

**EFFECTOS DEL BORO EN LA PRODUCCIÓN DE BULBOS Y CALIDAD DE
FLOR EN *Tulipa gesneriana* cv Rococo**

Segundo Evaristo Bobadilla

Ingeniero Agrónomo

Universidad Nacional del Comahue 1991

Magíster Scientiae

Área: Agricultura Intensiva en Zonas Áridas y Semiáridas de la Argentina

Escuela para Graduados Alberto Soriano

Convenio Facultad de Agronomía – UBA

Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA)

2009

Comité Consejero

Consejero Principal

Claudio Alejandro Chimenti

Ingeniero Agrónomo, Facultad de Agronomía, UBA, 1982

Magíster Scientiae Área Producción Vegetal, Escuela para Graduados, Facultad de
Agronomía, UBA, 1991

Primer Consejero

Michelle Zaccai

Ph.D Weizmann Institute of Science, Department of Plant Genetics

Segundo Consejero

Jurado de tesis

Doctor Enrique E. Sánchez

Doctor Gerardo Rubio

Agradecimiento:

A Claudio Chimenti, mi Director de Tesis, por su acompañamiento y guía durante todo el desarrollo de la tesis.

A los Doctores Enrique Sánchez y Gerardo Rubio por sus importantes aportes.

Al INTA por su apoyo para realizar mi Maestría y en especial a mis compañeros Teddy, Osvaldo, Guillermo Martín y Cristina, de la Estación Experimental Agroforestal Esquel y a Anabel de CORFO Chubut, por su constante comprensión y acompañamiento.

Dedicatoria:

A mi familia, especialmente a mis padres Ana y Evaristo por su paciencia y constante apoyo.

INDICE GENERAL

Indice de tablas	VI
Indice de gráficos	XII
Indice de figuras	XVI
Declaración	XVIII
Abreviaturas	XIX
Resumen	XXI
Abstract	XXIII
Capítulo 1: Introducción	1
Capítulo 2: Materiales y Métodos	23
2.1 Primer etapa: producción de bulbos.	28
2.2 Segunda etapa: producción de flores.	40
Capítulo 3: Resultados	51
3.1 Producción de bulbos	51
3.2 Producción de flor en maceta	55
Capítulo 4: Discusión	65
Capítulo 5: Conclusiones	73
Bibliografía	75
Anexo 1: Copias análisis de suelos	93
Anexo 2: Técnicas analíticas	97
Anexo 3: Tablas de resultados	103

INDICE DE TABLAS

Tabla 2.1: Análisis de agua del Arroyo Blanco utilizada para la preparación de las soluciones nutritivas (Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Cátedra de Edafología).

Tabla 2.2: Análisis de arena volcánica (Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Cátedra de Edafología).

Tabla 2.1.1: Concentraciones de boro en las soluciones Johnson utilizadas para el fertirriego, aplicado en forma continua, durante la etapa de producción de bulbos.

Tabla 2.2.1: Concentración de boro en bulbos (Laboratorio de Servicios Analíticos Especiales Lab FAUBA, Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires) obtenidos durante la primer etapa con diferentes concentraciones de B en solución nutritiva. Las distintas concentraciones de B en bulbo representaron los tratamientos de la etapa de producción de flor en maceta.

Tabla 3.1.1: Concentración de B en bulbos cultivados en un sustrato de arena volcánica fertirrigados con soluciones Johnson con tres concentraciones distintas de B (T_0 : 0,0 mg/l, T_1 : 0,271 mg/l y T_2 : 1.352 mg/l) comparados con la concentración inicial del microelemento previo al inicio de los tratamientos (inicial). Los valores representan el promedio \pm ES ($n= 20$). Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$). DMS: diferencia mínima significativa para una $p \leq 0,05$.

Tabla 3.1.2: Tasa de multiplicación (TM: n° de bulbos obtenidos /bulbo plantado) producidos en sustrato de arena volcánica con tres concentraciones de B en solución (T_0 : 0,0 mg/l, T_1 : 0,271 mg/l y T_2 : 1.352 mg/l). Los valores indican el promedio \pm ES ($n= 100$). Letras distintas indican diferencias significativas para $p \leq 0,05$. DMS: diferencia mínima significativa para una $p \leq 0,05$.

Tabla 3.1.3: Tamaño de los bulbos obtenidos de un cultivo de tulipán cv Rococo producidos sobre un sustrato de arena volcánica con diferentes concentraciones de B en solución (T_0 : 0,0 mg/l, T_1 : 0,271 mg/l y T_2 : 1.352 mg/l). Los valores indican el promedio \pm ES ($n= 100$). Letras distintas indican diferencias significativas para $p \leq 0,05$. DMS: diferencia mínima significativa para una $p \leq 0,05$.

Tabla 3.1.4: Peso de bulbos por bulbo plantado de plantas de tulipán cultivadas en un sustrato de arena volcánica con diferentes concentraciones de B en solución (T_0 : 0,0 mg/l, T_1 : 0,271 mg/l y T_2 : 1.352 mg/l). Los valores indican el promedio \pm ES ($n=100$). Letras distintas indican diferencias significativas para $p \leq 0,05$. DMS: diferencia mínima significativa para una $p \leq 0,05$.

Tabla 3.1.5: Concentración de azúcares solubles (expresados como % de glucosa) en bulbos de plantas de tulipán cv Rococo cultivadas en sustrato de arena volcánica con diferentes concentraciones de boro en solución (T_0 : 0,0 mg/l, T_1 : 0,271 mg/l y T_2 : 1.352 mg/l). Los valores indican el promedio \pm ES ($n= 20$). Letras distintas indican diferencias significativas para $p \leq 0,05$. DMS: diferencia mínima significativa para una $p \leq 0,05$.

Tabla 3.2.1: Peso seco de raíces, al momento de plena floración, de plantas de tulipán cv Rococo, producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido, T_{bf0} : 7mg/kg, T_{bf1} : 9,2 mg/kg y T_{bf2} : 20,9 mg/kg. Los valores indican el promedio +/- ES (n=20). Letras distintas indican diferencias significativas para $p \leq 0,05$. DMS: diferencia mínima significativa para una $p \leq 0,05$.

Tabla 3.2.2: Largo de raíces, al momento de plena floración, en plantas de tulipán cv Rococo producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido, T_{bf0} : 7mg/kg, T_{bf1} : 9,2 mg/kg y T_{bf2} : 20,9 mg/kg. Los valores indican el promedio +/- ES (n=20). Letras distintas indican diferencias significativas para $p \leq 0,05$. DMS: diferencia mínima significativa para una $p \leq 0,05$.

Tabla 3.2.3: Concentración de clorofila, al momento de plena floración, en hojas de plantas de tulipán cv Rococo, producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido, T_{bf0} : 7mg/kg, T_{bf1} : 9,2 mg/kg y T_{bf2} : 20,9 mg/kg. Los valores indican el promedio +/- ES (n=20). Letras distintas indican diferencias significativas para $p \leq 0,05$. DMS: diferencia mínima significativa para una $p \leq 0,05$.

Tabla 3.2.4: Peso seco, peso fresco y relación entre ambos en hojas al momento de plena floración, en plantas de tulipán cv Rococo producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido, T_{bf0} : 7mg/kg, T_{bf1} : 9,2 mg/kg y T_{bf2} : 20,9 mg/kg. Los valores indican el promedio +/- ES (n=20). Letras distintas indican diferencias significativas para $p \leq 0,05$. DMS: diferencia mínima significativa para una $p \leq 0,05$.

Tabla 3.2.5: Área foliar determinada al momento de plena floración, en plantas de tulipán cv Rococo producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido, T_{bf0} : 7mg/kg, T_{bf1} : 9,2 mg/kg y T_{bf2} : 20,9 mg/kg. Los valores indican el promedio +/- ES (n=20). Letras distintas indican diferencias significativas para $p \leq 0,05$. DMS: diferencia mínima significativa para una $p \leq 0,05$.

Tabla 3.2.6: Diámetro de la vara floral a nivel de suelo, al momento de plena floración, de plantas de tulipán cv Rococo, producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido, T_{bf0} : 7mg/kg, T_{bf1} : 9,2 mg/kg y T_{bf2} : 20,9 mg/kg. Los valores indican el promedio +/- ES (n=20). Letras distintas indican diferencias significativas para $p \leq 0,05$. DMS: diferencia mínima significativa para una $p \leq 0,05$.

Tabla 3.2.7: Diámetro de la vara floral en el punto de inserción de los tépalos, al momento de plena floración, en plantas de tulipán cv Rococo, producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido, T_{bf0} : 7mg/kg, T_{bf1} : 9,2 mg/kg y T_{bf2} : 20,9 mg/kg. Los valores indican el promedio +/- ES (n=20). Letras distintas indican diferencias significativas para $p \leq 0,05$. DMS: diferencia mínima significativa para una $p \leq 0,05$.

Tabla 3.2.8: Largo de la vara floral en el punto de inserción de los tépalos, al momento de plena floración, en plantas de tulipán cv Rococo, producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido, T_{bf0} : 7mg/kg, T_{bf1} : 9,2

mg/kg y T_{bf2} : 20,9 mg/kg. Los valores indican el promedio +/- ES (n=20). Letras distintas indican diferencias significativas para $p \leq 0,05$. DMS: diferencia mínima significativa para una $p \leq 0,05$.

Tabla 3.2.9: Longitud de cada entrenudo de la vara floral, al momento de plena floración, de plantas de tulipán cv Rococo, producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido, T_{bf0} : 7mg/kg, T_{bf1} : 9,2 mg/kg y T_{bf2} : 20,9 mg/kg. Los valores indican el promedio +/- ES (n=20) Letras distintas indican diferencias significativas para $p \leq 0,05$. DMS: diferencia mínima significativa para una $p \leq 0,05$.

Tabla 3.2.10: Diámetro de la flor, medido en el momento de plena floración, en plantas de tulipán cv Rococo producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido, T_{bf0} : 7mg/kg, T_{bf1} : 9,2 mg/kg y T_{bf2} : 20,9 mg/kg. Los valores indican el promedio +/- ES (n=20). Letras distintas indican diferencias significativas para $p \leq 0,05$. DMS: diferencia mínima significativa para una $p \leq 0,05$.

Tabla 3.2.11 Peso fresco de tépalos, medidos en el momento de plena floración, en plantas de tulipán cv Rococo producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido, T_{bf0} : 7mg/kg, T_{bf1} : 9,2 mg/kg y T_{bf2} : 20,9 mg/kg. Los valores indican el promedio +/- ES (n=20). Letras distintas indican diferencias significativas para $p \leq 0,05$. DMS: diferencia mínima significativa para una $p \leq 0,05$.

Tabla 3.2.12: Ancho de tépalos, medidos en el momento de plena floración, en plantas de tulipán cv Rococo producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido, T_{bf0} : 7mg/kg, T_{bf1} : 9,2 mg/kg y T_{bf2} : 20,9 mg/kg. Los valores indican el promedio +/- ES (n=20). Letras distintas indican diferencias significativas para $p \leq 0,05$. DMS: diferencia mínima significativa para una $p \leq 0,05$.

Tabla 3.2.13: Largo de tépalos, medidos en el momento de plena floración, en plantas de tulipán cv Rococo producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido, T_{bf0} : 7mg/kg, T_{bf1} : 9,2 mg/kg y T_{bf2} : 20,9 mg/kg. Los valores indican el promedio +/- ES (n=20). Letras distintas indican diferencias significativas para $p \leq 0,05$. DMS: diferencia mínima significativa para una $p \leq 0,05$.

Tabla 3.2.14: Concentración de antocianinas (mg/mm^2) en los tépalos de flor de plantas de tulipán producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido, T_{bf0} : 7mg/kg, T_{bf1} : 9,2 mg/kg y T_{bf2} : 20,9 mg/kg. Los valores indican el promedio +/- ES (n=20). Letras distintas indican diferencias significativas para $p \leq 0,05$. DMS: diferencia mínima significativa para una $p \leq 0,05$.

INDICE DE GRAFICOS

Gráfico 1.1: Superficie de frutilla implantada destinada a la producción de plantines de frutilla en el Noroeste de la provincia de Chubut. Fuente: SENASA Esquel–Chubut. Centro Regional Patagonia Sur – Abril 2009. Ing. Agr. Marcela E. Schiappacassi, Area Vegetal.

Gráfico 1.2: Comparación de las temperaturas promedio mensuales de Andijk (Holanda) y Trevelin según la estación del año (Diacinti A, et al., 2004).

Gráfico 2.1.1: temperaturas medias mensuales (julio 2002-enero 2003) registradas a través de la estación meteorológica automatizada modelo Groweather™ Console, Davis Instruments, USA durante el ciclo de cultivo de tulipán para producción de bulbos.

Gráfico 2.2.1: Tratamiento de temperaturas efectuado luego de alcanzado el estado “G” y hasta floración para la producción de flores en maceta de tulipán cv Rococo.

Gráfico 2.2.2: temperaturas medias mensuales registradas a través de la estación meteorológica automatizada modelo Groweather™ Console, Davis Instruments, USA, que incluyen los meses en que se realizó la etapa de invernáculo del forzado para producción de flor en maceta.

Gráfico 3.1.1: Concentración de B en bulbos (n=20) y tasa de multiplicación (n=100) cultivados en un sustrato de arena volcánica fertirrigados con soluciones Johnson con tres concentraciones distintas de B (T_0 : 0,0 mg/l, T_1 : 0,271 mg/l y T_2 : 1,352 mg/l) comparados con el contenido inicial del microelemento previo al inicio de los tratamientos (inicial). Las columnas representan los valores promedio +/- ES. Letras distintas en las columnas significan diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

Gráfico 3.1.2: Tamaño de bulbos producidos (n=100) y peso de bulbos obtenidos por planta (n=100), en plantas de tulipán cv Rococo, cultivadas en un sustrato de arena volcánica fertirrigadas con soluciones Johnson con tres concentraciones distintas de B (T_0 : 0,0 mg/l, T_1 : 0,271 mg/l y T_2 : 1,352 mg/l). Las columnas representan los valores promedio +/- ES. Letras distintas en las columnas significan diferencias significativas ($p \leq 0,05$) para cada parámetro evaluado.

Gráfico 3.1.3: Concentración de azúcares solubles en bulbo (expresados como porcentaje de glucosa) (n=20) de plantas de tulipán cv Rococo, cultivadas en un sustrato de arena volcánica fertirrigadas con soluciones Johnson con tres concentraciones distintas de B (T_0 : 0,0 mg/l, T_1 : 0,271 mg/l y T_2 : 1,352 mg/l). Las columnas representan los valores promedio +/- ES. Letras distintas en las columnas significan diferencias significativas ($p \leq 0,05$) para cada parámetro evaluado.

Gráfico 3.2.1: Peso seco y longitud de raíces medidos al momento de plena floración, en plantas de tulipán cv Rococo, producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido (T_{bf0} : 7 mg/kg, T_{bf1} : 9,2 mg/kg, T_{bf2} : 20,9 mg/kg). Las columnas indican los valores promedios +/- ES (n=20). Letras

distintas en las columnas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en los parámetros evaluados.

Gráfico 3.2.2: Concentración de clorofila en hojas medidas al momento de plena floración, en plantas de tulipán cv Rococo, producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido (T_{bf0} : 7 mg/kg, T_{bf1} : 9,2 mg/kg, T_{bf2} : 20,9 mg/kg). Las columnas indican los valores promedios \pm ES ($n=20$). Letras distintas en las columnas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en el parámetro evaluado.

Gráfico 3.2.3: Peso seco, peso fresco y relación entre los mismos medidos al momento de plena floración, en plantas de tulipán cv Rococo, producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido (T_{bf0} : 7 mg/kg, T_{bf1} : 9,2 mg/kg, T_{bf2} : 20,9 mg/kg). Las columnas indican los valores promedios \pm ES ($n=20$). Letras distintas en las columnas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en el parámetro evaluado.

Gráfico 3.2.4: Área foliar total por planta medida al momento de plena floración, en plantas de tulipán cv Rococo, producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido (T_{bf0} : 7 mg/kg, T_{bf1} : 9,2 mg/kg, T_{bf2} : 20,9 mg/kg). Las columnas indican los valores promedios \pm ES ($n=20$). Letras distintas en las columnas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en el parámetro evaluado.

Gráfico 3.2.5: Diámetros a nivel del suelo y en la inserción de los tépalos y longitud de la vara floral (incluyendo la flor) medidos al momento de plena floración, en plantas de tulipán cv Rococo, producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido (T_{bf0} : 7 mg/kg, T_{bf1} : 9,2 mg/kg, T_{bf2} : 20,9 mg/kg). Las columnas indican los valores promedios \pm ES ($n=20$). Letras distintas en las columnas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en el parámetro evaluado.

Gráfico 3.2.6: Longitud de cada entrenudo al momento de plena floración, en plantas de tulipán cv Rococo, producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido (T_{bf0} : 7 mg/kg, T_{bf1} : 9,2 mg/kg y T_{bf2} : 20,9 mg/kg). Las columnas indican los valores promedio \pm ES ($n=20$). Letras distintas en las columnas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en los parámetros evaluados.

Gráfico 3.2.7: Diámetro de flor y largo, ancho y peso fresco de tépalos medidos al momento de plena floración, en plantas de tulipán cv Rococo, producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido (T_{bf0} : 7 mg/kg, T_{bf1} : 9,2 mg/kg, T_{bf2} : 20,9 mg/kg). Las columnas indican los valores promedios \pm ES ($n=20$). Letras distintas en las columnas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en el parámetro evaluado.

Gráfico 3.2.8: Concentración de antocianinas en tépalos medidas al momento de plena floración, en plantas de tulipán cv Rococo, producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido (T_{bf0} : 7 mg/kg, T_{bf1} : 9,2 mg/kg y T_{bf2} : 20,9 mg/kg). Las columnas indican los valores promedios \pm ES ($n=20$). Letras distintas en las columnas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en los parámetros evaluados.

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.1: vista de la sección vertical de un bulbo de tulipán en estado de reposo. Adaptado de Bañón Arias et al, 1993.

Figura 1.2: Esquema del ciclo anual de crecimiento y desarrollo de una planta de tulipán que produce flor. (A): paquete de bulbos cosechado; (B): Bulbo principal separado; (C): bulbo madre con primordios radicales y florales altamente desarrollados, previo a plantación; (D): bulbo enraizado bajo las condiciones medioambientales de invierno; (E): Bulbo madre en el estado de floración. Adaptado de De Hertogh, 1999.

Figura 2.1.1: Vista de las macetas de polietileno bicolor de 500 micrones conteniendo un sustrato de arena volcánica en el momento de plantación de tres líneas de bulbos de tulipán, *Tulipa gesneriana* cv Rococo, tamaño 8.

Figura 2.1.2: Vista general del experimento de producción de bulbos donde pueden apreciarse las macetas construidas en plástico bicolor, la disposición de las mismas, la cobertura plástica, la plataforma con los tanques conteniendo las soluciones nutritivas y, parcialmente, la ubicación de la estación meteorológica automática.

Figura 2.1.3: Flores de plantas de tulipán var. Rococo presentando síntomas de Tulip Breacking Virus (TBV). Nótese las coloraciones amarillas (flechas en flor de la derecha) y las tonalidades rojo oscuro en tépalos (flechas en flor de la izquierda) producidos por este virus. Todas las plantas del ensayo que presentaron estos síntomas fueron eliminadas.

Figura 2.1.4: Vista de la plataforma de 5 metros de altura, construida en madera, sobre la cual fueron colocados los tanques de plástico que contenían las soluciones nutritivas Johnson con diferentes concentraciones de boro según tratamiento.

Figura 2.1.5: Vista del ensayo de producción de bulbos de tulipán donde se observa el riego por goteo con dos líneas por maceta de tubería de polietileno con goteros auto compensados antidrenantes separados 20 cm entre sí y la estación meteorológica automática modelo Groweather™ Console, Davis Instruments, USA, en una etapa del cultivo cercana a plena floración.

Figura 2.1.6: Bulbos de tulipán limpios, clasificados y tratados con insecticidas y funguicidas, listos para comenzar el tratamiento de temperaturas en cámara.

Figura 2.2.1: Bulbo de tulipán, luego del tratamiento en seco durante 5 semanas a 9 °C y que será plantado en macetas tamaño 14 en sustrato de arena volcánica, y colocados a 5 °C en la cámara de enraizamiento hasta el 22 de agosto.

Figura 2.2.2: Momento en que se realizó la plantación de los bulbos en macetas sobre sustrato de arena volcánica previo a ser colocados en la cámara de enraizamiento.

Figura 2.2.3: Bulbo plantado en sustrato de arena volcánica, listo para tratamiento frío a 5 °C en cámara de enraizamiento.

Figura 2.2.4: Estado de las plantas de tulipán al 22 de agosto luego del tratamiento en cámara a 5 °C, con un largo de los brotes que oscilaba entre 2 y 3 cm, listas para ser transferidas a invernadero.

Figura 2.2.5: Vista general de la etapa de invernadero del forzado para producción de flores en maceta, en el momento de plena floración. Puede observarse también la disposición del riego por goteo y la estación meteorológica automatizada modelo Groweather™ Console, Davis Instruments, USA.

Figura 2.2.6: Al momento de plena floración se efectuó la medición del contenido de clorofila a través del clorofilómetro SPAD-502 de Minolta

DECLARACIÓN

“Declaro que el material incluido en esta tesis es, a mi mejor saber y entender, original, producto de mi propio trabajo (salvo en la medida en que se identifiquen explícitamente las contribuciones de otros) y que este material no se ha presentado, en forma parcial o total, como una tesis en ésta u otra institución”.

