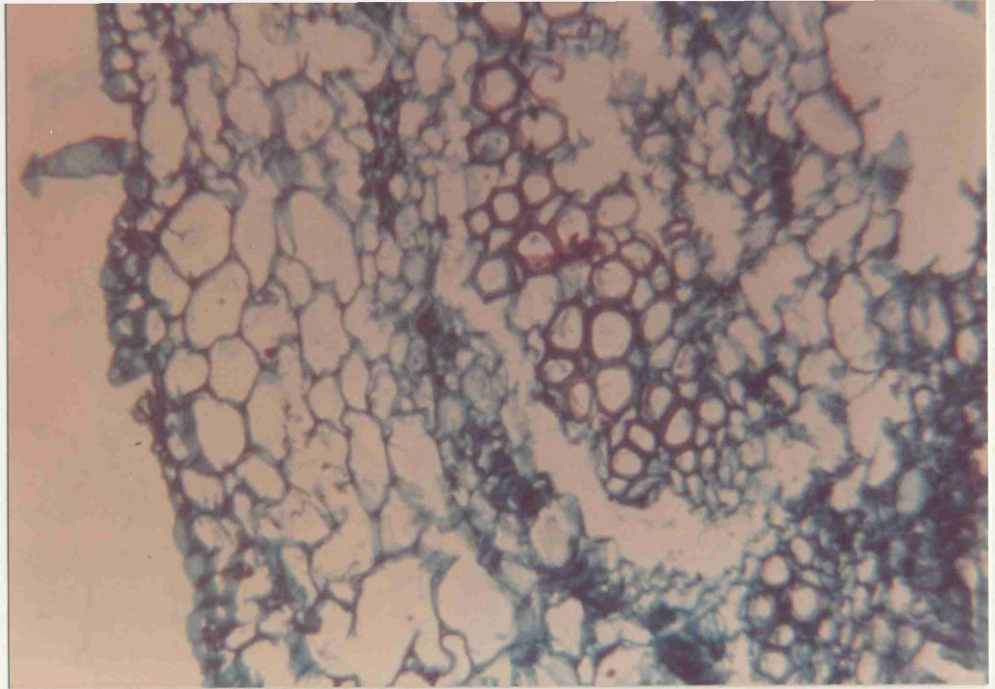


Figura XIII. Detalle de la menor lignificación en el xilema para la deficiencia de Boro.

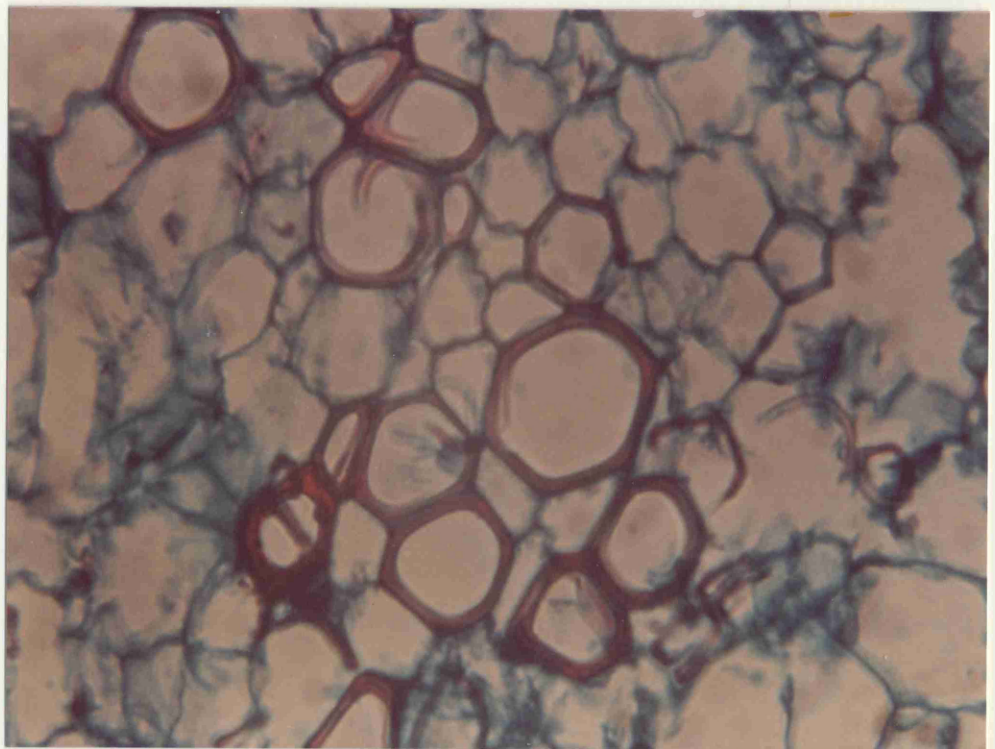


Figura XIV. Lignificación del xilema para el tratamiento normal en Boro.

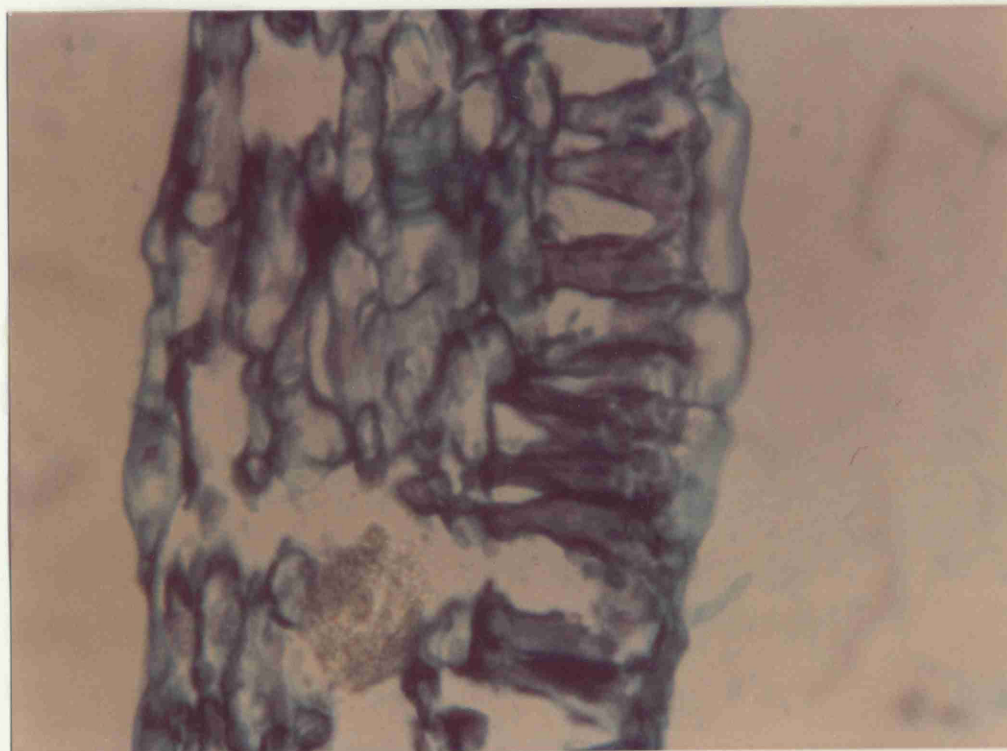


Figura XV. Detalle del mesófilo para el tratamiento tóxico en Boro.

### 3. ANALISIS DE MACROELEMENTOS.

Durante dos épocas del ciclo de cultivo, floración y principio de fructificación, se llevaron a cabo las tomas de muestra, verificando los correspondientes análisis con los resultados que exponemos a continuación en forma de gráfica, pues se pretendía en principio obtener exclusivamente valores de las tendencias de los diferentes elementos nutritivos para a continuación y en función de dichas tendencias, realizar los ensayos planteados estadísticamente. De esta manera pudimos ahorrar tratamientos y repeticiones al centrar los problemas a estudiar en los niveles de ligera deficiencia y toxicidad. En las figuras XVI a XLVII, se exponen los resultados obtenidos sobre savia o jugo extraído de los tejidos conductores de toda la planta ( floración) - y de las hojas compuestas mas cercanas al 1<sup>er</sup> pomo floral (fructificación) y sobre los foliolos correspondientes a toda la planta y hoja mencionada (análisis foliar). respectivamente.

#### 3.1. Savia.

- Nitrógeno.- Observando las figuras XVI a XXIII, se deducen las siguientes conclusiones:

El  $N(NO_3^-)$ , se eleva de una forma acusada tanto en los tratamientos deficientes como en los tóxicos, en relación con los normales. El fenómeno es similar para las dos épocas estudiadas, aunque en la fructificación el descenso es menos brusco que en la floración.

Por, otra parte, tanto en la floración como en la fructificación, no se producen variaciones muy significativas para el resto de las

fracciones nitrogenadas entre los niveles 0,05 (ligera deficiencia) y 0,5 (por encima del cual aparecen los primeros síntomas de toxicidad). Sin embargo, para el N de aminoácidos, parece producirse una tendencia contraria a la de los  $\text{NO}_3^-$  para los valores deficientes en la floración y tóxicos en la fructificación. El N proteico no presenta variaciones significativas.

Aunque el  $\text{NH}_4^+$  presenta unas tendencias contrarias a los  $\text{NO}_3^-$  las diferencias son relativamente pequeñas y difíciles de interpretar puesto que los valores de  $\text{NH}_4^+$  pueden deberse a hidrólisis del N de aminoácidos producida durante la preparación de la muestra y determinación analítica, ya que las dos fracciones nitrogenadas coexisten en la misma solución. La verdadera incidencia del Boro en el elemento considerado se deduce de la fig. XX, donde se observa que el índice metabólico  $\text{Nm}^{\%}$  N.S.T. (N mineral% N soluble total en savia o  $\text{Nm}^{\%}$  Ninorgánico mas orgánico), presenta valores mas altos para los niveles deficientes y tóxicos en Boro, de lo que se deduce que ambos niveles originan una acumulación de N mineral en la savia por descender la intensidad de transformación del  $\text{NO}_3^-$  absorbido por la planta.

Si tenemos en cuenta que el Np en la fructificación no presentó variaciones significativas al efectuar el cálculo del N mineral con respecto al total de la savia, obtendríamos para esta época la misma conclusión antes indicada para la floración.

Al determinar los diferentes aminoácidos en savia pudimos comprobar que es lógico que no se aprecien correctamente las diferencias en algunos casos por los valores globales de N aminoácidos, pues por causa del tratamiento se producen diferencias entre los diversos aminoáci-

dos en algunos casos de signo contrario produciendo por tanto, estos — efectos yuxtapuestos, grandes problemas para su interpretación global. Por lo tanto el estudio de las variaciones del N de aminoácidos lo consideraremos nuevamente en los experimentos planteados estadísticamente.

- Fósforo.— De las figuras XXIV a XXIX se deducen las siguientes conclusiones:

Tanto los valores deficientes como tóxicos producen un aumento de P mineral frente a los valores normales de Boro, siendo el aumento mayor para los niveles deficientes que para los tóxicos. En la fructificación se aprecian tendencias similares pero mucho menos acusadas.

Respecto al P orgánico, precipitado con las proteínas, tanto para la floración como para la fructificación, el nivel deficiente no parece presentar diferencias significativas con respecto al normal. — Sin embargo los tratamientos tóxicos contienen valores notablemente inferiores al normal.

Posiblemente, la verdadera incidencia del Boro sobre el P, se pone de manifiesto en las figuras XXVI y XXIX donde se aprecia que — tanto los valores deficientes como tóxicos evitan la transformación del P absorbido en el porcentaje adecuado, acumulándose en forma mineral. La incidencia descrita parece más acentuada para los tratamientos ligeramente tóxicos que para los ligeramente deficientes fundamentalmente en la fructificación.

Podemos pensar también que la causa de la incidencia de los distintos niveles de Boro sobre el P puede ser una consecuencia del efecto de N sobre el metabolismo del P, y ~~que~~ según Routchenko, Hernando y

Cadahía (50), cuando la nutrición nitrogenada es adecuada, se incrementa el metabolismo del P absorbido hasta un valor determinado, siendo dicho valor más bajo cuando la nutrición nitrogenada es deficitaria.

En conjunto parece deducirse claramente que el Boro actúa, directa o indirectamente, pero de forma definida en el metabolismo de la planta.

- Potasio.- De las figuras XXX y XXXI, se deduce que, fundamentalmente los niveles tóxicos originan un aumento ligeramente significativo en la absorción de K. Dicha absorción es posible que sea debida a la acumulación de  $\text{NO}_3^-$  provocada por la interrupción del metabolismo de dicho elemento antes señalada y no por una acción directa del nivel de Boro sobre el K.

Hemos observado en varios experimentos un efecto sinérgico entre nitratos y potasio que estaría de acuerdo con la explicación anteriormente dada.

- Calcio.- En las figuras XXXII y XXXIII se aprecia una disminución en el nivel de Ca cuando se produce una deficiencia o una toxicidad de Boro. La explicación de este fenómeno ya observado por otros autores (30), (62) y (121), podría ser la siguiente: la deficiencia del Boro provoca una disminución en la absorción del calcio, puesto que esta deficiencia se manifestó en el fruto por el síntoma denominado "blossom-end rot" o "podredumbre apical". La causa puede deberse al antagonismo K/Ca pues la deficiencia de Boro hemos visto que provoca una acumulación de nitratos con el consiguiente efecto sinérgico sobre el potasio.

Sin embargo en la toxicidad de Boro no se produjo dicho síntoma, ya que, aun dándose el mencionado antagonismo K/Ca por las razones antes indicadas, tiene lugar otro efecto que puede explicarse de la siguiente forma: si observamos las figuras XLIV y XLV correspondientes al análisis foliar, los niveles de calcio en hoja se van elevando desde la floración hasta la fructificación para los valores tóxicos en Boro, obteniéndose en la savia valores bajos de Ca por acumularse en la hoja y por tanto en el fruto, es decir que el ritmo de incorporación del calcio al fruto es superior al de absorción por la planta. Por lo tanto el aumento de la permeabilidad para el calcio producido por la toxicidad de Boro, compensa la interacción K/Ca.

- Sodio y magnesio.- En las figuras XXXIV y XXXVII se observa que el Na y Mg no experimentan variaciones significativas aunque parece ser que el Mg desciende ligeramente en los tratamientos con toxicidad de Boro, produciéndose un efecto similar al indicado para el Ca (si observamos el análisis foliar), aunque menos pronunciado. El sodio, por otra parte, no se añadió en la solución nutritiva y el bajo nivel encontrado corresponde a la pequeña cantidad de NaOH que se añade para neutralizar parcialmente dicha solución.

### 3.2. Hoja.

De las figuras XXXVIII y XXXIX, se deduce lo siguiente:

- Nitrógeno.- Presenta los valores más bajos en el tratamiento normal (igual que los nitratos en la savia), aunque las diferencias son relativamente pequeñas. Sin embargo, la interpretación que habría que darse a

este resultado sería que la planta por efecto de la deficiencia y toxicidad de Boro, absorbe más N, lo cual, en cierto modo y sin producirse efectos de concentración, no resulta demasiado lógico. Lo que si podemos dar como explicación más adecuada es el efecto de la acumulación del nitrato no metabolizado, deducido al utilizar la savia como material de referencia ; pero no al interpretar el análisis del N en hoja. Dea aquí la importancia que el material savia tiene como referencia real de la alimentación nitrogenada de la planta.

- Fósforo.- Al observar la figura XL y XLI, se deduce una conclusión - similar a la descrita para el N. Una vez más la savia pone de manifiesto el verdadero fenómeno de nutrición y no así el análisis foliar, al determinar un valor global del fósforo nos proporciona, realmente unas diferencias significativas pero no la verdadera significación de dichas diferencias.

- Potasio.- En las figuras XLII y XLIII se observa que, probablemente a causa del efecto sinérgico N/K, los tratamientos deficientes y tóxicos en Boro, absorben más K, acentuándose dicho fenómeno en la época de fructificación.

- Calcio y magnesio.- En las figuras XLIV a XLVII se observa que las variaciones del Ca con respecto a los tratamientos de Boro, evolucionan en el sentido que para los niveles tóxicos, la concentración de Ca en hoja aumenta desde la floración a la fructificación y para esta última época el valor de Ca aumenta con el nivel de Boro. Esta acumulación de Ca en hoja para niveles tóxicos de Boro, debe corresponderse con un aumento de Ca en fruto y puede explicar que en savia hayamos encontrado

niveles mas bajos de Ca para tratamientos tóxicos de B, por sobrepasar el ritmo de incorporación de Ca en fruto al de absorción por la planta . En resumen, parece ser que los niveles altos de Boro, aumentan la permeabilidad y por tanto la movilidad del Ca en la planta, superando al efecto de interacción K/Ca, segun se indicó al comentar los niveles de Ca en savia.

Para el Mg y aunque las diferencias no son significativas, durante la fructificación parece darse un fenomeno semejante al señalado para el Ca.

Figura XVI  
ENSAYOS ORIENTADORES

Concentración  $N(NO_3^-)$  en savia/B sol. nutritiva. FLORACION

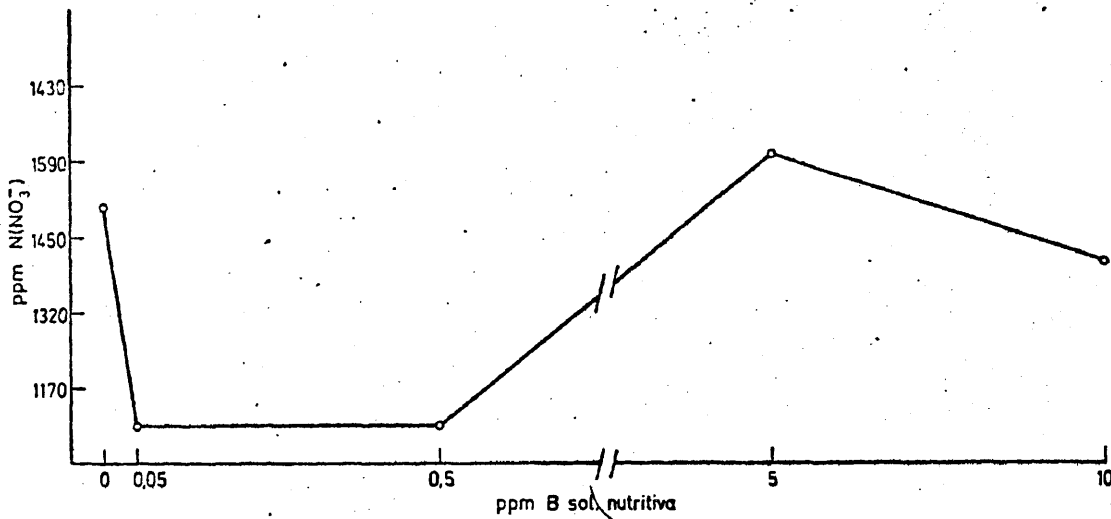


Figura XVII  
ENSAYOS ORIENTADORES

Concentración  $N(NH_4^+)$  en savia/B sol. nutritiva. FLORACION

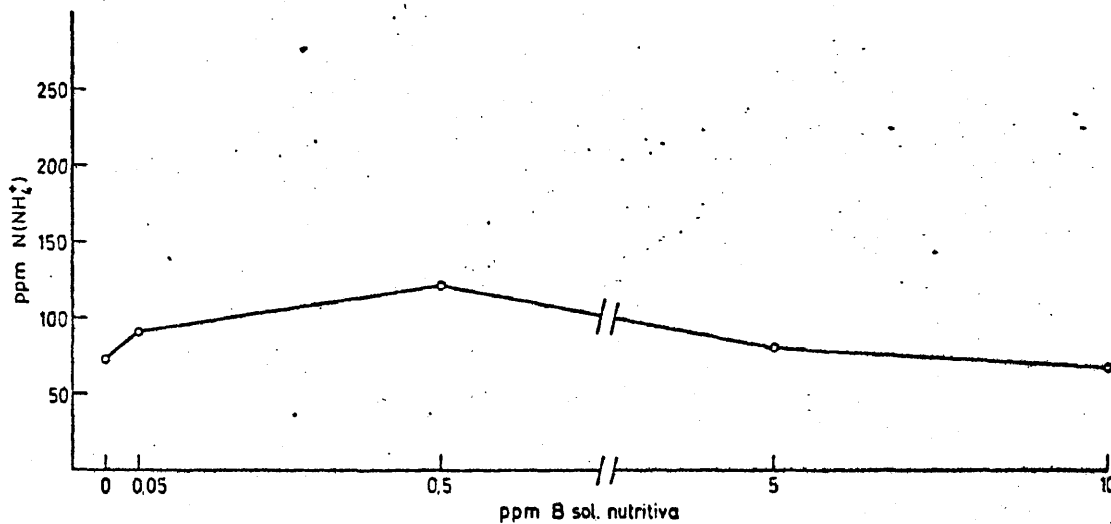


Figura XVIII  
ENSAYOS ORIENTADORES

Concentración N am. en savia/B sol. nutritiva. FLORACION

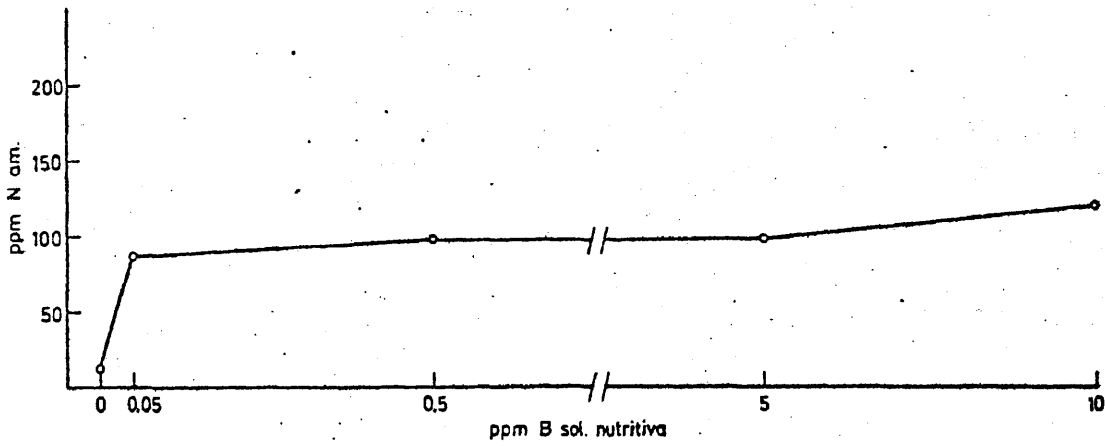


Figura XIX

ENSAYOS ORIENTADORES

Concentración NP en savia/B sol. nutritiva. FLORACION

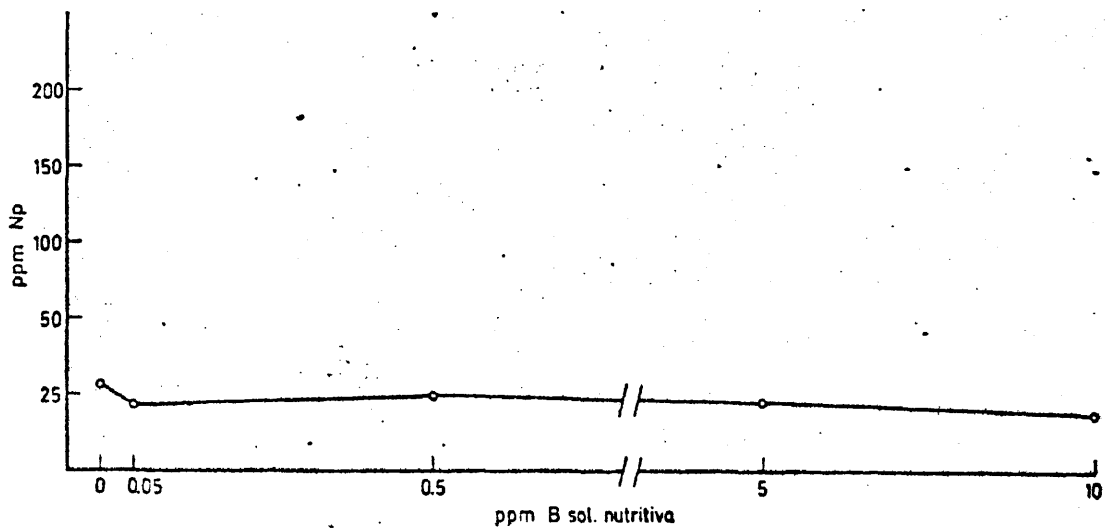


Figura XX  
ENSAYOS ORIENTADORES  
Nm % N. S. total en savia/B sol. nutritiva. FLORACION

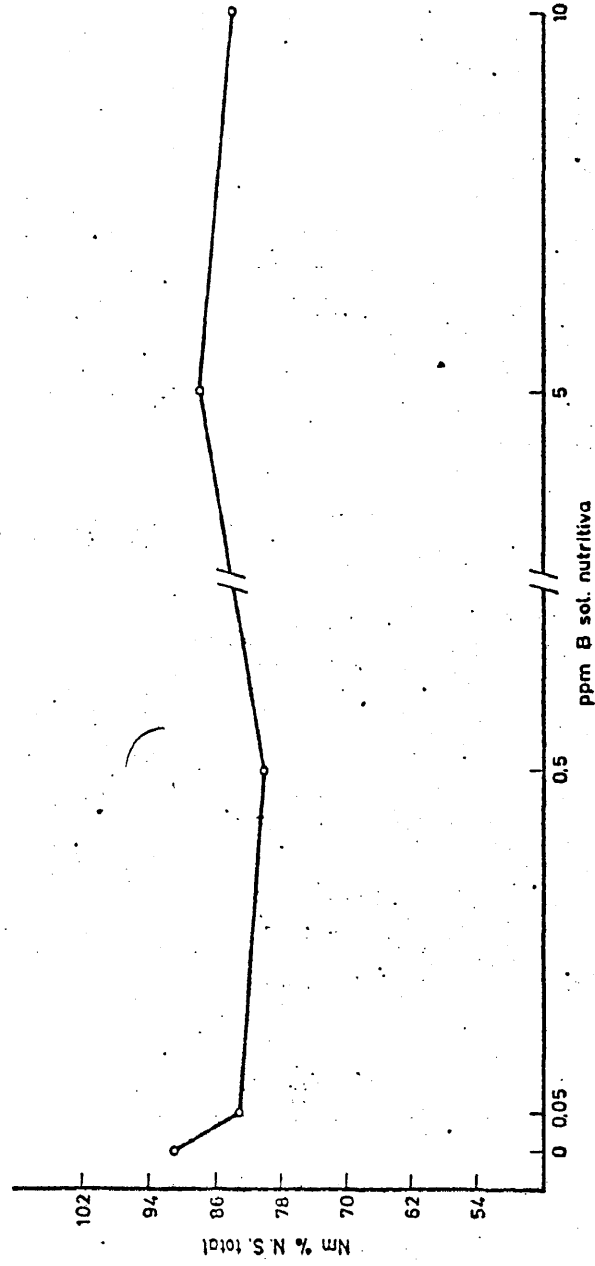


Figura XXI  
ENSAYOS ORIENTADORES

Concentración  $N(NO_3^-)$  en soya/B sol. nutritiva. FRUCTIFICACION

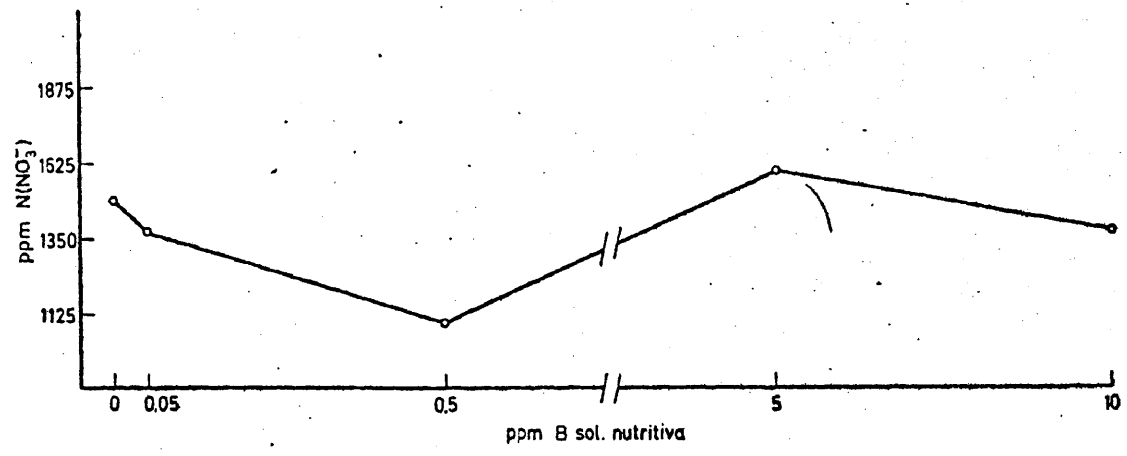


Figura XXII  
ENSAYOS ORIENTADORES

Concentración  $N(NH_4^+)$  en soya/B sol. nutritiva. FRUCTIFICACION

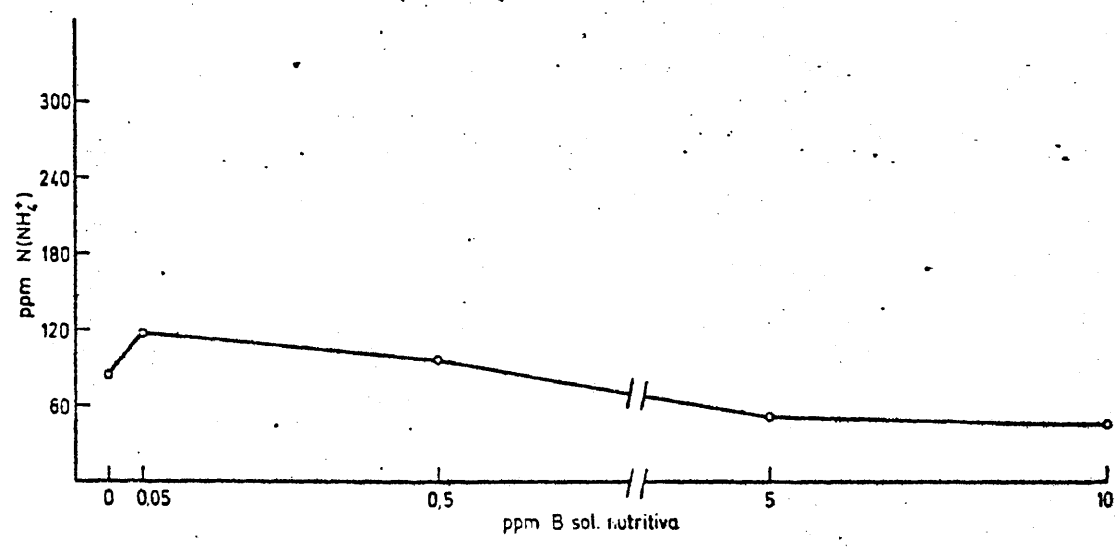


Figura XXIII  
ENSAYOS ORIENTADORES  
Concentración N am. en savia/B sol. nutritiva. FRUCTIFICACION

