



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE EDAFOLOGIA

ANÁLISIS QUÍMICO DEL EXTRACTO CELULAR DE PECIOLO EN FRESA MEDIANTE LABORATORIOS PORTÁTILES

RICARDO JANEIRO CID

T E S I S

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MEXICO

2014

La presente tesis titulada: **ANÁLISIS QUÍMICO DEL EXTRACTO CELULAR DE PECIOLO EN FRESA MEDIANTE LABORATORIOS PORTÁTILES** realizada por el alumno: **ING. RICARDO JANEIRO CID** bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EDAFOLOGIA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO

Dr. Prometeo Sánchez García

ASESOR

Dr. Gabriel Alcántar González

ASESOR

MC. David Jaen Contreras

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Abril 2014

AGRADECIMIENTOS

Doy gracias a Dios por darme la oportunidad de concluir un reto más en mi vida profesional y darme la sabiduría necesaria para cumplir con esta responsabilidad tan grande que ha sido para mí una experiencia muy grata.

Quiero reconocer también, a las instituciones y docentes la oportunidad y el gran apoyo que me brindaron para lograr concluir este proyecto.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por apoyarme con recursos económicos con el fin de realizar y concluir mis estudios de postgrado.

A la institución educativa “Colegio de Postgraduados” por ofrecerme todos los recursos y herramientas que me facilitaron la realización de mis estudios.

A mi consejo particular, ofrecer mi admiración y gratitud por su aportación educativa, por su valioso tiempo y gran apoyo, para la elaboración de mi tesis.

Al Dr. Prometeo Sánchez García por la excelente aportación de sus conocimientos, por su amistad y gran calidad humana. Por su gran dirección que permitió la elaboración de mi tesis.

Al Dr. Gabriel Alcantar González por su colaboración en la realización de la tesis, con su acertada orientación y aportación cognoscitiva que me brindo.

Al Dr. Manuel Sandoval Villa por su amistad, sencillez al apoyarme en la revisión de mi tesis.

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a mis padres Manuel Janeiro Merino y Yolanda Cid Genis, porque creyeron en mí y porque me sacaron adelante, dándome ejemplos dignos de superación y entrega, porque en gran parte gracias a ustedes, hoy puedo ver alcanzada mi meta, ya que siempre estuvieron impulsándome en los momentos más difíciles, y porque el orgullo que sienten por mí, fue lo que me hizo ir hasta el final. Va por ustedes, por lo que valen, porque admiro su fortaleza y por lo que han hecho de mí.

A mi Esposa María Teresa Solís Salazar por tu paciencia y comprensión, preferiste sacrificar tu tiempo para que yo pudiera cumplir con el mío. Por tu bondad y sacrificio me inspiraste a ser mejor para ti, ahora puedo decir que esta tesis lleva mucho de ti, gracias por estar siempre a mi lado.

A mis hermanos Manuel y Ana Belén por estar siempre a mi lado apoyándome en las buenas y en las malas, gracias por estar en otro momento tan importante en mi vida y gracias por ser como son conmigo.

Abuelos, tíos, primos y amigos.

Gracias por haber fomentado en mí el deseo de superación y el anhelo de triunfo en la vida. Mil palabras no bastarían para agradecerles su apoyo, su comprensión y sus consejos en los momentos difíciles. A todos, espero no defraudarlos y contar siempre con su valioso apoyo, sincero e incondicional.

A mi Profesor-Investigador Prometeo Sánchez García, gracias por su amistad incondicional que me brindó y la excelente orientación que me proporcionó, gracias.

CONTENIDO

RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
I. INTRODUCCIÓN GENERAL	3
II. OBJETIVOS E HIPOTESIS.....	5
III. MUESTREO DEL EXTRACTO CELULAR DE PECIOLO (ECP) PARA EL ANÁLISIS DE N-NO ₃ ⁻	7
RESUMEN.....	7
SUMMARY.....	8
INTRODUCCIÓN.....	9
MATERIALES Y MÉTODOS.....	11
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	12
CONCLUSIONES.....	16
LITERATURA CITADA.....	16
IV. COMPARACIÓN DEL ANÁLISIS QUÍMICO DE SOLUCIONES CON EQUIPOS PORTATILES Y MÉTODOS CONVENCIONALES.....	18
RESUMEN.....	19
SUMMARY.....	19
INTRODUCCIÓN.....	20
MATERIALES Y MÉTODOS.....	22
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	27
CONCLUSIONES.....	31

LITERATURA CITADA.....	32
V. ANÁLISIS NUTRIMENTAL EN EL EXTRACTO CELULAR DE PECIOLO EN PLANTAS DE FRESA (<i>Fragaria x ananassa</i>).....	34
RESUMEN.....	34
SUMMARY.....	35
INTRODUCCIÓN.....	35
MATERIALES Y MÉTODOS.....	37
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	38
CONCLUSIONES.....	42
BIBLIOGRAFÍA.....	42
VI. DISCUSIÓN GENERAL.....	44
VII. CONCLUSIONES.....	47
VIII. LITERATURA CITADA.....	48

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Compuestos químicos que se utilizaron para preparar las soluciones.....	23
---	----

INDICE DE FIGURAS

Figura 3.1. Relación entre la temperatura ambiente y la concentración de NO_3^- en el extracto celular de peciolo de plantas de fresa cv. Festival.....	13
Figura 3.2. Relación entre luminosidad y concentración de NO_3^{-1} en el extracto celular de peciolo de plantas de fresa cv. Festival.....	14
Figura 3.3. Relación entre el porcentaje de humedad del suelo y la concentración de NO_3^- en el extracto celular de peciolo en plantas de fresa cv. Festival.....	15
Figura 4.1. Curvas de calibración para NO_3^- (a), NH_4^+ (b), PO_4^{3-} (c), K^+ (d), Ca^{2+} (e), SO_4^{2-} (f).....	26
Figura 4.2. Relación entre la concentración de NO_3^- , determinada con el ionómetro marca Horiba® tipo LAQUA Twin NO_3^- y por el método de cataldo.....	27
Figura 4.3. Relación entre la concentración de NH_4^+ , determinado con el fotolorímetro marca Hanna Instruments® y por el método de Nessler.....	28
Figura 4.4. Relación entre la concentración de P, determinado con el fotolorímetro marca Hanna Instruments® y mediante el AES-ICP.....	29
Figura 4.5. Relación entre la concentración de K^+ , determinada con el ionómetro marca Horiba® tipo Cardy y por AES-ICP.....	29
Figura 4.6. Relación entre la concentración de Ca^{2+} , determinada con el ionómetro marca Horiba® tipo LAQUA Twin Ca^{2+} y por AES-ICP.....	30
Figura 4.7. Relación entre la concentración de S, determinado con el fotolorímetro marca Hanna Instruments® y mediante el AES-ICP.....	31
Figura 5.1. Análisis de macronutrientes en el extracto celular de peciolo en plantas de fresa por etapas fenológicas.....	40

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue establecer métodos de diagnóstico rápidos y confiables para el análisis químico del extracto celular de pecíolo en fresa mediante el uso de equipos portátiles. Se realizaron tres ensayos a nivel de invernadero, laboratorio y campo.

Primero, con la finalidad de estandarizar el muestreo del extracto celular de pecíolo en fresa se realizó un experimento en invernadero donde se tomó en cuenta la concentración de nitratos en el extracto celular de pecíolo (ECP) y su relación con la temperatura, luminosidad y humedad de suelo. Estas variables fueron medidas con un ionómetro portátil marca Horiba[®], un termómetro, luxómetro y medidor de humedad marca Vernier[®], respectivamente. Los resultados indicaron que la temperatura, luminosidad y humedad del suelo influyen en la concentración de nitratos en el ECP de hojas de fresa.

Segundo, en otro ensayo se compararon los análisis químicos de soluciones, con concentraciones nutrimentales definidas mediante equipos portátiles y métodos convencionales en laboratorio, además de AES-ICP. Los equipos portátiles que se utilizaron fueron los ionómetros de la marca Horiba[®] tipo LAQUA Twin y Cardy y el fotocolorímetro de la marca Hanna Instruments[®] y con ellos se determinaron NO_3^- , K^+ , Ca^{2+} , NH_4^+ , PO_4^{3-} y SO_4^{2-} , respectivamente. Los resultados mostraron una alta correlación ($r= 94\%$, en promedio) entre los análisis químicos realizados con equipos portátiles y los métodos convencionales y AES-ICP.

Finalmente, en otra fase a nivel de campo, se determinó la concentración de N- NO_3 , P- PO_4 , K, Ca, Mg y S- SO_4 en diferentes etapas fenológicas del cultivo de fresa. Los resultados mostraron que el análisis del ECP es una herramienta confiable y rápida para establecer un diagnóstico nutrimental.

ABSTRACT

The objective of this research was to establish fast and reliable methods for the chemical analysis of the cell extract strawberry petiole using portable electronic device for diagnosis. Three trials at greenhouse, laboratory and field were performed.

First, in order to standardize the petiole sap sampling a greenhouse experiment where was taken into account the nitrate concentration in the cell extract petiole (ECP) and its relationship with temperature, light and humidity soil. These variables were measured with a portable ion meter Horiba[®], a thermometer, light meter and moisture meter mark Vernier[®], respectively. The results indicated that the temperature, light and soil moisture influenced the nitrate concentration in the ECP of strawberry leaves.

Second, in another trial chemical analysis of solutions with defined concentrations by nutritional portable electronic devices and conventional laboratory methods, in addition to ICP - AES were compared. Portable electronic devices used were the Ionomers of Horiba trademark[®] type Laqua Twin and Cardy and photocolimeter brand Hanna Instruments[®] and they are determined NO_3^- , K^+ , Ca^{2+} , NH_4^+ , PO_4^{3-} and SO_4^{2-} , respectively. The results showed a high correlation ($r = 94\%$, on average) between the chemical analyzes with portable electronic devices and conventional ICP - AES methods.

Finally, in another trial at the field level, the concentration of N- NO_3 , P- PO_4 , K, Ca, Mg and S- SO_4 was determined at different growth stages of strawberry crop. The analysis results showed that the ECP is a reliable and fast tool for establishing nutrient diagnosis.

I. INTRODUCCIÓN GENERAL

La expresión del potencial de rendimiento de los cultivos depende de varios factores, los que están determinados por su constitución genética, los del tipo externo como el clima, las características del suelo, las condiciones nutrimentales, la técnica de producción y los factores biológicos. De éstos, los factores climáticos en los cultivos que se manejan a campo abierto salen de manera directa del control del hombre; otros, como las plagas, las enfermedades así como los factores que influyen en las condiciones nutrimentales donde se desarrollan los cultivos pueden ser controlados (López y Chuecas, 1985). El estado nutrimental del cultivo es uno de los factores que determina la cantidad y calidad de los frutos, por ello es necesario conocer los factores nutrimentales que limitan la producción en el cultivo (Sánchez y Martínez, 1999). Existen diversas técnicas para diagnosticar los problemas nutrimentales en las plantas y de esta forma tomar medidas correctivas en su momento. En un estado nutrimental óptimo generalmente no se presenta sintomatología atípica y es la situación que se considera “normal” en una plata determinada, sin embargo, cuando existe un desequilibrio nutricional severo, ocurren síntomas visuales en las plantas (Cruz, 2013). En la búsqueda de contar con herramientas de diagnóstico rápidas y confiables se ha generado el análisis del extracto celular de pecíolo que es una opción económica y rápida en comparación con los análisis convencionales en laboratorio que son tardados y costosos. De esta manera, el análisis del extracto celular de pecíolo (ECP) permite identificar desde las primeras etapas de cultivo alguna manifestación de alteración nutrimental que afecte el rendimiento y esto ayuda a generar mejores estrategias para una nutrición integral del cultivo (Castro *et al.* 2000).

La Fresa (*Fragaria x ananassa*) es un frutal consumido principalmente en fresco, con ciclo vegetativo corto y como estrategia para incrementar el rendimiento se ha establecido su

cultivo en sistemas especiales de producción. México registró en 2012 una superficie cultivada de fresa de 9 mil 67 hectáreas, obteniéndose una producción de 360 mil 426 toneladas, por lo que alcanzó un rendimiento promedio de 41.6 toneladas por hectárea. Las principales entidades productoras de este cultivo son Baja California, Guanajuato, Estado de México y Michoacán; en esta última entidad se concentra la mayor producción nacional con una superficie cultivada de 4,716 ha. y una producción superior a las 203,313 ton., seguido por el estado de Baja California con una superficie de 2,480 ha. y una producción de 111,708 ton.; el estado de Guanajuato con una superficie de 959 ha. y una producción de 19,600 ton. y por último, el estado de México con una superficie de 324 ha. y una producción de 57,246 ton (SIAP, 2012).

