

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
SUBDIRECCION DE POSGRADO



ESTUDIO DE LA ASIMILACIÓN DE HIERRO CON EL USO DE QUELATOS EN
TOMATE BAJO DIFERENTES CONDICIONES DE pH

Tesis

Que presenta JOSÉ REFUGIO MÉNDEZ VÁZQUEZ
Como requisito para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA.

Saltillo, Coahuila

Diciembre 2016

ESTUDIO DE LA ASIMILACIÓN DE HIERRO CON EL USO DE QUELATOS
EN TOMATE BAJO DIFERENTES CONDICIONES DE pH

Tesis

Elaborada por JOSÉ REFUGIO MÉNDEZ VÁZQUEZ como requisito parcial
para obtener el grado de MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA con la
supervisión y aprobación del Comité Asesoría

Dra. Susana González Morales
Asesor principal

Dr. Adalberto Benavides Mendoza
Asesor

Dr. Álvaro Morelos Moreno
Asesor

Dr. Antonio Juárez Maldonado
Asesor

Dra. Susana Solís Gaona
Asesor

Dr. Alberto Sandoval Rangel
Subdirector de Posgrado
UAAAN

AGRADECIMIENTOS

Gracias a Dios por permitirme tener y disfrutar a mi familia, por apoyarme en cada decisión y proyecto, gracias a la vida por cada día me demuestra lo hermosa que es a vida y lo justa que puede llegar a ser.

No ha sido sencillo el camino hasta ahora, pero gracias a sus aportes, a su amor a su inmensa bondad y apoyo, les agradezco y hago presente mi gran afecto hacia ustedes, mi hermosa familia.

Mis agradecimientos a:

Mi agradecimiento eterno a la U.A.A.A.N. por brindarme la oportunidad de seguir estudiando, por haberme acogido durante estos dos años de mi vida de formación personal y profesional

Dra. Susana González por haber guiado mis pasos, su entrega en mi aprendizaje, por compartir su sabiduría y asesoría para la realización de este proyecto.

Dra. Susana Solís por ser parte de mi formación y brindarme su apoyo en todo momento.

Dr. Adalberto Benavides por el compartir sus conocimientos, su amabilidad y el apoyo en el manuscrito del presente trabajo de investigación.

Dr. Antonio Juárez por su apoyo y atención para el establecimiento y redacción de mi proyecto de tesis.

Dr. Álvaro Morelos por su apoyo, asesoría y su amistad.

ARYSTA por las facilidades otorgadas para actuar mis estudios de posgrado.

A mis amigos Fabián y Maricarmen que siempre me brindaron apoyo y su amistad durante todo este tiempo.

Lucia por cada momento vivido durante todos estos años junto a mi, por estar en esos momentos difíciles en los que necesitaba ayuda, te agradezco tu cariño incondicional y sincero.

Dedicatoria

A mis padres quienes me apoyaron todo el tiempo.

A mi novia Lucia quien me apoyo y alentó para continuar, cuando parecía que me iba a rendir.

A mis maestros quienes nunca desistieron al enseñarme, aun sin importar que muchas veces no ponía atención en clase, a ellos que continuaron depositando su esperanza en mí.

A todos los que me apoyaron para escribir y concluir esta tesis.

Para ellos es esta dedicatoria de tesis, pues es a ellos a quienes se las debo por su apoyo incondicional.

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS	iii
Dedicatoria	iv
Lista de cuadros	vi
Lista de figuras	vii
Resumen	viii
Abstract	x
INTRODUCCIÓN.....	1
Objetivo.	2
Hipótesis.....	2
REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
Generalidades del tomate.....	3
Cultivo sin suelo.....	3
Requerimientos nutrimentales.	3
Importancia del hierro.	4
Características del hierro.	5
Problemas en la asimilación de hierro por las plantas.	5
Asimilación de hierro por las plantas.	6
Uso de quelatos.....	8
Tipos de quelatos.	9
Materiales y Métodos	10
Unidades SPAD.....	11
Contenido de clorofila	11
Variables agronómicas.	11
Calidad de fruto.	11
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	14
Etapa 1	14
Contenido de unidades SPAD.	14
Contenido de clorofila.	15
Variables Agronómicas.	16
Calidad de Fruto.....	18
Etapa 2	20
Variables agronómicas.....	20
Unidades SPAD.	21
Contenido de Feofitina.	23
Contenido de Fe en hojas.	24
CONCLUSIONES.....	26
REFERENCIA	27

Lista de Cuadros

CUADRO 1. CONTENIDO DE CLOROFILAS A, B Y TOTAL EN LAS HOJAS DE PLANTAS DE TOMATE DESARROLLADAS BAJO DOS FUENTES DE QUELATOS DE HIERRO Y DIFERENTE PH DE LA SOLUCIÓN NUTRITIVA.	15
CUADRO 2. VARIABLES AGRONÓMICAS DE PLANTAS DE TOMATE DESARROLLADAS BAJO DOS FUENTES DE QUELATOS DE HIERRO Y DIFERENTE PH DE LA SOLUCIÓN NUTRITIVA.....	17
CUADRO 3. CALIDAD DE FRUTO DE PLANTAS DE TOMATE DESARROLLADAS BAJO DOS FUENTES DE QUELATOS DE HIERRO Y DIFERENTE PH.....	19
CUADRO 4. VARIABLES AGRONÓMICOS DE PLANTAS DE TOMATE DESARROLLADAS BAJO DIFERENTES FUENTES DE QUELATOS DE HIERRO Y PH DE AGUA DE RIEGO.....	20
CUADRO 5. COMPARACIÓN DE MEDIAS DEL CONTENIDO DE PH, HIERRO (FE^{2+} , FE^{3+} Y FE TOTAL, PPM) EN SUSTRATO Y HIERRO TOTAL EN HOJAS DE PLANTAS DE TOMATE DESARROLLADAS BAJO DIFERENTES FUENTES DE QUELATOS DE HIERRO Y PH DE AGUA DE RIEGO.....	25

Lista de Figuras

FIGURA 1. Adquisición de Fe por plantas superiores..	7
FIGURA 2. Dinámica de las unidades spad en plantas de tomate desarrolladas bajo dos fuentes de quelatos de hierro y diferente pH de la solución nutritiva.....	14
FIGURA 3. Producción por plantas de tomate desarrolladas bajo dos fuentes de quelatos de hierro y diferente pH de la solución	17
FIGURA 4. Acidez titulable, pH de frutos de plantas de tomate desarrolladas en bajo dos fuentes de quelatos de hierro y diferente pH de la solución nutritiva.....	19
FIGURA 5. Dinámica de contenido de clorofila (a, b y total) y unidades SPAD en plantas de tomate desarrolladas bajo diferentes fuentes de quelatos de hierro y pH de agua de reigo.....	22
FIGURA 6. Contenido de feofitinas en plantas de tomate desarrolladas bajo dos fuentes de quelatos de hierro y diferente pH de agua de riego	23

Resumen

ESTUDIO DE LA ASIMILACIÓN DE HIERRO CON EL USO DE QUELATOS EN
TOMATE BAJO DIFERENTES CONDICIONES DE pH

POR

JOSÉ REFUGIO MÉNDEZ VÁZQUEZ
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DRA. SUSANA GONZALEZ MORALES -ASESOR-

Saltillo, Coahuila.

Diciembre 2016

Resumen

El hierro es un elemento esencial en varios procesos metabólicos, sin embargo, su disponibilidad en el suelo es limitada. El presente trabajo se estableció con el objetivo de estudiar la respuesta de un agente quelante de hierro más un compuesto orgánico bajo diferente pH de la solución nutritiva en el crecimiento y calidad de fruto de plantas de tomate en dos etapas. Los tratamientos en ambas etapas consistieron en: Suelo calcáreo-EDTA+CO pH 6.5, suelo calcáreo-EDDHA pH 6.5, sustrato-EDDHA pH 6.5, sustrato-EDTA+CO pH 5.0, sustrato-EDTA+CO pH 6.0, sustrato-EDTA+CO pH 7.0, sustrato-EDTA+CO pH 8.0 y sustrato-EDTA+CO pH 9.0 . Se consideraron como variables: índices agronómicos, unidades SPAD, contenido de Clorofilas, Feofitinas y calidad de fruto. En la primera etapa se utilizó un diseño de bloques completos al azar, mientras que para el segundo etapa se maneja un diseño completamente al azar. El quelato EDTA de hierro más un compuesto orgánico a pH 6.0 aplicado en la etapa vegetativa y a pH 5.0 en etapa de producción aumentan el crecimiento y rendimiento de plantas de tomate.

Por lo anterior, el tipo de agente quelante utilizado aunado al pH de la solución nutritiva puede ser determinante en el crecimiento de plantas de tomate.

Palabras clave: EDTA+CO, EDDHA, SPAD, Sustrato, Suelo Calcáreo.

Abstract

STUDY OF IRON ASSIMILATION WITH THE USE OF CHELATES IN TOMATO
UNDER DIFFERENT pH CONDITIONS.

By

JOSÉ REFUGIO MÉNDEZ VÁZQUEZ
MASTER OF SCIENCE IN HORTICULTURE

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO.
DRA. SUSANA GONZALEZ MORALES -ADVISOR-

Saltillo, Coahuila.

December 2016

Abstract

Iron is an essential element in several metabolic processes, however its availability in the soil is limited. The aim of this work was established with the objective of studying the response of an iron chelating agent plus an organic compound under different pH of the nutrient solution in the fruit quality and growth of tomato plants in two stages. The treatments were: Calcareous soil-EDTA + CO pH 6.5, Calcareous soil-EDDHA pH 6.5, Substrate-EDDHA pH 6.5, Substrate-EDTA + CO pH 5.0, Substrate-EDTA + CO pH 6.0, Substrate-EDTA + CO pH 7.0, Substrate-EDTA + CO pH 8.0 and Substrate-EDTA + CO pH 9.0. Were considered as variables: Agronomic indices, SPAD units, Chlorophyll content, pheophytins content and fruit quality. For the first stage randomized complete block design was used, while for the second stage a completely randomized design was used. The EDTA chelates with iron plus an organic compound at pH 6.0 applied in the vegetative stage and at pH 5.0 in production stage increase the growth and yield of tomato plants. Therefore, the type of chelating agent used associated with the pH of the nutrient solution can be determinant in the growth of tomato plants.

Key words: EDTA+CO, EDDHA, SPAD, Substrate, Calcareous soil.

