

EFFECTO DE LA DEFICIENCIA DE NITRÓGENO Y CALCIO EN HOJAS DE TOMATE (*Solanum lycopersicum*) SOBRE LA FLUORESCENCIA DE LA CLOROFILA A

Ludi Barzante Luciano¹; Foti María Natalia¹; Lallana Víctor Hugo¹; Michel Analía¹; Valentinuz Oscar Rodolfo^{1,2}

¹ Facultad de Ciencias Agropecuarias (UNER) Ruta 11, Km 10,5. (3101) Oro Verde. Entre Ríos.

² Estación Experimental Agropecuaria Paraná (INTA) Ruta 11, Km 12,5. (3101) Oro Verde. Entre Ríos.

Autor para correspondencia: luciano.ludi@uner.edu.ar

RESUMEN

El fenómeno de fluorescencia de la clorofila A, durante la primera etapa de la fotosíntesis, es un indicador de cambios en la actividad fotosintética en condiciones ambientales estresantes. Bajo una deficiencia de nitrógeno (N) los primeros síntomas ocurren en las hojas de mayor edad, mientras que con deficiencia de calcio (Ca) los síntomas aparecen primero en las hojas más jóvenes. El objetivo del trabajo fue comparar los niveles de fq'/fm' y fv'/fm' en hojas de tomate bajo deficiencia de N y Ca, y caracterizar la evolución de sus síntomas visuales, para lo cual se realizó un seguimiento de las plantas mediante registro de imágenes, y mediciones de parámetros de fluorescencia en hojas adultas y jóvenes una vez por semana durante 49 días. Con deficiencia de N se observó un descenso significativo en fq'/fm' en hojas adultas a partir de los 7 días de deficiencia, lo cual indicaría una considerable limitación fotoquímica. Las hojas jóvenes deficientes en Ca evidenciaron menor limitación fotoquímica. A partir de los 14 días se manifestaron síntomas visuales en las plantas en ambas deficiencias. Posiblemente se puedan detectar alteraciones en el aparato fotosintético previo a los síntomas, con mediciones de fluorescencia y registro de imágenes más frecuentes.

Palabras clave: fotosistema II, posición de hoja, estrés nutricional y síntomas visuales de deficiencia.

SUMMARY

EFFECT OF NITROGEN AND CALCIUM DEFICIENCY IN TOMATO (*Solanum lycopersicum*) LEAVES ON THE FLUORESCENCE OF CHLOROPHYLL A

The phenomenon of fluorescence of chlorophyll a, during the first stage of photosynthesis, is an indicator of changes in photosynthetic activity under stressful environmental conditions. Under nitrogen (N) deficiency, the first symptoms occur on mature leaves, while under calcium (Ca) deficiency, the symptoms appear first on the youngest leaves. The objective of this work was to compare the levels of fluorescence parameters fq'/fm' and fv'/fm' in tomato leaves under N and Ca deficiency and to characterize the evolution of their visual symptoms, for which a follow-up of the plants was carried out by recording images, and measurements of fluorescence parameters in mature and young leaves once a week for 49 days. With N deficiency, a significant decrease in fq'/fm' was observed in adult leaves after 7 days of deficiency, which would indicate a considerable photochemical limitation. Young leaves experiencing Ca deficiency showed less photochemical limitation. Visual symptoms appeared in the plants in both deficiencies after 14 days. It may be possible to identify

changes in the photosynthetic apparatus before symptoms appear, with more frequent fluorescence measurements and image recording.

Keywords: photosystem II, leaf position, nutritional stress, visual symptoms of deficiency.

Introducción

Se espera que la población mundial aumente a 9,5 mil millones para 2050, para lo cual se prevé que el mundo necesitará un 85% más de producción de materias primas para la elaboración de alimentos, en comparación con 2013 (Long *et al.*, 2015). Esta producción de materias primas depende del crecimiento de los cultivos, proceso que se deriva de la producción, transporte y acumulación de fotoasimilados que provienen de la fijación de dióxido de carbono, durante la fotosíntesis de las plantas (Cárcova *et al.*, 2010). En esto radica la importancia de conocer los parámetros asociados a la fotosíntesis que indican la variación de este proceso a nivel de las hojas, en relación a factores ambientales que lo afectan, en particular agentes estresantes.

Parte de la energía solar absorbida durante la primera fase de la fotosíntesis en forma de electrones excitados de las moléculas de clorofila (Chl), se transfiere desde los complejos captadores de luz (LHC) II y I, a los centros de reacción de los fotosistemas II (PSII) y I (PSI), respectivamente. Un remanente de esa energía de excitación que no se destina a las reacciones fotoquímicas, se pierde en forma de calor o se reemite como fluorescencia de Chl "a" (FChl). Esta disipación de energía corresponde a los cuantos de luz absorbidos que no se utilizan durante la fotosíntesis ni se convierten en calor (Kalaji *et al.*, 2017a), constituyéndose como un indicador de cambios en la actividad fotosintética (Baker y Rosenqvist, 2004). La medición de FChl en hojas adaptadas a la oscuridad, permite determinar el rendimiento cuántico máximo del PSII (f_v/f_m) que representa la fracción de centros de reacción

activos. En hojas adaptadas a la luz permite estimar el rendimiento cuántico efectivo del PSII (f_q/f_m') asociado a la cantidad de electrones transportados y el rendimiento cuántico máximo intrínseco del PSII (f_v'/f_m') que indica la eficiencia de los centros de reacción abiertos (oxidados) (Tambussi y Graciano 2010). De esta manera el registro de parámetros de FChl se ha utilizado como una herramienta de monitoreo del estado del aparato fotosintético, en distintas condiciones ambientales estresantes (ver Kalaji *et al.*, 2018). La evolución de la actividad fotosintética mediante registros de FChl se ha utilizado en investigaciones de plantas bajo deficiencia de diferentes macronutrientes (Kalaji *et al.*, 2014a; Chen *et al.*, 2018 y Horaczek *et al.*, 2020), nitrógeno (Zivcák *et al.*, 2014a,b; Boussadia *et al.*, 2015; Jin *et al.*, 2015; Cetner *et al.*, 2017; Swoczyna *et al.*, 2019; Wu *et al.*, 2019; Pereira de Souza *et al.*, 2020 y Perez Molina *et al.*, 2020) y calcio (Sanz *et al.*, 2001).

El nitrógeno (N) es un componente de todas las proteínas, del pigmento Chl, y de varios procesos metabólicos involucrados en la síntesis y transferencia de energía, es un elemento móvil, por lo tanto, las hojas de mayor edad exhiben clorosis y necrosis antes que las hojas más jóvenes durante una deficiencia (Kathpalia y Bhatla, 2018). Una gran parte del N de las plantas se localiza en los cloroplastos de las hojas, cuyas membranas tilacoidales contienen aproximadamente un 20 a 25% del N total en las hojas (Kalaji *et al.*, 2014b).

A su vez el calcio (Ca) es un componente esencial de la pared celular vegetal. Debido a su limitado transporte mediante el floema, no es muy móvil por lo que los síntomas de

deficiencia aparecen primero en las hojas más jóvenes (Kathpalia y Bhatla, 2018). Su deficiencia en plantas de tomate se ha relacionado con la aparición de podredumbre apical (Sanz *et al.*, 2000). Actúa como un mensajero intracelular dinámico, involucrado en la transducción de señales en respuesta a casi todas las tensiones ambientales (Pirayesh *et al.*, 2021). Es un componente estructural del PSII, y esencial para la oxidación de la molécula de agua, conformando el grupo Mn₄CaO₅ del complejo oxidante del agua (Hochmal *et al.*, 2015), al mantener y regular la red de enlaces Hidrógenos, conectando las moléculas de agua y Tirozyna (Najafpour *et al.*, 2020).

No se han encontrado estudios referidos al efecto de las deficiencias de N y Ca en hojas adultas y jóvenes de tomate sobre rendimientos cuánticos medidos bajo luz, y la posibilidad de utilizarlos como indicadores de la alteración del aparato fotosintético previo a la aparición de síntomas visuales de deficiencia. El objetivo de este trabajo fue i) comparar los niveles de f_q'/f_m' y f_v'/f_m' entre hojas jóvenes y adultas de tomate aclimatadas a la luz bajo deficiencia de N y Ca, ii) caracterizar la evolución de los síntomas visuales bajo deficiencia de N y Ca, y iii) verificar la posibilidad de detectar alteraciones en el funcionamiento del aparato fotosintético en forma anticipada a la aparición de síntomas visuales.