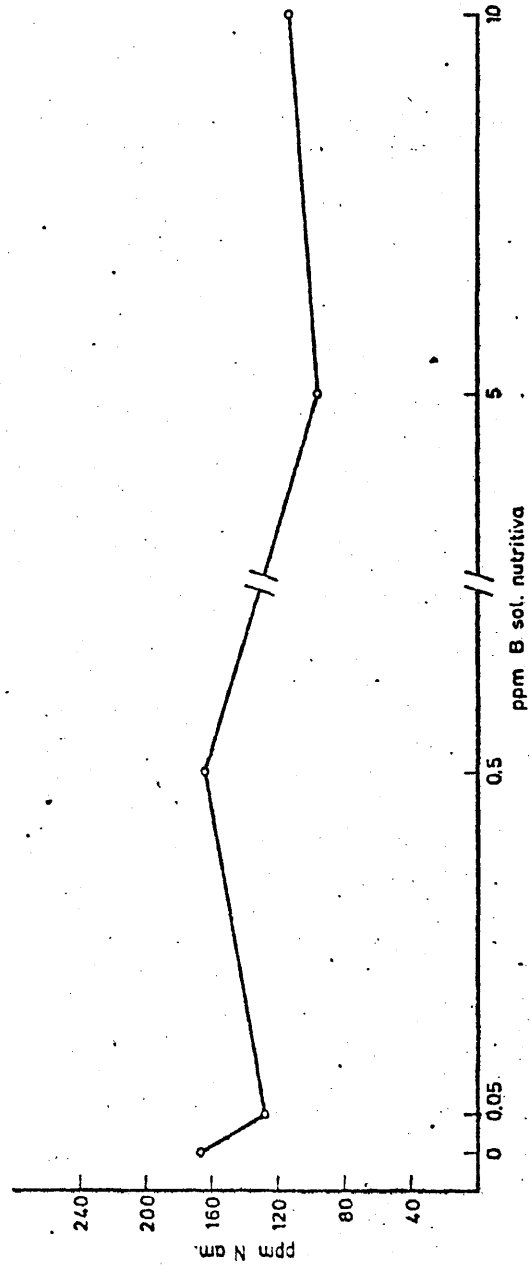


Figura XXIV

ENSAYOS ORIENTADORES

Concentración  $P(PO_4, H_2)$  en savia/B sol. nutritiva: FLORACION

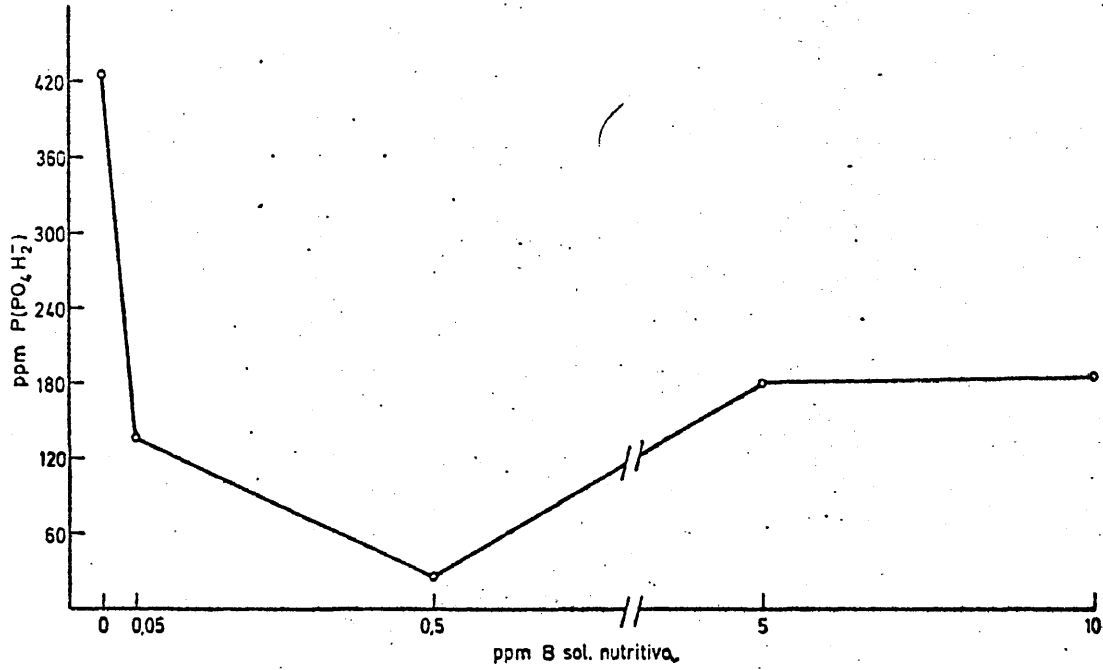


Figura XXV

ENSAYOS ORIENTADORES

Concentración P org. en savia/B sol. nutritiva. FLORACION

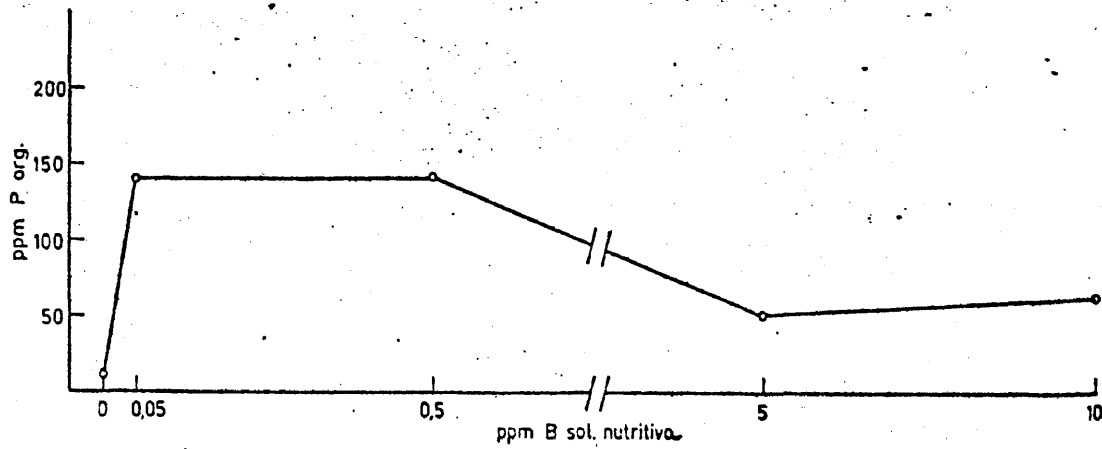


Figura XXVI  
ENSAYOS ORIENTADORES  
Pm % P. S. total en savia/B sol. nutritiva. FLORACION

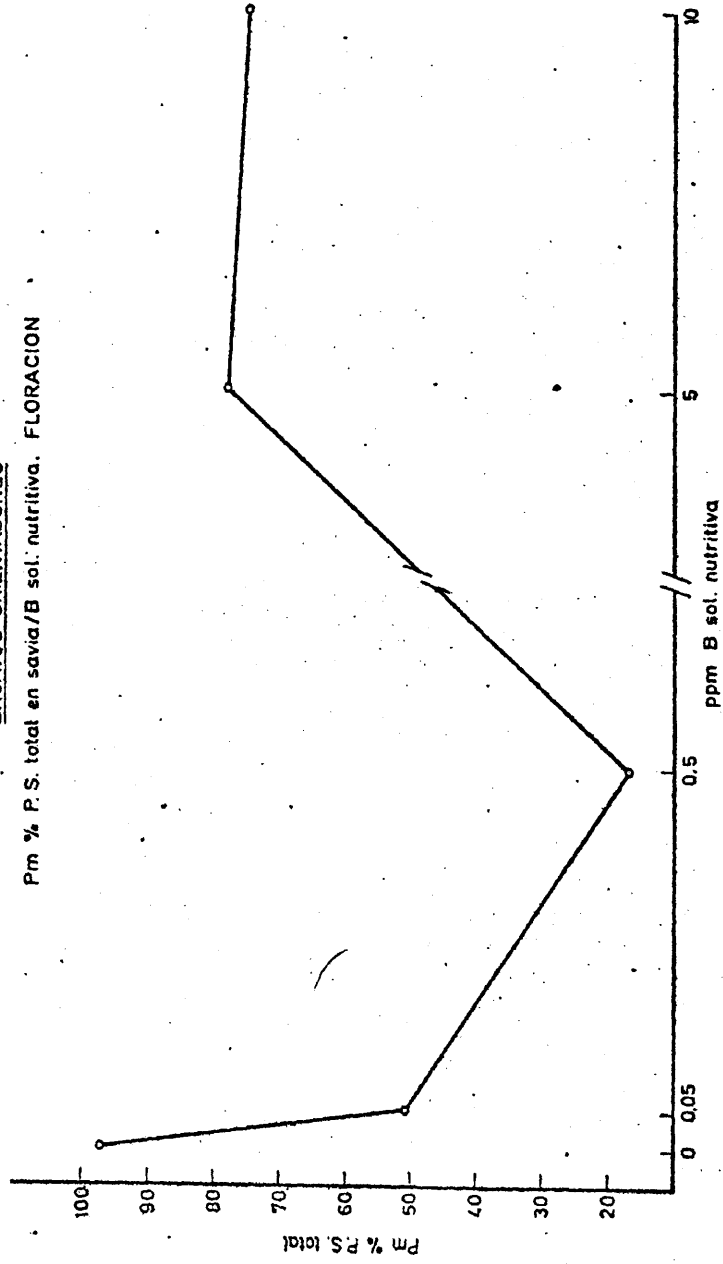


Figura XXVII

ENSAYOS ORIENTADORES

Concentración  $P(PO_4H_2^-)$  en savia/B sol. nutritiva. FRUCTIFICACION

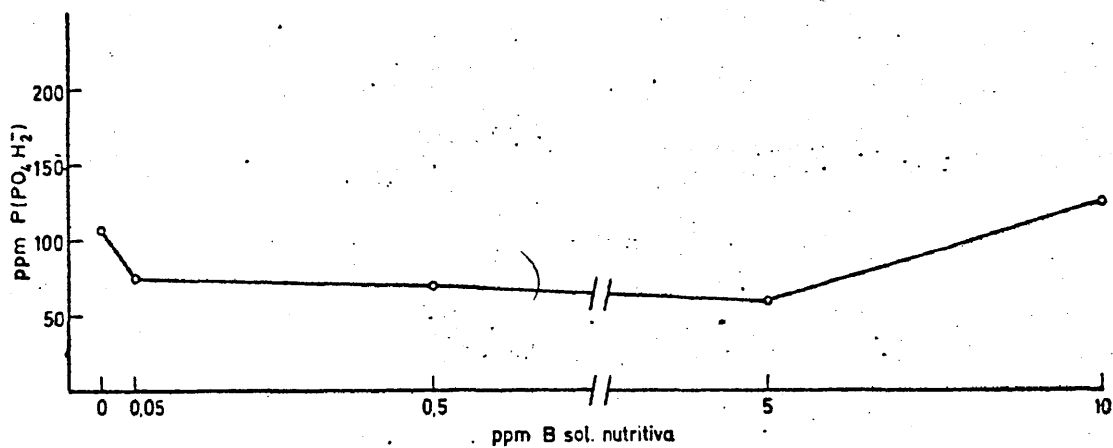


Figura XXVIII

ENSAYOS ORIENTADORES

Concentración P org. en savia/B sol. nutritiva. FRUCTIFICACION

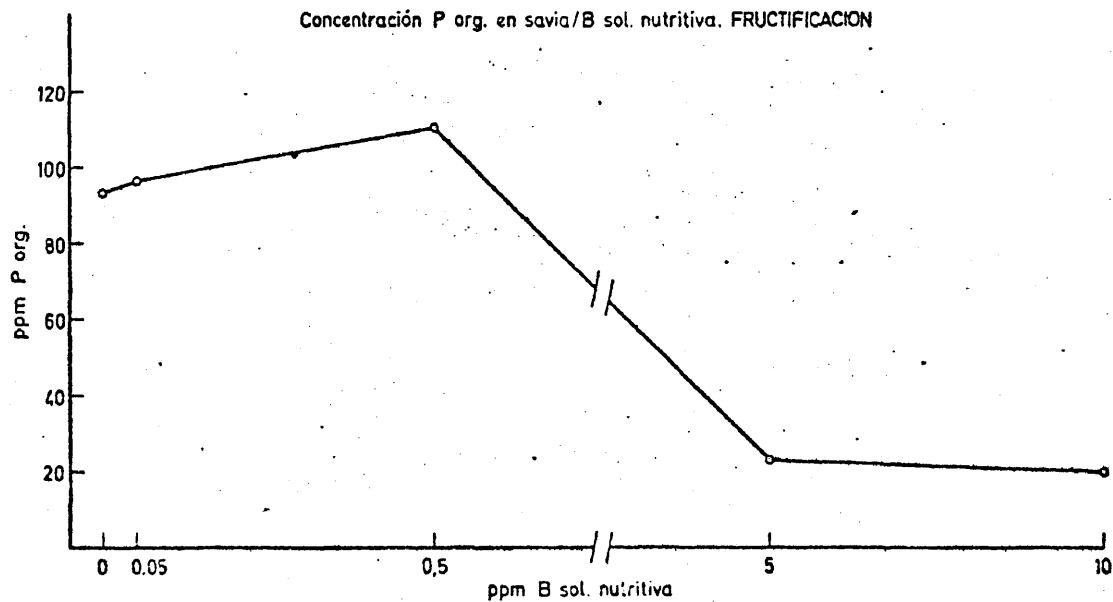


Figura XXIX  
ENSAYOS ORIENTADORES  
Pm % de P.S. total en savia/B sol. nutritiva. FRUCTIFICACION

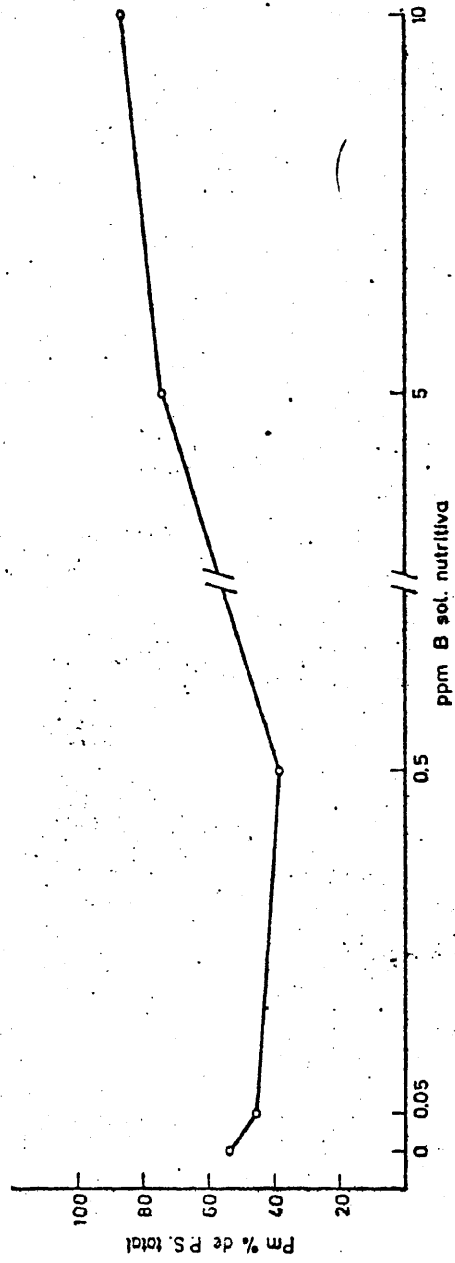


Figura XXX  
ENSAYOS ORIENTADORES

Concentración K en savia/B sol. nutritiva. FLORACION

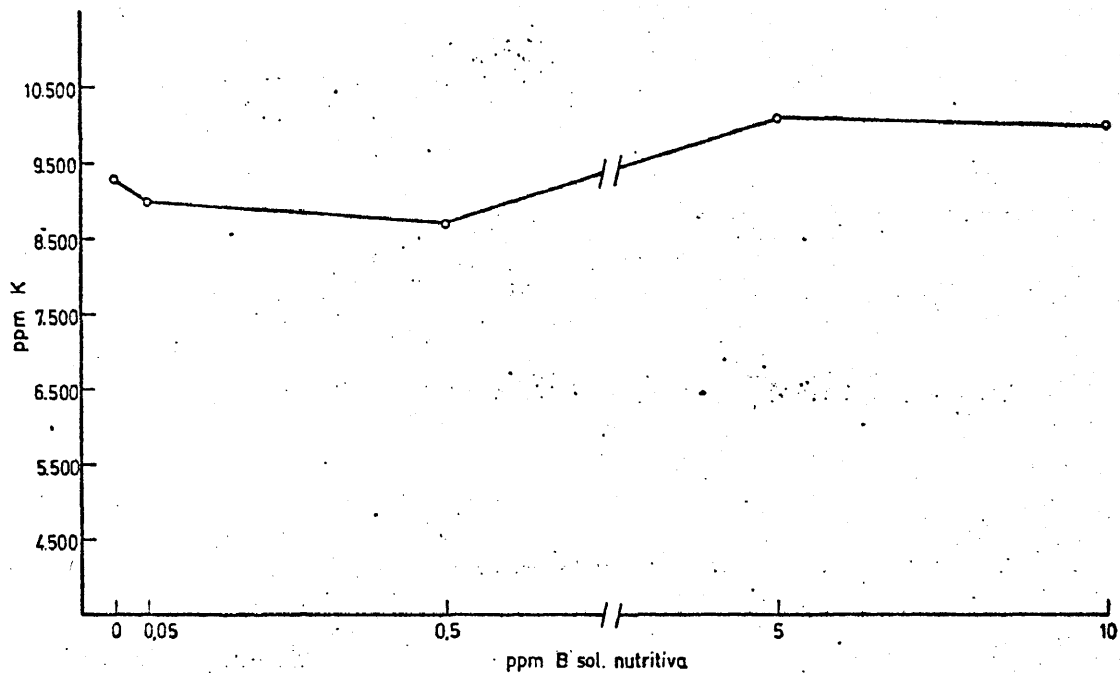


Figura XXXI  
ENSAYOS ORIENTADORES

Concentración K en savia/B sol. nutritiva. FRUCTIFICACION

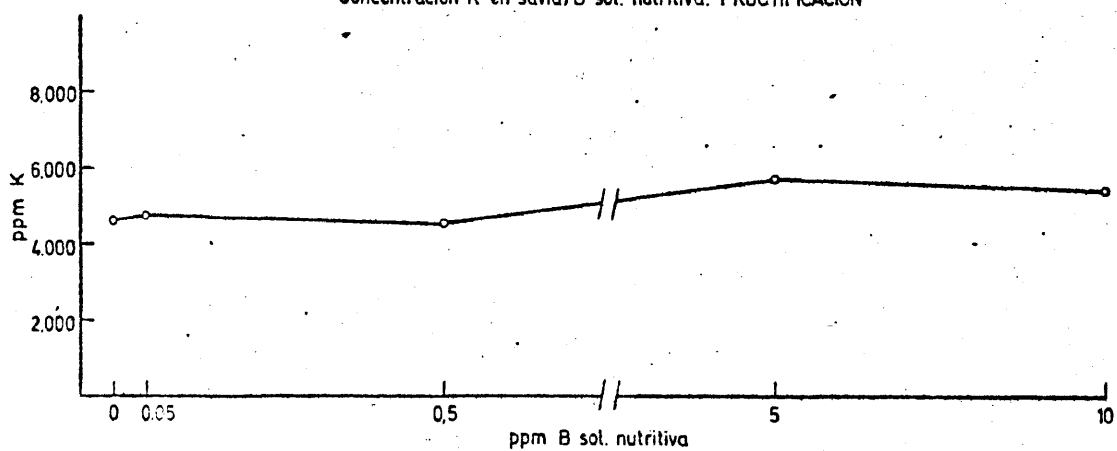


Figura XXXII

ENSAYOS ORIENTADORES

Concentración Ca total en savia/B sol. nutritiva. FLORACION

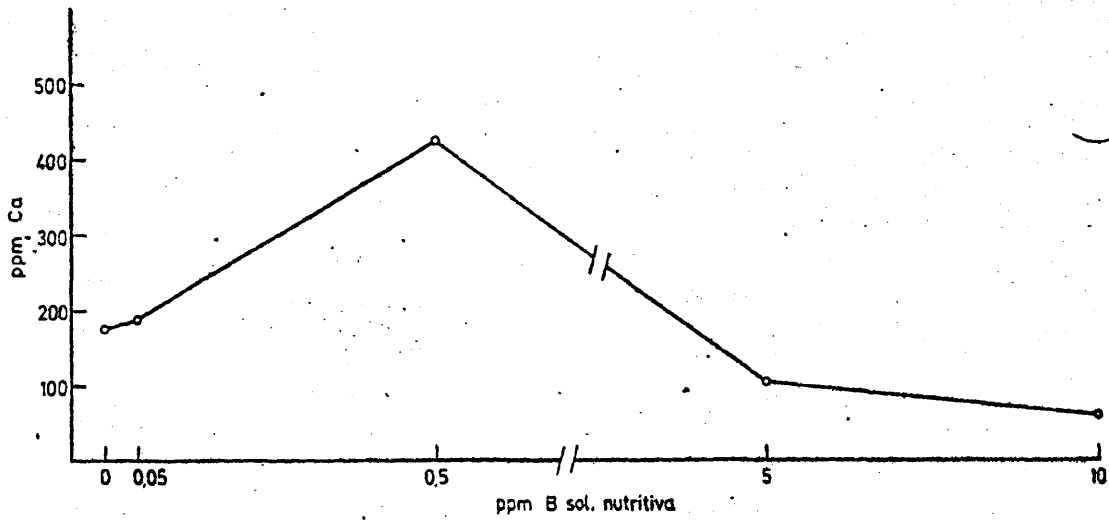


Figura XXXIII

ENSAYOS ORIENTADORES

Concentración Ca total en savia/B sol. nutritiva. FRUCTIFICACION

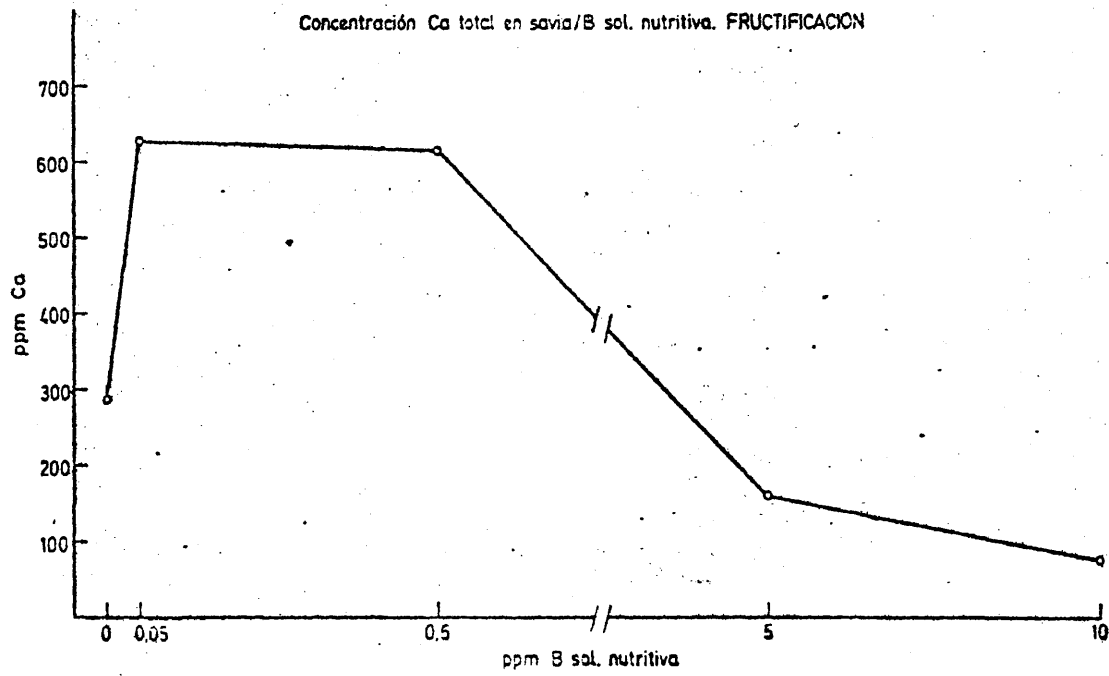


Figura XXIV  
ENSAYOS ORIENTADORES

Concentración Na en savia/B sol. nutritiva. FLORACION

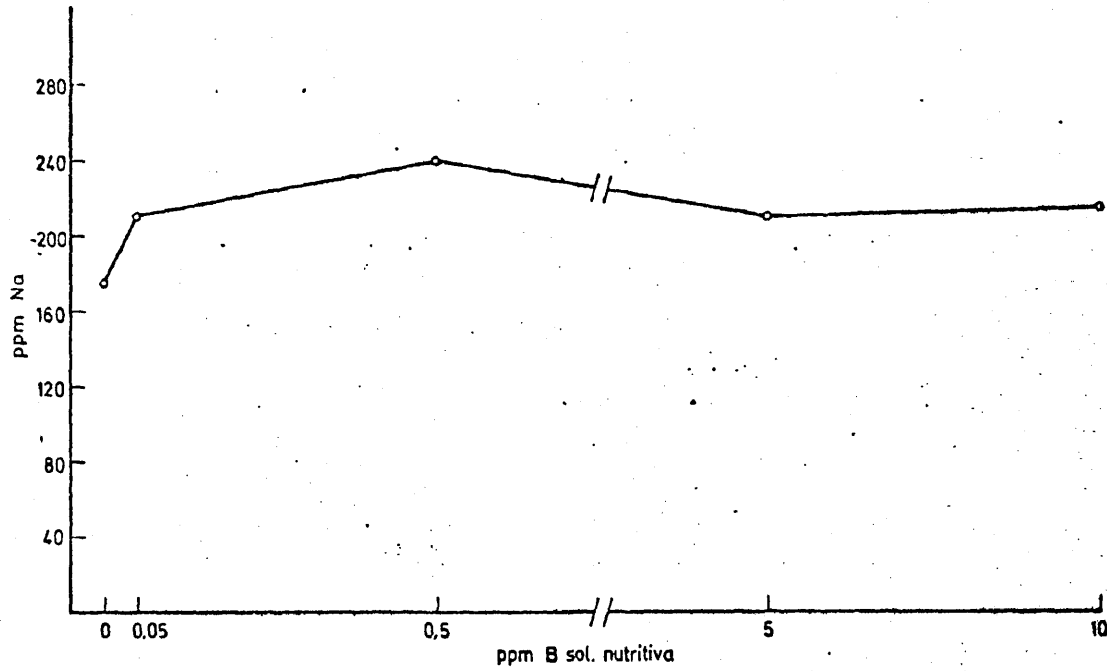


Figura XXXV  
ENSAYOS ORIENTADORES

Concentración Na en savia/B sol. nutritiva. FRUCTIFICACION

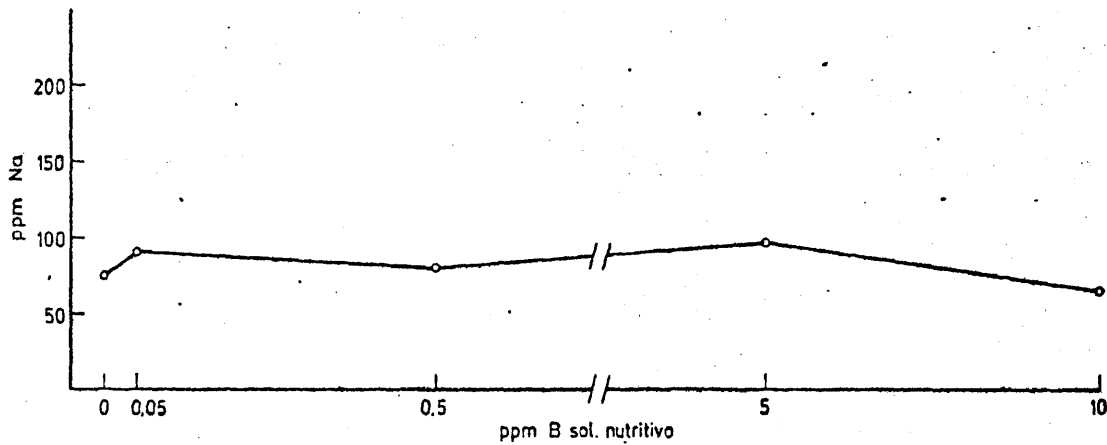


Figura XXXVI  
ENSAYOS ORIENTADORES  
Concentración Mg en savia/B sol. nutritiva. FLORACION

