



**UNIVERSIDAD DE CHILE**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS**

**ESCUELA DE POSTGRADO**

**EFFECTO DE APLICACIONES FOLIARES DE BENCILADENINA  
SOBRE LA ABSORCIÓN DE DISTINTAS FUENTES DE NITRÓGENO  
EN PLANTAS DE TOMATE (*Lycopersicon esculentum* Mill.)**

Tesis para optar Título Profesional de Ingeniero Agrónomo y al Grado de  
Magíster en Ciencias Agropecuarias

**FERNANDO QUEZADA MONJE**

Directores de Tesis  
THOMAS FICHET L.  
JOSÉ IGNACIO COVARRUBIAS

Profesores consejeros  
MARCO GARRIDO  
DANILO AROS

SANTIAGO - CHILE  
2021

**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS**  
**ESCUELA DE POSTGRADO**

**EFFECTO DE APLICACIONES FOLIARES DE BENCILADENINA SOBRE  
LA ABSORCIÓN DE DISTINTAS FUENTES DE NITRÓGENO EN  
PLANTAS DE TOMATE (*Lycopersicon esculentum* Mill.)**

Tesis para optar Título Profesional de Ingeniero Agrónomo y al Grado de  
Magíster en Ciencias Agropecuarias

**FERNANDO QUEZADA MONJE**

Calificaciones

DIRECTORES DE TESIS

Thomas Fichet L.	X.X
Ingeniero Agrónomo, Ph.D.	

José Ignacio Covarrubias Peña	X.X
Ingeniero Agrónomo, MS, Ph.D.	

PROFESORES CONSEJEROS	X.X
-----------------------	-----

Marco Isaac Garrido Salinas	
Ingeniero Agrónomo, Ph.D.	

Danilo Fernando Aros Orellana	X.X
Ingeniero Agrónomo, Ph.D.	

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero agradecer a mi familia, por todo su amor, por siempre estar para mí cuando los he necesitado y por darme todas las oportunidades en mi vida. Esto es para ustedes.

A mis profesores guía Thomas Fichet y José Ignacio Covarrubias, por todos sus consejos, su apoyo, su sabiduría y por siempre tener una buena disposición y el tiempo para ayudarme.

A mi pareja, por ser un pilar fundamental y por darme los ánimos suficientes para continuar en los momentos más difíciles.

A mis amigas y amigos, en especial a Paula, Gabriela y Trinidad, por ayudarme de alguna u otra manera, y por tantos momentos que quedarán en mi memoria por siempre.

## ÍNDICE

<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>HIPÓTESIS</b> .....	3
<b>OBJETIVOS</b> .....	3
<b>Objetivo general</b> .....	3
<b>Objetivos específicos</b> .....	3
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	4
<b>Ubicación del estudio</b> .....	4
<b>Material biológico</b> .....	4
<b>Tratamientos y diseño experimental</b> .....	4
<b>Manejo del experimento</b> .....	4
<b>Variables medidas</b> .....	6
<b>Análisis estadístico</b> .....	8
<b>RESULTADOS</b> .....	9
<b>pH de la solución lixiviada</b> .....	9
<b>Conductancia estomática</b> .....	9
<b>Valor SPAD</b> .....	11
<b>Fluorescencia de clorofilas</b> .....	13
<b>Producción y maduración de fruta a través del tiempo</b> .....	13
<b>Materia fresca y seca de la parte aérea y radical</b> .....	15
<b>Concentración foliar de macro y micronutrientes</b> .....	16
<b>DISCUSIÓN</b> .....	19
<b>CONCLUSIONES</b> .....	24
<b>LITERATURA CITADA</b> .....	25
<b>APÉNDICES</b> .....	29

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Detalle de los tratamientos en plantas de tomate Cherry en el ensayo.....	4
Cuadro 2. Valor SPAD en hojas de tomates, 30 días después de la primera aplicación de BA, tratados con diferentes dosis y fuentes de nitrógeno. ....	12
Cuadro 3. Valor SPAD en hojas de tomates, 30 días después de la segunda aplicación de BA, tratados con diferentes dosis y fuentes de nitrógeno.....	12
Cuadro 4. Materia fresca, materia seca y diámetro ecuatorial de frutos de tomate sometidos a distintas fuentes y dosis de nitrógeno .....	14
Cuadro 5. Efecto de distintas fuente y dosis de nitrógeno sobre la acumulación de materia fresca (MF) y seca (MS) en distintos órganos de plantas de tomate .....	15
Cuadro 6. Concentración de fósforo (P), calcio (Ca), magnesio (Mg) y manganeso (Mn) en hojas de tomate, tratados con BA y fertilizados con diferentes dosis y fuentes de nitrógeno.....	17
Cuadro 7. Concentración de potasio (K), zinc (Zn), hierro (Fe), cobre (Cu) y boro (B) en hojas de tomate, tratados con BA y fertilizados con diferentes dosis y fuentes de nitrógeno.....	18

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Evolución del pH de la solución lixiviada de macetas con tomates, tratados con diferentes dosis de soluciones nítricas o amoniacales en el tiempo.....	9
Figura 2. Efecto del factor fertilización nitrogenada sobre la conductancia estomática de hojas de tomate, 21 días después de la primera aplicación de BA.....	10
Figura 3. Efecto de la fertilización nitrogenada sobre la conductancia estomática de hojas de tomate, 21 días después de la segunda aplicación de BA .....	10
Figura 4. Efecto del factor fertilización nitrogenada sobre el valor SPAD en hojas de tomate, 10 días después de la primera aplicación de BA, tratadas con diferentes dosis y fuente de nitrógenos .....	11
Figura 5. Efecto del factor fertilización nitrogenada sobre la relación Fv/Fm en hojas de tomate, 21 días después de la segunda aplicación de BA, tratados con diferentes dosis y fuentes de nitrógeno .....	13
Figura 6. Evolución de la maduración de frutos de tomate, para cada tratamiento.....	14
Figura 7. Efecto de la aplicación de BA y diferentes dosis y fuentes de nitrógeno en el diámetro polar de frutos de tomate.....	15
Figura 8. Efecto del factor fertilización nitrogenada sobre la concentración de nitrógeno en hojas de tomate, tratados con BA y fertilizados con diferentes dosis y fuentes de nitrógeno.....	16

## APÉNDICES

Apéndice 1. Esquema del diseño experimental del ensayo.....	29
Apéndice 2. Escala arbitraria utilizada para determinar color a cosecha en tomate Cherry (elaboración propia).....	29
Apéndice 3. Línea de tiempo de las mediciones y aplicaciones realizadas durante el ensayo...	29
Apéndice 4. Fotografía de plantas de tomates del tratamiento 1NH y 1NO, tomada el 3 de diciembre de 2019.....	30
Apéndice 5. Número total de frutos cosechados por tratamiento.....	30
Apéndice 6. Promedio mensual de la temperatura máxima del aire durante el desarrollo del ensayo. Elaborado en base a datos obtenidos de estación meteorológica de La Platina, INIA.....	31
Apéndice 7. Gramos totales de nitrógeno en la materia seca de hojas de tomate.....	31
Apéndice 8. Gramos totales de fósforo en la materia seca de hojas de tomate.....	31
Apéndice 9. Gramos totales de magnesio en la materia seca de hojas de tomate.....	32
Apéndice 10. Miligramos totales de boro en la materia seca de hojas de tomate.....	32

## RESUMEN

Las investigaciones sobre las señalizaciones realizadas por las citoquininas y su influencia en la absorción de nitrógeno son bastante novedosas, y aún existe un vacío importante en su conocimiento. Por ello, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de aplicaciones foliares de 100 mg L<sup>-1</sup> de benciladenina (BA) en dos oportunidades, sobre la absorción de dos fuentes de nitrógeno (nitrato y amonio, con tres dosis para cada fuente) por parte de la planta, y su relación con variables productivas y fisiológicas en plantas de tomate Cherry. Algunas de estas variables medidas fueron: maduración de frutos, valor SPAD en hojas, concentración de micro y macro nutrientes en hojas, crecimiento y desarrollo de raíces, entre otros. Los resultados obtenidos indicaron que la aplicación foliar de benciladenina no altera la absorción de nitrato y amonio en plantas de tomate Cherry. No existe efecto de benciladenina, ni tampoco de las distintas fuentes de nitrógeno sobre la maduración de la fruta. Además, el uso de este regulador de crecimiento no tiene un efecto significativo en la apertura estomática, al menos bajo las condiciones implementadas en este ensayo. Sin embargo, benciladenina retrasa la degradación de clorofila en plantas de tomate Cherry bajo toxicidad por amonio.

**Palabras claves:** Amonio, citoquininas, nitrato, nutrición.

## ABSTRACT

Research on cytokinin signaling and its influence on nitrogen absorption is quite novel, and there is still an important gap in their knowledge. Therefore, the objective of this study was to evaluate the effect of two foliar applications of 100 mg L<sup>-1</sup> benzyladenine (BA), on the absorption of two sources of nitrogen (nitrate and ammonium, with three doses for each source) by the plant, and their relationship to productive and physiological variables in Cherry tomato plants. Some of these measured variables were: fruit maturation, SPAD value in leaves, concentration of micro and macro nutrients in leaves, growth and development of roots, among others. Results obtained, revealed that the foliar application of benzyladenine does not alter the absorption of nitrate and ammonium in Cherry tomato plants. There is no effect of benzyladenine, nor of the different sources of nitrogen on the ripening of the fruit. In addition, the use of this growth regulator has no significant effect on stomatic openness, at least under the experimental conditions employed in this trial. However, benzyladenine delays the degradation of chlorophyll in Cherry tomato plants under ammonium toxicity.

**Key words:** Ammonium, cytokinins, nitrate, nutrition.

## INTRODUCCIÓN

Las fitohormonas son sustancias químicas que desempeñan un papel fundamental durante todo el desarrollo de la planta, desde la germinación hasta la madurez del fruto (Gillaspy *et al.*, 1993; Srivastava y Handa, 2005). Las citoquininas corresponden a un grupo de estas fitohormonas, que promueven diversos efectos en las plantas, entre los cuales se puede citar: división y diferenciación celular, eliminación de la dormancia de yemas y semillas de algunas especies, pérdida de la dominancia apical, retraso de la senescencia de hojas, reducción en la formación de raíces, regulación en la transmisión de señales nutricionales y la homeostasis de nutrientes, entre otros (Werner y Schmülling, 2009).

Las formas endógenas en plantas de citoquininas activas son 4: trans-zeatina (tZ), dihidrozeatina (DZ), cis-zeatina (CZ) e isopentenil adenina (iP). Además, existen otras formas que también se han descubierto en plantas como es la benciladenina (Mok y Mok, 2001).

Con respecto a las señales nutricionales, Gu *et al.* (2018), plantean que las plantas adaptan su morfología y fisiología a la composición y disponibilidad de nutrientes en el suelo. Sin embargo, estas adaptaciones necesitan de una regulación del metabolismo, definida principalmente por las señalizaciones realizadas entre la parte aérea y la parte radical de la planta. Estas señalizaciones se producen gracias a que las plantas cuentan con la capacidad de detectar la presencia interna y externa de nutrientes y, en particular, de nitrógeno (Sakakibara *et al.*, 2006).

Ligado a lo anterior, son las raíces las que perciben en qué zona de la rizósfera se encuentra en mayor cantidad un elemento mineral y en qué zona existe un déficit. Las raíces que detectan un déficit, pueden generar una señal que viaja vía xilema hasta el brote para interactuar con los receptores quinasas y ahí se produce una respuesta que se transporta hasta las raíces. Posteriormente, se induce la síntesis de transportadores intermembrana de nitrato en las raíces ubicadas en zonas en donde hay más nitrógeno y, de esta manera, se incrementa la absorción de nitrógeno (Tabata *et al.*, 2014).

Estas señalizaciones están relacionadas al movimiento de las citoquininas a nivel intracelular e intercelular, el cual es regulado por transportadores conocidos como permeasas purinas (PUP). Estos transportadores son específicos de las plantas vasculares. De estos, PUP1 es un transportador de las citoquininas que tiene afinidad por ribosidos de zeatina, kinetina (citoquinina no natural), entre otras, en cambio PUP2 transporta otras citoquininas como benciladenina, isopentil adenina (iP) y también trans-zeatina (tZ) (Gu *et al.*, 2018).

Por otro lado, la productividad de las plantas está directamente relacionada con su nutrición nitrogenada. Las raíces de las plantas pueden absorber y transportar amonio o nitrato de forma específica a través de transportadores intermembrana especializados para cada forma de nitrógeno. De tal modo, los transportadores de nitrógeno se pueden clasificar en dos grandes grupos: los transportadores de nitrato (NRT) y los transportadores de amonio (AMT), y ambos grupos se subdividen en varias familias (Xu *et al.*, 2012).

El nitrato está directamente involucrado con la activación de un gran número de genes relacionados con la absorción y uso de nutrientes, así como la absorción y reducción del mismo o la asimilación del amonio (Wang *et al.*, 2000). Además, algunas investigaciones han reportado el vínculo existente entre el nitrato y la síntesis de citoquininas (Takei *et al.*, 2004),

las cuales actuarían como mensajeros secundarios entre la parte radical y aérea. En tal contexto, se menciona que las citoquininas podrían estar involucradas de cierta manera con el ciclo del nitrógeno en las raíces, como es la activación de la enzima nitrato reductasa, la cual participa en las reacciones de reducción del nitrato al nitrito, y este a su vez es sucesivamente transformado al ion amonio (Dluzniewska *et al.*, 2006). También, las citoquininas están asociadas con el transporte de nitrógeno desde la rizósfera al interior de la raíz, reprimiendo transportadores de nitrógeno del tipo NRT y AMT (Sakakibara *et al.*, 2006). Sin embargo, Osugi *et al.* (2017), afirman que la relación entre las citoquininas y el nitrógeno, en cuanto a la detección de este elemento en la rizósfera, el desarrollo de la raíz y la regulación entre la parte aérea y radical de la planta, aún no está clara.

También, Miyawaki *et al.* (2004), detectaron que plántulas de *Arabidopsis*, cultivadas con una alta concentración de nitrato, contenían una mayor concentración de citoquininas que las plántulas cultivadas con una baja cantidad de nitrato. Esto significa que las citoquininas no son sólo una señal de suplemento de nitrógeno, sino que también son una señal del estado de nitrógeno.