Materiales y métodos

Obtención de plantas

Se sembraron 60 semillas de tomate de la variedad Lomitero INTA, en bandejas plásticas perforadas en la base, sobre la que se colocó papel de filtro humedecido con agua destilada. Estas bandejas se colocaron dentro de bolsas de polietileno transparente en cámara de crecimiento, bajo condiciones controladas: temperatura: 23 +/- 3 °C; humedad relativa: 45 a 70 %; intensidad de luz: 560 a 630 lux, con alternancia de 12 h de luz / 12 h de oscuridad, durante seis días desde de la siembra (dds). Cumplido este período, las plántulas se trasplantaron en bandejas multicelda, con celdas de 70 cm³, utilizando perlita como sustrato. Hasta 10 dds, se regaron únicamente con agua destilada. A partir de este momento, con 2 hojas cotiledonares totalmente desplegadas, se comenzaron a regar con solución nutritiva de Hoagland y Arnon, 1938 (Lallana y Lallana, 2014) diluida al 50%. A los 17 dds se comenzó a regar con una solución nutritiva completa sin diluir (pH 6,5 a 7).

Transcurridos 36 dds, con 2 hojas verdaderas, las plantas se trasplantaron a contenedores de plástico blanco de 200 cm³ cc de volumen, perforados en la base. En cada contenedor se trasplantó una planta y se utilizó perlita como sustrato. Las plantas continuaron en la cámara de crecimiento hasta los 49 dds, momento en el cual se trasladaron a

Tabla 1. Composición de las soluciones utilizadas para cada condición nutricional (CN) en base a Hoagland y Arnon (1938). DefCa: Solución deficiente en calcio. DefN: Solución deficiente en nitrógeno. Comp: Solución completa sin deficiencia.

Condición Nutricional	ELEMENTO MINERAL [Mg/L]											
	N	P	K	Ca	Mg	S	Fe	Mn	B	Zn	Cu	Mo
Comp	196,6	71,1	287,2	180	56	74	1,4	1,45	0,52	0,053	0,0187	0,00925
DefCa	193	71,1	287,2	0	56	74	1,4	1,45	0,52	0,053	0,0187	0,00925
DefN	0	71,1	90	180	56	74	1,4	1,45	0,52	0,053	0,0187	0,00925

un invernáculo. Se registró la temperatura ambiental en invernáculo mediante un termómetro Backlight HTC – 8A, una vez cada 24hr (Figura 1).

Habiendo transcurrido 56 dds se separaron las plantas por condición nutricional y se comenzaron a regar con la solución correspondiente (Tabla 1). En este momento se realizó la primera medición de parámetros de fluorescencia.

Diseño Experimental

Se implementó una estructura de diseño completamente aleatorizada (DCA). La unidad experimental (UE) estaba conformada por una planta por contenedor. Las UE se distribuyeron en forma aleatoria en 4 parcelas (P). Los tratamientos se asignaron completamente al azar a las UE, de acuerdo a lo indicado por Balzarini *et al.* 2008.

La estructura de los factores se llevó a cabo mediante un arreglo de parcelas subdivididas (split - split plot) (Di Rienzo *et al.* 2011), el cual estaba compuesto por un factor principal asociado a parcelas principales, referido a la condición nutricional (CN), con 3 niveles a saber: condición completa (Comp), deficiente en Ca (DefCa) y deficiente en N (DefN). Cada parcela estaba conformada por 12 UE, en la cual, cada CN estaba representada por 4 UE. El segundo factor, asociado a subparcelas correspondía a la posición de hoja (PH), constituido por 2 niveles: hoja joven (Hj - la hoja más cerca del ápice completamente expandida) y hoja adulta (Ha - la hoja no senescente más alejada del ápice). En cada UE se midieron parámetros de fluorescencia tanto en la Hj como en la Ha. El tercer factor asociado a sub subparcelas estaba referido al momento de medición, cuantificado como días después de iniciada la deficiencia (DDID). La medición en cada parcela se llevó a cabo en 2 momentos, separados por 28 días, de acuerdo a lo que se indica a continuación: a los 0 y 28 DDID se midió la P1, a los 7 y 35 DDID la P2, a los 14 y 42 DDID la P3, y a los 21 y 49 DDID la P4.

Se procedió a utilizar este arreglo de parcelas subdivididas debido a que el factor CN posee

3 niveles que son independientes entre sí, por esta razón es un factor fijo (principal). Sin embargo los factores PH y DDID poseen niveles que están correlacionados entre sí dentro de una misma UE, es decir se encuentran anidados dentro del factor principal (CN), lo cual estuvo determinado por las medidas repetidas en el espacio (2 posiciones de hoja dentro de una misma UE) y en el tiempo (2 momentos de medición para una misma UE) respectivamente (A. Cuatrin y M. Prand, comunicación personal, 13 de Mayo de 2021). De esta manera el experimento resultante fue un trifactorial 3x2x2. Si bien el tiempo (DDID) fue considerado un factor que introdujo variabilidad en las variables respuesta (VR), para el análisis estadístico no se consideraron los DDID como factor, si no que las combinaciones factoriales o tratamientos se constituyeron a partir de los 3 niveles de CN y los 2 niveles de PH, por lo tanto, en cada momento de medición se analizaron 6 tratamientos: CompHa; CompHj; DefNH_a; DefNH_j; DefCaHa y DefCaHj. De las 48 UE totales, se asignaron 16 para cada nivel de CN.

Registro de síntomas de deficiencia

Al finalizar la primera medición en cada parcela (P1 a los 0 DDID, P2 a los 7 DDID, P3 a los 14 DDID y P4 a los 21 DDID), y la segunda medición en P4, se tomaron fotografías de las plantas de cada CN, con el fin de registrar la evolución de los síntomas visuales de deficiencia nutricional. Al finalizar la segunda medición en cada parcela (P1 a los 28 DDID, P2 a los 35 DDID, P3 a los 42 DDID y P4 a los 49 DDID), las plantas se colocaron 48h en estufa a 105 °C para eliminar por completo el agua y así calcular la acumulación de materia seca (MS) promedio por planta en cada CN.

Medición de parámetros de fluorescencia

Las mediciones se realizaron con un equipo LICOR LI-6400 Portable Photosynthesis System, el cual se gestionó y se consiguió formalmente mediante el Convenio Marco 24561 entre la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la UNER y la Estación Experimental INTA Paraná.

En cada hoja adaptada a la luz (Ha y Hj) se midieron los siguientes parámetros: rendimiento cuántico efectivo o actual del PSII [$f_q'/f_m' = (f_m' - f_s)/f_m'$] y el rendimiento cuántico máximo del PSII [$f_v'/f_m' = (f_m' - f_o')/f_m'$]. Ambos parámetros varían entre 0 y 1, y son adimensionales (Kalaji *et al.* 2017a). Se efectuó una sola medición por hoja (Hj y Ha) en cada fecha de muestreo, lo que totalizó 24 registros para cada DDID (n = 24).

En los 8 momentos de medición, la luz de medición se configuró con una modulación (frecuencia) de 0,25 kHz, mediante dos LED rojos de una longitud de onda central de aproximadamente 630 nm. El pulso de saturación se configuró a una intensidad de $7000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 20 kHz de modulación y 0,5 a 0,8 s de duración, mediante el uso de 27 LED rojos (630 nm) para obtener la intensidad de fluorescencia máxima (f_m'), y la luz rojo lejana se configuró a una modulación de 0,25 kHz y una duración de 6 s, mediante un led rojo lejano a 740 nm, para obtener la intensidad

de fluorescencia basal o mínima (f_o'). Los LED utilizados para proporcionar radiación actínica (para generar la emisión de fluorescencia a estado estable - f_s) fueron los mismos que se utilizaron para emitir el pulso de saturación más 3 LED azules (470 nm) (Baker y Rosenqvist 2004; Tambussi y Graciano 2010 y LICOR 2002). Finalizada la medición de cada fecha, los datos se extrajeron con el software LI 6400 File Exchange 2.05, mediante planilla Excel.

Tratamientos de datos

Se realizó un modelo lineal general y mixto (MLGyM) en parcelas sub divididas en un arreglo en diseño completamente aleatorizado (Di Rienzo *et al.* 2011) acompañado de una comparación de medias mediante el test de LSD Fisher, con un nivel de confianza del 95 %, con el fin de detectar y conocer las diferencias de medias entre cada una de las combinaciones factoriales.

Se utilizó el software estadístico InfoStat versión 2020 (Di Rienzo *et al.* 2020).