INTRODUCCIÓN

El hierro (Fe) es un metal de transición esencial en el desarrollo de la planta pues interviene en varios procesos metabólicos como al fotosíntesis, además actúa como cofactor enzimático y participa en la reacción de Fenton gracias a su par redox (Hall y Williams, 2003). Concentraciones muy bajas de Fe en las células vegetales alteran la funcionalidad de los cloroplastos, reduciendo la actividad fotosintética, derivando en una pérdida del 20-25% en la producción de biomasa (Prasad, 2003)

A pesar de que este elemento se encuentra formando parte entre el 1 y 5% de los minerales del suelo (Incesu *et al.*, 2015), gran parte no se encuentra disponible ya que los silicatos e hidróxidos lo precipitan (Schulte, 2004), especialmente en suelos de reacción alcalina (Çelik y Katkat, 2007). Por lo anterior el Fe es aportado en la solución nutritiva en forma quelatada, ya que el quelato protege a este ion metálico de sus cambios de oxidación, cediéndolo con facilidad a la planta en forma asimilable (Norvell, 1991; López-Rayó, 2009), los mismos autores señalan que los quelatos más utilizados son el ácido dietilentriaminopentaacético (DTPA), el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA+CO) y el ácido etilendiamino-di(o-hidroxifenil-acético) (EDDHA), entre otros. Estos quelatos se caracterizan por la buena solubilidad en el agua y su baja constante de disociación, lo cual evita la inactivación o cambio de oxidación del elemento metálico bajo diferente pH (Kolota *et al.*, 2013). Dichos quelatos presentan diferente grado de estabilidad dependiendo del pH, el DTPA es estable bajo los rangos de pH 3 a 7, mientras que el EDTA+CO es estable bajo un rango de pH 3-6.5, finalmente el quelato EDDHA presenta un comportamiento más estable con un rango de pH 5.9-9 (Zuang, 1982).

El pH de la solución nutritiva es de vital importancia para la disponibilidad de los iones de elementos metálicos para las plantas (Höfner, 1992). Steiner (1961) menciona que un rango de pH 5.5-6.5 induce buena disponibilidad de nutrimentos, ya que conforme se incrementa el pH de la solución nutritiva una gran cantidad del calcio, magnesio, fósforo y sulfatos precipitan, formando

complejos insolubles (De Rijck y Schrevens, 1998 a,b). Considerando que la estabilidad y funcionalidad de los quelatos férricos dependen del pH, el presente trabajo tiene como objetivo estudiar la respuesta de dos fuentes de quelato de hierro a distinto pH de la solución nutritiva sobre el crecimiento de plantas de tomate y la calidad del fruto.

Objetivo.

Estudiar la asimilación de hierro con el uso un quelato (origen sintético y sustentable) en plantas de tomate bajo diferentes condiciones de pH.

Hipótesis.

La asimilación de hierro en plantas de tomate desarrolladas bajo diversas condiciones de pH es influenciada por el uso de quelato de hierro.

REVISIÓN DE LITERATURA

Generalidades del tomate.

El tomate es una especie originaria de la región Andina de América del sur, siendo México el país donde se llevo a cabo su domesticación. El tomate es una planta de clima cálido, y las temperaturas optimas para su desarrollo son de entre 24 a 25 °C de día, 15 a 18 °C de noche (Valdéz, 1990). Dentro de las propiedades nutraceuticas de esta hortaliza cabe resaltar que es bajo en grasas y libre de colesterol, también es una buena fuente de fibra y proteína, además de ser rico en vitamina A y C, β caroteno, potasio, y licopeno (Re *et al.*, 2002).

En el territorio nacional se siembran alrededor de 81,000 hectáreas con una producción aproximada de 2.5 millones de toneladas (SIAP, 2015). Por lo que el cultivo, la cosecha y su comercialización crean cientos de empleos directa e indirectamente. La mayoría de la producción se exporta a Estados Unidos, Canadá y algunos países europeos, con un valor económico de 20 mil millones de pesos (SAGARPA, 2015).

Cultivo sin suelo

Para el cultivo sin suelo los sustratos se dividen en orgánicos e inorgánicos, siendo de orgánicos el peat moss, turba y residuos o subproductos de diferentes actividades entre los que se encuentran el aserrín, bagazo de caña, entre otros, mientras quede material inorgánico pueden ser roca de tipo volcánico, tezontle, arena, grava, etc. (Cruz-Crespo *et al.*, 2013)

Las ventajas del cultivo sin suelo comparado directamente sobre el suelo son mayor eficiencia de uso del agua y nutrientes, ayudando a obtener mejor rendimiento y calidad del producto cosechado (Andriolo *et al.*, 1990).

Requerimientos nutrimentales.

Las plantas requieren de 14 elementos minerales para una nutrición adecuada, siendo nitrógeno (N), fosforo (P), potasio (K), calcio (Ca), magnesio (Mg) y azufre (S) requeridos en cantidades mayores, mientras que cloro (Cl), boro (B), hierro

(Fe), manganeso (Mn), cobre (Cu), zinc (Zn), níquel (Ni) y molibdeno (Mo) en menores cantidades (White y Brown, 2010). De este último grupo, los metales Fe, Cu, Mn y Zn al ser elementos de transición pueden ser tóxicos para la planta cuando se aplican en exceso (Hall y Williams, 2003). Estos elementos minerales se suministran a los cultivos como fertilizantes para lograr mayores rendimientos, ya que la falta de alguno de estos reduce el crecimiento de la planta y rendimiento del cultivo.

Importancia del hierro.

El Fe se requiere en mayor abundancia esto debido a que participa en varios procesos importantes, entre ellos la fotosíntesis, respiración y biosíntesis de la clorofila (Kobayashi y Nishizawa, 2012).

Algunos de estos procesos requieren enzimas que contienen hierro, llevando la síntesis de aminoácidos y vitaminas afectando la calidad nutricional de las plantas (Briat, 2007). Por estas razones, la cantidad de hierro asignada a nivel foliar podría desempeñar un papel importante para lograr una alta calidad nutricional en las plantas (Jelali *et al.*, 2011).

También el hierro es un elemento esencial para el ser humano ya que el cuerpo lo requiere para la síntesis de proteínas transportadoras de oxígeno (hemoglobina y mioglobina) (Abbaspour *et al.*, 2014).

Dos tercios del hierro en todo el cuerpo se encuentra en la hemoglobina, el 25% se encuentra una reserva de hierro fácilmente movible y 15% restante se encuentra unido a la mioglobina en el tejido muscular y a una gran variedad de enzimas implicadas en el metabolismo oxidativo y en otras funciones celulares (Shenkin, 2003).

Uno de los problemas mundial en cuanto a salud es que más de un tercio de esta padece deficiencia de hierro, siendo las mujeres en edad reproductiva y niños los que presentan estas deficiencias (Robinson *et. al.*, 1999). Las plantas son las principales aportadoras de hierro para los seres humanos, por lo que el consumo de vegetales ricos en este mineral constituye una parte importante para la salud humana (Theil *et. al.*, 1997).

Por estas razón se ha buscado que además de aumentar la producción en cultivos, se mejore la biofortificación de hierro en las plantas (Briat *et al.*, 2015).

Características del hierro.

El hierro puede alternar entre dos estados de oxidación, Fe^{3+} o hierro férrico y Fe^{2+} hierro ferroso. Como se menciona, el metabolismo celular utiliza cofactores que contienen hierro bajo las formas de grupos heme o Fe-S para transferir electrones, como en la respiración mitocondrial o la fotosíntesis de cloroplasto, ya que esta capacidad de ganar y perder electrones hace que el hierro sea potencialmente tóxico, esto por que en presencia de oxígeno, el hierro se relaciona con la química de fenton, que genera especies reactivas de oxígeno altamente tóxicas como mencionan Thomine y Vert (2013).

Problemas en la asimilación de hierro por las plantas.

Uno de los principales problemas en cuanto a la asimilación de hierro en las plantas es el elevado pH y los carbonatos en el suelo que inducen la deficiencia de este elemento (Çelik and Katkat, 2007).

Los bicarbonatos tienen un efecto buffer de pH importante en la solución del suelo, principalmente los carbonatos de calcio, dado que estos son bastante móviles y la difusión de CO_2 en el medio es un proceso lento, con estas interacciones la actividad de reductasa férrica de las raíces de las plantas disminuye bruscamente (Lucena, 2000).

Otro problema es que la mayor parte del hierro en el suelo se encuentra en los minerales de silicato u óxidos e hidróxidos de hierro las cuales son formas que no están disponibles para las plantas (Schulte y Kelling, 2004).

Dentro de una solución nutritiva el pH ejerce una influencia directa sobre la estabilidad de los compuestos, la velocidad y el curso de las reacciones de oxidación y reducción, y la precipitación de sedimentos (De Rijck y Schrevens, 1999).

La falta de asimilación de hierro provoca la llamada clorosis, definiéndose como el amarillamiento que ocurre en hojas jóvenes provocado por la inhibición de

síntesis de la clorofila en cloroplasto como consecuencia del estado nutricional bajo del hierro en la planta (Lucena, 2000).

Esto se debe a que es modificando el transporte de electrones en los PSI y PSII de las plantas (Msilini *et al.*, 2013), creando modificaciones para la adaptación a la deficiencia de Fe que implica la remodelación de la cadena de transferencia de electrones (Briat *et al.*, 2015).

Asimilación de hierro por las plantas.

Las plantas han desarrollado dos estrategias para absorber el hierro del suelo, las plantas no gramíneas activan una reducción basada en la denominada estrategia I, mientras que las gramíneas activan una estrategia II basada en la quelación (Kim y Guerinot, 2007). Las plantas no gramíneas, incluyendo *Arabidopsis thaliana*, absorben el hierro por la estrategia secuencial de acidificación-transporte (estrategia I) (Thomine y Vert, 2013). Donde los genes *FRO2* y *IRT1* codifican para la encima reductasa férrica y un transportador encargados en sobre la adquisición de hierro en el suelo, respectivamente (Walker y Connolly, 2008), siendo ambos genes expresados en la epidermis de la raíz ya que son esenciales para la captación hierro (Thomine y Vert, 2013).

Plantas gramíneas como el pasto han desarrollado diferente mecanismo para la adquisición de hierro de la solución del suelo conocido como quelación o Estrategia II, (Kobayashi y Nishizawa, 2012). Siendo TOM1 el gen directamente implicado en eflujos de salida del ácido desoxy-mugineico, el miembro primario de la familia de los fitosideróforos descritos en arroz (Nozoye *et al.*, 2015)

Estrategia I

Liberación de protones. Esta estrategia se basa en liberación de protones de hidrogeno hacia la rizósfera, disminuyendo el pH de la solución del suelo y aumentando la solubilidad del hierro (Fe^{3+}), de esta manera llega a la membrana plasmática donde se encuentra un transportador Fe^{2+} el cual toma al hierro del medio por medio de la raíz (Dancis *et al.*, 1990) (Figura 1).

Estrategia II

Esta estrategia esta basada en la quelación que utilizan las plantas gramíneas como medio para la adquisición de hierro en el medio. En respuesta a la deficiencia de Fe, las plantas liberan compuestos provenientes del ciclo del ácido mugineico (MA) de la familia de los fitosideróforos, los cuales tienen alta afinidad y eficiencia al enlazar al Fe^{3+} para poder ser tomado por la raíz. Los complejos se transportan a las raíces de la planta a través de un sistema de transporte específico. La estrategia de quelación es más eficiente que la estrategia de reducción, por lo tanto permite que las gramíneas sobrevivan bajo condiciones de deficiencia de hierro más drásticas (Mori, 1999) (Figura 1).