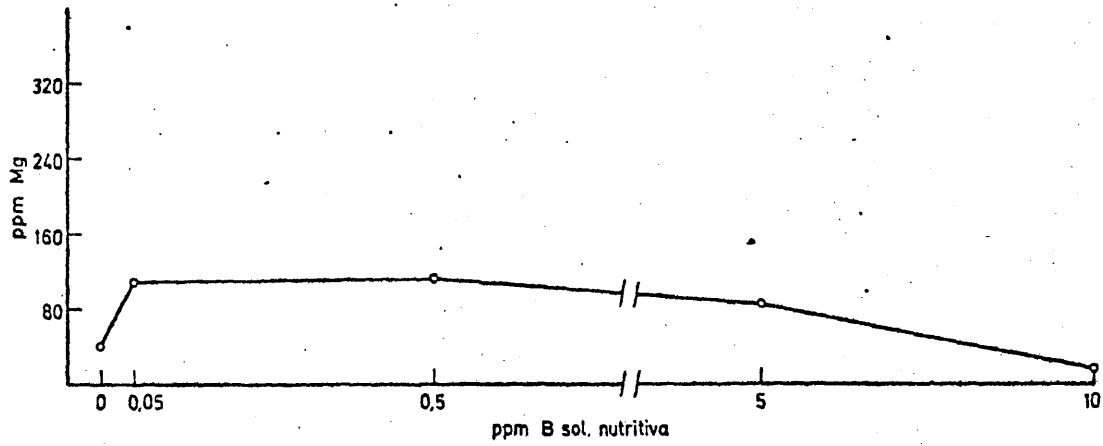


Figura XXXVII  
ENSAYOS ORIENTADORES  
Concentración Mg en savia/B sol. nutritiva. FRUCTIFICACION

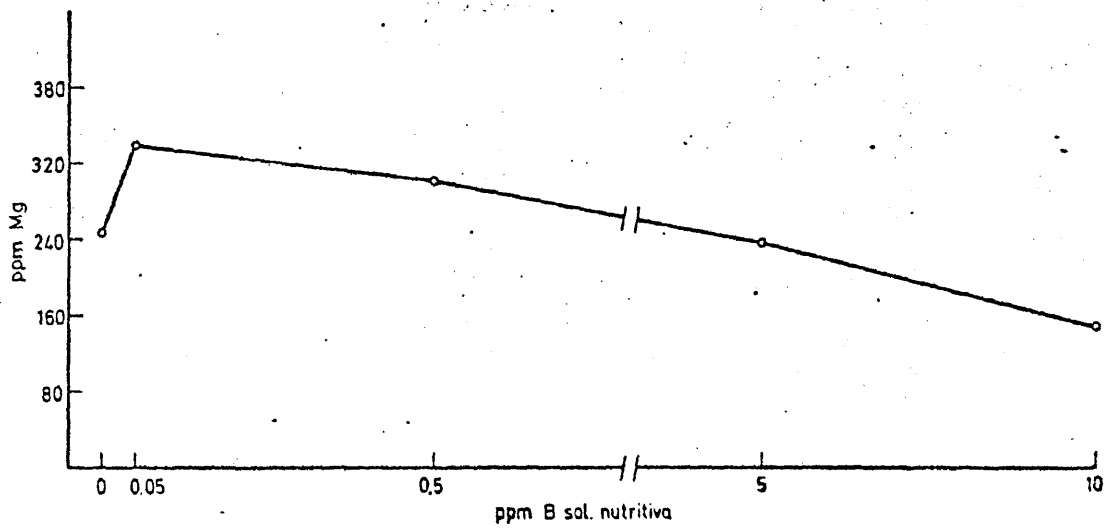


Figura XXXVIII  
ENSAYOS ORIENTADORES

% de N en hoja/B sol. nutritiva. FLORACION

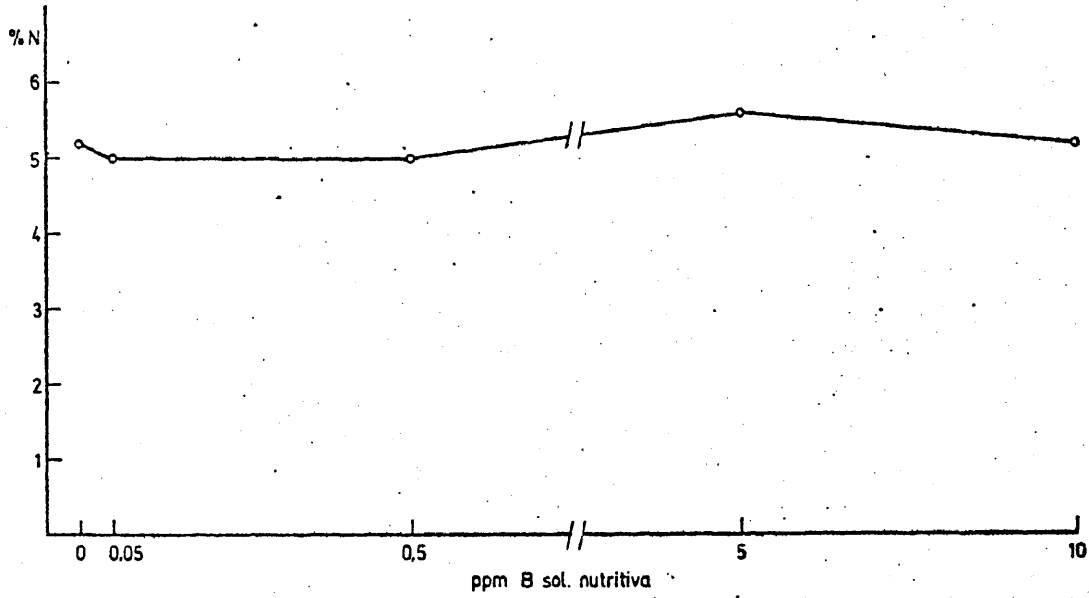


Figura XXXIX  
ENSAYOS ORIENTADORES

% de N. en hoja/B sol. nutritiva. FRUCTIFICACION

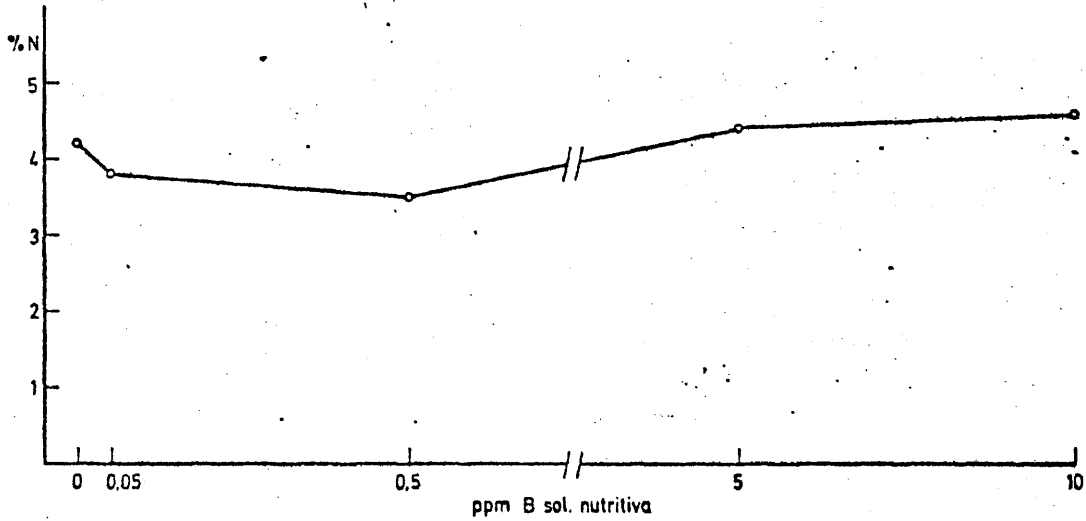


Figura XL  
ENSAYOS ORIENTADORES

% de P en hoja/B sol. nutritiva. FLORACION

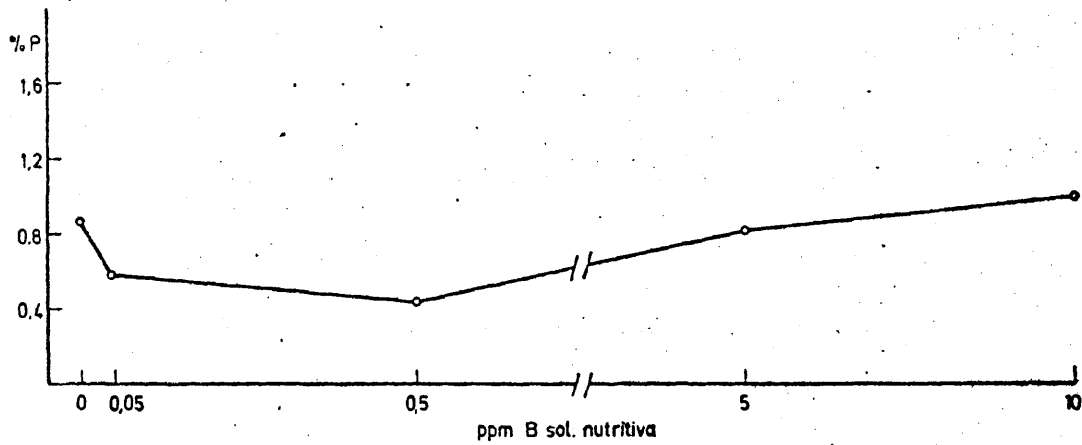


Figura XLI  
ENSAYOS ORIENTADORES

% de P en hoja/B sol. nutritiva. FRUCTIFICACION

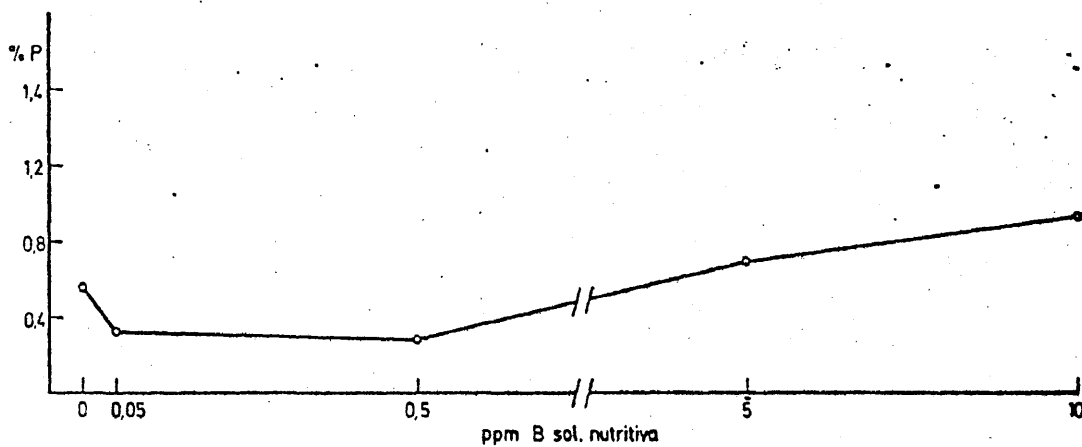


Figura XLII  
ENSAYOS ORIENTADORES

% de K en hoja/B sol. nutritiva. FLORACION

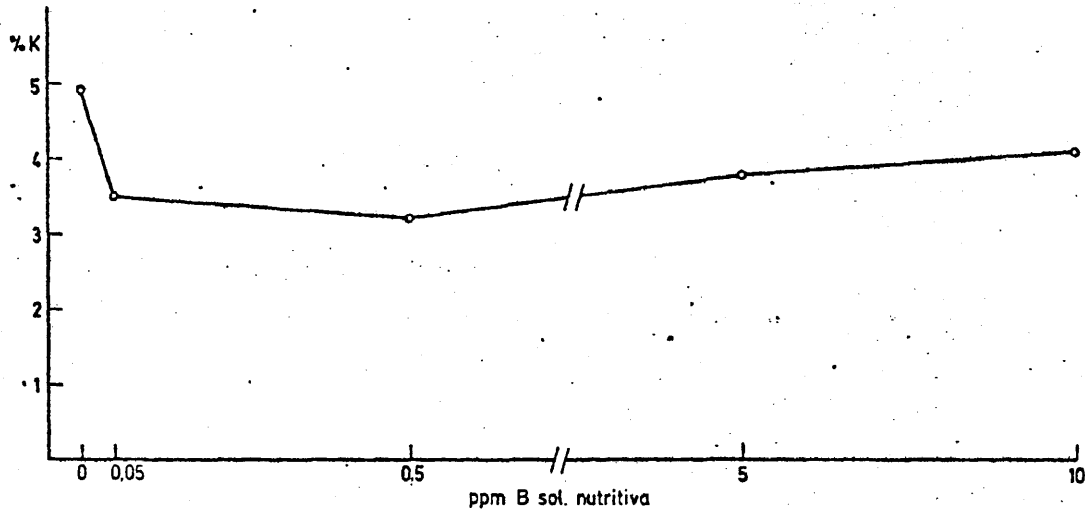


Figura XLIII  
ENSAYOS ORIENTADORES

% de K en hoja/B sol. nutritiva. FRUCTIFICACION

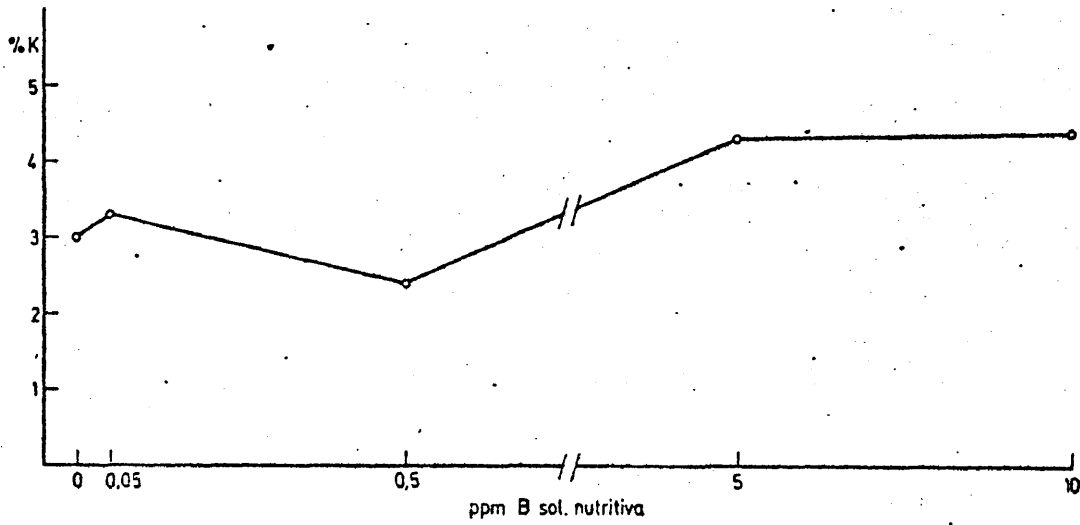


Figura XLIV  
ENSAYOS ORIENTADORES

% de Ca en hoja/B sol. nutritiva. FLORACION

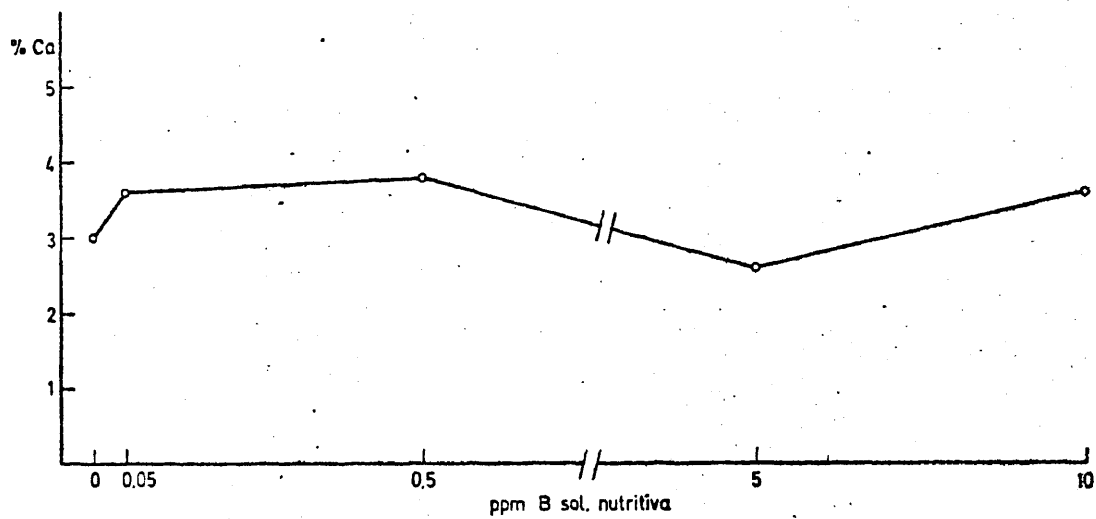


Figura XLV  
ENSAYOS ORIENTADORES

% de Ca en hoja/B sol. nutritiva. FRUCTIFICACION

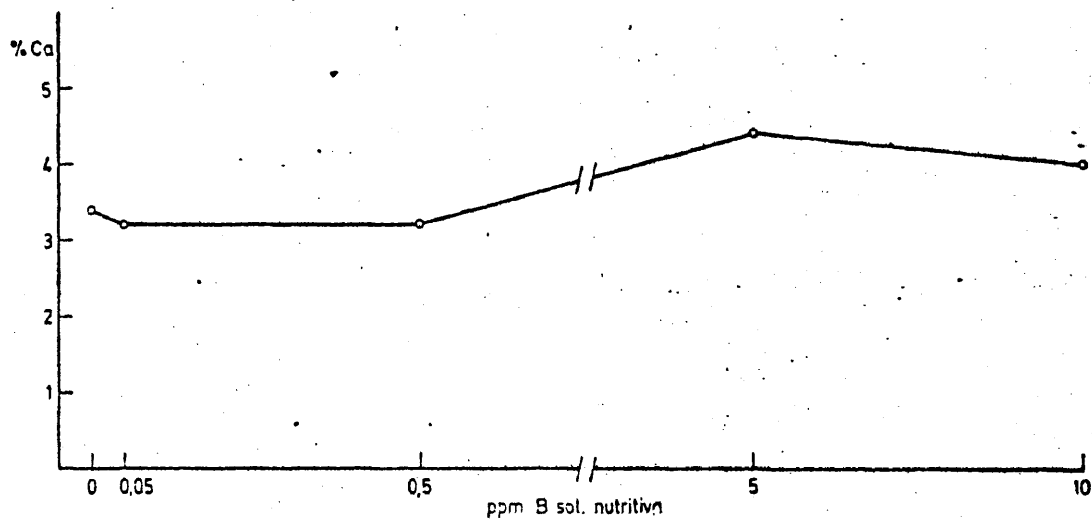


Figura XLVI  
ENSAYOS ORIENTADORES

% de Mg en hoja/B sol. nutritiva. FLORACION

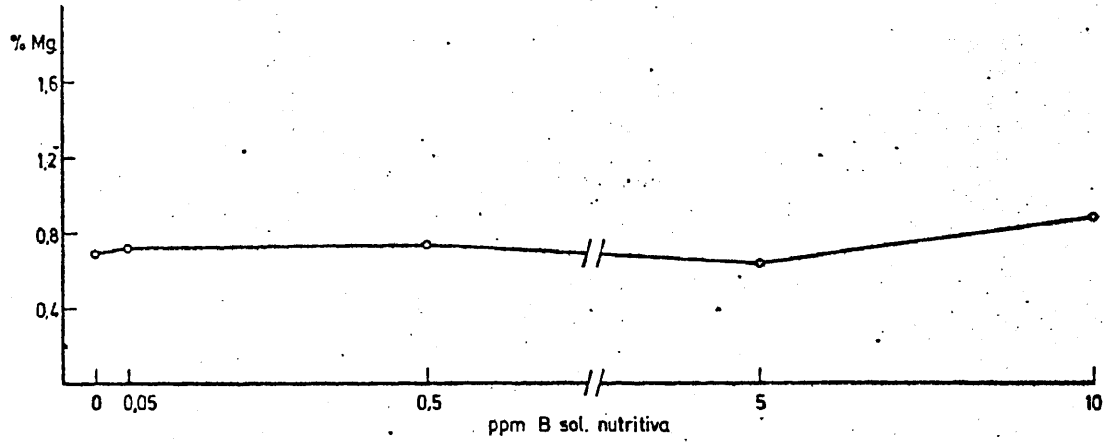
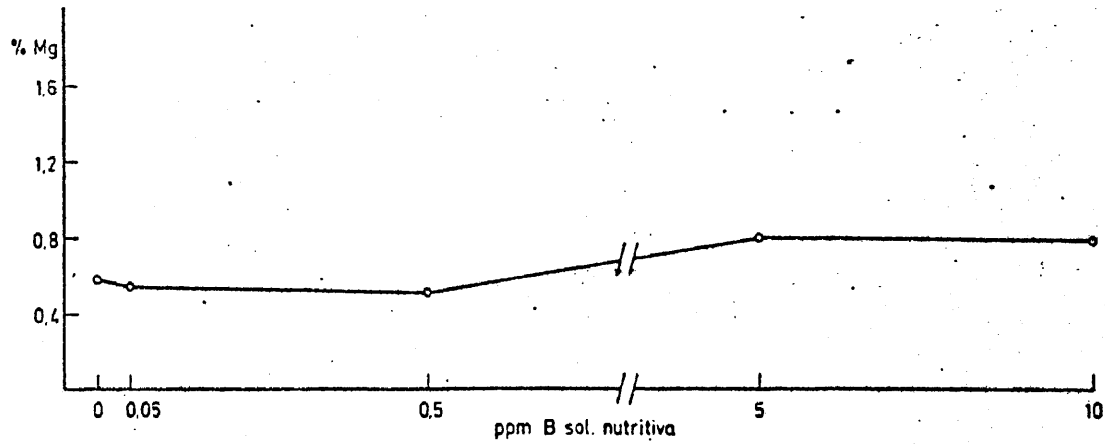


Figura XLVII  
ENSAYOS ORIENTADORES

% de Mg en hoja/B sol. nutritiva. FRUCTIFICACION



#### 4. ANÁLISIS DE SAVIA FRENTE AL FOLIAR.

Las conclusiones que se deducen de la discusión expuesta no las damos como definitivas hasta realizar la serie de experimentos planteados estadísticamente que describiremos a continuación.

Sin embargo, estos experimentos orientadores nos han servido para concretar los niveles ligeramente deficientes y tóxicos en Boro y así poder compararlos con los normales, eliminando, de este modo, los posibles efectos de concentración que dificultan la interpretación de los datos y que serían ~~para~~ para deficiencias y toxicidades muy avanzadas.

Por otra parte, el trabajo propuesto podemos referirlo al análisis de savia y fruto exclusivamente, ya que se ha demostrado que el foliar presenta dificultades en la interpretación de los fenómenos de nutrición estudiados, al no desglosar las fracciones de N y P fundamentalmente.

El utilizar la savia como material de referencia para el control precoz de nutrición, nos permite profundizar en el estudio propuesto y, al poder conocer diferentes fracciones de elementos, nos ofrece la posibilidad de determinar una serie de fracciones orgánicas que correspondan a índices de calidad según exponremos a continuación.

**B. IV. EXPERIMENTOS PLANTEADOS ESTADISTICAMENTE.**

Una vez que interpretamos los datos de los experimentos orientadores y dado que los resultados obtenidos, nos ofrecían la posibilidad de estudiar un nuevo campo en Nutrición Vegetal, creímos conveniente profundizar en la línea de investigación que nos habíamos marcado y poder así realizar un estudio exhaustivo de la incidencia del Boro en la planta de tomate.

Por una parte, vimos el efecto producido por el Boro en la nutrición de la planta y por otra, cómo se manifestaba dicho efecto en los rendimientos y calidad del fruto, utilizando siempre la savia como material de referencia desde los primeros estadios del ciclo de cultivo.

Así pues, en función de trabajos anteriormente realizados (121) y de los experimentos orientadores que describimos anteriormente, planteamos una serie de ellos en medio controlado.

Se hicieron cuatro repeticiones de cada uno de los ocho tratamientos, con un dispositivo de bloques al azar. Se utilizaron tiestos "Riviera" de absorción de la solución nutritiva por capilaridad.

Se persiguieron los siguientes fines:

- a) Determinar lo más exactamente posible los niveles de Boro que comprenden un tratamiento normal de dicho oligoelemento.
- b) Comprobar la incidencia de los niveles ligeramente deficientes y ligeramente tóxicos de Boro sobre otros elementos nutritivos de la planta evitando de esta forma los efectos de concentración que dificultan la interpretación de los resultados.

- c) Estudiar las relaciones niveles de elementos en savia/rendimientos.
- d) Estudio de las relaciones entre fracciones orgánicas, aminoácidos, glúcidos y ácidos orgánicos en savia durante la floración y fructificación con los niveles de dichas fracciones en el fruto, a fin de establecer un diagnóstico precoz de calidad.

Los resultados analíticos se expondran en forma de cuadro y a continuación de éste, el correspondiente cálculo estadístico. Cuando los resultados analíticos den diferencias significativas exponderemos tambien los valores medios en forma de gráfica para estudiar más fácilmente las tendencias observadas. A fin de adquirir una idea clara de lo que en cada elemento está sucediendo, las unidades que emplearemos en el eje de ordenadas serán: 0,5 cm eje= mínima diferencia significativa al nivel del 5%.

## 1. NIVELES DE REFERENCIA.

Los niveles de referencia obtenidos de los datos de los ensayos orientadores y de otro trabajo ya realizado (121) se indican en la tabla IV. Corresponden a la solución nutritiva y a la hoja en diferentes etapas del ciclo de cultivo.

Tabla IV

Niveles de referencia de deficiencia y toxicidad en Boro. Tomate variedad Marglobe. Concentraciones expresadas mg/litro solución nutritiva y ppm de muestra de hoja seca.

### T R A T A M I E N T O S

Referenc'

	Deficiente	Lig. deficiente	Intervalo de normalidad		Lig. tóxico		Tóxico	
Sol. Nut.	0,03	0,05	0,07	0,5	2	3	4	5
B (hoja) floración	56	75	121	180	371	523	749	850
B (hoja) fructificación	70	90	135	220	585	750	920	121

## 2. INDICES DE CRECIMIENTO.

En la primera toma de muestra se empleó una planta por cada tiesto, o sea por cada una de las cuatro repeticiones. El peso de las hojas de dicha planta que exponemos en la tabla V corresponde al índice de crecimiento considerado que en numerosas ocasiones es muy útil para interpretar los resultados.

Tabla V

Indices de crecimiento. Peso de hoja por planta expresado en gramos.

1ª floración.

Tratamientos	B l o q u e s				
	1	2	3	4	$\bar{X}$
T-0,03	20,2	25,5	19,8	26,1	22,9
T-0,05	23,3	20,7	20,4	20,5	21,22
T-0,07	29,9	30,1	27,7	29,6	29,32
T- 0,5	30,3	25,5	28,6	31,6	29,00
T- 2	28,1	22,5	24,2	27,4	22,55
T- 3	30,1	26,5	29,7	34,2	30,12*
T- 4	21,7	18,6	18,8	20,2	19,82
T- 5	16,7	20,0	17,3	23,1	19,27

$\bar{X} = 24,65$

m.d.s.            5% = 3,11  
                      1% = 4,23

\* Parece una anomalía experimental según se deduce de la 2ª toma de muestras indicada en la tabla VI.

El cuadro se ilustra con algunas fotografías en las que se aprecian las diferencias existentes entre tratamientos en lo que al crecimiento se refiere.

En la segunda toma de muestra correspondiente al período del comienzo de la fructificación, se tomaron nueve peciolo (para cada una de las cuatro repeticiones) de varias plantas de un mismo tiesto.

Tabla VI

Indices de crecimiento. Peso hojas por 9 peciolo y por tiesto expresado en gramos.-Fructificación.

Tratamientos	B l o q u e s				
	1	2	3	4	$\bar{X}$
T-0,03	13,8	14,6	15,0	13,1	14,12
T-0,05	16,4	14,1	14,2	15,2	14,97
T-0,07	24,8	28,6	25,2	27,0	26,40
T- 0,5	21,5	23,8	22,5	23,7	22,87
T- 2	15,0	17,1	18,5	18,7	17,32
T- 3	17,5	18,9	19,3	17,1	18,20
T- 4	17,7	17,7	21,3	17,4	18,52
T- 5	18,8	23,0	19,0	21,2	20,50

$$\bar{X} = 19,11$$

$$5\% = 2,09$$

m.d.s.

$$1\% = 2,85$$

Las diferencias se ponen más netamente de manifiesto en la fructificación, posiblemente por ser más acentuada la incidencia del tratamiento, destacando como valor máximo el de 0,07 ppm de B. Sin embargo, el valor óptimo puede estar comprendido entre 0,07 y 0,05 ppm de B, de forma que entre estos dos tratamientos encontraremos algunas anomalías en los resultados.

No hay efectos de concentración al comparar tratamientos ligeramente deficientes y ligeramente tóxicos, ya que observando las diferencias de peso obtenidas, no se llega a los valores correspondientes de los efectos de concentración observados en otros ensayos y que son, aproximadamente menos del 40% del óptimo.

### 3. Incidencia del Boro en la absorción y transformación de los macroelementos.

Vamos a describir a continuación el efecto que producen los tratamientos deficientes, normales y tóxicos en Boro en la absorción y transformación de los macroelementos.