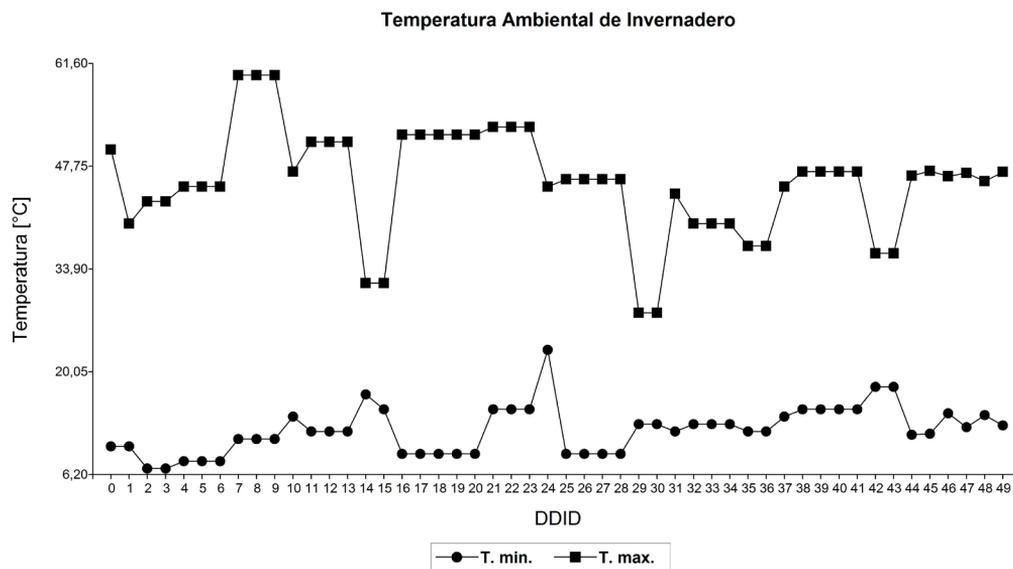


Figura 1. Evolución de la temperatura ambiental en invernadero. T min: Temperatura mínima y T max: Temperatura máxima. DDID: Días después de inicio de deficiencia. INFOSTAT V. 2020 (Di Rienzo *et al.* 2020).

Resultados

Temperatura ambiental

A los 7 DDID se consignaron valores de temperatura máxima que alcanzaron los 60 °C. En el resto de los muestreos no se registraron valores mayores a 50°C de temperatura máxima. En ningún momento la temperatura mínima alcanzó valores menores a 6°C (Fig. 1).

Parámetros de Fluorescencia de la clorofila "a"

Rendimiento cuántico máximo [fv'/fm'] del PSII

En la parcela 1 a los 0 DDID (Fig. 2A) no se registran diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos (Tabla 2). A los 28 DDID (Fig. 2B) DefNHa se redujo significativamente respecto a DefNHj (pPH = 0,0033 - Tabla 2). En la parcela2 a los 7 DDID (Fig. 2C), DefNHa, y DefCaHj y DefNHj disminuyeron significativamente en relación a CompHa y CompHj, respectivamente (pCN = 0,0216 - Tabla 2). A los 35 DDID (Fig. 2D), DefNHa se redujo significativamente en relación a DefNHj (pPH = 0,0134 - Tabla 2). En la parcela 3 a los 14 DDID (Fig. 2E), no se registraron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos (Tabla 2). A los 42 DDID (Fig. 2F), DefNHa disminuyó significativamente respecto a CompHj (pCN x PH = 0,0060 - Tabla 2) y a DefNHj (pPH = 0,0025 - Tabla 2). En la parcela 4 a los 21 DDID

(Fig. 2G), DefNHa se redujo significativamente en comparación , a DefNHj (pPH = 0,0019 - Tabla 2), a CompHa y DefCaHa (pCN = 0,0098 - Tabla 2), y a CompHj y DefCaHj (pCN x PH = 0,0049 - Tabla 2). DefCaHj descendió significativamente en relación a DefNHj y CompHj (pCN = 0,0098 - Tabla 2), y a CompHa (pCN x PH = 0,0049 - Tabla 2). DefCaHa disminuyó significativamente en comparación a DefNHj y CompHj (pCN x pPH = 0,0049 - Tabla 2). A los 49 DDID (Fig. 2H), DefNHa se redujo significativamente respecto a DefNHj (pPH = 0,0139 - Tabla 2), a DefCaHa y CompHa (pCN = 0,0321 - Tabla 2), y a CompHj (pCN x pPH = 0,0064 - Tabla 2). DefCaHj descendió significativamente en relación a DefNHj y CompHj (pCN = 0,0321 - Tabla 2), y a CompHa (pCN x pPH = 0,0064 - Tabla 2). DefCaHa disminuyó significativamente en comparación a DefNHj y CompHj (pCN x pPH = 0,0064 - Tabla 2).

Rendimiento cuántico efectivo o actual [fq'/fm'] del PSII

En la parcela 1 a los 0 DDID (Fig. 2A), DefCaHa y CompHa se redujeron significativamente en relación a DefCaHj y CompHj, respectivamente (pPH = 0,0004 - Tabla 2). . A los 28 DDID (Fig. 2B), DefNHa disminuyó significativamente en comparación a DefNHj (pPH = 0,0020

Tabla 2. Valores p asociados a los dos factores en estudio (CN: condición nutricional y PH: posición de hoja) y su interacción (CNxPH), para cada momento de medición (DDID), ordenados por parcela, en relación al nivel de significación nominal seleccionado ($\alpha = 0,05$) del análisis del modelo lineal general y mixto para las variable respuesta (VR) fv'/fm' y fq'/fm'. * Valores significativos.

Factores + Interacción	VR	PARCELA 1		PARCELA 2		PARCELA 3		PARCELA 4	
		0 DDID	28 DDID	7 DDID	35 DDID	14 DDID	42 DDID	21 DDID	49 DDID
CN	fv'/fm'	0,8233	0,7683	0,0216*	0,0026*	0,1232	0,7915	0,0098*	0,0321*
	fq'/fm'	0,3484	0,0089*	0,0044*	<0,0001*	0,1589	0,0003*	0,0010*	0,0303*
PH	fv'/fm'	0,2459	0,0033*	0,0826	0,0134*	0,0800	0,0025*	0,0019*	0,0139*
	fq'/fm'	0,0004*	0,0020*	0,0004*	0,0047*	0,5135	0,0080*	0,0011*	0,0063*
CN x PH	fv'/fm'	0,2310	0,0764	0,3683	0,1265	0,2805	0,0060*	0,0049*	0,0064*
	fq'/fm'	0,3495	0,0423*	0,2300	0,1372	0,2439	0,1148	0,0004*	0,0029*