La familia de los ácidos miguneicos incluye ácido 2' deoxy mugineico(DMA), ácido 3-epi-hydroximugineico (epi-HMA) y ácido 3-epihidroxi 2-desoxymugínea (epi-HDMA). Cada gramínea produce y aumenta su propio conjunto de ácidos miguneicos en respuesta a la deficiencia de hierro (Marschner, 1995).

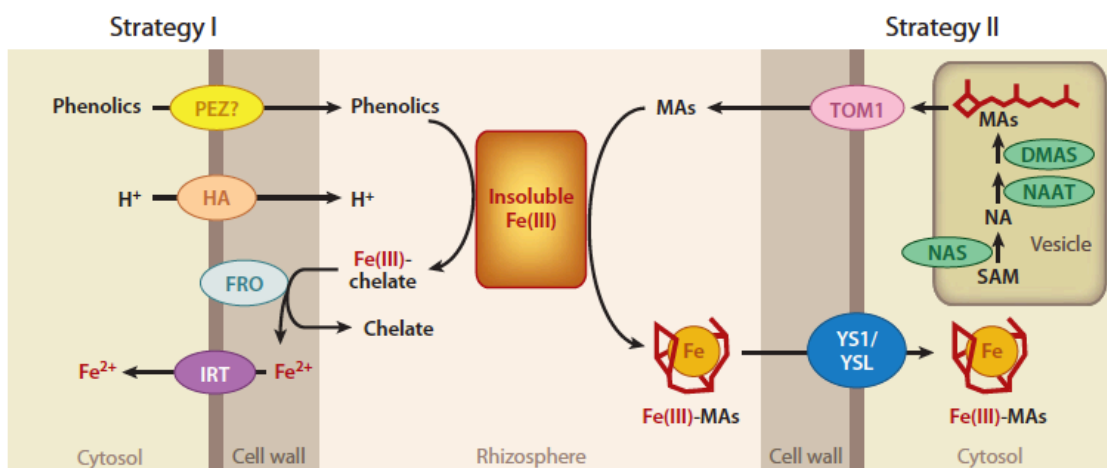


Figura 1. Adquisición de Fe por plantas superiores. Estrategia I en plantas no gramíneas (izquierda) y Estrategia II en plantas gramíneas (derecha). Los óvalos representan los transportadores y las enzimas que desempeñan papeles centrales en estas estrategias, todas las cuales son inducidas en respuesta a la deficiencia de Fe. Abreviaturas: DMAS ácido deoximugineico sintasa; FROM, férrico-quelato reductasa oxidasa; HA, H⁺-ATPasa; IRT, transportador hierro-regulador; MA's, fitosideróforos de la familia del ácido mugínico; NA, nicotianamina; NAAT, nicotianamina aminotransferasa; NAS, nicotianamina sintasa; PEZ, EFLUJO ZERO FENOLICOS; SAM, S-adenosil-L-metionina; TOM1, transportador de los fitosideróforos de la familia del ácido mugineico 1; YS1/YSL, RAYA AMARILLA 1/RAYA AMARILLA 1. Römheld y Marschner (1986) modificado por Kobayashi y Nishizawa (2012).

Uno de los retos mas grandes de la agricultura moderna es el incremento de la producción y biomasa los cuales implican la mejora de la calidad de estos, uno de los minerales que juega un papel importante para esto es el hierro por que es esencial para mejorar estos factores (Briat *et al.*, 2015).

Los productores en invernaderos son conscientes sobre la influencia del pH en el crecimiento de las plantas pero en muchos casos no son bien informados sobre el efecto de la alcalinidad (Ludwig, 1985).

Los fertilizantes de Fe aplicados al suelo son ampliamente utilizados, y constituyen la técnica de remediación de clorosis de Fe mas común. Sin embargo, los fertilizantes inorgánicos de Fe no son lo suficientemente eficientes.

Uso de quelatos.

La aplicación de fertilizantes de hierro proporciona un medio para corregir la deficiencia de este elemento en plantas. Los fertilizantes de hierro pertenecen a tres grupos principales: compuestos de hierro inorgánicos, quelatos de hierro sintéticos y complejos de Fe naturales, de los cuales la aplicación de quelatos son los más eficientes (Abadía *et al.*, 2011)

Por condiciones como lo anterior mencionado, el hierro es aportado en la solución nutritiva en forma quelatada, ya que el quelato protege al ion metálico de sus cambios de oxidación, previendo a la planta del elemento en forma asimilable (Norvell, 1991; López-Rayó, 2009).

Los quelatos son productos de alta estabilidad capaces de mantener a los iones metálicos rodeados de una molécula orgánica extendiendo el intervalo de pH sobre el cual el ion metálico es soluble de tal manera que queden resguardados del entorno que propicie su precipitación en forma de hidróxido insoluble el cual haga que el ion metálico resguardado no este disponible para la planta (Lucena, 2006).

La resistencia del ligando para formar complejos (capacidad quelante), que depende sustancialmente de la estructura química, también las propiedades mas importantes de los ligandos que deben tenerse en cuenta son la estabilidad conferida al complejo, la resistencia del enlace formado, la biodegradabilidad, la

toxicidad del ligando y la toxicidad de los quelatos que se espera que se forme. Por esta razón, en una solución nutritiva se aportan de forma quelatada para evitar sus cambios de oxidación cediendo los iones metálicos a la planta en su forma asimilable (Norvell, 1991; López-Rayó, 2009).

Tipos de quelatos.

Dentro de los quelatos más usados son el ácido etilen-diamino diorto-hidroxi-fenil-acético (EDDHA), el ácido etilen-diamino-tetra-acético (EDTA) y el ácido dietilen-triaminopentaacético (DTPA) (Álvarez-Fernández, 2003). Estos quelatos presentan diferente grado de estabilidad bajo el pH en que interactúan, dependiendo de esa interacción será el grado de disociación. Para el DTPA el rango mas estable es bajo el pH 3 a 7, mientras que el EDTA es estable bajo un rango de pH 3-6.5 y finalmente el quelato EDDHA su comportamiento más estable es bajo el rango de pH 5.9-9 (Zuang, 1982).

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente experimento se realizó en un invernadero del departamento de horticultura en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, con finalidad de estudiar los objetivos planteados el experimento se dividió en dos etapas, siendo la etapa 1 la medición de variables agronómicas y calidad de fruto en plantas de tomate bajo dos fuentes de quelatos de hierro y diferente pH de la solución nutritiva mientras que en la etapa 2 se determinaron variables agronómicas, contenido de clorofilas, contenido de feofitinas, contenido de hierro foliar, pH de sustrato y contenido de hierro en sustrato en plantas de tomate bajo dos fuentes de quelatos de hierro y diferente pH de agua de riego. A continuación se describen de manera puntual las etapas:

Etapas 1.

Sitio experimental y diseño.

El experimento se realizó en un invernadero con cubierta de polietileno, con un rango de temperaturas entre 20-35°C, en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila. Como material biológico se utilizaron plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) variedad Rio Grande (CrowSeed). El trasplante se realizó a los 30 días después de la siembra sobre contenedores plásticos con 9 litros llenando con suelo calcáreo o sustrato de acuerdo a los tratamientos establecidos. Inmediatamente después del trasplante las plantas fueron fertilizadas con una solución Steiner (Steiner, 1961) aplicada mediante riego localizado, iniciando con una solución al 25%, 50% para floración, 75% cuajado de fruto y 100% para cuajado y cosecha.

Los tratamientos consistieron en diversas fuentes de quelato a una concentración de 3 mg L⁻¹ de Fe durante todo ciclo de cultivo diferente pH en la solución nutritiva: Suelo calcáreo-EDTA+CO pH 6.5, suelo calcáreo-EDDHA pH 6.5, sustrato-EDDHA pH 6.5, sustrato-EDTA+CO pH 5.0, sustrato-EDTA+CO pH 6.0, sustrato-EDTA+CO pH 7.0, sustrato-EDTA+CO pH 8.0 y sustrato-EDTA+CO pH 9.0. El sustrato utilizado fue una mezcla de turba ácida y perlita (3.06 ppm de Fe total) proporción 1:1 (v/v), de igual manera se utilizó suelo calcáreo de pH 8.5, 0.2% de

materia orgánica y un contenido de 5 ppm de Fe. Para lograr estabilizar los tratamientos al pH deseado se aplicó H₂SO₄ concentrado y KOH. Para determinar el impacto de los tratamientos se determinaron las siguientes variables:

Unidades SPAD. Sobre la 3^a hoja fisiológicamente madura se midieron los valores relativos SPAD a los 56, 63, 70, 77 y 84 días después del trasplante, con ayuda de un medidor SPAD (Konica Minolta 502).

Contenido de clorofila. Se tomó 1 gramo de material vegetal fresco de la 3^a hoja fisiológicamente madura a los 56 días después del trasplante, posteriormente se maceró en un mortero que contenía 5 ml de acetona al 90% y 0.5 mg de MgCO₃ (para proteger y estabilizar las clorofilas), de la mezcla resultante se tomaron 2 mL en un tubo de 2 mL y se centrifugó por 5 minutos a 10,000 rpm a 2°C, se extrajo el sobrenadante y se midió la absorbancia a una longitud de onda de 663 y 645 nm en un espectrofotómetro UV-Vis (Thermo Scientific Modelo G10S). El contenido de clorofila a, b y total se cuantificó utilizando las ecuaciones citadas por Vernon (1960) y Munira *et al.* (2015).

Variables agronómicas. Se determinó la altura de la planta, el número de hojas, el diámetro del tallo, el número de racimos florales, el número de frutos, los kilogramos de fruto por planta, el peso fresco y seco de la planta, y el peso fresco y seco de la raíz.

Calidad de fruto. Los frutos se analizaron en la etapa número 6 de criterio visual de color establecido por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (U.S.D.A., 1997.) a los 70 ddt. Sobre la pulpa de los frutos cosechados correspondientes al tercer racimo se determinó el pH, el potencial de óxido reducción (con un potenciómetro HI 2211 pH/ORP de Hanna Instruments), la conductividad eléctrica (con potenciómetro HI 98130 de Hanna Instruments), los sólidos solubles totales (con refractómetro Atago modelo ATC1E), la acidez titulable a partir de 10 ml de la pulpa de fruto añadiendo fenolftaleína y titulando con NaOH (0.1N), los resultados se reportaron como porcentaje de ácido cítrico (AOAC, 1990). El contenido de vitamina C de acuerdo a Padayatt *et al.* (2001), mientras que el contenido de licopeno se cuantificó de acuerdo a la metodología de Fish *et al.* (2002).

El diseño experimental utilizado fue bloques completos al azar con nueve unidades experimentales por tratamiento, considerando como unidad experimental una planta por contenedor. Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza y una prueba de comparación de medias LSD Fisher ($p \leq 0.05$) con el programa estadístico InfoStat (Balzarini *et al.*, 2008).

Etapa 2.

El experimento se realizó dentro de las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila, dentro de un invernadero con cubierta de polietileno, con un rango de temperaturas de entre 20-35°C. Como material biológico se utilizó plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) variedad Rio Grande (CrowSeed).