Sin embargo, en otros ensayos, se ha demostrado que la aplicación exógena de citoquininas reprime la expresión de algunos genes que codifican para la síntesis de algunos transportadores de nitrato, de amonio, de aminoácidos e incluso un gen relacionado a un transportador de urea en *Arabidopsis* (Brenner *et al.*, 2005; Kiba *et al.*, 2005; Sakakibara *et al.*, 2006; Yokoyama *et al.*, 2007).

Por otro lado, Luo *et al.* (2018), realizaron un experimento en trigo, en el que aplicando distintas dosis de nitrógeno y llevando a cabo aplicaciones foliares de benciladenina, concluyeron que una dosis media de fertilización nitrogenada en conjunto con aplicaciones foliares de esta citoquinina puede generar una mayor masa en los granos, debido al retraso de la senescencia en la hoja bandera y a una translocación de materia seca al grano producto de un aumento en las citoquininas endógenas.

La importancia del siguiente estudio radica en que aún existe un vacío de conocimiento con respecto a la relación entre las citoquininas, y en especial la benciladenina, y el posible efecto que tienen sobre la absorción de nitrógeno (Osugi *et al.*, 2017). De hecho, Bangerth (2015), menciona la importancia de seguir realizando investigaciones con respecto a la relación anteriormente mencionada. Por otra parte, en la actualidad la eficiencia en la aplicación de fertilizantes oscila entre un 30% y un 65%, lo que implica una pérdida de entre un 35% a un 70% del fertilizante aplicado. Esto genera que gran parte del fertilizante no es absorbido por la planta y, por ende, queda en el suelo. Además, dada la alta lixiviación del nitrógeno, se tiende a pensar que este puede percolar hasta llegar a las napas freáticas impactando negativamente en el medioambiente, contaminando el agua de consumo humano, el agua de riego y generando eutrofización, entre otros problemas. También, se genera una mayor inversión en gasto de fertilizantes para alcanzar altos rendimientos. Bajo este contexto, el presente estudio es importante para dilucidar el efecto que tiene este regulador de crecimiento, el cual es comúnmente ocupado en las prácticas agrícolas actuales, y que podría estar agravando o bien mitigando los problemas anteriormente mencionados a través de la modificación en la absorción de nitrógeno.

Finalmente, no hay información suficiente para determinar de forma clara, si la aplicación foliar de benciladenina regula del mismo modo la absorción de nitrógeno tanto en forma de amonio

como de nitrato. La elección de esta planta se hizo principalmente por la facilidad de manejo en invernadero.

## **HIPÓTESIS**

La aplicación foliar de benciladenina altera la absorción de nitrato y amonio de manera diferencial en plantas de tomate tipo Cherry.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo general**

Determinar el efecto de aplicaciones foliares de benciladenina sobre la absorción de nitrógeno nítrico y amoniacal y su relación con variables productivas y fisiológicas.

### **Objetivos específicos**

1. Evaluar el efecto de distintas fuentes de N y la aplicación de benciladenina sobre la conductancia estomática de hojas adultas.
2. Determinar el efecto de la fuente nitrogenada y la aplicación de benciladenina en la concentración de clorofila foliar.
3. Evaluar la producción y maduración de fruta a través del tiempo en plantas fertilizadas con diferentes fuentes de N con aplicaciones foliares de benciladenina.
4. Evaluar el crecimiento de las plantas (parte aérea y radical) sometidas a distintas fuentes de N y a la aplicación de benciladenina.
5. Evaluar el efecto de las distintas fuentes de N y la aplicación de benciladenina en la concentración de macro y micro nutrientes en hojas adultas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Ubicación del estudio

El trabajo experimental se llevó a cabo desde septiembre de 2019 hasta enero de 2020, en un invernadero de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile, ubicada en la comuna de La Pintana, Región Metropolitana, Chile. Las mediciones se realizaron en el invernadero, en el Laboratorio de Nutrición Vegetal del Departamento de Producción Agrícola y en el Laboratorio de Química de Suelos y Aguas del Departamento de Ingeniería y Suelos, todos pertenecientes a la misma Facultad.

### Material biológico

Se utilizaron 48 plantas de tomate tipo Cherry, *Lycopersicon esculentum*, provenientes de semillas adquiridas en semillera San Alfonso.

### Tratamientos y diseño experimental

En el experimento se contrastaron 3 dosis de nitrato y 3 dosis de amonio, con o sin aplicación foliar de belciladenina (BA). El detalle de los tratamientos se muestra en el Cuadro 1. Cada tratamiento fue replicado 4 veces, formando 48 unidades experimentales en el experimento. La unidad experimental fue una planta en maceta, mientras que la unidad muestral fueron los frutos, hojas, tallos y raíces. El ensayo se realizó bajo un diseño en bloques completamente aleatorizados con estructura de parcelas divididas, con el factor benciladenina (2 niveles; con y sin BA) definiendo la parcela principal y el factor fertilización nitrogenada (6 niveles; 3 de nitrato y 3 de amonio) generando la subparcela (Apéndice, 1).

Cuadro 1. Detalle de los tratamientos en plantas de tomate Cherry en el ensayo.

Tratamiento	Factor	Factor fertilización	Abreviación
	benciladenina mg L <sup>-1</sup>	nitrogenada g planta <sup>-1</sup>	
T1	0	0,25 NO <sub>3</sub>	025NO
T2	0	0,5 NO <sub>3</sub>	05NO
T3	0	1 NO <sub>3</sub>	1NO
T4	0	0,25 NH <sub>4</sub>	025NH
T5	0	0,5 NH <sub>4</sub>	05NH
T6	0	1 NH <sub>4</sub>	1NH
T7	100 + 100	0,25 NO <sub>3</sub>	025NOBA
T8	100 + 100	0,5 NO <sub>3</sub>	05NOBA
T9	100 + 100	1 NO <sub>3</sub>	1NOBA
T10	100 + 100	0,25 NH <sub>4</sub>	025NHBA
T11	100 + 100	0,5 NH <sub>4</sub>	05NHBA
T12	100 + 100	1 NH <sub>4</sub>	1NHBA

### Manejo del experimento

Inicialmente las semillas de tomate se sembraron en almacigueras en el invernadero. Posteriormente, en estado de tercera hoja, las plantas fueron trasplantadas a macetas y estas a su vez fueron dispuestas sobre mesas en el invernadero. Las macetas eran de polipropileno con un volumen de 2 L. El sustrato utilizado correspondió a un agregado liviano perlítico (HARBORLITE, A-6, Harborlite Chile Ltda.). La temperatura fue regulada a través de una

mallas raschel de sombreamiento, posicionada sobre el invernadero desde el 5 de noviembre hasta el 15 de diciembre. Posterior a esta fecha la malla fue retirada para evitar problemas en la coloración de la fruta.

El riego se realizó de forma manual con una solución nutritiva  $1/2$  Hoagland para todos los tratamientos, compuesta por los siguientes micronutrientes  $4,6 \mu\text{M MnCl}_2$ ;  $0,4 \mu\text{M H}_3\text{BO}_3$ ;  $0,06 \mu\text{M Na}_2\text{MoO}_4$ ;  $0,4 \mu\text{M ZnSO}_4$ ;  $0,19 \mu\text{M CuSO}_4$ ;  $10 \mu\text{M Fe-EDTA}$ . Además, las plantas fertilizadas con nitrato fueron regadas con  $2,5 \text{ mM KNO}_3$ ;  $1 \text{ mM MgSO}_4$ ;  $1 \text{ mM KH}_2\text{PO}_4$ ;  $2,5 \text{ mM Ca(NO}_3)_2$ , mientras que las plantas fertilizadas con amonio fueron regadas con  $3,8 \text{ mM (NH}_4)_2\text{SO}_4$ ;  $1,25 \text{ mM K}_2\text{SO}_4$ ;  $1 \text{ mM MgSO}_4$ ;  $1 \text{ mM KH}_2\text{PO}_4$ ;  $2,5 \text{ mM CaCl}_2$ . Para determinar la frecuencia de riego y la cantidad de agua a reponer a cada maceta, se desarrolló una metodología para estimar la evapotranspiración del cultivo mediante un balance de masas utilizando como referencia la variación del peso en el tiempo de una maceta representativa por cada tratamiento. Para determinar el valor de capacidad de campo de una maceta, que únicamente contenía sustrato, se agregó una masa de agua equivalente al volumen de la maceta para llegar al punto de saturación (todos los poros llenos de agua) y se midió su peso. Posteriormente, en un lugar libre de radiación y a baja temperatura (para reducir al máximo la evaporación directa de agua desde el sustrato), se dejó drenar libremente la maceta y se monitorizó la variación de su peso diariamente. Una vez alcanzado un peso constante, se estableció la capacidad máxima de retención de agua por el sustrato medido como gramos de agua. De esta forma, en cada evento de riego se agregó una cantidad de agua capaz de llevar el peso de la maceta hasta el peso asociado a la capacidad de campo. Adicionalmente, se contó con 14 plantas anexas al ensayo, preparadas en la misma fecha, con el mismo sustrato y regadas bajo las mismas condiciones que las plantas bajo tratamiento, y cada 2 semanas se sacaron 2 plantas para determinar su peso fresco y usar este dato como un factor de ajuste con el cual se aumentaron los gramos asociados a la capacidad de campo del sustrato. Este factor consideró un aumento del peso de la maceta, producto del crecimiento de la planta. Se usó un umbral de riego (UR) de aproximadamente 30%. Posteriormente, se realizaron monitoreos continuos del peso de una maceta por bloque y cuando alguna llegaba al umbral de riego se reponía el agua de las macetas de todas las plantas del ensayo hasta llegar a capacidad de campo.

La cantidad de agua a reponer, en cada riego, se estimó utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{peso a CC (g)} \times \text{UR (\%)} = \text{masa de agua a reponer (g)}^*$$

Donde:

CC: Peso de la maceta a capacidad de campo (g)

UR: Umbral de riego (%)

\*considerando la densidad del agua como  $1 \text{ (g mL}^{-1}\text{)}$

Para la aplicación del nitrógeno, se efectuó una fertilización semanal a través del riego a partir de la segunda semana después del trasplante durante 5 semanas, tomando un receso de 2 semanas sin fertilización. Posterior a estas 2 semanas se reanudó la fertilización durante 5 semanas más, completando así el valor que aparece detallado en el Cuadro 1 para cada tratamiento. La razón de este receso fue que los tratamientos que recibieron la mayor dosis de amonio (1 g), comenzaron a presentar toxicidad. Esta toxicidad fue el motivo para instalar mallas raschel, lo que hizo disminuir la temperatura y así se atenuó el problema. Luego de 2 semanas se decidió reanudar la fertilización porque algunos tratamientos que recibieron la menor dosis de nitrato comenzaron a mostrar síntomas de déficit. Se utilizaron dos soluciones de fertilizante: la primera estaba compuesta por nitrato de potasio ( $\text{KNO}_3$ ) y la segunda solución

estaba compuesta por sulfato de amonio ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) más sulfato de potasio (K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Además, se realizaron 2 aplicaciones foliares del regulador de crecimiento durante la temporada, una en botón floral y la segunda 30 días después. El criterio para definir botón floral fue que todas las plantas tuvieran su primera flor en ese estado. Las aplicaciones de benciladenina (BA) fueron a una concentración de 100 mg L<sup>-1</sup> de ingrediente activo cada una, siendo en total 2 aplicaciones durante el ensayo. El producto comercial fue Cylex (Valent LLC, Cylex, Valent BioSciences LLC) que tiene BA al 2%. A medida que los frutos llegaron a madurez de consumo, fueron cosechados. Para definir este criterio se dispuso de una tabla de colores de elaboración propia (Apéndice, 2), y se cosechó con el valor 3 de la tabla. Se realizaron cosechas cada vez que los frutos llegaban a ese valor durante la semana y el fin de semana, pero siempre como máximo una cosecha diaria, realizando un total de 16 cosechas. Finalmente, en la primera quincena de enero terminó el ensayo en el invernadero (Apéndice, 3).

### **VARIABLES MEDIDAS**

#### **pH de la solución lixiviada.**

Dos semanas después de iniciada la fertilización nitrogenada, se regó con un 20% adicional de agua, para obtener un lixiviado del cual se pudo medir el pH de la solución con un pH-metro de sobremesa (Hanna, HI 111). Para tales efectos se tomó una planta por tratamiento del bloque 4. Dos semanas después de terminado el receso de la fertilización se repitió el procedimiento de medición de pH y se volvió a realizar cada 2 semanas durante 2 periodos más, realizando 3 mediciones después del receso de la fertilización y un total de 4 mediciones durante todo el ensayo (Apéndice, 3).

#### **Conductancia estomática.**

Esta variable se determinó con un porómetro (SCI, Decagon Devices). Las mediciones se realizaron 21 días después de cada aplicación de BA (Apéndice, 3), y se midió en una hoja expuesta al sol por planta, la cual estaba ubicada en el tercio medio. Esto se hizo entre las 9 y 10:30 de la mañana en presencia de malla raschel.

#### **Índice SPAD.**

El valor SPAD, de cada unidad experimental, se determinó a través del promedio de 10 mediciones por planta, desde la tercera hoja basal hacia el ápice, hasta medir 10 hojas. Se realizaron mediciones en tres fechas distintas durante el ensayo para cada tratamiento, las cuales se llevaron a cabo mediante un sensor SPAD portátil (Minolta 502, Kónica Minolta, Osaka, Japón). La primera medición se efectuó 10 días después de la primera aplicación de BA. La segunda medición se realizó a los 30 días de la primera aplicación de BA y la tercera medición se hizo 30 días después de la segunda aplicación de BA (Apéndice, 3).

#### **Fluorescencia de clorofilas.**

Para realizar las mediciones de fluorescencia de clorofilas se utilizó un fluorómetro portátil 7 (Hansatech, FMS2). Estas mediciones se realizaron 21 días después de la segunda aplicación de benciladenina (Apéndice, 3). Para la medición se tomaron 3 hojas de la zona media de cada planta, pero para el análisis estadístico se usó la media de estos tres valores. En estas hojas se midió la relación de fluorescencia variable y fluorescencia máxima (Fv/Fm), como indicador del grado de estrés. Para ello, las hojas fueron previamente adaptadas a la oscuridad por 30 minutos usando pinzas de oscurecimiento.