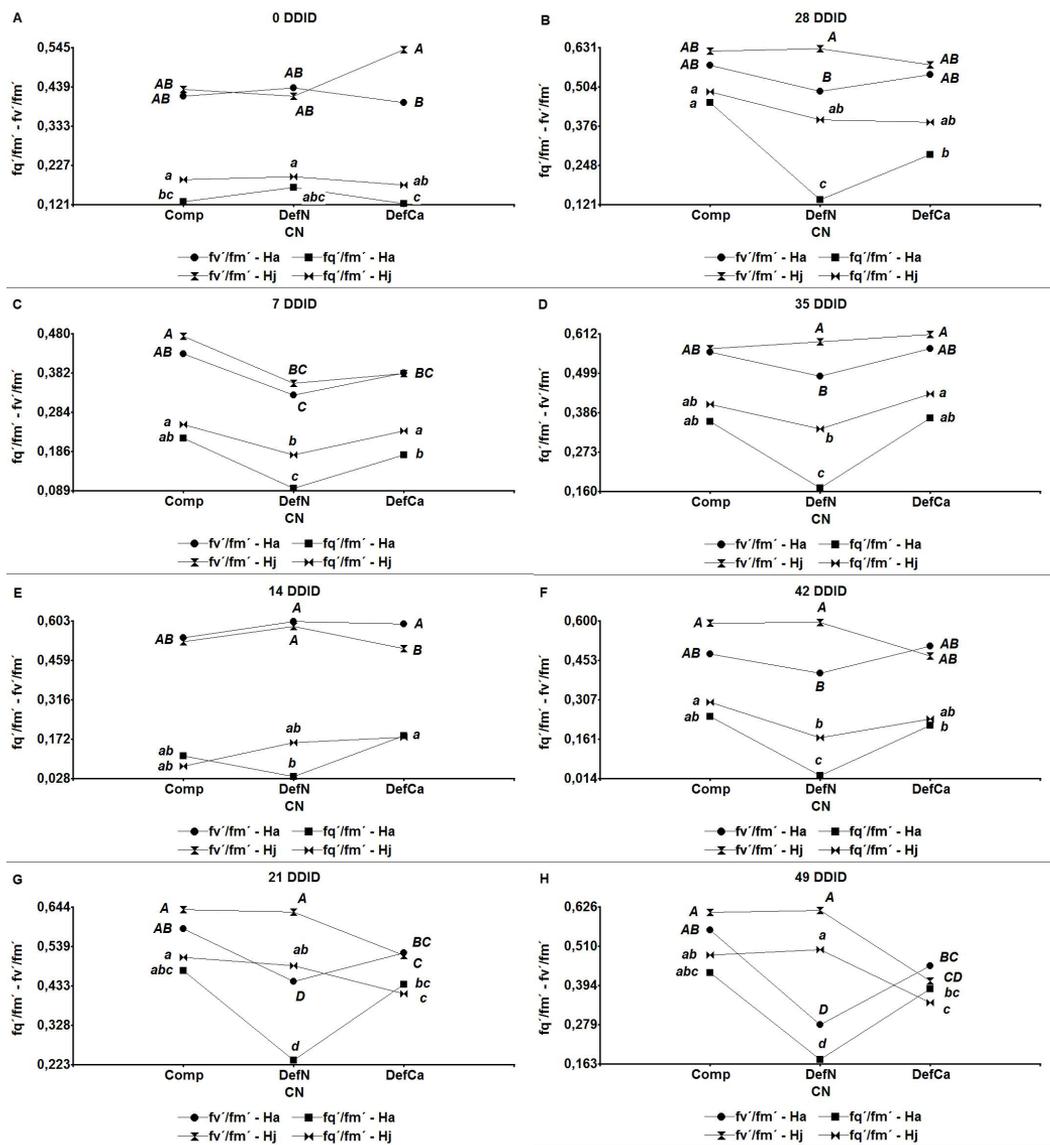


Figura 2. Gráfico de puntos de los valores medios del análisis del modelo lineal general y mixto de los factores en estudio (CN: condición nutricional y PH: posición de hoja) en cada momento de medición (DDID) para las variables respuestas fv'/fm' y fq'/fm' . Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$) INFOSTAT V. 2020 (Di Rienzo et al. 2020). Letras en mayúscula corresponden a fv'/fm' y en minúscula a fq'/fm' .

- Tabla 2), a DefCaHa y CompHa ($p_{CN} = 0,0089$ - Tabla 2), y a DefCaHj y CompHj ($p_{CN} \times PH = 0,0423$ - Tabla 2). DefCaHa se redujo significativamente respecto a CompHa ($p_{CN} = 0,0089$ - Tabla 2) y a CompHj ($p_{CN} \times PH = 0,0423$ - Tabla 2). En la parcela 2 a los 7 DDID (Fig. 2C), DefNHa se redujo significativamente en relación a DefNHj ($p_{PH} = 0,0004$ - Tabla 2), y a DefCaHa y CompHa ($p_{CN} = 0,0044$ - Tabla 2). DefCaHa disminuyó significativamente en comparación a DefCaHj ($p_{PH} = 0,0004$ - Tabla 2). A los 35 DDID (Fig. 2D), DefNHa se redujo significativamente respecto a DefNHj ($p_{PH} = 0,0047$ - Tabla 2), y a CompHa y DefCaHa ($p_{CN} = <0,0001$ - Tabla 2). En la parcela 3 a los 14 DDID (Fig. 2E), no se registraron diferencias significativas (Tabla 2). A los 42 DDID (Fig. 2F), DefNHa se redujo significativamente en

comparación a DefNHj ($p_{PH} = 0,0080$ - Tabla 2), y a DefCaHa y CompHa ($p_{CN} = 0,0003$ - Tabla 2). En la parcela 4 a los 21 DDID (Fig. 2G), DefNHa disminuyó significativamente respecto a DefNHj ($p_{PH} = 0,0011$ - Tabla 2), a CompHa y DefCaHa ($p_{CN} = 0,0010$ - Tabla 2), y a CompHj y DefCaHj ($p_{CN} \times PH = 0,0004$ - Tabla 2). DefCaHj se redujo significativamente en relación a DefNHj y CompHj ($p_{CN} = 0,0010$ - Tabla 2). A los 49 DDID (Fig. 2H), DefNHa disminuyó significativamente en comparación a DefNHj ($p_{PH} = 0,0063$ - Tabla 2), a DefCaHa y CompHa ($p_{CN} = 0,0303$ - Tabla 2), y a DefCaHj y CompHj ($p_{CN} \times PH = 0,0029$ - Tabla 2). DefCaHj y DefCaHa descendieron significativamente en relación a DefNHj y CompHj ($p_{CN} = 0,0303$ - Tabla 2) y a DefNHj ($p_{CN} \times PH = 0,0029$), respectivamente.

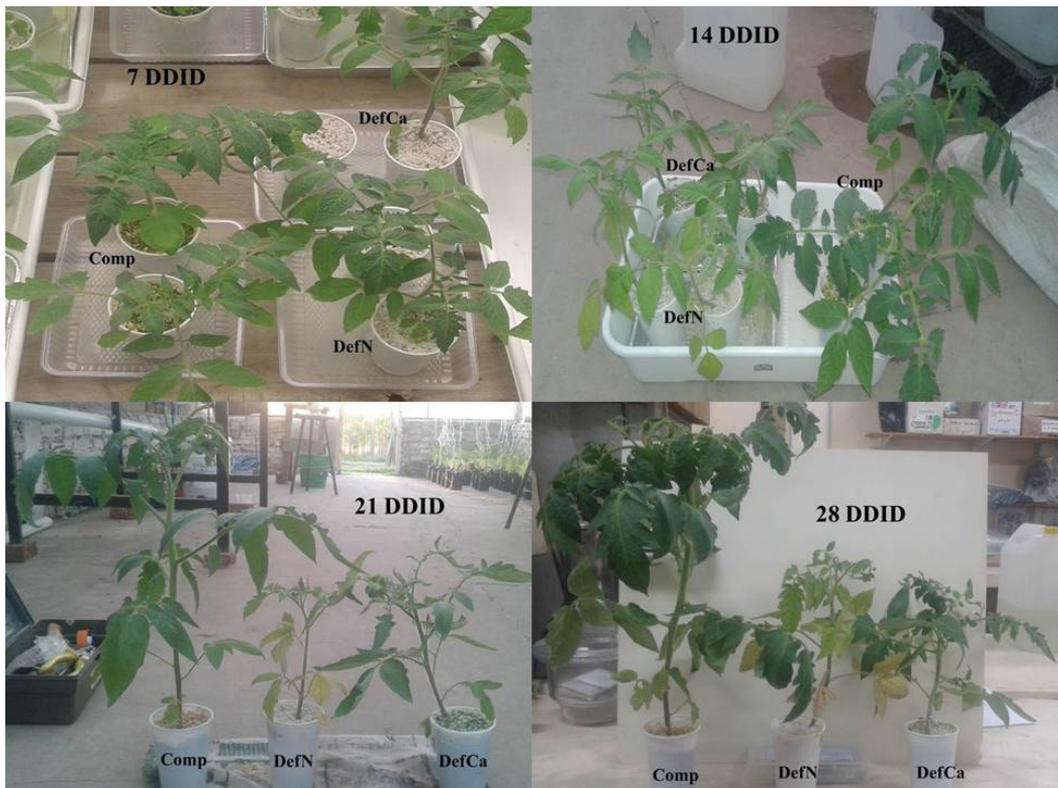


Figura 3. Evolución de los síntomas visuales de deficiencia de la CN DefN y DefCa, y aspecto general de la planta, en comparación con la CN Comp, los primeros 28 DDID.

Evolución de los síntomas en plantas de tomate bajo deficiencia de calcio y nitrógeno

A los 7 DDID no se visualizaron síntomas de deficiencia bajo DefN y DefCa en Hj y Ha. A los 14 DDID las plantas DefN evidenciaron coloración verde pálido en Ha. En DefCa se percibieron Hj con aspecto blanuzco



Figura 4. Plantas con deficiencia en calcio a los 49 DDID.