Los resultados de esta investigación se presentan a manera de artículos y se encuentran en el orden siguiente:

En el capítulo IV se presenta el artículo titulado: “MÉTODO DE MUESTREO DEL EXTRACTO CELULAR DE PECIOLO (ECP) PARA EL ANÁLISIS DE N-NO₃” y el objetivo de este experimento consistió en identificar la relación existente entre el análisis químico del ECP en plantas de fresa y los factores ambientales.

En el capítulo V se incluye el artículo titulado: “COMPARACIÓN DEL ANÁLISIS QUÍMICO DE SOLUCIONES CON EQUIPOS PORTÁTILES Y MÉTODOS CONVENCIONALES”. El ensayo tuvo como objetivo comparar los resultados del análisis químico de soluciones conocidas mediante equipos portátiles marca Horiba® y Hanna Instruments® con los métodos convencionales en laboratorio y mediante AES – ICP.

En el capítulo VI se presenta el artículo: “ANÁLISIS NUTRIMENTAL EN EL EXTRACTO CELULAR DE PECIOLO EN PLANTAS DE FRESA (*Fragaria x ananassa*)” y el objetivo del estudio consistió en determinar la concentración nutrimental en el extracto celular de pecíolo (ECP) en plantas de fresa cultivadas en campo, en diferentes etapas fenológicas.

II. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

2.1 Objetivo General

Establecer un método de muestreo y de diagnóstico nutrimental rápido y confiable para el análisis químico en el extracto celular de pecíolo en fresa mediante el uso de equipos portátiles.

2.1.1 Objetivos Específicos

- Definir la técnica de muestreo del extracto celular de pecíolo (en condiciones de invernadero), tomando en consideración los factores endógenos y exógenos.
- Comparar el análisis químico (NO_3^- , NH_4^+ , H_2PO_4^- , SO_4^{2-} , K^+ , Ca^{2+}) en soluciones de concentración definida, con equipos portátiles marca Horiba® y Hanna Instruments®, contra los análisis convencionales y con AES-ICP.
- Determinar la concentración nutrimental en el extracto celular de pecíolo en diferentes etapas fenológicas del cultivo de fresa, bajo condiciones de campo.

2.2 Hipótesis General

Los ionómetros portátiles marca Horiba® y Hanna Instruments® sirven para estimar la concentración nutrimental en el extracto celular de pecíolo de plantas de fresa con una confiabilidad del 95%, con relación a los métodos convencionales.

2.2.1 Hipótesis Particulares

- La temperatura, luminosidad y humedad del suelo afectan la concentración de N-NO_3^- en el extracto celular de pecíolo.

- La concentración iónica de las soluciones de concentración definida, determinada con los equipos portátiles correlaciona en un 95 % con el análisis convencional y AES-ICP.
- El extracto celular de peciolo sirve para establecer un diagnóstico rápido y confiable en fresa, bajo condiciones de campo, en sus diferentes etapas fenológicas.

III. MUESTREO DEL EXTRACTO CELULAR DE PECIOLO (ECP) PARA EL

ANÁLISIS DE N-NO₃⁻

PETIOLE SAP SAMPLING FOR CHEMICAL ANALYSIS OF N-NO₃⁻

Janeiro Cid Ricardo¹, Sánchez García Prometeo¹, Alcántar González Gabriel¹, Jaen Contreras

David²

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo consistió en identificar la relación entre la concentración de N-NO₃⁻ en el del extracto celular de peciolo (ECP) en plantas de fresa con los factores endógenos y exógenos y establecer un protocolo de muestreo. Se realizaron análisis de NO₃⁻ en el ECP a las 8:00, 11:00 y 14:00 horas con equipos portátiles marca Horiba[®] y se midieron los siguientes parámetros: temperatura del ambiente, la humedad del suelo y la luminosidad. Las mediciones se hicieron con equipos marca Vernier[®] y Steren[®]. Se encontró que el ambiente influye directamente en la concentración de N-NO₃⁻ del ECP. Se observó que el muestreo del ECP a temperatura de 28 °C presentó el menor coeficiente de variación y se encontró una relación directamente proporcional entre la humedad del suelo y la concentración nutrimental en peciolo.

Palabras clave: *temperatura del ambiente, luminosidad, humedad de la hoja*

¹Edafología y ²Fruticultura, Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. C.P. 56230, Montecillo, Estado de México.

SUMMARY

The objective of this study was to identify the relationship between the N-NO₃⁻ concentration of strawberry petiole sap (PS) and endogenous and exogenous factors and establish a sampling protocol. NO₃⁻ in PS analyzes were performed at 8:00, 11:00 and 14:00 with Horiba[®] ionometers and the following parameters were measured: environmental, temperature, soil moisture and luminosity. Measurements were made with Vernier[®] and Steren[®] devices. It was found that the environment conditions influences the nutrient concentration of PS. It was observed that the PS sampled at 28 ° C of temperature showed the lowest variation coefficient and a directly proportional relationship between soil moisture and petiole sap nutrient concentration was found.

Key words: *environmental temperature, luminosity, leaf wetness*

INTRODUCCIÓN

El control de las condiciones nutrimentales en las que se desarrollan los cultivos y su interacción con el ambiente es posible mediante el diagnóstico nutrimental. En un sinnúmero de artículos se discute el tema sobre el análisis químico de elementos en el extracto celular de pecíolo (ECP), comúnmente denominado análisis de savia, pero en muy pocos de ellos se analiza las condiciones exógenas y endógenas que deben considerarse en el muestreo de hojas para el análisis de ECP. Gil y Pszczółkowski (2007) han observado variaciones en la concentración de los nutrientes en vid, según la variedad, edad del tejido, posición de la hoja, clima, época del año, momento de muestreo y presencia de residuos. Asimismo, faltan estándares nutrimentales para cada variedad, portainjerto, localidad y estado fenológico que faciliten la interpretación de los análisis de ECP.

Se ha demostrado que las condiciones ambientales, tales como la humedad del aire y del suelo, así como la temperatura y la intensidad de la luz afectan la concentración nutrimental y también el nivel crítico, tanto en el momento del muestreo como en la respuesta del cultivo a la fertilización. Esto significa que el análisis de plantas es más susceptible que el análisis de suelos a las variaciones de las condiciones ambientales, lo cual explicaría por qué el análisis de plantas ha tenido más éxito en regiones secas, calurosas y con riego. En dichas situaciones, las condiciones ambientales son relativamente constantes, y la humedad del suelo es manejada por el hombre. Barbazán (1998), no recomienda el muestreo de plantas sometidas a estrés hídrico, ya que las concentraciones de N, Ca, Mg y Mn se incrementan, mientras que para K, P, B y Mo, éstas disminuyen. Tampoco es conveniente muestrear cuando la intensidad de la luz y la temperatura son muy altas, ya que algunos nutrientes, como el N, pueden encontrarse en menores cantidades en el tejido muestreado.

Por la necesidad de tener diagnósticos rápidos y confiables, en cultivos intensivos, en la actualidad se están evaluando alternativas que tengan un manejo práctico y que los resultados reflejen el estado nutrimental de la planta lo antes posible. Una de estas herramientas es el análisis nutrimental en el extracto celular de peciolo y tallos, que es donde se encuentran los sistemas de conducción y por donde fluye el agua y minerales (savia bruta) que la planta absorbe del medio de crecimiento (Castro *et al*, 2000).

El análisis del extracto celular de peciolo (ECP), comúnmente denominado análisis de savia, es una técnica complementaria del análisis químico de tejido vegetal y éste refleja el nivel de suministro nutrimental real en las plantas. En algunos países, esta herramienta se utilizó para conocer el estado nutrimental y riesgos de salinidad en cultivos intensivos establecidos con fertirriego, tanto en suelo, como en sustrato (Cadahia, 2008).

El elemento que mayormente se ha estudiado en el ECP es el N-NO₃ y en menor medida, el K y P-PO₄ (Pino *et al*, 2012).

De esta manera, el análisis de ECP permite identificar desde las primeras etapas de cultivo alguna manifestación de alteración nutrimental que afecte el rendimiento (Castro *et al*, 2000). Con esta herramienta se puede diagnosticar desde etapas tempranas alguna anomalía nutrimental y de esta manera, tomar medidas correctivas para que no se afecte el potencial productivo que posee el cultivo.

Sobre los métodos de muestreo para el análisis químico del ECP en tomate, Leyva *et al*. (2005) mencionan que a las 11 am, bajo condiciones de Culiacán, Sinaloa se colectó la tercera y cuarta hojas ubicadas por debajo del punto de crecimiento cuando el fruto presentaba un 10% de madurez y utilizó un ionómetro portátil marca Horiba® para su medición. A su vez, Badillo *et al*. (2001) colectaron muestras de hoja de papa, en El Bajío, entre las 9 y 11 am y se obtuvo el ECP mediante una prensa hidráulica, para su posterior análisis. Brizuela (2005) reporta que el

muestreo de hojas para el análisis químico del ECP en Chile se hizo en un horario de 8 a 9 am en Texcoco, Estado de México. Para tal efecto, se colectaron cinco peciolo por planta, estos se cortaron con una tijera en pequeños trozos y se depositaron en una jeringa de 10 cc, posteriormente se hizo presión con el émbolo hasta obtener de dos a cuatro gotas, las cuales se colocaron en el sensor del ionómetro marca Horiba®. Castro (2000) señala que realizó el muestreo entre las 9 y 10 am en tomate de cascara, en Texcoco, Estado de México, para obtener el ECP en las hojas 3, 4 y 5 a partir del ápice del tallo. Para el traslado de las muestras utilizó bolsas de polietileno oscuro y éstas se trasladaron de inmediato en un recipiente con hielo, posteriormente las muestras se limpiaron con agua destilada y se maceraron con un mortero hasta obtener 3 a 4 ml de ECP.

Por lo anteriormente mencionado, es importante estandarizar el protocolo de muestreo para el análisis químico del extracto celular de peciolo en cultivos de interés agrícola. De tal manera que el objetivo del presente trabajo consistió en establecer los factores exógenos y endógenos que influyen en la composición química del ECP y proponer un método de muestreo de savia confiable y reproducible.

MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se desarrolló en un invernadero de vidrio en el Colegio de Postgraduados, Texcoco, Estado de México.

Se trasplantaron plantas de fresa cv. Festival en contenedores de 10 litros de capacidad con suelo agrícola. El diseño experimental fue un completamente al azar con cuatro repeticiones y cada repetición contó con 3 plantas.

Se tomaron peciolas de las hojas recientemente maduras y se limpiaron con agua destilada, posteriormente se cortaron en trozos más pequeños, se colocaron en una jeringa de 10 cc y se presionó el émbolo para obtener el ECP. En éste se cuantificó la concentración de NO_3^- mediante un ionómetro marca Horiba® tipo Cardy-meter.

La temperatura del ambiente se determinó con un termómetro digital marca Steren®, la luminosidad y la humedad del suelo fueron medidas con un equipo de la marca Vernier® LabQuest.

El registro de datos de los parámetros climáticos con los equipos y sensores mencionados con anterioridad, así como el análisis de NO_3^- en el ECP se realizó en tres diferentes horarios durante el día, cada semana, durante un mes. Esto es, el primer muestreo a las 8:00 horas, el segundo a las 11:00 y el último a las 14:00 horas.

Los resultados fueron sometidos a un análisis de comparación de medias por Tukey ($P>0.05$) para detectar diferencias estadísticas significativas entre las condiciones ambientales predominantes durante el muestreo y la concentración de NO_3^- en el ECP.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 3.1 se observa que la temperatura del ambiente influye en la concentración de nitratos en el extracto celular de pecíolo. A una temperatura de 19 °C se obtuvo un coeficiente de variación (C.V.) promedio de 76%, a 28 °C el C.V. fue de 18% y a 40 °C se obtuvo un C.V. igual a 43%. Esto implica que las mejores condiciones de temperatura para el muestreo del ECP en hojas de fresa estaría en el rango entre 20 y 30 °C. Barbazan (1998) menciona que la

concentración de nitrógeno en las plantas es variable a altas temperaturas y que incluso, ésta se puede reducir en el tejido muestreado.