ABREVIATURAS

AIA: ácido indol acético
ARN: ácido ribo nucleico
B: boro
C: carbono
°C: grado centígrado
Ca: calcio
Ca⁺⁺: ión calcio
Ca(NO₃)₂: nitrato de calcio
Ca(H₂PO₄)₂: fosfato diácido de calcio
Cc: centímetro cúbico
CE: conductividad eléctrica
CIC: capacidad de intercambio catiónico
Cl⁻: cloruro
Cm: centímetros
CO₃⁼: carbonato
CO₃H⁻: bicarbonato
Cu: cobre
Cu SO₄: sulfato cúprico
Cv: cultivar
DMS: diferencia mínima significativa
EEUU: Estados Unidos de América
ES: error estándar
Fe: hierro
FOB: free on board
g: gramos
has: hectáreas
hl: hectolitro
hs: horas
H₃BO₃: ácido bórico
HCl: ácido clorhídrico
H₂MoO₄: ácido molibdico
H₂O: agua
H₂SO₄ (c): Acido sulfúrico concentrado
INTA: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria

JICA: Japanese Internacional Cooperation Agency
K⁺: ion potasio
KCl: cloruro de potasio
KNO₃: nitrato de potasio
Kg: kilogramo
l: litro
M: molar
m: metro
mg: miligramos
Mg⁺⁺: ión magnesio
MgSO₄: sulfato de magnesio
ml: mililitro
mm: milímetros
mm²: milímetros cuadrados
Mn: manganeso
MnSO₄: sulfato de manganeso
N: nitrógeno
NH₄H₂PO₄: fosfato diácido de amonio
(NH₄)₂SO₄: sulfato de amonio
N: normal
n: número de repeticiones
nº: número
nm: nanometro
Na⁺: ión sodio
NO: noroeste
p: probabilidad
P: fósforo
PC: producto comercial
R²: coeficiente de determinación múltiple
S: azufre
S⁼: sulfuro
SO₄⁼: sulfato
SENASA: Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria
s.n.m.: sobre nivel de mar
T: tratamiento

TBV: Tulip Breacking Virus

UBA: Universidad de Buenos Aires

US\$: dólares estadounidenses

UEPIAG: Unidad Ejecutora Provincial de Industria, Agricultura y Ganadería

ZN: cinc

ZnSO₄: sulfato de cinc

%: por ciento

µg: microgramo

µl: microlitro

RESUMEN

“Efectos de la fertilización con boro sobre la producción de bulbos y calidad de flor de *Tulipa gesneriana* cv Rococo”

La producción de bulbos de tulipán es una nueva alternativa agrícola intensiva para las producciones tradicionales del Noroeste de Chubut.

El cultivo presenta como alternativas productivas, la producción de bulbos o de flores, requiriendo conocimientos sobre riego, control de plagas y enfermedades, cuidados postcosecha y fertilización.

La información sobre fertilidad en la zona de Trevelin, principal zona productora de bulbos de tulipán en Argentina, es muy limitada.

Este trabajo evaluó los efectos que la fertilización con boro ejerce sobre producción de bulbos y flores en maceta en *Tulipa gesneriana* cv Rococo.

Bulbos tamaño 8 fueron cultivados en arena volcánica ($<0,05$ mg/kg B) y fertirrigados continuamente por goteo con solución nutritiva Johnson con 0,0 (T_0); 0,271 (T_1) y 1,352 (T_2) mg/l de B.

T_1 produjo un incremento significativo ($p \leq 0,05$) en la tasa de multiplicación respecto de T_0 , y en el tamaño de bulbos comparado con los otros dos tratamientos, determinando aumentos en el rendimiento y calidad de los bulbos obtenidos.

Se evaluó la calidad de la flor en plantas originadas a partir de bulbos que contenían distinta concentración de B. La concentración de boro en bulbo afectó la calidad de flor. Bulbos con una concentración de 9,2 mg/kg de B presentaron una diferencia significativamente superior ($p \leq 0,05$) en las concentraciones de antocianinas en tépalos y de clorofila en hojas. El largo de la vara floral se incrementó de manera significativa ($p \leq 0,05$) al aumentar la concentración de boro en bulbo para todos los tratamientos, acompañada por una disminución en el diámetro de la misma.

Palabras clave: tulipán, Rococo, bulbo, boro, antocianinas, tasa de multiplicación.

ABSTRACT

“Effects of boron fertilization on bulb production and flower quality of *Tulipa gesneriana* cv Rococo”.

Tulip bulb production is a new alternative for traditional productions at the Norwest of Chubut province.

The crop has two options, bulb or flower production. Both require knowledge about watering, pest and plague control, postharvest care and fertilization.

Information about fertility in Trevelin’s area, main tulip bulb production of Argentina, is very limited.

The present work evaluated the effects of boron fertilization on bulb and potted flower production in *Tulipa gesneriana* cv Rococo. Bulbs size 8 were cultivated in volcanic sand (<0,05 mg/kg) fertirrigated through a drip irrigation system with Johnson’s nutritive solution with 0,0 (T₀); 0,271 (T₁) and 1,352 (T₂) mg/l of boron. T₁ produced a significant increase ($p \leq 0,05$) in the multiplication rate respect to T₀, and in the bulb size compared to the other treatments, improving yield and quality of tulip bulbs.

Flower quality was evaluated in plants from bulbs with different boron concentration. Boron concentration in bulb affected flower quality. Bulbs with 9,2 mg/kg boron showed a significant increase ($p \leq 0,05$) in anthocyanins and chlorophyll in tepals and leaves, respectively. Floral stick length increased in a significant proportion ($p \leq 0,05$) when boron concentration in bulb also increased for all treatments, with a decreased in floral stick diameter.

Key words: tulip, Rococo, bulb, boron, anthocyanin, multiplication rate

CAPITULO 1

INTRODUCCIÓN

Desde fines de la década de los 90 se ha producido un paulatino incremento de la producción agrícola intensiva en los valles de la cordillera chubutense con el comienzo de la producción de plantines de frutilla, la introducción de especies florales bulbosas y rizomatosas, los ensayos exploratorios para evaluar la factibilidad del cultivo de arándanos (*Vaccinium corymbosum*) y la producción de cerezas (*Prunus avium*) y berries. Aunque en baja escala aún, este auge productivo ha provocado una fuerte demanda de información que necesariamente requiere la realización de trabajos experimentales que permitan adaptar o generar la tecnología de producción necesaria. El gráfico 1 muestra la evolución del cultivo de frutilla durante las cuatro últimas temporadas destinado a la producción de plantines (SENASA, Esquel)

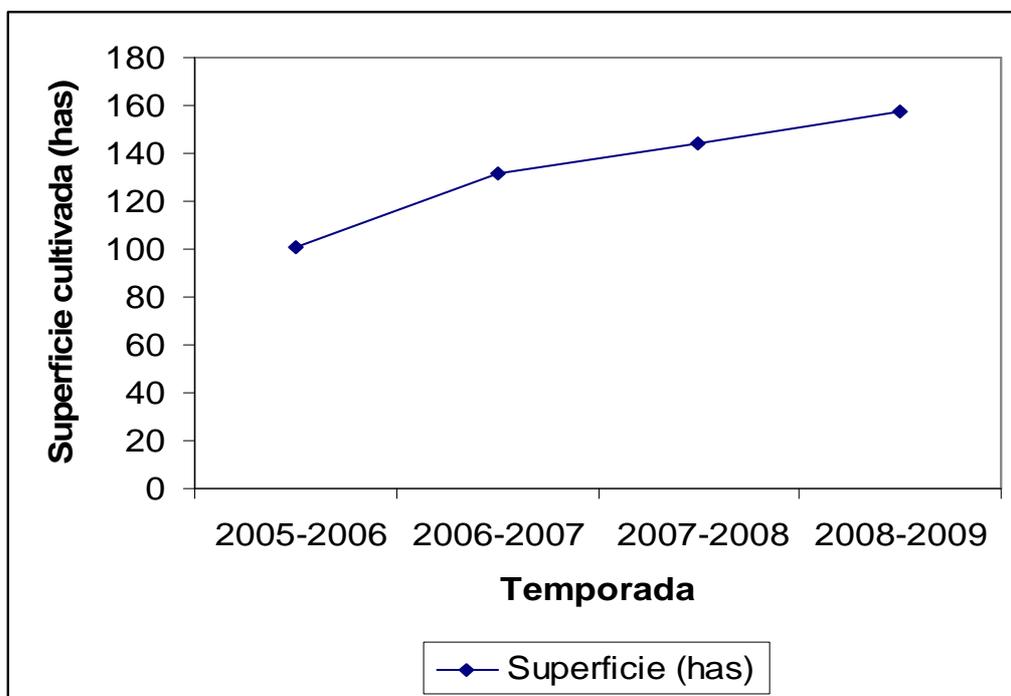


Gráfico 1.1: Superficie de frutilla implantada destinada a la producción de plantines en el Noroeste de la provincia de Chubut. Fuente: SENASA Esquel-Chubut. Centro Regional Patagonia Sur – Abril 2009. Ing. Agr. Marcela E. Schiappacassi, Area Vegetal

Entre las especies florales se ha destacado la producción de bulbos de tulipán (*Tulipa gesneriana*), en menor escala el liliom (*Lilium spp*) y se encuentran en evaluación especies tales como narciso (*Narcissus spp*), jacinto (*Hyacinthus orientalis*), iris (*Iris hollandica*) y allium (*Allium spp*).

La producción de tulipanes en el noroeste de Chubut se inicia en el año 1997 con la primera importación de bulbos por parte de la provincia de Chubut. En el año 1998 existían un total de 17 productores y una superficie aproximada

de 2.5 hectáreas. Actualmente (2008) la superficie destinada a producción de bulbo de tulipán es de aproximadamente 10 hectáreas (Diacinti A, UEPIAG Chubut, datos no publicados).

Dentro de las especies rizomatozas, se destaca el cultivo de peonías (*Paeonia lactiflora*) que con una superficie inicial en producción de alrededor de 4 has tiene como principales objetivos la comercialización en el mercado externo de flor de corte y de rizomas como material de propagación. Durante los años 2007 y 2008 se realizaron las primeras exportaciones de esta especie como flor de corte al mercado holandés (Memoria anual INTA Esquel 2007, Memoria anual INTA Esquel 2008).

Estudios realizados en el año 2003 demuestran que existían en el noroeste del Chubut, que comprende los valles de Trevelin, Esquel, Cholila, Corcovado. Epuyen, El Hoyo y Lago Puelo, un total de 19 productores dedicados a la producción de flores y/o bulbos con una superficie de alrededor de 17 hectáreas de las cuales el 97 % se realiza a cielo abierto y el 3% restante bajo cubierta (JICA –INTA, 2003). Si bien se trata de cultivos que requieren una alta inversión inicial, presentan retornos importantes y posibilidades de expansión por tratarse de productos que pueden ser comercializados tanto en mercado interno o ser exportados al hemisferio norte por ser una producción de contraestación.

Las condiciones climáticas son favorables para el cultivo de bulbos florales de primavera, lo que queda demostrado al comparar las temperaturas de Trevelin (gráfico 1.1), con las de una localidad de Holanda, máximo productor mundial de bulbos.

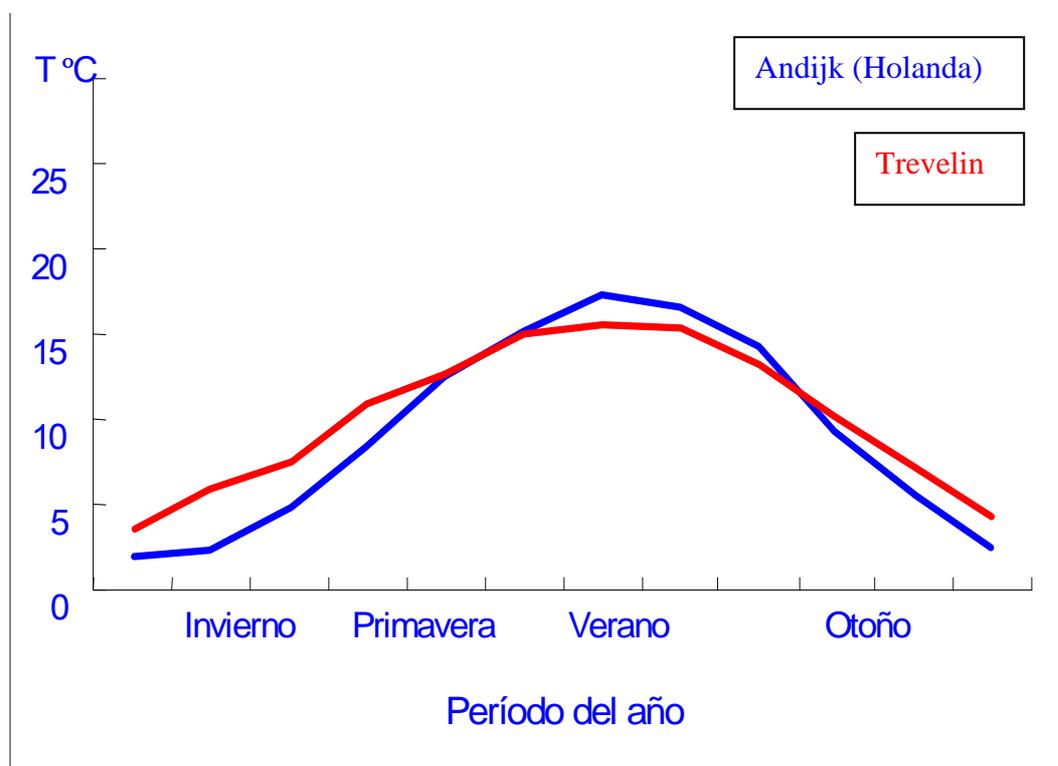


Gráfico 1.2: Comparación de las temperaturas promedio mensuales de Andijk (Holanda) y Trevelin según la estación del año (Diacinti A, et al., 2004).

Un estudio económico llevado adelante por Romagnoli et al. (2002) analiza los aspectos económicos y financieros de la producción y exportación de bulbos de tulipán en la región Patagónica. El proyecto presenta una alta inversión inicial, fundamentalmente en lo referido al stock de plantación, con una tasa de retorno del 24,55% representando además una importante fuente de mano de obra.

En lo referido al comercio mundial de bulbos florales, Holanda es el país más importante con una producción en el año 2002 de 10.000 millones de unidades, lo que representa alrededor del 65 % de la producción mundial de bulbíferas en general, alcanzando la superficie cultivada en dicho año las 21.000 hectáreas. El 75% de lo producido es destinado a exportación y representa un ingreso de alrededor de 700 millones de euros. Del total, 10.000 has corresponden al cultivo de tulipán con un tercio del valor total de exportación (International Flower Bulb Centre).

La producción y exportación de flores de tulipán es otra alternativa que brinda el cultivo. Por ejemplo, Chile en el año 1997 exportó flores a EEUU por un valor cercano a los US\$ FOB 400.000 (Schiappacasse, 1999).

El bulbo de tulipán es destinado fundamentalmente a la venta en seco como semilla para su uso en parques y jardines (46%) y a la producción de flores de corte y plantas en maceta (54%) conocido como el “sector del forzado” (*). El principal factor que determina la capacidad de un bulbo de tulipán para iniciar una yema floral está dado por su tamaño o más precisamente por su peso (De Hertogh y LeNard, 1993). El peso crítico varía de acuerdo al genotipo, pero en general, para que los bulbos puedan iniciar la diferenciación de la yema floral necesitan un peso de 6 a 8 gramos, que corresponde a tamaños o calibres, dados por la circunferencia en su parte media, de 6 a 8 cm (De Hertogh y LeNard, 1993, Schiappacasse F, 1999). El destino de los bulbos comercializables para flor está determinado por su tamaño. En general, los de tamaño 10 pueden ser usados en jardines aunque muchos productores prefieren utilizarlos como semilla (Turró y Diacinti, 2003), mientras que los 11/12 y 12 y superiores son los requeridos para la producción de flores de corte. Los 12 y superiores son los usados normalmente para plantas en maceta (De Hertogh y Le Nard, 1993, De Hertogh, 1996, Centro internacional de bulbos de flor, 1997).

El tulipán es una planta Monocotiledónea perteneciente al genero *Tulipa* que incluye alrededor de 125 especies, aunque muy pocas de ellas son cultivadas a escala comercial. El bulbo posee una envoltura externa llamada túnica, y en el interior se encuentran escamas suculentas, entre dos y seis, adheridas al plato basal a partir del cual se desarrollan raíces adventicias. Entre las escamas existen yemas laterales que darán origen a los bulbos hijos (figura 1.1, Bañon Arias et al, 1993).

(*) Forzado: terminología usada para describir la floración de un bulbo o planta aplicando condiciones artificiales que simulan las condiciones naturales requeridas. Es ampliamente usada para bulbos de floración primaveral como el tulipán, donde las estaciones naturales son reproducidas a través de una cámara de enraizamiento (“rooting room”) y un invernáculo (Thohirah, L.A et al. 2006).

Es un cultivo que requiere una secuencia de temperatura cálida-fría-cálida para expresar un activo crecimiento y completar su ciclo ontogénico (De Hertogh y Le Nard, 1993, De Hertogh, 1996). Se planta durante el otoño y florece en primavera. Al momento de plantación; el bulbo presenta en su interior una yema apical que en el caso de ser un bulbo con una circunferencia superior a 6-8 centímetros o peso entre 6-8 gramos es floral, acompañada por entre 3 y 5 hojas. En el caso de ser más pequeño solo presenta una hoja, sin flor (De Hertogh y Le Nard, 1993, Schiapacasse, 1999).

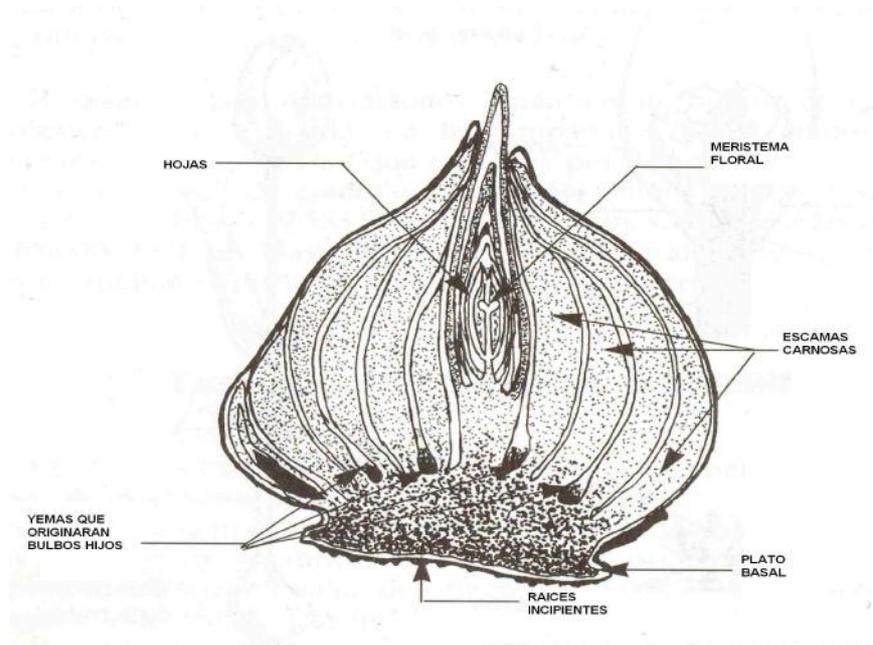


Figura 1.1: Vista de la sección vertical de un bulbo de tulipán en estado de reposo. Adaptado de Bañon Arias et al, 1993

En otoño, cuando las temperaturas son decrecientes, ocurre un rápido crecimiento de raíces y un lento crecimiento de la yema apical. A inicios de primavera ocurre una rápida elongación del escapo floral y la planta entra en el estado fenológico de floración. Luego de floración se produce el crecimiento de los bulbos hijos y simultáneamente las escamas del bulbo madre se secan y desaparecen progresivamente. En el caso que el cultivo esté destinado a la producción de bulbos, luego de floración y una vez eliminadas todas las plantas fuera de tipo y aquellas que presentan virus, se eliminan todas las flores dejando todas las hojas y el tallo. A fines de primavera, los órganos aéreos se marchitan, y el desarrollo de los bulbos hijos culmina, entrando los mismos en un aparente estado de dormición que no es tal ya que se produce una activa diferenciación de las yemas florales y vegetativas. De esta manera, continuos cambios tienen lugar prácticamente durante todo el año y siempre hay órganos siendo iniciados, creciendo, envejeciendo o desarrollándose. Al finalizar el verano todos los órganos de la planta están presentes en el bulbo (De Hertogh and Le Nard, 1993; Bañon Arias et al, 1993; Rees A.R, 1992, Schiapacasse 1996). La figura 1.2 muestra un esquema del ciclo del tulipán.

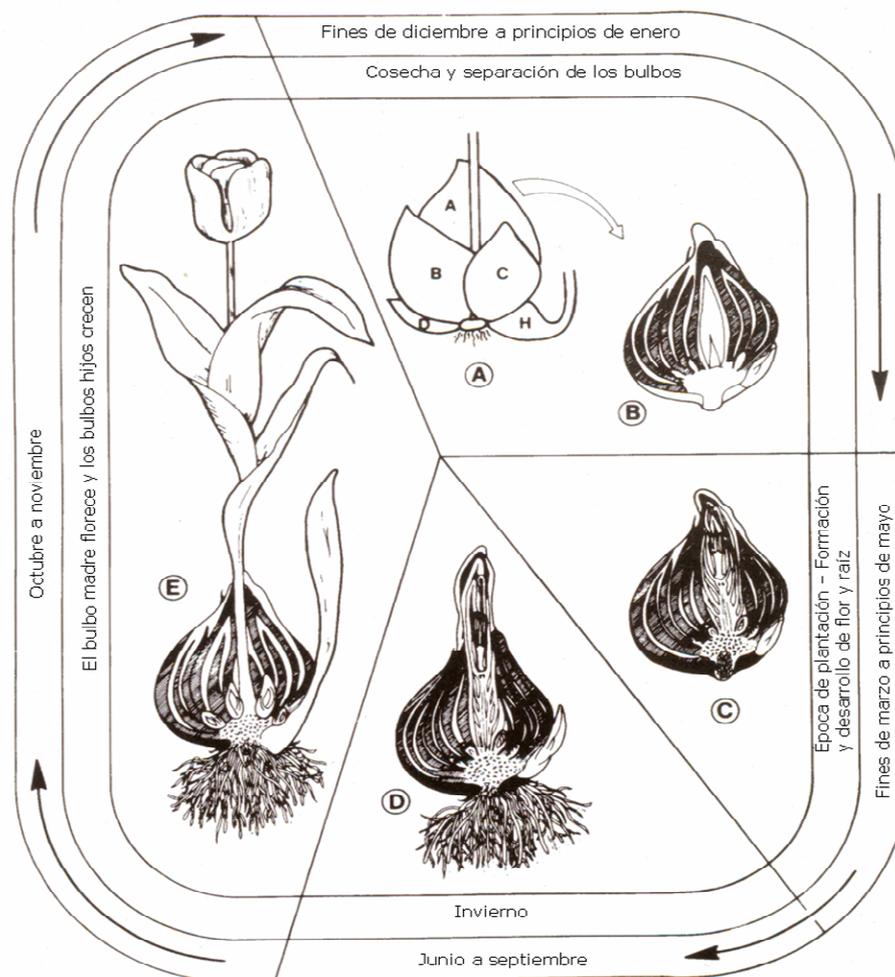


Figura 1.2: Esquema del ciclo anual de crecimiento y desarrollo de una planta de tulipán que produce flor. (A): paquete de bulbos cosechado; (B): Bulbo principal separado; (C): bulbo madre con primordios radicales y florales altamente desarrollados, previo a plantación; (D): bulbo enraizado bajo las condiciones medioambientales de invierno; (E): Bulbo madre en el estado de floración. Adaptado de De Hertogh, 1999.