Figura 5. Plantas con deficiencia en nitrógeno a los 49 DDID.

y sus bordes doblados. A los 21 y 28 DDID se apreciaron plantas DefN con aspecto pálido en general, con clorosis más intensa en Ha, que envejecieron más rápidamente en comparación con Ha de Comp, y DefCa con muerte de puntos apicales. Ambas condiciones deficientes presentaron plantas de tamaño significativamente menor en relación a Comp.(Fig. 3). A los 49 DDID las plantas DefCa (Fig. 4) mostraron muerte de los puntos apicales, Hj deformes con las puntas hacia abajo, y raíces amarronadas. Las plantas DefN(Fig. 5) evidenciaron clorosis, principalmente en Ha, y entrenudos cortos y hojas de tamaño reducido. Las plantas Comp (Fig. 6) presentaron mayor crecimiento, vigor y altura con hojas color verde oscuro intenso.

El aumento de MS, desde los 28 a los 49 DDID, para Comp fue de 121,34 %, para DefN de 23,58% y para DefCa de 33% (Fig. 7).



Figura 6. Planta regada con solución completa a los 49 DDID.

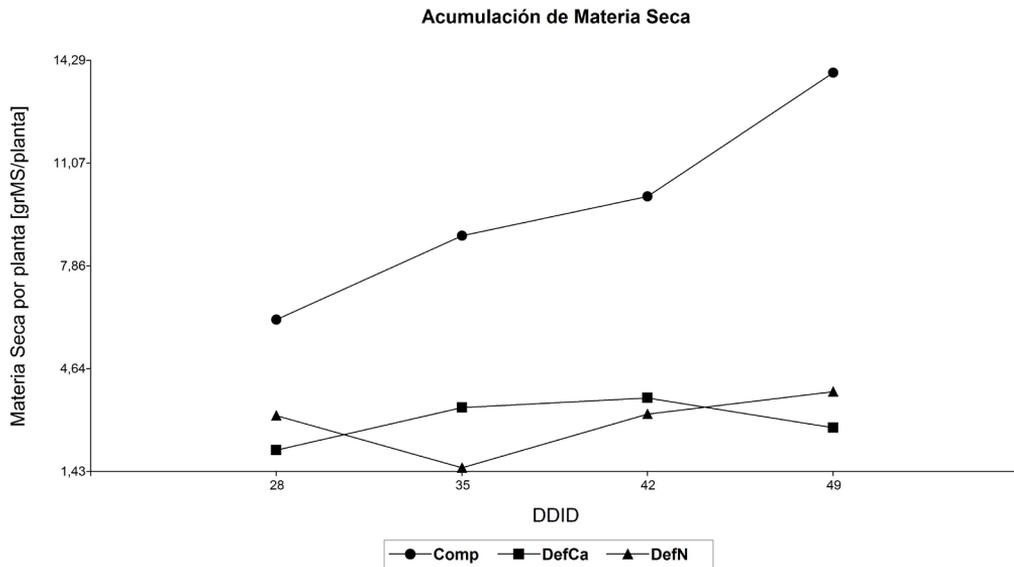


Figura 7. Acumulación de materia seca (MS) total para cada condición nutricional: Comp, DefCa y DefN, en cada uno de los DDID en los que se realizó muestreo. INFOSTAT V. 2020 (Di Rienzo *et al.* 2020).

Discusión

Parámetros de FChI, en hojas aclimatadas a la luz [fv'/fm'] y [fq'/fm'].

En las condiciones llevadas a cabo en el experimento, ambos parámetros de FChI se vieron afectados por los factores en estudio.

El parámetro fv'/fm' representa la eficiencia de los centros abiertos (oxidados) del PSII (Tambussi y Graciano, 2010). Cuando su aceptor primario de electrones (plastoquinona A - Q_A) se encuentra oxidado al máximo se interpreta como la eficiencia con la que los fotones absorbidos en los LHCII, se envían a los centros de reacción abiertos, también denominada "eficiencia de captura de excitación" (Demming - Adams *et al.*, 1996; Baker, 2008 y LICOR 2002).

El parámetro fq'/fm' proporciona una estimación de la fracción de fv'/fm' que se realiza de manera efectiva en la hoja bajo las condiciones ambientales durante la medición (Baker, 2008). Esta relación indica la proporción de luz absorbida que se utiliza realmente en la fotoquímica del PSII

(Murchie y Lawson, 2013), para impulsar el transporte de electrones fotosintéticos (Kalaji *et al.*, 2017a). De esta manera, se cuantifica la eficiencia del transporte lineal de electrones y la fracción de fotones que son absorbidos por las LHCII y utilizados en el PSII (Goltsev *et al.*, 2016), pudiendo así proporcionar información del proceso general de fotosíntesis (Maxwell y Jhonson, 2000).

Evaluación de parámetros de FChI en hojas aclimatadas a la luz bajo deficiencia de N

Respecto a fv'/fm' , DefNHa fue significativamente menor a DefNHj (21, 28, 35, 42 y 49 DDID), a CompHa (21, 28 y 49 DDID), a CompHj (21, 42 y 49 DDID), y a DefCaHa (21 y 49 DDID). En relación a fq'/fm' , DefNHa fue significativamente menor a DefNHj, DefCaHa y CompHa (7, 21, 28, 35, 42 y 49 DDID), a CompHj y DefCaHj (21, 28 y 49 DDID) (Fig. 2 - Tabla 2).

Descensos marcados de fq'/fm' en hojas de posición intermedia, han sido reportados bajo deficiencia de N, en árboles de olivo (Olea

europaea) (Boussadia *et al.*, 2015), y café (*Coffea arabica*) (Pereira de Souza *et al.*, 2020).

Luy Zhang, (2000), sugieren que la disminución de f_q'/f_m' en hojas con deficiencia de N es debido a una disminución significativa en la eficiencia de captura de la energía de excitación por los centros de reacción abiertos del PSII, lo cual estaría indicando la presencia de un mecanismo para regular a la baja el transporte de electrones fotosintéticos, de forma que la producción de ATP y NADPH estaría en equilibrio con la disminución en la capacidad de asimilación de CO_2 en plantas con deficiencia de N. Bajo la misma línea argumental Wu *et al.*, (2019), al registrar descensos marcados de f_q'/f_m' en maíz (*Zea mays*) en el tratamiento sin fertilización de N, indican que esta disminución refleja fotoinhibición a nivel de centros de reacción del PSII, perdiendo así el LHCII, la capacidad de conducir la energía de excitación hacia los centros de reacción del PSII.

La disminución de f_v'/f_m' representa un mayor nivel de disipación de la energía proveniente de la des-excitación de la molécula de Chl, por mecanismos no radiativos (térmicos) a nivel de LHCII (Tambussi y Graciano, 2010). Lu y Zhang, (2000) y Lu *et al.*, (2001) sugieren que puede establecerse una disipación no fotoquímica inducida por la luz, evidenciado por una disminución en f_v'/f_m' , en hojas con deficiencia de N. A nivel del PSII, una absorción insuficiente de N reduce la reserva de aceptores de electrones (Kalaji *et al.*, 2014b). Se consideran razonables estas reducciones marcadas de ambos parámetros de Fchl en DefNH_a, y no de DefNH_j, si se tiene en cuenta que bajo una deficiencia de N, al ser un elemento móvil en la planta, la misma prioriza su removilización desde hojas basales hacia tejidos en desarrollo, por lo que las hojas más adultas son las primeras en agotar su reserva de N (Kathpalia y Bhatla, 2018). Esta removilización de N foliar, tiene como principal componente, aquél destinado a fotosíntesis (enzima Rubisco y N tilacoidal) (Mu y Chen, 2021). En este sentido es importante considerar que la molécula de Chl se localiza en la membrana tilacoidal de los cloroplastos,

interviene directamente en el proceso de absorción, transmisión y conversión de la energía luminosa, y se distribuye en los complejos pigmento - proteína, del PSI (30%), PSII (14%), y en los LHC periféricos (56%). De acuerdo a esta distribución, y al costo de nitrógeno proteico por molécula de clorofila en cada complejo, se ha determinado un costo de nitrógeno promedio ponderado, para la absorción, transmisión y conversión de luz, de 37,3 moles de N mol⁻¹ de Chl (De las Rivas, 2013b y Evans y Clarke, 2019).