En un experimento con plantas de maíz Marschner (1995) observó que al incrementar la temperatura de 8 a 28 °C la concentración de potasio se incrementó de 13.4 a 19.6 mM, respectivamente y la concentración de calcio disminuyó de 1.5 a 0.8 mM, respectivamente, no obstante a que el flujo del volumen en el exudado se incrementó de 1.32 a 7.39 mL hora⁻¹.

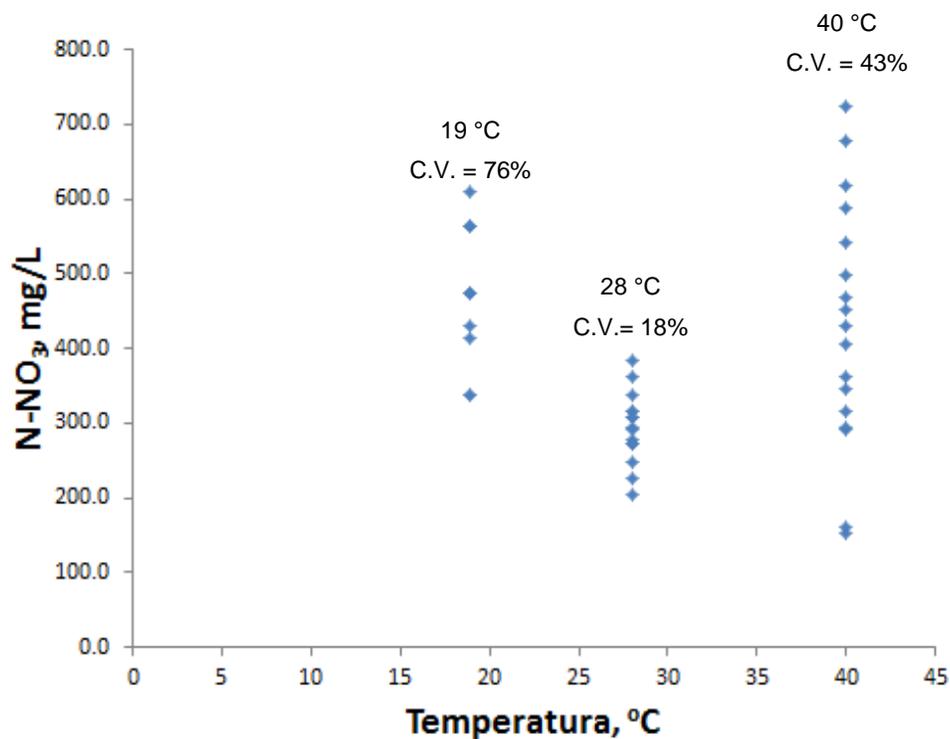


Figura 3.1. Relación entre la temperatura del ambiente y la concentración de N-NO₃ en el extracto celular de peciolo de plantas de fresa cv. Festival.

En la Figura 3.2 se muestra la comparación entre la intensidad de luz con la concentración de nitrógeno nítrico en el ECP y se observó que a 357 luxes la concentración promedio de N-NO₃ fue de 300 mg L⁻¹, a 400 luxes 400 mg L⁻¹ y a 757 luxes 550 mg L⁻¹. A 357 luxes se observó un

coeficiente de variación de 18%, con lo cual se define esta condición ambiental como sugerida para el muestreo del ECP en hojas de fresa. El efecto de la luz sobre la composición nutrimental está relacionado con la cantidad de fotosintatos producidos y la actividad enzimática, alterándose de ésta manera la relación: elemento / materia Seca (efecto de dilución).

Las variaciones de luminosidad afectan particularmente los niveles de N-NO₃ en las plantas. Bajo condiciones de alta luminosidad decrece el contenido de N-NO₃ en la hoja por efecto de dilución, relacionado con la alta producción de carbohidratos y la reducción de éste compuesto por la enzima nitrato reductasa (Taiz y Seiger, 2010). En el ECP ocurre lo contrario de la hoja, conforme se incrementa la luminosidad se incrementa la concentración de N-NO₃.

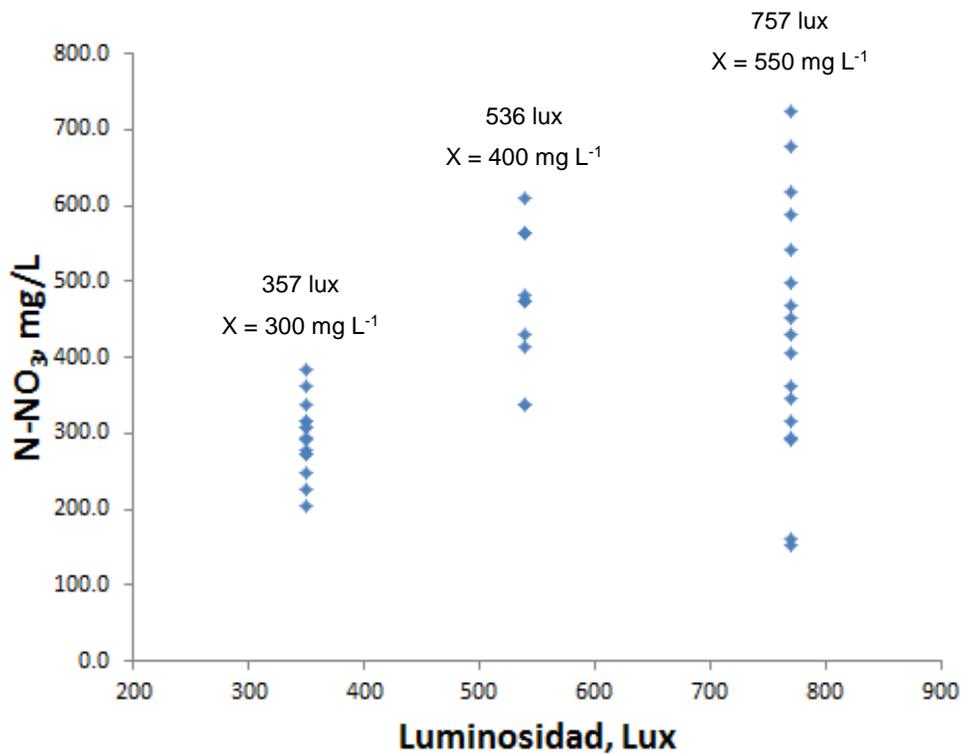


Figura 3.2. Relación entre luminosidad y concentración de N-NO₃ en el extracto celular de peciolo de plantas de fresa cv. Festival.

En la Figura 3.3 se observa el análisis de regresión (promedio de las repeticiones) entre el contenido de humedad del suelo y la concentración de N-NO₃ en el ECP de hojas de fresa. Se encontró una alta correlación positiva ($r = 0.875$) entre las variables evaluadas y un coeficiente de determinación del 78%. Goodger (2005) encontró que al someter la planta a estrés hídrico la concentración de nitrógeno disminuía. El mismo fenómeno se observó en nuestro ensayo, en donde, al aumentar el contenido de humedad del suelo se incrementó la concentración de N-NO₃ en el ECP. Por lo tanto, para el muestreo de hojas para el análisis químico del ECP en hojas de fresa se sugiere que el suelo se encuentre a capacidad de campo, es decir, entre un 20-30% de humedad aprovechable.

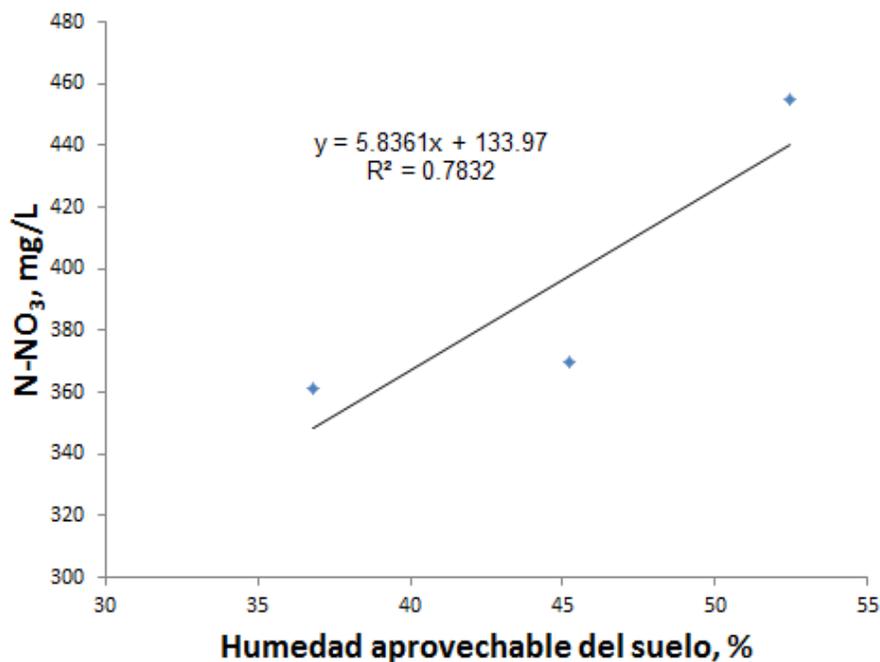


Figura 3.3. Relación entre el porcentaje de humedad del suelo y la concentración de N-NO₃ en el extracto celular de peciolo en plantas de fresa cv. Festival.

CONCLUSIONES

La temperatura, luminosidad y el contenido de humedad aprovechable del suelo influyen en la concentración de N-NO₃ en el ECP de plantas de fresa cv. Festival.

Se recomienda que en el momento del muestreo de hojas para el análisis químico del ECP se tenga una temperatura entre 20 y 30 °C, una intensidad de luminosidad de 400 luxes y que el suelo se encuentre a capacidad de campo.

LITERATURA CITADA

Badillo T. V., R. J. Z. Castellanos, R. J. J. Muñoz. G. P. Sánchez, R. S. Villalobos, T. P. Vargas. (2001). Niveles de referencia de nitrógeno en tejido vegetal de papa (*Solanum tuberosum* L.) Var Alpha en la región del Bajío. *Agrociencia*, 35(6), 615-623.

Barbazán, M.(1998). *Análisis de Plantas y Síntomas Visuales de Deficiencia de Nutrientes*. Facultad de agronomía de la Universidad de la República de Montevideo-Uruguay. Montevideo, Uruguay.

Cadahia L. C. (2008) *La savia como índice de fertilización*. Editorial mundiprensa. 256 p.

Cary, R. P. 1971. The irrationality of using leaf analysis as a unique reference to citrus fertilizer requirement, pp. 15-27. *In: Recent Advances in Plant Nutrition*. Vol. 1. Samish, R. M. (ed.) Ed. Gordon and Breach Science Publishers. New York, USA.

Castro B. R., G. P.Sánchez, L. A. Peña, G. G. Alcantar., C. G. A. Baca, y R. R. M. López. (2000). Nitratos en el extracto celular de pecíolos y tallo de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) y su relación con el rendimiento. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 6(1), 33-38.

Gil, G.F., P. Pszczólkowski. 2007. Viticultura: fundamentos para optimizar producción y calidad. Santiago: Universidad Católica de Chile. 535p.

Goodger, J. Q., R. E . Sharp, E. L. Marsh, y D. P. Schachtman, (2005). Relationships between xylem sap constituents and leaf conductance of well-watered and water-stressed maize across three xylem sap sampling techniques. *Journal of experimental botany*, 56(419), 2389-2400.

Leyva R. G., G. P. Sánchez, G. G. Alcántar, U. J. G. Valenzuela, R. F. Gavi y G. A. Martínez. (2005). Contenido de nitratos en extractos celulares de pecíolos y frutos de tomate. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 28.

Marschner H (1995) *Mineral Nutrition of Plants*, Ed 2. Academic Press, Boston

Pino, P., R. Callejas, B. Razeto, y G. Reginato. (2012). Análisis químico del extracto peciolar para evaluar el estado nutricional en la vid. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, 47(1), 111-117.

Taiz, L. y Zeiger, E. (2010). *Plant Physiology*. Sinauer, USA (5ª edición, en inglés).