### **Producción y maduración de fruta a través del tiempo.**

Al momento de la cosecha, se determinó el peso fresco con una balanza de precisión, el diámetro polar y ecuatorial de cada fruto con un pie de metro. Posteriormente, los frutos se secaron en una estufa (THELCO, modelo 28) a 70 °C hasta llegar a peso constante (peso seco). El porcentaje de frutos cosechados por fecha y por planta se obtuvo del número de frutos cosechados por fecha en relación al total de frutos cosechados maduros por cada planta. Los frutos aún inmaduros que existían al momento de finalizar el ensayo y que presentaban un calibre igual o superior a 4,5 g, se cosecharon de igual forma y se contabilizaron en el cálculo de producción total de frutos por planta.

### **Materia fresca y seca de la parte aérea y radical.**

Al finalizar el ensayo, se separaron todas las hojas, tallos y raíces de cada planta y se guardaron en bolsas de papel para determinar el peso fresco por tratamiento. Posteriormente, las muestras fueron secadas en una estufa (THELCO, modelo 28) a 70 °C hasta alcanzar un peso constante. El peso seco de las muestras se determinó con una balanza de precisión.

### **Concentración foliar de macro y micro nutrientes.**

Para determinar esta variable, previo al secado de las hojas destinadas a las mediciones de biomasa, éstas fueron lavadas con una solución compuesta por Tween 20 al 0,1% y HCl al 1% y enjuagadas con agua desionizada. Posteriormente, y luego de las mediciones de biomasa seca, las hojas secas fueron trituradas en un molino y submuestras de ellas (150 mg) fueron sometidas a digestión ácida en 3 mL de ácido nítrico y 2 mL de peróxido de hidrógeno utilizando un autoclave programado a 130 °C con una presión de 1,5 kg cm<sup>-2</sup> durante dos ciclos de 30 minutos. Posteriormente, las muestras fueron filtradas y el líquido resultante de la mineralización fue diluido hasta completar 20 mL con agua desionizada. La lectura de las muestras mineralizadas se realizó mediante un espectrómetro de emisión atómica por plasma de microondas MP-AES 4200 (Agilent Technologies, EEUU), con el cual se determinó la concentración foliar de fósforo (P), potasio (K), calcio (Ca), magnesio (Mg), zinc (Zn), cobre (Cu), hierro (Fe) y manganeso (Mn).

La concentración de N total se determinó mediante la digestión ácida de submuestras de la molienda (0,5 g) con 10 mL de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y 3 ml de peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) con la metodología empleada por Lachica *et al.* (1965), en la cual se utilizó placas calefactoras programadas a 400°C para lograr la destrucción total del carbono orgánico. Una vez terminada la digestión, la solución fue diluida con agua destilada y enrasada hasta completar un volumen de 100 mL. Posteriormente, en un matraz Kjeldahl de 100 mL, se agregaron 10 mL de la muestra diluida, 3 gotas de fenolftaleína al 0,1% y 5 mL de hidróxido de sodio (NaOH) al 60% y se realizó una destilación mediante un destilador manual Behr Labor Technik S1. El proceso se dio por concluido una vez que se alcanzó un volumen de destilado de 30 mL, el cual fue captado en un matraz de 50 mL que previamente contenía 5 mL de solución indicadora de ácido bórico al 2% (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>). Finalmente, la muestra resultante se tituló con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 0,005 N, en donde la cantidad utilizada de éste se empleó para el cálculo del contenido total de N en la muestra.

La fórmula que se utilizó para el cálculo de nitrógeno total fue:

$$N \text{ total}(\%) = \frac{\left( \frac{(V_m - V_b) \times PE \times N \times V_t \times 10^6}{V_a \times \text{peso de la muestra (g)} \times 10^3} \right)}{10.000}$$

Vm: Gasto de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en la muestra (mL)  
 Vb: Gasto de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en blancos (mL)  
 PE: Peso equivalente del N (14)  
 N: Normalidad del H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0,005)  
 Vt: Volumen total del extracto (100 mL)  
 Va: Volumen de la alícuota (10 mL)

### Análisis estadístico

Los resultados fueron analizados a través de modelos lineales mixtos con un 95% de confianza y en los casos que existió interacción significativa o en su defecto los factores estuviesen actuando de manera independiente, se realizaron pruebas de comparaciones múltiples de Fisher. Para esto se utilizó el software estadístico InfoStat.

El modelo estadístico corresponde al siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \gamma_j + \delta_{ij} + b_k + p_{ik} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

$Y_{ijk}$ : respuesta observada en el k-ésimo bloque, i-ésimo nivel del factor principal y j-ésimo nivel de factor asociado a las subparcelas.

$\mu$ : media general de la respuesta

$\tau_i$ : efecto del i-ésimo nivel del factor benciladenina

$\gamma_j$ : efecto del j-ésimo nivel del factor fertilización nitrogenada

$\delta_{ij}$ : efecto de la interacción entre los factores benciladenina y fuente de nitrógeno

$b_k$ : efecto aleatorio de los bloques

$p_{ik}$ : efecto de la parcela dentro de los bloques

$\varepsilon_{ijk}$ : error experimental

Para el caso de la maduración de los frutos en el tiempo, se analizaron a través de un MLGM de respuesta binomial y función de enlace logit, utilizando el mismo software estadístico.

El modelo corresponde a:

$$g(E(y)) = \mu + \tau + s + \tau*s$$

Donde:

$g()$ : función de enlace. Logit

$E(y)$ : Esperanza de la variable respuesta

$\mu$ : media general de la respuesta

$\tau$ : efecto del tratamiento

$s$ : efecto de la semana

$\tau*s$ : efecto de la interacción

## RESULTADOS

### pH de la solución lixiviada

Los resultados obtenidos, indican que las aplicaciones de nitrato mantuvieron el pH de la solución lixiviada en un valor sobre 6, durante el experimento. En contraste, para el caso de los tratamientos con fuente nitrogenada amoniacal, el pH mostró una disminución de 1,6 unidades en promedio entre la primera y la última medición (Figura 1).

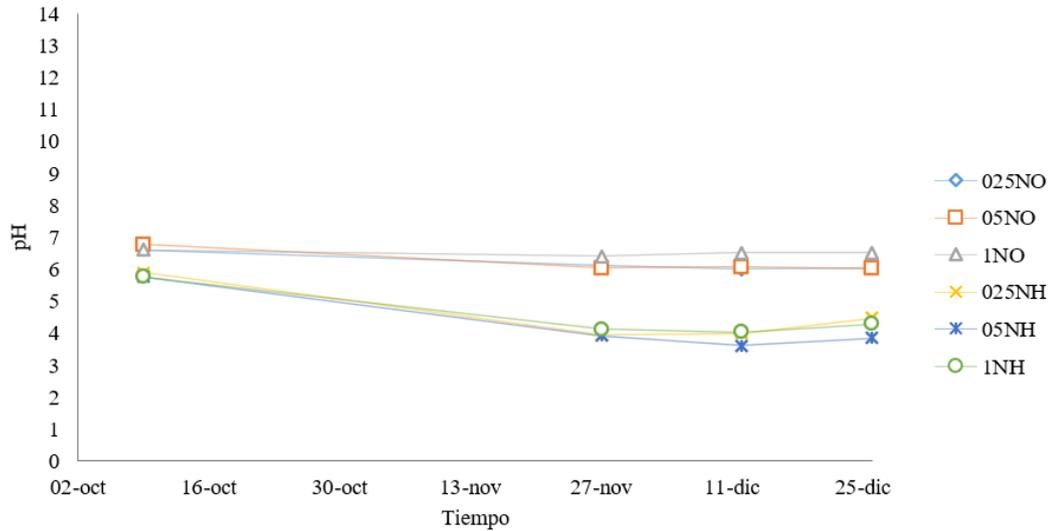


Figura 1. Evolución del pH de la solución lixiviada de macetas con tomates, tratados con diferentes dosis de soluciones nítricas o amoniacales en el tiempo.

### Conductancia estomática

Los resultados obtenidos de la primera medición de conductancia estomática, realizada 21 días después de la primera aplicación de BA, indican que existió un efecto del factor fertilización nitrogenada. Dentro de los tratamientos, la aplicación de amonio en dosis baja (025NH) indujo una conductancia estomática 47,2% mayor que el promedio de los dos tratamientos correspondientes a las mayores dosis de nitrato y amonio, es decir, 1NO y 1NH respectivamente, mientras que los otros tratamientos arrojaron resultados intermedios (Figura 2).

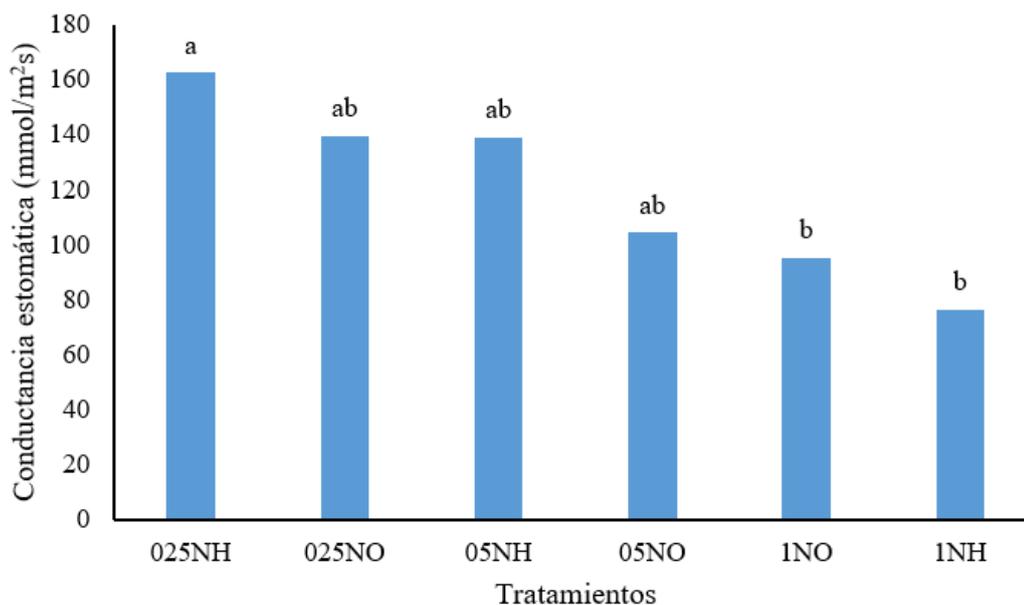


Figura 2. Efecto de la fertilización nitrogenada sobre la conductancia estomática de hojas de tomate, 21 días después de la primera aplicación de BA. Letras distintas indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos según la prueba de LSD Fisher ( $p$ -valor $<0,05$ ).

En relación a los datos de la segunda medición de conductancia estomática, realizada 21 días después de la segunda aplicación de BA, no se observó interacción entre los factores, y tampoco hubo efecto de cada uno actuando de manera independiente (Figura, 3).

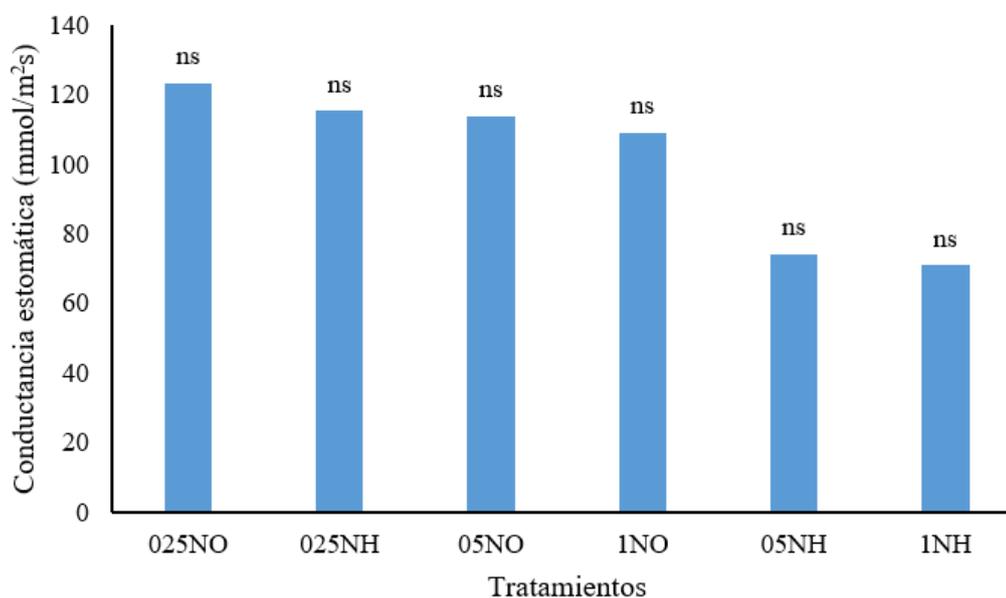


Figura 3. Efecto del factor fertilización nitrogenada sobre la conductancia estomática de hojas de tomate, 21 días después de la segunda aplicación de BA. Letras distintas indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos según la prueba de LSD Fisher ( $p$ -valor $<0,05$ ).

## Valor SPAD

Los resultados relativos al valor SPAD medido 10 días después de la primera aplicación de BA, arrojaron un efecto del factor fertilización nitrogenada, mientras que el factor benciladenina no presentó efecto. La aplicación de 1 g de nitrato (1NO) incrementó el valor SPAD en un 16% en comparación con la mayor dosis de amonio 1NH (Figura 4). Por otro lado, la diferencia entre los tratamientos 1NO y 025NO fue de un 10% (Figura 4). Por su parte, el tratamiento con la mayor dosis de amonio (1NH) redujo en un 15% el valor SPAD respecto de la dosis intermedia (05NH) y la menor dosis (025NH) de amonio (Figura 4).