Diversas investigaciones han dejado en evidencia la asociación directa que existe entre las concentraciones de Chl y N en hoja, al reportar disminuciones significativas en el contenido de Chl en hojas bajo deficiencia de N (Živčák *et al.*, 2014a,b). Kalaji *et al.*, 2017b encontraron bajo deficiencia de N, una disminución del 51% de Chl en maíz, y del 48,2% en tomate. Estos antecedentes se corroborarían aquí, dado que las hojas bajo deficiencia de N, en particular las hojas adultas, estuvieron más desprovistas de N de acuerdo a los síntomas visualizados (Fig. 3 y 5), por lo tanto, y aunque no fue medido en este trabajo, también de Chl, favoreciendo así el desmantelamiento del aparato fotosintético con el paso del tiempo desde el inicio del período de deficiencia. En tales hojas las proteínas se hidrolizan (proteólisis) resultando en un colapso de los cloroplastos, y en consecuencia en una disminución del contenido de Chl (Mengel y Kirkby, 2000).

En algunas investigaciones (Živčák *et al.*, 2014b y Horaczek *et al.*, 2020) no se han encontrado diferencias significativas en el parámetro f_v'/f_m' medido en hojas jóvenes con deficiencia de N, en relación a un testigo. Si se han encontrado diferencias en hojas adultas en comparación con un control (Živčák *et al.* 2014a), para lo cual los autores sugieren que esto ocurre así, debido al inicio de la senescencia foliar, y la consecuente removilización de N hacia tejidos en desarrollo, durante una deficiencia de N.

Mediciones en simultáneo, en dos hojas en el mismo tallo, permiten detectar la pérdida de la capacidad fotosintética en la hoja inferior debido a la removilización de N, que está

directamente relacionada con el nivel de deficiencia de nitrógeno (Živčák *et al.* 2014b). Resulta llamativo el hecho de que luego de 40 días o más de deficiencia, el tratamiento DefNHj no presente valores medios de ambos parámetros de FChI significativamente menores respecto a Comp en Hj y Ha (Fig. 2). Probablemente esto ocurrió de esta manera, debido a que la planta durante los 56 días bajo solución completa (período previo a la diferenciación de tratamientos) acumuló suficiente N, que luego removilizó hacia estructuras más jóvenes, durante el período de deficiencia, sin agotar sus reservas en dichos tejidos.

Si bien las plantas se encontraban bajo media sombra en el invernáculo expuestas a niveles bajos de luz PAR ambiental, se sugiere que los valores más bajos de fv'/fm' para DefNHa indican una menor capacidad para utilizar la energía de excitación a través del transporte de electrones fotosintéticos (Demming - Adams *et al.*, 1996), por haberse encontrado aclimatadas a un menor nivel de luz PAR, mientras que las plantas de DefNHj se hayan encontrado aclimatadas a un nivel mayor de luz (en relación a Ha), destinando así mayor proporción de fotones a la vía fotoquímica, disminuyendo el nivel de energía proveniente de la des-excitación de la molécula de Chl que se disipa en forma de calor, y así poder mantener valores más altos de fv'/fm' .

Evaluación de parámetros de FChI en hojas aclimatadas a la luz bajo deficiencia de Ca

Respecto a fv'/fm' , DefCaHj fue significativamente menor a CompHj (7, 21 y 49 DDID), y a DefNHj (21 y 49 DDID). En relación a fq'/fm' , DefCaHj fue significativamente menor a DefNHj y CompHj (21 y 49 DDID) (Fig. 2 - Tabla 2).

Es conocido el hecho de que el Ca posee escasa movilidad debido su baja concentración en la savia del floema (White, 2012), lo cual se evidenció en hojas jóvenes deformes con las puntas hacia abajo (Fig. 4). Se puede entender esta reducción, al tener en cuenta que una deficiencia de Ca puede llegar a generar disminución en el contenido total de Chl, de

acuerdo a lo reportado por Kalaji *et al.*, 2017b en maíz (70,1%) y tomate (48,6%), y por De Souza Osorio *et al.*, 2020 en poroto.

Es pertinente considerar que el Ca, a nivel del PSII, interviene en el complejo oxidante del agua al conformar el grupo Mn_4CaO_5 durante la fotólisis de la molécula de agua en la primera etapa de la fotosíntesis (Najafpour *et al.*, 2020). También juega un papel importante en el transporte de electrones (Hochmal *et al.*, 2015 y Huang *et al.*, 2017).

A los 7 DDID (Fig. 2C) los valores de fv'/fm' y fq'/fm' de todos los tratamientos, disminuyeron respecto a los demás momentos de medición. Si bien en este trabajo no se compararon estadísticamente los valores de cada parámetro de FChI entre momentos de medición debido a que la intensidad de la radiación actínica aplicada fue distinta, por lo que no se puede afirmar si corresponden a diferencias significativas, se podría atribuir esta reducción a la temperatura máxima alcanzada ese día (Fig. 1). El estrés por calor provoca cambios en las propiedades de reducción-oxidación de los aceptores de PSII afectando así la eficiencia del transporte de electrones y el complejo oxidante del agua (Brestic y Zivcak 2013; van der Westhuizen *et al.*, 2020 y Yan *et al.*, 2021).

El descenso sostenido en el tiempo del rendimiento cuántico efectivo o actual (fq'/fm') en DefNHa indica que existió una considerable limitación fotoquímica en hojas muy desprovistas de N (Ha) en relación a Hj con DefN, hojas carentes de Ca y nutridas en forma completa. La ausencia de diferencia significativa sostenida en el tiempo para ambos parámetros de FChI, entre DefCaHj y los tratamientos de CN Comp, sugiere que en las hojas con DefCa no se restringió fuertemente la actividad fotoquímica, como ocurrió en Ha bajo DefN.

Caracterización de los síntomas de deficiencia. Deficiencia de N

El síntoma visual más destacado de la deficiencia de N son las hojas adultas cloróticas, donde la clorosis se propaga

uniformemente por toda la hoja debido a la reducción de la síntesis de clorofila o a la descomposición de las proteínas de unión a la clorofilas existentes en los fotosistemas. En particular en tomate se presenta clorosis general con antocianosis en nervaduras y en la cara abaxial de las hojas (de Bang *et al.*, 2020).

A partir de los 14 DDID se comenzaron a visualizar síntomas de deficiencia de N, como ser palidez en Ha que fueron progresando a una clorosis intensa acompañado de una reducción generalizada en el crecimiento de toda planta hacia los 49 DDID (Fig. 3, 5 y 7). Estos resultados son similares a los observados por Souza Maia *et al.*, 2019 en plantas de tomate cherry (*Solanum lycopersicum var. cerasiforme*) a los 60 días de mantener una reducción del 75% de N en la solución nutritiva.

En una primera etapa del período de deficiencia la tasa de elongación de la hoja se reduce sin afectar la fotosíntesis, el crecimiento de las raíces se mantiene o incluso se estimula mediante el transporte de carbono asimilado hacia las raíces, lo que da como resultado una menor proporción de biomasa de vástago/raíces. En una segunda fase se desencadena la descomposición de los ácidos nucleicos y las proteínas de las hojas, asociado con su senescencia, y con la descomposición de la enzima Rubisco, conduciendo a una disminución de la capacidad fotosintética máxima, lo que finalmente inhibe el crecimiento de toda la planta (Hawkesford *et al.*, 2012).

Los resultados obtenidos en este trabajo señalan que en DefN se redujo severamente el contenido de clorofila, principalmente en Ha, su fotosíntesis, y por lo tanto la acumulación de biomasa y el crecimiento de las plantas de tomate, lo cual es congruente con el estado del aparato fotoquímico informado por f_q'/f_m' en DefNHa. Si bien a los 7 DDID no se apreciaron síntomas visibles (color y anatomía de hojas y tamaño de plantas) en DefNHa (Fig. 3), si se registraron valores medios significativamente menores de f_q'/f_m' (Fig. 2C).

Deficiencia de Ca

Los síntomas foliares típicos de la deficiencia de Ca son lesiones necróticas en los márgenes y puntas de las hojas, nervaduras de color marrón y deformidades. Durante la etapa vegetativa en tomate, la deficiencia Ca siempre afecta a las raíces antes que a la parte aérea, las mismas se vuelven marrones y el tejido se desintegra (de Bang *et al.*, 2020).