**IV. COMPARACIÓN DEL ANÁLISIS QUÍMICO DE SOLUCIONES CON EQUIPOS
PORTATILES Y MÉTODOS CONVENCIONALES**

**COMPARISON OF SOLUTIONS CHEMICAL ANALYSIS WITH PORTABLE
EQUIPMENT AND CONVENTIONAL METHODS**

Janeiro Cid Ricardo¹, Sánchez García Prometeo¹, Alcántar González Gabriel¹, Jaen Contreras
David²

¹Edafología y ²Fruticultura, Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. C.P. 56230,
Montecillo, Estado de México.

RESUMEN

El objetivo del presente estudio consistió en comparar los resultados del análisis químico de soluciones con concentraciones definidas mediante equipos portátiles marca Horiba® y Hanna Instruments® con los métodos convencionales en laboratorio (colorimétricos e ICP-AES).

Se elaboraron curvas de calibración para NO_3^- , NH_4^+ , PO_4^{3-} , SO_4^{2-} , K^+ , Ca^{2+} con las siguientes concentraciones: 50, 100, 150, 200, 250 y 300 mg L^{-1} . La concentración de NO_3^- se determinó con un ionómetro marca Horiba® y se comparó con el método de cataldo. Para la determinación de NH_4^+ se usó un fotocolorímetro marca Hanna Instruments® y mediante el método de Nessler. La concentración de PO_4^{3-} y SO_4^{2-} se determinó con el equipo Hanna Instruments® y se comparó con el análisis mediante AES-ICP. Para la medición de K^+ y Ca^{2+} se usó un ionómetro portátil marca Horiba® y con el AES-ICP.

Se encontró una alta correlación entre los resultados de los análisis químicos con los equipos portátiles y los métodos convencionales (NO_3^- , $r = 0.9604$; NH_4^+ , $r = 0.9463$; PO_4^{3-} , $r = 0.9922$; SO_4^{2-} , $r = 0.9799$; K^+ , $r = 0.9654$ y Ca^{2+} , $r = 0.9917$).

Palabras Clave: *Espectrofotometría, Potenciometría, ICP-AES.*

SUMMARY

The aim of this study was to compare the results of the chemical analysis of solutions with defined concentrations by Horiba® laptops and Hanna Instruments® to conventional methods in the laboratory (colorimetric and AES-ICP).

Calibration curves were prepared for NO_3^- , NH_4^+ , PO_4^{3-} , SO_4^{2-} , K^+ , Ca^{2+} with the following concentrations: 50, 100, 150, 200, 250 and 300 mg L⁻¹. NO_3^- concentration was determined using a Horiba ® ionometer and was compared to cataldo methodology. To determine NH_4^+ a Hanna Instruments ® photocolorimeter was used and compared with Nessler methodology. The concentration of PO_4^{3-} and SO_4^{2-} was determined by Hanna Instruments ® equipment and compared with an analysis by AES-ICP. K^+ and Ca^{2+} was determined with a portable Horiba ® ionometer and was compared with the AES-ICP.

A high correlation was found between the chemical analysis and portable ionometers (NO_3^- , $r = 0.9604$; NH_4^+ , $r = 0.9463$; PO_4^{3-} , $r = 0.9922$; SO_4^{2-} , $r = 0.9799$; K^+ , $r = 0.9654$ y Ca^{2+} , $r = 0.9917$).

Key words: *Spectrophotometry, potentiometry, ICP-AES*

INTRODUCCIÓN

La nutrición vegetal es uno de los factores que determina el desarrollo y crecimiento de los cultivos, por lo tanto, es necesario conocer aquellos parámetros nutrimentales que limitan la producción (Sánchez y Martínez, 1999). Existen diversas técnicas para diagnosticar anomalías nutrimentales en las plantas y de esta forma, tomar medidas correctivas en su momento, una de estas es el análisis químico de tejido vegetal, el cual determina la concentración total de nutrimentos en la planta. Este análisis se basa en que el contenido de nutrimentos encontrados en el tejido, es un indicador del suministro de nutrimentos presentes en el suelo.

Uno de los factores fundamentales que permite obtener altos rendimientos y, por consiguiente, rentabilidad de los productos agrícolas es la fertilización, la cual debe ser ajustada y

recomendada a cada especie con base en sus respectivas curvas de extracción de nutrimentos. (Pineda *et al.*, 2008). Se ha estimado que la dosis de fertilización está en función de la demanda del cultivo, el suministro del suelo, así como la eficiencia del fertilizante (Etchevers, 1987).

En la actualidad, está disponible una amplia variedad de métodos analíticos para el análisis mineral, tales como espectrofotometría y espectrometría de emisión atómica de plasma acoplado inductivamente ICP-AES (inductively coupled plasma atomic emission spectrometry) (Kastenmayer, 1997).

La espectrofotometría, también llamada colorimetría, es una técnica que consiste en la determinación de la cantidad de un constituyente por medio del grado de absorción de luz, de una longitud de onda específica, por sustancias coloridas (Alcantar y Sandoval, 1999). El principio de esta técnica se basa en que la luz blanca al pasar a través de una solución colorida adquiere un color. En ese momento ciertas longitudes de onda de la luz han sido absorbidas por el material colorido en la solución y, aquellas longitudes de onda no absorbidas, atraviesan y son observadas como un matíz (tinte) de la solución.

La ICP-AES a diferencia de la espectrofotometría, es una técnica multielemento que permite el análisis simultáneo de un gran número de elementos. Se basa en la medición de la radiación de la línea espectral emitida por átomos excitados en un plasma de Ar generado por calentamiento inductivo con un campo electromagnético de alta frecuencia (Kastenmayer, 1997).

Skoog y West (2002) mencionan que para medir el contenido iónico en una solución, el método analítico recomendado es el potenciométrico, que consiste en comparar el potencial de un electrodo indicador en contacto con la solución problema, con el potencial del mismo electrodo sumergido en una serie de soluciones patrón del componente a determinar.

En la actualidad se cuenta con equipos portátiles tales como ionómetros marca Horiba® y su funcionamiento se basa en la respuesta selectiva a una especie presente en la disolución. Están contruidos por una membrana que separa la muestra problema del interior del electrodo, el cual contiene una disolución con actividad constante del ion en cuestión. La parte externa está en contacto con la muestra de composición variable y la diferencia de potencial a través de la membrana depende de la diferencia de actividades entre la solución interna y la externa (Cadahía, 2008). Además de fotocolorímetros marca Hanna Instruments®, denominados comercialmente equipos multiparamétricos que se utilizan para medir iones en soluciones incoloras.

El objetivo del presente estudio consistió en comparar los resultados del análisis químico mediante equipos portátiles marca Horiba® y Hanna Instruments® con los métodos convencionales en laboratorio mediante ICP-AES.

MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se desarrolló en el Laboratorio “Dr. Salvador Alcalde Blanco” del Colegio de Postgraduados, en Texcoco, Estado de México. El experimento consistió en hacer soluciones de concentración definida para los siguientes iones: NO_3^- , NH_4^+ , PO_4^{3-} , SO_4^{2-} , K^+ , Ca^{2+} . Se elaboraron curvas de calibración con las siguientes concentraciones: 50, 100, 150, 200, 250 y 300 mg L^{-1} . Para para la elaboración de dichas soluciones se utilizaron sales grado reactivo de la marca Fermont para NO_3^- , PO_4^{3-} , SO_4^{2-} , K^+ , Ca^{2+} y J.T. Baker para NH_4^+ (Cuadro 1).

Cuadro 1. Compuestos químicos que se utilizaron para preparar las soluciones.

Compuesto	Formula química	Ion de interés
Nitrato de calcio	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	NO_3^- y Ca^{2+}
Sulfato de amonio	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	NH_4^+
Fosfato de potasio dibásico	K_2HPO_4	PO_4^{3-}
Cloruro de potasio	KCl	K^+
Sulfato de zinc	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	SO_4^{2-}

Inicialmente se elaboró un litro de una solución patrón con una concentración de 1000 mg L⁻¹ para cada elemento y posteriormente se realizaron diluciones a 50, 100, 150, 200, 250 y 300 mg L⁻¹ de cada uno de los iones de interés. Las diluciones se efectuaron con la siguiente fórmula:

$$V_1 C_1 = V_2 C_2, \text{ donde:}$$

V_1 = Volumen deseado; C_1 = concentración conocida; V_2 = volumen conocido y C_2 = concentración deseada.

Posteriormente se procedió al análisis químico de cada elemento en laboratorio. Para el análisis de nitratos se usó el método de cataldo (Alcántar y Sandoval, 1999), en donde el complejo formado por nitración de ácido salicílico bajo condiciones fuertemente ácidas presenta máxima absorción a una longitud de onda de 410 nm en soluciones básicas (pH >12). La absorbancia del cromóforo es directamente proporcional a la cantidad de nitratos presentes en la muestra. Se transfirió 0.2 ml de la muestra en un matraz Erlenmeyer de 50 mL, se adicionó 0.8 mL de ácido salicílico - ácido sulfúrico, después de 20 minutos a temperatura ambiente se agregó 19 mL de hidróxido de sodio 2 N para aumentar el pH a 12 y se leyó la absorbancia a 410 nm y las mediciones se compararon con la curva de calibración (Figura 4.1a).

Para la determinación de amonio se utilizó el método de Nessler que cuantifica todo el nitrógeno reducido que se encuentra en la muestra (Alcántar y Sandoval, 1999). Se tomó una alícuota de 0.2 mL de la muestra y se llevó a un volumen de 7 mL con agua desionizada, después se agregó 2 mL del reactivo de Nessler y se leyó la absorbancia a 420 nm y las mediciones se compararon con la curva de calibración (Figura 4.1b).

Para el análisis de las muestras en el ICP-AES se prepararon soluciones multielementos con las siguientes concentraciones: 50, 100, 150, 200, 250 y 300 mg L⁻¹ y éstas se dividieron en dos grupos (soluciones a base de fosfato de potasio dibásico para PO₄³⁻ y nitrato de calcio para Ca²⁺ y soluciones a base de cloruro de potasio para K⁺ y sulfato de zinc para SO₄²⁻), para que no interfirieran entre ellas (Figuras 4.1c – 4.1f).

Para el análisis químico de las muestras se emplearon los siguientes equipos portátiles: fotómetro para análisis de nutrientes en agricultura marca Hanna Instruments® modelo HI 83225 para determinar NH₄⁺, PO₄³⁻ y SO₄²⁻, medidor de bolsillo marca Horiba Scientific® tipo LAQUAtwin sensitivo a NO₃⁻, medidor de bolsillo marca Horiba Scientific® tipo LAQUAtwin sensitivo a Ca²⁺ y medidor de bolsillo marca Horiba Scientific® tipo Cardy sensitivo a K⁺.

Para la medición de fósforo con el fotolorímetro marca Hanna Instruments® modelo HI 83225, se tomó 1 mL de la solución que contenía el fosfato de potasio dibásico y se llevó a un volumen de 10 mL con agua desionizada, posteriormente se seleccionó el programa fósforo HR y la muestra se colocó en el equipo para llevarla a CERO. Después, se agregaron los reactivos HI 93706A y HI 93706B y la solución se agitó suavemente durante un minuto. Posteriormente, la muestra se llevó al equipo y después de 5 minutos se obtuvo la lectura del resultados de PO₄³⁻.

La medición de NH_4^+ con el equipo marca Hanna Instruments® modelo HI 83225 en las muestras que contenían sulfato de amonio, se hizo de la siguiente manera. Se tomó 1 mL de la solución y se aforó a 10 mL con agua desionizada, posteriormente se seleccionó el programa amonio HR y la muestra se colocó en el equipo para llevarla a CERO. Enseguida se agregaron cuatro gotas del reactivo A a la muestra, ésta se cubrió y se invirtió dos veces, posteriormente se agregaron cuatro gotas del reactivo B y se invirtió dos veces más, finalmente la muestra se colocó en el equipo y después de tres minutos y medio se obtuvo la lectura del resultado.

Para la medición de SO_4^{2-} con el fotolorímetro marca Hanna Instruments® modelo HI 83225 se tomó 1 mL de la muestra que contenía sulfato de zinc y se aforó a 10 mL con agua desionizada. En el equipo se eligió el programa para la medición de sulfatos y la muestra se colocó en el equipo para llevarla a CERO. Enseguida, a éste se le agregó el reactivo HI 93751 y se agitó durante un minuto suavemente. Finalmente, la muestra se colocó en el equipo y después de 5 minutos se tomó la lectura del resultado.