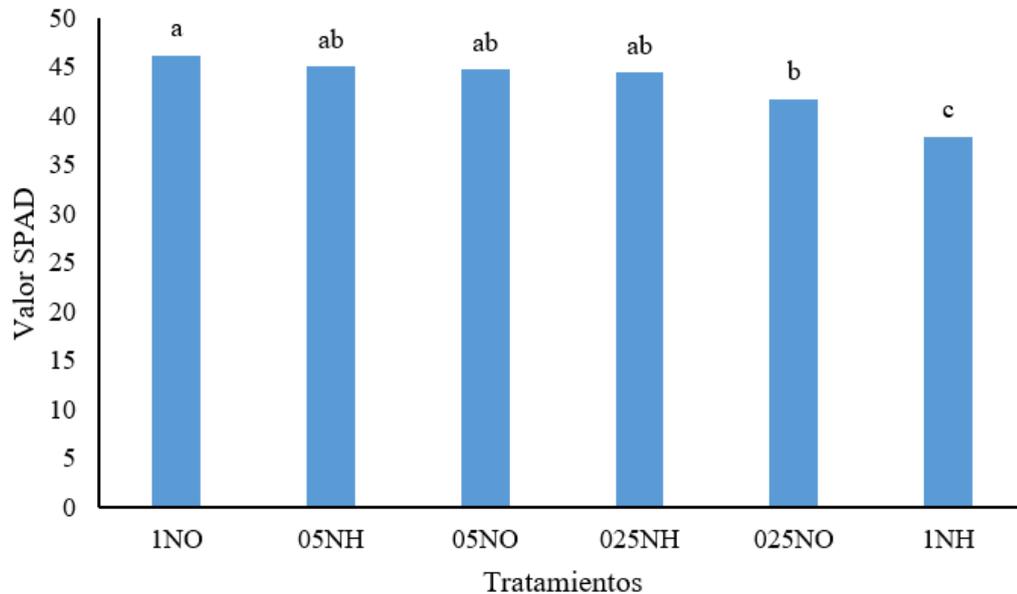


Figura 4. Efecto del factor fertilización nitrogenada sobre el valor SPAD en hojas de tomate, 10 días después de la primera aplicación de BA, tratadas con diferentes dosis y fuentes de nitrógenos. Letras distintas indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos según la prueba de LSD Fisher ( $p$ -valor $<0,05$ ).

El análisis de los valores SPAD de la segunda medición, realizadas 30 días después de la primera aplicación de benciladenina, evidenciaron una interacción entre los factores benciladenina y fuente de nitrógeno. La aplicación de BA en conjunto con la menor dosis de nitrato 025NOBA incrementó el valor SPAD en un 16% en comparación a su contraparte sin benciladenina 025NO (Cuadro 2). Además, la aplicación de BA en conjunto con la aplicación de 1 g de amonio 1NHBA aumentó el valor SPAD en un 23% en comparación con la aplicación de 1 g de amonio sin benciladenina 1NH (Cuadro 2). Por su parte, el tratamiento 1NO aumentó en un 47% en valor SPAD en comparación con el tratamiento 1NH, mientras que el tratamiento 025NH incrementó el valor SPAD en un 16% con respecto al tratamiento 025NO (Cuadro 2).

Cuadro 2. Valor SPAD en hojas de tomates, 30 días después de la primera aplicación de BA, tratados con diferentes dosis y fuentes de nitrógeno.

Tratamientos	Valor SPAD 30 DDPA <sup>1</sup>
1NO	51 a
1NOBA	47 a
05NHBA	42 b
025NHBA	41 b
05NOBA	40 b
05NO	40 bc
05NH	39 bc
025NOBA	37 bc
025NH	37 bc
1NHBA	35 cd
025NO	31 de
1NH	27 e

Letras distintas en sentido vertical indican diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos según la prueba de LSD Fisher (p-valor<0,05).

<sup>1</sup>30 DDPA= 30 días después de la primera aplicación.

Los resultados del análisis de los valores SPAD de la tercera medición, realizadas 30 días después de la segunda aplicación de benciladenina, evidenciaron una interacción entre los factores benciladenina y fuente de nitrógeno. La aplicación de BA en conjunto con la mayor dosis de amonio 1NHBA aumentó el valor SPAD en un 50% en comparación con el tratamiento 1NH (Cuadro 3). En el caso del tratamiento 05NHBA el valor SPAD se incrementó en un 23% en relación con el tratamiento con igual dosis de amonio, pero en ausencia de benciladenina 05NH (Cuadro 3). Por su parte, los tratamientos en base a nitrato 1NO y 05NO aumentaron el valor SPAD en un 65% y 34% en comparación con su contraparte de amonio 1NH y 05NH (Cuadro 3).

Cuadro 3. Valor SPAD en hojas de tomates, 30 días después de la segunda aplicación de BA, tratados con diferentes dosis y fuentes de nitrógeno.

Tratamientos	Valor SPAD 30 DDSA <sup>1</sup>
1NO	48 a
1NOBA	46 ab
05NOBA	43 abc
05NO	41 bcd
025NH	41 bcd
025NHBA	40 bcd
025NOBA	39 bcd
025NO	36 cd
05NHBA	35 d
1NHBA	33 de
05NH	27 e
1NH	17 f

Letras distintas en sentido vertical indican diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos según la prueba de LSD Fisher (p-valor<0,05).

<sup>1</sup>30 DDSA= 30 días después de la segunda aplicación.

## Fluorescencia de clorofilas

El análisis de los datos de fluorescencia de clorofilas evidenció un efecto del factor fertilización nitrogenada mientras que el factor benciladenina no presentó efecto. Los resultados indican que las plantas tratadas con 1NO, respondieron con una mayor relación Fv/Fm en comparación con las plantas tratadas con 1NH, lo que se asocia a un mayor nivel de estrés por daño fotoinhibidor, en las plantas bajo el tratamiento correspondiente a la mayor dosis de amonio (Figura 5). Esta diferencia puede apreciarse visualmente en el Apéndice 4. Por su parte, los tratamientos 025NH y 05NH incrementaron en un 5% la relación Fv/Fm respecto del tratamiento 1NH (Figura 5).

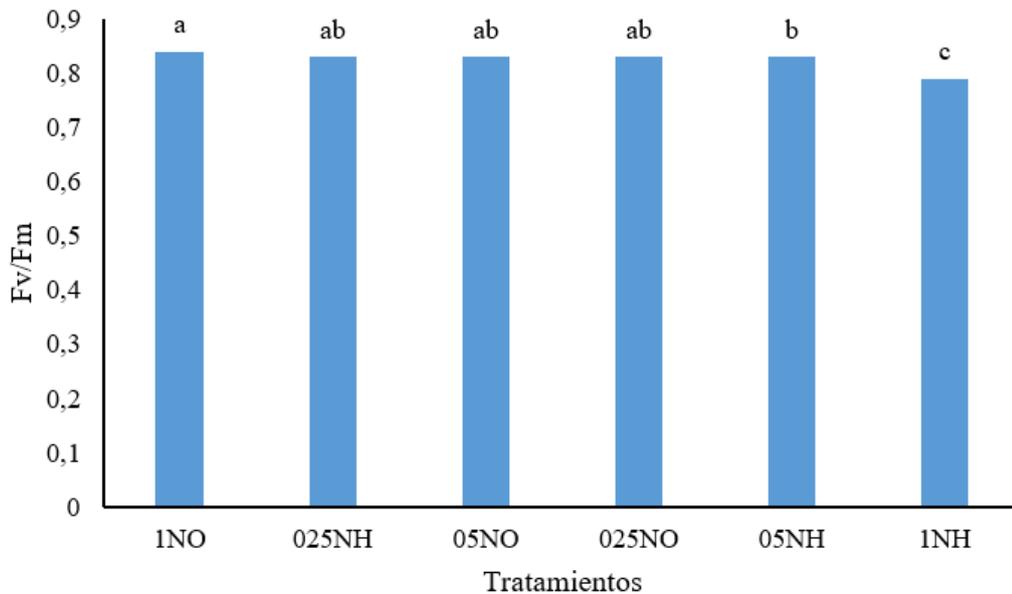


Figura 5. Efecto del factor fertilización nitrogenada sobre la relación Fv/Fm en hojas de tomate, 21 días después de la segunda aplicación de BA, tratados con diferentes dosis y fuentes de nitrógeno. Letras distintas indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos según la prueba de LSD Fisher ( $p$ -valor < 0,05).

## Producción y maduración de fruta a través del tiempo

Durante el experimento, no se observaron interacciones entre el factor benciladenina y el factor fertilización nitrogenada, ni efecto de cada uno de ellos actuando por separado sobre la maduración de la fruta a través del tiempo (Figura 6). Por otro lado, la mayoría de las variables medidas a los frutos, vale decir, materia fresca, materia seca y diámetro ecuatorial se vieron afectados por el factor fertilización nitrogenada pero no por el factor benciladenina.

En el caso de la materia fresca, el tratamiento que arrojó los mayores valores fue el que contenía la menor dosis de nitrógeno en forma de nitrato (025NO), llegando a pesar en promedio 5,4 g más que los tratamientos correspondientes a 025NH y 05NH, lo que significa que el tratamiento 025NO acumuló un 40,4% más de materia fresca (Cuadro 4). Con respecto a la materia seca, los tratamientos 025NO y 05NO acumularon en promedio 0,39 g más que los tratamientos 025NH y 05NH, lo que implica un 33,5% más de materia seca (Cuadro 4).

Para el caso del diámetro ecuatorial el tratamiento 025NO llegó a medir en promedio 4,5 mm más que los tratamientos 1NO, 025NH y 05NH, lo que equivale a frutos un 15,5% más grandes (Cuadro 4). El tratamiento con la mayor dosis de nitrógeno, en forma de amonio (1NH), no

pudo ser evaluado en ninguna de estas variables debido a que resultó ser altamente tóxico para las plantas, impidiendo la producción de fruta y causando la muerte de varias plantas.

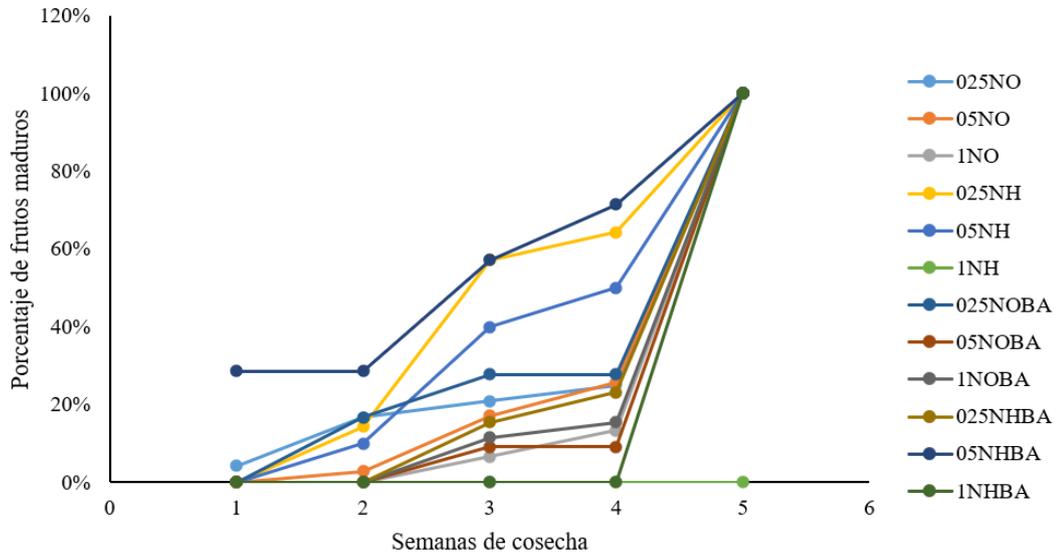


Figura 6. Evolución de la maduración de frutos de tomate, para cada tratamiento.

Cuadro 4. Materia fresca, materia seca y diámetro ecuatorial de frutos de tomate sometidos a distintas fuentes y dosis de nitrógeno.

Factor fertilización nitrogenada	Materia fresca	Materia seca	Diámetro ecuatorial
	g	g	mm
025NO	13,44 a	1,17 a	29,34 a
05NO	10,90 b	1,13 ab	26,79 b
1NO	9,42 bc	0,99 bc	25,46 bc
025NH	8,62 cd	0,83 cd	25,29 bc
05NH	7,41 d	0,70 d	23,67 c

Letras distintas en sentido vertical indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, según la prueba de LSD Fisher ( $p$ -valor $<0,05$ ).

El análisis de los resultados arrojó una interacción entre el factor benciladenina y el factor fertilización nitrogenada en la variable diámetro polar de los frutos. Dentro de los tratamientos, la diferencia más destacable fue la existente entre el tratamiento 025NOBA y el tratamiento 05NH, obteniendo el primero un incremento en un 20% en la longitud de los frutos (Figura 7).

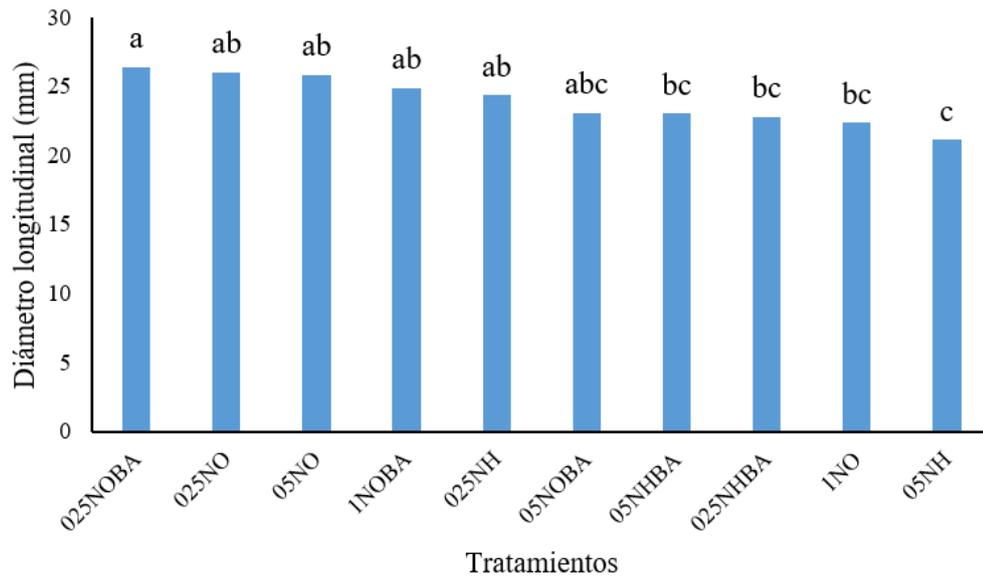


Figura 7. Efecto de la aplicación de BA y diferentes dosis y fuentes de nitrógeno en el diámetro polar de frutos de tomate. Letras distintas indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos según la prueba de LSD Fisher ( $p$ -valor $<0,05$ ).