A partir de los 14 DDID las plantas DefCa se percibieron con sus H_j blanquesinas, evolucionando hacia la muerte de meristemas apicales, H_j deformes y una disminución brusca de crecimiento con raíces marrones al término del experimento (Fig. 3, 4 y 7). Sanz *et al.*, 2000, observaron la aparición de síntomas visuales en hojas jóvenes de tomate, a los 7 a 10 días, indicando que podrían reflejar el desencadenamiento de procesos irreversibles que conducen a la muerte de la planta, actuando la restricción de Ca como un potente inhibidor del crecimiento vegetativo. Cavalcante *et al.*, 2019 argumentan, a partir de resultados similares en sandía (*Citrullus lanatus*), que la carencia de Ca afectó el alargamiento celular y la división mitótica. En razón de que en los tejidos meristemáticos se requiere la presencia de este elemento para la división (formación de huso) y agrandamiento de las células, y en la formación de laminillas medias (Kathpalia y Bhatla, 2018) es que probablemente las hojas jóvenes presentaron un dobles hacia abajo.

Conclusiones

1. Las hojas adultas de tomate con deficiencia de N fueron las que sufrieron mayor limitación fotoquímica, a partir de los 7 días de iniciado el déficit nutricional.
2. A los 14 días de iniciado el período de déficit se comenzaron a evidenciar síntomas visuales en hojas adultas con carencia de nitrógeno y hojas jóvenes deficientes en calcio.
3. Es probable que mediante la medición de estos parámetros se puedan detectar alteraciones en el funcionamiento del aparato fotosintético en forma anticipada a la aparición de síntomas visuales, aunque para confirmarlo con mayor contundencia lo

apropiado serían mediciones de fluorescencia y registro de imágenes con mayor frecuencia. 4. El parámetro f_q/f_m' resultó ser el más sensible al efecto de las deficiencias nutricionales.

Referencias bibliográficas

- BALZARINI M.G., GONZALEZ L., TABLADA M., CASANOVES F., DI RIENZO J.A., ROBLEDO C.W. (2008). Manual del Usuario INFOSTAT. Córdoba, Argentina. Editorial Brujas, 336 p.
- BAKER, N. R. y ROSENQVIST, E. (2004). Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *Journal of Experimental Botany*, 55(403), p. 1607 - 1621.
- BAKER, N. R. (2008). Chlorophyll Fluorescence: A Probe of Photosynthesis In Vivo. *Annual Review of Plant Biology*, 59(1), 89 - 113.
- BOUSSADIA, O; STEPPE, K; VAN LABEKE, M-C; LEMEURE, R y BRAHAM, M. (2015). Effects of Nitrogen Deficiency on Leaf Chlorophyll Fluorescence Parameters in Two Olive Tree Cultivars 'Meski' and 'Koroneiki'. *Journal of Plant Nutrition*, 38:14, p. 2230 - 2246.
- BRESTIC M. y ZIVCAK M. (2013). PSII fluorescence techniques for measurement of drought and high temperature stress signal in plants: protocols and applications. In: Rout GR, Das AB (eds.) *Molecular stress physiology of plants*. Springer Dordrecht pp. 87-131.
- CÁRCOVA, J.; ABELEDO, G. y LÓPEZ PEREIRA, M. (2010). Análisis de la generación del rendimiento: crecimiento, partición y componentes (p. 73 - 98) En: PRODUCCIÓN DE GRANOS. Bases funcionales para su manejo. Satorre E.H. Bs. As. *Editorial Facultad de Agronomía UBA*, 816p.
- CAVALCANTE, V.S.; PRADO, R.M.; VASCONCELOS, R.L.; ALMEIDA, H.J. y SILVA, T.R. (2019). Growth and Nutritional Efficiency of Watermelon Plants Grown under Macronutrient Deficiencies. *HortScience*, 54(4), 738 - 742.
- CETNER, M. D., KALAJI, H. M., GOLTSEV, V., ALEKSANDROV, V., KOWALCZYK, K., BORUCKI, W., y JAJOO, A. (2017). Effects of nitrogen-deficiency on efficiency of light-harvesting apparatus in radish. *Plant Physiology and Biochemistry*, 119, p. 81 - 92.
- CHEN, C. T.; LEE, C. L. y YEH, D. M. (2018). Effects of Nitrogen, Phosphorus, Potassium, Calcium, or Magnesium Deficiency on Growth and Photosynthesis of Eustoma. *HortScience*, 53(6), p. 795 - 798.
- DE BANG, T. C., HUSTED, S., LAURSEN, K. H., PERSSON, D. P., y SCHJOERRING, J. K. (2020). The molecular-physiological functions of mineral macronutrients and their consequences for deficiency symptoms in plants. *New Phytologist*. 229: 2446–2469.
- DE LAS RIVAS, J. (2013a). La luz y el aparato fotosintético (p.131 - 154). En: Fundamentos de Fisiología Vegetal. Azcón Bieto, J. y Talón. Madrid. *M - H Interamericana*. 651 p.
- DE LAS RIVAS, J. (2013b). Utilización de la energía luminosa en la fotosíntesis (p. 155 - 172). En: Fundamentos de Fisiología Vegetal. Azcón Bieto, J. y Talón, M. Madrid. *M - H Interamericana*, 651 p.
- DE SOUZA OSÓRIO, C.R.W.; MARQUES TEIXEIRA, G.C.; BARRETO, R.F.; SILVA CAMPOS, C.N.; FREITAS LEAL, A.J.; TEODORO, P.E. y DE MELLO PRADO, R. (2020) Macronutrient deficiency in snap bean considering physiological, nutritional, and growth aspects. *PLoS ONE* 15(6).
- DEMMIG-ADAMS B, ADAMS III W, BARKER D, LOGAN B, BOWING D y VERHOEVEN A. (1996). Using chlorophyll fluorescence to assess the fraction of absorbed light allocated to thermal dissipation of excess excitation. *Physiol Plant* 98: 253–264.
- DI RIENZO, J. A.; MACCHIAVELLI, R. E. y CASANOVES, F. (2011). Modelos lineales mixtos: aplicaciones en InfoStat - 1a. ed. - Córdoba: Grupo Infostat. p. 248.
- DI RIENZO J.A., CASANOVES F., BALZARINI M.G., GONZALEZ L., TABLADA M., ROBLEDO C.W. (2020). InfoStat versión 2020. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>.
- EVANS, J. R., y CLARKE, V. C. (2019). The nitrogen cost of photosynthesis. *Journal of Experimental Botany*. 70 (1), p 7 - 15.