A los 30 días después de la siembra se realizó el trasplante sobre contenedores plásticos de 1 litro que contenían el sustrato a utilizar de acuerdo a los tratamientos: perlita peat moss 1:1 (v/v) con un pH de 5.8 y 3.06 ppm de hierro total o suelo calcáreo pH 8.5 y 5 ppm de hierro total. Las plantas se desarrollaron durante 28 días en los cuales se suministró el hierro en concentración de 3 ppm por aplicación en el agua de riego, la primera aplicación fue 7 días después del trasplante. Los tratamientos consistieron en diversas fuentes de quelato a diferente pH: Testigo Absoluto Sustrato, Testigo Absoluto Suelo Calcáreo (los cuales se manejaron de acuerdo al pH que presentó el agua de riego: pH 8.0), Suelo Calcáreo-EDTA+CO pH6.5, Suelo Calcáreo-EDDHA-pH6.5, Sustrato-EDDHA-pH6.5, Sustrato-EDTA+CO-pH 5.0, Sustrato-EDTA+CO-pH 6.0, Sustrato-EDTA+CO-pH 7.0, Sustrato-EDTA+CO-pH 8.0, Sustrato-EDTA+CO-pH 9.0,. Para lograr estabilizar los tratamientos al pH deseado se aplicó H₂SO₄ concentrado y KOH. Para determinar el impacto de los tratamientos se consideraron las siguientes variables:

Variables agronómicas. Se determinó altura de planta, peso fresco y seco de planta, peso seco y fresco de raíz a los 28 días después del trasplante (ddt).

Contenido de Clorofila. La determinación de clorofila se realizó igual a la etapa 1, los datos fueron tomados a los 7, 14, 21 y 28 ddt.

Unidades SPAD. Las unidades SPAD se determinaron igual que en la etapa 1 y con ayuda de un medidor SPAD (Konica Minolta 502). Los datos fueron tomados a los 7, 14, 21 y 28 ddt respectivamente.

Contenido de Feofitina.

Se tomaron muestras de la tercer hojas fisiológicamente madura (del ápice hacia abajo), se maceró en mortero que contenía 5 ml de acetona al 90%, del homogen resultante se tomaron 2 mL en tubo eppendorf y se microcentrifugó por 5 minutos a 10000 rpm a 2°C, se extrajo el sobrenadante y se midió la absorbancia a 663 y 645 nm en espectrofotómetro UV-Vis (Thermo Scientific Modelo G10S). El contenido de Feofitinas a, b y total se cuantificó utilizando las ecuaciones citadas por Vernon (1960) y Munira *et al.* (2015).

Determinaciones hierro en Sustrato.

Para la determinación Fe^{+2} , Fe^{+3} y total de muestras de sustrato se realizó por medio de la metodología de Phillips y Lovley (1987) y Byong-Hun *et al.*, (2001) con una solución ácida y su cuantificación por colorimetría.

Contenido de Hierro en hojas.

La determinación del contenido de hierro total en las hojas se realizó por medio de la metodología de ICP plasma previa digestión ácida de las muestras vegetales (Ácido nítrico: Peróxido de hidrogeno) (AOAC,1990).

El diseño experimental utilizado fue completamente al azar con diez repeticiones totales por tratamiento. La unidad experimental consistió en una planta por contenedor. Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza para encontrar diferencias estadísticas, de igual manera se aplicó una prueba de medias de acuerdo a LSD Fisher ($p \leq 0.05$) con el programa estadístico InfoStat (Balzarini *et al.*, 2008).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Etapa 1

Contenido de unidades SPAD.

En la Figura 2 se presentan los resultados de las unidades SPAD determinadas en las plantas de tomate. Se pudo observar que hubo una reducción en las unidades SPAD conforme avanzó el desarrollo del cultivo, a los 56 días después del trasplante (ddt) se presentaron las lecturas más altas en todos los tratamientos. Las plantas desarrolladas en sustrato con solución a pH 9 y Fe-EDTA+CO presentaron los valores más bajos durante el segundo, tercero y cuarto muestreo. Por su parte las plantas que se desarrollaron en sustrato con quelato EDTA+CO pero a un pH 7 en solución nutritiva mostraron las lecturas más altas para el segundo, tercer y cuarto muestreo (Figura 2). Una reducción de esta se debe a la pérdida de clorofila por enzimas catabólicas causando la pérdida de color verde que ocurre normalmente durante la senescencia de las hojas (Sakuraba *et al.*, 2015).

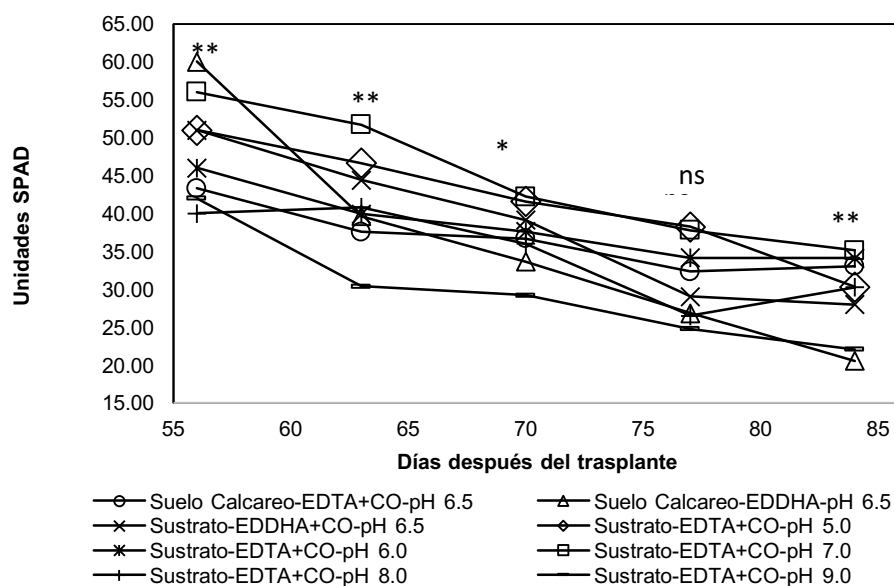


Figura 2. Dinámica de las unidades SPAD en plantas de tomate desarrolladas bajo dos fuentes de quelatos de hierro y diferente pH de la solución nutritiva. **= diferencia altamente significativa, *= diferencia significativa, ns= no significativo.

Contenido de clorofila.

Los resultados del contenido de clorofilas a, b y total se muestran en el Cuadro 1. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas para el contenido de clorofila a y clorofila total, siendo el tratamiento en sustrato con EDTA+CO a un pH 5.0 el que mostró los valores más altos para ambas variables en comparación al tratamiento en suelo calcáreo. Conforme se incrementa el pH de la solución se ve una disminución en la concentración de clorofilas, esto puede ser debido a la acumulación de carbonatos aunado al alto pH de la solución que interviene en la asimilación de hierro afectando directamente la formación de clorofilas (Hellal *et al.*, 2006).

Cuadro 1. Contenido de clorofilas a, b y total en las hojas de plantas de tomate desarrolladas bajo dos fuentes de quelatos de hierro y diferente pH de la solución nutritiva.

Tratamiento	Clorofila a	Clorofila b	Clorofila total
SC-EDTA+CO-pH 6.5	1.47 c [‡]	0.49 a	1.95 c
SC-EDDHA-pH 6.5	1.82 bc	0.78 a	2.59 ab
S-EDDHA-pH 6.5	2.02 ab	0.63 a	2.65 ab
S-EDTA+CO-pH 5.0	2.23 a	0.61 a	2.84 a
S-EDTA+CO-pH 6.0	1.76 bc	0.53 a	2.28 bc
S-EDTA+CO-pH 7.0	1.81 bc	0.54 a	2.35 abc
S-EDTA+CO-pH 8.0	1.76 bc	0.50 a	2.26 bc
S-EDTA+CO-pH 9.0	1.82 bc	0.54 a	2.36 abc

[‡] = medias con la misma letra por columna son estadísticamente iguales de acuerdo a LSD ($p \leq 0.05$). SC= Suelo Calcáreo, S = Sustrato. CO= Compuesto Orgánico.

Variables Agronómicas.

Los resultados de las variables agronómicas evaluadas se presentan en el Cuadro 2. Las variables racimos florales, número de frutos, peso fresco de parte aérea, peso seco de raíz y producción por planta presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$). Se apreció un incremento en las plantas desarrolladas bajo Sustrato-EDTA+CO -pH5.0, mostraron un 40.6% mayor número de racimos florales, 11.35 % número de frutos por planta así como un 44.09 % de incremento en el peso fresco de parte aérea comparado con el tratamiento SC-EDDHA-pH 6.5, una causa de aumento a comparación de suelo calcáreo es que las plantas se pueden desarrollar mejor en cultivo sin suelo donde la aplicación de nutrimentos, el pH y las concentraciones de bicarbonatos son controladas (Manuel y Alcántara, 2002), por otra parte las características estabilidad del quelato bajo los rangos de pH de 3-6.5 (Zuang, 1982) favoreció al desarrollo de peso fresco de parte aérea ya que el hierro es indispensable para el aumento de biomasa y esto ayuda al aumento de número de racimos florales y número de frutos por planta (Jin *et al.*, 2009) (Cuadro 2).

La producción por planta fue más elevada en las plantas crecidas bajo el tratamiento S-EDTA+CO-pH5.0 ($\approx 2.40 \text{ kg planta}^{-1}$) aumentando un 63.22% más con respecto el tratamiento con suelo calcáreo EDTA+CO pH 6.5 ($\approx 1.23 \text{ kg planta}^{-1}$) el cual obtuvo valores más bajos (Figura 3). Los resultados aquí obtenidos son similares con Dyško y Kowalczyk (2009) quienes aplicando una solución a pH 5.5 encontraron un mayor rendimiento en plantas de tomate en cultivo sin suelo. Así mismo se apreció que esta variable se reduce cuando el pH > 7 , lo cual pudiera derivarse a que conforme aumenta el pH de la solución disminuye la disponibilidad y absorción de Fe, Mn y P (Kowalczyk y Kaniszewski, 2005) derivado de alteraciones en la disociación, estabilidad, tasa y curso de las reacciones de oxidación y reducción y precipitación de los compuestos solubles (De Rijck y Schrevens 1998 a, b) resultando en una reducción en la generación de biomasa y frutos, de igual manera Borgognone *et al.*, (2013) desarrollaron plantas en aeroponía a diferentes niveles de pH (3.5, 4.5, 5.5, 6.5 y 7.5)

encontrando que al elevar el pH de 5.5 a 7.5 la absorción de los minerales se ve afectada negativamente debido al elevado pH.

Cuadro 2. Variables agronómicas de plantas de tomate desarrolladas bajo dos fuentes de quelatos de hierro y diferente pH de la solución nutritiva.