Un cultivo comercial de tulipán destinado a la producción de bulbos está basado en la utilización de bulbos de tamaño pequeño y mediano (entre 5 y 10 cm de circunferencia) (De Hertogh y Le Nard, 1993, Bañon Arias et al, 1993). Se inicia durante el otoño con la plantación de los bulbos en camellones o platabandas, previo tratamiento con fungicidas y nematicidas de ser necesario (Schiapacasse, 1999, Turró y Diacinti, 2003). La densidad de plantación varía con el calibre de bulbo utilizado y la profundidad oscila entre 10 y 15 cm, medidos desde la base del bulbo a la superficie del suelo (De Hertogh y Le Nard, 1993, Bañon Arias et al, 1993, Schiapacasse, 1999). Luego de plantación y de acuerdo a las condiciones de humedad de suelo, puede ser necesario realizar un riego para permitir un adecuado desarrollo de las raíces.

A inicios de primavera se produce la emergencia del cultivo, con una rápida elongación del escapo floral y se produce la floración. Durante este período es necesario realizar control de malezas, aplicación de riego, fertilizaciones, control de plagas y enfermedades, identificación y eliminación de todas las plantas que

presenten síntomas de enfermedades, fundamentalmente relacionado con el virus del TBV (Tulip Breaking Virus). Luego de floración se decapitan todas las flores (Turró y Diacinti, 2003, Bañon Arias et al, 1993).

A principios de verano se produce la senescencia del cultivo, se interrumpen los riegos y se procede a la cosecha. Los bulbos son limpiados, se realiza una desinfección por inmersión en una solución con fungicida, se secan rápidamente y se seleccionan de acuerdo al tamaño (circunferencia en cm) (Schiapacasse, 1993).

Posteriormente, se separan los bulbos comercializables destinados a parques y jardines, flores de corte y plantas en maceta, de aquellos que se utilizarán para la producción de nuevos bulbos ("stock de plantación" o "bulbos semilla") (De Hertogh y Le Nard, 1993).

Los bulbos son almacenados en cámara con una humedad relativa variable entre 65 y 75% (Turró y Diacinti, 2003), libres de etileno y con distintas temperaturas según se trate del stock de plantación o de bulbos para producción de flor. En general, el stock de plantación es sometido durante 3 a 4 semanas a temperaturas altas de 20 a 25 °C, y luego a temperaturas medias (17 a 20 °C) (De Hertogh y Le Nard, 1993). En el caso de bulbos de tamaños superiores destinados a flor de corte o planta en maceta, los bulbos son sometidos a diferentes tratamientos de temperaturas altas, intermedias y frías (iguales o menores a 9°C) según el cultivar de que se trate y el momento en que se quiera obtener la flor (De Hertogh A y Le Nard M, 1993; De Hertogh A, 1996).

En Argentina actualmente la superficie cultivada para producción de bulbos de tulipán se encuentra ubicada fundamentalmente en el sur del país, en la provincia de Chubut, principalmente en la localidad de Trevelin y una reducida y reciente producción en la provincia de Mendoza. La introducción del cultivo en Chubut se realizó con el objetivo de exportar el producto ya que la utilización de bulbos para producción de flor bajo cubierta hace que los productores del hemisferio norte para mantener la oferta en el tiempo deban mantener los bulbos en cámara a temperaturas de -3 a -2°C ("eskimo" o "ice tulips") durante 7 a 10 meses con el consecuente aumento en los costos y una pérdida de calidad especialmente en las últimas semanas de conservación (abril-mayo) (De Hertogh, 1996). La producción de la zona del Noroeste del Chubut, proveería bulbos "frescos" en el momento en que el mayor productor mundial de bulbos de tulipán (Holanda) no puede, brindando a los productores de flores del hemisferio norte la posibilidad de extender su presencia en el mercado, alternativa que ya están llevando adelante países del hemisferio sur, tales como Australia, Nueva Zelanda y Chile, que son, por lo tanto, los principales competidores de Argentina en el mercado.

Por otro lado, desde el comienzo de la producción de bulbos en Patagonia, el mercado interno de producción de plantas en maceta y flores de corte de tulipán se incrementó marcadamente absorbiendo toda la producción local de bulbos pagando precios muy cercanos o superiores a los internacionales por los mismos, lo que hizo que el objetivo original de exportar no se haya desarrollado completamente.

Los factores de producción más importantes comprenden aquellos referidos a los aspectos sanitarios, especialmente relacionado al control de virus,

de fundamental importancia para mercado externo, el riego, el manejo post-cosecha y la fertilización tanto en lo que se refiere a macronutrientes como a micronutrientes teniendo en cuenta que el objetivo básico de este tipo de producción es lograr la mayor cantidad de bulbos de excelente calidad tanto para forzado como para stock de plantación.

En cuanto a calidad de bulbo, Turró y Diacinti (2003) mencionan que además del tamaño, existen otros tres aspectos que definen la misma para un bulbo de tulipán, la sanidad, el estado nutricional y el estado de desarrollo del bulbo.

Sanidad: comprende las afecciones causadas por hongos, bacterias, nematodos, insectos y ácaros. Botrytis y virus del mosaico causan defectos en las flores. La fusariosis disminuye cantidad de bulbos útiles y puede perjudicar la calidad de los sanos.

Estado nutricional: a mayor cantidad de reservas nutricionales mayor calidad de flor, y es posible que bulbos de igual tamaño contengan diferentes cantidades de reservas, tanto en lo referido a carbohidratos como a minerales.

Estado de desarrollo del bulbo: se refiere al grado de desarrollo que posee el brote central. Depende de las condiciones climáticas durante el cultivo y principalmente durante el almacenamiento y hace a la programación de las fechas de floración, aspecto crítico para el productor de flor.

En cuanto a calidad de flor o planta en maceta, De Hertogh (1996) sugiere que la altura óptima de una planta en maceta en el momento de comercialización (pimpollo coloreado) varía con el tamaño de la maceta empleada, siendo de 20 a 25 cm cuando se cultivan en macetas de 10 cm y de 25 a 30 cuando se lo hace en macetas de 15 cm.

Otros aspectos de la calidad en flores de tulipán (VBN, 2008) establecen que las flores deben estar libre de defectos que incluyen:

Tallos acuosos o stem topple.

“Noses”: alteraciones en el pimpollo floral en cuanto a la forma, color y apertura de la flor.

Alteraciones en el color de la flor.

De acuerdo a Reid M.S. las flores de tulipán son graduadas teniendo en cuenta la uniformidad de madurez (grado de apertura), largo de tallo y libre de defectos. Los defectos incluyen aborto de pimpollo floral, pimpollos florales verdosos, tallos doblados.

En lo referido al aspecto sanitario existe una gran cantidad de información acerca de plagas y enfermedades y métodos de prevención y control, al igual que toda la tecnología de cosecha y postcosecha.

Por el contrario, en cuanto a la nutrición mineral, la fertilización nitrogenada ha recibido la mayor atención y en menor medida fósforo, potasio, calcio y

magnesio (De Hertogh y Le Nard, 1993). Mucha menor información existe acerca de micronutrientes.

En cuanto a boro, micronutriente esencial, los primeros reportes sobre su deficiencia en plantas superiores fueron aportados por Agulhon (1910) y Maze (1915), quienes mostraron efectos benéficos del B sobre el crecimiento de las plantas. Agulhon (1910) proveyó la primer evidencia documentada sobre deficiencia de B al demostrar que su presencia estimulaba el crecimiento de colza (*Brassica napus var oleifera*), nabo (*Brassica rapa*), maíz (*Zea mays*), avena (*Avena sativa*), rábano (*Raphanus sativus*) y trigo (*Triticum aestivum*), aunque no se demostró que el crecimiento normal fuese imposible con ausencia de boro (Shorrocks, 1997). Las pruebas inequívocas sobre la esencialidad del B fueron provistas por Warrington (1923) quien demostró que *Vicia faba* no cumplía su ciclo ontogénico cuando el mismo no estaba presente en la solución nutritiva (Brown y Hu, 1994; Shorrocks, 1997; Matoh, 1997; Tariq y Mott, 2007; Lukaszewski y Blevins, 1996)

A pesar de que se han atribuido una gran cantidad de alteraciones fisiológicas debido a deficiencias de B en cuanto a transporte de azúcares (Dixit D. et al, 2002, Huang L. et al, 2007, Sisler E.C. et al, 1956, García Gonzalez M. et al, 1990, Oosterhuis D.M. y Zhao D., 2001, Gauch H.G. y Dugger W.M. Jr., 1953), síntesis de pared celular (Kobayashi M., 2000; Matoh T., 1997; Hu H. y Brown P., 1996), lignificación (Zehirov Gr. T. y Georgiev G.I., 2003; Lovatt Carol J., 1985), estructura de pared celular (Matoh T. y Kobayashi M., 1998; Kobayashi M., 2000; Hu H. y Brown P., 1994; Goldbach H.E. et al, 2007; Blevins G. y Lukaszewski K.M., 1998; Wimmer M.A. y Goldbach H.E., 2007; Malavé Acuña A. y Carrero Molina P., 2007; Tanaka M. y Fujiwara T., 2008), metabolismo de carbohidratos (Camacho-Cristóbal y Gonzales-Fontes, 1999), metabolismo de ARN (Ali A.H.N. y Jarvis B.C., 1988; Janardhand R., 2006), respiración (García Gonzalez M. et al, 1990; Krueger R.W., et al, 1987), metabolismo del ácido indol acético (AIA) (Blevins G. y Lukaszewski K.M., 1998; Mashayekhi K. y Neumann K.H., 2006; Chunjian Li, 2001; Lovatt Carol J.; 1985, Robertson G.A. y Loughman B.C., 1974; Bohnsack y Luke, 1977), metabolismo de los fenoles (Dordas y Brown, 2005; Blevins G. y Lukaszewski K.M., 1998) e integridad de membrana (Dordas C.H. y Brown P., 2005; Tang P.M. y Dela Fuente R.K, 1986; O'Neil M.A. et al, 2001; Goldbach H.E. et al, 2007; Blevins G. y Lukaszewski K.M., 1998; Cakmak I. y Romheld V., 1997; Geng M. et al 2007; Huang L. et al, 2007), los roles bien descritos del boro están referidos fundamentalmente a su participación en el mantenimiento y en la síntesis de pared celular, posiblemente a través de la formación de complejos B-compuestos pécticos, y relacionado también con la integridad de membrana plasmática (Cara et al, 2002; Cakmak and Romheld, 1997).

El ácido bórico forma complejos estables con compuestos cis-hidroxilos (cis-dioles) como los azúcares y sus derivados (ej. azúcares alcohólicos y ácido urónico) y algunos O-difenoles (ej. ácido cafeico y ácido hidroxiferúlico). Las paredes celulares son ricas en compuestos cis-diol, y se ha demostrado que el B está predominantemente presente en paredes celulares, especialmente bajo condiciones de deficiencia del mismo, con valores superiores al 90% del B celular total (Brown and Hu, 1994; Cakmak y Romheld, 1997; Blevins y Lukaszewski, 1998; Hu et al, 1996) y más del 70% de ese B estaba ligado a pectinas (Hu et al, 1996). Según Matoh (1997), el B aparentemente afecta el proceso de condensación de carbohidratos en material de pared.

Sin embargo, la síntesis de material de pared en raíces de tomate (*Lycopersicon esculentum*), hojas de girasol (*Helianthus annuus*) y células cultivadas de zanahoria (*Daucus carota*) no disminuye ante una deficiencia de B. Esto sugiere que el boro no juega un rol en la síntesis de materiales de pared, que es una actividad simplásmica, sino que sería importante en el arreglo ultraestructural de los componentes en el apoplasto (Match, 1997).

Los resultados obtenidos por Cara et al (2002) sugieren, además, que el B desempeña un rol estructural en la membrana plasmática, similar al demostrado en pared celular, en función de la rápida alteración en los flujos de iones y solutos asociados con la pérdida de permeabilidad en células de tejidos boro deficientes.

La acumulación de compuestos fenólicos en tejidos deficientes en B es un paso crítico en el inicio de las alteraciones de diversas funciones celulares ya que estos compuestos son fitotóxicos para raíces y tallos. Dado que las plantas deficientes en B acumulan gran cantidad de compuestos fenólicos y estos reprimen la absorción de iones alterando el potencial de membrana, se ha sugerido que los compuestos fenólicos resultan en alteraciones reversibles en la permeabilidad de membranas (Cakmak y Romheld, 1997; Goldbach, 2001).

La ocurrencia de deficiencias de B en los cultivos es más frecuente en suelos de textura gruesa, con bajo contenido de arcillas (adsorción) y sujetos a mayores pérdidas del nutriente por lavado. Estos suelos se secan rápidamente durante los períodos de sequía y los cultivos dependen de raíces ubicadas a mayor profundidad donde la disponibilidad de B es más reducida (Shorrocks, 1997; Goldberg, 1997).

La disponibilidad de boro en el suelo disminuye al aumentar el pH, el contenido de B soluble en suelo está significativamente correlacionado con el pH de la solución (Goldberg, 1997).

La absorción de B en plantas superiores es probablemente un proceso pasivo que actúa en respuesta a una concentración externa de ácido bórico, a una permeabilidad de membrana, a la formación de complejos interno y a la tasa de transpiración (Hu y Brown, 1997). La movilidad del microelemento dentro de la planta varía ampliamente entre especies (Brown y Shelp, 1997).

En general, las plantas dicotiledóneas poseen mayores requerimientos de B que los cereales (Asad A. et al, 2001).

Hu H. y Brown P. (1996) encontraron una correlación positiva entre cantidad de pectinas de pared celular y el requerimiento de boro de las especies. Entre las monocotiledóneas, aún cuando las Gramineae parecen tener menor requerimiento de B debido a que la pared celular primaria de esta familia contiene pocas cantidades de pectina, la cebolla (*Allium cepa*) y el espárrago (*Asparagus officinalis*) pertenecientes a la familia Liliaceae poseen paredes celulares ricas en compuestos pécticos y tienen altos requerimientos de B, similares o superiores a algunas dicotiledóneas (Hu y Brown, 1996). Dentro de esta familia se encuentra el tulipán, del cual existen registros de respuesta a B en Holanda y Japón (Shorrocks, 1997; De Hertogh y Le Nard, 1993, Ikarashi, 1980) y recientemente se han informado probables síntomas de deficiencia de B en flores producidas a partir de bulbos provenientes de Chile (Miller M., 2008).

En la bibliografía el boro ha sido ampliamente estudiado en especies tales como girasol (*Helianthus annuus*) (Asad A. et al., 2002; Asad et al., 2003; Parra R.R., 2005; Ceyhan E. et al., 2008; Gitte A.N., 2005; Blamey et al., 1979; Matoh T. y Ochiai K., 2005; Oyinlola E.Y., 2007; Fuertes M.E. y Lobartini J.C, 2003; Marchetti M.E. et al., 2001; Diaz-Zorita M., 2005), frutales de carozo y pepita (Sanchez E.E. y Righetti T.L., 2005; Sanchez E.E., 2005; Svagzdys S., 1995; Wojcik P. y Cielinski G., 2000; Wojcik P. et al., 1999; Wojcik P. et al., 2008; Usenik V. y Stampar F., 2007; Rufat J. y Arbonés J., 2006; Jordao et al., 2008; Sotomayor et al., 2002; Xuan et al., 2003; Nyomora A.M.S. et al., 1999; Plich H. y Wojcik P., 2002, Wojcik P., 1998; Wojcik P. y Wojcik M, 2003, Brown y Hu 1996), y hortalizas (Shelp B.J., 1988; Shelp B.J. et al, 1996; Benson N.R. et al, 1961; Krarup Aage, 2003; Yolsna V.K. and Mathewvsha, 2008; Bellaloui Nacer y Brown Patrick H., 1998; Alam M.N., 2007; Tariq M. y Mott C.J.B., 2006; Gulati K.L et al.,1980; Goldberg Sabine et al., 2003; Adhikary Bishnu H., et al., 2004; Chermisirc C. et al, 1995; Gupta Umesh C. and Cutcliffe J.A., 1985) pero existe poca información relacionada con cultivos florales.

Existen referencias de respuestas a la aplicación de boro en crisantemo (*Chrysanthemum spp*) y clavel (*Dianthus caryophyllus*) en el Reino Unido, en girasol en Bulgaria, Checoslovaquia, Francia, Hungría, Rumania, España y Yugoslavia (Shorrocks, 1997).

Calderon Saenz (2002) menciona a la deficiencia de boro como posible causa del rajado de cáliz en clavel (*Dianthus caryophyllus*).

El boro es necesario para el forzado exitoso de bulbos de iris (*Iris hollandica*) cv Ideal. Bulbos de iris cultivar Ideal no pueden ser forzados exitosamente sin una fertilización suplementaria de nitrógeno, calcio y boro (Doss et al., 1980).

La deficiencia de boro causa distorsiones de la flor en *Narcissus tazetta* conocidas como “melting”: el flósculo terminal de la inflorescencia no emerge o lo hace de una manera parcial o con diferentes grados de distorsión, con el perianto, la corola y los estambres desiguales, acortados o ausentes. El estilo frecuentemente es prominente. Las flores afectadas no tienen valor comercial. “Nubbles” o “heating damage” son otros términos que describen el problema, el primero de ellos referido a la formación anormal de la yema y el último por la similitud a los daños causados por agua caliente. La incidencia puede alcanzar hasta 90 % de los tallos florales cuando el boro es deficiente, concordando con veranos secos calurosos y suelos arenosos. Las variedades de *Narcissus tazetta*, Grand Soleil d’Or y Avalanche son las más sensibles mientras que la variedad Paper White no es afectada (Tompsett A., 2002).

Otros posibles problemas ligados a B y aún no confirmados son el “stem rust” en narcisos, *Agapanthus* y *Brodiaea* y “bud spotting” y “flower distortion” en *Brodiaea* y *Schizostylis* (Tompsett, 2002).

Estudios realizados a campo para evaluar los efectos de la fertilización con boro en la producción de cormos (*) de gladiolo, en un suelo con 0,1 mg/kg de boro, mostró incrementos significativos en el número de cormos y cormillos (cormos menores de 6 centímetros de circunferencia (Landera G. et al, 2003)) producidos por planta, peso y tamaño de los mismos, cuando se aplicaron dosis de 1, 2 y 3 kg de boro por hectárea. Sin embargo la dosis más alta presentó disminuciones significativas en el número de cormos obtenidos por planta, respecto de la dosis de 2 Kg/ha (Halder et al, 2007).

En cuanto a calidad de flor en gladiolo, dosis de 2 kg/ha en suelos con concentraciones de 0,1 mg/kg de boro, produjeron un incremento significativo en la altura de la planta, largo del raquis y en el largo, diámetro y número de inflorescencias (Halder et al, 2007).

Los antecedentes en tulipán están referidos a una disminución en la cosecha de bulbos, pero no se hace mención a si esas pérdidas se deben a una menor tasa de multiplicación, a un menor tamaño de los mismos, a defectos que imposibilitan su comercialización, a fallas en el forzado o a un conjunto de ellas (De Hertogh y Le Nard, 1993).

En cuanto a flor, menciona como uno de los síntomas el quebrado transversal del tallo (De Hertogh, 1993, Miller, 2008), y pérdida de antocianinas (De Hertogh, 1993, Ikarashi, 1980).

Miller (2008), menciona síntomas ligados con deficiencia de boro en flores de corte de tulipán producidas a partir de bulbos cultivados en el sur de Chile. Estas flores, luego de un día en florero presentaban un tallo muy frágil, que al ser movidos suavemente se partían en dos o presentaban pequeñas quebraduras a través del tallo. Las roturas se observaban en los tallos 3 a 8 cm por debajo del pimpollo. En los tépalos, se observaban quebraduras y descamados horizontales de la epidermis de los tépalos, tanto en la parte interna como externa de los mismos. La epidermis de ambos lados de los tépalos, externo e interno, presentaban una masa de tejido desorganizado con un aspecto de red de fibras amarillentas.

El problema de deficiencia se inicia en la fase de producción de bulbos. No existe información sobre la factibilidad de corregir la deficiencia durante el forzado (Miller, 2008).

En el Noroeste del Chubut, y particularmente en el Valle de la Colonia 16 de Octubre, Trevelin, principal zona productora de bulbos de tulipán en Argentina, los estudios relacionados con fertilidad son escasos, y las líneas de investigación apuntaron históricamente a las zonas áridas y semiáridas de la región, dedicada principalmente a la producción ovina extensiva con especial énfasis en las zonas de mallines o vegas, que son áreas que acumulan agua durante la época lluviosa y la conservan durante la estación seca, presentando por lo tanto mayor potencial productivo desde el punto de vista forrajero.

(*) Cormo: es la base hinchada de un tallo, envueltas por hojas secas con aspecto de escamas. A diferencia del bulbo que está formado primordialmente por escamas foliares, el cormo es una estructura sólida de tallo, con nudos y entrenudos bien definidos (Hartmann H.T. y Kester D.E., 1999). El principal órgano de reserva del cormo es el plato basal (De Hertogh A, y Le Nard M., 1993)

Las escasas referencias acerca del uso de fertilizantes con fines experimentales en la zona de Trevelin se limitan a comunicaciones sobre trabajos exploratorios realizados en mallines o vegas sobre pastizales naturales con fósforo, azufre, cinc y boro (Ortiz, 1982) o nitrógeno (Raso M., 2008).

El valle de Trevelin, presenta un paisaje geomorfológico modelado principalmente por la acción glaciaria, que fue cubierto por cenizas volcánicas transportadas por el viento desde volcanes situados en Chile, que constituyeron el principal material originario de los suelos. El sector de mayor precipitación (oeste del valle) es dominado por Andisols (USDA, 1999), caracterizados por la dominancia de alofanos (La Manna et al., 2008). Este orden de suelos se desarrolla a partir de materiales volcánicos tales como cenizas o lava y/o clastos volcánicos, cuya fracción coloidal es dominada por minerales de corto rango o complejos Aluminio-humus y presentan características ándicas, esto es, poseen baja densidad aparente, alta retención de fosfatos y alto porcentaje de materia orgánica (USDA, 1999). Análisis de suelo efectuados en el año 1998 por técnicos holandeses, en campos con este tipo de suelo, destinados a la producción de bulbos de tulipanes, previo a la plantación, realizados en Holanda, mostraron una concentración de B variable entre 0,05 kg/ha y 0,46 kg/ha (AGRARISCH LABORATORIUM, se adjuntan copias de los resultados, anexo 1: páginas 93, 94, 95 y 96). Hacia el este, las precipitaciones disminuyen, dominan planicies glacifluviales y glacialacustres, con un espesor variable del depósito de cenizas, los suelos son transicionales entre los ordenes Mollisols-Andisols (La Manna et al, 2008).

Los Andisols son citados por Shorrocks (1997) como suelos con baja concentración de boro.