### Materia fresca y seca de la parte aérea y radical

Durante el ensayo se observaron efectos del factor fertilización nitrogenada, siendo el tratamiento 1NO, el que logró una mayor acumulación de materia fresca (MF) y seca (MS) en cada órgano y, por ende, de peso total por planta (Cuadro 5). No hubo efecto del factor benciladenina. Para el caso específico de la MF de hojas, tallos, raíces y total, el tratamiento 1NO obtuvo en promedio un 77,5%, 76,7%, 87,5% y 79,2% más de MF, respectivamente, por sobre los tratamientos de fuente amoniacal (025NH, 05NH y 1NH) (Cuadro 5). Se presentó una tendencia similar en el caso de la MS de hojas, donde se obtuvo una diferencia de un 56,8% entre el tratamiento 1NO y los tratamientos anteriormente mencionados. En el caso de la MS de tallos, el tratamiento 1NH acumuló en promedio 11,2 g menos que el tratamiento 1NO, es decir, acumuló un 67,7% menos de MS (Cuadro 5). Mientras que en la MS de raíces el tratamiento 1NO logró acumular en promedio 4,9 g más o bien un 70,6% extra de MS que los tratamientos 025NO, 025NH, 05NH y 1NH. Finalmente, para la MS total, el tratamiento 1NO llegó a tener 24,3 g más o bien un 66,6% más de MS total que los tratamientos correspondientes a las dosis intermedia y dosis completa de amonio (Cuadro 5).

Cuadro 5. Efecto de distintas fuentes y dosis de nitrógeno sobre la acumulación de materia fresca (MF) y seca (MS) en distintos órganos de plantas de tomate.

Factor fertilización nitrogenada	MF	MS	MF	MS	MF	MS	MF total	MS total	
	hojas	hojas	tallos	tallos	raíces	raíces			
	g								
1NO	67,5 a	13,0 a	64,2 a	16,6 a	34,4 a	7,0 a	166,1 a	36,5 a	
05NO	44,7 b	10,4 b	48,9 b	14,0 b	12,5 b	3,7 b	106,0 b	28,1 b	
025NO	23,9 c	7,4 c	25,8 c	9,0 c	7,0 c	3,3 bc	55,8 c	18,4 c	
025NH	16,2 cd	6,0 d	18,8 cd	7,2 cd	5,5 cd	1,9 c	40,5 d	15,1 d	
05NH	14,6 d	5,5 d	13,2 d	5,9 d	5,2 cd	1,9 c	32,9 d	12,6 e	
1NH	14,7 d	5,3 d	13,0 d	5,4 e	2,2 d	1,1 c	30,2 d	11,8 e	

Letras distintas en sentido vertical indican diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos según la prueba de LSD Fisher ( $p$ -valor $<0,05$ ).

### Concentración foliar de macro y micronutrientes

Los resultados relativos a la concentración de nitrógeno total en las hojas indican que existió efecto del factor fertilización nitrogenada, no obstante, no hubo efecto del factor benciladenina. Respecto del primero, la mayor dosis de amonio obtuvo la media más alta, alcanzando un 55% más que la dosis más alta de nitrato (Figura 8). Consecutivamente, la dosis intermedia de amonio (05NH) obtuvo un 29% y 51% más que la media de los tratamientos 1NO y 05NO, respectivamente (Figura 8). Por su parte, los tratamientos correspondientes a la menor dosis de amonio también se diferenciaron de los tratamientos de la menor dosis de nitrato, alcanzando en promedio un 38% más de nitrógeno (Figura 8).

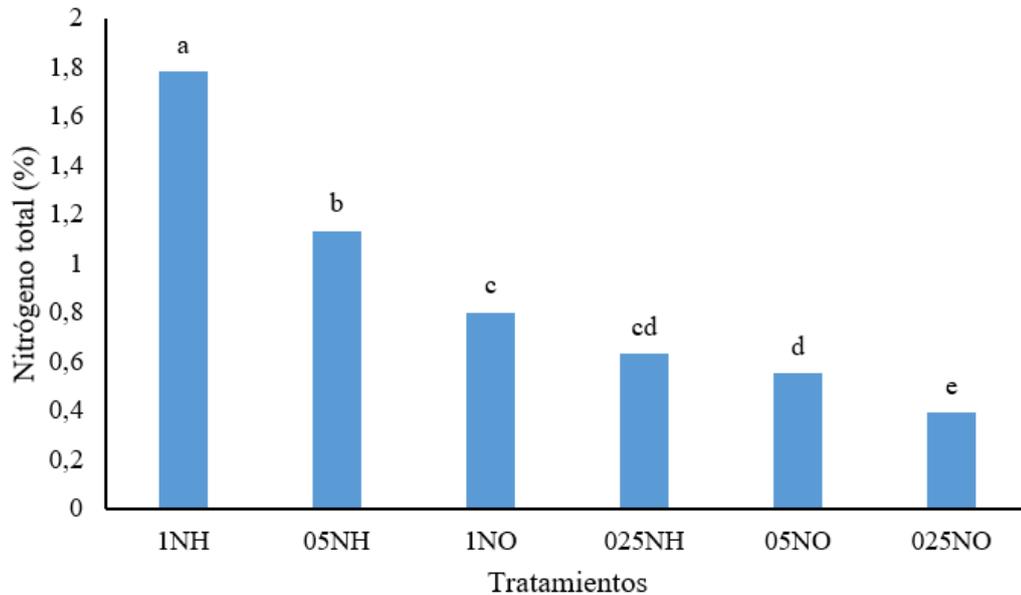


Figura 8. Efecto del factor fertilización nitrogenada sobre la concentración de nitrógeno en hojas de tomate, tratados con BA y fertilizados con diferentes dosis y fuentes de nitrógeno. Letras distintas indican diferencias estadísticas significativas entre tratamiento según la prueba de LSD Fisher ( $p$ -valor $<0,05$ ).

Respecto a los resultados de los otros nutrientes, tres macronutrientes (fósforo, calcio y magnesio) y un micronutriente (manganeso) presentaron interacción entre el factor fertilización nitrogenada y el factor benciladenina. Respecto de la concentración foliar de fósforo, esta fue significativamente mayor en los tratamientos correspondientes a la mayor y menor dosis de amonio, ambos sin benciladenina (1NH y 025NH), por sobre los tratamientos con iguales dosis y fuente de nitrógeno, pero con benciladenina (1NHBA y 025NHBA) (Cuadro 6). Para el caso de los tres niveles de nitrato sin benciladenina (025NO, 05NO y 1NO), las medias de sus tratamientos no presentaron diferencias estadísticamente significativas a su contraparte con benciladenina (025NOBA, 05NOBA y 1NOBA) (Cuadro 6).

Para el caso del calcio, las plantas tratadas con la dosis intermedia de amonio y sin benciladenina presentaron una significativa mayor concentración del elemento en sus hojas respecto de las plantas tratadas con la misma dosis de amonio, pero con benciladenina, alcanzando en el primer caso una media un 59% mayor, es decir, más del doble (Cuadro 6). El resto de los tratamientos sin benciladenina no arrojaron diferencias estadísticas significativas respecto de su contraparte a la cual si se le aplicó el regulador de crecimiento (Cuadro 6).

Los resultados de la concentración foliar de manganeso demostraron que este elemento tuvo un comportamiento similar al calcio, puesto que sólo las plantas tratadas con la dosis intermedia de amonio y sin benciladenina, presentaron una media que fue significativamente mayor a los tratamientos con dosis intermedia de amonio y benciladenina, llegando a tener una diferencia entre sus medias de un 66% (Cuadro 6). Mientras que los demás tratamientos sin benciladenina no mostraron diferencias significativas a su contraparte con benciladenina, independientemente de la forma de nitrógeno (Cuadro 6).

Los tratamientos 025NH y 05NH indujeron una mayor concentración foliar de magnesio en las hojas de las plantas de tomate Cherry en comparación a los tratamientos 025NHBA y 05NHBA (Cuadro 6). No obstante, se observó la situación opuesta en el tratamiento con la mayor dosis de amonio sin benciladenina (1NH) donde se generó una significativa menor concentración de magnesio respecto de las plantas tratadas con la misma dosis de amonio, pero con benciladenina (1NHBA) (Cuadro 6). Por su parte, las plantas tratadas con distintos niveles de nitrato y sin benciladenina, no presentaron diferencias estadísticas significativas a las plantas tratadas con nitrato y con benciladenina, independientemente de la dosis a comparar (Cuadro 6).

Cuadro 6. Concentración de fósforo (P), calcio (Ca), magnesio (Mg) y manganeso (Mn) en hojas de tomate, tratados con BA y fertilizados con diferentes dosis y fuentes de nitrógeno.

Tratamientos	P		Ca		Mg		Mn	
		%		%		%		mg kg <sup>-1</sup>
025NO	0,41	e	4,27	a	0,81	c	181,82	cd
05NO	0,31	ef	2,77	bc	0,89	c	90,43	ef
1NO	0,20	f	2,21	cd	0,96	c	25,12	g
025NH	1,07	bc	3,44	abc	1,26	b	484,89	ab
05NH	1,48	a	3,92	ab	1,50	a	615,43	a
1NH	1,12	ab	0,78	e	0,45	e	95,82	ef
025NOBA	0,36	ef	3,58	abc	0,82	c	158,16	cde
05NOBA	0,23	ef	2,48	c	0,78	c	77,69	fg
1NOBA	0,19	f	2,22	cd	0,95	c	21,93	g
025NHBA	0,71	d	2,16	cd	0,78	c	348,88	b
05NHBA	1,10	abc	1,59	d	0,84	c	211,20	c
1NHBA	0,91	c	0,76	e	0,50	d	134,79	def

Letras distintas en sentido vertical indican diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos según la prueba de LSD Fisher ( $p$ -valor<0,05).

El análisis estadístico evidenció que, a diferencia del factor benciladenina, el factor fertilización nitrogenada presentó efecto sobre la concentración foliar de potasio y los micronutrientes zinc, hierro, cobre y boro (Cuadro 7). Para el caso específico del potasio, se pudo observar que las plantas tratadas con las mismas dosis de nitrógeno, pero proveniente de distinta fuente, presentaron diferencias estadísticas significativas (Cuadro 7). También, se presentaron diferencias significativas entre las dosis provenientes de una misma fuente, mostrando un aumento en las medias a medida que se aumentaba la dosis de nitrógeno (Cuadro 7).

Al finalizar el ensayo se pudo observar que, respecto a la concentración foliar de zinc, no se presentaron diferencias significativas dentro de las dosis de una misma fuente de nitrógeno, sin embargo, las dosis intermedia y mayor de amonio indujeron una significativa mayor concentración de zinc en las hojas, respecto de las dosis intermedia y mayor de nitrato (Cuadro 7).

En el caso del hierro se manifestó una mayor concentración foliar en las plantas tratadas con la menor dosis de amonio, alcanzando una media un 25% mayor que la de las plantas tratadas con la menor dosis de nitrato. Respecto a las dosis intermedia y mayor de amonio, no presentaron diferencias estadísticamente significativas con las dosis intermedia y mayor de nitrato (Cuadro 7).

En relación a la concentración foliar de cobre, las plantas tratadas con la menor y mayor dosis de amonio presentaron unas medias significativamente mayores a las plantas tratadas con las mismas dosis, pero de fuente nítrica, alcanzando un 28% y 38% más en los tratamientos 025NH y 1NH, respectivamente (Cuadro 7). Por su parte, la dosis intermedia de nitrógeno no presentó diferencias significativas entre distintas fuentes del macroelemento (Cuadro 7).

Con respecto al boro, no se presentó una diferencia significativa entre las mismas dosis de nitrógeno provenientes de distintas fuentes (Cuadro 7). Sin embargo, dentro de las dosis de nitrógeno nítrico, se presentaron diferencias significativas. En este contexto, el tratamiento 025NO superó en un 29% y 48% a los tratamientos 05NO y 1NO, respectivamente (Cuadro 7). Una tendencia similar se observó en el caso de las dosis de amonio, en donde las plantas tratadas con las dosis intermedia y menor de amonio obtuvieron medias significativamente mayores a las plantas tratadas con la mayor dosis de amonio, logrando en promedio un 38% más de concentración de boro en las hojas (Cuadro 7).

Cuadro 7. Concentración de potasio (K), zinc (Zn), hierro (Fe), cobre (Cu) y boro (B) en hojas de tomate, tratados con BA y fertilizados con diferentes dosis y fuentes de nitrógeno.

Tratamientos	K	Zn	Fe	Cu	B
	%	mg kg <sup>-1</sup>	mg kg <sup>-1</sup>	mg kg <sup>-1</sup>	mg kg <sup>-1</sup>
025NO	1,85 d	30,37 bc	227,77 b	4,32 c	187,20 a
05NO	3,02 c	25,34 c	270,98 ab	5,45 bc	133,24 b
1NO	5,91 b	28,00 c	165,46 b	6,82 b	98,07 c
025NH	3,19 c	38,95 ab	305,20 a	5,96 b	181,84 a
05NH	6,85 b	48,43 a	165,43 b	5,81 bc	150,64 ab
1NH	8,50 a	48,24 a	169,41 b	11,05 a	103,89 c

Letras distintas en sentido vertical indican diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos según la prueba de LSD Fisher (p-valor<0,05).

## DISCUSIÓN

Las diferentes dosis, dentro de una misma fuente nitrogenada, no presentaron grandes variaciones entre sí, en el pH de la solución lixiviada en el tiempo (Figura 1). Sin embargo, entre las dos fuentes de nitrógeno, hubo una gran variación en el pH de la solución lixiviada en el tiempo. Para el caso del amonio, se produjo un notable efecto acidificante, lo cual se debe a que el amonio ingresa a la célula mediante un intercambio con protones y esto acidifica la rizósfera (Britto y Kronzucker, 2002). Además, las bacterias nitrificantes en el sustrato transforman el amonio a nitrato y posteriormente a nitrito, proceso mediante el cual se liberan protones, aportando a la acidificación de la rizósfera (Coskun *et al.*, 2017). No obstante, este último proceso es poco probable debido a que se usó sustrato inerte en el ensayo, por lo que, de haber acaecido, aportó a la acidificación en menor medida.