Tratamiento	A	NH	DT	RF	NF	PFPA	PSPA	PFR	PSR
SC-EDTA+CO-pH 6.5	92 abc [‡]	16.44 b	1.12 ab	6.89 c	41.11 ab	308.33 bc	71.09 ab	46.33 bc	14.48 b
SC-EDDHA-pH 6.5	92.78 abc	19.78 ab	1.16 a	7.11 c	32.89 bc	286.61 bc	71.58 ab	67.34 a	28.52 a
S-EDDHA-pH 6.5	88.67 abc	19.44 ab	1.04 abc	8.22 bc	36.67 abc	352.42 abc	80.52 ab	60.28 ab	11.86 bc
S-EDTA+CO-pH 5.0	102.33 a	24.11 a	1.01 bc	11.56 a	45.78 a	444.29 a	81.82 a	54.87 abc	9.5 bc
S-EDTA+CO-pH 6.0	101.22 ab	24.22 a	1.04 abc	11.44 a	29.89 c	365.34 ab	81.2 ab	37.37 c	8.06 bc
S-EDTA+CO-pH 7.0	87.33 bc	18.78 ab	0.99 c	8.89 abc	39.78 abc	280.27 bc	70.36 ab	39.36 c	6.86 c
S-EDTA+CO-pH 8.0	81.67 c	20.33 ab	1.07 abc	8.22 bc	45.56 a	260.59 c	64.63 b	41.53 bc	7.77 bc
S-EDTA+CO-pH 9.0	87.89 abc	21.22 ab	1.02 bc	10.56 ab	38.89 abc	298.73 bc	67.60 ab	36.95 c	6.69 c

[‡] = medias seguidas con la misma letra por columna son estadísticamente iguales de acuerdo a LSD ($p \leq 0.05$) SC= Suelo Calcáreo, S = Sustrato, CO = Compuesto Orgánico, A =Altura de planta, NH = Numero de Hojas, DT= Diámetro de Tallo, RF= Racimos Florales, NF= Numero de Frutos, PFPA= Peso Fresco de Parte Aérea, PSPA= Peso Seco de Parte Aérea, PFR= Peso Fresco Raíz, PSR= Peso Seco Raíz.

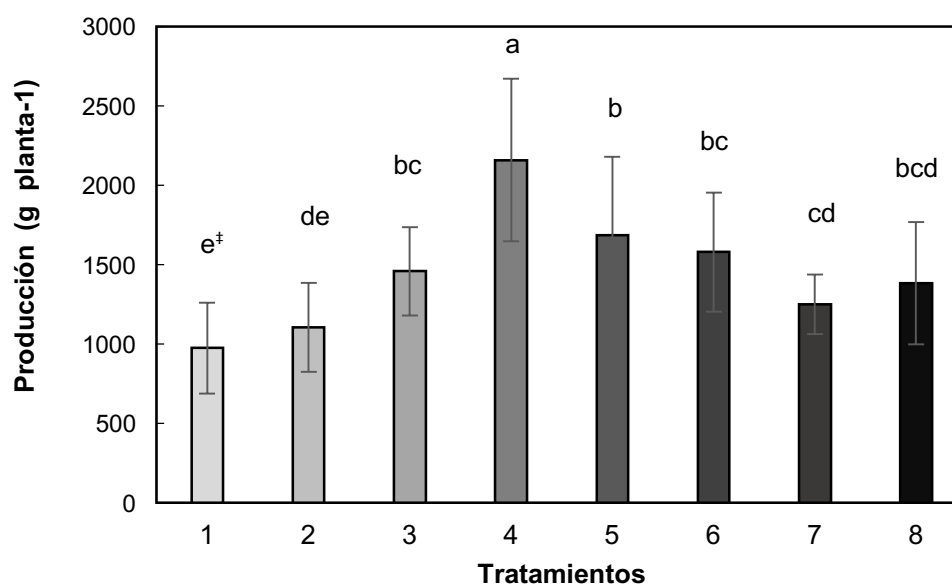


Figura 3. Producción por planta de tomate desarrolladas bajo dos fuentes de quelatos de hierro y diferente pH de la solución nutritiva. 1) Suelo Calcáreo-EDTA+CO-pH6.5, 2) Suelo Calcáreo-EDDHA-pH6.5, 3) Sustrato-EDDHA-pH6.5, 4) Sustrato EDTA+CO-pH5.0, 5) Sustrato-EDTA+CO-pH6.0, 6) Sustrato-EDTA+CO-pH7.0 7) Sustrato-EDTA+CO-pH8.0, 8) Sustrato-EDTA+CO-pH9.0. [‡] = medias por columna seguidas con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo a LSD ($p \leq 0.05$).

Calidad de Fruto.

En el Cuadro 3 se presentan los resultados de las variables relacionadas a la calidad de fruto de tomate. Las plantas desarrolladas bajo S-EDTA+CO-pH 5.0 presentaron los valores más altos para las variables Diámetro polar y Ecuatorial, lo cual pudiera ser resultado de un mejor desarrollo de estas plantas en el sustrato impactando en el tamaño el fruto (Resh y Howard, 2012)

La variable de pH en pulpa de tomate mostró que todos los tratamientos están dentro del rango adecuado para la industria, siendo de 4.19 a 5.59 (Cantwell, 2006) (Figura 4), siendo el tratamiento S-EDTA+CO-pH 7.0 el que obtuvo valores más bajos a lo reportado por este mismo autor.

Se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) para la variable Acidez titulable siendo el tratamiento S-EDTA+CO-pH 7.0 el que obtuvo los valores más altos aumentando un 20.83% en comparación al de las plantas desarrolladas bajo Suelo Calcáreo. La acidez titulable es la acumulación de ácidos orgánicos usados para el proceso de respiración, esto esta relacionado directamente con la madurez del fruto (Žnidarčič y Požrl, 2006)

Las variables de ORP y Vitamina C presentaron valores más altos estadísticamente en los tratamientos desarrollados bajo sustrato en comparación de los de Suelo calcáreo. Esto puede ser debido a que el desarrollo de cultivos en sustratos puede mejorar aspectos nutracéuticos en comparación con los producidos en suelo (Buchanan y Omaye, 2013).

Para licopeno la aplicación de EDTA+CO a un pH de 5.0 aumento un 47.15% en comparación con las plantas tratadas con SC-EDDHA-pH 6.5, ya que las características del EDDHA afectan en cuanto ala síntesis de licopeno, Bienfait *et. al.*,(2004) explican que existen vasos de xilema que llegan a la piel del fruto y que agente quelante EDDHA puede entrar a través de estos vasos compitiendo por el hierro con la enzima y de esta manera interferir con la síntesis de licopeno, ya que la síntesis de licopeno requiere en sus etapas finales de un complejo enzimático desaturasa que contiene Hierro.

Cuadro 3. Calidad de fruto de plantas de tomate desarrolladas bajo dos fuentes de quelatos de hierro y diferente pH.

Tratamiento	DP	DE	ORP	CE	SST	VC	LI
SC-EDTA+CO-pH 6.5	5.67 ab [‡]	4.30 ab	40.45 ab	2.38 b	4.24 a	25.42 ab	1.31 abc
SC-EDDHA-pH 6.5	5.81 a	4.39 a	56.13 a	3.10 a	3.27 b	19.65 b	1.02 c
S-EDDHA-pH 6.5	5.64 ab	4.26 ab	38.01 ab	2.62 ab	4.4 a	25.76 ab	1.45 abc
S-EDTA+CO-pH 5.0	5.76 a	4.46 a	44.1 ab	2.36 b	3.93 a	30.80 a	1.93 a
S-EDTA+CO-pH 6.0	5.41 ab	4.32 ab	41.86 ab	2.90 ab	3.82 ab	24.54 ab	1.55 abc
S-EDTA+CO-pH 7.0	5.36 ab	4 b	35.89 ab	2.53 ab	3.91 ab	27.67 a	1.39 abc
S-EDTA+CO-pH 8.0	5.49 ab	4.44 a	-0.29 b	2.57 ab	3.88 ab	27.14 a	1.17 bc
S-EDTA+CO-pH 9.0	5.07 b	4.30 ab	33.22 ab	2.74 ab	3.77 ab	29.14 a	1.86 ab

[‡] = medias por columna seguidas con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo a LSD ($p \leq 0.05$) SC= Suelo Calcáreo, S = Sustrato, DP= diámetro polar (cm), DE= diámetro ecuatorial (cm), ORP= potencial de óxido-reducción (mV), CE= conductividad eléctrica ($mS\ cm^{-1}$), SST= sólidos solubles totales ($^{\circ}Brix$). VC= vitamina C ($mg\ 100\ g^{-1}$ peso fresco), LI= licopeno ($\mu g\ g^{-1}$).

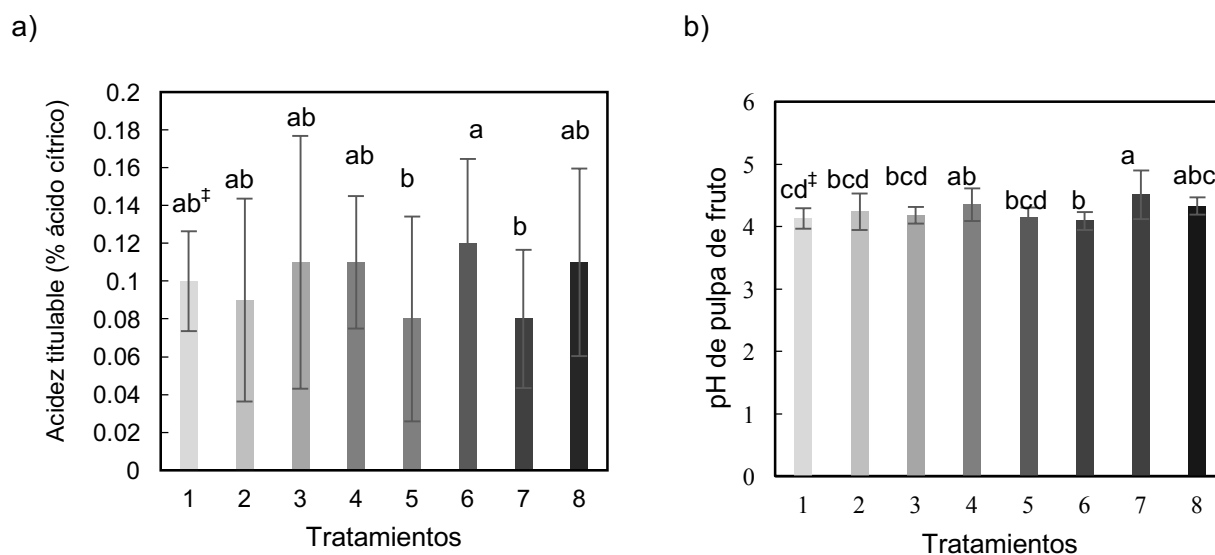


Figura 4. a) Acidez titulable, b) pH de frutos de plantas de tomate desarrolladas en bajo dos fuentes de quelatos de hierro y diferente pH de la solución nutritiva. 1) Suelo Calcáreo-EDTA+CO-pH 6.5, 2) Suelo Calcáreo-EDDHA-pH 6.5, 3) Sustrato-EDDHA-pH 6.5, 4) Sustrato EDTA+CO-pH 5.0, 5) Sustrato-EDTA+CO-pH 6.0, 6) Sustrato-EDTA+CO-pH 7.0, 7) Sustrato-EDTA+CO-pH 8.0, 8) Sustrato-EDTA+CO-pH 9.0. [‡] = medias por columna seguidas con la misma letra son estadísticamente iguales LSD ($p \leq 0.05$).