Según Schlatter y Gerding (1985), en su recopilación de antecedentes sobre causas, efectos y corrección de deficiencias de boro en plantaciones de *Pinus radiata* orientada a la situación chilena, el origen de tal deficiencia encuentra su causa primaria en el material original del suelo, siendo los más propensos a presentarla aquellos derivados de materiales ígneos, tanto intrusivos (graníticos) como extrusivos (arenas, cenizas y otros materiales volcánicos).

Schalscha E.B. et al (1973) encontraron una alta correlación entre adsorción de boro en suelo y el contenido de alofanos.

Las deficiencias de boro en cultivos de Japón, se presentan con mayor frecuencia en suelos derivados de cenizas volcánicas (Tanaka A., 1980).

Dado que en parte del Valle 16 de Octubre se presentan suelos que por su origen podrían presentar deficiencias de boro, que existen referencias acerca de problemas en tulipán relacionados con este microelemento esencial, que la mayor superficie destinada a la producción de este cultivo se encuentra en este valle, que por el momento no existe información acerca de la posibilidad de realizar correcciones durante la etapa de producción de flor cuando las mismas se producen a partir de bulbos con concentraciones deficientes de B en tejidos y que por lo tanto resulta imprescindible asegurar una concentración correcta del micronutriente en bulbo, es que se plantea la realización del presente trabajo para establecer los efectos de la nutrición con boro sobre la producción de bulbos y calidad de flor en maceta en *Tulipa gesneriana* cv Rococo.

Así, se establecen las siguientes hipótesis:

- La disponibilidad de B afecta la calidad y cantidad de bulbos producidos (tasa de multiplicación, tamaño y peso de bulbos y concentraciones de carbohidratos solubles y de boro en bulbo).

- El contenido de B en bulbo afecta la calidad de flor (largo de vara floral, tamaño de la flor, contenido de antocianinas).

Los resultados de esta tesis brindan información que permite determinar el efecto de la concentración de B en suelo y en bulbos sobre la calidad y cantidad de bulbos producidos y sobre la calidad de la flor obtenida. Aquí se analiza un amplio rango de concentraciones y a partir de los resultados obtenidos se podrá reducir el rango de concentraciones a probar en futuros trabajos experimentales que tengan como objetivo principal identificar los valores óptimos de B en suelos y en bulbos para ser tenidos como referencia para la realización de fertilizaciones que aseguren la obtención de rendimientos exitosos en cuanto a calidad y cantidad de bulbos y flores obtenidas.

CAPÍTULO 2

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo experimental se desarrolló en el campo de la Estación Experimental Agroforestal de INTA Esquel ubicado en la zona de Aldea Escolar, en la Colonia 16 de Octubre, en la región noroeste del Chubut. El sitio está ubicado a 43°07'40.1 latitud sur y 71°33'32.6 longitud oeste y a 450 metros s.n.m., posee un clima mediterráneo, sin período libre de heladas, con dos tercios de las precipitaciones concentradas durante los meses otoño-invernales, con un promedio anual de 1000 mm.

Se utilizaron bulbos de tulipán (*Tulipa gesneriana* cv Rococo), producidos por un productor de Trevelin, Chubut. Los bulbos fueron limpiados, clasificados según tamaño, pesados y almacenados en cámara bajo condiciones controladas de temperatura (17 °C) y humedad (70%) hasta el momento de plantación. El tamaño de los bulbos era "8" con un peso promedio de 8,71 gramos.

El trabajo experimental se desarrolló en dos etapas:

Primera etapa: producción de bulbos de tulipán (*Tulipa gesneriana* cv Rococo) en un sustrato de arena volcánica, fertirrigados continuamente con soluciones Johnson con diferentes concentraciones de boro. El objetivo fue medir el efecto que las distintas disponibilidades de boro ejercen sobre las concentraciones de B y azúcares solubles en tejido de los bulbos, tasa de multiplicación (TM), tamaño y peso de los bulbos producidos por planta.

Segunda etapa: producción de flor en maceta de tulipán a partir de bulbos con diferentes concentraciones de boro en tejido, obtenidos en la etapa anterior. El objetivo fue determinar los efectos que la concentración de B en bulbo al momento de plantación ejerce sobre antocianinas en tépalos, clorofila en hojas, longitud y peso de raíces, longitud y diámetro de la vara floral, tamaño de flor, materia seca en hojas y área foliar. El único fertilizante aplicado en esta etapa fue nitrato de calcio.

En ambos casos se utilizó como sustrato arena volcánica de la zona. El contenido de B era <0,05 mg/kg (tabla 2.2, Laboratorio de análisis de suelos, Cátedra de Edafología, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires). Para el riego se utilizó agua del Arroyo Blanco cuyo contenido en B era <0,05 mg/kg (tabla 2.1, Laboratorio de análisis de suelos, Cátedra de Edafología, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires).

Es de destacar que durante la etapa de producción de bulbos, a pesar de haberse utilizado un sustrato y agua de riego deficientes en boro (<0.05 mg/kg) pudo existir un aporte mínimo de B proveniente de los mismos y de las impurezas presentes en los fertilizantes y compuestos químicos utilizados para preparar las soluciones nutritivas, que pudieron modificar los valores de B de los tratamientos. Sin embargo, es de esperar que las diferencias que se observan se originen a partir del efecto tratamiento.

Lo mismo es válido para la segunda etapa, producción de flores en maceta a partir de bulbos con distintas concentraciones de boro, aunque en este caso no se aplicó fertilización de base ni soluciones nutritivas.

Análisis del agua para preparar las soluciones nutritivas: previo al inicio de los ensayos se realizó el análisis de muestras de agua extraídas del Arroyo Blanco que se utilizó para preparar las soluciones nutritivas Johnson en la etapa de producción de bulbos y para el riego en la etapa de producción de planta en maceta. Las determinaciones realizadas y sus respectivos resultados se ilustran en la tabla 2.1.

Tabla 2.1: Análisis de agua del Arroyo Blanco utilizada para la preparación de las soluciones nutritivas (Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Cátedra de Edafología)

Análisis	Valor	Unidad	Metodología
pH	6,99		Volumetría
CE	0,061	dS/m	Potenciométrico
CO ₃ ⁼	0	meq/l	Volumétrico
CO ₃ H ⁻	0,62	meq/l	Volumetría
Cl ⁻	0,12	meq/l	Volumetría
SO ₄ ⁼	0,05	meq/l	Turbidimétrico
Ca ⁺⁺	0,23	meq/l	Adsorción atómica
Mg ⁺⁺	0,15	meq/l	Adsorción atómica
Na ⁺	1,02	meq/l	Adsorción atómica
K ⁺	0,06	meq/l	Adsorción atómica
Cu	0,05	p.p.m.	DTPA
Fe	1,85	p.p.m.	DTPA
Zn	0,02	p.p.m.	DTPA
Mn	0,41	p.p.m.	DTPA
S ⁼	0,24	p.p.m.	
B	<0,05	p.p.m.	

Sustrato: previo al inicio de los ensayos se efectuaron diferentes análisis sobre muestras de arena volcánica utilizada como sustrato tendientes a conocer su fertilidad y fundamentalmente los niveles de B para determinar su aptitud para ser utilizado como un sustrato deficiente en dicho elemento. Los resultados se observan en la tabla 2.2.

Tabla 2.2: Análisis de arena volcánica utilizada para la producción de bulbos y flores en maceta de *Tulipa gesneriana* cv Rococo (Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Cátedra de Edafología)

Análisis	Valor	Unidad	Método
pH:	6,74		agua 1:1
pH:	6,54		agua 1:2.5
CE	0,02	dS/m	pasta
P	3	p.p.m.	Kurtz y Bray 1
C ox.	0,32	%	Walkley Black
N _t	0,03	%	Kjeldahl
Ca ⁺⁺	4,56	meq/100g	Ac NH ₄ pH 7
Mg ⁺⁺	1,88	meq/100g:	Ac NH ₄ pH 7
Na ⁺	0,12	meq/100g:	Ac NH ₄ pH 7
K ⁺	0,6	meq/100g:	Ac NH ₄ pH 7
CIC	8,96	meq/100g:	Ac NH ₄ pH 7
Cu	0,12	p.p.m.	DTPA
Fe	12,3	p.p.m.	DTPA
Zn	0,2	p.p.m.	DTPA
Mn	1,56	p.p.m.	Ac NH ₄ pH 7
S ⁼	2,5	p.p.m.	
B:	< 0,05	ppm	HWSB

2.1 Primera etapa: PRODUCCIÓN DE BULBOS

Producción de bulbos de tulipán (*Tulipa gesneriana* cv Rococo) en sustrato de arena volcánica fertirrigadas con soluciones Johnson con diferentes concentraciones de boro que se ilustran en la tabla 2.1.1. En esta etapa se adopta la abreviación “T” para denominar los diferentes tratamientos.

Tabla 2.1.1: Concentraciones de boro en las soluciones Johnson utilizadas para el fertirriego, aplicado en forma continua, durante la etapa de producción de bulbos.

Tratamiento	Concentración de B solución Johnson (mg/l)
T ₀	0,0
T ₁	0,271
T ₂	1,352

- Determinación de la concentración inicial de boro en bulbo

De los bulbos originales que fueron utilizados como “stock de plantación” o “bulbos semilla” se efectuó un muestreo correspondiente al 10% de los mismos y se realizó la determinación de la concentración de B en tejido.

La concentración de B promedio inicial fue de 12,43 mg/kg (método del carmín, Laboratorio de Servicios Analíticos Especiales Lab FAUBA, Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires, Hatcher, JT & Wilcox L.V., 1950.)

- Plantación de bulbos

Los bulbos fueron plantados el 25 de julio de 2002 en macetas de polietileno PLASTIAGRO bicolor de 500 micrones (Plastar San Luis S.A.) de 2m de largo por 0,52m de ancho y 0,40m de alto, en un sustrato de arena volcánica, con una densidad de plantación de 51 bulbos/m² (figura 2.1.1).



Figura 2.1.1: Vista de las macetas de polietileno bicolor de 500 micrones conteniendo un sustrato de arena volcánica en el momento de plantación de tres líneas de bulbos de tulipán, *Tulipa gesneriana* cv Rococo, tamaño 8.

Las macetas fueron colocadas bajo una cobertura de plástico PLASTIAGRO CRISTAL de 150 micrones (Plastar San Luis S.A.) con el único fin de evitar la influencia de las lluvias y el posible lavado de nutrientes en el sustrato (figura 2.1.2).



Figura 2.1.2: Vista general del experimento de producción de bulbos donde pueden apreciarse las macetas construidas en plástico bicolor, la disposición de las mismas, la cobertura plástica, la plataforma con los tanques conteniendo las soluciones nutritivas y, parcialmente, la ubicación de la estación meteorológica automática .

La profundidad de plantación fue de 12 cm (medidos desde la base del bulbo hasta la superficie del suelo, De Hertogh y Le Nard, 1993, Schiappacasse, 1999). Previo a plantación, los bulbos fueron tratados por inmersión durante 15 minutos en una solución funguicida-insecticida compuesta por Dimetoato (80 cc/hl de PC al 40%) e Iprodione (100 g/hl de PC al 50 %). Como fertilización de base se aplicaron disueltos en agua 8,33 g de nitrato de potasio (KNO_3), 72 g de superfosfato de calcio ($Ca(H_2PO_4)_2$), 12,5 g de sulfato de amonio ($(NH_4)_2SO_4$) por maceta.

- Labores culturales

Luego de la emergencia del cultivo se realizaron pulverizaciones preventivas en forma periódica durante todo el ciclo del cultivo contra áfidos y trips para prevenir transmisión de virus. Para control de Botrytis se efectuaron aplicaciones durante las 3 semanas posteriores a floración. El cultivo fue permanentemente monitoreado para detección de virus (roguing) fundamentalmente en el momento de floración. Si bien los síntomas producidos por TBV pueden presentarse en cualquier etapa del cultivo son más claramente visibles en los tépalos (figura 2.1.3) que en hojas y tallos. Todas aquellas plantas que presentaron síntomas de TBV fueron eliminadas. El porcentaje de plantas que presentaron síntomas fue de 16%. Posteriormente, las flores fueron cortadas o “decapitadas”. Esta es una práctica recomendada en cultivos de tulipán destinados a la producción de bulbos (De Hertogh, 1993) para favorecer el crecimiento de los bulbos hijos, que ocurre luego de floración.



Figura 2.1.3: Flores de plantas de tulipán var. Rococo presentando síntomas de Tulip Breacking Virus (TBV). Nótese las coloraciones amarillas (flechas en flor de la derecha) y las tonalidades rojo oscuro en tépalos (flechas en flor de la izquierda) producidos por este virus. Todas las plantas del ensayo que presentaron estos síntomas fueron eliminadas.

- Fertirriego

Las soluciones nutritivas Johnson fueron suministrados a través de un sistema de riego por goteo (fertirriego constante). Para cumplir con este objetivo se instaló una plataforma, construida en madera, de 5 metros de altura donde se colocaron los tanques conteniendo las soluciones nutritivas Johnson con distintas concentraciones de boro (figura 2.1.4), correspondientes a cada tratamiento.



Figura 2.1.4: Vista de la plataforma de 5 metros de altura, construida en madera, sobre la cual fueron colocados los tanques de plástico que contenían las soluciones nutritivas Johnson con diferentes concentraciones de boro según tratamiento.

Se dispusieron dos líneas de tubos de polietileno 4K por maceta con goteros autocompensados antidrenantes colocados a una distancia de 20 cm entre sí (figura 2.1.5).



Figura 2.1.5: Vista del ensayo de producción de bulbos de tulipán donde se observa el riego por goteo con dos líneas por maceta de tubería de polietileno con goteros auto compensados antidrenantes separados 20 cm entre sí y la estación meteorológica automática modelo Groweather™ Console, Davis Instruments, USA, en una etapa del cultivo cercana a plena floración.

El fertirriego se controló automáticamente mediante un controlador de 6 vías serie PRO 8436, L.R. Nelson Corporation, Illinois, U.S.A.

Semanalmente se reponían las soluciones nutritivas Johnson de cada tanque.

Las concentraciones de boro (agregadas a la solución nutritiva como ácido bórico) correspondientes a cada tratamiento fueron las siguientes, $T_0=0,0$ mg/l, $T_1= 0,271$ mg/l y $T_2= 1,352$ mg/l, con el resto de los macro y micronutrientes en las concentraciones indicadas para una solución nutritiva Johnson.

Las soluciones nutritivas Johnson utilizadas estaban compuestas de la siguiente manera (se indican los ml de soluciones madre por litro de solución nutritiva Johnson, Guía de Trabajos prácticos, Fisiología Vegetal y Fitogeografía, Cátedra de Fisiología Vegetal, Facultad de Agronomía (UBA), Tema Nutrición Mineral, 1977; Llanos Peada, P.H., 2001):

KNO_3 1 M: 6ml/l,

Ca(NO₃)₂ 4 H₂O 1 M: 4ml/l,
NH₄H₂PO₄ 1 M: 2ml/l,
MgSO₄ H₂O 1 M: 1ml/l,
Micronutrientes: 1ml/l,
Fe EDTA: 1ml/l

La solución madre de micronutrientes estaba compuesta de la siguiente manera:

KCl: 3,728 g/l,
MnSO₄ H₂O: 0,338 g/l,
ZnSO₄ 7 H₂O: 0,575 g/l,
Cu SO₄ 5H₂O: 0,125 g/l.
H₂MoO₄: 0.081g/l

El H₃BO₃ (ácido bórico) fue variable según tratamiento:

T₀: 0,0 g/l

T₁: 1,546 g/l (equivalente a 0,271 g/l de boro)

T₂: 7,73 g/l (equivalente a 1,352 g/l de boro)

El pH de cada solución nutritiva se ajustó a 5,5 – 5,7 usando ácido nítrico.

Las condiciones climáticas, fundamentalmente temperatura, fueron monitoreadas diariamente a través de una estación meteorológica automatizada modelo Groweather™ Console, Davis Instruments, USA ubicada en el lugar del trabajo experimental (figura 2.1.5).

Las temperaturas medias mensuales que incluyen el período de ensayo (julio 2002-enero 2003) pueden apreciarse en el gráfico 2.1.1

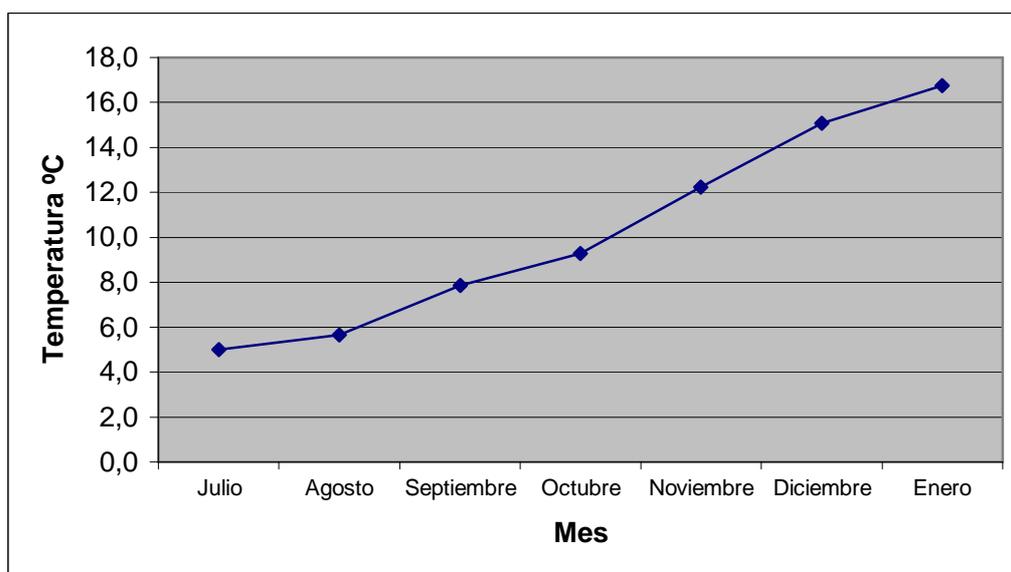


Gráfico 2.1.1: Temperaturas medias mensuales (julio 2002-enero 2003) registradas a través de la estación meteorológica automatizada modelo Groweather™ Console, Davis Instruments, USA durante el ciclo de cultivo de tulipán para producción de bulbos.

Para la primera etapa, de producción de bulbos, debido a que durante los meses de invierno, la absorción de nutrientes que realiza el cultivo es extremadamente baja (De Hertogh y Le Nard, 1993), solo resulta necesario la aplicación de un único fertirriego al momento de la plantación. Hasta la emergencia del cultivo para facilitar el enraizamiento, el sustrato se mantuvo húmedo continuamente a través de riego por goteo utilizando solamente agua, sin fertilizantes.

Luego de la emergencia, se produce un marcado incremento en la absorción de agua y nutrientes (De Hertogh y Le Nard, 1993), por lo que el aporte se incrementó a 3 fertirriegos semanales en los primeros estadios y se fue corrigiendo de acuerdo a la humedad del sustrato que se monitoreó a través de un medidor de humedad de suelo con bloques de yeso tipo GB1 (Soil Moisture Meter modelo KS-D1, Delmhorst Instrument Company, USA). En promedio se aportó una cantidad de 4 litros/maceta/día de solución nutritiva Johnson con las diferentes concentraciones de boro ya mencionadas, según tratamiento, durante la etapa de cultivo.

Una vez que se observó que el cultivo entraba en la etapa de senescencia, los fertirriegos fueron interrumpidos.

Una vez cosechados los bulbos, a fines de enero, fueron identificados según tratamiento y repetición, limpiados, clasificados por tamaño y pesados. Se tomaron muestras correspondientes al 10% de los bulbos principales (5 bulbos por tratamiento y por repetición) para realizar las determinaciones de boro y azúcares solubles. Posteriormente, fueron tratados por inmersión con funguicida e insecticida y colocados en cámara para iniciar los tratamientos de temperatura para la segunda etapa (figura 2.1.6).



Figura 2.1.6: Bulbos de tulipán limpios, clasificados y tratados con insecticidas y funguicidas, listos para comenzar el tratamiento de temperaturas en cámara.

Durante esta etapa se realizaron las siguientes determinaciones:

- Tasa de multiplicación: número de bulbos cosechados/bulbo plantado.

- Tamaño de los bulbos (circunferencia en cm).

- Peso de bulbos/planta (g).

- Concentración de boro en bulbo (mg/kg): se tomaron muestras de 5 bulbos por tratamiento y por repetición que correspondían al 10% de los bulbos plantados y se realizaron determinaciones de concentración de boro en tejido (método del Carmín, Laboratorio de Servicios Analíticos Especiales Lab FAUBA, Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires, (Hatcher, JT & Wilcox L.V., 1950), ver anexo 2, página 97).

- Carbohidratos solubles (expresados como porcentaje de glucosa): se tomaron muestras de 5 bulbos por tratamiento y por repetición que correspondían al 10% de los bulbos plantados y se realizaron determinaciones de concentración de azúcares solubles en tejido mediante la reacción de Antrona (Laboratorio de Servicios Analíticos Especiales Lab FAUBA, Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires (Yemm E.W. and Willis A.J., 1954, ver anexo 2, página 98-99).

2.2 Segunda etapa: PRODUCCIÓN DE FLORES EN MACETA.

La producción de flores en maceta se llevó a cabo utilizando los bulbos procedentes de la primera etapa. Al finalizar el período de producción de bulbos, se tomó una muestra del 10 % de los bulbos plantados (5 bulbos por tratamiento y repetición) y se determinó la concentración de boro (Laboratorio de Servicios Analíticos especiales Lab FAUBA, Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires) en tejido de los mismos. Los valores se observan en la tabla 2.2.1. En esta etapa se adopta la abreviación T_{bf} para denominar los diferentes tratamientos.

Tabla 2.2.1: Concentración de boro en bulbos (Laboratorio de Servicios Analíticos Especiales Lab FAUBA, Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires) obtenidos durante la primer etapa con diferentes concentraciones de B en solución nutritiva. Las distintas concentraciones de B en bulbo representaron los tratamientos de la etapa de producción de flor en maceta.

Tratamiento	Concentración de B en bulbo (mg/kg) ³⁸
T_{bf0}	7
T_{bf1}	9,2
T_{bf2}	20,9

Una vez limpios y clasificados, los bulbos fueron almacenados durante ocho semanas a 22 °C y 70 % de humedad (febrero – marzo).

Cuando alcanzaron el estado “G” (gineceo trilobulado), los bulbos permanecieron a 17 °C durante 4 semanas (abril).

Estado de desarrollo “G”: formación del gineceo trilobulado (pistilo) (De Hertogh y Le Nard, 1993). Estado en que la flor está completamente formada en el interior del bulbo (Schiappacasse F., 1999). El estado “G” es identificado porque se observan 6 tépalos, seis anteras y el gineceo trilobulado (De Hertogh, 1996).