Los resultados obtenidos los expondremos en las tablas que van desde la T. VII a la T. XXX, con el estudio estadístico correspondiente. Cuando los resultados sean significativos, daremos también los datos en forma de gráfica.

Se han estudiado los intervalos de ligera deficiencia, normalidad, ligera toxicidad y toxicidad con un total de ocho niveles - distintos de Boro. Por tanto los datos obtenidos deben darnos una idea bastante completa de la incidencia del oligoelemento objeto de nuestro estudio sobre el desarrollo de las tomatas y por otra parte, nos servirán para refrendar los resultados obtenidos con los experimentos orientadores antes estudiados. Hemos de tener en cuenta que los tratamientos comunes entre los ensayos orientadores y los experimentos planteados - estadísticamente son solamente :0,05;0,5 y 5 ppm de Boro.

Por otra parte, el estudio estadístico basado en las repeticiones hechas de cada tratamiento, nos permite conocer realmente las diferencias significativas .

### 3.1. Nitrógeno. ( tablas VII a XVI.)

En términos generales los resultados muy semejantes a los obtenidos en los experimentos orientadores. Se observa una acumulación del  $N(NO_3^-)$  en los tratamientos deficientes y tóxicos tanto en la floración como en la fructificación (Fig. XLIX y LIV) siendo más acentuado dicho efecto en los tratamientos ligeramente deficientes que en los tóxicos.

Las variaciones del N amoniacal (fig. L y LV), aunque casi sistemáticas son pequeñas y difíciles de interpretar pues, según ya indicábamos en los ensayos orientadores, el  $NH_4^+$  determinado puede - provenir de la hidrólisis del N de aminoácidos durante la preparación - de la muestra y determinación analítica ya que ambas fracciones nitrogenadas coexisten en la misma solución. Por lo tanto, solo se interpretan las diferencias de amonio en casos muy claros de intoxicación amoniacal.

Las diferencias obtenidas para el N de aminoácidos (fig. LI y LVI), tanto en la floración como en la fructificación, son mas sistemáticas que en el caso de los ensayos orientadores y refrendan los datos obtenidos para los  $\text{NO}_3^-$  de un corte de su metabolismo por un valor anormal de Boro (deficiente o tóxico) con la consiguiente acumulación de  $\text{NO}_3^-$  y descenso del N de aminoácidos.

El N proteico no presenta valores significativamente distintos excepto en el nivel deficiente en la floración.

En las figuras LIII y LVIII se pone de manifiesto como el Nm% N.S.T. (N mineral % N soluble total); es mas elevado en los tratamientos deficientes y tóxicos de Boro, lo que explica realmente la verdadera incidencia del nivel de B sobre el elemento N. Es decir, tanto en los experimentos orientadores como en los planteados estadísticamente, se observa claramente que al igual que la deficiencia, la toxicidad de Boro dificulta el metabolismo del  $\text{NO}_3^-$  absorbido siendo mas acentuado el efecto producido por la primera.

Por otra parte, la utilización del índice metabólico Nm% N.S.T. en savia tiene la ventaja de que su cálculo compensa algunas anomalías que pueden producirse fundamentalmente en la determinación global del N de aminoácidos que comprende los efectos yuxtapuestos de las variaciones de 18 ó 19 aminoácidos contenido en la savia, según ocurría en los ensayos orientadores.

Por lo tanto, una vez mas se pone de manifiesto la utilidad del material de referencia savia para conocer la intervención-

Tabla VII

$\bar{N}$  ( $\bar{N} \text{ } \bar{C}_3$ ) en savia toda la planta.-Floración-Concentraciones expresadas en mg/litro.

Tratamientos	B l o q u e s				
	I	II	III	IV	$\bar{X}$
T-0,03	1.950	1.900	1.900	1.850	1.900
T-0,05	1.580	1.500	1.580	1.530	1.548
T-0,07	1.210	1.250	1.210	1.180	1.215
T-0,5	1.120	1.180	1.150	1.120	1.142
T-2	1.200	1.275	1.300	1.250	1.256
T-3	1.300	1.200	1.200	1.250	1.237
T-4	1.300	1.400	1.250	1.400	1.337
T-5	1.500	1.400	1.450	1.400	1.437

$$\bar{X} = 1.383,9$$

$$5\% = 70,50$$

m.d.s.

$$1\% = 95,88$$

Tabla VIII

$N(NH_4^+)$  en savia, toda la planta-Floración. Concentraciones expresadas mg/litro.

Tratamientos	B l o q u e s				
	I	II	III	IV	$\bar{X}$
T-0,03	130	125	152	150	139
T-0,05	82	75	120	87	91
T-0,07	137	75	82	80	93
T- 0,5	90	125	87	80	95
T- 2	120	112	122	125	120
T-3	125	110	105	125	116
T- 4	102	95	102	125	106
T- 5	85	77	65	87	78

5% = 25,06

m.d.s. =

1% = 34,59

Figura IL

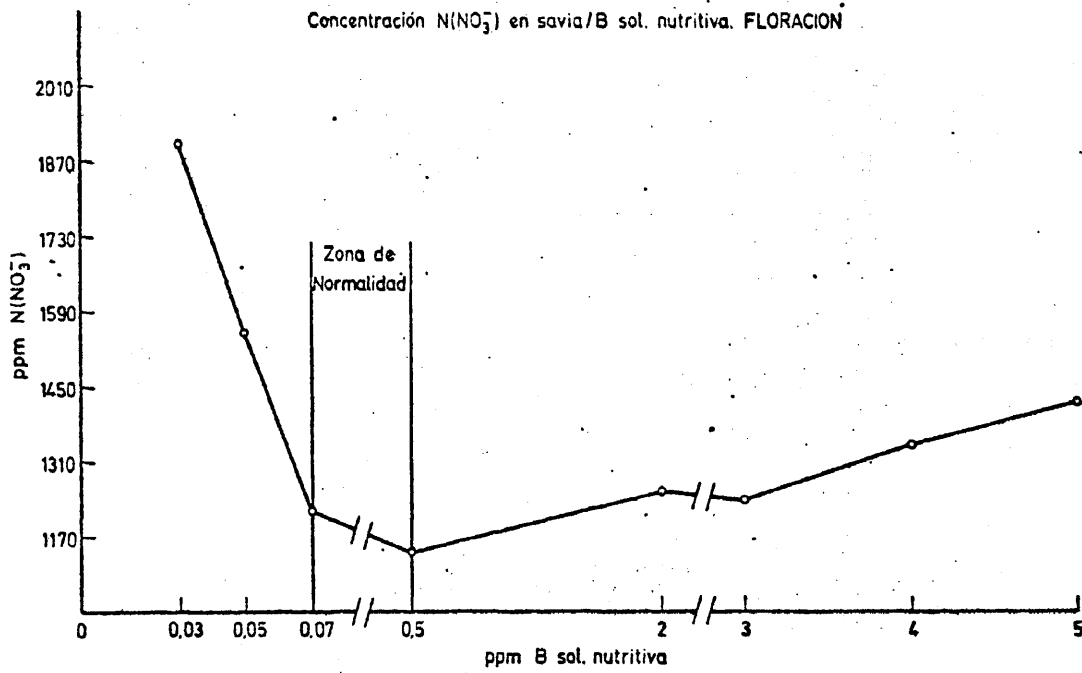


Figura L

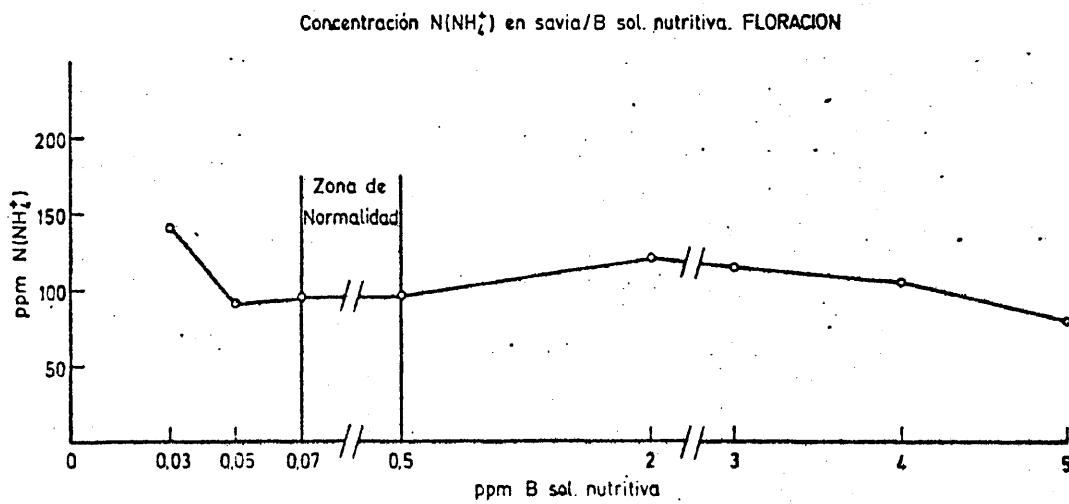


Tabla IX

N aminoácidos savia- toda la planta. Floración. Concentraciones expresadas en mg/litro.

Tratamientos	B l o q u e s				
	I	II	III	IV	$\bar{X}$
T-0,03	225	231	223	225	226
T-0,05	248	240	261	222	243
T-0,07	285	245	227	229	246
T- 0,5	270	297	257	250	269
T- 2	176	225	222	205	207
T- 3	200	190	191	195	194
T- 4	220	201	212	232	216
T- 5	182	177	171	164	173

$$\bar{X} = 221,81$$

$$5\% = 24,7$$

m.d.s.

$$1\% = 33,7$$

Tabla X

N proteico en savia ( toda la planta)-Floración. Concentraciones expresadas en mg/litro.

Tratamientos	B l o q u e s				
	I	II	III	IV	$\bar{X}$
T-0,03	112	103	125	117	114
T-0,05	108	109	102	132	118
T-0,07	76	58	45	41	55
T-0,5	65	69	61	50	61
T- 2	35	27	28	21	28
T- 3	27	21	27	30	26
T- 4	24	24	27	24	25
T- 5	22	18	14	22	19

5% = 27,45

m.d.s.

1% = 37,35

Figura LI

Concentración N am. en savia/B sol. nutritiva. FLORACION

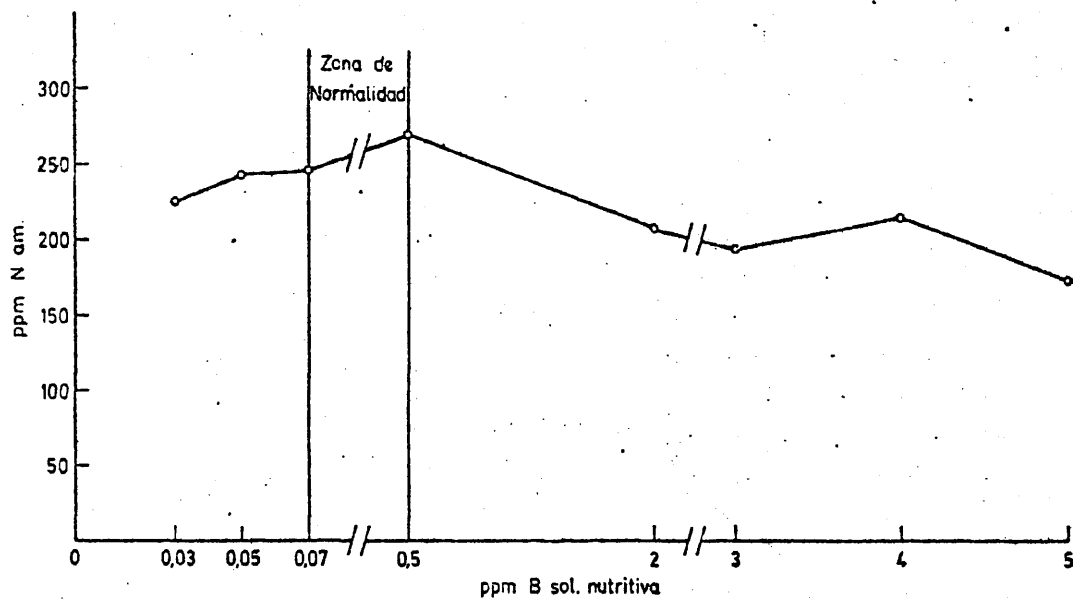


Figura LII

Concentración Np en savia/B sol. nutritiva. FLORACION

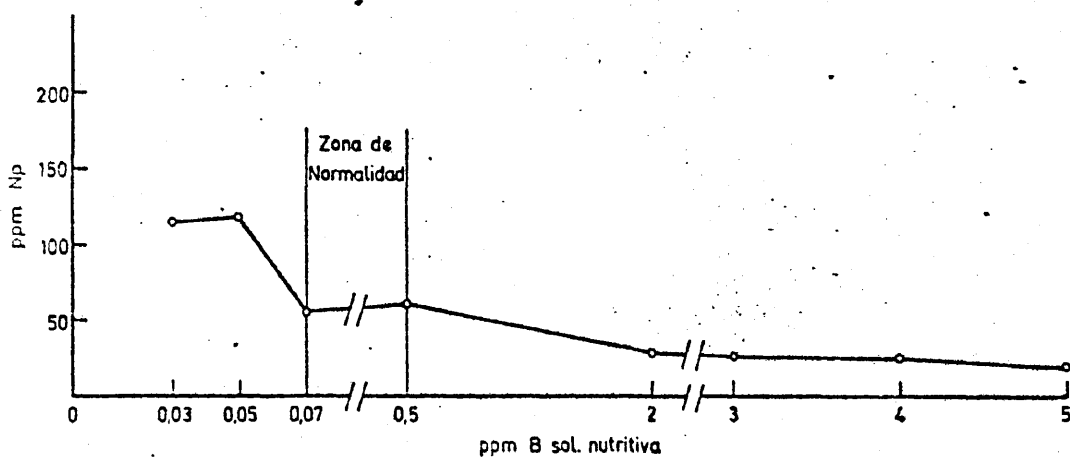


Tabla XI

N mineral % N soluble total en savia.-Toda la planta.Floración

Tratamientos	B l o q u e s				
	I	II	III	IV	$\bar{X}$
T-0,03	85,17	80,54	85,50	79,00	82,55
T-0,05	84,82	77,96	84,87	77,63	81,32
T-0,07	70,84	81,38	77,36	77,12	76,68
T-0,5	78,31	81,51	79,35	80,00	79,79
T- 2	78,38	77,79	77,75	78,03	77,98
T- 3	78,69	78,90	79,84	78,13	78,89
T- 4	78,98	81,40	78, 7	78,61	79,34
T- 5	83,85	83,73	85,29	83,68	84,11

5%= 3,71

m.d.s.

1%= 5,05

Figura LIII

Nm % N.S. total en sovia/B sol. nutritiva. FLORACION

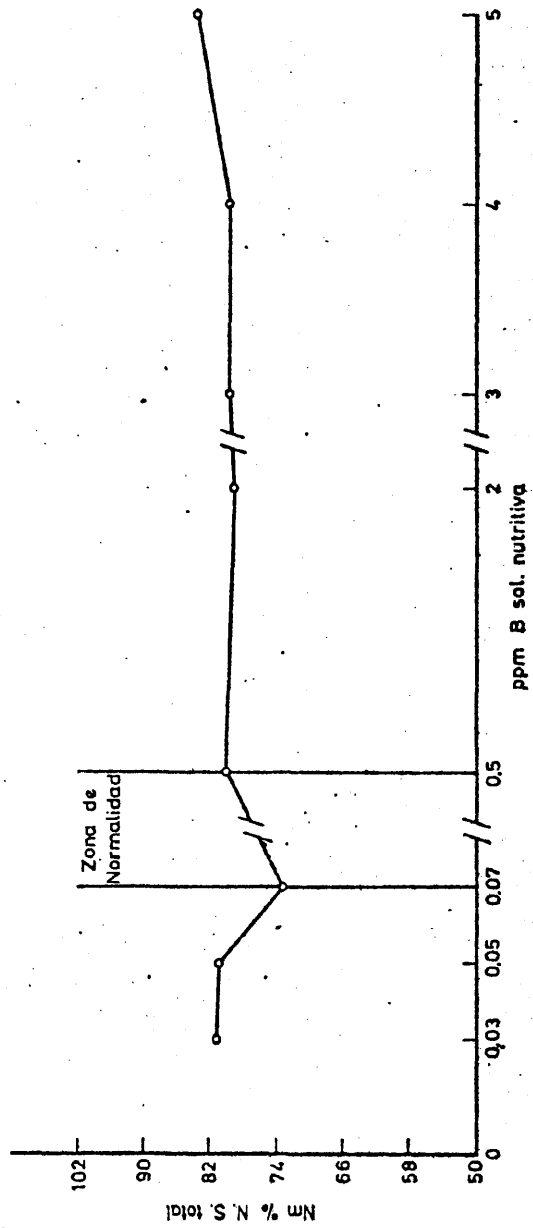


Tabla XII

$N(NO_3^-)$  savia de peciolo junto a la 1ª floración.- FRUCTIFICACION

Concentraciones expresadas en mg/litro.

Tratamientos	B l o q u e s				
	I	II	III	IV	$\bar{X}$
T-0,03	1500	1500	1400	1350	1437
T-0,05	1300	1200	1200	1250	1238
T-0,07	1100	1200	1200	1300	1200
T-0,5	1100	1100	1200	1100	1125
T- 2	1100	1350	1100	1200	1187
T- 3	1300	1350	1300	1300	1313
T- 4	1200	1400	1400	1300	1325
T- 5	1400	1300	1500	1300	1375

$$\bar{X} = 1275$$

$$5\% = 119,02$$

m.d.s.

$$1\% = 161,23$$

Tabla XIII

$N(NH_4^+)$  savia peciolos.- FRUCTIFICACION

Concentraciones expresadas en mg/litro.

Tratamientos	B l o q u e s				
	I	II	III	IV	$\bar{X}$
T-0,03	54	90	126	135	101
T- 0,05	84	111	120	108	106
T- 0,07	141	81	132	93	112
T- 0,5	102	108	150	138	124
T- 2	36	51	60	66	61
T- 3	38	64	51	73	64
T- 4	50	57	54	54	54
T- 5	135	133	118	96	120

5%= 29,29

m.d.s.

1%= 40,44

Figura LIV

Concentración  $N(NO_3^-)$  en savia/B sol. nutritiva. FRUCTIFICACION

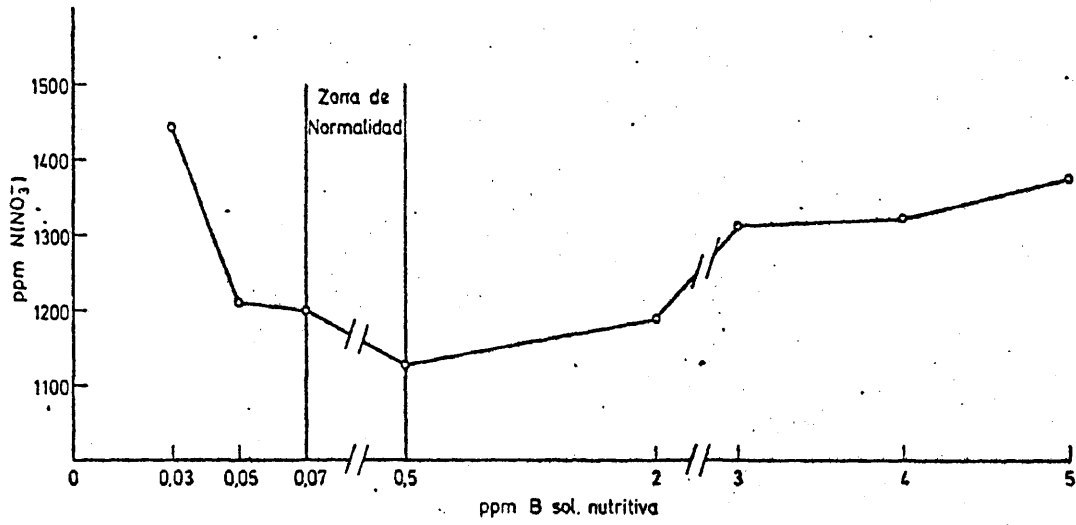


Figura LV

Concentración  $N(NH_4^+)$  en savia/B sol. nutritiva. FRUCTIFICACION

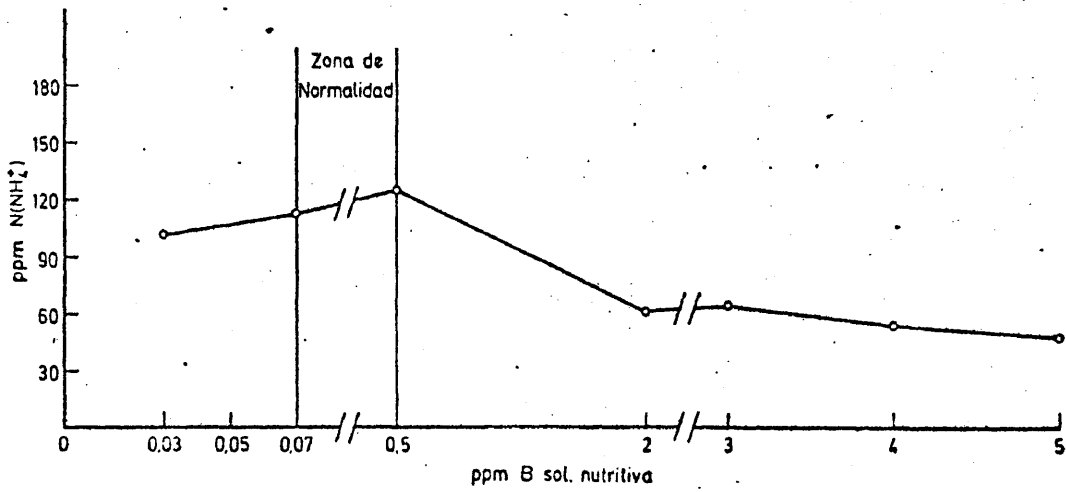


Tabla XIV

N aminoácidos savia peciolo.-FRUCTIFICACION

Concentraciones expresadas en mg/litro.

Tratamientos	B l o q u e s				
	I	II	III	IV	$\bar{X}$
T-0,03	159	159	148	135	150
T-0,05	157	142	150	154	151
T-0,07	183	156	172	159	167
T-0,5	159	156	163	168	162
T- 2	118	120	114	121	118
T- 3	109	117	115	113	113
T- 4	76	91	118	81	92
T- 5	93	88	84	70	84

$$\bar{X} = 129,62$$

$$5\% = 14,97$$

m.d.s.

$$1\% = 23,03$$

Tabla XV

N proteico savia peciolos-FRUCTIFICACION

Concentraciones expresadas en mg/litro.

Tratamientos	B l o q u e s				
	I	II	III	IV	$\bar{X}$
T-0,03	55	40	45	39	45
T-0,05	38	52	61	42	48
T-0,07	43	43	49	35	42
T-0,5	37	41	28	54	40
T- 2	34	31	48	30	36
T- 3	39	31	37	35	35
T- 4	42	40	37	39	40
T- 5	42	45	34	26	37

$$\bar{X} = 40,34$$

$$5\% = 11,7$$

m.d.s.

$$1\% = 15,9$$

Figura LVI

Concentración N am. en savia/B sol. nutritiva. FRUCTIFICACION

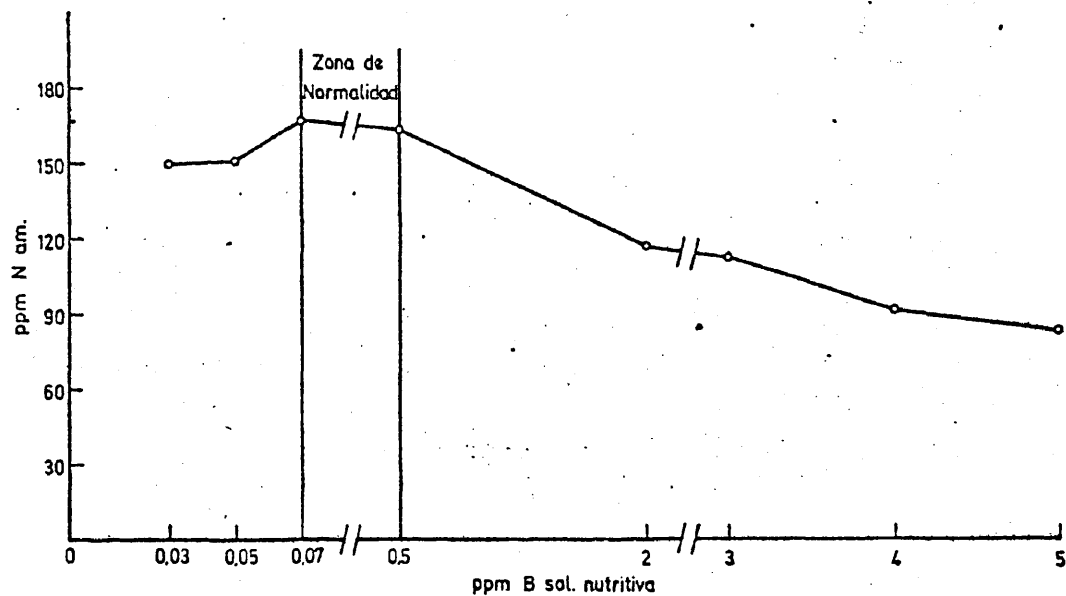


Figura LVII

Concentración Np en savia/B sol. nutritiva. FRUCTIFICACION

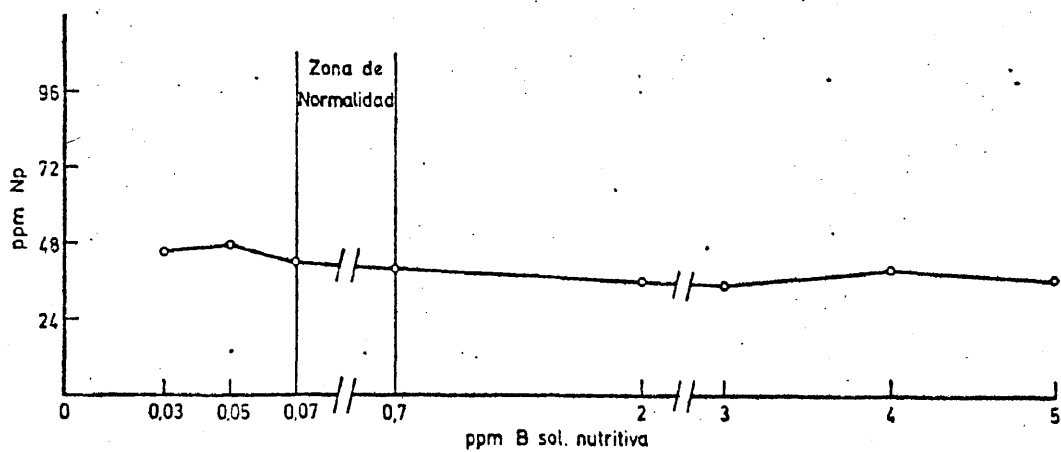


Tabla XVI

N m% N s. Total savia peciolos-FRUCTIFICACION

Tratamientos	B l o q u e s				
	I	II	III	IV	$\bar{X}$
T-0,03	89,93	83,85	88,15	81,37	85,82
T-0,05	82,33	79,73	78,38	80,44	80,22
T-0,07	74,98	81,08	72,27	86,62	78,74
T-0,5	86,04	85,85	86,92	84,79	85,90
T- 2	83,46	90,04	83,21	84,69	85,79
T- 3	85,75	87,55	89,71	85,47	87,12
T- 4	87,72	88,16	87,55	91,36	88,70
T- 5	88,27	88,02	92,48	88,02	89,11

$$\bar{X} = 85,13$$

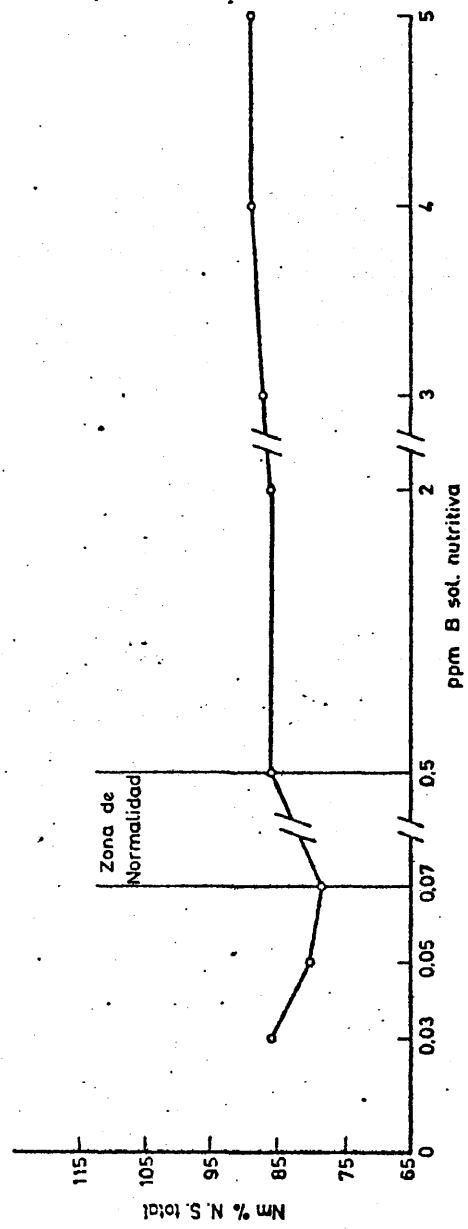
$$5\% = 5,01$$

m:d.s.

$$1\% = 6,80$$

Figura LVIII

Nm % N. S. total en savia/B sol. nutritiva. FRUCTIFICACION



de los oligoelementos en el metabolismo de la planta, pues si tenemos en cuenta los resultados de las figuras XXXVIII y XXXIX, el análisis foliar nos indica exclusivamente valores globales de N, de los que se deduce - que la planta absorbe mas nitrógeno para los tratamientos deficientes y tóxicos que para el normal, lo cual no tiene lógica por muchas razones, entre las que podemos citar el aspecto de la hoja y el hecho de no ser factible que otro elemento produjera un desequilibrio respecto al N -- dadas las concentraciones obtenidas para el resto de los elementos en los correspondientes análisis.