Etapa 2

Variables agronómicas.

Los resultados correspondientes a las variables agronómicas de las plantas de tomate se presentan en el Cuadro 4. El tratamiento S-EDTA+CO-pH 6.0 obtuvo los valores más altos numéricamente para las variables de Altura, Peso Fresco Parte Aérea, Peso Seco Parte Aérea y Peso Seco Raíz, por otra parte el tratamiento SC-T0 presentó los valores más bajos para todas las variables, esto debido a que como mencionan Treftz y Omaye (2016) al trabajar en cultivo sin suelo se mejoran el suministro de agua y nutrientes hacia las plantas, ya que al trabajar en suelo estos factores se ven reducidos, y la falta de disponibilidad de algunos como el hierro son factores limitante para la producción de biomasa en muchos cultivos incluyendo el tomate (Jin *et al.*, 2009)(Cuadro 4).

Cuadro 4. Variables Agronómicas de plantas de tomate desarrolladas bajo diferentes fuentes de quelatos de hierro y pH de agua de riego.

Tratamiento	A	PFPA	PSPA	PFR	PSR
S-T0	32.9 abc [‡]	19.48 ab	1.67 ab	20.5 a	1.38 ab
SC-T0	16.2 e	7.03 f	0.44 d	6.93 d	0.7 b
SC-EDTA+CO-pH 6.5	27.8 d	11.12 e	1.21 cd	14.08 c	1.15 ab
SC-EDDHA-pH 6.5	29.8 cd	13.3 de	1.48 bc	13.6 c	1.15 ab
S-EDDHA-pH 6.5	21.1 bc	18.56 abc	1.8 a	20.38 a	1.83 a
S-EDTA+CO-pH 5.0	34 ab	18.68 abc	1.95 a	15.15 bc	1.78 a
S-EDTA+CO-pH 6.0	36 a	21.67 a	2.02 a	17.75 abc	1.8 a
S-EDTA+CO-pH 7.0	32.5 abc	16.04 cd	1.52 bc	14.68 c	1.2 ab
S-EDTA+CO-pH 8.0	33.4 abc	19.02 abc	1.87 ab	17.8 abc	1.33 ab
S-EDTA+CO-pH 9.0	33.5 abc	17.97 bc	1.6 abc	20.13 ab	1.6 a

[‡] = medias seguidas con la misma letra son estadísticamente iguales LSD ($p \leq 0.05$) A= Altura, PFPA= Peso Fresco de Parte Aérea, PSPA= Peso Seco de Parte Aérea, PFR= Peso Fresco Raíz, PSR= Peso Seco Raíz. S-T0 y SC-T0 manejados a un pH de 8.0.

Unidades SPAD.

En la Figura 5 se presentan los resultados del comportamiento de las unidades SPAD de las plantas de tomate a través del ciclo de cultivo. Se observó un incremento de unidades SPAD con el tratamiento EDTA+CO -pH6.0, mientras que el tratamiento SC-T0 presentó los valores mas bajos conforme avanzó el cultivo. Esto pudo haberse debido a la falta de síntesis de clorofila por la deficiencia de hierro, disminuyendo las unidades SPAD (Terry, 1980). La pérdida de color puede derivarse de la degradación de clorofilas tal como lo mencionan Sakuraba *et al.* (2015), ya que las enzimas catalíticas de la clorofila degradan a esta haciendo que pierda el color.

Contenido de Clorofila.

Para el contenido de clorofila a se puede ver una constante en cuanto a su contenido a partir de la tercera aplicación de hierro, esto puede ser debido a que la clorofila a es una precursora para la síntesis de la clorofila b (Tanaka *et al.* 1998) (Figura 5). Desde un punto funcional para las plantas la deficiencia de hierro altera la síntesis de producción de clorofila (Tottey *et al.*, 2011).

En cuanto a Clorofilas totales se ve un a tendencia de incremento a partir de la segunda aplicación de Hierro, esto es debido a que la aplicación de hierro por medio de quelatos apporto Hierro en forma asimilable para la planta manteniendo una constante síntesis de clorofila (Zuang, 1982), tal y como se observa en la Figura 1. Desde un punto funcional para las plantas la deficiencia de hierro altera la síntesis de producción de clorofila (Tottey *et al.*, 2011).

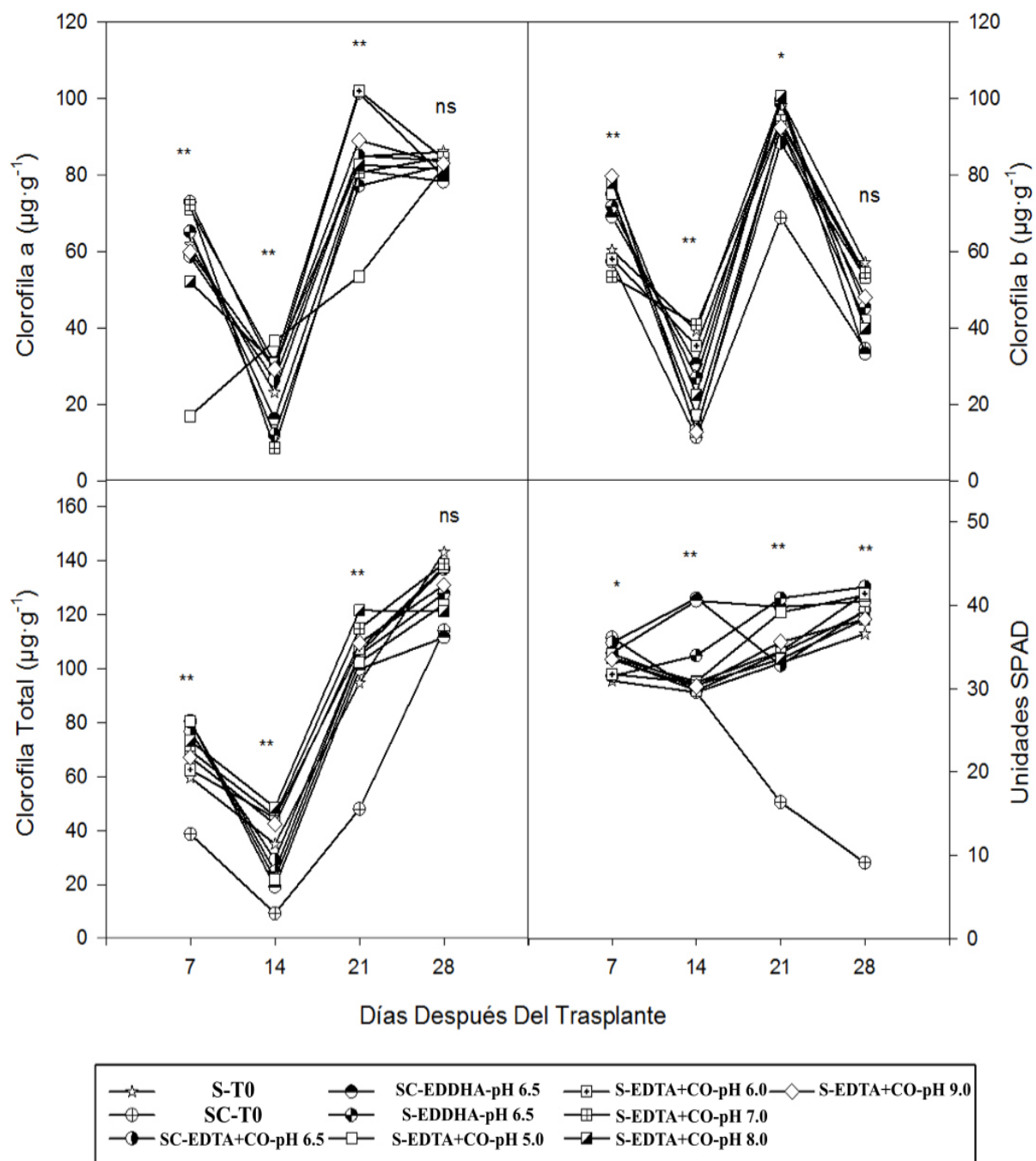


Figura 5. Dinámica del Contenido de Clorofila (a, b y total) y Unidades SPAD en plantas de tomate desarrolladas bajo diferentes fuentes de quelatos de hierro y pH de agua de riego. **= diferencia altamente significativa, *= diferencia significativa, ns= no significativo. S-T0 y SC-T0 manejados a un pH de 8.0.

Contenido de Feofitina.

En la Figura 6 se presentan los resultados del contenido de Feofitinas en las hojas de tomate. No se observaron diferencias estadísticas entre tratamientos, la concentración de feofitinas presentó un comportamiento semejante en todos los tratamientos, considerando que las feofitina y las clorofila tienen un rol importante en la prevención del estrés oxidativo (Hsu *et al.*, 2013).

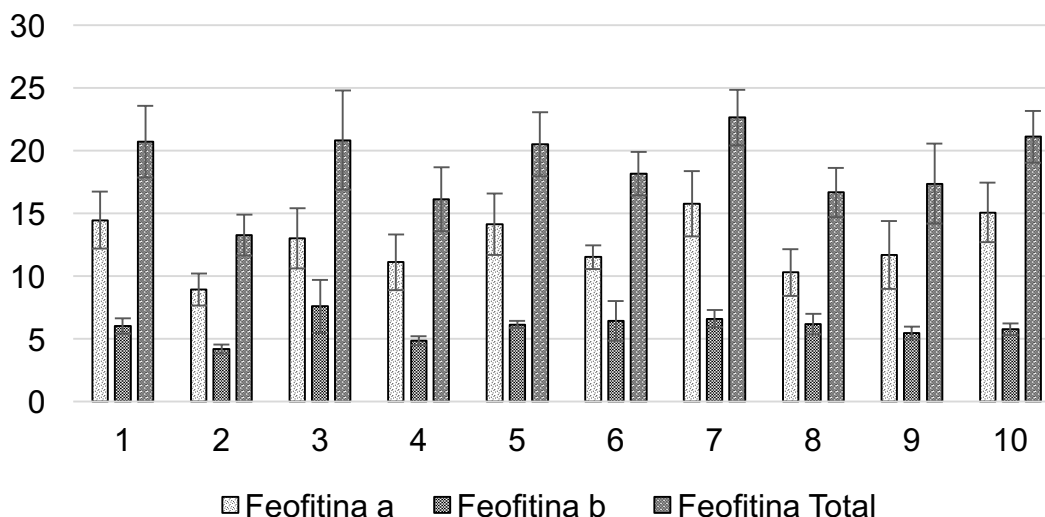


Figura 6. Contenido de Feofitinas en plantas de tomate desarrolladas bajo dos fuentes de quelatos de hierro y diferente pH de agua de riego. 1) Testigo Absoluto Sustrato, 2) Testigo Absoluto Suelo Calcáreo, 3) Suelo Calcáreo-EDTA+CO pH 6.5, 4) Suelo Calcáreo-EDDHA-pH 6.5, 5) Sustrato-EDDHA-pH 6.5, 6) Sustrato-EDTA+CO-pH 5.0, 7) Sustrato-EDTA+CO-pH 6.0, 8) Sustrato-EDTA+CO-pH 7.0, 9) Sustrato-EDTA+CO-pH 8.0, 10) Sustrato-EDTA+CO-pH 9.0.

pH de sustrato.