Solo después de alcanzado el estado “G” los bulbos pueden ser tratados con frío (temperaturas iguales o inferiores a 9°C), aunque dependiendo del cultivar se recomienda mantenerlos por algunas semanas a temperaturas intermedias (17-20°C) (Schiappacasse F., 1999).

Para determinar el momento en que los bulbos alcanzan el estado “G” se siguió el procedimiento descrito por De Hertogh y Le Nard, 1993, y Schiappacasse F., 1999. El mismo consiste en cortar las partes laterales del bulbo dejando un cuadrado de unos 2,5 cm por lado, con el plato basal hacia abajo. Este cuadrado se pone de lado y se cortan secciones finas, con bisturí, hasta ver las partes de la flor. El anillo externo corresponde al follaje. El interno es la parte floral. Puede utilizarse una gota de tinta para mejorar el contraste, se seca y se observa con microscopio binocular.

El 2 de mayo de 2003 los bulbos fueron colocados a 9 °C durante 5 semanas (gráfico 2.2.1).

El 6 de junio de 2003 fueron plantados en un sustrato de arena volcánica, deficiente en B ($\leq 0,05$ mg/kg), en macetas individuales tamaño 14 (figuras 2.2.1, 2.2.2 y 2.2.3), regados con agua destilada bidesmineralizada, y colocados a una temperatura de 5 °C para facilitar el enraizamiento de las plantas (gráfico 2.2.1).

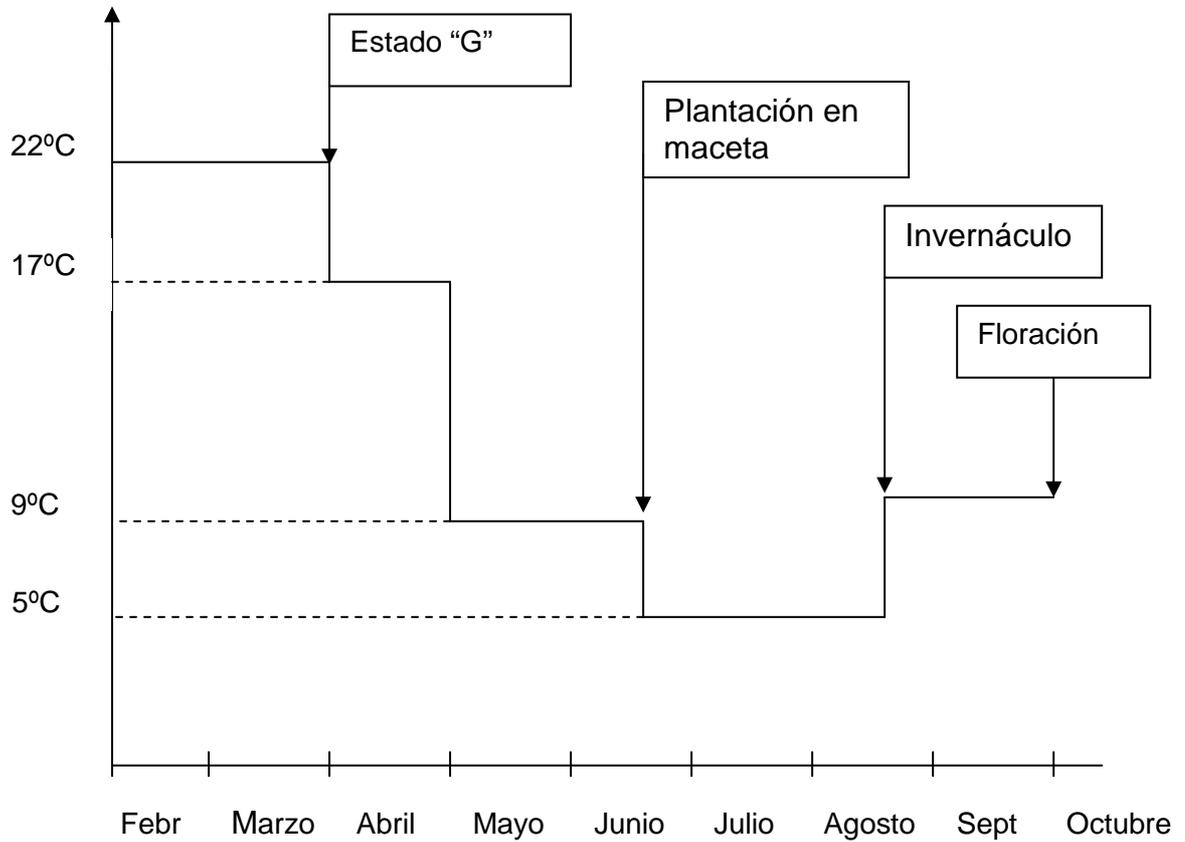


Gráfico 2.2.1: Tratamiento de temperaturas efectuado luego de alcanzado el estado "G" y hasta floración para la producción de flores en maceta de tulipán cv Rococo.



Figura 2.2.1: Bulbo de tulipán, luego del tratamiento en seco durante 5 semanas a 9°C y que será plantado en macetas tamaño 14 en sustrato de arena volcánica, y colocados a 5°C en la cámara de enraizamiento hasta el 22 de agosto de 2003.



Figura 2.2.2: Momento en que se realizó la plantación de los bulbos en macetas sobre sustrato de arena volcánica previo a ser colocados en la cámara de enraizamiento.



Figura 2.2.3: Bulbo plantado en sustrato de arena volcánica, listo para tratamiento frío a 5°C en cámara de enraizamiento.

El 22 de agosto de 2003, cuando los brotes tenían una longitud entre 2 y 3 cm (figura 2.2.4), las macetas fueron transferidas a un invernáculo tipo capilla, sin calefacción (figura 2.2.5). En total, los bulbos recibieron un tratamiento con bajas temperaturas de 16 semanas.



Figura 2.2.4: Estado de las plantas de tulipán al 22 de agosto luego del tratamiento en cámara a 5°C, con un largo de los brotes que oscilaba entre 2 y 3 cm, listas para ser transferidas a invernadero



Figura 2.2.5: Vista general de la etapa de invernadero del forzado para producción de flores en maceta, en el momento de plena floración. Puede observarse también la disposición del riego por goteo y la estación meteorológica automatizada modelo Groweather™ Console, Davis Instruments, USA.

Las plantas fueron regadas a través de un sistema de riego por goteo (figura 2.2.5), sin el agregado de fertilizantes, salvo que una vez por semana las plantas eran regadas con una solución de nitrato de calcio (2,4 g/l) para evitar el doblado del tallo conocido como “stem topple” y para reducir el riesgo de aborto de flores (De Hertogh, 1996).

La temperatura fue registrada diariamente a través de la estación meteorológica mencionada anteriormente. En el gráfico 2.2.2 se observan las temperaturas medias diarias que incluyen los meses que duró la etapa de invernáculo del forzado (agosto – octubre 2003)

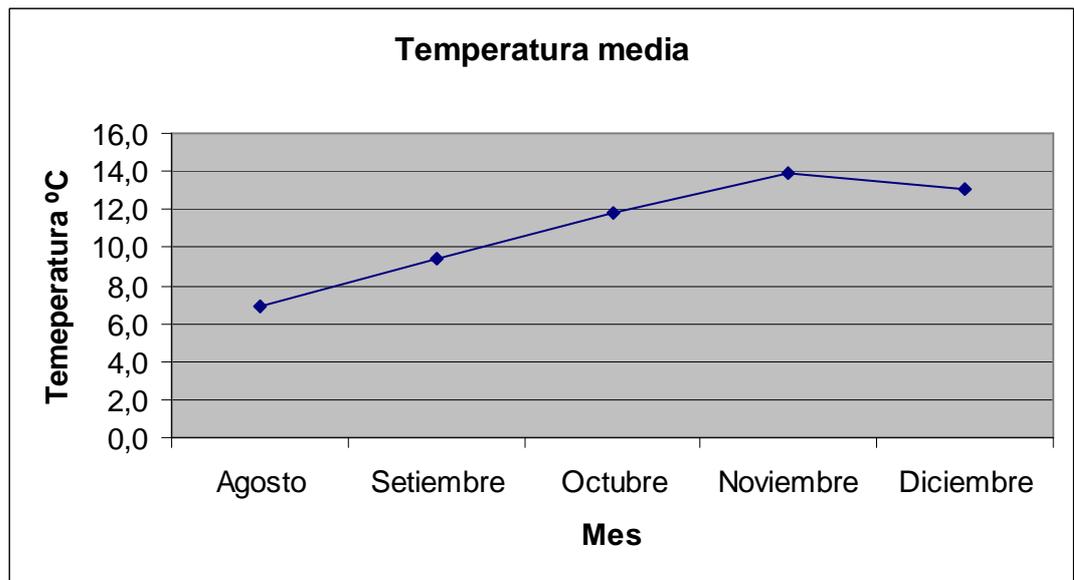


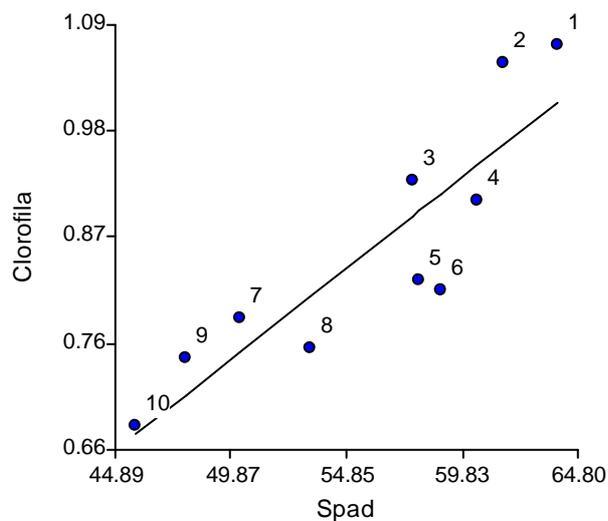
Gráfico 2.2.2: Temperaturas medias mensuales registradas a través de la estación meteorológica automatizada modelo Groweather™ Console, Davis Instruments, USA, que incluyen los meses en que se realizó la etapa de invernáculo del forzado para producción de flor en maceta.

Durante esta segunda etapa de cultivo, en plena floración, se determinaron:

- Peso seco de raíces (g).
- Largo de raíces (mm).

- Concentración de clorofila (mg/g), realizado a través del clorofilómetro Minolta SPAD-502 (figura 2.2.6). Se tomaron muestras de hojas para determinar contenido de clorofila en el Laboratorio de Servicios Analíticos Especiales Lab FAUBA, Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires (Arnon D.L, 1.949, ver anexo 2, página 100) para correlacionar los datos de lectura directa del clorofilómetro con la concentración de clorofila determinado en laboratorio.

A través del paquete estadístico InfoStat version 2004, grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina se efectuó una regresión lineal entre los datos analíticos de clorofila y las lecturas SPAD con los siguientes resultados:



Clorofila (mg/g): $0,18 + 0,02 \cdot \text{SPAD}$ con una de p 0,07%



Figura 2.2.6: Al momento de plena floración se efectuó la medición del contenido de clorofila a través del clorofilómetro SPAD-502 de Minolta

- Peso fresco y seco de hojas (g). Se registró el peso fresco de hojas, se colocaron las muestras en estufa a 60°C hasta peso constante, se registró el peso seco y se determinó la relación entre ambos.

- Área foliar (mm²): al momento de la cosecha de la planta entera, cuando la flor estaba completamente abierta, las hojas se recortaron, escanearon y se determinó área foliar (mm²) mediante el programa UTHSCSA, Image Tool for Windows versión 3.00, Development Team: Don Wilcox, Brent Dove, Doss

McDavid, David Greer, Copyright 1995-2002, The University of Texas Health Science Center in San Antonio.

- Diámetro de vara floral a nivel del cuello de la planta y en el punto de inserción de los tépalos (mm).

- Largo de la vara floral y de cada entrenudo (mm).

- Tamaño de flor: se midió el diámetro de flor (mm), largo de tépalos (mm) y ancho de tépalos (mm).

- Peso fresco de tépalos (g).

- Concentración de antocianinas en flor (mg/mm^2), determinado en el Laboratorio de Servicios Analíticos Especiales Lab FAUBA, Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires (Salisbury, B Frank, 1994, ver anexo 2, página 101)

El diseño experimental utilizado fue de bloques completamente aleatorizados con 3 tratamientos y cuatro repeticiones con idéntica disposición en ambas etapas (producción de bulbos y producción de planta en maceta) de acuerdo al siguiente diagrama.

$T_0 \text{ o } T_{bf0}$	$T_2 \text{ o } T_{bf2}$	$T_1 \text{ o } T_{bf1}$
$T_0 \text{ o } T_{bf1}$	$T_2 \text{ o } T_{bf2}$	$T_1 \text{ o } T_{bf1}$
$T_2 \text{ o } T_{bf2}$	$T_1 \text{ o } T_{bf1}$	$T_0 \text{ o } T_{bf0}$
$T_1 \text{ o } T_{bf1}$	$T_0 \text{ o } T_{bf0}$	$T_2 \text{ o } T_{bf2}$

T: tratamiento en la etapa de producción de bulbos

T_{bf} : tratamiento en la etapa de producción de flor en maceta

Análisis estadísticos

Los resultados fueron sometidos a análisis de varianza utilizando el procedimiento ANOVA del paquete estadístico InfoStat versión 2004, grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. La comparación de medias fue realizado por el test de Tukey a un nivel de probabilidad $\leq 0,05$.

Los datos sobre producción de bulbos se analizaron de acuerdo con el siguiente modelo:

$$Y_{ij} = \mu + F_i + B_j + e_{ij}$$

donde

y_{ij} es la variable dependiente,

μ es la media general,

F_i es el efecto fijo del nivel de B en las soluciones nutritivas (0,0; 0,271 y 1,352 mg/l),

B_j es el efecto del bloque, y

e_{ij} es el término de error aleatorio asociado a la observación Y_{ij}

En el caso de los datos sobre calidad de flor, al no haber diferencias significativas entre bloques, el modelo utilizado para su análisis fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + F_i + e_{ij}$$

y_{ij} es la observación del tratamiento i en la parcela j ,

μ es la media general,

F_i es el efecto fijo del nivel de B en bulbos (7, 9,2 y 20,9 mg/kg),

e_{ij} es el término de error aleatorio asociado a la observación Y_{ij}

Los resultados se muestran en gráficos de columnas multipaneles, donde se indican los valores de cada parámetro y el error estándar correspondiente. En el anexo 3 se presentan los resultados en tablas para cada parámetro analizado, en forma independiente.

CAPÍTULO 3

RESULTADOS

3.1 Producción de bulbos de tulipán

3.1.1 Concentración de B en bulbos (mg/kg)

Los resultados muestran que se produjo una variación en la concentración de boro en los bulbos hijos respecto de los bulbos originales (gráfico 3.1.1; tabla 3.1.1 del anexo 2). Para los tratamientos T_0 y T_1 la tendencia fue a una disminución de la concentración de B en bulbo, resultando en reducciones del microelemento del 45 % y del 28 % en relación al valor inicial aunque solo se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) para el tratamiento T_0 , y a un aumento significativo ($p \leq 0,05$) del 64% para T_2 .

3.1.2 Tasa de multiplicación (TM: nº bulbos cosechados/bulbo plantado)

Los resultados muestran que la tasa de multiplicación (TM) varía de acuerdo a la concentración de boro, expresado como mg/l del elemento, en la solución nutritiva. Se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre el tratamiento sin B (T_0) y el tratamiento con concentración media (T_1), que presentó la mayor tasa de multiplicación (gráfico 3.1.2, tabla 3.1.2 del anexo 2). No se observaron diferencias significativas entre el tratamiento con la mayor concentración de B en solución (T_2) y los demás.

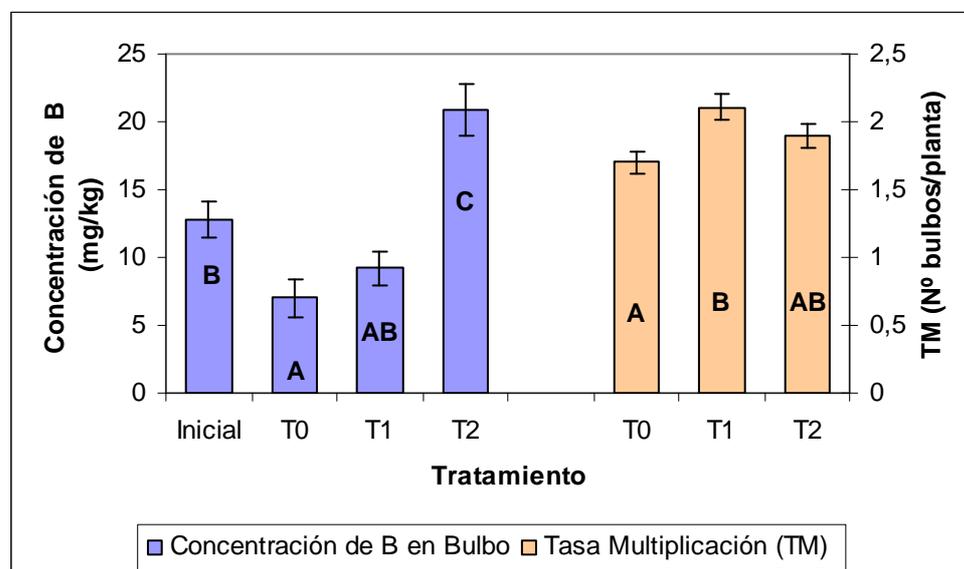


Gráfico 3.1.1: Concentración de B en bulbos ($n=20$) y tasa de multiplicación ($n=100$) cultivados en un sustrato de arena volcánica fertilizados con soluciones Johnson con tres concentraciones distintas de B (T_0 : 0,0 mg/l, T_1 : 0,271 mg/l y T_2 : 1.352 mg/l) comparados con el contenido inicial del microelemento previo al inicio de los tratamientos (inicial). Las columnas representan los valores promedio \pm ES. Letras distintas en las columnas significan diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

3.1.3. Tamaño de los bulbos (circunferencia en cm)

En cuanto al tamaño (circunferencia medida en cm) de los bulbos cosechados, los resultados muestran diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre los tratamientos T_0 y T_2 versus T_1 (gráfico 3.1.2, tabla 3.1.3 del anexo 3). La concentración intermedia de B en solución (T_1 : 0,271 mg/l) produjo los bulbos de mayor tamaño, con un promedio de 10,11 cm.

3.1.4 Peso de bulbos/planta (g)

Los resultados indican que el peso promedio de los bulbos obtenidos por bulbo plantado (gráfico 3.1.3, tabla 3.1.4 del anexo 3) en plantas cultivadas con diferentes concentraciones de B en solución, no presentaron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) para ninguno de los tratamientos ensayados. No obstante ello, se observa que el tratamiento T_1 (0,271 mg/l) produjo un mayor peso promedio del total de bulbos por planta, con diferencias de 9,3% respecto a T_0 y un 11% respecto a T_2 . Esto se relaciona con el mayor tamaño de los bulbos originados con el tratamiento con disponibilidad intermedia de B en solución (gráfico 3.1.2, tabla 3.1.3 del anexo 3) y la mayor tasa de multiplicación de dicho tratamiento (gráfico 3.1.2, tabla .2 del anexo 3)

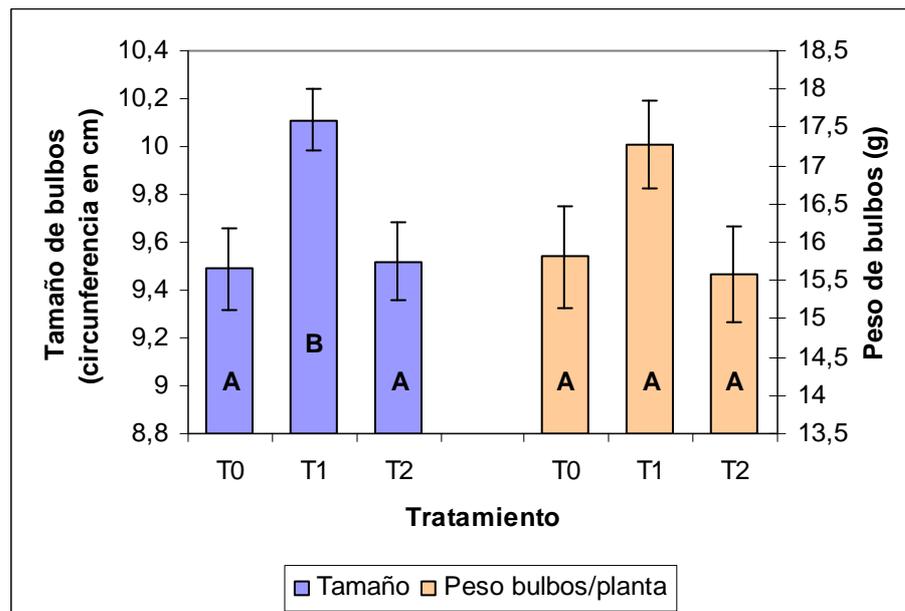


Gráfico 3.1.2: Tamaño de bulbos producidos ($n=100$) y peso de bulbos obtenidos por planta ($n=100$), en plantas de tulipán cv Rococo, cultivadas en un sustrato de arena volcánica fertilizadas con soluciones Johnson con tres concentraciones distintas de B (T_0 : 0,0 mg/l, T_1 : 0,271 mg/l y T_2 : 1,352 mg/l). Las columnas representan los valores promedio \pm ES. Letras distintas en las columnas significan diferencias significativas ($p \leq 0,05$) para cada parámetro evaluado.

3.1.5 Concentración de azúcares solubles en bulbo principal (porcentaje de glucosa)

Al analizar las concentraciones de azúcares solubles, expresadas como porcentaje de glucosa en el bulbo principal, los resultados indicaron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre los tratamientos con boro (T_1 y T_2) comparados con aquel que no contenía boro (T_0) en la solución nutritiva. Los bulbos que estuvieron sometidos al tratamiento sin B presentaron la mayor concentración de azúcares solubles (gráfico 3.1.3, tabla 3.1.5 del anexo 3).