La medición de NO_3^- , K^+ y Ca^{2+} se realizó con ionómetros portátiles marca Horiba®. Los equipos se calibraron a dos puntos: 150 mg L^{-1} y 2000 mg L^{-1} como se indica en el protocolo de calibración de dichos equipos.

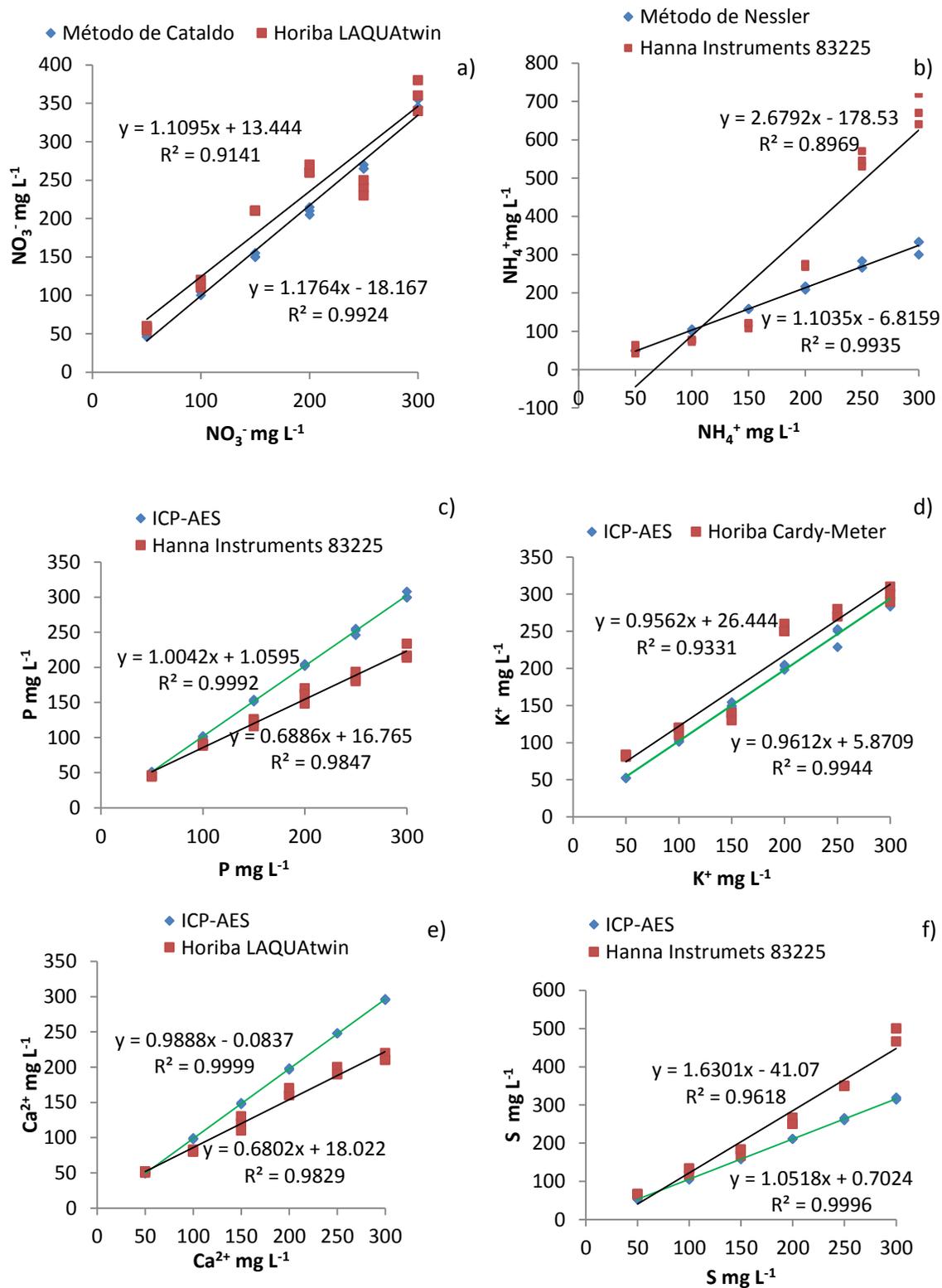


Figura 4.1. Curvas de calibración para NO_3^- (a), NH_4^+ (b), PO_4^{3-} (c), K^+ (d), Ca^{2+} (e), SO_4^{2-} (f).

SO_4^{2-} (f).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 4.2 se observa una alta correlación ($r = 0.9604$) entre la concentración de NO_3^- , determinado por el método de Cataldo y el potenciométrico con el equipo Horiba® tipo LAQUAtwin. Esto coincide con los resultados obtenidos por Valdés (2004) quien obtuvo un coeficiente de determinación del 93% al correlacionar los análisis de nitratos medidos en solución con un ionómetro portátil tipo Cardy y el método de cataldo.

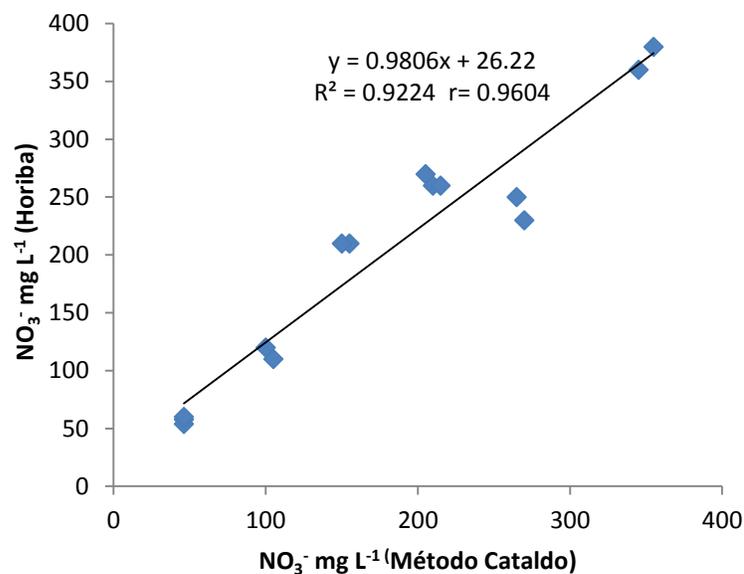


Figura 4.2. Relación entre la concentración de NO_3^- , determinada con el ionómetro marca Horiba® tipo LAQUA Twin NO_3^- y por el método de cataldo.

Se encontró una alta correlación positiva ($r = 0.9463$) entre los análisis de amonio, determinado por el método de Nessler y el fotocolorímetro Hanna Instruments® modelo HI 83225 NH_4^+ (Figura 4.3). Resultados similares encontró Valdés (2004) quien reportó una $r^2 = 0.814$ para esta variable.

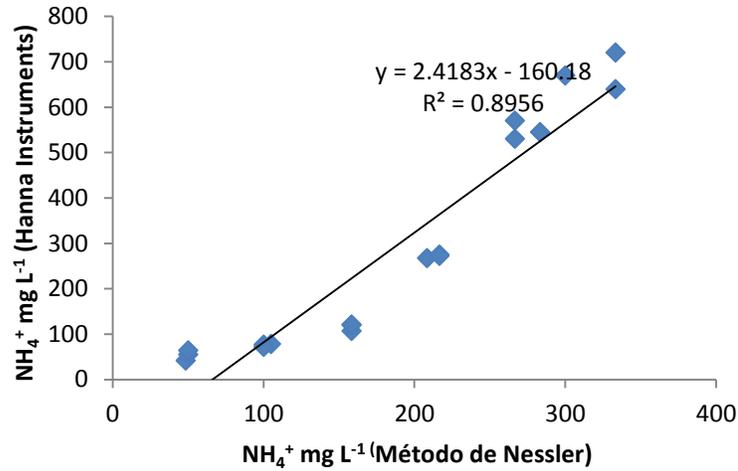


Figura 4.3. Relación entre la concentración de NH₄⁺, determinado con el fotocolorímetro marca Hanna Instruments® y por el método de Nessler.

La comparación entre la concentración de fósforo medido con un fotocolorímetro marca Hanna Instruments® modelo HI 83225 y con el AES-ICP (Figura 4.4) mostró una correlación positiva ($r = 0.9922$). Aguilar (2001) reportó para el caso de la determinación de Flúor un valor de $r^2 = 0.98$, al comparar el análisis químico de éste elemento mediante potenciometría con electrodo selectivo y el ICP-AES como método de referencia.

El coeficiente de determinación obtenido para K⁺ mediante el análisis con el AES-ICP y el ionómetro marca Horiba® tipo Cardy indica que se puede estimar el contenido de K⁺ en campo con una precisión del 98% (Figura 4.5). Taber (2007) obtuvo un coeficiente de determinación de 0.94 para determinar K⁺ en el extracto celular de peciolo en tomate con los mismos equipos empleados en el presente estudio.

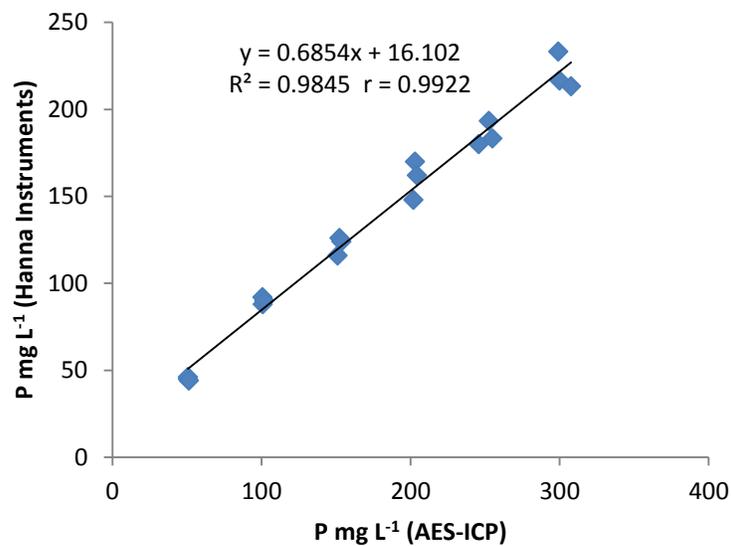


Figura 4.4. Relación entre la concentración de P, determinado con el fotocolorímetro marca Hanna Instruments® y mediante el AES-ICP.

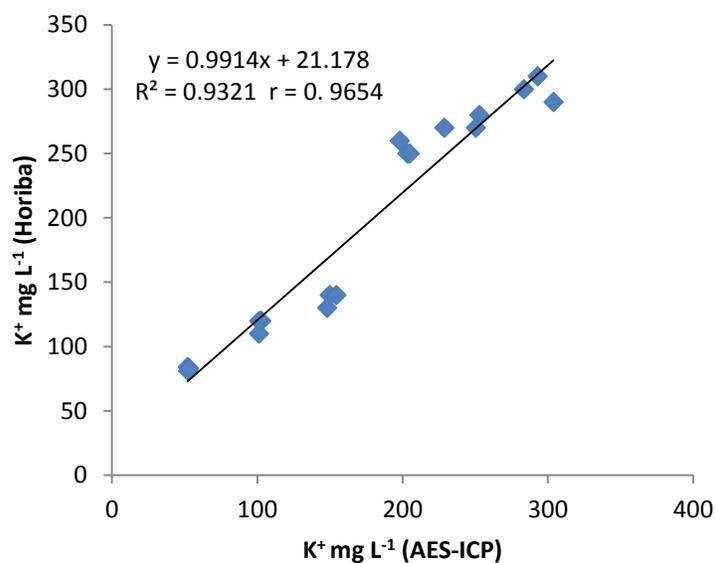


Figura 4.5. Relación entre la concentración de K⁺, determinada con el ionómetro marca Horiba® tipo Cardy y por AES-ICP.

Para el calcio (Figura 4.6), se comparó el resultado del análisis químico con el AES-ICP y el ionómetro marca Horiba® tipo LAQUAtwin Ca²⁺. Se observó una $r = 0.9917$ y una $r^2 = 0.9837$, lo cual indica que se tiene una alta precisión para medir el calcio en campo con el equipo portátil, tanto en savia como en soluciones nutritivas o edáficas. Resultados similares obtuvo Aguilar (2001) al comparar estos dos métodos de análisis, con una $r = 0.99$ y $r^2 = 0.98$.