En el caso del nitrato, se generó una ligera acidificación del medio, lo cual es inconsistente con lo reportado por Britto y Kronzucker (2002), quienes mencionan que al fertilizar con nitrato se produce un efecto alcalinizante. No obstante, posiblemente la ligera acidificación presentada se deba al constante riego con la solución rica en micronutrientes.

En relación con la conductancia estomática, no se presentó efecto del factor benciladenina en ninguna de las mediciones realizadas (Figura 2 y 3), no obstante, Hansen y Dörffling (2003), reportaron que otra forma de citoquinina (trans-zeatina ribosido) aplicada en girasol, mejora la apertura estomática frente a estrés hídrico, antagonizando el efecto del ácido abscísico. Además, Hu *et al.* (2013), realizaron un ensayo en el cual aplicaron benciladenina y potasio en gramíneas (*Poa pratensis* L.) y concluyeron que ambos promovían la reapertura estomática después del cierre inducido por la sequía. Esto indicaría que las citoquininas no tienen un efecto significativo en la apertura estomática cuando las plantas no se encuentran bajo estrés hídrico. Otra posible explicación, es que la medición se debió haber realizado más cerca de la aplicación de BA para poder ver un efecto cuantificable, dado la posible degradación de la molécula de BA, a nivel celular, en el tiempo.

Por otro lado, se presentó una relación inversamente proporcional entre la dosis de nitrógeno aplicada y la conductancia estomática (Figura 2). No obstante, Gatabazi *et al.* (2019), trabajando con dos especies de jengibre y realizando un análisis de microscopía electrónica de barrido, concluyeron que un nivel más alto de nitrógeno aumentaba el número de estomas abiertos. Sin embargo, sus resultados no mostraron una diferencia en el número de estomas producto de los distintos niveles de nitrógeno. Esto ayuda a explicar los resultados obtenidos en este ensayo para el caso específico de las dosis de nitrato, puesto que las plantas de tomate Cherry, al aumentar el tamaño de sus hojas, probablemente dispersaron sus estomas, reduciendo el número de estomas por unidad de superficie, lo que genera un menor valor al realizar la medición en las plantas más grandes (Figura 2).

Los resultados de la primera medición con SPAD, realizada 10 días después de la primera aplicación de BA (Figura 4), no presentaron interacción entre el factor benciladenina y el factor fertilización nitrogenada, lo que probablemente se deba a que no transcurrió el tiempo necesario, desde la aplicación del regulador de crecimiento, para que este generara un efecto cuantificable. Está hipótesis se basa en que la segunda y tercera medición del valor SPAD en hojas, sí presentaron interacción entre el factor benciladenina y factor fertilización nitrogenada. Cabe mencionar que estas mediciones fueron realizadas 30 días después de la primera y segunda aplicación de BA, respectivamente (Cuadros 2 y 3).

Dentro de los resultados obtenidos de la primera medición con SPAD, al comparar las dosis intermedias y menores de distintas fuentes nitrogenadas, no aparecen diferencias significativas (Figura 4), lo cual concuerda con los resultados encontrados por Horchani *et al.* (2010), quienes compararon la respuesta de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L. cv. Rio Grande) a dos formas de nitrógeno (amonio y nitrato) y cuatro niveles por cada forma química.

En relación a las plantas tratadas con la mayor dosis de nitrato, alcanzaron la media significativamente más alta de valor SPAD dentro de todos los tratamientos (Figura 4), lo cual era esperable dada la correlación lineal que existe entre la concentración de clorofila y el nitrógeno (Bondada y Syvertsen, 2003). Por otro lado, el tratamiento con la mayor dosis de amonio obtuvo en promedio el menor valor SPAD (Figura 4), lo que se atribuye a la toxicidad que presentó esta forma de nitrógeno en las plantas, que pudo ser observada a lo largo del ensayo a través de una reducción del crecimiento, necrosis en el borde de las hojas y una clorosis generalizada (Apéndice, 4).

Los datos de la segunda y tercera medición del valor SPAD en hojas, evidenciaron que las plantas bajo los tratamientos 1NHBA y 05NHBA obtuvieron medias más altas que su contraparte sin BA, 1NH y 05NH (Cuadro 2 y 3), lo que indica un efecto positivo del regulador de crecimiento sobre degradación de la clorofila, frente a la toxicidad progresiva generada por el amonio bajo las condiciones del ensayo (Cuadro 2 y 3). Al respecto, Igarashi *et al.* (2009), mencionan que existe relación entre las citoquininas y los genes de glutamato deshidrogenasa, vale decir, la enzima glutamato deshidrogenasa está mediada por citoquininas. También, es importante mencionar que esta enzima está encargada de asimilar o de liberar amonio bajo ciertas condiciones de estrés, como lo es la toxicidad producida por amonio (Horchani *et al.*, 2010; Xian *et al.*, 2020). Sumado a lo anterior, Bangerth (2015), menciona el efecto de las citoquininas en el retraso de la degradación de clorofila.

La medición realizada con fluorómetro permitió cuantificar el nivel de estrés de las plantas de cada tratamiento, identificando significativamente al tratamiento 1NH con el valor Fv/Fm más bajo, lo que implica un mayor nivel de estrés por daño fotoinhibidor (Figura 5). A pesar de ello, pareciera que el fluorómetro no detectó de manera lo suficientemente precisa o fidedigna el nivel de estrés de las plantas, puesto que las plantas correspondientes al tratamiento 1NH se veían en un estado bastante perjudicado en comparación con los demás tratamientos, en especial con el tratamiento 1NO (Apéndice, 4). De hecho, las medias de todos los tratamientos se encuentran dentro del rango óptimo (0,79 a 0,84) para muchas especies de plantas (Maxwell y Johnson, 2000). Una posible explicación, es que el rango óptimo para las plantas de tomate sea más acotado que el planteado por Maxwell y Johnson (2000). Otro factor que se debe considerar es que el estrés sufrido por las plantas fue un estrés por amonio, mientras que el fluorómetro realiza una medición de un estrés diferente, generado por daño fotoinhibidor.

Durante el ensayo fue posible observar que la relación entre tamaño de fruto y dosis de nitrato, fue inversamente proporcional, vale decir los frutos de mayor tamaño y materia seca fueron los de la dosis más baja de nitrato (Cuadro 4). Lo cual probablemente se debió a que al aumentar la dosis de nitrato también aumentó el número de frutos producidos (Apéndice, 5). Para el caso de las plantas tratadas con amonio, se obtuvieron los frutos de menor tamaño y también un menor número (Cuadro 4; Apéndice, 5).

Por otra parte, durante el experimento se pudo observar una relación directamente proporcional entre la dosis de nitrato y la acumulación de materia fresca y seca de distintos órganos de las plantas de tomate Cherry (Cuadro 5). Mientras que en el caso de las dosis de amonio se produjo

una acumulación de materia fresca y seca significativamente menor a la generada por los tratamientos en base a nitrato, tal como lo reportaron Bialczyk *et al.* (2004), quienes trabajaron con plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en hidroponía.

Es posible que este comportamiento observado en el crecimiento de las plantas y frutos tratados con amonio (Cuadro 4 y 5), se haya debido al efecto tóxico y progresivo que causó esta forma química en las plantas a lo largo del ensayo. Esta toxicidad acaeció y se agravó debido a distintos factores. Primeramente, existieron altas temperaturas en el invernadero durante el ensayo (Apéndice, 6), lo que provocó un aumento de la absorción de amonio, intensificando los efectos de la toxicidad (Morot-Gaudry, 2001). Sumado a esto, Magalhaes y Huber (1989), reportaron que el tomate es una especie sensible a la toxicidad por amonio y que la acidificación del pH del sustrato, es un factor agravante de la toxicidad. Además, está reportado que la toxicidad por amonio se produce cuando esta es la única fuente de nitrógeno disponible para las plantas y/o cuando es aplicado en exceso (Britto y Kronzucker, 2002). Adicionalmente a todo lo anterior, probablemente existió una escasa o nula presencia de microorganismos que transformaran el amonio a nitrito y posteriormente a nitrato (Coskun *et al.*, 2017), puesto que para este ensayo se utilizó un sustrato inerte.

Por otro lado, a pesar de que las citoquininas son un grupo de fitohormonas que se relacionan estrechamente con el ciclo del nitrógeno dentro de la planta (Takei *et al.*, 2004; Dluzniewska *et al.*, 2006; Sakakibara *et al.*, 2006), la aplicación foliar de BA no presentó efecto sobre la concentración foliar de nitrógeno (Figura 8). Esto podría atribuirse a que esta fitohormona se sintetiza naturalmente en la parte aérea de las plantas y no en la parte radical (Gu *et al.*, 2018), por lo que no tiene efecto directo sobre la absorción de nitrógeno, como sí lo tienen otras citoquininas que se sintetizan en las raíces, como lo son las trans-zeatina (tZ). Esto sería consistente con lo planteado por Kiba *et al.* (2011), quienes mencionan que las citoquininas producidas en los brotes no deben tener efecto sobre los transportadores de nitrato en su función de absorción desde el suelo, sino más bien mejoran la traslocación y distribución del nitrato dentro de la planta.

Por su parte, la fertilización nitrogenada presentó una relación directamente proporcional con la concentración foliar de nitrógeno (Figura 8), y más específicamente se apreció que los niveles de nitrato presentaron una menor concentración de nitrógeno foliar respecto de su contraparte de amonio, lo cual se puede explicar por un efecto de dilución, provocado por los distintos crecimientos que presentaron las plantas tratadas con distintas fuentes nitrogenadas (Apéndice, 7).

La concentración foliar de fósforo se vio favorecida en dos de los tres tratamientos de fertilización amoniaca sin BA por sobre los tratamientos con la misma dosis y fuente de nitrógeno y con BA (Cuadro 6). En relación a esto, distintos autores han expuesto que las citoquininas inhiben la señal de déficit de fósforo, así como la aplicación exógena de esta fitohormona regula negativamente la expresión de distintos genes sensibles al déficit de fósforo en *Arabidopsis* (Martín *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 2006). Por otra parte, Hirose *et al.* (2008) mencionan que la aplicación de citoquininas reprime transportadores de fosfato en *Arabidopsis*.

También, la concentración foliar de fósforo se vio favorecida en los tratamientos de fertilización amoniaca por sobre los tratamientos de fertilización nítrica, en presencia y ausencia de BA (Cuadro 6). Este fenómeno se produce en consecuencia a la absorción de amonio, dado que en este proceso se liberan protones a la rizósfera, generando una acidificación de esta y, por consiguiente, un aumento en la disponibilidad de fósforo (Figura 1) (Jing *et al.*, 2010).

Por otro lado, pareciera existir una tendencia a una relación inversamente proporcional entre la concentración foliar de fósforo y la dosis de nitrato aplicada (Cuadro 6). Sin embargo, en el Apéndice 8 se puede observar que la absorción de fósforo fue modulada por el pH de la rizósfera, siendo los tratamientos con el pH más ácido los que presentaron el mayor contenido foliar de fósforo.

Dentro de las tres dosis de amonio, la dosis intermedia sin BA obtuvo una significativa mayor concentración foliar de calcio, respecto de su contraparte con BA (Cuadro 6). Un caso similar fue reportado por Hasanaklou *et al.* (2020), quienes aplicando amonio en presencia y ausencia de BA a plantas de *Stevia rebaudiana* Bertoni obtuvieron una mayor concentración foliar de calcio en las plantas tratadas sin BA. No obstante, en este ensayo no se encontraron diferencias significativas entre dosis de nitrato con y sin BA (Cuadro 6), mientras que, Hasanaklou *et al.* (2020), sí encontraron diferencias significativas, alcanzando una mayor concentración de calcio en plantas tratadas sin BA por sobre las tratadas con el regulador de crecimiento.

También, se observó una disminución en la concentración foliar de calcio al aumentar la dosis de nitrato (Cuadro 6), lo que probablemente se deba a que al aumentar la dosis de nitrato conjuntamente se aumentó la dosis de potasio, y la competencia entre el potasio y el calcio provocó un desplazamiento de este último catión (Mengel y Kirkby, 2000).

Con respecto a la relación que existe entre las citoquininas y su efecto sobre la concentración foliar de magnesio y manganeso, no hay suficientes investigaciones en torno a esto, pero lo observado en este ensayo indicaría que la BA aplicada en conjunto con ciertas dosis de amonio, provoca una disminución de la absorción de estos elementos (Cuadro 6). A partir de esto, se puede hipotetizar que la BA, en una elevada concentración interna de la planta, actúa como una señal de saciedad reprimiendo la absorción de magnesio y manganeso, así como lo hace para otros elementos como nitrato, amonio, fosfato, sulfato, hierro, entre otros (Sakakibara *et al.*, 2006; Seguela *et al.*, 2008). Otra posible explicación, corresponde a que los fertilizantes de magnesio y manganeso estaban acompañados por sulfato como ion secundario, y la absorción de este elemento es reducida con la aplicación exógena de citoquininas (Hirose *et al.*, 2008), lo cual podría afectar a su vez la absorción del magnesio y el manganeso.

Adicionalmente, la concentración foliar de magnesio fue significativamente mayor para la dosis menor e intermedia de amonio en comparación con las mismas dosis de fuente nítrica, ambos sin BA (Cuadro 6). No obstante, en el Apéndice 9 se muestra que no hay diferencias estadísticas significativas entre la dosis menor e intermedia de amonio y su contraparte nítrica. Este comportamiento es completamente contrario a lo esperado, puesto que está documentado que, por una parte, el nitrato favorece la absorción de magnesio, mientras que, el amonio compete con el Mg por ser iones con la misma carga pero, además, el Mg se hace menos disponible a pH más ácidos (Figura 1) (Mengel y Kirkby, 2000; Guo *et al.*, 2016). Por lo tanto, posiblemente la cantidad de amonio aplicado en las primeras dos dosis no fue lo suficientemente alta como para generar competencia, no así en el caso de la dosis intermedia y alta.