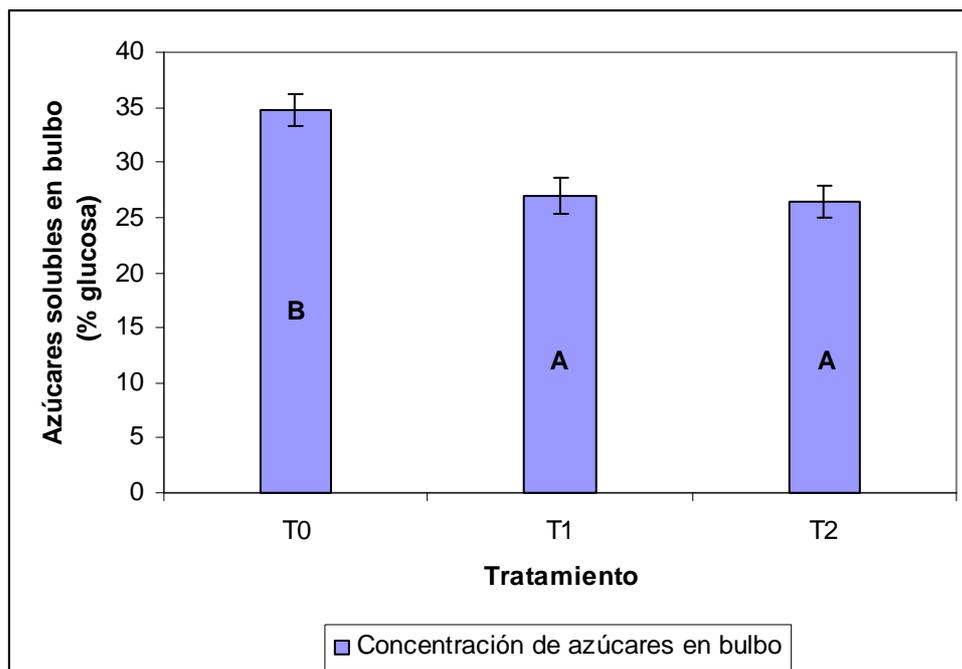


Gráfico 3.1.3: Concentración de azúcares solubles en bulbo (expresados como porcentaje de glucosa) ($n=20$) de plantas de tulipán cv Rococo, cultivadas en un sustrato de arena volcánica fertirrigadas con soluciones Johnson con tres concentraciones distintas de B (T_0 : 0,0 mg/l, T_1 : 0,271 mg/l y T_2 : 1,352 mg/l). Las columnas representan los valores promedio \pm ES. Letras distintas en las columnas significan diferencias significativas ($p \leq 0,05$) para cada parámetro evaluado.

3.2 Producción de flor de tulipán en maceta

Como se mencionó anteriormente las distintas concentraciones de B en la solución nutritiva Johnson utilizadas en la etapa de producción de bulbos influyeron en la concentración de B en tejido de los bulbos principales cosechados (gráfico 3.1.1, tabla 3.1.1 del anexo 3). Dichos bulbos, con diferentes concentraciones de B en tejido, representaron los tratamientos para la producción de plantas en maceta (T_{bf0} : 7 mg/kg, T_{bf1} : 9,2 mg/kg y T_{bf2} : 20,9 mg/kg).

3.2.1 Peso seco de raíces (g)

El peso seco de raíces presentó diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre aquellas plantas originadas de bulbos con menor concentración de B (T_{bf0}) y las

producidas a partir de bulbos con alta concentración de B (T_{bf2}), que presentaron el mayor peso (gráfico 3.2.1, tabla 3.2.1 del anexo 3).

3.2.2 Largo de raíces (mm)

Dentro del rango de concentraciones ensayadas, se observa un incremento en el largo de las raíces al aumentar la concentración de B en el bulbo utilizado como semilla (gráfico 3.2.1, tabla 3.2.2 del anexo 3). Los resultados, presentan diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre el tratamiento con la menor concentración de B en bulbo (T_{bf0}) y aquellos con las concentraciones intermedias (T_{bf1}) y superior (T_{bf2}).

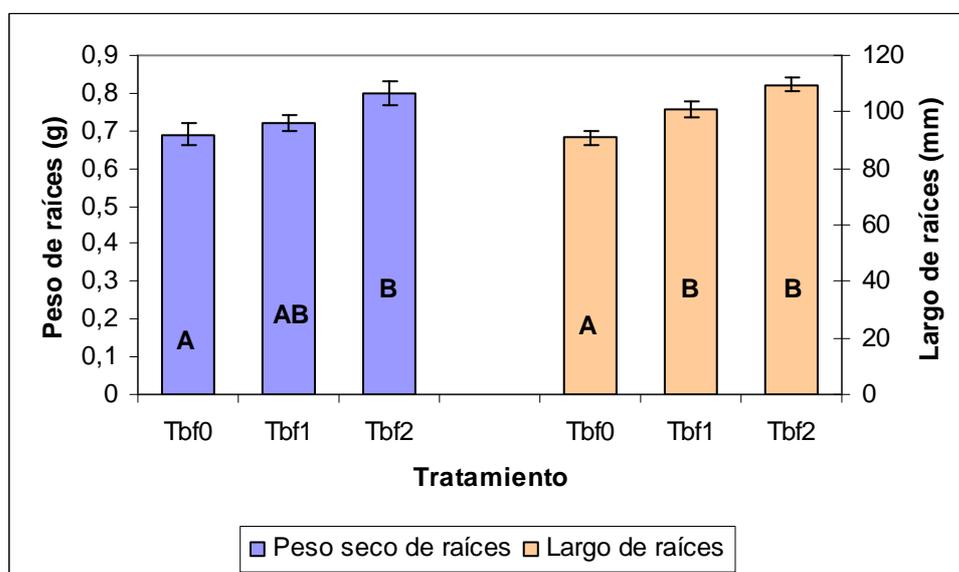


Gráfico 3.2.1: Peso seco y longitud de raíces medidos al momento de plena floración, en plantas de tulipán cv Rococo, producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido (T_{bf0} : 7 mg/kg, T_{bf1} : 9,2 mg/kg, T_{bf2} : 20,9 mg/kg). Las columnas indican los valores promedios \pm ES ($n=20$). Letras distintas en las columnas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en los parámetros evaluados.

3.2.3 Concentración de clorofila en hojas (mg/g)

Los resultados demuestran que la concentración de clorofila presentó diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre aquellas plantas provenientes de bulbos con la menor concentración de B (T_{bf0}), comparadas con las que se originaron a partir de concentraciones medias del microelemento (T_{bf1}) en bulbo, que presentó la mayor concentración del pigmento en hojas (gráfico 3.2.2, tabla 3.2.3 del anexo 3).

Las plantas con la más alta concentración de B en bulbo (T_{bf2}) presentan una disminución en la concentración de clorofila en hojas respecto del valor intermedio, aunque no se observan diferencias significativas respecto de los tratamientos con concentraciones baja y media de B en bulbo.

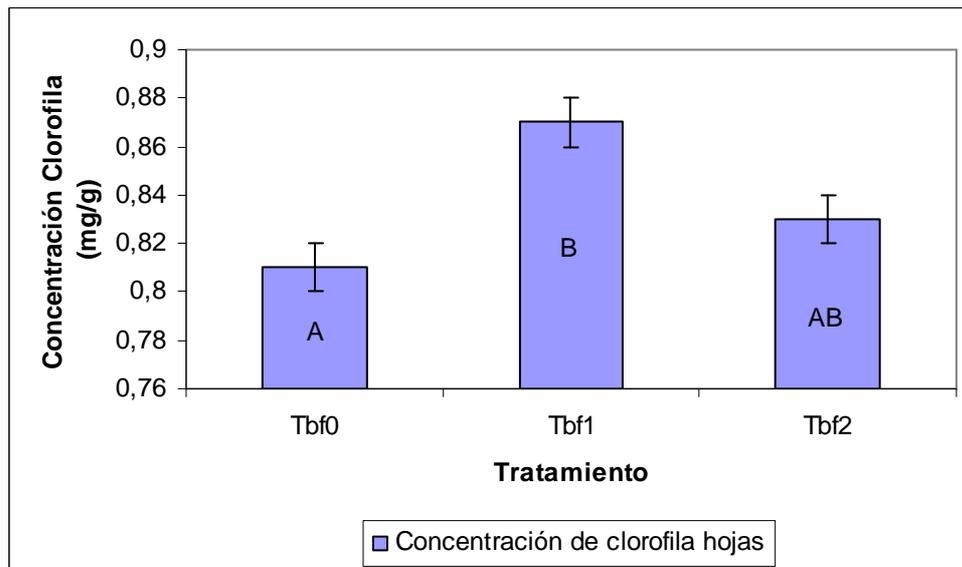


Gráfico 3.2.2: Concentración de clorofila en hojas medidas al momento de plena floración, en plantas de tulipán cv Rococo, producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido (T_{bf0} : 7 mg/kg, T_{bf1} : 9,2 mg/kg, T_{bf2} : 20,9 mg/kg). Las columnas indican los valores promedios +/- ES (n=20). Letras distintas en las columnas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en el parámetro evaluado.

3.2.4 Peso de hojas (g)

Los resultados no indicaron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en cuanto a los pesos secos y pesos frescos en hojas (gráfico 3.2.3, tabla 3.2.4 del anexo 3). Se observan diferencias significativas en cuanto a la relación peso seco / peso fresco entre los tratamientos con valores medio y alto de B en bulbo (T_{bf1} y T_{bf2}) comparados con el de menor concentración (T_{bf0}), que presentó el mayor valor.

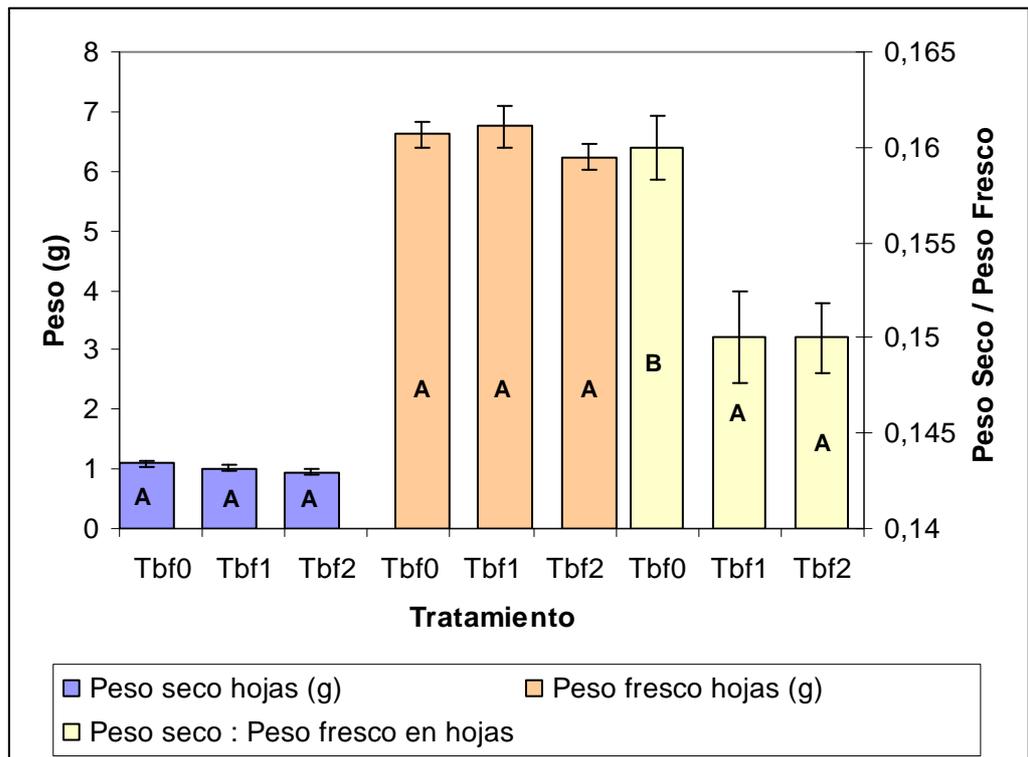


Gráfico 3.2.3: Peso seco, peso fresco y relación entre los mismos medidos al momento de plena floración, en plantas de tulipán cv Rococo, producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido (T_{bf0} : 7 mg/kg, T_{bf1} : 9,2 mg/kg, T_{bf2} : 20,9 mg/kg). Las columnas indican los valores promedios \pm ES (n=20). Letras distintas en las columnas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en el parámetro evaluado.

3.2.5 Área foliar (mm^2)

No se observaron diferencias significativas en el área foliar medida en el momento de plena floración entre los diferentes tratamientos (gráfico 3.2.4, tabla 3.2.5 del anexo 3).

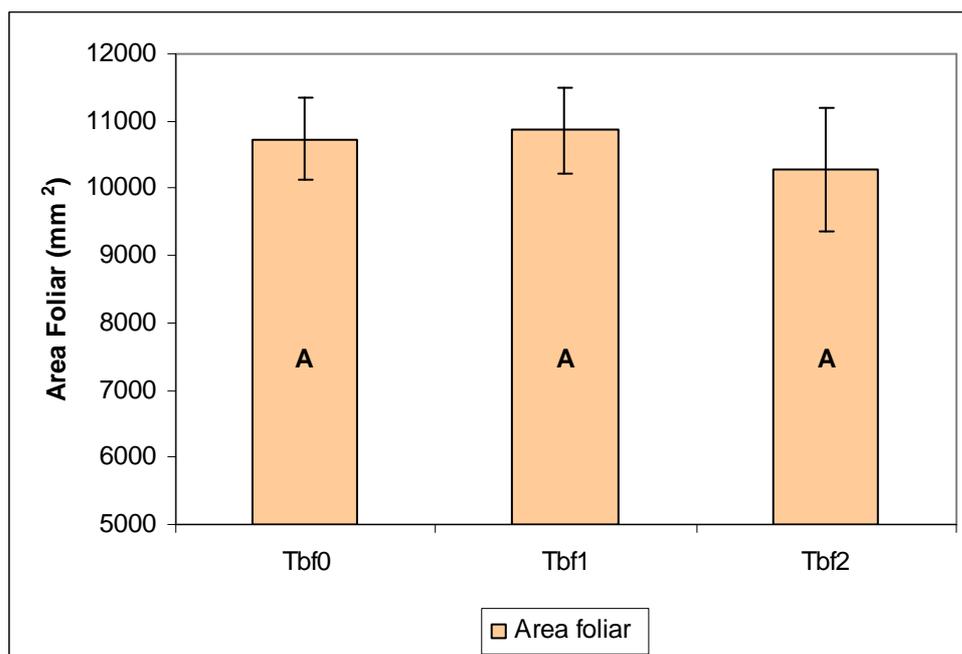


Gráfico 3.2.4: Área foliar total por planta medida al momento de plena floración, en plantas de tulipán cv Rococo, producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido (T_{bf0} : 7 mg/kg, T_{bf1} : 9,2 mg/kg, T_{bf2} : 20,9 mg/kg). Las columnas indican los valores promedios +/- ES (n=20). Letras distintas en las columnas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en el parámetro evaluado.

3.2.6 Diámetro de la vara floral (mm)

La mayor altura de las plantas de los tratamientos con mayor concentración de B en bulbo estuvo acompañada de una disminución del diámetro de la vara tanto a nivel del suelo (gráfico 3.2.5, tabla 3.2.6 del anexo 3) como en la base de la flor (gráfico 3.2.5, tabla 3.2.7 del anexo 3). Para ambos parámetros se observa una disminución significativa entre las plantas originadas a partir de bulbos con la menor concentración de boro en bulbo (T_{bf0}) y las provenientes de bulbos con la mayor concentración del microelemento en bulbo (T_{bf2}), presentando estas últimas los menores valores.

3.2.7. Largo de la vara floral (mm)

Otro parámetro importante en cuanto a calidad de flor es el largo de la vara floral. Los resultados obtenidos (gráfico 3.2.5, tabla 3.2.8 del anexo 3) demuestran que el largo de vara aumentó de manera significativa ($p \leq 0,05$) al aumentar la concentración de B en bulbo para todos los tratamientos.

Cuando se analizan los entrenudos en forma separada, no se observan diferencias significativas ($p \leq 0,05$) para el largo del primer y segundo entrenudos entre plantas originadas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido (gráfico 3.2.6, tabla 3.2.9 del anexo 3).

Los resultados indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en el largo del tercer entrenudo entre aquellas flores provenientes de bulbos con la menor concentración de B (T_{bf0}) y los que presentaban la mayor concentración (T_{bf2})

(gráfico 3.2.6, tabla 3.2.7 del anexo 3). Por el contrario, no se observaron diferencias significativas para dicho entrenudo entre aquellas plantas producidas a partir de bulbos con concentración intermedia (T_{bf1}) de B comparadas con las provenientes de bulbos con la menor y mayor concentración del microelemento, respectivamente (gráfico 3.2.6, tabla 3.2.9 del anexo 3).

Los resultados muestran diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre todos los tratamientos para el entrenudo superior (gráfico 3.2.6, tabla 3.2.9 del anexo 3).

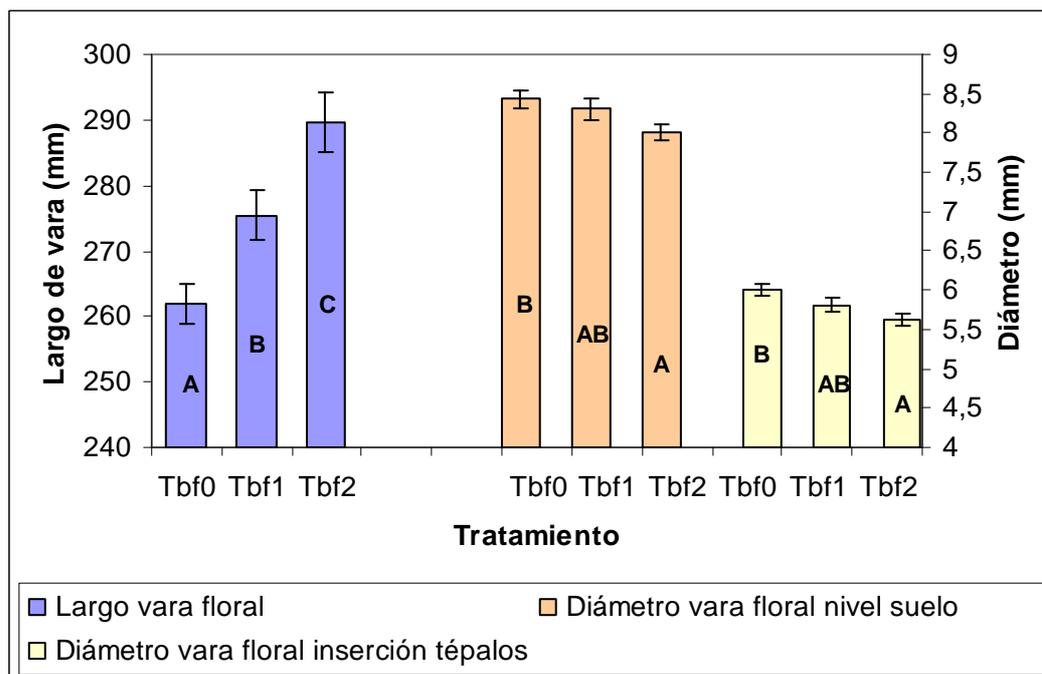


Gráfico 3.2.5: Diámetros a nivel del suelo y en la inserción de los tépalos y longitud de la vara floral (incluyendo la flor) medidos al momento de plena floración, en plantas de tulipán cv Rococo, producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido (T_{bf0} : 7 mg/kg, T_{bf1} : 9,2 mg/kg, T_{bf2} : 20,9 mg/kg). Las columnas indican los valores promedios \pm ES ($n=20$). Letras distintas en las columnas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en el parámetro evaluado.

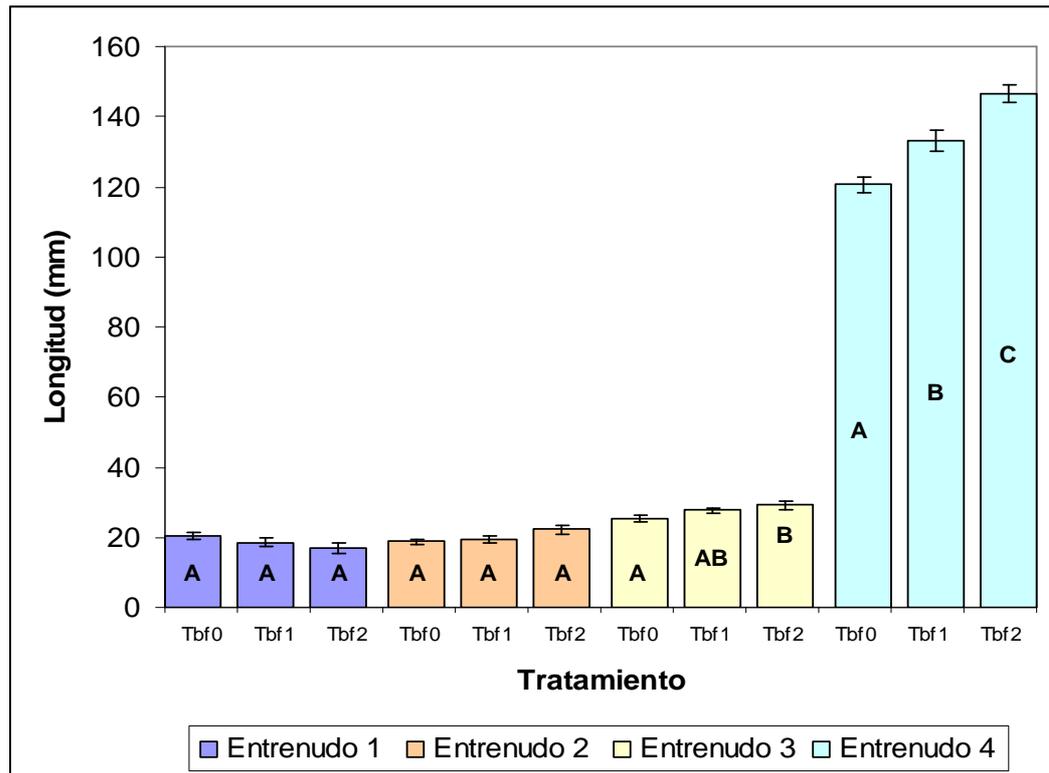


Gráfico 3.2.6: Longitud de cada entrenado al momento de plena floración, en plantas de tulipán cv Rococo, producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido (T_{bf0} : 7 mg/kg, T_{bf1} : 9,2 mg/kg y T_{bf2} : 20,9 mg/kg). Las columnas indican los valores promedio \pm ES (n=20). Letras distintas en las columnas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en los parámetros evaluados.

3.2.8 Tamaño de la flor

En el momento de plena floración, los resultados no mostraron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en el diámetro de la flor (gráfico 3.2.7, tabla 3.2.10 del anexo 3) entre flores de plantas provenientes de bulbos que presentaban diferentes concentraciones de B en tejido al momento de la plantación.

Las plantas provenientes de bulbos con la menor concentración de B produjo tépalos más pesados (gráfico 3.2.7, tabla 3.2.11 del anexo 3) comparados con los demás tratamientos presentando diferencias significativas ($p \leq 0,05$) solo con respecto al tratamiento con mayor concentración de B en bulbo.

De acuerdo a los resultados, el ancho de los tépalos (mm) varió de manera significativa ($p \leq 0,05$) entre las flores de plantas originadas a partir de bulbos que contenían la mayor concentración de B (T_{bf2}) y aquellas que se originaron de bulbos con la menor concentración de B en bulbo (T_{bf0}) (gráfico 3.2.7, tabla 3.2.12 del anexo 3). Las flores provenientes de bulbos que presentaban una concentración de 9,2 mg/kg en bulbos, no difirieron significativamente de los demás tratamientos.