Los resultados del pH del sustrato se presentan en el Cuadro 5. En el pH del sustrato se ve una tendencia de incremento, mientras aumenta el pH del agua de riego aumenta el pH del sustrato esto debido a la acumulación de carbonatos, sales y la precipitación de nutrientes solubles como resultado de la aplicación de KOH (Rijck y Schrevens 1998), mientras que en suelo calcáreo se presenta un mayor aumento de esta variable como consecuencia del contenido de carbonato, bicarbonatos, potasio, sodio y de su capacidad de adsorción de sales aportadas en el agua de riego (Chaney y Chaney, 1985).

En cuanto a la concentración de Fe^{+2} y hierro total se observa una mejor disponibilidad en sustrato a diferencia del suelo calcáreo, el cultivo sin suelo se

controlan los aportes de nutrientes hacia la planta mientras que en el suelo la velocidad de solubilización de las fases sólidas es bastante lenta, siendo un factor limitante para la absorción y hierro en las plantas (Lucena, 2000). Conforme se incrementa el pH de la solución se ve una reducción numérica entre tratamientos en sustrato, presentando los tratamientos S-EDTA+CO-pH 5.0 y S-EDTA+CO-pH 6.0 valores alto para el contenido de Fe^{+2} , estuvo pudo deberse a las características del quelato ya que al provee gradualmente al catión metálico al medio permitiendo permanecer en esa forma en el sustrato (Wreesmann, 1996).

Contenido de Fe en hojas.

Los resultados correspondientes al contenido de Fe en las hojas se presentan en el Cuadro 5. Por medio del análisis de varianza se encontraron diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$) para esta variable. Se puede notar una tendencia de disminución del contenido foliar de Fe en las hojas de tomate a medida que aumentó el pH del sustrato, aunque se mantienen en niveles normales en un rango de 100 a 174 ppm, conociendo que el EDTA aplicado en suelos de pH alcalino no tiene un buen comportamiento reduciéndose la disponibilidad y asimilación (Zuang, 1982), la efectividad para asimilar el hierro se puede asociar al complejo orgánico que acompaña al EDTA en la formulación de Poliquel EDTA + CO, puesto que hay reportes de que los complejos de hierro con compuestos orgánicos de bajo peso molecular contribuyen a aumentar considerablemente el Fe en la disolución del suelo (Sanchez, 2002). Las plantas tratadas con S-EDTA+CO en un pH 6.0 presentaron los valores más altos a diferencia del testigo absoluto sustrato ya que el suministro de hierro por parte del quelato para este tratamiento se vio favorecido proveyendo al elemento a las plantas evitando su cambio de oxidación para ser asimilado y pasar a ser parte de la síntesis de clorofilas dentro de las hojas, de esta manera el aporte de hierro fue constante y obtuvo una buena asimilación por planta (Álvarez-Fernández, 2003)(Cuadro 5).

Cuadro 5. Comparación de medias del contenido de pH, Hierro (Fe^{2+} , Fe^{3+} y Fe total, ppm) en sustrato y hierro total en hojas de plantas de tomate desarrolladas bajo diferentes fuentes de quelatos de hierro y pH de agua de riego.

Tratamiento	pH	Sustrato			Fe Total en hoja
		Fe^{2+}	Fe^{3+}	Fe Total	
S-T0	7.02 cd [‡]	1.96 a	0.67 a	2.64 ab	49.4 e
SC-T0	8.69 a	0.87 b	0.35 a	1.22 d	95.55 de
SC-EDTA+CO -pH 6.5	8.75 a	0.95 b	0.45 a	1.41 cd	130.32 abcd
SC-EDDHA-pH 6.5	8.77 a	0.91 b	0.77 a	1.69 bcd	130.5 abcd
S-EDDHA-pH6.5	6.93 de	2.07 a	0.7 a	2.77 a	156.57 abc
S-EDTA+CO-pH 5.0	6.95 de	2.39 a	0.99 a	1.9 abcd	157.83 ab
S-EDTA+CO-pH 6.0	6.9 e	2.36 a	0.25 a	2.61 ab	174.84 a
S-EDTA+CO-pH 7.0	6.94 de	2.24 a	0.99 a	1.48 cd	126 bcd
S-EDTA+CO-pH 8.0	7.11 c	2.14 a	0.15 a	2.29 abc	100.93 d
S-EDTA+CO-pH 9.0	7.34 b	1.87 a	0.32 a	2.2 abc	108.6 cd

[‡] = medias seguidas con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo a LSD ($p \leq 0.05$). S-T0 y SC-T0 manejados a un pH de 8.0.

CONCLUSIONES

Las plantas desarrolladas con quelato EDTA+CO en sustrato y con solución a pH 5.0 presentaron una respuesta favorable para el contenido de clorofila a, clorofila total, racimos florales, número de frutos, peso fresco de parte aérea, peso seco de raíz y producción por planta. Los valores más elevados de unidades SPAD se presentaron bajo el tratamiento S-EDTA+CO-pH 7.0, y se disminuyó a medida que aumentó el pH del sustrato.

El tratamiento S-EDTA+CO-pH 5.0 incremento el rendimiento (número de frutos planta⁻¹ y g planta⁻¹) y tamaño de fruto. Para el pH, la acidez titulable y licopeno de la pulpa del fruto los mejores resultados se presentaron bajo el tratamiento S-EDTA+CO-pH 8.0 y pH 7 respectivamente.

El agente quelante EDTA+CO de Fe obtuvo mejores respuestas bajo el pH 5.0 dentro de una solución nutritiva, ya que generó mejor crecimiento de las plantas de tomate y calidad de fruto de las mismas.

Para la segunda etapa el tratamiento Sustrato-EDTA+CO-pH 6 obtuvo valores mas altos para las variables de altura, peso fresco parte aérea, peso seco parte aérea, peso seco raíz, pH de sustrato y contenido de hierro total foliar.

Para los últimos dos muestreos las unidades SPAD se presentaron en el tratamiento plantas tratadas bajo Sustrato EDDHA a un pH de 6.5.

Se presento una reducción de clorofila para todos tratamientos comparado con el testigo sustrato.

El quelato EDTA de hierro mas un compuesto orgánico a pH 6.0 aplicado en la etapa vegetativa y a pH 5.0 para etapa de producción aumentan el crecimiento y rendimiento de plantas de tomate.

La aplicación del hierro quelatado con EDTA adicionado con un compuesto orgánico mantuvo los niveles de hierro foliar en un rango normal en las plantas de tomate cultivadas en distintos pH, por lo puede aportar el hierro necesario para las plantas incluso en sustrato con pH de 9.

Por lo anterior, el tipo de agente quelatante utilizado en Fe, aunado al pH de la solución nutritiva puede ser determinante en el crecimiento de plantas de tomate y calidad de fruto de las mismas.

REFERENCIAS

- Abadía, J., Vázquez, S., Rellán-Álvarez, R., El-Jendoubi, H., Abadía, A., Álvarez-Fernández, A., & López-Millán, A. F. (2011). Towards a knowledge-based correction of iron chlorosis. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49(5), 471-482.
- Abbaspour, N., Hurrell, R., & Kelishadi, R. (2014). Review on iron and its importance for human health. *Journal of Research in Medical Sciences*, 19(2).
- Albano, J. P., & Merhaut, D. J. (2012). Influence of FeEDDS, FeEDTA, FeDTPA, FeEDDHA, and FeSO₄ on Marigold Growth and Nutrition, and Substrate and Runoff Chemistry. *HortScience*, 47(1), 93-97.
- Álvarez-Fernández, A., Paniagua, P., Abadía, J., & Abadía, A. (2003). Effects of Fe deficiency chlorosis on yield and fruit quality in peach (*Prunus persica* L. Batsch). *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(19), 5738-5744.
- Andriolo, J. L., Duarte, T. S., Ludke, L., & Skrebsky, E. C. (1999). Caracterização e avaliação de substratos para o cultivo do tomateiro fora do solo. *Horticultura brasileira*, 17(3), 215-219.
- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists, 15th ed. Arlington, Virginia, USA. pp. 384.
- Balzarini, M.; Di Rienzo, A.; Cazanoves, F.; González, I.; Tablada, M.; Guzmán, W. y Robledo, W. 2008. InfoStat software estadístico InfoStat versión 2008, Manual de usuario, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Bienfait, H. F., Garcia-Mina, J., & Zamareño, A. M. (2004). Distribution and secondary effects of EDDHA in some vegetable species. *Soil Science and Plant Nutrition*, 50(7), 1103-1110.
- Borgognone, D., Colla, G., Roupshael, Y., Cardarelli, M., Rea, E., & Schwarz, D. (2013). Effect of nitrogen form and nutrient solution pH on growth and mineral composition of self-grafted and grafted tomatoes. *Scientia Horticulturae*, 149, 61-69.
- Briat, J. F., Dubos, C., & Gaymard, F. (2015). Iron nutrition, biomass production, and plant product quality. *Trends in Plant Science*, 20(1), 33-40.
- Briat, J. F. (2007). Iron dynamics in plants. *Advances in botanical research*, 46, 137-180.

- Buchanan, D. N., & Omaye, S. T. (2013). Comparative study of ascorbic acid and tocopherol concentrations in hydroponic-and soil-grown lettuces. *Food and Nutrition Sciences*, 4(10), 1047.
- Carol, P., & Kuntz, M. (2001). A plastid terminal oxidase comes to light: implications for carotenoid biosynthesis and chlororespiration. *Trends in plant science*, 6(1), 31-36.
- Çelik, H. and Katkat A.V. 2007. Some parameters in relation to iron nutrition status of peach orchards. *J Biol Environ Sci* 13: 111–115.
- Cantwell, M. (2006). Report to the California tomato commission tomato variety trials: Postharvest evaluation for 2005. *UCCE Fresh market tomato statewide report. California, USA*, 3.
- Chaney, R.L. and M.S. Chaney. 1985. Soybeans can utilize inorganic ferric iron added to calcareous nutrient solutions. *Agron. Abstr.* 1985,168.
- Cruz-Crespo, E., Can-Chulim, A., Sandoval-Villa, M., Bugarín-Montoya, R., Robles-Bermúdez, A., & Juárez-López, P. (2013). Sustratos en la horticultura. *Revista Bio Ciencias*, 2(2).
- Dancis, A., Klausner, R. D., Hinnebusch, A. G., & Barriocanal, J. G. (1990). Genetic evidence that ferric reductase is required for iron uptake in *Saccharomyces cerevisiae*. *Molecular and Cellular Biology*, 10(5), 2294-2301.
- De Rijck, G. and Schrevens E. 1998a. Elemental bioavailability in nutrient solutions in relation to complexation reactions. *J. Plant Nutr.* 21(5): 849-859.
- De Rijck, G. and Schrevens E. 1998b. Elemental bioavailability in nutrient solutions in relation to precipitation reactions. *J. Plant Nutr.* 21(10): 2103-2113.
- De Rijck, G., & Schrevens, E. (1999). Anionic speciation in nutrient solutions as a function of pH. *Journal of plant nutrition*, 22(2), 269-279.
- Dyśko, J. and Kowalczyk, W. 2009. The influence of pH of nutrient solution on yield and nutritional status of tomato plants grown in soilless culture system. *Vegetable Crops Research Bulletin*, 70: 59-69.
- Fish, W.W., P. Perkins-Veazie, and J.K. Collins. 2002. A quantitative assay for lycopene that utilizes reduced volumes of organic solvents. *J. Food Composit. Ann.* 15: 309-317.
- Hall, J.L. and Williams, L.E. 2003. Transition metal transporters in plants. *Journal of experimental botany*, 54(393): 2601-2613.