La explicación de los fenómenos descritos referentes a la incidencia de niveles anormales de Boro sobre el N, señala -- claramente que el oligoelemento actúa directa o indirectamente en la -- reducción de los  $\text{NO}_3^-$  lo que nos hace sospechar la posible relación entre el B y la actividad del enzima nitrato-reductasa o bien entre el B y el Mo que forma parte de la molécula de dicha enzima.

En las conclusiones del presente trabajo se expone ampliamente la discusión de esta posible interrelación entre el B y Mo que citan algunos autores que la han observado por caminos de experimentación distintos al nuestro.

### 3.2. Fósforo. ( tablas XVII a XXII.)

De igual forma que observamos en los experimentos orientadores (tratamientos 0,05; 0,5 y 5 ppm de B) en los planteados estadísticamente y en la época de floración, figuras LIX y LX, se aprecia por una parte, acumulación de P mineral tanto para los tratamientos tóxicos como para los deficientes, y por otra, el P orgánico es mas elevado en el intervalo de normalidad. En la figura LXI se observa el verda

dero efecto de la incidencia de Boro en el elemento P. En dicha figura, se observa que los tratamientos deficientes y tóxicos dificultan la transformación del fósforo absorbido, acumulándose éste en forma mineral.

En la época de la fructificación y en los experimentos orientadores, se observaron efectos similares a los de la floración pero bastante menos acentuados. En este período del ciclo de cultivo y para los experimentos estadísticos, se observa alguna anomalía fundamentalmente referente al P orgánico de los niveles tóxicos, lo que origina un índice metabólico P mineral% P soluble total distinto a los hallados anteriormente.

Este fenómeno se podría explicar por una parte teniendo en cuenta que, al comienzo de la fructificación, la incidencia del Boro en la nutrición de la planta propiamente dicha está yuxtapuesta a la formación del fruto lo cual provoca una considerable demanda de P y, por lo tanto, influye notablemente en la nutrición fosfórica de la planta. Por otra parte, hemos de tener en cuenta las anomalías surgidas para esta época en los experimentos planteados que consistieron en un cambio brusco de temperatura lo que produjo un desarrollo rápido del fruto y también de la planta que, a su vez, originó una deficiencia de Ca manifestada por el típico síntoma denominado en el cultivo de tomate como "blossom-end-rot" (no ocurrió dicho fenómeno en los ensayos orientadores) y que posiblemente produjo un desequilibrio iónico en la planta.

Teniendo en cuenta todo lo expuesto, creemos que es difícil sacar conclusiones durante la fructificación al menos en lo que respecta al fósforo.

FOSFORO

Tabla XVII

$P(\text{PO}_4\text{H}_2^-)$  en savia de toda la planta-FLORACION

Concentraciones expresadas en mg/ litro.

Tratamientos	B l o q u e s				
	I	II	III	IV	$\bar{x}$
T-0,03	200	200	160	162	180
T-0,05	200	187	187	152	181
T-0,07	225	175	167	170	184
T-0,5	154	155	175	115	125
T- 2	290	245	250	205	272
T- 3	245	265	280	285	269
T- 4	245	245	245	260	274
T- 5	260	190	265	192	227

5% = 34,08

m.d.s.

1% = 47,04

Tabla XVIII

P orgánico en savia de toda la planta-FLORACION

Concentraciones expresadas en mg/litro.

Tratamientos	B l o q u e s				
	I	II	III	IV	$\bar{X}$
T-0,03	106	180	131	144	140
T-0,05	75	106	81	81	86
T-0,07	207	200	144	187	185
T-0,5	125	131	100	94	113
T- 2	37	27	32	11	27
T- 3	12	9	26	38	21
T- 4	14	4	2	6	7
T- 5	5	3	13	19	10

5% = 24,24

m.d.s.

1% = 32,98

Figura LIX

Concentración  $P(PO_4H_2)$  en savia/B sol. nutritiva. FLORACION

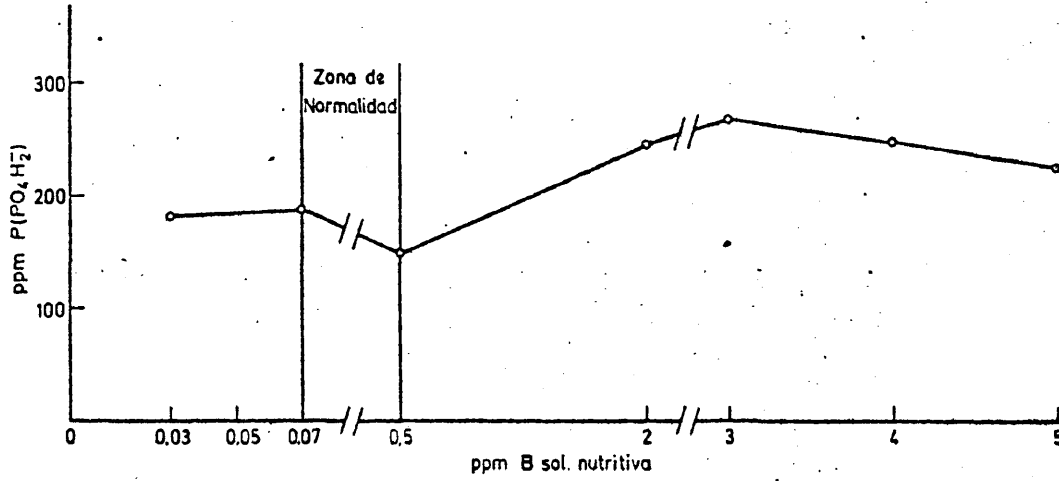


Figura LX

Concentración P org. en savia/B sol. nutritiva. FLORACION

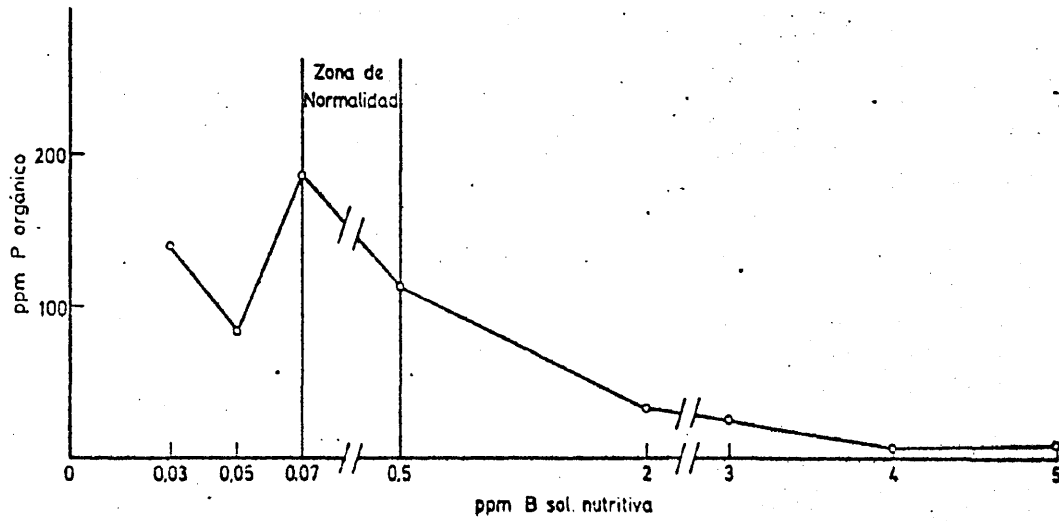


Tabla XIX

P m% P total en savia - FLORACION

Tratamientos	B l o q u e s				
	I	II	III	IV	$\bar{x}$
T-0,03	65,36	50,00	55,00	53,00	55,84
T-0,05	72,73	66,82	69,78	65,24	67,89
T-0,07	47,91	46,40	53,70	47,62	48,91
T-0,5	55,20	54,20	63,63	55,02	57,01
T- 2	88,69	90,07	88,65	94,96	90,59
T- 3	95,33	96,72	91,50	88,24	92,95
T- 4	94,59	98,39	99,19	97,64	97,43
T- 5	98,11	98,45	98,88	91,00	96,61

5% = 5,45

m.d.s.

1% = 7,42

Figura LXI

Pm % P. S. total en savia/B sol. nutritiva. FLORACION

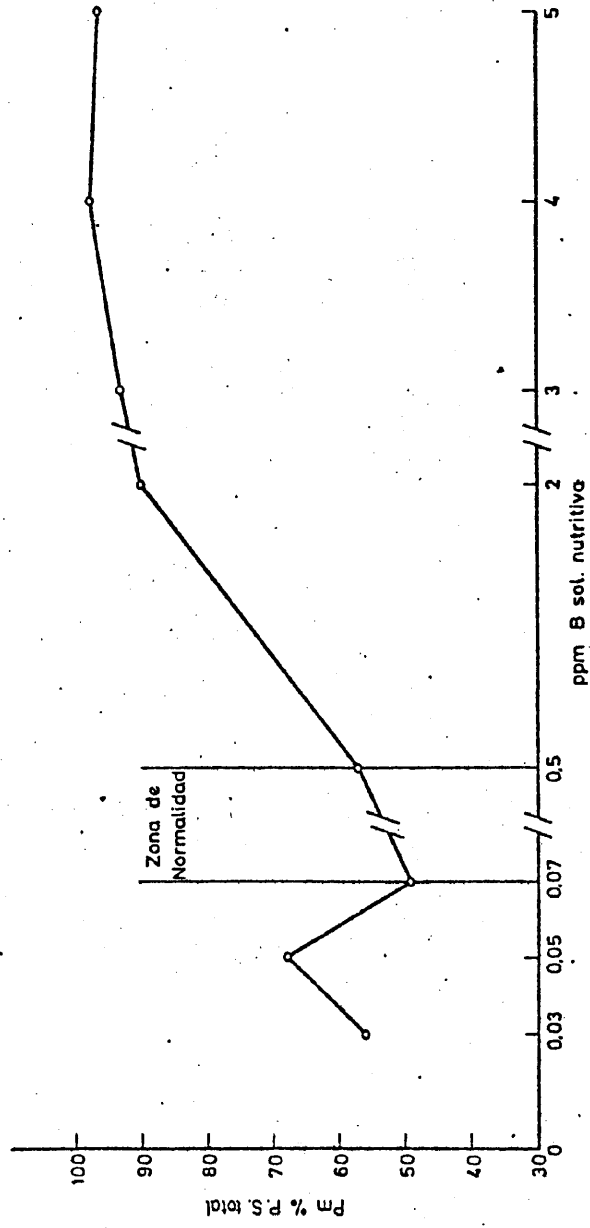


Tabla XX

$\bar{P}(\text{PO}_4\text{H}_2)$  en savia peciolos-FRUCTIFICACION

Concentraciones expresadas en mg/ litro.

Tratamientos	B l o q u e s				
	I	II	III	IV	$\bar{X}$
T-0,03	141	129	143	144	141
T-0,05	143	145	163	152	151
T-0,07	191	158	194	145	172
T-0,5	157	129	195	143	156
T- 2	126	131	128	140	131
T- 3	126	129	117	113	121
T- 4	91	119	102	123	109
T- 5	122	115	116	137	122

$$\bar{X} = 137,72$$

$$5\% = 24,48$$

m.d.s.

$$1\% = 33,32$$

Tabla XXI

P orgánico en savia peciolos. FRUCTIFICACION

Concentraciones expresadas en mg/litro.

Tratamientos	B l o q u e s				
	I	II	III	IV	$\bar{x}$
T- 0,03	15	18	12	15	15
T- 0,05	19	15	26	9	17
T- 0,07	21	24	19	12	19
T- 0,5	8	6	17	10	10
T- 2	50	45	48	55	49
T- 3	78	75	78	106	84
T- 4	101	86	77	85	87
T- 5	120	115	113	110	114

5% = 11,61

m.d.s.

1% = 15,80

Figura LXII

Concentración  $P(PO_4H_2^-)$  en savia/B sol. nutritiva. FRUCTIFICACION

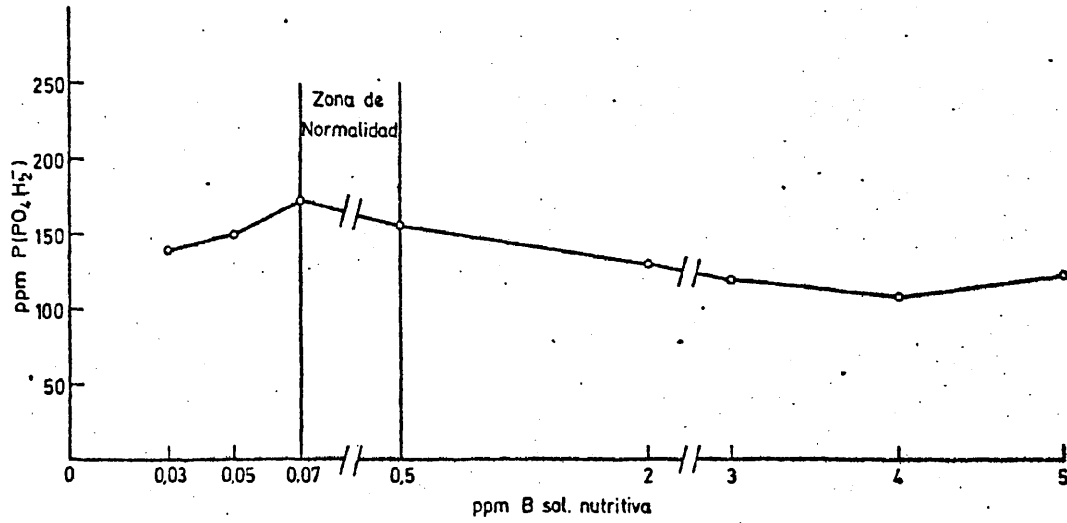


Figura LXIII

Concentración P org. en savia/B sol. nutritiva. FRUCTIFICACION

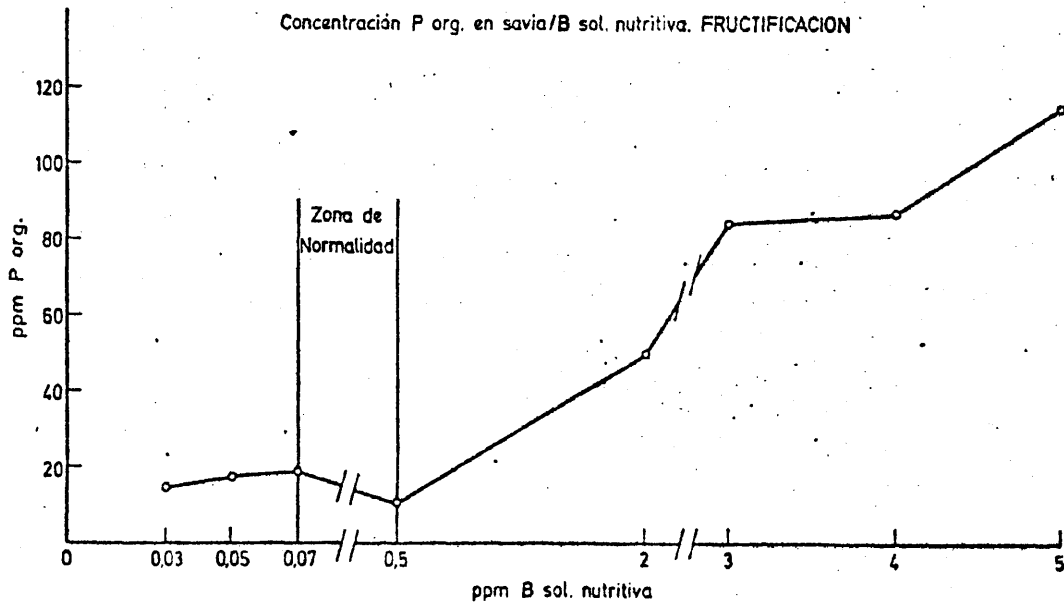


Tabla XXII

P mg; P total en savia peciolos-FRUCTIFICACION

Tratamientos	B l o q u e s				
	I	II	III	IV	$\bar{X}$
T-0,03	90,38	87,76	92,26	90,57	90,24
T-0,05	88,27	90,63	86,24	94,41	89,39
T-0,07	90,09	86,81	91,07	92,36	90,08
T-0,5	95,15	95,56	91,98	93,46	94,04
T- 2	71,59	74,43	72,73	71,79	72,63
T- 3	61,76	63,24	60,00	51,60	59,15
T- 4	47,40	58,05	56,98	59,13	55,39
T- 5	50,41	50,00	50,66	55,47	51,63

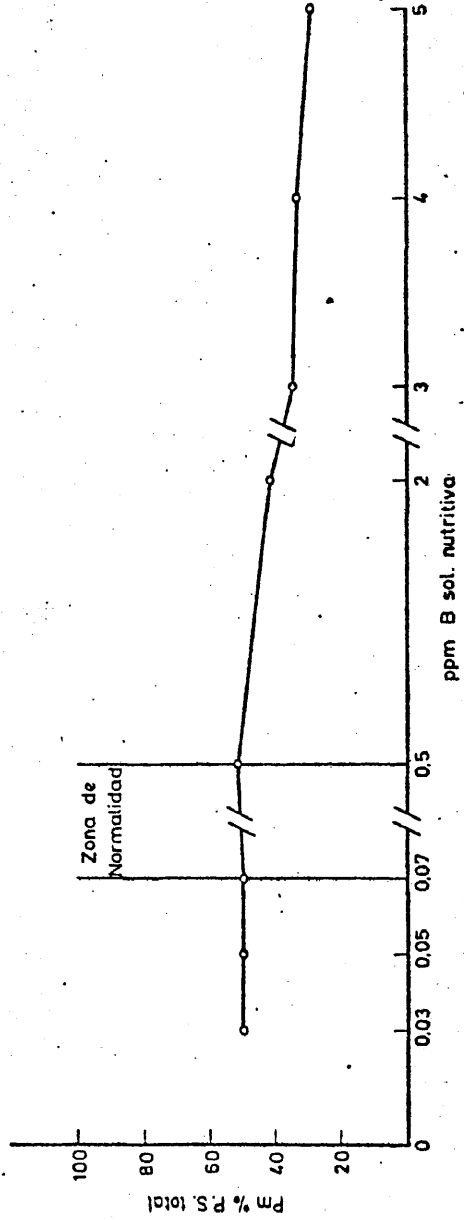
5% = 9,26

m.d.s.

1% = 12,60

Figura LXIV

Pm % P. S. total en savia/B sol. nutritiva. FRUCTIFICACION



La explicación de la incidencia que el Boro tiene sobre la nutrición fosfórica de la planta puede corresponder al hecho de que dicha incidencia sea indirectamente debida a la acción del N sobre el P, pues según algunos autores como Rouchenko, Hernando y Cadahia ( 50 ) y según se indicó en los ensayos orientadores, cuando se produce una acumulación de N mineral en el cultivo del tomate a causa del metabolismo inadecuado de dicho elemento, la transformación del P absorbido es menor que en condiciones normales y, por tanto, el índice metabólico  $\frac{P \text{ mineral}}{P \text{ soluble total}}$  es mayor de lo normal.

Para el elemento P se deduce una conclusión similar al N si tenemos en cuenta los resultados del análisis foliar, (fig. XL y XLI) y los de savia (fig. LIX a LXIV) en el sentido de obtenerse por una parte, menor sensibilidad relativa para las diferencias entre tratamientos y, por otra, un dato global cuya interpretación puede ser errónea.

Por otra parte, es lógico que, al disminuir el metabolismo del N, lo haga también el de P y que, esto no se vea claro en la fructificación, pues en esta fase el metabolismo del P es mayor y está menos directamente relacionado con el N que en las otras fases del desarrollo vegetativo de la planta.

### 3.3. Potasio. ( tablas XXIII y XXIV. )

De las figuras LXV y LXVI, se deduce que, posiblemente, por el efecto sinérgico  $\frac{NO_3^-}{K}$  observado en otros trabajos (29) (49), tanto en la floración como en la fructificación, se observa una tendencia muy ligeramente significativa a producirse una mayor absorción de potasio, fundamentalmente en los niveles deficientes en los que como vimos anteriormente, se produce una acumulación de  $NO_3^-$ .

Incidencia del Boro sobre los cationes

Tabla XXIII

X en savia toda la planta-FLORACION

Cocentraciones expresadas en mg/litro.

Tratamientos	B l o q u e s				
	I	II	III	IV	$\bar{x}$
T-0,03	4375	4375	3500	3875	4031
T-0,05	2875	3625	3625	3375	3375
T-0,07	4000	3375	3125	3375	3469
T-0,5	3625	3250	2750	3625	3312
T- 2	4875	4500	3750	4000	4281
T- 3	3500	3700	4000	3700	3725
T- 4	3750	4500	4000	4000	4052
T- 5	4625	4250	3500	3750	4031

5% = 483,10

m.d.s.

1% = 666,88

Tabla XXIV

K en savia 9 peciolos-FRUCTIFICACION

Concentraciones expresadas en mg/litro.

Tratamientos	B l o q u e s				
	I	II	III	IV	$\bar{x}$
T-0,03	7125	7625	7500	8000	7652
T-0,05	5875	7575	6500	5625	6341
T-0,07	5000	4000	5500	6625	5281
T-0,5	5750	5250	5625	5250	5469
T- 2	6125	5375	5375	6000	5719
T- 3	5000	4525	6500	5375	5375
T- 4	5625	5875	6375	6375	6062
T- 5	4500	4750	4000	4875	4531

5% = 913,12

m.d.s.

1% = 1260,55

Figura LXV

Concentración K en savia/B sol. nutritiva. FLORACION

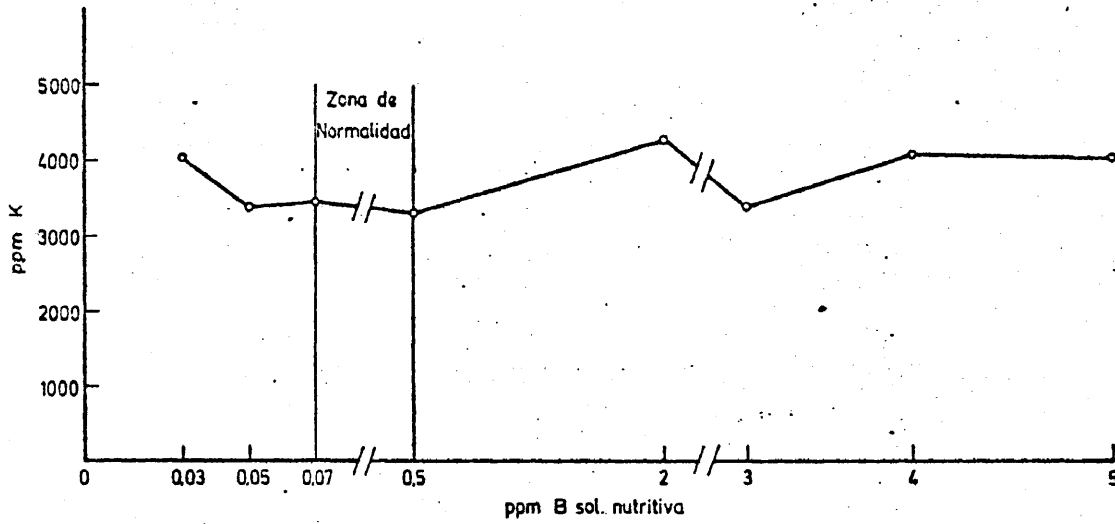
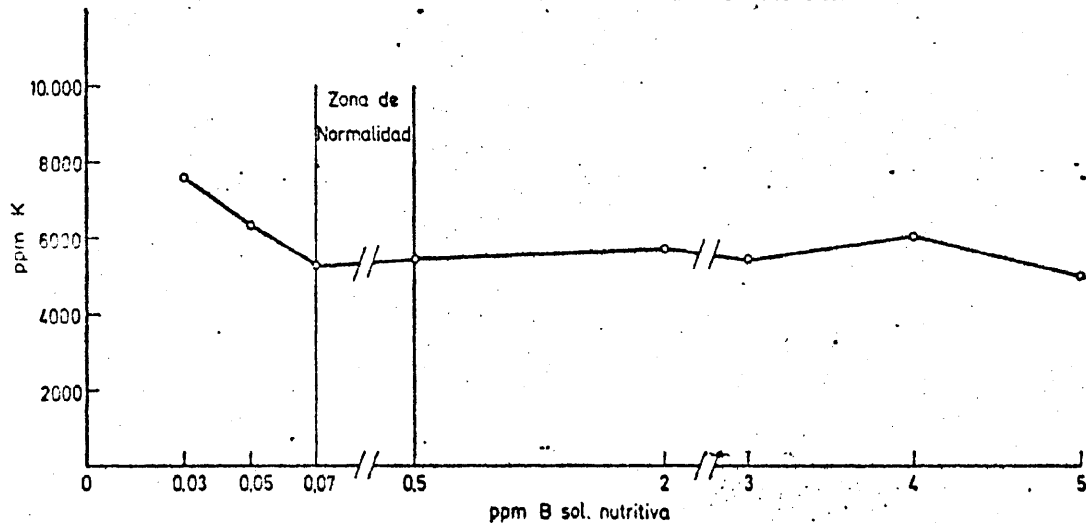


Figura LXVI

Concentración K en savia/B sol. nutritiva. FRUCTIFICACION



Sin embargo este efecto sinérgico se observa en la zona de toxicidad solamente durante la floración.

### 3.4. Calcio. ( tablas XXVII y XXVIII.)

En las figuras LXVII y LXVIII y para los tratamientos tóxicos en B, se aprecian tendencias similares a las observadas en los experimentos previos aunque menos acentuadas, encontrándose que, para dichos valores tóxicos, tanto en la floración como en la fructificación (para niveles mayores de 2 ppm de B), se produce un descenso en la concentración de Ca en savia que debe ser originado, como ocurría en los experimentos orientadores, un aumento de Ca en hoja y, como consecuencia en el fruto, lo cual nos hace pensar que, al incrementarse el nivel de B, lo hace la movilidad del Ca.

Todo esto viene refrendado por la carencia de síntomas de "blossom end rot" o "podredumbre apical" en los tratamientos tóxicos en Boro. Sin embargo, dicho síntoma típico de la deficiencia de Ca se observó claramente en los tratamientos deficientes y normales. La deficiencia surgió por el cambio brusco de temperatura que, al elevarse rápidamente al comienzo de la fructificación, provocó un desfase entre el ritmo de absorción y el de transformación, muy acelerado este último por el incremento brusco del desarrollo de la planta y fruto. Este desfase lo acusaron mas acentuadamente los tratamientos deficientes y normales en Boro. La toxicidad de Boro, sin embargo, debe provocar un aumento en la permeabilidad para el paso del Ca de la savia a la hoja y de aquí al fruto, resistiendo mejor la coyuntura excepcional de nutrición que se produjo al comienzo de la fructificación, superando el efecto K/Ca.

Parece deducirse de los resultados que el aumento de B en savia facilita la movilidad y reaccionabilidad del Ca, es decir su actividad en los procesos metabólicos.

Tabla XXVII

Ca savia toda la planta-FLORACION

Concentraciones expresadas en mg/litro.

Tratamientos	B l o q u e s				
	I	II	III	IV	$\bar{x}$
T-0,03	212	175	250	200	209
T-0,05	187	262	150	230	207
T-0,07	150	237	225	237	212
T-0,5	200	212	275	175	216
T- 2	212	162	187	272	209
T- 3	150	137	162	187	159
T- 4	100	125	150	125	125
T- 5	150	100	137	75	115

5% = 50,60

m.d.s.

1% = 69,87

Tabla XXVIII

Ca en savia 9 peciolas-FRUCTIFICACION

Concentraciones expresadas en mg/litro.

Tratamientos	B l o q u e s				
	I	II	III	IV	$\bar{X}$
T-0,03	162	162	137	150	153
T-0,05	175	200	162	137	168
T-0,07	162	137	162	175	149
T-0,5	112	112	150	142	129
T- 2	212	187	137	160	174
T- 3	112	100	112	150	118
T- 4	137	87	100	125	112
T- 5	100	100	125	100	106

5% = 32,04

m.d.s.