No se registraron diferencias significativas en el largo de tépalos (mm) para ninguno de los tratamientos (gráfico 3.2.7, tabla 3.2.13 del anexo 3).

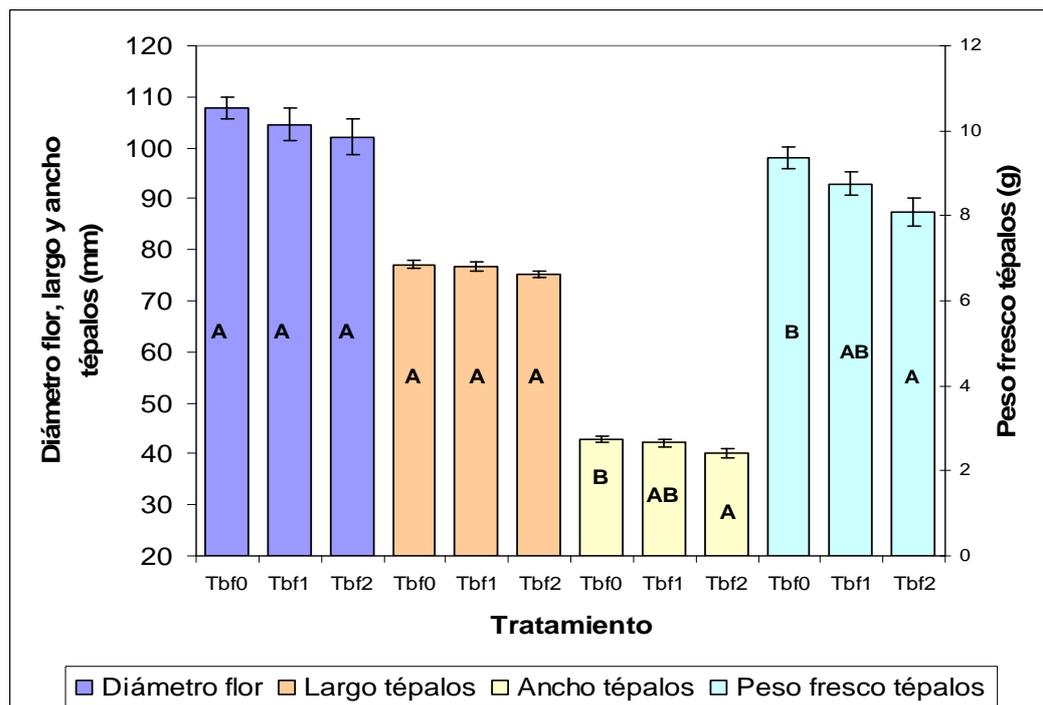


Gráfico 3.2.7: Diámetro de flor y largo, ancho y peso fresco de tépalos medidos al momento de plena floración, en plantas de tulipán cv Rococo, producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido (T_{bf0} : 7 mg/kg, T_{bf1} : 9,2 mg/kg, T_{bf2} : 20,9 mg/kg). Las columnas indican los valores promedios \pm ES ($n=20$). Letras distintas en las columnas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en el parámetro evaluado.

3.2.9 Concentración de antocianas en tépalos (mg/mm^2)

Los resultados mostraron que la concentración de antocianas por unidad de superficie en los tépalos está relacionada con la concentración de B en bulbo. Se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre el tratamiento con menor concentración de B (T_{bf0}) y aquel que presentaba la concentración intermedia (T_{bf1}). No se observaron diferencias significativas en la concentración de antocianas en tépalos entre plantas provenientes de bulbos con la mayor concentración de B (T_{bf2}) y los demás tratamientos (gráfico 3.2.8, tabla 3.2.14 del anexo 3).

La concentración intermedia de boro en bulbo produjo flores con las mayores concentraciones de antocianas.

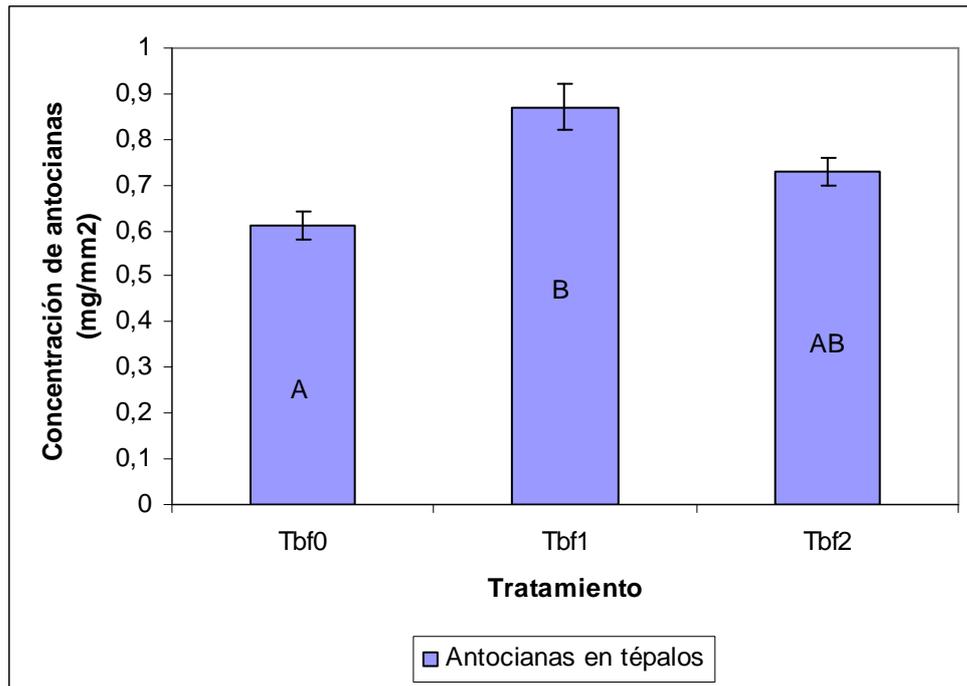


Gráfico 3.2.8: Concentración de antocianinas en tépalos medidas al momento de plena floración, en plantas de tulipán cv Rococo, producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido (T_{bf0} : 7 mg/kg, T_{bf1} : 9,2 mg/kg y T_{bf2} : 20,9 mg/kg). Las columnas indican los valores promedios +/- ES (n=20). Letras distintas en las columnas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en los parámetros evaluados.

CAPÍTULO 4

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente trabajo demuestran que el agregado de boro en la solución nutritiva afecta la producción de bulbos de tulipán (*Tulipa gesneriana*) cv Rococo.

Estos resultados están en concordancia con los hallados por Ikarashi (1980) y De Hertogh and Le Nard (1993), quienes mencionan pérdidas en la producción de bulbos de tulipán debido a deficiencias de B en cultivos realizados en zonas arenosas de Japón donde la manifestación de la deficiencia de B presenta síntomas extremos.

Sin embargo, no se menciona si las pérdidas se deben a falta de calidad de los mismos por deformaciones, falta o deficiente maduración de la catáfila, a una reducción en la tasa de multiplicación, a una disminución en el tamaño que provocaba un aumento en el descarte, a problemas en la diferenciación de las yemas florales durante el almacenaje, o a un conjunto de dichos factores.

El presente trabajo demuestra que existe una respuesta al agregado de B en la solución nutritiva afectando la tasa de multiplicación lo que ocasiona una disminución en la cantidad total de bulbos cosechados respecto de los bulbos plantados al quitar el microelemento de la misma (gráfico 3.1.1 capítulo 3, página 52, tabla 3.1.2, anexo 3, página 103).

Por otro lado, los bulbos comerciales destinados a parques y jardines, flor de corte o planta en maceta deben tener un tamaño 10 o superior (De Hertogh A. y Le Nard M., 1993; Turró R. y Diacinti A, 2003), de lo contrario deberán continuar siendo cultivados hasta alcanzar el tamaño adecuado con el consecuente perjuicio económico para el productor de bulbos. Los resultados demuestran que la disponibilidad de B en la solución nutritiva afectó de manera significativa el tamaño de los bulbos obtenidos (gráfico 3.1.2, capítulo 3, página 53, tabla 3.1.3, anexo 3, página 103).

Los resultados encontrados aquí con respecto a tasa de multiplicación y tamaño de bulbos concuerdan con los citados por Halder et al (2007) en gladiolo (*Gladiolus spp*), quienes reportan un aumento en la cantidad y tamaño de cormos en función de las dosis de B utilizadas, en un suelo con una concentración de B de 0,1 µg/g.

No se observaron anomalías tales como falta o incorrecta maduración de túnica u otros defectos que pudieran atribuirse a las distintas concentraciones de B utilizadas en el ensayo.

Todos los bulbos, independientemente de las concentraciones de ácido bórico en solución, destinados a producción de flor, colocados en cámara a temperatura cálida alcanzaron el estado "G" (estado en que la flor se encuentra completamente formada dentro del bulbo, se observa el gineceo trilobulado) sin inconvenientes, es decir diferenciaron perfectamente todos los órganos incluyendo yema floral durante el almacenamiento, por lo que dentro del rango de concentraciones ensayadas, todos los bulbos con el tamaño adecuado

(superiores a 6-8 de acuerdo a la variedad) estarían en condiciones de producir flor.

En todos los casos el cultivo desarrolló su ciclo ontogénico normalmente.

La concentración de azúcares solubles en bulbo, expresado como porcentaje de glucosa, estuvo influenciado por la disponibilidad de B en la solución nutritiva (gráfico 3.1.3, capítulo 3, página 54, tabla 3.1.5, anexo 3, página 104).

Las plantas sometidas al tratamiento sin agregado de boro a la solución nutritiva (T_0) produjeron los bulbos con mayor concentración de azúcares solubles en tejido, de modo tal que la falta del microelemento en la solución nutritiva no afectó el transporte de azúcares, en contraposición a lo indicado por Marschner (1995), quien reportó una reducida translocación de azúcares, con una acumulación de los mismos en hojas de plantas boro deficientes, atribuyendo la reducción en la translocación de azúcares a la falta de actividades de los ápices de tallos y raíces ante una deficiencia de B (Cakmak and Romheld, 1997). Resta comprobar en futuros trabajos, si con deficiencias más severas se produce la mencionada alteración en tulipán, ya que muchos de los síntomas que menciona la bibliografía han sido observados al provocar deficiencias extremas del micronutriente que no se han producido en el caso del presente trabajo.

La mayor concentración de azúcares, expresado como porcentaje de glucosa, en bulbos obtenidos con la menor dosis de B se explicaría en el hecho de que este tratamiento produjo la menor cantidad de bulbos al momento de cosecha, lo que disminuiría la cantidad de destinos de los carbohidratos, de ahí la mayor concentración de los mismos en bulbos de plantas que presentaron menor tasa de multiplicación (gráfico 3.1.1, capítulo 3, página 52, tabla 3.1.2, anexo 3, página 103).

El quebrado transversal de la parte superior del tallo, mencionado por De Hertogh y Le Nard (1997), Ikarashi (1980) y Miller (2007) como un síntoma ligado a la falta de B, conocido como "Kubiore", en cultivos de tulipán producidos en zonas de dunas de Japón, donde se presentaban deficiencias severas del microelemento, no fue observado durante el desarrollo del presente trabajo ni en la etapa de producción de bulbos ni en la de producción de flor en maceta.

Debe tenerse en cuenta que la concentración de B en tejido al iniciar la primer etapa del experimento (producción de bulbos) fue de 12,74 mg/kg (gráfico 3.1.1, capítulo 3, página 52, tabla 3.1.1, anexo 3, página 102) y que el mismo se translocó a los bulbos hijos de modo tal que la concentración de B en tejido al finalizar la etapa de producción de bulbos correspondientes al tratamiento sin aporte de B era de 7 mg/kg (T_0 en gráfico 3.1.1, capítulo 3, página 52, tabla 3.1.1, anexo 3, página 102), a pesar de haber sido cultivados en un sustrato B deficiente (< 0,05 mg/kg) y sin aporte del microelemento en solución durante todo el ciclo de cultivo. Este contenido de B resultaría suficiente, al menos en este cultivar, para evitar la aparición de dicho síntoma, que sería, por lo tanto, propio de deficiencias extremas del microelemento.

Asimismo, el hecho de que no aparezcan síntomas de deficiencia severas en los tejidos en crecimiento que es uno de los síntomas más uniformemente

encontrados entre todas las especies en respuesta a una deficiencia de B (Brown and Hu, 1994) estaría indicando que el B presente en los bulbos originales se trasladaría libremente dentro de la planta para finalmente, una vez que se secan y desaparecen las escamas del bulbo original, acumularse en los bulbos hijos.

El peso seco de raíces así como la longitud de las mismas disminuyó al disminuir la concentración de B en bulbo (gráfico 3.2.1, capítulo 3, página 56, tabla 3.2.1, anexo 3, página 105). Esto concuerda con lo descrito por Lukaszewski y Blevins (1996), Matoh (1997) y Dell y Huang (1997) quienes manifiestan que la inhibición en la elongación de raíces es una de las respuestas más rápidas a la deficiencia de B⁶⁹. Dell y Huang (1997) indican que el B cumple un rol principal en el alargamiento celular debido a que su deficiencia provoca una malformación en la estructura de pared y a la pérdida de extensibilidad plástica de la misma, y a un rol secundario en la división celular. Ambos roles contribuyen a la elongación del sistema radical. Mayores estudios deberán ser realizados para determinar si tales factores son efectivamente responsables por la disminución en el peso y largo de raíces en tulipán.

La concentración de clorofila en hojas de tulipán varió de acuerdo la concentración de B en bulbos (gráfico 3.2.2, capítulo 3, página 57, tabla 3.2.3, anexo 3, página 106). Los resultados obtenidos concuerdan con lo descrito por Dell and Huang (1997) acerca de una reducción del contenido de la misma en plantas con bajo suministro de B. Asimismo, mencionan una disminución en el contenido de proteínas solubles, mayoritariamente enzimas fotosintéticas, que afectaron la actividad de la reacción de Hill y la fotosíntesis neta en plantas B deficientes.

Tariq and Mott (2007) y Cakman y Romheld (1997) mencionan disminuciones en la concentración de clorofila y en la fotosíntesis neta en respuesta a una deficiencia o toxicidad de B.

Las diferencias obtenidas en cuanto a la relación entre peso seco y peso fresco en hojas (gráfico 3.2.3, capítulo 3, página 58, tabla 3.2.4, anexo 3, página 107) coinciden con lo expuesto por Tariq and Mott (2007) sobre hojas de plantas B deficientes conteniendo menor porcentaje de humedad, menor potencial agua, menor apertura estomática y menor tasa de transpiración, además de una menor tasa de crecimiento, comparadas con plantas con suficiente B.

La concentración de boro en bulbos afecta el largo de las varas florales (gráfico 3.2.5, página 61, tabla 3.2.8, anexo 3, página 109). Una disminución en la concentración de B en bulbos produjo un acortamiento de los entrenudos (gráfico 3.2.6, capítulo 3, página 62, tabla 3.2.9, anexo 3, página 109) y un engrosamiento de la vara floral a nivel del bulbo y también en la base de la flor (gráfico 3.2.5, capítulo 3, página 61, tabla 3.2.6 y 3.2.7, anexo 3, página 109), lo que concuerda con lo encontrado por Doss et al (1980) en flores de *Iris hollandica* cv Ideal en cuanto a que una deficiencia de B origina flores de menor calidad, más gruesas y cortas. La diferencia en el largo de la vara floral estuvo dada por los entrenudos superiores que aumentaron su longitud a medida que se incrementaba la concentración de B en bulbo. Dentro del rango de concentraciones ensayadas, se observó que el largo de vara se incrementa al aumentar la concentración de B en tejido del bulbo (gráfico 3.2.5, capítulo 3, página 61, tabla 3.2.8, anexo 3, página 109), lo que implica una mayor calidad

de flor, siempre y cuando la disminución en los diámetros del escapo floral observados al aumentar la concentración de B en bulbo (gráfico 3.2.5, capítulo 3, página 61, tablas 3.2.6 y 3.2.7, anexo 3, página 108), no se traduzcan en una pérdida importante en la rigidez del mismo.

A pesar de no encontrarse diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes tratamientos, salvo para el ancho de los tépalos (gráfico 3.2.7, capítulo 3, página 63, tabla 3.2.12, anexo 3, página 111), la mayor concentración de B en bulbo provocó una disminución en el diámetro de la flor y en el largo de los tépalos, así como en el peso fresco de los mismos, lo que conduciría a la obtención de una flor de menor tamaño (gráfico 3.2.7, capítulo 3, página 63, tablas 3.2.10, 3.2.11 y 3.2.13, anexo 3, páginas 110 y 111).

En las condiciones del ensayo, los resultados revelan que las concentraciones de antocianinas en tépalos de flores en maceta (segunda etapa del experimento), difirieron de manera significativa ($p \leq 0,05$) de acuerdo a la concentración de B en tejido de los bulbos a partir de los cuales se produjeron las plantas (gráfico 3.2.8, capítulo 3, página 64, tabla 3.2.14, anexo 3, página 112). Ikarashi (1980) y De Hertogh and Le Nard (1993) mencionan la desaparición de antocianinas, conocido como "Ironuke", como un típico síntoma "visual" de deficiencia de B en cultivos de tulipán producidos en suelos arenosos y franco arenosos altamente permeables de las zonas de Niigata y Tayama, en Japón. En nuestro caso, en plantas originadas a partir de bulbos con concentraciones de B de 7, 9,2 y 20,9 mg/kg respectivamente, no fue posible registrar una manifestación "visual" del síntoma a pesar de que los análisis demuestran que efectivamente la concentración de B afectó de manera significativa ($p \leq 0,05$) la concentración de antocianinas en flores de tulipán. Es de esperar, que ante severas la deficiencias de B, las pérdidas de antocianinas se agraven decolorando la flor y por ende depreciando totalmente su calidad.

Si la disminución de antocianinas observada en el presente trabajo es una consecuencia del consumo de las mismas provocada por un stress oxidativo o como producto del alterado metabolismo de los fenoles, producido por una deficiencia de B como mencionan Camacho et al (2002) y Cakmak y Romheld (1997), deberá ser dilucidado por futuros trabajos de investigación.

Por otra parte, tampoco se observaron durante el desarrollo del experimento, los síntomas de resquebrajado de la epidermis en tépalos, descritos por Miller W.B. (2007).

CAPITULO 5

CONCLUSIONES

A pesar de que los mecanismos de la esencialidad del boro aún no han sido totalmente dilucidados (Bolaños et al, 2004) y no está claro si muchos de los síntomas atribuidos a la deficiencia de este microelemento resultan de un efecto primario o secundario del mismo sobre el metabolismo de las plantas, la concentración de boro en la solución nutritiva afecta tanto la producción de bulbos como la producción de flores en tulipán cv Rococo.

En el cultivo de tulipán (*Tulipa gesneriana*) cv Rococo una adecuada disponibilidad de boro durante la producción de bulbos permite no solo aumentar la tasa de multiplicación, esto es lograr una mayor cantidad de bulbos respecto de los bulbos plantados originalmente, sino también aumentar el tamaño de los bulbos producidos.

Asimismo, mejora la calidad desde el punto de vista nutricional ya que asegura una concentración de B en bulbos que permite la obtención de una flor de alta calidad en lo que se refiere a tamaño de la misma, longitud y diámetro de la vara floral y una adecuada coloración.

Una baja disponibilidad de B durante la producción de bulbos no solo afectará la cantidad de bulbos obtenidos sino que redundará en una menor calidad de bulbo y por ende de la flor que origine.

Miller W.B. (2008) menciona que la deficiencia de boro comienza durante la etapa de producción de bulbos, cuando los mismos son producidos en suelos deficientes y que se desconoce la factibilidad de corregir tal deficiencia en la etapa de producción de flor, entre otros factores, por la falta de bulbos boro-deficientes para ensayos. A la luz de la disminución evidenciada en la concentración de B en aquellos bulbos cultivados sin el microelemento en la solución nutritiva (7mg/kg), comparado con la concentración inicial de los mismos, previo al inicio de los ensayos (12,74 mg/kg), la metodología utilizada aquí para la producción de bulbos podría ser utilizada para la producción de bulbos con bajas concentraciones de B.

Futuros trabajos deberán ser realizados para dilucidar si el comportamiento manifestado por el cultivar utilizado en este trabajo es válido para otros cultivares de tulipán, así como determinar los roles que este microelemento desempeña en las plantas superiores que llevan a la manifestación de los síntomas mencionados, tales como disminución en el crecimiento radical, desaparición de antocianinas, menor contenido de clorofila entre otros.

Teniendo en cuenta la escasa información que existe en el Noroeste del Chubut acerca de la disponibilidad de este y otros nutrientes será necesario también, complementar con estudios de fertilidad de suelo más detallados que permitan conocer la dinámica de los mismos en función de las condiciones particulares de clima, tipo de suelo y cultivo en particular.

BIBLIOGRAFÍA

- Adhikary Bishnu H., Ghale Madhy S., Adhikary Chiranjibi, Dahal Surya P., Ranabhat Durga B. (2004). Effects of different levels of boron on cauliflower (*Brassica oleracea* var *botrytis*) curd production on acid soil of Malepatan, Pokhara. Nepal Agric. J. 5: 65-67
- Agulhon H. (1910). Presence and utility of boron in plants. Ann. Inst. Pasteur (Paris), 321-329.
- Alam M.N. (2007) Effect of boron levels on growth and yield of cabbage in calcareous soils of Bangladesh. Research Journal of Agricultural and Biological Sciences 3: 856-865.
- Ali A.H.N and Jarvis B.C. (1988). Effects of auxin and boron on nucleic acid metabolism and cell division during adventitious root regeneration. New Phytologist 108:383-391.
- Arnon D.L. (1949) Copper enzymes in isolated chloroplast. Poliphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology 24: 1-15.
- Asad A., Blamey F.P.C. and Edwards D.G. (2002) Dry matter production and boron concentrations of vegetative and reproductive tissues of canola and sunflower plants in nutrient solution. Plant and Soil 243: 243-252.
- Asad A., Dell R.W. and Bell B. (2001). A critical comparison of the external and internal boron requirements for contrasting species in boron – buffered solution culture- Plant and Soil 233: 31-45.
- Asad R.R., Blamey F.P.C. and Edwards D.G. (2003) Effects of boron foliar applications on vegetative and reproductive growth of sunflower. Annals of Botany 92: 1-6.
- Bañon Arias S., Cifuentes Romo D., Fernández Hernández J.A., Gonzalez Benavente-Garcia A. (1993). El Tulipán en Gerbera, liliun, tulipán y rosa. Ed. Mundi-Prensa, Madrid, España, pp.160-200.
- Bellaloui Nacer and Brown Patrick H. (1998) Cultivar differences in boron uptake and distribution in celery (*Apium graveolens*), tomato (*Lycopersicon esculentum*) and wheat (*Triticum aestivum*). Plant and Soil 198: 153-158.
- Benson N.R., Degman E.S. and Chmelir I.C. (1961). Translocation and reuse of born in broccoli. Plant Physiology 36 (3): 296-301.
- Blamey F.P.C., Mould D. and Chapman J. (1979). Critical boron concentrations in plant tissues of two sunflower cultivars. Agronomy Journal 71: 243-247.
- Blevins Dale G. and Lukaszewski Krystyna M. (1998). Boron in Plant Structure and Function. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 1998. 49:481–500.