- Hellal, F. A., Seeda, M. A., & Mahmoud, S. A. (2006). Impact of Nitrogen Fertilization on Iron Uptake by Maize Grown in Calcareous Soil. *Journal of Applied Science Research*, 2(10), 799-804.
- Höfner, W. 1992. Aufnahme und sorption von zwei und dreiwertigen Eisen durch Sonneblumenpflanzen (*Helianthus annuus* L.). *Pflanzen Bodenkunde.*, 131:130-138.
- Hsu, C. Y., Chao, P. Y., Hu, S. P., & Yang, C. M. (2013). The antioxidant and free radical scavenging activities of chlorophylls and pheophytins. *Food and Nutrition Sciences*, 4(8A), 1.
- Incesu, M., YEŞİLOĞLU, T., Cimen, B., & Yilmaz, B. (2015). Influences of different iron levels on plant growth and photosynthesis of W. Murcott mandarin grafted on two rootstocks under high pH conditions. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 39(5), 838-844.
- Jelali, N., Salah, I. B., M'sehli, W., Donnini, S., Zocchi, G., & Gharsalli, M. (2011). Comparison of three pea cultivars (*Pisum sativum*) regarding their responses to direct and bicarbonate-induced iron deficiency. *Scientia horticulturae*, 129(4), 548-553.
- Jin, C. W., Du, S. T., Chen, W. W., Li, G. X., Zhang, Y. S., & Zheng, S. J. (2009). Elevated carbon dioxide improves plant iron nutrition through enhancing the iron-deficiency-induced responses under iron-limited conditions in tomato. *Plant Physiology*, 150(1), 272-280.
- Kobayashi, T., & Nishizawa, N. K. (2012). Iron uptake, translocation, and regulation in higher plants. *Annual review of plant biology*, 63, 131-152.
- Kim, S. A., & Guerinot, M. L. (2007). Mining iron: iron uptake and transport in plants. *FEBS letters*, 581(12), 2273-2280.
- Kolota, E.; Chohura, P. and Komosa, A. 2013. Efficiency of chelate forms of micronutrients in nutrition of greenhouse tomato grown in rockwool. *Journal of Elementology*, 18 (4) 635-647.
- Kowalczyk W., Kaniszewski S. 2005. The effect of pH of the nutrient solution on phosphorus availability and nutritional status of tomato grown in rockwool. *Veget.Crops Res. Bull.* 63: 87-99.
- López-Rayó, S.; Hernández, D. and Lucena. J.J. 2009., Chemical evaluation of HBED/Fe³⁺ and the novel HJB/Fe³⁺ chelates as fertilizers to alleviate iron chlorosis. *J Agric Food Chem* 57:8504-8513.

- Lucena, J. J. (2000). Effects of bicarbonate, nitrate and other environmental factors on iron deficiency chlorosis. A review. *Journal of Plant Nutrition*, 23(11-12), 1591-1606.
- Lucena, J. J. (2006). Synthetic iron chelates to correct iron deficiency in plants. In *Iron nutrition in plants and rhizospheric microorganisms* (pp. 103-128). Springer Netherlands.
- Ludwig, L. S. 1985. Influences of water pH, alkalinity, acid additions upon floral crop growth and nutrient relationship. M.S. Thesis, The Ohio State University, Columbus, OH, USA.
- Manuel, D., & Alcántara, E. (2002). A comparison of ferric-chelate reductase and chlorophyll and growth ratios as indices of selection of quince, pear and olive genotypes under iron deficiency stress. *Plant and Soil*, 241(1), 49-56.
- Marschner, H. (1995) Mineral Nutrition of Plants, Academic Press, Boston.
- Msilini, N., Essemine, J., Zaghdoudi, M., Harnois, J., Lachaâl, M., Ouerghi, Z., & Carpentier, R. (2013). How does iron deficiency disrupt the electron flow in photosystem I of lettuce leaves?. *Journal of plant physiology*, 170(16), 1400-1406.
- Mori, S. (1999). Iron acquisition by plants. *Current opinion in plant biology*, 2(3), 250-253.
- Munira, S.; Hossain, M.M.; Zakaria, M.; Ahmed, J.U. and Islam, M.M. 2015. Evaluation of Potato Varieties against Salinity Stress in Bangladesh. *IJPSS*, 6(2): 73-81.
- Norvell, W.A. 1991. Reactions of metal chelates in soils and nutrient solutions, in *Micronutrients in Agriculture*, Book series No.4, ed. by Mortvedt J.J. Soil Science Society of America (SSSA), Madison, WI, pp. 187–227.
- Nozoye, T., Nagasaka, S., Kobayashi, T., Sato, Y., Uozumi, N., Nakanishi, H., & Nishizawa, N. K. (2015). The phyto siderophore efflux transporter TOM2 is involved in metal transport in rice. *Journal of Biological Chemistry*, 290(46), 27688-27699.
- Padayatt, S.J.; Daruwala, R.; Wang, Y.; Eck, P.K.; Song, J.; Koh, W.S. and Levine, M. 2001. Vitamin C: from molecular actions to optimum intake. *Handbook of Antioxidants*. CADENAS, E.; PACKER, L. (eds) 2nd edition. CRC Press. Washington DC, EE. UU, 117-145.
- Phillips, E. J., & LovLEY, D. R. (1987). Determination of Fe (III) and Fe (II) in oxalate extracts of sediment. *Soil Science Society of America Journal*, 51(4), 938-941.

- Prasad, P.V.V. 2003. Plant nutrition: iron chlorosis. In *Encyclopedida of Applied Plant Science* (Thomas, B. *et al.*, eds) pp. 649-656. London, UK Elsevier.
- Robinson, N. J., Procter, C. M., Connolly, E. L., & Guerinot, M. L. (1999). A ferric-chelate reductase for iron uptake from soils. *Nature*, 397(6721), 694-697.
- Re, R., Bramley, P. M., & Rice-Evans, C. (2002). Effects of food processing on flavonoids and lycopene status in a Mediterranean tomato variety. *Free radical research*, 36(7), 803-810.
- Resh, H. M. and Howard, M. (2012). *Hydroponic food production: a definitive guidebook for the advanced home gardener and the commercial hydroponic grower*. CRC Press.
- Römheld, V., & Marschner, H. (1986). Evidence for a specific uptake system for iron phytosiderophores in roots of grasses. *Plant Physiology*, 80(1), 175-180.
- SAGARPA 2015. Boletín Informativo. Se consolida México como primer exportador mundial de tomate. Consulta: 20 noviembre 2016. Disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx/saladeprensa/2012/Paginas/2015B466.aspx>
- Sanchez S. A. 2002. Mejora en la eficacia de los quelatos de hierro sintéticos a través de sustancias húmicas y aminoácidos. Tesis de doctorado. Departamento de Agroquímica, Universidad de Alicante, España
- Sakuraba, Y., Park, S. Y., & Paek, N. C. (2015). The Divergent Roles of STAYGREEN (SGR) Homologs in Chlorophyll Degradation. *Molecules and cells*, 38(5), 390-395.
- Schulte, E.E. and Kelling, K.A. 2004. *Understanding Plant Nutrients: Soil and Applied Sulfur*. University of Wisconsin-Extension, WI, USA: Cooperative Extension Publications.
- Shenkin, A. (2003). Dietary reference values for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium and zinc. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 16(3), 199-200.
- SIAP, Servicio de Información Agropecuaria y Pesquera. Anuario agropecuario 2000- 2014. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/> (consulta: 20 noviembre 2016). 2015.
- Steiner, A.A. 1961. A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant Soil*. 15:134-154.
- Tanaka, A., Ito, H., Tanaka, R., Tanaka, N. K., Yoshida, K., & Okada, K. (1998).

- Chlorophyll a oxygenase (CAO) is involved in chlorophyll b formation from chlorophyll a. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(21), 12719-12723.
- Terry, N. 1980. Limiting factors in photosynthesis. Use of iron stress to control photochemical capacity in vivo. *Plant Physiology* 65: 114–120.
- Theil, E. C., Burton, J. W., & Beard, J. L. (1997). A sustainable solution for dietary iron deficiency through plant biotechnology and breeding to increase seed ferritin control. *European Journal of Clinical Nutrition*, 51, S28-31.
- Thomine, S., & Vert, G. (2013). Iron transport in plants: better be safe than sorry. *Current opinion in plant biology*, 16(3), 322-327.
- Tottey, S. et al. (2003) Arabidopsis CHL27, located in both envelope and thylakoid membranes, is required for the synthesis of protochlorophyllide. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100, 16119–16124
- Treftz, C., & Omaye, S. T. (2016). COMPARISON BETWEEN HYDROPONIC AND SOIL SYSTEMS FOR GROWING STRAWBERRIES IN A GREENHOUSE. *International Journal of Agricultural Extension*, 3(3), 195-200
- USDA, 1997: United States Department of Agriculture. Agricultural marketing Service. United States standards for grades of fresh tomatoes. Retrieved from:
<http://www.ams.usda.gov/AMSV1.0/getfile?dDocName=STELPRDC5050331>
- Vernon, P. 1960. Spectrophotometric Determinations of Chlorophylls and Pheophytins in Plant Extracts. *Analytical Chemistry*, 32(9): 1144-1150.
- Valadéz, L. A. (1990). Producción de hortalizas. Ed. Limusa-Noriega México Pp.197-11
- Walker, E. L., & Connolly, E. L. (2008). Time to pump iron: iron-deficiency-signaling mechanisms of higher plants. *Current opinion in plant biology*, 11(5), 530-535.
- White, P. J., & Brown, P. H. (2010). Plant nutrition for sustainable development and global health. *Annals of botany*, 105(7), 1073-1080.
- Wreesmann, C. (1996). Chelated micro-nutrients for soilless culture. In *ISOSC Proceedings* (pp. 559-572).

Žnidarčič, D., & Požrl, T. (2006). Comparative study of quality changes in tomato cv.'Malike'(Lycopersicon esculentum Mill.) whilst stored at different temperatures. *Acta agriculturae Slovenica*, 87(2), 235-243.

Zuang, H. 1982. La fertilization des cultures légumières. Centre Technique Interprofessionnel des Fruits et Légumes. Paris.