1% = 43,97

Figura LXVII

Concentración Ca total en savia/B sol. nutritiva. FLORACION

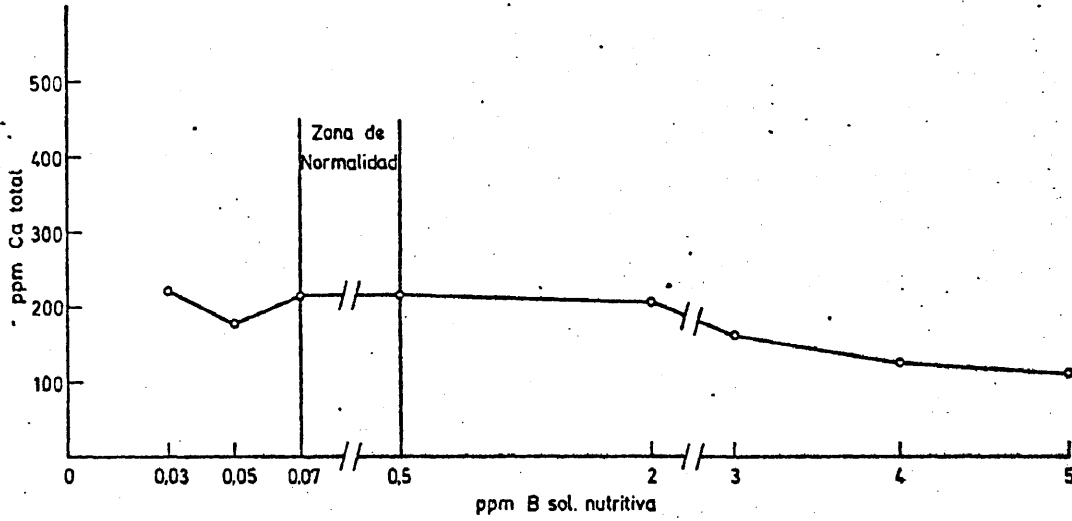
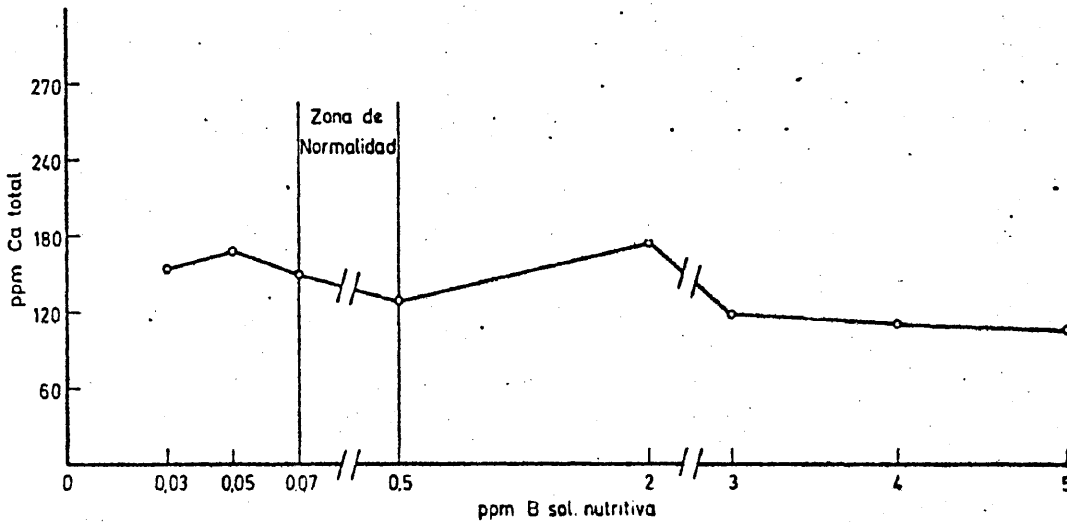


Figura LXVIII

Concentración Ca total en savia/B sol. nutritiva. FRUCTIFICACION



### 3.5. Sodio y magnesio. ( tablas XXV , XXVI, XXIX y XXX.)

Al igual que en <sup>los</sup> experimentos orientadores, tanto el Na como el Mg, no experimentaron variaciones sistemáticas ni significativas con respecto al tratamiento de Boro en la floración. En el periodo de la fructificación ocurre lo mismo en lo que se refiere al Na. En cuanto al Mg, experimenta una disminución en los tratamientos tóxicos, como ocurría en los experimentos orientadores, en los que existía para dichos tratamientos una disminución del Mg en savia y un incremento en la hoja. Según esto, podemos pensar que, ya en fases avanzadas del ciclo de cultivo, las dosis crecientes de Boro provocan una mayor movilidad del Mg como ocurría con el Ca.

Todo lo dicho en este apartado, queda indicado en las tablas XXV, XXVI, XXIX y XXX.

### 4. INCIDENCIA DEL BORO EN GLUCIDOS, ACIDOS ORGANICOS Y AMINOACIDOS CONTENIDOS EN LA SAVIA Y EN EL FRUTO.

Los niveles deficientes y tóxicos de Boro -- producen alteraciones en diversas fracciones orgánicas de la savia según describimos a continuación.

Esta parte del estudio propuesto presenta una doble vertiente: en primer lugar, conocer la acción del Boro en diversas fases del metabolismo con el fin de profundizar en el estudio de su mecanismo en la nutrición de la planta. Por otra parte, relacionar " a posteriori" dichas fracciones, que corresponde a otros tantos índices de calidad, con los niveles de ellas en el fruto y conocer así las posibilidades del método propuesto para la realización de un control precoz de calidad.

Tabla XXV

Na en savia toda la planta-FLORACION

Concentraciones expresadas en mg/litro.

Tratamientos	B l o q u e s				
	I	II	III	IV	$\bar{X}$
T-0,03	145	148	125	130	136
T-0,05	90	100	100	85	94
T-0,07	85	80	110	65	85
T-0,5	115	140	165	120	135
T- 2	120	135	115	120	122
T- 3	110	105	100	120	109
T- 4	110	130	130	150	130
T- 5	150	110	120	110	122

Tabla XXVI

Na en savia 9 peciolos-FRUCTIFICACION

Cocentraciones expresadas en mg/litro.

Tratamientos	B l o q u e s				
	I	II	III	IV	$\bar{x}$
T-0,03	190	180	180	175	181
T-0,05	145	150	160	165	155
T-0,07	140	125	110	130	126
T- 0,5	145	170	155	145	154
T- 2	190	130	150	160	157
T- 3	105	130	135	130	125
T- 4	180	145	190	185	175
T- 5	150	180	125	120	149

Tabla XXIX

Mg en savia toda la planta-FLORACION

Concentraciones expresadas en mg/litro.

Tratamientos	B l o q u e s				
	I	II	III	IV	$\bar{X}$
T-0,03	237	240	195	180	213
T-0,05	197	207	200	190	198
T-0,07	192	230	200	180	200
T-0,5	192	235	235	205	217
T-2	250	250	260	310	267
T-3	217	207	220	297	235
T-4	235	247	262	275	255
T-5	275	242	232	220	245

$$\bar{X} = 228,56$$

Tabla XXX

Mg en savia 9 peciolos- FRUCTIFICACION

Concentraciones expresadas en mg/litro.

Tratamientos	Bloques				
	I	II	III	IV	$\bar{x}$
T-0,03	312	295	265	290	290
T-0,05	215	280	265	265	256
T-0,07	280	205	262	237	246
T-0,5	172	155	200	180	177
T- 2	225	235	230	197	222
T- 3	182	168	215	193	189
T- 4	210	158	182	155	176
T- 5	180	155	142	178	164

$$\bar{x} = 215$$

$$5\% = 33,57$$

m.d.s.

$$1\% = 46,35$$

#### 4.1. Glúcidos savia.

Se determinaron los glúcidos totales, contenidos en la savia correspondiente a las épocas de floración y fructificación. Fundamentalmente se encontraron glúcidos reductores en el intervalo de 6000 a 32000 ppm para los diferentes tratamientos deficientes, normales y tóxicos\*. En las tablas XXXI y XXXII se indican los valores obtenidos con el cálculo estadístico correspondiente. Las variaciones globales correspondientes a los valores medios de las cuatro repeticiones, se describen esquemáticamente en las gráficas.

Tabla XXXI

Glúcidos savia.-Floración

Concentraciones expresadas como glucosa en mg/litro.

Tratamientos	B l o q u e s				
	I	II	III	IV	$\bar{X}$
T-0,03	17125	16900	17350	17025	17100
T- 0,05	19575	21800	20150	20250	20444
T-0,07	22250	20675	20025	22025	21244
T-0,5	22475	23800	24700	23150	23531
T- 2	20925	18700	17350	16250	18306
T- 3	17125	18900	18025	18475	18106
T- 4	13450	13575	14025	16025	14269
T- 5	10675	10000	11125	11350	10787

5%= 1701,78

m.d.s.

1%= 2315,58

\* La cantidad de glúcidos no reductores es despreciable frente a los reductores e inferiores a las diferencias correspondientes al error experimental.

Tabla XXXII

Glúcidos savia-Fructificación

Concentraciones expresadas como glucosa en mg/litro.

Tratamientos	B l o q u e s				
	I	II	III	IV	$\bar{X}$
T-0,03	11350	11375	12625	10900	12612
T-0,05	16575	18475	15800	18900	17437
T-0,07	27250	31600	31600	28900	29837
T-0,5	30675	30225	31150	30800	31217
T- 2	12025	10450	9350	10450	10569
T- 3	12225	10675	9125	11575	10900
T- 4	6675	7350	7775	6675	7114
T- 5	7125	7350	6675	7225	7344

$\bar{X} = 15660,16$

5% = 1802,

m.d.s.

1% = 2451

Figura LXIX

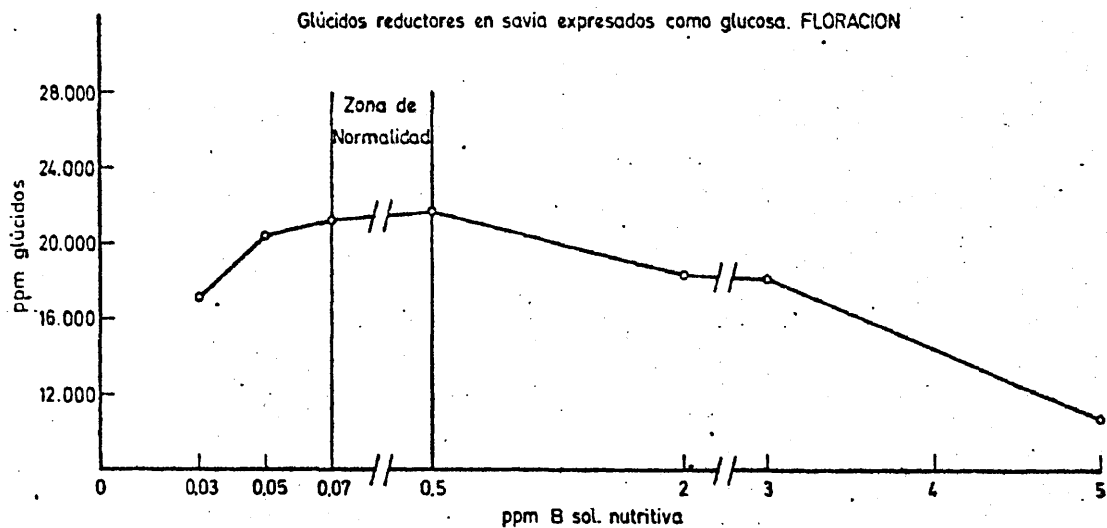
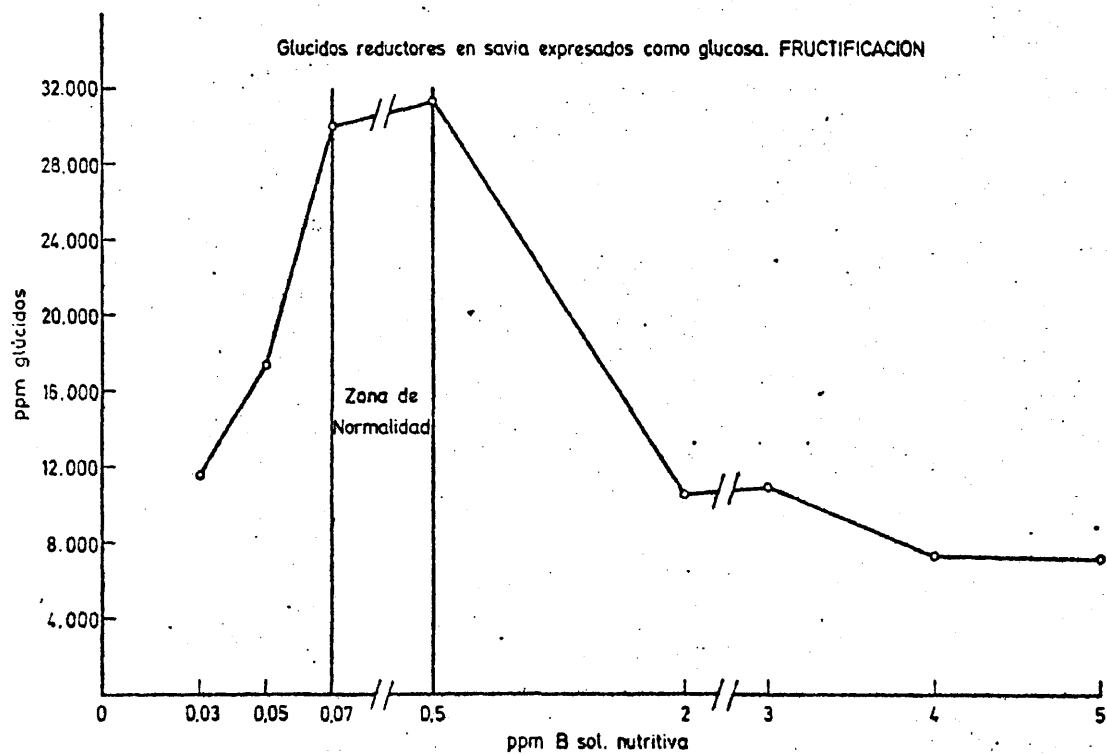


Figura LXX



En las tablas XXXI y XXXII, se observa en las dos épocas estudiadas, una neta disminución en la concentración de azúcares reductores para los tratamientos deficientes y tóxicos en Boro con respecto a los normales. El efecto de la deficiencia es más acentuado, pues con diferencias de centésimas en ppm de B, se produce un efecto muy marcado en la concentración de azúcares. No obstante, la toxicidad incide de manera clara hasta las 5 ppm ensayadas. En la fructificación se manifiesta esta incidencia más netamente, dándose una buena correlación entre los niveles de azúcares y los niveles de referencia en la tabla IV correspondiente al Boro en la solución nutritiva y hoja en los niveles deficiente, ligeramente deficiente, normal, ligeramente tóxico y tóxico.

La acción que el Boro ejerce en los azúcares de la savia se pone de manifiesto de una forma más clara a medida que transcurre el ciclo de cultivo, según puede observarse en las tablas XXIX y XXX y figuras LXIX y LXX al comparar los datos de floración con los de fructificación.

Si tenemos en cuenta el cálculo estadístico, durante la floración se manifiestan diferencias significativas entre el tratamiento deficiente 0,03 ppm y la zona de normalidad y entre esta y los valores correspondientes al intervalo de 2 a 4 ppm de Boro por una parte y al nivel de 5 ppm por otra.

Durante la fructificación las diferencias se acentúan y se pone de manifiesto una diferencia significativamente también para el tratamiento correspondiente a la ligera deficiencia o sea, 0,05 ppm.

La ligera toxicidad ( 2 ppm) también dá diferencias muy significativas ( del orden de la tercera parte que los tratamientos - normales) y un aumento de la toxicidad no se manifiesta como significativo hasta 4 ppm.

En resumen, podemos decir que, aunque de una forma mas acenuada en la fructificación, la incidencia del Boro en el nivel de -- azúcares de la planta, se manifiesta de un modo similar durante el intervalo del ciclo de cultivo estudiado.

Para explicar los fenómenos observados en la relación glúcidos/ Boro, podrían utilizarse los experimentos de Bussler(22) que ha comprobado que la deficiencia de Boro provoca un engrosamiento del -- cambium al aumentar el número de células que lo constituyen que, por otra parte, no están bien diferenciadas; las células muertas pasan al xilema y entorpecen el flujo de la savia. Además el Boro influye en la acción de la auxina en la hidrolisis de los polisacáridos, de manera -- que cuando la concentración de Boro es deficitaria, la intensidad de dicha hidrolisis desciende y, por lo tanto, la producción de monosacáridos es mas pequeña. Por las causas indicadas posiblemente se produzca el descenso en glúcidos cuando se da una deficiencia de Boro.

La toxicidad de Boro altera por una parte, el metabolismo que para realizarse adecuadamente, requiere una cantidad de dicho oligoelemento normal. Es decir, que se altera tanto por un defecto -- como por un exceso de Boro. La teoría de varios científicos, entre ellos Hing y Dugger (52) que establece que se forman complejos boro-azúcar, lo cual explicaría el aumento de la translocación de glúcidos en presencia de Boro, no nos sirve en nuestro trabajo ya que nosotros hemos encontrado que, cuando la dosis de Boro es tóxica, hay - al igual que-

ocurre para los tratamientos deficientes-- , una disminución en el contenido de azúcares tanto en la savia como en el fruto.

Una teoría similar es la mantenida por Dugger, Humphreys and Calhoun (40), que sostienen que el Boro se combina con el sustrato e influye en la síntesis del almidón. Esto explica que la translocación de azúcares aumente en presencia de Boro, pero no explica la disminución de glúcidos con la toxicidad. La única explicación completa de lo que sucede es la propuesta por Vorisek (126) que indica que una adecuada dosis de Boro previene la disociación de la clorofila y mantiene altos la actividad de la catalasa y el balance de agua.

De acuerdo con esto una adecuada dosis de Boro implicaría que los glucidos contenidos en savia y fruto alcanzaran los valores óptimos.

Sin embargo, una dosis no adecuada de Boro traería consigo una disociación de la clorofila que, al disminuir el proceso fotosintético, lleva como consecuencia una disminución en la producción de glucidos tanto en tratamientos deficientes como en tratamientos tóxicos.

La incidencia del Boro, se debe reflejar, por lo tanto, no sólo sobre los rendimientos, sino también sobre la calidad de los frutos según se desprende de los datos anteriores y según veremos con el resto de las fracciones orgánicas que constituyen índices de calidad.

A continuación estudiamos los niveles de azúcares encontrados en el fruto de los distintos tratamientos con el fin de establecer las relaciones correspondientes entre savia y fruto.

#### 4.2. Glúcidos fruto.

Vamos a presentar a continuación, los contenidos de glúcidos del fruto expresados en % y cantidad total para lo cual damos en la tabla XXXIII los rendimientos expresados en gramos, de los diferentes tratamientos.

Tabla XXXIII

g. fruto tomate/ tiesto ( 6 plantas)

Tratamientos	B l o q u e s				
	I	II	III	IV	$\bar{x}$
T-0,03	343	350	341	340	344
T-0,05	658	685	653	668	666
T-0,07	914	855	866	971	901
T-0,5	742	748	722	715	732
T- 2	562	569	560	569	565
T- 3	652	645	634	643	643
T- 4	562	555	560	560	584
T- 5	442	456	449	453	450

$\bar{x} = 611$

$S^2 = 30,4$

m.d.s.

$t = 41,4$

Teniendo en cuenta los rendimientos y las concentraciones de glúcidos calculadas en los análisis, presentamos a continuación en la tabla XXXIV las concentraciones de glúcidos en el fruto , expresadas en % sobre muestra fresca.

Tabla XXXIV

Glúcidos fruto expresados como glucosa.

Las concentraciones aparecen en % sobre muestra fresca.

Tratamientos	Valores medios
T-C,03	3,83
T-0,05	6,55
T-0,07	6,63
T-0,5	5,13
T- 2	5,70
T- 3	4,87
T- 4	4,50
T- 5	4,55

De manera análoga al caso anterior, expresamos en la tabla XXXV la cantidad total de glúcidos fruto sobre muestra fresca.

Tabla XXXV

Glúcidos fruto expresados como glucosa.

Cantidad total sobre peso fruto fresco por planta.

Tratamientos	Glúcidos fruto, valores medios de 4 repeticiones.
T-0,03	13,00
T-0,05	43,50
T-0,07	59,50
T-0,5	37,75
T- 2	32,00
T- 3	31,00
T- 4	25,00
T- 5	20,50

En conjunto se pone de manifiesto que, tanto la deficiencia como la toxicidad de Boro inciden en el nivel de azúcares en el fruto.

De la tabla XXXIV se deduce que hay diferencias en azúcares entre el tratamiento deficiente 0,03 y la zona de normalidad. El efecto de la toxicidad se manifiesta a partir de 3 ppm por encima del cual no hay variaciones claras.

En la tabla XXXV las diferencias antes indicadas se aprecian mas claramente matizándose los intervalos de ligera deficiencia, ~~deficiente~~, ligera toxicidad y toxicidad.

La incidencia del Boro en el contenido de los azúcares del fruto produce el mismo efecto que en el de la savia por lo que creimos conveniente calcular los coeficientes de correlación correspondientes con el fin de establecer un método para diagnosticar precozmente la calidad del fruto en lo que se refiere a los glúcidos.

En las figuras LXXI y LXXII se indican los coeficientes de correlación entre las concentraciones de glúcidos en savia y fruto de una misma planta, así como las ecuaciones y gráficas de regresión correspondientes.

Fundamentalmente al comienzo de la fructificación (2ª toma) se obtiene un coeficiente de correlación aceptable de 0,74 con el que se puede realizar un diagnóstico precoz semicuantitativo de calidad. Este coeficiente lógicamente debe mejorarse en otros cultivos donde no se dé la fructificación tan escalonada como en el tomate.

Esto lo hemos comprobado con el cultivo de remolacha (14), donde se ha obtenido, para la misma relación de glúcidos savia/ glúcidos fruto, un coeficiente de correlación de 0,87. Por otra parte, la anomalía antes señalada del desarrollo rápido de planta y —

Figura LXXI  
Relación glúcidos savia floración/glúcidos fruto

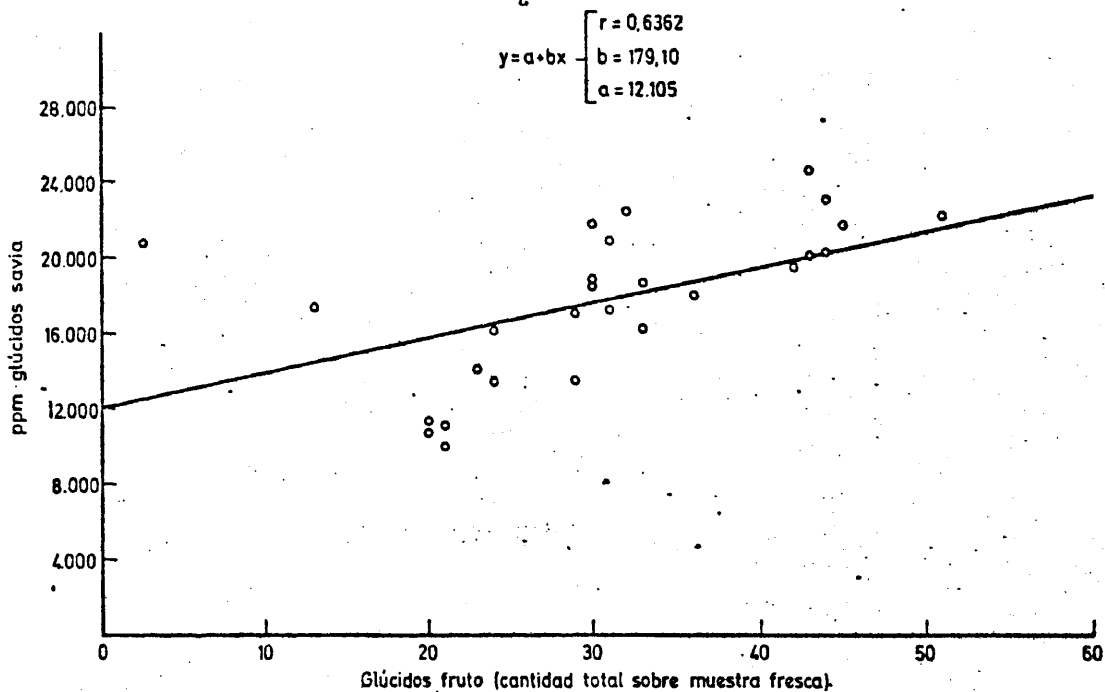
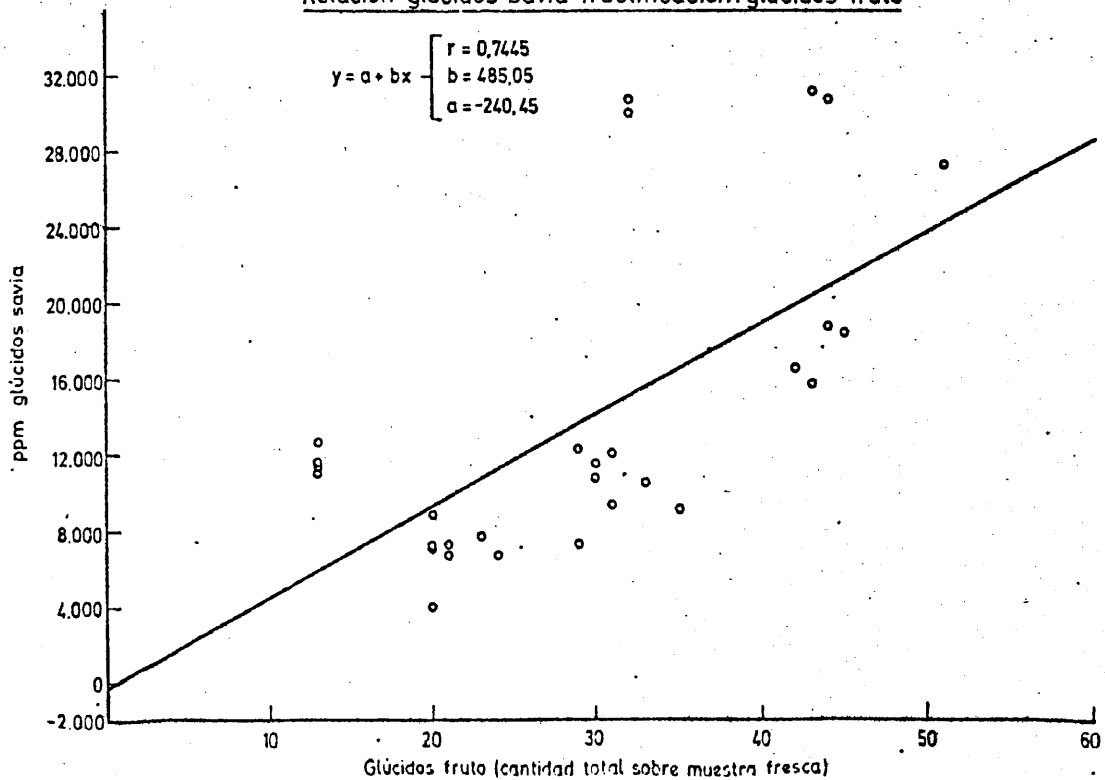


Figura LXXII  
Relación glúcidos savia fructificación/glúcidos fruto



fruto por el cambio brusco de temperatura, debe haber influido en el coeficiente de correlación obtenido por lo que creemos que dicho coeficiente puede mejorarse en condiciones normales.

No obstante, como la finalidad que se persigue al realizar un diagnóstico precoz de calidad es la de modificar dicha calidad a tiempo para que la corrección de fertilización correspondiente sea efectiva, una correlación semicuantitativa en principio puede ser aceptable para cubrir el objetivo indicado.

La explicación de la incidencia del Boro en el nivel de glúcidos se expuso en el apartado anterior (4.1.).

#### 4.3. Acidos orgánicos savia.

Dado que al realizar la valoración de ácidos orgánicos por diferencia entre miliequivalentes cationes-miliequivalentes aniones, se ha visto que se acumulan los errores de todos los análisis químicos, hemos decidido hacer una valoración de la acidez en savia según el método que describimos para el fruto en su apartado correspondiente de las metodologías analíticas.

Para valorar la acidez de los distintos tratamientos, se trazan curvas de titulación donde el pH correspondientes a la neutralidad, puede diferir de 7 a causa de la hidrólisis de las sales formadas. Por otra parte y debido al efecto tampón de las sustancias contenidas en las muestras (entre ellas las mismas proteínas), el salto de pH al final de la neutralización no es muy brusco por lo que las

Tabla XXXVI

Acidez en savia expresada en meq. de NaOH/ litro.

Epoca	Tratamiento	meq/litro savia
Floración	T-0,03	19
	T-0,5	16
	T- 5	18
Fructificación	T-0,03	18
	T- 0,5	19
	T- 5	17

De la tabla XXXVI se deduce que no hay diferencias significativas entre tratamientos al determinar la acidez en savia.

#### 4.4. Ácidos orgánicos fruto.

En el fruto se han obtenido los siguientes resultados:

Tabla XXXVII

Acidez total en fruto fresco expresada en meq. de NaOH/100 g.

Valores medios de cuatro repeticiones.

Tratamiento	meq. ácido/100 gr. fruto fresco*
T- 0,03	10,00
T- 0,05	9,25
T- 0,07	10,00
T- 0,5	11,00
T- 2	11,37
T- 3	8,50
T- 4	8,87
T- 5	8,12

\* Correspondiente al punto de equivalencia en las curvas de valoración.

De la tabla XXXVII se deduce que sólo la toxicidad de Boro parece incidir en la acidez del fruto en el sentido de disminuir esta. Esto refrenda la teoría que expusimos anteriormente sobre la causa por la que la toxicidad de Boro no presentó síntomas de la "podredumbre apical" debido al nivel suficiente de calcio en hoja y fruto que lleva consigo, en este último, una disminución de la acidez.

Podría deducirse de lo anterior que el nivel de Boro incide directamente sobre la movilidad y actividad del Ca.

#### 4.5. Aminoácidos savia.

Se determinaron los diferentes aminoácidos contenidos en la savia durante la floración, pues en esta época cuando los niveles son mas altos y las diferencias mas marcadas (89).

En la tabla XXXVIII se observa una neta diferencia entre las cantidades totales de aminoácidos contenidos en la savia, los valores globales son 1414 mg/l para el deficiente, 2007mg/l para el normal y 1076 mg/l para el tóxico.

Considerados individualmente cada uno de los dieciseis aminoácidos en la savia de tomateras, se observa que del 80 al 90% de los aminoácidos contenidos en la savia corresponden a ácido aspártico, treonina, serina, ácido glutámico, prolina y ácido  $\gamma$ -aminobutírico.

La treonina y la serina, a causa de su elevada concentración en la muestra, dieron unas señales cuyas áreas

se solaparon, por lo que damos el dato aproximado y en forma de valor global de los dos aminoácidos. En futuros trabajos se realizarán dos cromatogramas por muestra, uno para la determinación de treonina y serina con menor cantidad de la utilizada y otro con mayor cantidad para el resto de los aminoácidos. Dada la amplitud y características del trabajo que presentamos, no fué posible realizar esta segunda fase de determinaciones.