Para el caso del manganeso, se presentó una relación inversamente proporcional entre la concentración foliar del microelemento y la dosis de nitrato aplicada, lo que probablemente se deba a la competencia con el potasio (Cuadro 6) (Mengel y Kirkby, 2000). Por otra parte, las plantas tratadas con amonio indujeron una mayor concentración foliar de Mn que las plantas tratadas con nitrato, lo que se podría explicar por el efecto acidificante del amonio, puesto que el manganeso aumenta su disponibilidad a pH más ácido (Figura 1) (Crisóstomo *et al.*, 2014).

Otro efecto interesante, es que la BA sólo produjo diferencias significativas en la concentración foliar de los elementos de las plantas tratadas con amonio, mientras que, las plantas tratadas con nitrato no presentaron diferencias significativas, independientemente de la presencia o ausencia del regulador de crecimiento (Cuadro 6). Esto podría sugerir que el nitrato desempeñó un papel antagonico al regulador de crecimiento, respecto de la absorción de los elementos observados en el Cuadro 6, o bien, podría significar que el regulador de crecimiento funciona ante situaciones de estrés.

La concentración foliar de potasio presentó una relación directamente proporcional a la dosis de nitrógeno aplicado, independientemente de la fuente (Cuadro 7). Esto se debe a que el fertilizante nítrico usado en el ensayo correspondió a nitrato de potasio, por lo tanto, al aumentar la dosis de nitrógeno también aumentó la dosis de potasio. Para el caso del amonio, si bien se fertilizó con sulfato de amonio, la dosis de potasio aplicada se igualó a la dosis aplicada en los niveles de nitrato utilizando sulfato de potasio. Por otra parte, las plantas tratadas con dosis de amonio indujeron una significativa mayor concentración foliar de potasio que las plantas tratadas con nitrato (Cuadro 7). No obstante, Nieves-Cordones *et al.* (2007), reportaron que el amonio inhibe la absorción de potasio a través de la competencia por sitios de intercambio en el suelo y la pared celular. Entonces ¿Por qué se genera esta contradicción en los datos? Una posible explicación sería que las plantas tratadas con amonio obtuvieron una significativa mayor concentración foliar de potasio debido a la baja producción de fruta por parte de estas plantas, en contraste con las plantas tratadas con nitrato (Conradie, 2017) (Apéndice, 5).

En relación con la concentración foliar de zinc, se presentó una mayor concentración en plantas tratadas con la dosis intermedia y mayor de amonio, en comparación con las plantas tratadas con igual dosis de nitrato (Cuadro 7). Lo que se explica debido a que el zinc aumenta su disponibilidad en un pH más ácido (Figura 1) (Crisóstomo *et al.*, 2014). Esto también explicaría el comportamiento del hierro y el cobre (Cuadro 7) (Mengel y Kirkby, 2000).

Acerca de la concentración foliar de boro, esta presentó una relación inversamente proporcional con la dosis de nitrógeno aplicada, independientemente de la fuente de nitrógeno (Cuadro 7). Tales resultados se asemejan a los obtenidos por Li *et al.* (2020), en donde trabajando con *Hydrangea macrophylla* 'Merritt's Supreme' concluyeron que el aumento en la dosis de nitrógeno tuvo un efecto de dilución en las concentraciones de boro. Para el caso del nitrato, esta teoría se comprueba en el Apéndice 10, no obstante, no se ajusta a lo observado en las plantas tratadas con amonio (Cuadro 4; Apéndice 10). Este comportamiento irregular de las plantas tratadas con la dosis intermedia y mayor de amonio se podría atribuir al efecto tóxico generado en las plantas de tomate Cherry.

## CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos, bajo condiciones experimentales implementadas en este ensayo, es posible concluir que:

La hipótesis se rechaza dado que la aplicación foliar de benciladenina no altera la absorción de nitrato y amonio en plantas de tomate Cherry.

Benciladenina no tiene un efecto significativo en la apertura estomática.

El regulador de crecimiento usado en el ensayo retrasa la degradación de clorofila en plantas de tomate Cherry bajo una condición de toxicidad por amonio. Además, un aumento en la dosis de nitrato aumenta el valor SPAD.

Benciladenina no tiene efectos de adelanto o retraso en la maduración de la fruta de tomate tipo Cherry, así como tampoco las distintas dosis y fuentes de nitrógeno.

Una dosis creciente de nitrato genera más frutos, pero de un menor tamaño. Además, las dosis crecientes de nitrato generan una mayor acumulación de biomasa total en plantas de tomate Cherry. Por otro lado, las dosis de amonio aplicadas en las condiciones ambientales implementadas en este ensayo, resultan ser altamente tóxicas para las plantas de tomate, lo que genera un bajo número de frutos, de pequeño tamaño y plantas con poca biomasa total.

Aplicaciones de BA en conjunto con una fertilización amoniacal reducen la concentración foliar de fósforo, calcio, magnesio y manganeso.

La disminución de pH en la rizósfera producto de la fertilización amoniacal aumenta la concentración foliar de P, Fe, Mn, Zn y Cu.

## LITERATURA CITADA

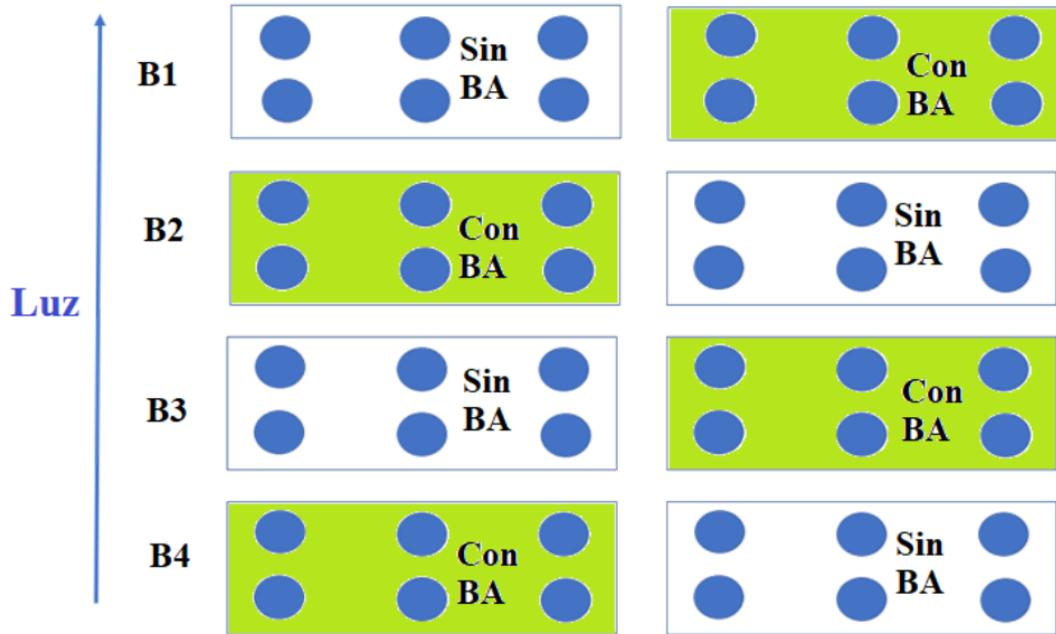
- Basra, S. M. A., and C. J. Lovatt. 2016. Exogenous applications of moringa leaf extract and cytokinins improve plant growth, yield, and fruit quality of Cherry Tomato. *Horttechnology* 26(3):327-337.
- Bangerth, K. F. 2015. Basipetal auxin versus acropetal cytokinin transport, and their interaction with NO<sub>3</sub> fertilization in cotyledon senescence and sink:source relationships in cucumber (*Cucumis sativus* L). *Plant Biology* 17(6):1135–1145.
- Bialczyk, J., Z. Lechowski, and A. Libik. 2004. Early vegetative growth of tomato plants in media containing nitrogen source as nitrate, ammonium, or various nitrate-ammonium mixtures with bicarbonate addition. *Journal of Plant Nutrition* 27(10):1687-1700.
- Britto, D. T., and H. J. Kronzucker. 2002. NH<sub>4</sub><sup>+</sup> toxicity in higher plants: a critical review. *Journal of Plant Physiology* 159(6):567-584.
- Brenner, W.G., G.A. Romanov, I. Kollmer, L. Burkle, and T. Schmulling. 2005. Immediate-early and delayed cytokinin response genes of *Arabidopsis thaliana* identified by genome-wide expression profiling reveal novel cytokinin-sensitive processes and suggest cytokinin action through transcriptional cascades. *The Plant Journal* 44(2):314–333.
- Bondada, B. R., and J. P. Syvertsen. 2003. Leaf chlorophyll, net gas exchange and chloroplast ultrastructure in citrus leaves of different nitrogen status. *Tree Physiology* 23(8):553–559.
- Crisóstomo, M., O. Hernández, J. López, C. Manjarrez-Domínguez y A. Pinedo-Alvárez. 2014. Relaciones amonio/nitrato en soluciones nutritivas ácidas y alcalinas para arándano. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 5(3):525-532.
- Conradie, W. J. 2017. Seasonal uptake of nutrients by chenin blanc in sand culture: II. Phosphorus, Potassium, Calcium and Magnesium. *South African Journal of Enology and Viticulture* 2(1).
- Coskun, D., D. T. Britto, W. M. Shi, and H. J. Kronzucker. 2017. Nitrogen transformations in modern agriculture and the role of biological nitrification inhibition. *Nature Plants* 3(6):17074.
- Dluzniewska, P., A. Gessler, S. Kopriva, M. Strnad, O. Novák, H. Dietrich, and H. Rennenberg. 2006. Exogenous supply of glutamine and active cytokinin to the roots reduces NO<sub>3</sub><sup>-</sup> uptake rates in poplar. *Plant, Cell and Environment* 29:1284–1297.
- Gatabazi, A., D. Marais, J. M. Steyn, H. T. Araya, and S. N. Mokgehle. 2019. Growth and yield responses of two ginger species to different levels of nitrogen. *South African Journal of Plant and Soil* 36(4):289-298.
- Gillaspy, G., H. Ben-David, and W. Gruissem. 1993. Fruits: A developmental perspective. *The Plant Cell* 5:1439–1451.
- Guo, W., H. Nazimc, Z. Lianga, and D. Yanga. 2016. Magnesium deficiency in plants: An urgent problem. *The Crop Journal* 4(2):83-91.

- Gu, J., Z. Li, Y. Mao, P. C. Struik, H. Zhang, L. Liu, Z. Wang, and J. Yang. 2018. Roles of nitrogen and cytokinin signals in root and shoot communications in maximizing of plant productivity and their agronomic applications. *Plant Science* 274:320-331.
- Hansen, H., and K. Dörffling. 2003. Root-derived trans-zeatin riboside and abscisic acid in drought-stressed and rewatered sunflower plants: interaction in the control of leaf diffusive resistance? *Functional Plant Biology* 30(4):365-375.
- Hasanaklou, H. T., A. E. K. Ghadim, F. Moradi, S. J. Ghodehkahriz, and A. Gholipouri. 2020. The effects of  $\text{NH}_4^+$  and  $\text{NO}_3^-$  and plant growth regulators on the accumulation of nutrients, carbohydrates and secondary metabolites of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Sugar Tech* 23(1):65-76.
- Hirose, N., K. Takei, T. Kuroha, T. Kamada-Nobusada, H. Hayashi, and H. Sakakibara. 2008. Regulation of cytokinin biosynthesis, compartmentalization and translocation. *Journal of Experimental Botany* 59(1):75-83.
- Horchani, F., R. Hajri, and S. Aschi-Smiti. 2010. Effect of ammonium or nitrate nutrition on photosynthesis, growth, and nitrogen assimilation in tomato plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 173(4):610-617.
- Hu, L., Z. Wang, and B. Huang. 2013. Effects of cytokinin and potassium on stomatal and photosynthetic recovery of kentucky bluegrass from drought stress. *Crop Science* 53(1):221-231.
- Igarashi, D., Y. Izumi, Y. Dokiya, K. Totsuka, E. Fukusaki, and C. Ohsumi. 2009. Reproductive organs regulate leaf nitrogen metabolism mediated by cytokinin signal. *Plant* 229(3):633-644.
- Jing, J., Y. Ruia, F. Zhanga, Z. Rengelb and J. Shena. 2010. Localized application of phosphorus and ammonium improves growth of maize seedlings by stimulating root proliferation and rhizosphere acidification. *Field Crops Research* 119(2-3):355-364.
- Kiba, T., T. Kudo, M. Kojima, and H. Sakakibara. 2011. Hormonal control of nitrogen acquisition: roles of auxin, abscisic acid, and cytokinin. *Journal of Experimental Botany* 62(4):1399-1409.
- Kiba, T., T. Naitou, N. Koizumi, T. Yamashino, H. Sakakibara, and T. Mizuno. 2005. Combinatorial microarray analysis revealing Arabidopsis genes implicated in cytokinin responses through the His->Asp phosphorelay circuitry. *Plant and Cell Physiology* 46(2):339-355.
- Lechica, M., L. Recalde y E. Esteban. 1965. Análisis foliar. Métodos analíticos utilizados en la Estación Experimental del Zaidin. *Agrobiología y Edafología* 24:589-603.
- Li, T., G. Bi, X. Zhao, R. Harkess, and C. Scagel. 2020. Nitrogen fertilization, container type, and irrigation frequency affect mineral nutrient uptake of *Hydrangea*. *Water* 12(7):1987.