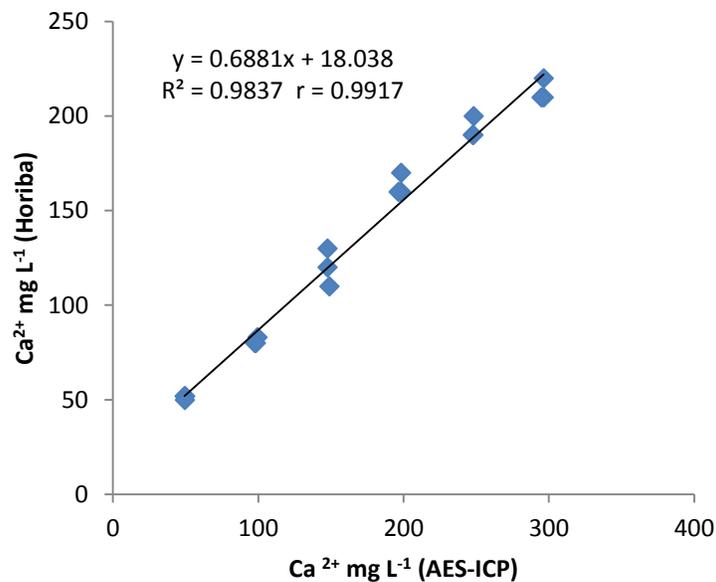


Figura 4.6. Relación entre la concentración de Ca²⁺, determinada con el ionómetro marca Horiba® tipo LAQUA Twin Ca²⁺ y por AES-ICP.

En la Figura 4.7 se observan los coeficientes de determinación y regresión al comparar los análisis químicos de S, obtenidos mediante AES-ICP y con el fotocolorímetro marca Hanna Instruments® modelo HI 83225 S. Se encontró una alta correlación positiva ($r = 0.9799$) entre los

métodos evaluados. González (2010) comparó el método colorimétrico con el AES-ICP para determinar S y obtuvo una $r^2 = 0.90$ y una $r = 0.98$.

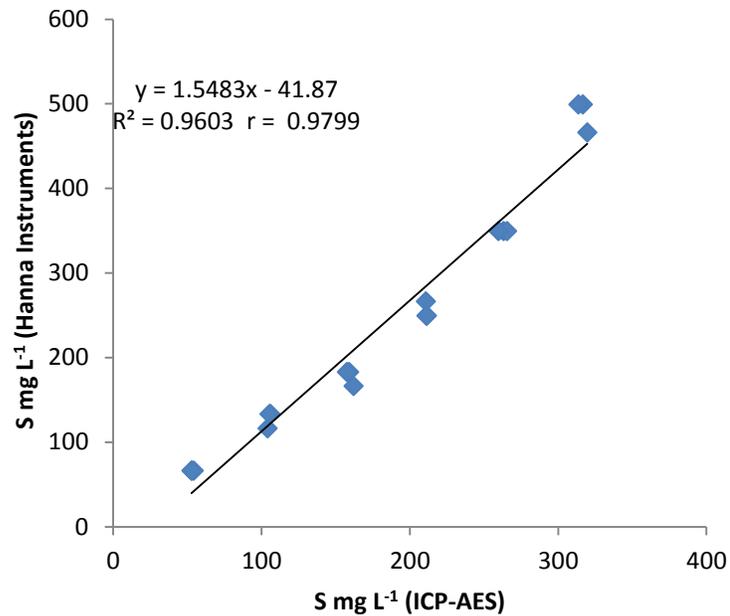


Figura 4.7. Relación entre la concentración de S, determinado con el fotocolorímetro marca Hanna Instruments® y mediante el AES-ICP.

CONCLUSIONES

Se encontró una alta correlación entre los resultados de los análisis químicos con los equipos portátiles marca Horiba® y Hanna Instruments® y los métodos convencionales (NO_3^- , $r = 0.9604$; NH_4^+ , $r = 0.9463$; PO_4^{3-} , $r = 0.9922$; SO_4^{2-} , $r = 0.9799$; K^+ , $r = 0.9654$ y Ca^{2+} , $r = 0.9917$).

LITERATURA CITADA

Aguilar, P. 2001. Validación del método Potenciométrico por Ion Selectivo para la determinación de Flúor en sal, agua y orina. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 18(1-2), 21-23.

Alcántar, G. G. y M. Sandoval V.1999. Manual de análisis químico de tejido vegetal. Publicación especial No 10. Sociedad Mexicana del Suelo. A. C. Chapingo, México. 156 p.

Cadahía, L., C. 2008. La savia como índice de fertilización. Cultivos agroenergéticos, hortícolas, frutales y ornamentales. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. 255 pp.

Etchevers B., J. 1987. Diagnóstico visual. Colegio de Postgraduados. Chapingo, Estado de México. 30 p.

González Santoyo, H., Nurit, E., Peña-Bautista, R. J., Posadas Romano, G., & Hernández Espinosa, N. 2010. Eficiencia de métodos rápidos para la selección de trigo con alta concentración de hierro y de zinc. Memoria de Resúmenes del Congreso Nacional, XXIII e Internacional de Fitogenética, III; Nayarit (México).

Kastenmayer, P. 1997. Análisis de minerales y elementos trazas en alimentos. Producción y manejo de datos de composición química de alimentos en nutrición. FAO, INTA-Universidad de Chile, Santiago de Chile, 271-294.

Sánchez, G., P. y Martínez, B. N. 1999. Nutrición Mineral de Alstromeria. Publicación Especial 9. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo (SMCS). Chapingo, México. 33p.

Skoog, D. A. y West, D. M. (2002). Introducción a la química analítica. Ed. Reverté Barcelona. 460pp

Taber, H. G., & Lawson, V. 2007. Use of diluted tomato petiole sap for potassium measurement with the cardy electrode meter. *Communications in soil science and plant analysis*, 38(5-6), 713-718.

Valdés, A., Marti, L. H. E., Filippini, M. F., & Salcedo, C. 2004. Determinación de nitratos en vegetales comparación de cuatro métodos analíticos. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias., 36(1), 21-28.

**V. ANALISIS NUTRIMENTAL EN EL EXTRACTO CELULAR DE PECIOLO EN
PLANTAS DE FRESA (*Fragaria x ananassa*)**

PETIOLE SAP NUTRIENT ANALYSIS IN STRAWBERRY (*Fragaria x ananassa*)

Janeiro Cid Ricardo¹, Sánchez García Prometeo¹, Alcántar González Gabriel¹, Jaen Contreras

David²

RESUMEN

El objetivo del estudio consistió en determinar la concentración nutrimental en el extracto celular de pecíolo (ECP) en plantas de fresa cultivadas en campo, en diferentes etapas fenológicas.

Los muestreos se hicieron desde la etapa de desarrollo vegetativo hasta el inicio de cosecha; se recolectaron hojas recientemente maduras, asintomáticas y libres de daños y lesiones y se determinó la concentración de P-PO₄, K, Ca, Mg y S-SO₄ en extracto celular del pecíolo (ECP) mediante AES-ICP y N-NO₃ con un ionómetro portátil. Los resultados mostraron que el análisis químico del extracto celular de pecíolo, realizado en las etapas fenológicas importantes, es una herramienta práctica y confiable para establecer un diagnóstico nutrimental, lo que permite generar estrategias de manejo nutrimental en el cultivo de fresa de manera rápida, eficaz y oportuna.

Palabras Clave: *etapas fenológicas, AES-ICP, nutrición*

¹Edafología y ²Fruticultura, Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. C.P. 56230, Montecillo, Estado de México.

SUMMARY

The purpose of the study was to determine the nutrient concentration in petiole sap extract (PSE) of strawberry plants at different phenological stages. The samples were made starting from the vegetative stage until the harvest. Recently mature, asymptomatic and free of damage leaves were collected. Concentration of P-PO₄, K, Ca, Mg and S-SO₄ was determined in PSE by ICP-AES and N-NO₃ with a portable ion meter. The results showed that petiole sap analysis, performed in important phenological stages, is a practical tool and reliable way to establish a nutritional diagnostic, which allows generating nutrient management strategies in growing strawberry quickly, effectively and timely.

Index words: *phenological stages, ICP- AES, nutrition*

INTRODUCCIÓN

En México, a los cultivos de fresa, zarzamora, frambuesa y arándano se les denomina berries, frutillas o moras y su producción ha cobrado gran importancia en los últimos años.

En el campo, uno de los factores que inciden directamente en la producción y calidad del fruto de fresa es la nutrición (Gwathmey *et al.*, 2009). Los factores nutrimentales están relacionados con la demanda de la planta y a su vez, esto dependerá de la producción de materia seca y la concentración nutrimental, especialmente si se monitorea la disponibilidad de nutrientes en el suelo o en las plantas. Para tener un control nutricional se pueden utilizar varios métodos que pueden ser directos o indirectos; entre los métodos directos el más usado es el diagnóstico agrícola, el cual tiene varias herramientas como el análisis foliar o de tejidos que permite evaluar el contenido de nutrientes durante el ciclo del cultivo de manera más precisa (Moreno *et al.*, 2003). Es importante considerar que cada nutriente presenta una estacionalidad diferente en la planta, ya que es un indicador del grado de absorción, utilización, redistribución interna y de extracción de nutrimentos en ésta, y los órganos, sirven como referencia para la programación de

la fertilización. Para evaluar el efecto de uno o más nutrientes durante el crecimiento, desarrollo, rendimiento, calidad del producto y absorción de los nutrientes por los cultivos se han llevado a cabo numerosas investigaciones (Huang *et al.*, 2009; Roshani y Narayanasamy, 2010), sin que exista una técnica definitiva. Lo más común es que se modifique la concentración del nutriente en cuestión, por lo que el manejo de la nutrición en un sistema de producción agrícola resulta ser complejo. El análisis foliar convencional nos indica la cantidad del nutriente que fue asimilado por la planta desde su establecimiento en campo hasta el momento del muestreo, sin embargo, éste no permite establecer en la mayoría de los casos, la relación causa/efecto entre los factores exógenos y endógenos. El análisis del extracto celular de pecíolo (ECP), comúnmente denominado análisis de savia, es una técnica complementaria del análisis químico de tejido vegetal y éste refleja el nivel de suministro nutrimental real en las plantas. En algunos países, esta herramienta se utilizó para conocer el estado nutrimental y riesgos de salinidad en cultivos intensivos establecidos con fertirriego, tanto en suelo, como en sustrato (Cadahia, 2008). De acuerdo con este autor, el análisis del ECP presenta las siguientes ventajas: análisis rápido para generar estrategias de fertilización, diagnóstico eficiente para conocer el potencial productivo de un cultivo, conocimiento de la dinámica de absorción nutrimental del cultivo y su relación con los factores ambientales, posibilidad de definir niveles de referencia para la nutrición con nitrógeno en forma de nitratos y amonio y su relación con la calidad de los frutos o con plagas y enfermedades, conocer la tolerancia del cultivo a la salinidad, el análisis del ECP está menos influenciado por el efecto de dilución, en comparación con el análisis foliar y existe una alta correlación entre los niveles iónicos en ECP y el estado nutrimental de las plantas.

En el año de 1953 el científico neozelandés E. G. Bollard hace el primer análisis del ECP en hojas de manzano y diseñó una prensa hidráulica para su extracción, en el que analizó el nitrógeno, fósforo, potasio y magnesio, además de sólidos solubles y conductividad eléctrica.

Castellanos-Ramos *et al.* (2000) reportaron que el análisis de nitratos en el ECP es una herramienta útil para determinar la cantidad de nitrógeno en hortalizas. Kubota *et al.* (1997), en un estudio para examinar la precisión del medidor portátil de nitratos, en la determinación del contenido de N-NO₃ en el jugo celular del pecíolo en brócoli, concluyeron que es una técnica útil para estimar el contenido de nitrógeno. Existen numerosos estudios para la determinación del contenido de nutrientes en hoja de fresa (Rivadeneira, 2012) pero son pocos los reportes sobre las concentraciones óptimas nutrimentales en el extracto celular de pecíolo. Debido a que la fresa se cultiva en sistemas intensivos de producción y que es un cultivo importante en algunas zonas del país, es importante generar información sobre los niveles nutrimentales óptimos en el ECP para establecer un diagnóstico rápido y preciso que permita generar estrategias del manejo nutrimental directamente en campo, y a su vez, aumentar el potencial productivo de la fresa y su calidad postcosecha, además de hacer un uso más eficiente de los fertilizantes que impactan en los costos de producción del cultivo.

Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo consistió en determinar la concentración nutrimental en el extracto celular de pecíolo en diferentes etapas fenológicas del cultivo de fresa.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se llevó a cabo en un huerto comercial ubicado en Ciudad Guzmán, Jalisco. El tipo de suelo pertenece al orden de los Andosoles, que son suelos generalmente desarrollados a partir de materiales volcánicos con cantidades significativas de materiales amorfos como minerales (alófano, imogolita, ferrihidrita), complejos de aluminio-humus o cantidades específicas de vidrio volcánico (Soil Survey Staff, 1999).

Se ubicaron cuatro miniparcelas (repeticiones) en campo y éstas fueron distribuidas aleatoriamente, donde cada una de ellas contó con 10 plantas (unidades experimentales), las cuales fueron etiquetadas para el seguimiento de la dinámica nutrimental.

El muestreo de extracto celular de peciolo se realizó en diferentes etapas fenológicas: 0-30 ddt (vegetativa), 30-60 (floración), 60-90 (inicio de fructificación) y 90-120 (fructificación plena).

Para el análisis químico del ECP se tomaron peciolos de hojas recientemente maduras de fresa cuando la temperatura de las hojas estaba entre 20 y 30° C, la cual se midió con un termómetro laser marca Steren® y la humedad del suelo se encontraba a capacidad de campo (8-10 KPa), lo cual se determinó con un tensiómetro marca Irrrometer®. El extracto celular del peciolo se obtuvo con una prensa hidráulica en campo. Se colectó un mililitro de muestra y se colocó en viales, agregando agua desionizada con una relación 1:10 v/v y ésta se mantuvo en una temperatura entre 4 y 5°C hasta su análisis. El análisis de P-PO₄, K, Ca, Mg y S-SO₄ del ECP se realizó con un espectrómetro de emisión atómica (AES-ICP) marca Varian®. Para el caso del N-NO₃, se usó un ionómetro selectivo portátil marca Horiba®.

Con los resultados obtenidos se hizo una prueba de comparación de medias por Tukey (P<0.05), para detectar diferencias entre etapas de muestreo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de resultados de la Figura 5.1A muestra que el contenido de N-NO₃ en el ECP de plantas de fresa disminuye gradualmente a través del tiempo. La mayor concentración se observó en la etapa vegetativa (850 mg L⁻¹) y la menor, en la etapa de producción de fruto (450 mg L⁻¹) y fueron estadísticamente diferentes. Hochmuth *et al.*,(1996) realizaron análisis de N-NO₃ en el ECP de fresa variedad Oso Grande y encontraron para la etapa vegetativa concentraciones que oscilaron entre 760 y 970 mg L⁻¹ y en la etapa de producción variaron entre 600 y 740 mg L⁻¹. De

igual manera, Hassell (2006) desarrolló un ensayo en donde evaluó diferentes niveles de nitrógeno en plantas de fresa cv. Chandler y Camarosa y encontró que las mayores concentraciones se detectaron en la etapa vegetativa ($678 - 905 \text{ mg L}^{-1}$).

En la Figura 5.1B se muestra que la concentración de fósforo en el ECP se incrementa desde la etapa de floración (176 mg L^{-1}) hasta el inicio de producción (319 mg L^{-1}) y este aumento es estadísticamente significativo, lo que sugiere una mayor demanda de P, quien cumple una función estructural en la molécula de ATP y este a su vez, transfiere energía necesaria para la generación de flores.

Cadahia (2008) encontró en plantas de fresa que la concentración de P en el ECP osciló desde la etapa vegetativa hasta producción entre $250 - 380 \text{ mg L}^{-1}$ y $300 - 200 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente.

Opstad (2010) encontró una correlación positiva entre el análisis del ECP y el análisis de tejido vegetal en fresa variedad Korona. Observó que la concentración nutrimental en ECP varió significativamente por etapas fenológicas. Además, subrayó que el análisis del ECP ofrece un mejor diagnóstico del estado nutrimental de la planta de fresa durante su desarrollo y que la removilización de nutrientes en la planta, la acumulación de materia seca y la parte de la planta deben ser considerados para el análisis del ECP.

Para el caso de la concentración de potasio en el ECP de fresa (Figura 5.1C), no se encontraron diferencias estadísticas significativas por etapas de muestreo. Se observa que hay un incremento sustancial desde la etapa de inicio de fructificación (1913 mg L^{-1}) hasta fructificación plena (2676 mg L^{-1}), lo cual coincide con una de las funciones principales del potasio que es el transporte de fotosintatos de hojas hacia frutos.

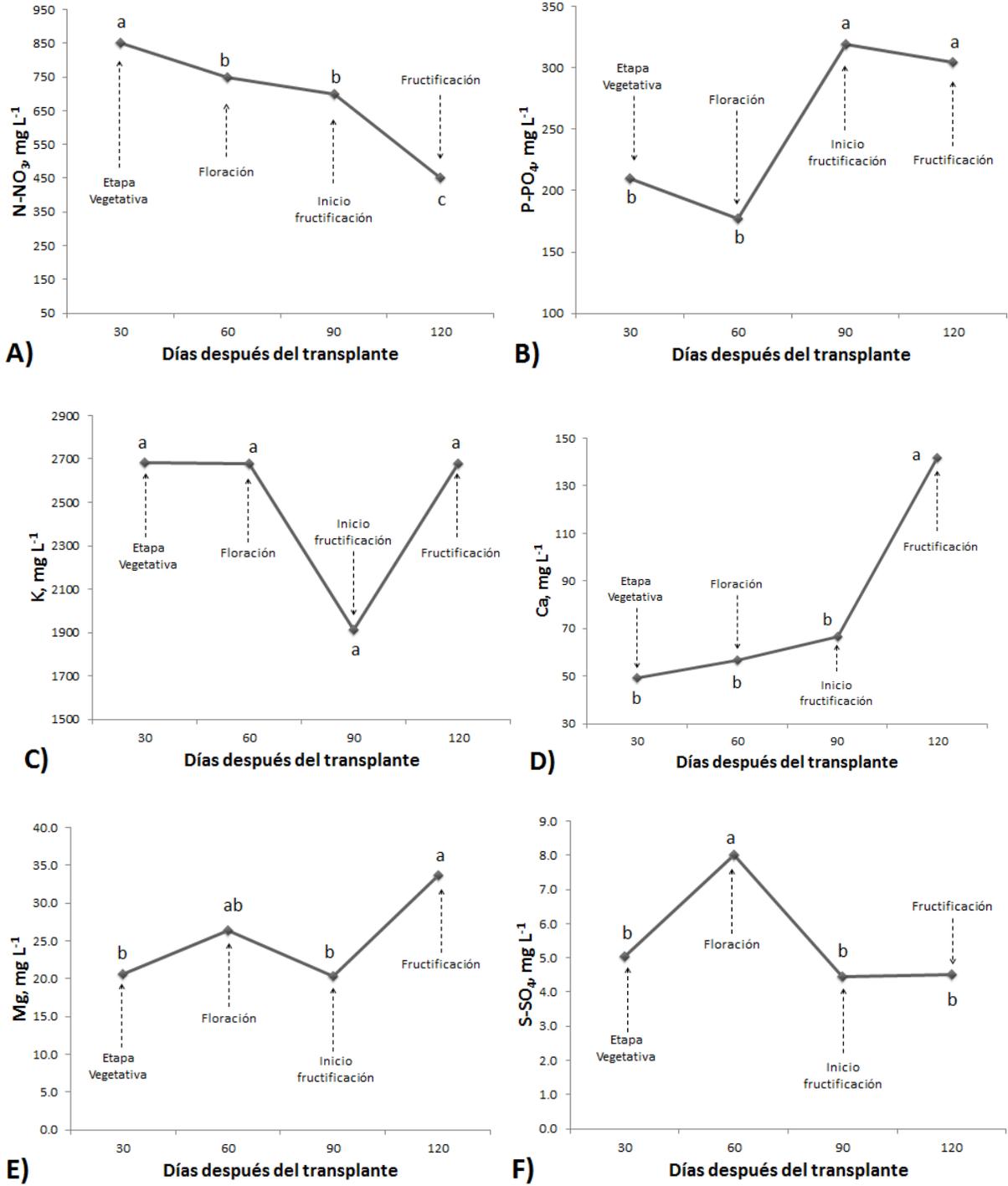


Figura 5.1. Análisis de macronutrientes en el extracto celular de peciolo en plantas de fresa por etapas fenológicas. Puntos en la gráfica con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey<0.05).

Cadahia (2008) encontró valores de potasio en ECP de fresa que oscilaron entre 4000 - 5500 mg L⁻¹, tanto para la etapa vegetativa como para la etapa reproductiva.

La Figura 5.1D muestra las concentraciones de calcio encontradas en el ECP de fresa por etapas fenológicas. En esta se observa un incremento gradual desde la etapa vegetativa (49.2 mg L⁻¹) hasta la producción de fruto (141.6 mg L⁻¹). Sin embargo, el incremento del Ca en el ECP estadísticamente significativo se presentó desde la etapa de inicio de fructificación hasta la producción plena. El calcio es un elemento importante en la formación de estructura de las plantas, principalmente se encuentra formando parte de las paredes celulares de los frutos lo que seguramente explica el fenómeno anteriormente señalado.

Son pocos los trabajos reportados sobre la concentración de calcio en el ECP en fresa, sin embargo, Cadahia (2008) encontró que los niveles de Ca en ECP disminuyen gradualmente desde la etapa vegetativa hasta la etapa de producción de fruto y los valores oscilaron entre 700 – 1200 mg L⁻¹ y 500 – 700 mg L⁻¹, respectivamente.

En la Figura 5.1E se observa que hubo diferencias estadísticas significativas por efecto de la etapa de muestreo para la variable concentración de magnesio en el ECP. Se detectó un incremento de Mg en el flujo de los tejidos conductores en las etapas vegetativa – inicio de floración e inicio de floración – producción plena. El magnesio forma parte estructural de la molécula de clorofila lo que está directamente relacionado con la formación de fotosintatos en la hoja. Por lo tanto, los mayores requerimientos de Mg coinciden con las etapas anteriormente mencionadas.

Cadahia (2008) encontró que los niveles de Mg en ECP disminuyen gradualmente desde la etapa vegetativa hasta la etapa de producción de fruto y los valores oscilaron entre 300 – 600 mg L⁻¹ y 200 – 400 mg L⁻¹, respectivamente.

En la Figura 5.1F se muestra que la concentración de azufre en el ECP se incrementa en la etapa vegetativa – inicio de floración y hubo diferencias significativas entre etapas de muestreo. El azufre está involucrado en la síntesis de algunos aminoácidos y a su vez, con la formación de proteínas, importantes en la formación de biomasa vegetal.

CONCLUSIONES

El análisis químico del extracto celular de pecíolo, realizado en las etapas fenológicas importantes, es una herramienta práctica y confiable para establecer un diagnóstico nutrimental, lo que permite generar estrategias de manejo nutrimental en el cultivo de fresa de manera rápida, eficaz y oportuna.

BIBLIOGRAFÍA

Cadahia L. C. (2008) La savia como índice de fertilización. Editorial mundiprensa. 256 p.

Castellanos-Ramos, J.Z., J.X. Uvalle-Bueno y A. Aguilar- Santelises (2000) Manual de interpretación de análisis de suelos y aguas. 2da edición. Instituto de Capacitación para la Productividad Agrícola. Celaya, Guanajuato, México.

Gwathmey C O, C L Main, X Yin (2009) Potassium uptake and partitioning relative to dry matter accumulation in cotton cultivars differing in maturity. *Agronomy Journal* 101:1479-1488.

Hassell L R, and Barclay E. P. (2006) Research Strawberry Nutrition. Project 200604. Clemson University.

Hochmuth G J, Albregts E E, Chandler C. C., Cornell J. and Harrison J. J. (1996) *Amer. Soc. Hort. Sci.* 121(4):660–665.