Según se aprecia en la figura LXXIII, - prácticamente la totalidad de los aminoácidos (excepto prolina y almina) son mas elevados para el tratamiento normal que para el tóxico y, fundamentalmente los seis antes señalados que componen del 80 al 90% de la totalidad.

Entre los tratamientos deficiente y normal se aprecia una diferencia neta a favor del segundo para el aspár tico, treonina, serina y γ-aminobutírico. El deficiente presenta un contenido mayor en glutámico y prolina; en el resto de aminoácidos - las diferencias son pequeñas.

Estas consideraciones globales están de acuerdo con los niveles de N aminoácidos obtenido en la floración -- según se deduce de la tabla IX y de la figura LI.

Los aminoácidos encontrados en la savia de tomateras coinciden prácticamente, con los que Payne, P.I. y colab. (89) han encontrado en los exudados de raíces de plantas de guisantes, maíz y judías que utilizan como índices de nutrición.

Por tanto, en principio, la savia extraída de la parte aérea parece presentar posibilidades como índice precoz de la calidad (ya que se determina en la floración) para el cultivo de tomate. Esta hipótesis está refrendada por los datos que se describen mas adelante sobre aminoácidos correspondientes en el fruto para los mismos tratamientos.

Tabla XXXVIII

Aminoácidos libres en savia. mg/litro

Epoca: floración.

Aminoácidos	T R A T A M I E N T O S		
	T-0,03	T-0,5	T-5
Aspártico	133	174	82
Treonina+Serina	394	1.170	442
Glutámico	238	118	91
Prolina	104	26	52
Glicocola	18	16	17
Alanina	64	56	63
Valina	44	49	32
Isoleucina	46	34	18
Leucina	39	27	17
Tirosina	Trazas	Trazas	Trazas
Fenil alanina	49	28	21
Yaminobutírico	210	258	209
Lisina	26	17	10
Histidina	39	20	12
Arginina	10	14	10
TOTALES	1.414	2.007	1.076

#### 4.6. Aminoácidos fruto.

En las tablas XXXIX y XL y figuras LXXIV y LXXV, puede observarse la influencia del tratamiento de Boro sobre el contenido de aminoácidos en el fruto. Se pone de manifiesto un cierto paralelismo entre los valores de aminoácidos en el fruto y los de la savia extraída en la floración si tenemos en cuenta los valores antes discutidos y comparamos las concentraciones en savia con las cantidades totales de aminoácidos por planta. Al considerar los cinco aminoácidos que intervienen en mayor cuantía en el fruto de tomate (aspartico, treonina, serina, glutámico y  $\gamma$ -aminobutírico), el paralelismo antes indicado se cumple para la relación tratamiento normal Boro/ tratamiento tóxico Boro y también para el deficiente Boro/normal Boro, excepto para el ácido glutámico.

Aunque, cuantitativamente no hay una relación entre savia y fruto, sí puede decirse y considerarlo de gran utilidad, que la savia, en los primeros estadios del ciclo de cultivo, es un índice precoz semicuantitativo del nivel de aminoácidos que se va a encontrar en el fruto al final del cultivo.

Por otra parte, es necesario considerar si la referencia en cuanto al fruto es más correcta sobre 100 g. de fruto —<sup>5</sup>freco o sobre peso total del fruto de una planta que varía según el tratamiento. Posiblemente es más correcta la segunda referencia, — puesto que se trata de determinar la cantidad total de aminoácidos en función del tratamiento para un mismo número de plantas. Por otra parte, si consideramos dicha segunda referencia, los resultados — están más de acuerdo con los que nos proporciona precozmente la savia.

Una anomalía observada al comparar los aminoácidos de savia y fruto es la ausencia de prolina en este último. Esto - podría explicarse suponiendo que durante la incorporación de los - aminoácidos al fruto, se produce un proceso de oxidación de la prolina a ácido glutámico cuyo mecanismo según Davies y colab. (34) se desconoce.

Los efectos del Boro en el nivel de aminoácidos en savia y fruto que antes señalamos son consecuencia de todas las incidencias anteriormente comentadas sobre nitrógeno, ácidos orgánicos y glúcidos.

—ooo—

Tabla XXXIX

Aminoácidos libres fruto: mg/100 g fruto fresco.

Aminoácidos	T R A T A M I E N T O S		
	T-0,03	T-0,5	T-5
Aspártico	113	80	32
Treonina+serina	279	343	47
Glutámico	729	644	20
Glicocola	6	4	1
Alamina	16	17	7
Valina	4	10	3
Isoleucina	20	25	4
Leucina	8	12	4
Tirosina	9	8	2
Fenil alanina	19	32	3
γ-aminobutírico	812	620	160
Lisina	9	4	2
Histidina	18	9	7
Argina	Trazas	9	7
TOTALES	2.042	1.817	299

Tabla XL

Aminoácidos libres fruto: mg/ fruto por planta.

(Índice de las cantidades totales en función de los tratamientos)

Aminoácidos	T R A T A M I E N T O S		
	T-0,03	T-0,5	T-5
Aspártico	65	121	24
Treonina+ Serina	159	520	36
Glutámico	417	977	15
Glicocola	3	6	1
Alanina	9	26	6
Valina	2	15	2
Isoleucina	11	38	3
Leucina	4	18	3
Tirosina	5	13	1
Fenil alanina	11	49	2
γ-aminobutírico	470	939	116
Lisina	5	6	1
Histidina	10	13	2
Arginina	Trazas	14	6
TOTALES	1.171	2.755	218

Histograma comparativo de los aminoácidos contenidos en la Savia

Cantidades expresadas en mg/litro

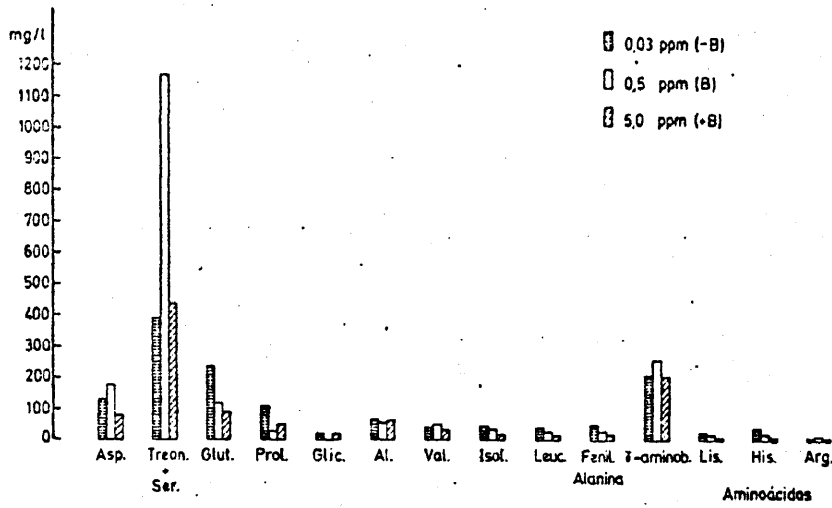


Figura LXXIV

Histograma comparativo de los aminoácidos contenidos en el fruto

Cantidades expresadas en mg/100g

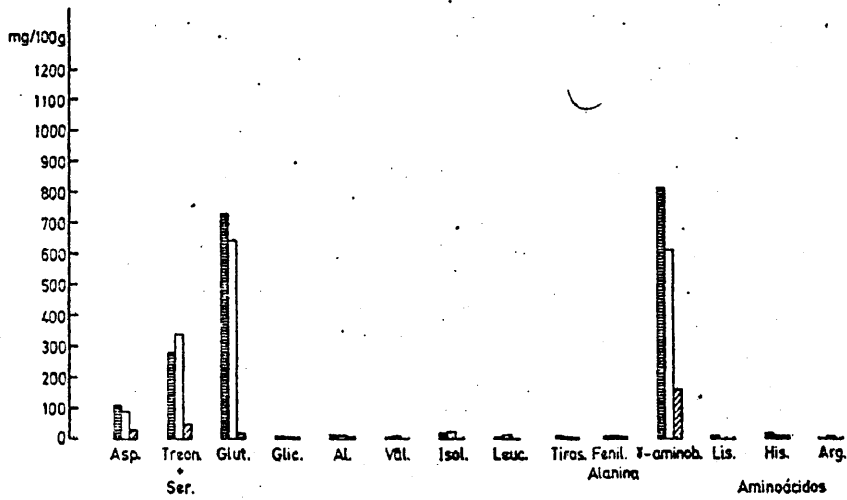
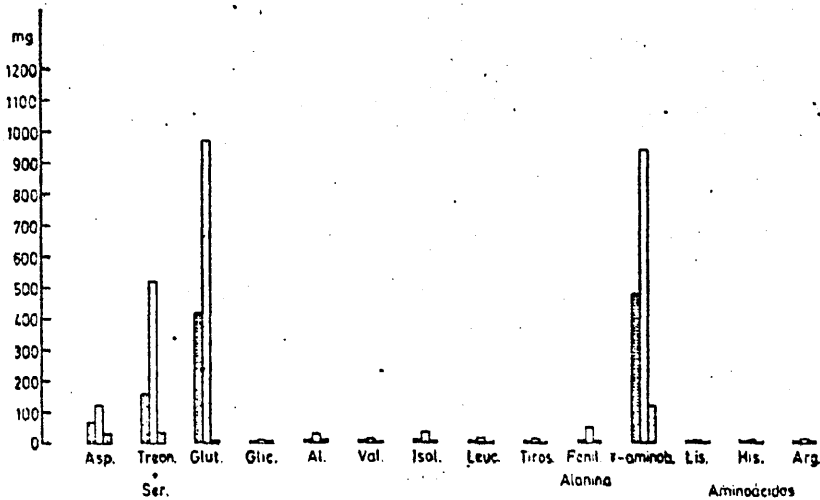


Figura LXXV

Histograma comparativo de los aminoácidos contenidos en el fruto

Cantidades totales referidas en los frutos de una planta



#### 4.7. Vitamina C fruto.

Se hizo la valoración según se indicó en la parte correspondiente de las metodologías analíticas. Los valores encontrados expresados en mg/100 g de fruto fresco (teniendo en cuenta la humedad al liofilizarlo) se indican en la tabla XLI.

Tabla XLI

Tratamiento	mg/100 g. de fruto fresco
T-0,03	4,00
T-0,07	17,30
T-0,5	13,00
T- 5	9,00

El liofilizado de todas las muestras se hizo el mismo día y por tanto, los resultados son comparativos. Pero es preciso señalar que dicho liofilizado no se llevó a cabo el día de la recogida de frutos, lo cual puede implicar un descenso de la vitamina C en todos los tratamientos pues los niveles obtenidos son relativamente bajos. No obstante, se observa una incidencia del nivel de Boro en la concentración de vitamina C en el fruto produciéndose un efecto depresivo tanto para la deficiencia como para la toxicidad y fundamentalmente para la primera.

Como resultado de todos los análisis realizados en casos de deficiencia, normalidad y toxicidad, queda como posible que el verdadero óptimo de B se aproxime más al tratamientos 0,07 que al de 0,5, por lo que en un estudio posterior convendrá centrarse con detalle en la zona de 0,07 a 0,5 considerando concentraciones intermedias que pueden dar mucha luz sobre la acción del B en el metabolismo de la planta.

C. RESUMEN Y DISCUSION GENERAL.

## RESUMEN

### - Métodos analíticos.

- Se ha aplicado un sistema autoanalizador a las metodologías básicas propuestas por Hernando y Cadahía (50)., para el análisis de las diferentes fracciones de N y P en savia:
- Se han puesto a punto las metodologías correspondientes para la extracción de azúcares, aminoácidos y ácidos orgánicos del fruto.
- Se ha puesto a punto un método analítico para la determinación de glúcidos en savia y fruto mediante un sistema autoanalizador comparandolos resultados con otros métodos colorimétricos hallados en la Bibliografía.
- Se ha aplicado la cromatografía líquido-líquido para la determinación de aminoácidos en savia y fruto de tomate con un sistema autoanalizador.

### - Niveles de referencia y síntomas visuales.

- Se han determinado con suficiente exactitud los niveles de: muy deficiente, deficiente, ligeramente deficiente, intervalo de normalidad, ligeramente tóxico, tóxico y muy tóxico en Boro de la solución nutritiva para tomaters.
- Dichos niveles son los siguientes expresados como ppm de Boro en la solución nutritiva.

< 0,03	muy deficiente
0,03 - 0,05	deficiente
0,05 - 0,07	ligeramente deficiente.
0,07 - 0,5	Normal (mas cerca al óptimo de 0,07)
0,5 - 3	ligeramente tóxico
3 - 5	tóxico
> 5	muy tóxico.

- La correspondencia entre los diferentes intervalos de Boro en la solución nutritiva y el valor global de Boro en hoja es la siguiente:

0,03 - 0,05 - 56- 75 ppm B.

0,05 - 0,07 - 75-121 ppm B.

0,07 - 0,5 - 121-180 ppm B.

0,5 - 3 - 180-523 ppm B.

3 - 5 - 523-850 ppm B.

Teniendo en cuenta el gran número de factores que influyen en los niveles obtenidos en el análisis foliar, los intervalos en hoja, pueden considerarse como índices que deben ser confirmados por los síntomas de la incidencia del Boro en el metabolismo de la planta en función del análisis de savia que nos da una idea dinámica de los procesos nutritivos en la planta.

- Los síntomas visuales mas importantes de dicha incidencia son:

- Deficiencia: clorosis de las hojas mas jóvenes, menor desarrollo de las plantas, agostamiento de los tallos.

- Toxicidad : Manchas necróticas en toda la superficie foliar y encorvamiento de los bordes de las hojas; no se observa ningún síntoma en la punta de crecimiento.

- Los síntomas en relación con el desarrollo de la planta indicados en las tablas IV y V son: un descenso en el peso de las hojas (considerado como el índice de crecimiento) de hasta 23% en la floración y de hasta 45% en la fructificación, tanto para la deficiencia como para la toxicidad, poniéndose de manifiesto que las diferencias son significativas precisamente para los intervalos antes señalados desde muy deficientes a muy tóxicos en Boro.

- Estos descensos en el peso de la hoja no son suficientes para producir efectos de concentración, por lo que son comparables los datos analíticos.

- Rendimientos.

- En cuanto a la incidencia del Boro en los rendimientos, es claro y significativo el descenso que se produce en el peso del fruto fresco tanto por la deficiencia ( hasta un 70%), como por la toxicidad ( hasta un 60%).

- Macroelementos.

- Tanto la deficiencia como la toxicidad de Boro en la floración y fructificación producen una disminución en el metabolismo de los  $\text{NO}_3^-$  absorbidos originando una acumulación de dicho anión en la savia utilizada como material de referencia. Esta acumulación de  $\text{NO}_3^-$  lleva consigo una ligera disminución de N aminoácidos. Por otra parte el resto de las fracciones nitrogenadas no experimenta variaciones significativas.

El índice metabólico N mineral% N soluble total en savia confirma el efecto del Boro en el metabolismo de los nitratos.

En la hoja, al estudiar solamente el valor global de N, no se observa más que un ligero descenso en nitrógeno en los niveles normales de Boro, sin poder precisar el verdadero efecto antes señalado.

- Respecto al fósforo y en la época de floración, parece ser que, tanto la deficiencia como la toxicidad de Boro, producen una acumulación de fósforo mineral y en definitiva, dificultan la transformación del fósforo absorbido consecuencia de la disminución del metabolismo.

En la fructificación durante los primeros ensayos orientadores, se observaron efectos similares a los descritos en la floración. Sin embargo, en los experimentos estadísticos se produce una anomalía en los niveles de P orgánico y en el índice metabólico P mineral: P soluble total, lo que explicamos convenientemente.

Por lo tanto, sólo se puede asegurar la incidencia del Boro — sobre el fósforo durante la floración, que por otra parte puede ser indirecta, pues según algunos autores como Routchenko, Hernando y Cadahía (50), cuando se produce una acumulación de N mineral a causa del metabolismo inadecuado de dicho elemento, la transformación del P absorbido es menor que en condiciones normales.

- Se observa una tendencia ligermanete significativa a producirse el efecto sinérgico  $\text{NO}_3^-/\text{K}$ , ya observado en otros trabajos. (29) (50).

El Ca disminuye en savia cuando se produce deficiencia o toxicidad de B, ya que, al existir en estos casos una acumulación de  $\text{NO}_3^-$  y el efecto sinérgico  $\text{NO}_3^-/\text{K}$ , se da el antagonismo K/Ca; en el fruto se manifestó la "podredumbre apical" para los tratamientos deficientes y no para los tóxicos, pues el efecto K/Ca queda compensado por el aumento de la permeabilidad del Ca para la toxicidad de Boro.

- Glúcidos.

- La incidencia del Boro en el nivel de glúcidos en la savia es muy significativo tanto para la deficiencia como para la toxicidad, acentuándose durante el ciclo de cultivo. Esto lleva como consecuencia el mismo efecto en el fruto, habiéndose encontrado una correlación aceptable entre los niveles de glúcidos en savia durante los primeros estadios del ciclo de cultivo y en el fruto al final de dicho ciclo. Así se pone de manifiesto la utilidad del material de referencia, la savia, para establecer un control precoz de la — calidad.

La incidencia en los glúcidos para los tratamientos deficientes en Boro puede ser debido a que este oligoelemento influye en la acción de la auxina en la hidrólisis de los polisacáridos de modo que, cuando la concentración de Boro es deficitaria, la intensidad de dicha hidrólisis desciende y por lo tanto, la producción de monosacáridos es mas pequeña.

En cuanto a la toxicidad, según la teoría de Vorisek (126), una adecuada dosis de Boro previene la disociación de la clorofila y mantiene altos la actividad de la catalasa y el balance de agua. Por lo tanto, podemos pensar que cuando la dosis de Boro es deficiente o tóxica, se disociaría la clorofila, disminuiría el proceso fotosintético y, consecuentemente, habría una disminución en la producción de glúcidos reductores.

De lo anteriormente expuesto, puede pensarse que el Boro actúa como coenzima o catalizador en algunas fases del metabolismo de la planta.

- Acidos orgánicos.

- Respecto a los ácidos orgánicos no se observan en la savia diferencias significativas en relación al tratamiento de Boro y en el fruto solamente en el intervalo de franca toxicidad se origina un descenso en la acidez global.

- Aminoácidos.

- Se encontraron dieciseis aminoácidos libres en la savia y quince en el fruto. Fundamentalmente y casi el 90% de la cantidad total, está compuesta por ácidos aspártico, treonina, serina, ácido glutámico, prolina y ácido amino-butírico. Las determinaciones están hechas en la época de floración.

- De una forma sistemática, el contenido en aminoácidos para el tratamiento normal es mas elevado en aspártico, treonina, serina y  $\gamma$ - aminobutírico que para el deficiente (este presenta un contenido mayor en glutámico y prolina) En cuanto al resto de los aminoácidos las diferencias son pequeñas.

El mismo fenómeno se observa entre el tratamiento normal y el tóxico, a excepción de la prolina y alanina. Fundamentalmente, dicho fenómeno se da en los seis aminoácidos que se encuentran en mayor cuantía.

- El fenómeno de la incidencia del Boro en el nivel de aminoácidos en savia se pone de manifiesto en el fruto, donde se observa un paralelismo semicuantitativo con la savia. Por lo tanto, se puede considerar en general, que la determinación de aminoácidos en savia en la floración, puede darnos un índice cualitativo precoz e incluso semicuantitativo de los que se van a encontrar en el fruto al final del cultivo.

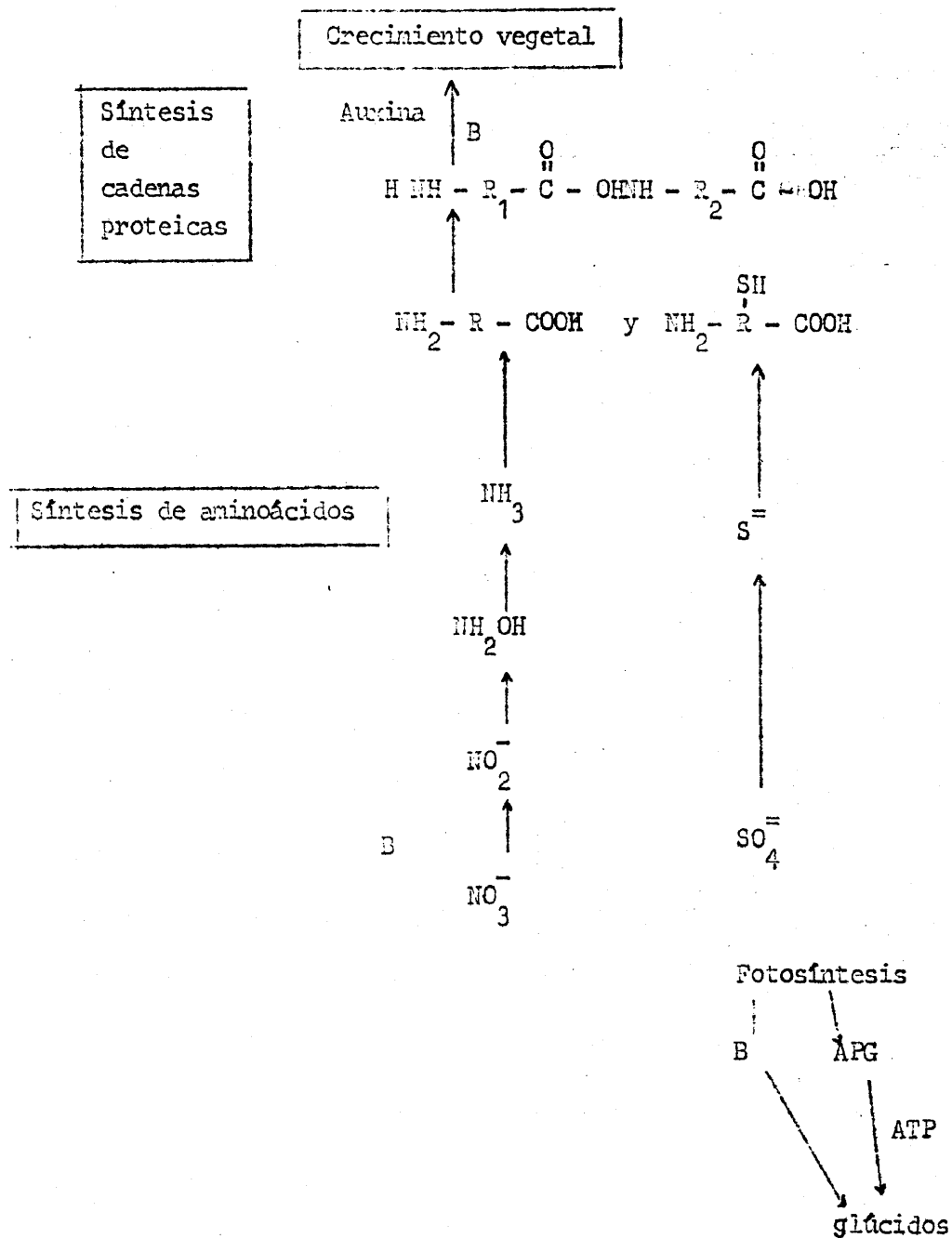
- Los efectos del Boro sobre  $\text{NO}_3^-$ , N mineral % N soluble total en savia, P mineral, Pm% P.S.T., glúcidos, ácidos orgánicos y aminoácidos pueden encajarse bastante razonablemente en el esquema del metabolismo del nitrógeno.

- Los fenómenos de nutrición encontrados tanto para la deficiencia como para la toxicidad de Boro, de forma similar pueden explicarse por la actuación del Boro en el metabolismo de la planta, pues como coenzima o catalizador, se requiere un nivel óptimo de dicho oligoelemento y tanto un nivel deficiente como tóxico provocan unas condiciones anormales.

En el esquema descrito en la figura LXXVI se indican las fases del metabolismo del nitrógeno y de los glúcidos donde parece intervenir el Boro.

Figura LXXVI

Esquema simplificado del metabolismo del nitrógeno y fases en las que el Boro podría intervenir.



Según Bussler (23), el Boro en dosis adecuadas facilita la fijación del molibdeno por la planta. Dado que este elemento forma parte de la reducción del nitrógeno nítrico al comienzo de su metabolismo, su papel aunque indirecto, es capital para dicha reducción. Es decir, la deficiencia de Boro afecta a la reducción de  $\text{NO}_3^-$  a  $\text{NO}_2^-$  y por tanto, a las consecuencias que de ello se derivan: menor nivel de  $\text{NO}_2^-$ , amonio y aminoácidos. Estos se presentan en una menor cantidad, puesto que si la deficiencia de B, hace que el molibdeno no sea adecuadamente fijado por la planta, la reducción del  $\text{NO}_3^-$  por la nitrato reductasa, se verá dificultada.

También según el mismo investigador, un exceso de Boro, induce una deficiencia de molibdeno lo que nos explicaría también el efecto observado de la acumulación de  $\text{NO}_3^-$  para los tratamientos tóxicos en Boro.

Todo lo anterior, podría ser debido a un desequilibrio en la planta respecto a la relación adecuada de B/Mo.

Al producirse una acumulación de  $\text{NO}_3^-$  en savia, por deficiencia o toxicidad de Boro, desciende el N aminoácidos y, por lo tanto, el nivel global de aminoácidos en savia y fruto. Por otra parte, el neto descenso observado en el nivel de glúcidos en savia y fruto para la toxicidad y deficiencia, debe provocar una disminución (fundamentalmente para la toxicidad) en el nivel de ácidos orgánicos del fruto y, por tanto, en el de aminoácidos. Todos estos fenómenos coinciden en los resultados del presente estudio.

Los hechos similares registrados para la deficiencia y toxicidad pueden deberse a que la actuación del Boro en el metabolismo de la planta, como coenzima o catalizador, requiere un nivel óptimo de dicho oligoelemento y, tanto un nivel deficiente como tóxico, provocan una incidencia anormal respecto al nivel suficiente.

- Cortes histológicos.

- Las consecuencias de las anomalías producidas por la deficiencia y toxicidad de Boro, se reflejan en la patología de la planta con los siguientes efectos, referidos a la deficiencia puesto que en la toxicidad no se han apreciado diferencias con respecto al tratamiento normal.

- Menor lignificación en pelos de la hoja, colénquima del nervio medio y vasos xilemáticos del xilema maduro.

- No hay variación en el mesófilo.

D. CONCLUSIONES.

Las principales conclusiones obtenidas en este trabajo

las enumeramos a continuación:

1º.- Hemos puesto a punto las metodologías analíticas siguientes: Determinación de glúcidos, ácidos orgánicos y aminoácidos en savia y fruto.

2º.- Se han determinado con suficiente exactitud los niveles de Boro en la solución nutritiva y en la hoja; dichos niveles quedan expuestos a continuación:

	Muy def.	Lig. def.	Def.	Normal	Lig. tox.	Tox.
Sol. nut. (ppm B)	0,03	0,03-0,05	0,05	0,07-0,5	2-3	4-5
Hoja (ppm B) floración	23	56	75	150	350	800
Hoja (ppm B) fructificación	35	70	90	175	670	1100

3º.- Los síntomas visuales de la incidencia del Boro son:

- Deficiencia: clorosis de las hojas más jóvenes, menor desarrollo de las plantas y agostamiento de los tallos.
- Toxicidad: se manifiesta principalmente en las hojas más viejas con manchas necróticas en toda la superficie foliar, encorvamiento de los bordes y no observándose ningún síntoma en la punta de crecimiento.

4º.- En el índice de crecimiento hay una reducción en la hoja de un 25% de su peso para los tratamientos deficientes y de un 33% para los

ciones son de un 33% y de un 20% respectivamente. En cuanto a los rendimientos en el fruto, se produce una reducción de un 60 % para los tratamientos deficientes y de un 70 % para los tóxicos si los comparamos con el tratamiento normal en Boro.

5º.- Se produce una acumulación de nitratos, tanto para la deficiencia - como para la toxicidad de Boro en las dos épocas del ciclo de cultivo estudiadas, descendiendo el índice metabólico N mineral  $\frac{N}{N}$  soluble total. Creemos que esto puede ser debido a que la relación B/Mo no sea la adecuada y dado que el molibdeno forma parte de la nitrato-reductasa, la reducción del  $\text{NO}_3^-$  a  $\text{NO}_2^-$  y por consiguiente el metabolismo del nitrógeno nítrico no se realice de la forma adecuada.

6º.- Un fenómeno análogo al anterior se produce en el caso del fósforo durante el periodo de la floración y que puede deberse a un efecto indirecto del nitrógeno.

7º.- El calcio disminuye en savia cuando se produce deficiencia o toxicidad de Boro ya que al existir en estos casos una acumulación de nitratos y por consiguiente el efecto sinérgico  $\text{NO}_3^-/\text{K}$ , se da el antagonismo K/Ca. En el fruto se manifestó el sintoma de la "podredumbre apical" para los tratamientos deficientes y no para los tóxicos, pues el efecto K/Ca — queda compensado por el aumento de la permeabilidad del calcio para la toxicidad del Boro.

8º.- La incidencia del Boro en el nivel de glúcidos en savia es muy significativa tanto para la deficiencia (descenso de un 25% en la producción de azúcares durante la floración y de un 65% durante la fructificación)

come para la toxicidad ( descenso de un 50% en la producción de azucares durante la floración y de un 75% durante la fructificación). Lo ocurrido para la deficiencia, puede ser debido a que el Boro influye en la acción de la auxina en la hidrólisis de los polisacáridos, de forma que si B es deficiente la intensidad de dicha hidrólisis desciende y por lo tanto lo hace la producción de monosacáridos. En cuanto a la toxicidad, según (126) una no adecuada dosis de Boro lleva consigo una disociación de la clorofila que, al disminuir el proceso fotosintético, implica una disminución en la producción de glúcidos.