- GOLTSEV, V. N., KALAJI, H. M., PAUNOV, M., BAĀBA, W., HORACZEK, T., MOJSKI, J., KOCIEL, H. y ALLAKHVERDIEV, S. I. (2016). Variable chlorophyll fluorescence and its use for assessing physiological condition of plant photosynthetic apparatus. *Russian Journal of Plant Physiology*, 63(6), 869 - 893.
- HAWKESFORD, M.; HORST, W.; KICHEY, T.; LAMBERS, H.; SCHJOERRING, J.; MØLLER, I.S. y WHITE, P. (2012). Functions of Macronutrients (p.:135 - 189). En: Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants. Marschner, P. 3ª edición, USA. p. 651
- HOCHMAL, A. K., SCHULZE, S., TROMPELT, K., y HIPPLER, M. (2015). Calcium-dependent regulation of photosynthesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1847(9), 993 - 1003.
- HORACZEK, T., DĄBROWSKI, P., KALAJI, H.M., BACZEWSKA - DĄBROWSKA, A.H., PIETKIEWICZ, S., STĘPIEŃ, W. y GOZDOWSKI D. (2020). JIP - test as a tool for early detection of the macronutrients deficiency in Miscanthus plants. *Photosynthetica* 58 (SI), p. 507-517.
- HUANG, D., GONG, X., LIU, Y., ZENG, G., LAI, C., BASHIR, H.; ZHOU, L.; WANG, D.; XU, P., CHENG, M. y WAN, J. (2017). Effects of calcium at toxic concentrations of cadmium in plants. *Planta*, 245(5), 863 - 873.
- JIN, X., YANG, G., TAN, C., y ZHAO, C. (2015). Effects of nitrogen stress on the photosynthetic CO₂ assimilation, chlorophyll fluorescence and sugar-nitrogen ratio in corn. *Scientific Reports*, 5, 9311.
- KALAJI, H. M., OUKARROUM, A., ALEXANDROV, V., KOUZMANOVA, M., BRESTIC, M., ZIVCAK, M., SAMBORSKA, I.A., CETNER, M.D., ALLAKHVERDIEV, S.I., y GOLTSEV, V. (2014a). Identification of nutrient deficiency in maize and tomato plants by in vivo chlorophyll a fluorescence measurements. *Plant Physiology and Biochemistry*, 81, p. 16 - 25.
- KALAJI, H. M., JAJOO, A., OUKARROUM, A., BRESTIC, M., ZIVCAK, M., SAMBORSKA, I. A., CETNER, M., LUKASIK, I. GOLTSEV, V., LADLE, R., DABROWSKI, P y AHMAD, P. (2014b). The Use of Chlorophyll Fluorescence Kinetics Analysis to Study the Performance of Photosynthetic Machinery in Plants (37 p). Elsevier, p. 347 - 384.
- KALAJI H.M., GOLTSEV V.N., ŽUK - GOLASZEWSKA K., ZIVCAK, M. y BRESTIC, M. (2017a). Chlorophyll Fluorescence. Understanding Crop Performance: Basics and Applications. New York. CRC Press Taylor and Francis Group. p. 222.
- KALAJI, H.M.; DĄBROWSKI, P.; CETNER, M. D.; SAMBORSKA, I. A.; ŁUKASIK, I.; BRESTIC, M.; ZIVCAK, M.; HORACZEK, T.; MOJSKI, J.; KOCIEL, H.; y PANCHAL, B. M. (2017b) A comparison between different chlorophyll content meters under nutrient deficiency conditions, *Journal of Plant Nutrition*, 40:7, p 1024 - 1034.
- KALAJI, H.M., RASTOGI, A., ŽIVČÁK, M., BRESTIC, M., DASZKOWSKA-GOLEC, A., SITKO, K., ALSHARAF, K. Y., LOTFI, R., STYPIŃSKI, P., SAMBORSKA, I. A. y CETNER, M. D. (2018). Prompt chlorophyll fluorescence as a tool for crop phenotyping: an example of barley landraces exposed to various abiotic stress factors. *Photosynthetica*, 56(3), p. 953 - 961.
- KATHPALIA, R., y BHATLA, S. C. (2018). Plant Mineral Nutrition (p. 37 - 81). En: Plant Physiology, Development and Metabolism. Singapur, Springer. 1237 p.
- LALLANA, V.H.; LALLANA, M. C. (2014). Nutrición Vegetal (16 p.). 1era Ed. EDUNER, p 81 - 97.
- LONG SP, MARSHALL - COLON A, ZHU X-G. (2015). Meeting the global food demand of the future by engineering crop photosynthesis and yield potential. *Cell* 161. p. 56-66.
- LU, C., y ZHANG, J. (2000). Photosynthetic CO₂ assimilation, chlorophyll fluorescence and photoinhibition as affected by nitrogen deficiency in maize plants. *Plant Science*, 151 (2), p. 135 - 143.
- LU, C., ZHANG, J., ZHANG, Q., LI, L., y KUANG, T. (2001). Modification of photosystem II photochemistry in nitrogen deficient maize and wheat plants. *Journal of Plant Physiology*, 158 (11), p. 1423 - 1430.

- MAXWELL, K. y JOHNSON, G.N. (2000). Chlorophyll fluorescence - a practical guide. *Journal Experimental Botany*, 51 (345). p. 659 - 668.
- MENGEL, K. y KIRKBY, E.A. (2000). Principios de nutrición vegetal. 4° ed. Instituto Internacional del Potasio. Basilea, Suiza. p 607.
- MU, X., y CHEN, Y. (2021). The physiological response of photosynthesis to nitrogen deficiency. *Plant Physiology and Biochemistry* 158, p. 76 - 82.
- MURCHIE, E. H., & LAWSON, T. (2013). Chlorophyll fluorescence analysis: a guide to good practice and understanding some new applications. *Journal of Experimental Botany*, 64(13), 3983 - 3998.
- NAJAFPOUR, M. M., ZAHARIEVA, I., ZAND, Z., MAEDEH HOSSEINI, S., KOUZMANOVA, M., HOŁYŃSKA, M., TRANCA, I., LARKUM, A.W., SHEN, J. - R. y ALLAKHVERDIEV, S. I. (2020). Water - oxidizing complex in Photosystem II: Its structure and relation to manganese-oxide based catalysts. *Coordination Chemistry Reviews*, 409, 213183.
- PEREIRA DE SOUZA, B.; PRIETO MARTINEZ, H.E.; PAOLINELLI DE CARVALHO, F.; EHLERS LOUREIRO, M.; y PERMANHANE STURIÃO, W. (2020). Gas exchanges and chlorophyll fluorescence of young coffee plants submitted to water and nitrogen stresses. *Journal of Plant Nutrition*.
- PEREZ MOLINA, J.P.; CASTRO LARA, R., BRENES, I., TREJOS, V., TRAÑA, A. (2020). Chlorophyll fluorescence and biomass partitioning within light and nitrogen deficiency: An example of the use of the R programming language for teaching. *UNED Research Journal*, 12(1).
- PIRAYESH, N.: GIRIDHAR, M.: BEN KHEDHER, A.: VOTHKNECHT, U. C. y CHIGRI, F. (2021). Organellar calcium signaling in plants: An update. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1868 (4).
- SANZ M. A., BLANCO A. y VAL J. (2000). Inhibición del crecimiento de plantas de tomate por la deficiencia inducida de calcio. *ITEA*, 96(3), p. 207 - 217.
- SANZ, M. A., BLANCO, A., MONGE, J. y VAL, J. (2001). Caracterización de la deficiencia de calcio en plantas de tomate utilizando parámetros fisiológicos. *ITEA* 97(1), p. 26 - 38.
- SOUZA MAIA, J. T. L.; PRIETO MARTINEZ, H. E.; CLEMENTE, J.M.; VENTRELLA, M. C. y MILAGRES, C. (2019). Growth, nutrient concentration, nutrient accumulation and visual symptoms of nutrient deficiencies in cherry tomato plants. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, v. 40, n. 2, p. 585-598.
- SWOCZYNA, T.; LATA, B.; STASIAK, A.; STEFANIAK, J.; LATOCHA, P. (2019). JIP-Test in Assessing Sensitivity to Nitrogen Deficiency in Two Cultivars of *Actinidia Arguta* (Siebold et Zucc.) Planch. *Ex Miq. Photosynthetica*, 57 (2), p. 646 - 658.
- TAMBUSSI, E. y GRACIANO, C. (2010). La fluorescencia modulada de la clorofila: método del pulso saturante (p. 117 - 125). En: *TÉCNICAS DE MEDICIÓN EN ECOFISIOLOGÍA VEGETAL CONCEPTOS Y PROCEDIMIENTOS*. Fernandez, M.E. y Gyenge, J. Bs. As. *Ed. INTA*, 138 p.
- VAN DER WESTHUIZEN, M.M.; OOSTERHUIS, D.M.; BERNER, J.M. y BOOGAERS, N. (2020). Chlorophyll a fluorescence as an indicator of heat stress in cotton (*Gossypium hirsutum* L.), *South African Journal of Plant and Soil*.
- WHITE, P. J. (2012). Long-distance Transport in the Xylem and Phloem (p.:49 - 70). En: *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*. Marschner, P. 3° edición, USA. p. 651.
- WU, Y., LI, Q., JIN, R., CHEN, W., LIU, X., KONG, F., KE, Y., SHI, H. y YUAN, J. (2019). Effect of low - nitrogen stress on photosynthesis and chlorophyll fluorescence characteristics of maize cultivars with different low - nitrogen tolerances. *Journal of Integrative Agriculture*, 18(6), p. 1246 - 1256.
- YAN, Z.; MA, T.; GUO, S.; LIU, R. y LI, M. (2021). Leaf anatomy, photosynthesis and chlorophyll fluorescence of lettuce as influenced by arbuscular mycorrhizal fungi under high temperature stress. *Scientia Horticulturae* 280 - 109933.
- ZIVCAK M, OLSOVSKA K, SLAMKA P, GALAMBOSOVA J, RATAJ V, SHAO HB, BRESTIC M. (2014a). Application of

chlorophyll fluorescence performance indices to assess the wheat photosynthetic functions influenced by nitrogen deficiency. *Plant Soil Environ*, 60:5, p. 210 - 215.

ZIVCAK, M., K. OLISOVSKA, P. SLAMKA, J. GALAMBOSOVA, V. RATAJ, H. B. SHAO, M. H. KALAJI, y M. BRESTIC. (2014b). Measurements of chlorophyll fluorescence

in different leaf positions may detect nitrogen deficiency in wheat. *Zemdirbyste Agriculture*, 101:4, p. 437 - 444.

Documentos consultados

1. Using the LI-6400. Portable Photosynthesis System. LI-COR Biosciences, Inc. 5th Printing July, 2002 - OPEN Software version 5.0. Lincoln, Nebraska. p 1106.

Original recibido (29/12/22)
Original aceptado (29/08/23)