- Luo, Y. L., Y. H. Tang, X. Zhang, W. Q. Chang, D. W. Pang, X. Xu, Y. Li, and Z. L. Wang. 2018. Interactions between cytokinin and nitrogen contribute to grain mass in wheat cultivars by regulating the flag leaf senescence process. *Crop Journal* 6(5):538-551.
- Magalhaes, J. R., and D. M. Huber. 1989. Ammonium assimilation in different plant species as affected by nitrogen form and pH control in solution culture. *Fertilizer Research* 21(1):1-6.
- Martín, A.C., J.C. del Pozo, J. Iglesias, V. Rubio, R. Solano, A. de la Pena, A. Leyva, and J. Paz-Ares. 2000. Influence of cytokinins on the expression of phosphate starvation responsive genes in *Arabidopsis*. *The Plant Journal* 24(5):559-567.
- Maxwell, K., and G. Johnson. 2000. Chlorophyll fluorescence – a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51(345):659-668.
- Mengel, K., y E. A. Kirkby. 2000. *Principios de nutrición vegetal*, 4<sup>ta</sup> edición. Instituto internacional de la Potasa. Basilea, Suiza.
- Miyawaki, K., M. Matsumoto-Kitano, and T. Kakimoto. 2004. Expression of cytokinin biosynthetic isopentenyltransferase genes in *Arabidopsis*: tissue specificity and regulation by auxin, cytokinin, and nitrate. *The Plant Journal* 37(1):128–138.
- Mok, D. W., and M. C. Mok. 2001. Cytokinin metabolism and action. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 52(1):89-118.
- Morot-Gaudry, F. J. 2001. *Nitrogen Assimilation by Plants: Physiological, Biochemical, and Molecular Aspects*. Science Publishers. Enfield, New Hampshire, USA.
- Nieves-Cordones, M., M. A. Martinez-Cordeno, V. Martinez, and F. Rubio. 2007. An  $\text{NH}_4^+$ -sensitive component dominates high-affinity  $\text{K}^+$  uptake in tomato plants. *Plant Science* 172(2):273-280.
- Osugi, A., M. Kojima, Y. Takebayashi, N. Ueda, T. Kiba, and H. Sakakibara. 2017. Systemic transport of trans-zeatin and its precursor have differing roles in *Arabidopsis* shoots. *Nature Plants* 3:1-6.
- Sakakibara, H., K. Takei, and N. Hirose. 2006. Interactions between nitrogen and cytokinin in the regulation of metabolism and development. *Trends in Plant Science* 11:440-448.
- Séguéla, M., J. F. Briat, G. Vert, and C. Curie. 2008. Cytokinins negatively regulate the root iron uptake machinery in *Arabidopsis* through a growth-dependent pathway. *Plant Journal* 55(2):289-300.
- Srivastava, A., and A. K. Handa. 2005. Hormonal regulation of tomato fruit development: a molecular perspective. *Journal of Plant Growth Regulation* 24:67–82.
- Tabata, R., K. Sumida, T. Yoshii, K. Ohyama, H. Shinohara, and Y. Matsubayashi. 2014. Perception of root-derived peptides by shoot LRR-RKs mediates systemic N-demand signaling. *Science* 346:343-346.

- Takei, K., N. Ueda, K. Aoki, T. Kuromori, T. Hirayama, K. Shinozaki, T. Yamaya, and H. Sakakibara. 2004. AtIPT3 is a key determinant of nitrate-dependent cytokinin biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant and Cell Physiology* 45:1053-1062.
- Wang, R., K. Guegler, S. T. LaBrie, and N. M. Crawford. 2000. Genomic analysis of a nutrient response in *Arabidopsis* reveals diverse expression patterns and novel metabolic and potential regulatory genes induced by nitrate. *The Plant Cell* 12:1491-1509.
- Wang, XM., KK. Yi, Y. Tao, F. Wang, ZC. Wu, D. Jiang, X. Chen, LH. Zhu, and P. Wu. 2006. Cytokinin represses phosphate-starvation response through increasing of intracellular phosphate level. *Plant Cell and Environment* 29(10):1924-1935.
- Werner, T., and T. Schmülling. 2009. Cytokinin action in plant development. *Current Opinion in Plant Biology* 12:527-538.
- Yokoyama, A., T. Yamashino, Y. Amano, Y. Tajima, A. Imamura, H. Sakakibara, and T. Mizuno. 2007. Type-B ARR transcription factors, ARR10 and ARR12, are implicated in cytokinin-mediated regulation of protoxylem differentiation in roots of *Arabidopsis thaliana*. *Plant and Cell Physiology* 48(1):84–96.
- Xian, L., Y. Zhang, Y. Cao, T. Wan, Y. Gong, C. Dai, W. A. Ochieng, A. T. Nasimiyu, W. Li, and F. Liu. 2020. Glutamate dehydrogenase plays an important role in ammonium detoxification by submerged macrophytes. *Science of the Total Environment* 722.
- Xu, G., X. Ventilador, and AJ. Miller. 2012. Plant nitrogen assimilation and use efficiency. *Plant Biology* 63:153-182.

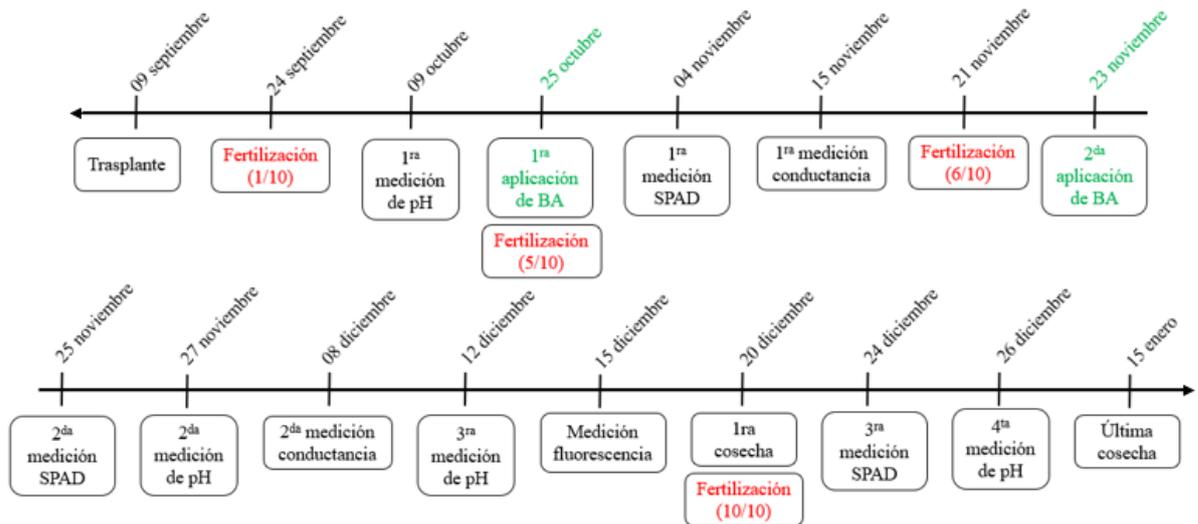
APÉNDICES



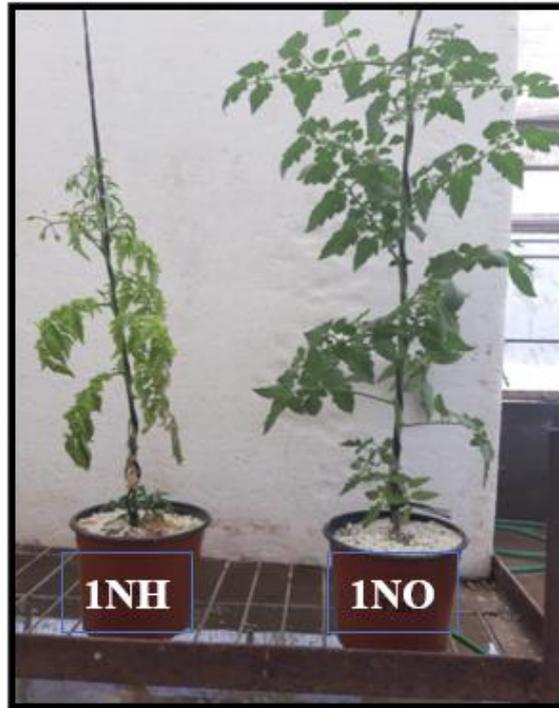
Apéndice 1. Esquema del diseño experimental del ensayo.



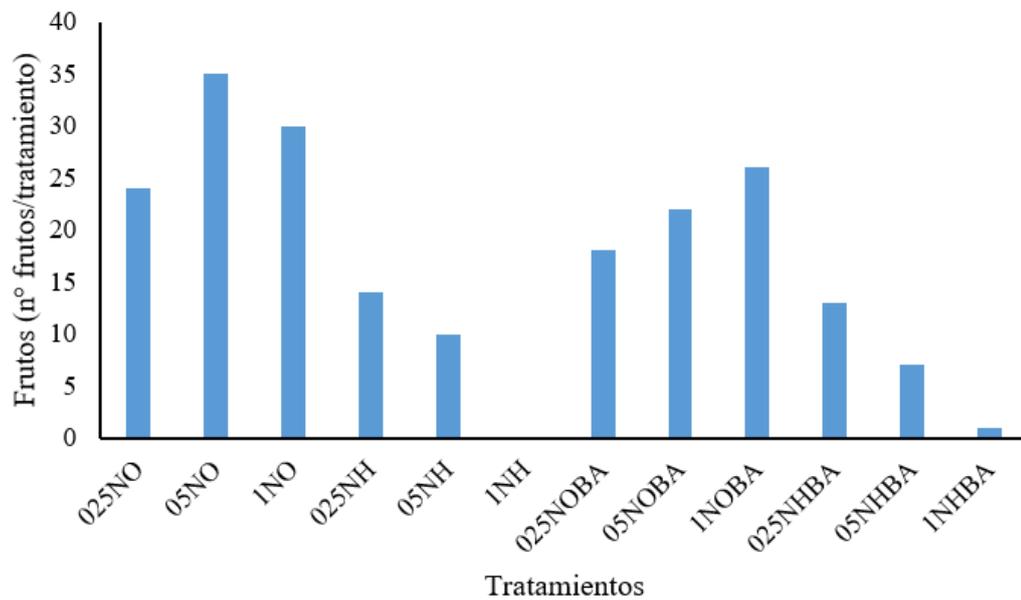
Apéndice 2. Escala arbitraria utilizada para determinar color a cosecha en tomate Cherry (elaboración propia).



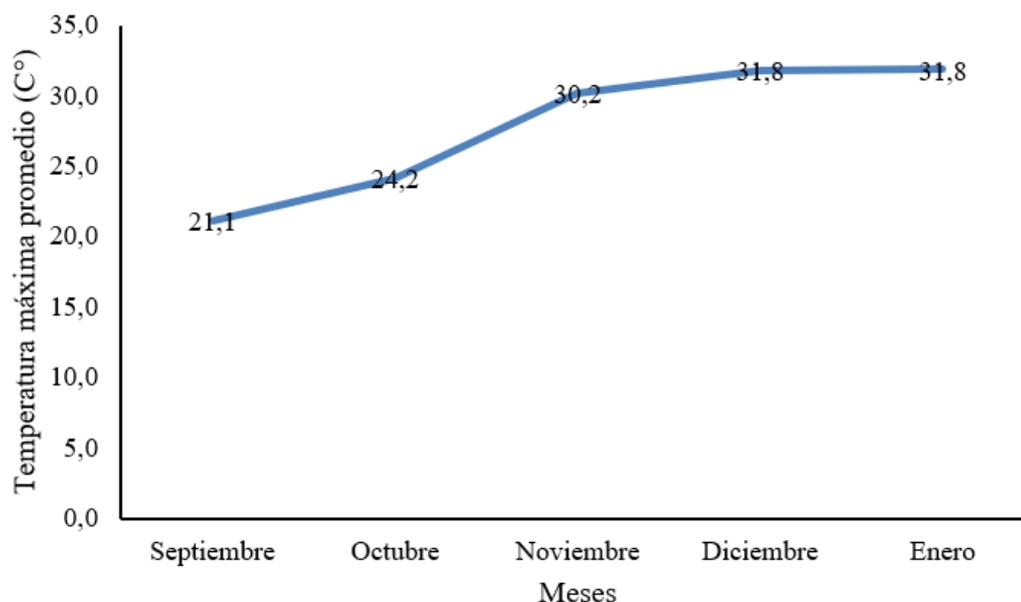
Apéndice 3. Línea de tiempo de las mediciones y aplicaciones realizadas durante el ensayo.



Apéndice 4. Fotografía de plantas de tomates del tratamiento 1NH y 1NO, tomada el 3 de diciembre de 2019.



Apéndice 5. Número total de frutos cosechados por tratamiento.



Apéndice 6. Promedio mensual de la temperatura máxima del aire durante el desarrollo del ensayo. Elaborado en base a datos obtenidos de estación meteorológica La Platina, INIA.

Apéndice 7. Gramos totales de nitrógeno en la materia seca de hojas de tomate.

Tratamiento	MS hojas	Nitrógeno	Nitrógeno
	g	%	g
1NO	13,0	0,80	0,104 a
05NO	10,4	0,55	0,057 b
025NO	7,4	0,39	0,029 c
1NH	5,3	1,78	0,094 a
05NH	5,5	1,13	0,062 b
025NH	6,0	0,63	0,038 c

Letras distintas en sentido vertical indican diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos según la prueba de LSD Fisher (p-valor<0,05).

Apéndice 8. Gramos totales de fósforo en la materia seca de hojas de tomate.

Tratamiento	MS hojas	Fósforo	Fósforo	pH <sup>1</sup>
	g	%	g	
1NO	13,0	0,20	0,026 c	6,53
05NO	10,4	0,31	0,032 c	6,03
025NO	7,4	0,41	0,030 c	6,05
1NH	5,3	1,12	0,059 b	4,29
05NH	5,5	1,48	0,081 a	3,86
025NH	6,0	1,07	0,064 b	4,48

Letras distintas en sentido vertical indican diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos según la prueba de LSD Fisher (p-valor<0,05).

<sup>1</sup>Medición realizada el día 26 de diciembre de 2019.

Apéndice 9. Gramos totales de magnesio en la materia seca de hojas de tomate.

Tratamiento	MS hojas	Magnesio	Magnesio
	g	%	g
1NO	13,0	0,96	0,125 a
05NO	10,4	0,89	0,093 b
025NO	7,4	0,81	0,059 d
1NH	5,3	0,45	0,024 e
05NH	5,5	1,50	0,083 bc
025NH	6,0	1,26	0,076 cd

Letras distintas en sentido vertical indican diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos según la prueba de LSD Fisher (p-valor<0,05).

Apéndice 10. Miligramos totales de boro en la materia seca de hojas de tomate.

Tratamiento	MS hojas	Boro	Boro
	g	mg kg <sup>-1</sup>	mg
1NO	13,0	98,07	1,275 ab
05NO	10,4	133,24	1,386 a
025NO	7,4	187,20	1,385 ab
1NH	5,3	103,89	0,551 c
05NH	5,5	150,64	0,829 b
025NH	6,0	181,84	1,091 ab

Letras distintas en sentido vertical indican diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos según la prueba de LSD Fisher (p-valor<0,05).