Huang S W, J Y Jin, D S Tan (2009) Crop response to long-term potassium application as affected by potassium-supplying power of the selected soils in Northern China. *Communications Soil Science and Plant Analysis* 40:2833-2854.

Kubota, A.T.L.T., T.A. Doerge y R.E. Godin. (1997) A petiole sap nitrate test for broccoli. *J. Plant Nutr.* 20: 669-682.

Moreno V, M H Prieto, M J Moñino, J Labrador, M I García (2003) Evaluación de métodos rápidos de análisis de nitrógeno y potasio en savia para seguimiento del estado nutricional de un cultivo de pimentón. En: *Actas de Horticultura N° 39. X Congreso Nacional de Ciencias Hortícolas Pontevedra,*

Rivadeneira M F (2012) Concentración de nutrientes en hojas de diferente estado de desarrollo en arándano. *Revista de Investigaciones Agropecuarias.* Vol.38 núm 3 Diciembre. Buenos Aires, Argentina. pp 247-250. ISSN 0325-8718.

Opstad, N. (2010) Mineral concentrations in leaf dry matter and leaf and petiole sap in strawberry depend on leaf age and plant developmental stage. *Acta Hort. (ISHS)* 868:143-148

Roshani G A, G Narayanasamy (2010) Effects of potassium on temporal growth of root and shoot of wheat and its uptake in different soils. *International Journal of Plant Production* 4: 25-32.

Soil Survey Staff (1999) *Soil Taxonomy. A basic system of soil classification for making and interpreting soil surveys.* 2nd ed. United States Department of Agriculture. Natural Resources Conservation Service. Agriculture Handbook 436. Washington, DC.

VI. DISCUSIÓN GENERAL

La temperatura del ambiente influyó en la concentración de nitratos en el extracto celular de pecíolo. Barbazan (1998) menciona que la concentración de nitrógeno en las plantas es variable a altas temperaturas y que incluso, ésta se puede reducir en el tejido muestreado. En un experimento con plantas de maíz Marschner (1995) observó que al incrementar la temperatura de 8 a 28 °C la concentración de potasio se incrementó de 13.4 a 19.6 mM, respectivamente y la concentración de calcio disminuyó de 1.5 a 0.8 mM, respectivamente, no obstante a que el flujo del volumen en el exudado se incrementó de 1.32 a 7.39 mL hora⁻¹.

El efecto de la luz sobre la composición nutrimental está relacionado con la cantidad de fotosintatos producidos y la actividad enzimática, alterándose de ésta manera la relación: elemento / materia Seca (efecto de dilución).

Las variaciones de luminosidad afectan particularmente los niveles de N-NO₃ en las plantas. Bajo condiciones de alta luminosidad decrece el contenido de N-NO₃ en la hoja por efecto de dilución, relacionado con la alta producción de carbohidratos y la reducción de éste compuesto por la enzima nitrato reductasa (Taiz y Zeiger, 2010). En el ECP ocurre lo contrario de la hoja, conforme se incrementa la luminosidad se incrementa la concentración de N-NO₃.

Goodger (2005) encontró que al someter la planta a estrés hídrico la concentración de nitrógeno disminuía. El mismo fenómeno se observó en nuestro ensayo, en donde, al aumentar el contenido de humedad del suelo se incrementó la concentración de N-NO₃ en el ECP. Por lo tanto, para el muestreo de hojas para el análisis químico del ECP en hojas de fresa se sugiere que el suelo se encuentre a capacidad de campo, es decir, entre un 20-30% de humedad aprovechable.

Valdés (2004) obtuvo un coeficiente de determinación del 93% al correlacionar los análisis de nitratos medidos en solución con un ionómetro portátil tipo Cardy y el método de cataldo.

Se encontró una alta correlación positiva ($r = 0.9463$) entre los análisis de amonio, determinado por el método de Nessler y el fotolorímetro Hanna Instruments® modelo HI 83225 NH_4^+ . Resultados similares encontró Valdés (2004) quien reportó una $r^2 = 0.814$ para esta variable.

La comparación entre la concentración de fósforo medido con un fotolorímetro marca Hanna Instruments® modelo HI 83225 y con el AES-ICP mostró una correlación positiva ($r = 0.9922$). Aguilar (2001) reportó para el caso de la determinación de Flúor un valor de $r^2 = 0.98$, al comparar el análisis químico de éste elemento mediante potenciometría con electrodo selectivo y el ICP-AES como método de referencia.

El coeficiente de determinación obtenido para K^+ mediante el análisis con el AES-ICP y el ionómetro marca Horiba® tipo Cardy indica que se puede estimar el contenido de K^+ en campo con una precisión del 98%. Taber (2007) obtuvo un coeficiente de determinación de 0.94 para determinar K^+ en el extracto celular de peciolo en tomate con los mismos equipos empleados en el presente estudio.

Para el calcio, se observó una $r = 0.9917$ y una $r^2 = 0.9837$, lo cual indica que se tiene una alta precisión para medir el calcio en campo con el equipo portátil, tanto en savia como en soluciones nutritivas o edáficas. Resultados similares obtuvo Aguilar (2001) al comparar estos dos métodos de análisis, con una $r = 0.99$ y $r^2 = 0.98$.

González (2010) comparó el método colorimétrico con el AES-ICP para determinar S y obtuvo una $r^2 = 0.90$ y una $r = 0.98$.

Hochmuth *et al.*, (1996) realizaron análisis de N-NO_3 en el ECP de fresa variedad Oso Grande y encontraron para la etapa vegetativa concentraciones que oscilaron entre 760 y 970 mg L^{-1} y en la etapa de producción variaron entre 600 y 740 mg L^{-1} . De igual manera, Hassell (2006) desarrolló un ensayo en donde evaluó diferentes niveles de nitrógeno en plantas de fresa cv. Chandler y

Camarosa y encontró que las mayores concentraciones se detectaron en la etapa vegetativa (678 – 905 mg L⁻¹).

Cadahia (2008) encontró en plantas de fresa que la concentración de P en el ECP osciló desde la etapa vegetativa hasta producción entre 250 – 380 mg L⁻¹ y 300 – 200 mg L⁻¹, respectivamente.

Opstad (2010) encontró una correlación positiva entre el análisis del ECP y el análisis de tejido vegetal en fresa variedad Korona. Observó que la concentración nutrimental en ECP varió significativamente por etapas fenológicas. Además, subrayó que el análisis del ECP ofrece un mejor diagnóstico del estado nutrimental de la planta de fresa durante su desarrollo y que la removilización de nutrientes en la planta, la acumulación de materia seca y la parte de la planta deben ser considerados para el análisis del ECP.

Cadahia (2008) encontró valores de potasio en ECP de fresa que oscilaron entre 4000 - 5500 mg L⁻¹, tanto para la etapa vegetativa como para la etapa reproductiva.

Son pocos los trabajos reportados sobre la concentración de calcio en el ECP en fresa, sin embargo, Cadahia (2008) encontró que los niveles de Ca en ECP disminuyen gradualmente desde la etapa vegetativa hasta la etapa de producción de fruto y los valores oscilaron entre 700 – 1200 mg L⁻¹ y 500 – 700 mg L⁻¹, respectivamente. También encontró que los niveles de Mg en ECP disminuyen gradualmente desde la etapa vegetativa hasta la etapa de producción de fruto y los valores oscilaron entre 300 – 600 mg L⁻¹ y 200 – 400 mg L⁻¹, respectivamente.

VII. CONCLUSIONES GENERALES

1. La temperatura, luminosidad y el contenido de humedad aprovechable del suelo influyen en la concentración de N-NO₃ en el ECP de plantas de fresa cv. Festival.

Se recomienda que en el momento del muestreo de hojas para el análisis químico del ECP se tenga una temperatura entre 20 y 30 °C, una intensidad de luminosidad de 400 luxes y que el suelo se encuentre a capacidad de campo.

2. Se encontró una alta correlación entre los resultados de los análisis químicos con los equipos portátiles marca Horiba® y Hanna Instruments® y los métodos convencionales (NO₃⁻, r = 0.9604; NH₄⁺, r = 0.9463; PO₄³⁻, r = 0.9922; SO₄²⁻, r = 0.9799; K⁺, r = 0.9654 y Ca²⁺, r = 0.9917).

3. El análisis químico del extracto celular de pecíolo, realizado en las etapas fenológicas importantes, es una herramienta práctica y confiable para establecer un diagnóstico nutrimental, lo que permite generar estrategias de manejo nutrimental en el cultivo de fresa de manera rápida, eficaz y oportuna.

VIII. LITERATURA GENERAL CITADA

Aguilar, P. 2001. Validación del método Potenciométrico por Ion Selectivo para la determinación de Flúor en sal, agua y orina. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica, 18(1-2), 21-23.

Barbazán, M.(1998). Análisis de Plantas y Síntomas Visuales de Deficiencia de Nutrientes. Facultad de agronomía de la Universidad de la República de Montevideo-Uruguay. Montevideo, Uruguay.

Bertsch, F. 1998. La fertilidad de los suelos y su manejo. Asociación Costarricense de la Ciencia del Suelo. San José, Costa Rica.

Cadahia L. C. (2008) La savia como índice de fertilización. Editorial mundiprensa. 256 p.

Castro B. R., G. P. Sánchez, L. A. Peña, G. G. Alcantar., C. G. A. Baca, y R. R. M. López. (2000). Nitratos en el extracto celular de pecíolos y tallo de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) y su relación con el rendimiento. Revista Chapingo Serie Horticultura, 6(1), 33-38.

Cruz D. J. A. (2013). Reflectancia en hojas de pimiento y fresa para el diagnóstico nutrimental. Tesis presentada como requisito parcial para obtener el grado de Doctor en ciencias. Montecillo, Texcoco, Edo. de México. 88pp.

Gollan, T.; Schurr, U.; Schulze, E.D. 1992. Stomatal response to drying soil in relation to changes in the xylem sap composition of *Helianthus annuus*. I. The concentration of cations, anions, amino acids in, and pH of, the xylem sap. Plant, Cell and Environment 15: 551-559.

Goodger, J. Q., R. E . Sharp, E. L. Marsh, y D. P. Schachtman, (2005). Relationships between xylem sap constituents and leaf conductance of well-watered and water-stressed maize

across three xylem sap sampling techniques. *Journal of experimental botany*, 56(419), 2389-2400.

Hochmuth G J, Albrechts E E, Chandler C. C., Cornell J. and Harrison J. J. (1996) *Amer. Soc. Hort. Sci.* 121(4):660–665.

López G., J., A. Chuecas. 1985. Papel biológico de los nutrientes en la planta, pp. 1-43. *In: Nutrición Vegetal, Algunos Aspectos Químicos y Biológicos.* Lachica G., M. y C. González O. (eds.). Estación Experimental de Zaidin-Granada, España. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Santiago, Chile.

Marschner H (1995) *Mineral Nutrition of Plants*, Ed 2. Academic Press, Boston

Quesada-Roldán, G., & Bertsch-Hernández, F. (2013). OBTENCIÓN DE LA CURVA DE EXTRACCIÓN NUTRIMENTAL DEL HÍBRIDO DE TOMATE FB-17. *Terra Latinoamericana*, 31(1), 1-7.

Sánchez, G., P. y Martínez, B. N. 1999. *Nutrición Mineral de Alstromeria*. Publicación Especial 9. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo (SMCS). Chapingo, México. 33p.

Sandoval, M., P. Sánchez y G. Alcántar. 2007. Principios de la hidroponía y del fertirriego. pp. 373-438. *In: G. Alcántar y L. Trejo (eds.). Nutrición de cultivos.* Mundi Prensa y Colegio de Postgraduados. México, D. F.

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (México). SIAP [en línea]: base de datos disponible en anuario estadístico de la producción agrícola 2012. También disponible en <<http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo>>

Taiz, L. y Zeiger, E. (2010). *Plant Physiology*. Sinauer, USA (5ª edición, en inglés).

Taber, H. G., & Lawson, V. 2007. Use of diluted tomato petiole sap for potassium measurement with the cardy electrode meter. *Communications in soil science and plant analysis*, 38(5-6), 713-718.

Valdés, A., Marti, L. H. E., Filippini, M. F., & Salcedo, C. 2004. Determinación de nitratos en vegetales comparación de cuatro métodos analíticos. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias.*, 36(1), 21-28.