En el fruto se produce un efecto similar al de la savia y existe una correlación aceptable entre los niveles de glúcidos en savia durante los primeros estadios del ciclo de cultivo y en el fruto al final del mismo.

9º.- En cuanto a los aminoácidos contenidos en la savia, presentan valores mas elevados para el tratamiento normal que para el deficiente (descenso de un 33% en la cantidad total) y el tóxico (descenso de un 48% en la cantidad total). Esta incidencia se pone fundamentalmente de manifiesto en los aminoácidos que se presentan en cantidades mayores (aspártico, treonina, serina, glutámico y  $\gamma$ -aminobutírico). En el fruto se observa un paralelismo cualitativo e incluso semicuantitativo con la savia, por lo que la determinación de aminoácidos en esta puede darnos un indice de los que se van a encontrar despues en el fruto.

10º.- Existe una relación significativa entre los tratamientos de Boro y el contenido de vitamiba C en fruto (descenso de un 66% para los tra-

tamientos deficientes y de un 32% para los tóxicos si los comparamos con el tratamiento normal en Boro).

11º.- Los fenómenos de nutrición encontrados, tanto para la deficiencia como para la toxicidad de Boro en forma similar, pueden deberse a que la actuación del Boro en el metabolismo de la planta como coenzima o catalizador, requiere un nivel óptimo de dicho oligoelemento y tanto un nivel deficiente como tóxico provoca una incidencia anormal respecto al nivel óptimo.

12º.- En cuanto a la patología de la planta, la deficiencia de Boro produce menor lignificación en pekos de la hoja, colénquima del nervio medio y vasos xilemáticos del xilema maduro.

13º.- Como conclusión fundamental podemos citar las posibilidades del material utilizado para realizar el estudio de la aparente interdependencia entre el Boro y el molibdeno, que lleva consigo una serie de efectos en el metabolismo de la planta, como por ejemplo: ~~Des~~activación de la nitrato-reductasa en la reducción de los nitratos y las consecuencias que de ello se derivan. Por lo tanto, se abre un interesante campo de investigación en el que se estudiará profundamente la interacción Boro-molibdeno.

En la tabla XLIII se exponen esquemáticamente las conclusiones obtenidas.

Tabla XLIII

Exposición esquemática de las conclusiones obtenidas en el presente estudio

NIVEL DE BORO	I N C I D E N C I A S				Alteraciones en fracciones niCas.
	Síntomas visuales	Rendimientos	Patología de la planta (cortes histológicos)	Alteraciones en macroelementos	
<p>Deficiente                      &lt; 0,03 muy deficiente                      0,03-0,05 deficiente                      0,05-0,07 liger. deficiente                      (Solución nutritiva)</p>	<p>- Clorosis hojas                      - Fragilidad tallos                      - Agostamiento puntas de crecimiento                      - Menor desarrollo</p>	<p>- Menor peso órganos verdes.                      - 70% rendimientos frutos</p>	<p>- Engrosamiento del cambium                      - Menor acción de la auxina                      - Menor lignificación del xilema</p>	<p>- Acumulación de nitratos por no metabolización.                      - Acumulación de <math>PO_4H_2</math> y no metabolización.                      - Menor absorción de Ca</p>	<p>- Descenso del contenido de azúcares en savia y fruto.                      - Descenso del contenido de gomas en savia y fruto.                      - Descenso de vitamina C en fruto.</p>
<p>Normal                      0,07 - 0,15 ppm B                      (Solución nutritiva)</p>	<p>- Desarrollo óptimo</p>	<p>- Rendimiento normal</p>	<p>- Lignificación normal del xilema.</p>	<p>- Metabolización del nitrato.                      - Metabolización de <math>PO_4H_2</math></p>	<p>- Aumento del nivel de aminoácidos en savia y fruto.                      - Acumulación de glúcidos en y fruto.                      - Niveles normales de vitamina C en fruto.</p>
<p>Tóxico                      0,5-3 ppm B, liger. tóxico                      3-5 " " " tóxico                      5 " " " muy tóxico                      (Solución nutritiva)</p>	<p>- Necrosis hojas</p>	<p>- 60% rendimientos frutos                      - Menor peso de órganos verdes.</p>	<p>- No hay variaciones significativas</p>	<p>- Acumulación y no metabolización de <math>NO_3^-</math>.                      - Acumulación y no metabolización de <math>PO_4H_2</math>.                      - Aumento de la movilidad del Ca.</p>	<p>- Descenso del nivel de aminoácidos en savia y fruto.                      - Disminución del contenido de gomas en savia y fruto.                      - Descenso del nivel de vitamina C en fruto.</p>

E. BIBLIOGRAFIA.

~~Jose P. Pineda~~

- (1) AGARWALA, S.C. and SHARMA, C.P., 1.971. "Recognising micronutrient deficiencies under field conditions". Indian Fing, XX, 25-26.
- (2) ALEXANDER, A.G., 1.966. "Abnormal enzyme activity as an early indicator of nutrient deficiencies in plants". Proc, 17th. Int Hort. Congr. Med. 1.966, I, 560.
- (3) ALEXANDER, A.G., 1.965. "Sucrose-enzyme relationships in immature sugar-cane treated with variable molybdenum, calcium, iron, boron, lead, trichloroacetic acid, betaglycerophosphate and starch". Agric. Univ. P.R. XLIX, 443-61.
- (4) ALIEV, D.A., 1.960. "The effect of a combination of microelements and N and P on the yield and quality of tomatoes". Horticultural Abstracts. XLJ, 514.
- (5) AL'SHEVSKII, N.G., 1.967. "Effect of boron and copper trace elements fertilizers on the yield and sugar composition of sugar-beets". Boron in Agriculture. Octubre, 1.969, cita 65.
- (6) ALVAREZ, R. and WINE, A.C., 1.964. "Adubação de cana de açúcar. Experimentos preliminares con micronutrientes". Bragantia, XXII, 657-75.
- (7) A.O.A.C., 1.960. "Official Methods of Analysis". Association of Official Agricultural Chemist. Washington D. S.
- (8) ARNON, D.I. and HOAGLAND, D.R., 1.950. "The water culture method for growing plants without soil". Calif. Agr. Exp. Stat. Circular 347.
- (9) AZIMOV, R.A., 1.961. "Papel de los elementos traza en los procesos de oxidación en las fresas". El Boro en la Agricultura. Abril, 1.963, cita 63.
- (10) BAGINSKAS, B., 1.965. "Effect of trace elements on yield and quality of sugar beet". Soils and Fertilizers, XXX, cita 3.683.

- (11) BAGINSKAS, B., 1.965. "Influence of trace elements on the yield and quality of sugar-beets and maize". Boron in Agriculture. Enero, 1.967, cita 78.
- (12) BASOVIC, M., 1.965. "On the effect of boron on the grain yield of maize". Boron in Agriculture. Octubre, 1.968, cita 36.
- (13) BASOVIC, M., 1.966. "The influence of boron in the developments of the maize grain". Boron in Agriculture. Enero, 1.969, cita 54.
- (14) BACHILLA MANGAS, I., 1.974. "Importancia del análisis de savia en el diagnóstico precoz de nutrición de la remolacha azucarera (*Beta Vulgaris*)". Trabajo de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Complutense.
- (15) BOVAY, E. et col., 1.969. "Influence de certains engrais combinés boriqes sur l'accumulation du fluor dans les végétaux". Rev. Suisse. Vitic. Arboric. I, 30-33.
- (16) BOWEN, J.E., 1.968. "Borate absorption in excised sugarcane leaves". Plant and Cell Physiol. IX, 467-73.
- (17) BOWEN, J.E., 1.967. "Some physiological effects of variable boron and zinc levels on sugar cane". Rep. Hawaii Sugar Technol., XXVI, 35-40.
- (18) BRAVO, C.H., 1.968. "Posible toxicidad de boro en caña de azúcar". Turrialba, XVIII, 72-3. (Estación experimental Molina. Lima. Perú).
- (19) BRIEDIS, P., 1.964. "The application of microelements in fertilising fodder sugar-beet". Boron in Agriculture. Abril, 1.967, cita 50.
- (20) BROWN, J.C. and JONES, W.E., 1.971. "Differential transport of boron in tomato (*Lycopersicum esculentum*)". Physiologia Plantarum, XXV, 279-82.
- (21) BURRIEL, F. y HERNANDO, Y., 1.947. "El fósforo en los suelos. Contribución a la determinación colorimétrica del fósforo". Anal. Sdaf. Eco. y Fis. Veg., VI, 543-82.

- (12) BOSSLER, W., 1977. III Curso Internacional de Fertilidad de Suelos y Nutrición Vegetal. Madrid. Comunicación personal.
- (13) BUSHLER, N., 1.975. III Curso Internacional de Fertilidad de suelos y Nutrición Vegetal. Madrid. Comunicación personal.
- (14) CADAHIA, C., 1.971. "Determinación semiautomática de azufre orgánico y mineral en muestras agrícolas con aparato Leco". Anal. Edaf. y Agrob., XXX, 817-26.
- (15) CADAHIA, C., 1.973. "Determinación simultánea de nitrógeno y fósforo en suelos y plantas con un Sistema Autoanalizador". Anal. Edaf. y Agrob., XXXII, 479- 500.
- (16) CADAHIA, C. y PEÑERO, M.T., 1.974. "Determinación de glúcidos en plantas por fotocolorimetría. Estudio comparativo de métodos clásicos y automáticos". Anal. Edaf. y Agrob., XXXIII, 901- 20.
- (17) CARPENTER, P.N. and others., 1.968. "A critical evaluation of results spectrographic analysis of plant tissue". Tech. Bull. N. Agric. Exp. Stat. XXX, 12.
- (18) CASA TECHNICON, 1.966. Methodologie (glucose) (95). Domont (Paris).
- (19) CASADO, M., 1.974. "Estudio de la fertilización y nutrición del fresón mediante el análisis de savia". Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias. Universidad Complutense.
- (20) CLEMENTS, H.F., 1.965. "The roles of calcium silicate slags in sugar cane growth". Sugar News. XLIII, 668-78; 750-8.
- (21) COMITÉ INTER-INSTITUTOS DE ANÁLISIS FOLIARES, 1.969. Anal. Edaf. y Agrob., XLVIII, 410-y sig.
- (22) CHUB, M.P. and MURSANOV, V.P., 1.971. "Micro-fertilizers and sugar-beet productivity". Field Crop. Abstract, XLIV, 696-7.
- (23) DARKAIBAEV, T.B.; LYSENKO, M. and NIRETINA, M.V., 1.964. "The effect of boron, molybdenum and manganese on the degree of quality of tomatoes". Soils and Fertilizers. XLIX, cita 758.

- (35) DE FELIPE, M.R. y GROSSENBAUER, F.A., 1.964. "Investigación sobre la naturaleza de la capa mucilaginosa presente en las raíces". *Farmacognosia*, XXIX, 105-27.
- (36) DECAU, J., 1.968. "Contribution à l'étude de l'influence des conditions du milieu sur la réparation de l'azote dans le sol. I.- Principales formes d'azote obtenues par hydrolyse. II.- Acides aminés extraits par hydrolyse. III.- Acides et conditions d'aération". Extractos de Tesis francesas.
- (37) DECHEVA, R.; ZOLOTOVICH, G. and KOSSEVA, D., 1.969. "Effect of mineral elements on nitrogen, phosphorus, potassium, amino-acid and sugar content in *Rosa damascena*". *Horticultural Abstracts*, XXXIX, 470.
- (38) DINGAR, R.P., 1.962. "Necesidades en boro del tomate". *Indian Farming*, XII, 11.
- (39) DOLYA, V.S. and LITVIN, L.N., 1.968. "Foliar spraying of sugar-beet plants setting seed". *Field Crop Abstracts*, XXI, cita 1.907.
- (40) DUGGER, W.M.; HUMPHREYS, T.E. and CALOHN, B., 1.957. "The influence of boron on starch phosphorylase and its significance in translocation of sugars in plants". *Plant Physiology*, XXXII, 346-70.
- (41) DUTTA, T.R. and MCILRATH, W.J., 1.964. "Effects of boron on growth and lignification in sunflower tissue and organ cultures". *Botan. Gaz*, CXXV, 89-96.
- (42) DZINOVICH, K.A., 1.967. "Diagnosis of boron deficiency in sugar-beet". *Boron in Agriculture*, octubre 1.968, cita 53.
- (43) FENNER, R.J. and GOLDRING, O.L., 1.968. "The application of boron containing fertilisers to maize". *Rhodesia Agr. J.*, LXV, 112.

- (44) FIGORIO, P. and VIAGLIANO, C., 1.968. "Nouve technique per ottenere barbatella di pesco. III.- Ulteriori ricerche sulla nebulizzazione. (New technique for obtaining rooted cuttings of peach. III. Further studies on misting". *Ortoflorofruttic. Ital.* LII, 779-95.
- (45) FURMAN, W., 1.965. "Análisis Químico Cuantitativo". IX, pág. 137 y sig. Ed. Marín. Barcelona.
- (46) GJUROV, S., GENCEV, S. and GERDZIKOV, I., 1.965. "The effect of certain micro-elements on the early ness and yield of glasshouse tomatoes". *Horticultural-Abstracts*, XXXVI, 141.
- (47) GOWING, D.P., 1.968. "Transforming data in the evaluation of tissue analyzer for micronutrients". *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, XCII, 721-5.
- (48) HAMENCE, J.H. y ORAH, P.A., 1.964. "Efecto de las aplicaciones al suelo y foliares del borato sódico sobre remolacha azucarera". *J. Sci. Food and Agric.*, XV, 565-79.
- (49) HERNANDO, V., CADAHIA, C. y JEJENO, L., 1.964. "Estudio del estado de nutrición de las tomateras mediante el análisis de savia". *Anal. Edaf. y Agrob.* XXIII, 65-77.
- (50) HERNANDO, V. y CADAHIA, C., 1.973. "El análisis de la savia como índice de fertilización". *Manuales de Ciencia Actual. J.C.S.I.C.*
- (51) HEWITT,., 1.952. "Sand and water culture used in the study of plant nutrition". *Commonwealth Agricultural Bureau: Technical communication. No. 22*, 188-91.
- (52) HING, G. and DUGGER, W.M., 1.953. "The role of boron in the translocation of sucrose". *Plant Physiol.*, XXVIII, 457-64.

- (53) HOMES MARCEL, V., 1.953. "L'alimentation minérale des plantes et le problème des engrais chimiques". Masson et Cie. Paris.
- (54) HOMES MARCEL, V., 1.961. "L'alimentation minérale équilibrée des végétaux". Wetteren Universa.
- (55) IVAROVSKII, P.S., 1.970. "Effect of various raters of microelements (B, Mn, Cu) on root yield and quality of sugar-beet on leached chernozem soil in Novosibirsk province". Boron in Agriculture, julio 1.972, cita 57.
- (56) JHONSON, D.L. and ALBERT, L.S., 1.967. "Effect of selected nitrogen-bases and boron on the ribonucleic acid content elongation and visible deficiency symptoms of tomato root tips". Plant Physiol. Lancaster, XLII, 1.307-9.
- (57) JOHANSON, F.D. and WALKER, R.B., 1.963. "Nutrient deficiencies and foliar composition of strawberries". Proc. Amer. Soc. Hort. Sci, LXXXIII, 431-9.
- (58) JURCEV, V.K., VALUTINA, V.A., and LAZUNOVA, V.L., 1.966. "Microelements on small fruit plantings". Horticultural Abstracts, XXXVII, 70.
- (59) JYOTISHI, R.P. and CHOUBEY, P.C., 1.966. "Effect of the application of some trace elements as foliar spray as seed treatment in combination with different levels of nitrogen under fixed levels of phosphorus and potash on growth, yield and quality of tomato". Boron in Agriculture, julio 1.967, cita 49.
- (60) JYOTISHI, R.P. and KASHYAP, R., 1.968. "Effect of some trace as foliar spray under varying levels of nitrogen and phosphorus on the protein content of brinjal fruit". Indian J. Sci. Indust., II, 27-32.
- (61) KANWAR, R.S., 1.960. "Some preliminary studies on the germination and tillering of sugarcane as influenced by minor elements". Horticultural Abstracts, XXX, 589.
- (62) KANWAR, R.S., 1.966. "Uptake of N, P, K and other mineral constituents as influenced by micronutrients". Horticultural Abstracts, XXXVIII, 579.

- (63) KASZTORI, R., 1.967. "Effect of different concentrations of Cu, B, Mn and Zn on the growth and development of wheat". Boron in Agriculture, enero 1.969, cita 62.
- (64) KASZTORI, R. and TYUPINA, T., 1.967. "Colouring matter content of chloroplasts as affected by Cu, B, Mn and Zn in the individual phases of development of wheat". Boron in Agriculture, julio 1.968, cita 18.
- (65) KASZTORI, R. and TYUPINA, T., 1.967. "Effects of Cu, B, Mn and Zn on the pigment content of chloroplasts in wheat during the various stages of development". Boron in Agriculture, enero 1.968, cita 20.
- (66) KIBALENKO, A.P., 1.965. "Effect of boron on carbohydrate metabolism in plants" Boron in Agriculture, enero 1.967, cita 17.
- (67) KORADDI, V.R. and SENI, J., 1.964. "Effect of soil and foliar application of micronutrients on yield and quality of wheat". J. Indian Soc. Soil. Sci., XII, 387-92.
- (68) KUZNETSOV, N.I., 1.962. "Efecto del boro sobre el rendimiento de la remolacha azucarera". El Boro en la Agricultura, abril 1.964, cita 182.
- (69) KUZNETSOV, N.I. and OPENLEIDER, I.V., 1.971. "Effect of B, Mn, and Zn on the yield and quality of maize". Agrokhimiya, II, 142-4.
- (70) KWONG, S.S., 1.967. "Leaf age and leaf fraction influence upon the concentration of microelements in strawberry leaves". Proc. Amer. Soc. Hort. Sci., XCI, 257-60.
- (71) LACHICA GARRIDO, M., 1.964. "Determination of sulphur in plant material".
- (72) LENT, J.L. and SCARCHUK, J., 1.966. "The effects of soil applied borax on the yield and composition of some common vegetables". Res. Rep. Conn. Agric. Exp. Stat., VIII, 46.

- (73) LITCHES, B., 1.966. "Direkte verknader og etter verknader i to gjods lingsforsok (Direct effects and residual effects in two fertilizers experiments with small fruit crops)". Horticultural Abstracts, XXXVII, 304.
- (74) LURACOVIC, A., HENRICHOVA, K. and CAPEK, M., 1.965. "Effect of different mixtures of trace elements on the increase of the production of sucrose in sugar-beet". Boron in Agriculture, enero 1.966, cita 30.
- (75) Mac INNES, C.B. and ALBERT, L.S., 1.969. "Effect of light intensity and plant size on rate of development in early boron deficiency symptoms in to mato root tips". Plant Physiol., XLIV, 965-7.
- (76) MARTINOVA, M.F., 1.962. "Necesidades en boro del maiz a diferentes estadios de ontogenia". El Boro en la Agricultura, enero 1.965, cita 34.
- (77) MATHAN, D.S., 1.964. "Phenylboric acid a chemical agent simulating the effect of the lanceolate cane in tomato". Amer. J. Bot., LI, 666.
- (78) MATUKHIN, G.E. y col., 1.961. "Efecto de los elementos menores sobre el in cremento de la resistencia de las plantas a la salinidad". El Boro en la Agricultura, julio 1.964, cita 228.
- (79) MIYANOTO, T., 1.963. "Efecto del tratamiento de las semillas con 2-cloroetanol sobre la resistencia de planteles de trigo a la toxicidad por boro". Nature, XCVII, 620.
- (80) MUKHERJEE, K.L., 1.968. "Effect of microelement fertilization on the yield and juice quality of sugarcane". Sci and Cult. XXXIV, 125-6.
- (81) MYSEKA, A., 1.962. "Ensayos de campo con boro aplicado a la remolacha azucarera". El Boro en la Agricultura, abril 1.965, cita 46.
- (82) NEALES, T.F., 1.964. "Comparación de las necesidades en boro en plantas — aisladas de tomate y raíces aisladas de tomate desarrolladas en cultivo — estéril". J. Exp. Bot., XV, 647-53.

- (83) NELYUBOVA, S.L. and DOROZHINA, L.A., 1.968. "Effect of boron on sugar distribution in sugar-beet and carrot roots". Boron in Agriculture, octubre 1.969, cita 10.
- (84) CERTLI, J.J. and ROTH, J.A., 1.969. "Boron nutrition of sugar-beet, cotton and soybean". Agron. Journal, LXXI, 191-5.
- (85) OLIMPIENKO, S.S., 1.964. "Effect of trace elements on the activity of catalase, peroxidase and polyphenoloxidase in sugar-beet leaves". Boron in Agriculture, abril 1.967, cita 12.
- (86) OML'CHENKO, L.A., 1.971. "Microelements for sugar-beet". Boron in Agriculture, julio 1.972, cita 70.
- (87) PARISH, D.H., 1.963. "Trace elements". A.R.Mauritius. Sugar. Ind. Res. 57-9
- (88) PARMAR, A.S. and HAMMOND, H.D., 1.968. "The effect of boron and gibberellic acid on the senescence leaf disc from *Lycopersicum esculentum*". Amer. J. Bot., LV, 729.
- (89) PAYNE, M.G. and col., 1.969. "Relationships of four yield characters in sugar-beets". Field Crop Abstracts, XXII, cita 1.196.
- (90) PERKINS, H.G. and ARONOFF, S., 1.966. "Investigations on the role of boron in plants. Anatomical observations". Plant Physiol., XLI, 1.570-7.
- (91) PINTEA, C. y col., 1.962. "Eficacia de las mezclas de elementos traza en el maíz, girasol y remolacha azucarera". Biol. Stiint. Agr., III, 349-58.
- (92) PISKUNOV, G.P., 1.966. "Effect of fertilisers on strawberry culture". Boron in Agriculture, abril 1.967, cita 46.
- (93) PISKUNOV, G.P., 1.966. "Effect of trace elements on strawberry plants under Kirovakan conditions". Chemical Abstracts, LXIII, cita 17C29.

- (94) POLO SANCHEZ, M.C., 1.973. "Evolución de los aminoácidos libres en mosto de uva y en vino por la acción de las levaduras de FLOR". Tesis Doctoral. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense.
- (95) DE R. and SINGH, R., 1.960. "Effect of micronutrient elements on growth yield and chemical composition of sugar cane". Soil Sci, LXXXIX, 97-100.
- (96) RAB, F., 1.964. "Cambios de boro en remolacha azucarera fertilizada con bórax". El Boro en la Agricultura, abril 1.965, cita 33.
- (97) RAGNIOV, U.A., 1.969. "Application of microelements for increasing the resistance of tomatoes to virus diseases". Horticultural Abstracts, XL, 785.
- (98) RECALDE, L. y GÓMEZ ORTEGA, M., 1.968. "Estudio de la influencia del boro en la absorción de otros nutrientes por plantas de tomate". Men. II, Coloq. Eur. Medit. Contr. Fert. Plant. Cult. Sevilla, 733-44.
- (99) ROUICHENKO, W., 1.969. Station Agronomique du Sudouest (France), Comunicación personal.
- (100) SAADATI, K., 1.968. "Amino acids libres chez la betterave à sucre. Influence des engrais azotés sur les matières azotées qui accompagnent le sucre pendant la saccharification". Tesis presentada en la Facultad de Ciencias de la Universidad de Dijon.
- (101) SAMUELS, G. and CEBES-VIADE, H., 1.964. "Influence of mineral deficiencies on the growth and yield of sugarcane". Horticultural Abstracts, XXXIV, 528.
- (102) SAN'KO, A.N., 1.968. "Carbohydrate-protein-metabolism and the formation of reproductive organs in strawberries". Horticultural Abstracts, XXXIX, 284.
- (103) SARIN, M.N. and SADGOPAL, A., 1.967. "Studies on the effect of boron in tomato seedlings. I. Growth and anatomical responses". Indian J. Plant Physiol. VIII, 119-29.

- (104) SANENA, G.K. and LOCASCIO, S.J., 1.969. "Fruit quality of fresh straw--berries as influenced by nitrogen and potassium nutrition". *Prog. Amer. Soc. Hort. Sci.*, XCII, 354-62.
- (105) SENCUK, E.L., 1.969. "The effect of microelements on cold resistance in some vegetable crops". *Horticultural Abstracts*, XLI, 187.
- (106) SHABALIN, I.N., 1.962. "Incremento del contenido en azúcar en la remolacha azucarera en la estepa Kulundinskaya mediante pulverizaciones". *El Boro en la Agricultura*, julio 1.963, cita 113.
- (107) SHKOLNIK, M.Y. y BOZENKO, V.P., 1.960. "Exigencias de los cereales en boro y papel especial de este elemento en la fertilidad y metabolismo del nitrógeno". *El Boro en la Agricultura*, enero 1.963, cita 25.
- (108) SINGH, A. y PAL, A., 1.963. "Necesidades diferenciales de las partes de la planta que necesitan luz y que no la requieren con respecto al boro". *El Boro en la Agricultura*, julio 1.964, cita 238.
- (109) SINGH, R. and SINGH, S., 1.960. "Effect of boron and molybdenum in the presence of inorganic and organic nitrogen on the yield and quality of sugarcane". *Indian J. Sugarcane Res*, IV, 166-70.
- (110) SKOLNIK, 1.965. "The physiological role of boron in plants". *Translated from Proceedings of the International Symposium on Mineral Nutrition of plants and Animals held at Jena, November 1.965.*
- (111) SMILDE, K.W., JONGHAN, E., and LUTT, B., 1.969. "Boron and maize". *Boron in Agriculture*, octubre 1.971, cita 40.
- (112) SOTIRIOU, N., 1.969. "Effects of sulphur, zinc, copper and boron on wheat quality in relation to late application of nitrogen". *Forsch. Berat*, XVIII, 42-44.

- (113) SCOTTAL, W.J. and HEILERS, V.F., 1.970. "Effect of various foliar sprays on the maturity of tomato". Proceedings of the 83rd. Annual Meeting of the Florida State Horticultural Society. Miami, U.S.A., LXXXIII, 212-6.
- (114) SPITHOST, L.S., 1.969. "Spoorelementbemes ting in oligotroof veen voor het opkweken van tomaten planten (Trace elements manuring in oligotrophic peat for raising tomatoes)". Horticultural Abstracts, XL, 1.036.
- (115) SPITHOST, L.S., 1.971. "Spoorelementbemes ting in oligotroof veen voor (Trace elements in oligotrphic peat soil)". Tuinb. Meded., XXXII, 499-506.
- (116) STATION AGRONOMIQUE DU SUDOUEST (Francia), 1.969. "Dosage des sucres solubles et insolubles dans les sarments de la vigne". Comunicación personal.
- (117) STOLJAROV, A.I., 1.971. "The effect of microelements on the yield and quality of vegetable crops". Horticultural Abstracts, XLI, 1.049.
- (118) SUKHAREVA, I.K., 1.965. "Effect of trace elements on yield and quality of a greenhouse tomato culture". Boron in Agriculture, julio 1.966, cita 51.
- (119) TAMHANE, R.V., 1.967. "Micronutrients increase sucrose content". Plant. Fd. Rev. Bombay, VIII, 10.
- (120) TENDILLE, C.; GERVAIS, C.; COIC, J. et GABORIT, T., 1.972. "Influence de la nature de l'alimentation azotée minérale sur la composition en substances azotées de sèves exudées de racines de maïs et de tomate". Agrochimica, XVI, 507-18.
- (121) TORRES, M., 1.971. Trabajos de Tesis Doctoral. (Sin publicar).
- (122) UZIAK, Z. and HURZYNSKI, J., 1.965. "Comparative studies on the response of tomato application of boron by way of roots and leaves". Boron in Agriculture, octubre 1.965, cita 39.

- (123) VANDANOVA, V.M., 1.963. "Physiological processes taking place in tomatoes with external top dressing". Boron in Agriculture, octubre 1.965, cita 39.
- (124) VLASYUK, P.A. y col., 1.963. "Efecto de los elementos menores y de las sustancias estimulantes del crecimiento sobre el incremento en la productividad de las plantas agrícolas". El Boro en la Agricultura, julio 1.964, cita 234.
- (125) VLASYUK, P.A.; SHMATKO, I.G. and RUBANYUK, E.A., 1.968. "Importance of the trace elements zinc and boron in aminoacid metabolism and drought resistance of winter wheat". Fiziologiya Rast., XV, 281-7.
- (126) VORISEK, U.; MINAROVA, E. and BECKA, J., 1.967. "The physiological effect of high boron concentration on maize at different environmental temperatures". Boron in Agriculture, julio 1.968, cita 27.
- (127) WEST, S.H. and HARRIS, H.C., 1.966. "Physiological and biochemical functions of microelements". Proc. Soil. Sci. Soc. Fla., XXV, 83-95.
- (128) WIERMANN, H., 1.969. "Effects of manganese, boron and magnesium on wheat with special reference to proteins in grain and later application of nitrogen". Forch. Berat, XVIII, 44-45.
- (129) WILDES, R.A. and NEALES, T.F., 1.969. "The biological activity of organoboron compounds in the promotion of root growth". J. Exp. Bot., XXI, 591-603.
- (130) WOODS, M.J., 1.965. "Boron deficiency in glasshouse tomatoes". Fm. Res. News, VI, 92.
- (131) ZOREN, M.A., 1.962. "Efecto de los fertilizantes de boro-manganeso sobre el contenido en azúcar de la remolacha azucarera cultivada en el valle de Chuya". El Boro en la Agricultura, abril 1.964, cita 181.