Bohnsack Charles W. and Alber Lukes (1977). Early effects of boron deficiency on indoleacetic acid oxidase levels of squash root tips. *Plant Physiology* 59: 1047-1050.

Bolaños L., Lukaszewski K., Bonilla I., Blevins D. (2004). Why boron?. *Plant Physiology and Biochemistry* 42: 907-912.

Brown P. H. And Hu H. N. (1994). Boron uptake by sunflower, squash and cultured tobacco cells. *Physiologia Plantarum* 91 (3) 435-441.

Brown P. H. And Hu H. N. (1996). Phloem mobility of boron is species dependent: evidence for phloem mobility in sorbitol rich species. *Ann. Bot.* 77: 497-505.

Brown P.H. and Shelp B.J. (1997). Boron mobility in plants. *Plant and soil* 193:85-101.

Cakmak I. and Romheld Volker (1997). Boron deficiency induced impairment of cellular functions in plants. *Plant and Soil* 193:71-83.

Calderon Saenz, Felipe (2002). Contribución al conocimiento del perfil nutricional del clavel: estudio sobre rajado de cáliz en la variedad Nelson. Caso 3 (*Dianthus carophyllus L.*) Dr Calderon Laboratorios Ltda, Febrero 2002. Publicado en internet, disponible en <http://www.drcaideronlabs.com>

Camacho - Cristóbal, Juan J., González - Fontes Agustín (1999). Boron deficiency causes a drastic decrease in nitrate content and nitrate reductase activity, and increases the content of carbohydrates in leaves from tobacco plants. *Planta* 209: 528-536.

Camacho - Cristóbal, Juan J., Anzelotti Dominique, González - Fontes Agustín (2002). Changes in phenolic metabolism of tobacco plants during short-term boron deficiency. *Plant Physiology and Biochemistry*, 40: 997-1002.

Cara, Francisco A., Sánchez Esteban, Riz Juan M., Romero Luis (2002). Is phenol oxidation responsible for the short-term effects of boron deficiency on plasma membrane permeability and function in squash roots?. *Plant Physiology and Biochemistry*, 40: 853-858.

Centro Internacional de Bulbos de Flor: El tulipán como flor cortada. (1997). Hillegom – Holanda.

Ceyhan Ercan, Onder Mustafa, Ozturk Ozden, Harmankaya Mustafa, Hamurcu Mehmet and Gezgin Sait (2008). Effects of application boron on yields, yield component and oil content of sunflower in boron-deficient calcareous soils. *African Journal of Biotechnology* 7: 2854-2861.

Chermsiric C., Watanabe H., Attajarusit S., Tuntiwawit J., Kaewro S. (1995). Effect of boron sources on garlic (*Allium sativum L.*) productivity. *Biology and fertility of soils* 20: 125-129.

Chunjian Li, Pfeffer H., Dannel Frank, Römheld Volker, Bangerth Fritz (2001). Effects of boron starvation on boron compartmentation, and possibly

hormone-mediated elongation growth and apical dominance of pea (*Pisum sativum*) plants.

De Hertogh A. A. (1996). Holland Bulb Forcer's Guide, Fifth edition. Alkemade Printing BV 2160 AD Lisse, The Netherlands.

De Hertogh A.A. and Le Nard M. (1993). Botanical Aspects of Flower Bulbs; World Production and Horticultural Utilization of Flower Bulbs; Bulb Growth and Development and Flowering; Production Systems for Flower Bulbs; Physiological and Biochemical Aspects of Flower Bulbs; Tulipa en The Physiology of Flower Bulbs. August de Hertogh y Marcel Le Nard. Elsevier Science Publishers BV, Amsterdam, The Netherlands, pp 7- 69, pp 617-682.

Dell B. and Huang L. (1997). Physiological response of plants to low boron. Plant and soil 193:103-120.

Diacinti I.A., Bobadilla S.E., Lexow G. (2004). Virus del mosaico del tulipán (TBV). Detección y síntomas. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. 52 páginas.

Diaz-Zorita M. (2005) Capítulo 14: Girasol, pp 311-312 en Echeverría E. Y García Fernando O. (Editores). Fertilidad de Suelos y Fertilización de Cultivos. Balcarce, Ediciones INTA, 2005. 525 páginas.

Dixit Deeksha, Srivastava N.K. and Sharma S. (2002). Boron deficiency induced changes in translocation of $^{14}\text{CO}_2$ -photosynthate into primary metabolites in relation to essential oil and curcumin accumulation in turmeric (*Curcuma longa* L.). Photosynthetica 40(1): 109-113.

Dordas Cristos and Brown Patrick H. (2005). Boron deficiency affects cell viability, phenolic leakage and oxidative burst in rose cell cultures. Plant and Soil 268: 293-301.

Doss, R.P., Christian, J.K. and Paul, J.L. (1980). Nutrient requirements for bulbous iris forcing. Acta Horticulturae (ISHS) 109: 133-140.

Fuertes M.E. y Lobartini J.C. (2003). Nutricion de boro en dos genotipos de girasol con diferente susceptibilidad al corte de cuchillo. http://www.asagir.org.ar/2_congreso/Murales/Fuertes.pdf

Garcia Gonzalez Mercedes, Mateo Pilar, Bonilla Idelfonso (1990). Effects of boron deficiency on photosynthesis and reductant sources and their relationship with nitrogenase activity in Anabaena PCC 7119. Plant Physiology 93.550-565.

Gauch Hugh G. and Dugger W.M. Jr (1953). The role of boron in the translocation of sucrose. Plant Physiology 28(3): 457-466.

Geng Mingjian, Wu Lishu, Xiangyun Cao and Liu Wuding. Differences in membrane peroxidation, activities of protective enzymes and polyamines contents in leaves between two cotton cultivars with different boron efficiency. In Xu F. et al (eds), Advances in Plant and Animal Boron Nutrition, 75-81. (2007) Springer.

Gitte A.N., Patil S.R., Tike M.A. (2005). Influence of zinc and boron on biochemical and yield characteristics of sunflowers. *Indian Journal of Plant Physiology* 10: 400-403.

Goldbach H. E., Yu Q., Wingender R, Schulz M, Wimmer M, Findeklee P and Baluska F. (2001). Rapid response reactions of roots to boron deprivation. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 164 173-181.

Goldbach Heiner E., Huang Longbin and Wimmer Monika A. Boron Functions in Plants and Animals: Recent Advances in Boron Research and Open Questions in Xu F. et al (eds) *Advances in Plant and Animal Boron Nutrition*, 3-25. (2007) Springer.

Goldberg Sabine (1997). Reactions of boron with soils. *Plant and Soil* 193:35-48.

Goldberg Sabine, Shouse P.J., Lesch S.M., Grieve C.M., Poss J.A., Forster H.S. and Suarez D.L. (2003). Effect of high boron application on boron content and growth of melons. *Plant and Soil* 2576: 403-411.

Gulati K.L., Oswal M.C. and Nagpaul K.K. (1980). Effect of concentration of boron on the uptake and yield of tomato and wheat at different levels of irrigation. *Plant and Soil* 54: 479-484.

Gupta Umesh C., Cutcliffe J.A. (1985) Boron nutrition of carrots and table beets in a boron deficient soil. *Communications in soil science and plant analysis* 16(5): 509-516.

Halder N.K., Ahmed R., Sharifuzzaman S.M., Anzu-Man-Ara Bagam K. and Siddiky A.A. (2007). Effect of boron and zinc fertilization on corm and cormel production of *Gladiolus* in Grey Terrace soils of Bangladesh. *Int. J. Sustain. Crop. Prod.* 2(5): 85-89.

Halder N.K., Raffiuddin M.D., Sidiky M.A., Gomez R. and Kabita Anzu-Man-Ara Bagam (2007). Performance of *Gladiolus* as influenced by boron and zinc. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 10(4): 581-585.

Halder N.K., Siddiky M.A., Ahmed R., Sharifuzzaman S.M. and Begum R.A. (2007). Effect of boron and zinc fertilization on flower yield and quality of *Gladiolus* in Grey Terrace soils of Bangladesh. *J. Soil Nature* 1(3): 40-45.

Hartmann Hudson T. y Kester Dale E. (1999). *Propagación de Plantas. Principios y prácticas. Séptima reimpression. Compañía Editorial Continental, S.A. de C.U. México, Capítulo 15, pp 529.*

Hatcher J.T. and Wilcox L.V. (1950). Colorimetric determination of boron using carmine. *Anal. Chem.* 22: 567.

Hu Hening and Brown P.H. (1997). Absorption of boron by plant roots. *Plant and Soil*, 193:49-58.

Hu Hening and Brown Patrick H (1994). Localization of Boron in Cell Walls of Squash and Tobacco and Its Association with Pectin. *Plant Physiology*, 105:681-689.

Hu Hening, Brown P.H. and Labavitch (1996) Species variability in boron requirement is correlated with cell wall pectin. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 47, No. 295, pp 227-232.

Huang Longbin, Bell Richard W. and Dell Bernard. Boron Modulation of Chilling and Freezing Tolerance in Leaf Cells of Warm Season Species. In Xu F. et al (eds) *Advances in Plant and Animal Boron Nutrition*, 31-46. (2007) Springer.

Infostat (2004). Infostat version 2004. Grupo Infostat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

International Flower Bulb Centre. <http://www.bulb.org.bulbsonline.org>

Ikarashi T. Studies on the Physiological Disorder, so-called "Ironuke" and "Kubiore" in Tulip Plants (1980). *Memoirs of de Faculty of Agriculture Niigata University*, N° 17 pg 89-92.

Janardhan Reddy K., Nutrient Stress, Chapter 7. In Madhava Rao K.V., Raghavendra A.S. and Reddy Janardhan (eds) *Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants*, pp 204-206. (2006) Springer. Netherlands.

JICA-INTA (2003). Estudio sobre la caracterización de la Producción Florícola en la República Argentina. INTeA, Innovaciones Tecnológicas Agropecuarias S.A.

Jordao, P.V., Calouro, F. and Duarte, L. (2008). Nitrogen and boron fertilization of pear orchards of the portuguese cultivar "Rocha". *Acta Horticulturae* 800: 555-560.

Kobayashi Masaru (2000). Studies on the boron-polisaccharide complex of higher plant cell walls. http://repository.kulib.kyoto-u.ac.jp/dspace/bitstream/2433759286/1/D_kobayashi_Masaru.pdf

Krarpup Aage (2003). Respuesta de chalota (*Allium cepa* var *aggregatum* G. Don) a aplicación de cal y boronatrocalcita en un andisol ácido. *Agro sur* 31(1): 1-7.

Krueger Roger W., Lovatt Carol J., (1987). Metabolic requirement of *Cucurbita pepo* for boron. *Plant. Physiol.* 83: 254-258.

La Manna, Ludmila, Buduba Carlos y Irisarri Jorge (2008). Los suelos del Valle 16 de Octubre. *Patagonia Forestal Año XIV*, N° 2, ISS 1514-2280, pp13-16.

Landera G., Pascualena J., Ortiz – Barredo A (2003). Producción de cormos de gladiolos en Alava: estudio preliminar. *Actas de Horticultura* N° 39. X Congreso Nacional de Ciencias Hortícolas. Pontevedra 2003 – Ornamentales. http://www-seac.info/pdfs/actas/acta39/39_181.PDF

Llanos Peada P.H. (2001). La solución nutritiva, nutrientes comerciales, formulas completas. <http://www.walcoagro.com>

Lovatt Carol J. (1985). Evolution of xylem resulted in a requirement for boron in the apical meristems of vascular plants. *New Phytologist* 99: 509-522.

Lukaszewski K. M., Blevins D. G. (1996). Root growth inhibition in Boron-deficient or aluminum-stressed Squash may be a result of impaired ascorbate metabolism. *Plant Physiology* 112: 1135-1140.

Malavé Acuña Auristela del Carmen y Carrero Molina Pablo Eligio (2007). Desempeño funcional del boro en las plantas. *Revista UDO Agrícola* 7(1): 1-14.

Marschner H. (1995) Mineral nutrition of higher plants, 2nd Edition, Academic Press, San Diego, USA.

Marchetti M.E., Montomya W.R., Fabricio A.C. e Novelito J.O. (2001) Desposta do girasol, *Helianthus annuus*, a fontes e niveis de boro. *Acta Scientiarum* 23: 1107-1110.

Mashayekhi K. and Neumann K.H. (2006). Effects of boron on somatic embryogenesis of *Daucus carota*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 84: 279-283.

Match T. (1997). Boron in plant cell walls. *Plant and soil* 193: 59-70.

Match Toru and Kobayashi Masaru (1998). Boron and Calcium, essential inorganic constituents of pectic polysaccharides in higher plant cell walls. *Journal of Plant Research* 111: 179-190.

Match Toru and Ochiai Kumiko (2005). Distribution and partitioning of newly taken-up boron in sunflower. *Plant and Soil* 278: 351-360.

Maze P. (1915). Determination des elements minéraux rares necessaires au developpement du maïs. *Comptes. Rendus. Academie des Sciences* 160: 211-214

Memoria Anual INTA Esquel (2007). Floricultura, pág. 34. <http://www.inta.gov.ar/esquel/ins/memoriaanual08.pdf>

Memoria Anual INTA Esquel (2008). Floricultura, pág. 59. <http://www.inta.gov.ar/esquel/ins/memoriaanual08.pdf>

Miller, W.B. (2008). Boron deficiency in tulip. *Research Newsletter*, pp. 1-2. <http://www.flowerbulb.nl/RP//Research%20newsletter/2008%20february.pdf>

Nyomora A.M.S., Brown P.H., Krueger B. (1999). Rate and time of boron application increase almond productivity and tissue concentration. *HortScience* 3: 242-245.

O'Neil M.A., Eberhard S., Albersheim P., Darvill A.G. (2001). Requirement of borate cross-linking of cell rhamnogalacturonan II for Arabidopsis growth. *Science* 294: 846-849.

Ooesterhuis D.M. and Zhao D. (2001). Effect of boron deficiency on the growth and carbohydrate metabolism of cotton. In Horst W.J. et al (eds), Plant nutrition – Food security and sustainability of agro-ecosystems, 166-167. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.

Ortiz R. E., (1982). Estado Actual del conocimiento sobre la fertilidad de suelo en Patagonia, con especial referencia a los ambientes precordilleranos. INTA, Estación Experimental Regional Agropecuaria Bariloche.

Oyinlola E.T. (2007). Effect of boron fertilizer on yield and oil content of three sunflower cultivars in the Nigerian Savanna. *Journal of Agronomy* 6: 421-426.

Parra R.R. (2005) Fertilización foliar con boro en girasol en Reconquista. Campaña 2001/02 al 03/04. Publicación técnica N° 24. www.inta.gov.ar/reconquista/info/documentos/agricultura/ageic_técnica/public_técnica_24.pdf

Plich H., Wojcik P. (2002). The effect of calcium and boron foliar application on postharvest plum fruit quality. *Acta Horticulturae* 594: 445-451.

Programa UTHSCSA, Image Tool for Windows, version 3.00, Development team: Don Wilcox, Brent Dove, Doss McDavid, David Greer, copyright 1995-2002. The University of Texas Health Science Center in San Antonio.

Raso Miguel (2008). Respuesta a la fertilización con distintos niveles de N en un pastizal de media loma. Memoria Anual INTA Esquel 2008. <http://www.inta.gov.ar/esquel/ins/memoriaanual08.pdf>

Rees A.R. (1992). Ornamental Bulbs, Corms and Tubers. Redwood Press Ltd, Melksham, UK , 220 pp.

Reid M.S.. Cut Flower and Greens. In the Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Florist and Nursery Stocks. USDA Handbook 66 (Gross K., ed) 36 pp. <http://www.ba.ars.usda.gov/hb66/148cutflowers.pdf>

Robertson G.A. and Loughman B.C (1974). Response to boron deficiency: a comparison with responses produced by chemical methods of retarding root elongation. *New Phytologist* 73: 821-832.

Romagnoli S., Cirielli J. y Gallina M. (2002). Estudio Económico y Financiero del Cultivo de Tulipán. Publicado en Internet. Disponible en <http://www.inta.gov.ar/altovalle/info/diversificación/tulipanes1.htm>

Rufat, J. and Arbonés, A. (2006). Foliar applications of boron to almond trees in dryland areas. *Acta Horticulturae* 721: 219-226.

Salisbury Frank B (1994). Fisiología Vegetal. Ed. Iberoamericana.

Sánchez E.E., Righetti T.L. (2005). Effect of postharvest soil and foliar application of boron fertilizer on the partitioning and recycling of boron in apple trees. *HortScience* 40(7): 2115-2117.

Sánchez Enrique E. (2005) Capítulo 20: Frutales de carozo y pepita, pp 415-418 en Echeverría E y García Fernando O. (editores). Fertilidad de Suelos y Fertilización de Cultivos. Balcarce, Ediciones INTA, 2005. 525 páginas.

Schalscha E.B., Bingham F.T., Galindo G.C., Galvan H.P. (1973). Boron adsorption by volcanic ash soils in Southern Chile. *Soil Science* 116(2): 70-76.

Schiappacasse C., (1999). Cultivo de Tulipán, pp.3-12.. En Peter Seemann F, Nancy Andrade S (editores). Cultivo y Manejo de Plantas Bulbosas Ornamentales. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Instituto de Producción y Sanidad Vegetal.. Valdivia, Chile. 222 páginas

Schlatter J.E., Gerding V. (1985). Deficiencia de boro en plantaciones de *Pinus radiata* D. Don en Chile II. Principales causas y corrección. *Bosque* 6(1): 32-43.

Shelp B.J. (1988). Boron mobility and nutrition in Broccoli (*Brassica oleracea* var *Italica*) *Annals of Botany* 61: 83-91.

Shelp B.J., Vivekanandan P., Vandepool R.A. and Kitheka A.M. (1996). Translocation and effectiveness of foliar – fertilized boron in broccoli plants of varying boron status. *Plant and Soil* 183 (2): 309-313.

Shorrocks V.M. (1997). The occurrence and correction of boron deficiency. *Plant and soil* 193: 121-148.

Sisler E.C., Dugger N.M. Jr y Gauth H.G. (1956). The role of boron in the translocation of organic compounds in plants. *Plant Physiology* 31(1): 11-17.

Sotomayor C., Silva H., Castro J. (2002). Effectiveness of boron and zinc foliar sprays on fruit setting of two almond cultivars. *Acta Horticulturae* 591: 437-440.

Svagzdys S. (1995). Use of boron fertilizers in apple orchards of Lithuania. *Acta Horticulturae* 383: 487-490.

Tanaka Akira (1980). Problemas nutricionales y el uso de fertilizantes, pp 89-105. En Ishizuka Y. y Black C.A. (eds). Suelos derivados de cenizas volcánicas en Japón.

Tanaka Mayuki and Fujiwara Toru (2008). Physiological roles and transport of boron: perspectives from plants. *Pflugers Arch. – Eur.J. Physiol.*456: 671-677.

Tang Pauline M. and De la Fuente Rollo K. (1986). Boron and Calcium sites involved in Indole-3-Acetic Acid transport in sunflower hypocotyls segments. *Plant Physiology* 81: 651-655.

Tariq M. and Mott C.J.B. (2006) Effect of boron supply on the uptake of micronutrients by radish (*Raphanus sativus* L.) *Journal of Agricultural and Biological Science* 1: 1-8.

Tariq M. And Mott C.J.B. (2007). The significance of Boron in Plant Nutrition and Environment-A Review. *Journal of Agronomy* 6(1): 1-10.

Thohirah L.A., Wong C.C., Chin F.L.S. and Johari E. (2006). Controlled environment tulip forcing in Malasia. *Acta Horticulturae* 233: 31-45.

Tompsett Andrew (2002). *Narcissus tazzeza*: Boron deficiency as a cause of flower distortion. *Acta Hort.* 570: 141-144.

Turró Rafael, Diacinti Anabel (2003). En Chubut, Producción de bulbos de tulipán. *Idia XXI, Año III, N° 4*, pp 201-205.

USDA (1999). *Soil Taxonomy. A Basic System of Soil Classification for Making and Interpreting Soil Surveys. Second Edition by Soil Survey Staff. Chapter 10: Andisols*, pp 271-328.

Usenik Valentina, Stampar Franci (2007) Effect of late season boron spray on boron accumulation and fruit set of "Summit" and "Hedelfinger" sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Acta agriculturae Slovenica* 89: 51-58.

VBN. Product Specification *Tulipa* (December 2008).
http://vbn.nl/en/Images/tulipa_UK%201-12-2008_tcm34-13010.pdf

Warrington K. (1923). The effect of boric acid and borax on the broad bean and certain other plants. *Ann. Bot* 37: 629-672

Wimmer M.A. and Goldbach H.E. Boron in the Apoplast of Higher Plants. Relevance for rapid deficiency reactions, interaction with calcium activity, and characterization of soluble boron complexes. In Sattelmacher B. and Horst W.J. (eds) *The Apoplast of Higher Plants: Compartment of Storage, Transport and Reactions*, 19-32. (2007) Springer.

Wojcik P. (1998). Effect of boron fertilization on growth, yield and fruit quality of plum trees (*Prunus domestica* L.). *Acta Horticulturae* 478: 255-260

Wojcik Pawel and Wojcik Marzena (2003). Effect of boron fertilization on "Conference" pear tree vigor, nutrition, and fruit yield and storability. *Plant and Soil* 256: 413-421.

Wojcik Pawel, Wojcik Marzena and Klamkowski Krzysztof (2008). Response of apple trees to boron fertilization under conditions of low soil boron availability. *Scientia Horticulturae* 116 (1): 58-64.

Wojcik, P., Mika, A. and Cieslinski, G. (1999). Effect of boron fertilization on the storage ability of apples (*Malus domestica* borth.). *Acta Horticulturae* 485: 393-398.

Wojcik, P.P. and Cieslinski, G. (2000). Effect of boron fertilization on yield and fruit quality of 'Elstar' and 'Sampion' apple cultivars. *Acta Horticulturae* 512: 189-198.

Xuan H., Streif J., Saquet A.A., Bangerth F (2003). Boron application affects respiration and energy status of "Conference" pears during CA storage. *Acta Horticulturae* 628: 167-174.

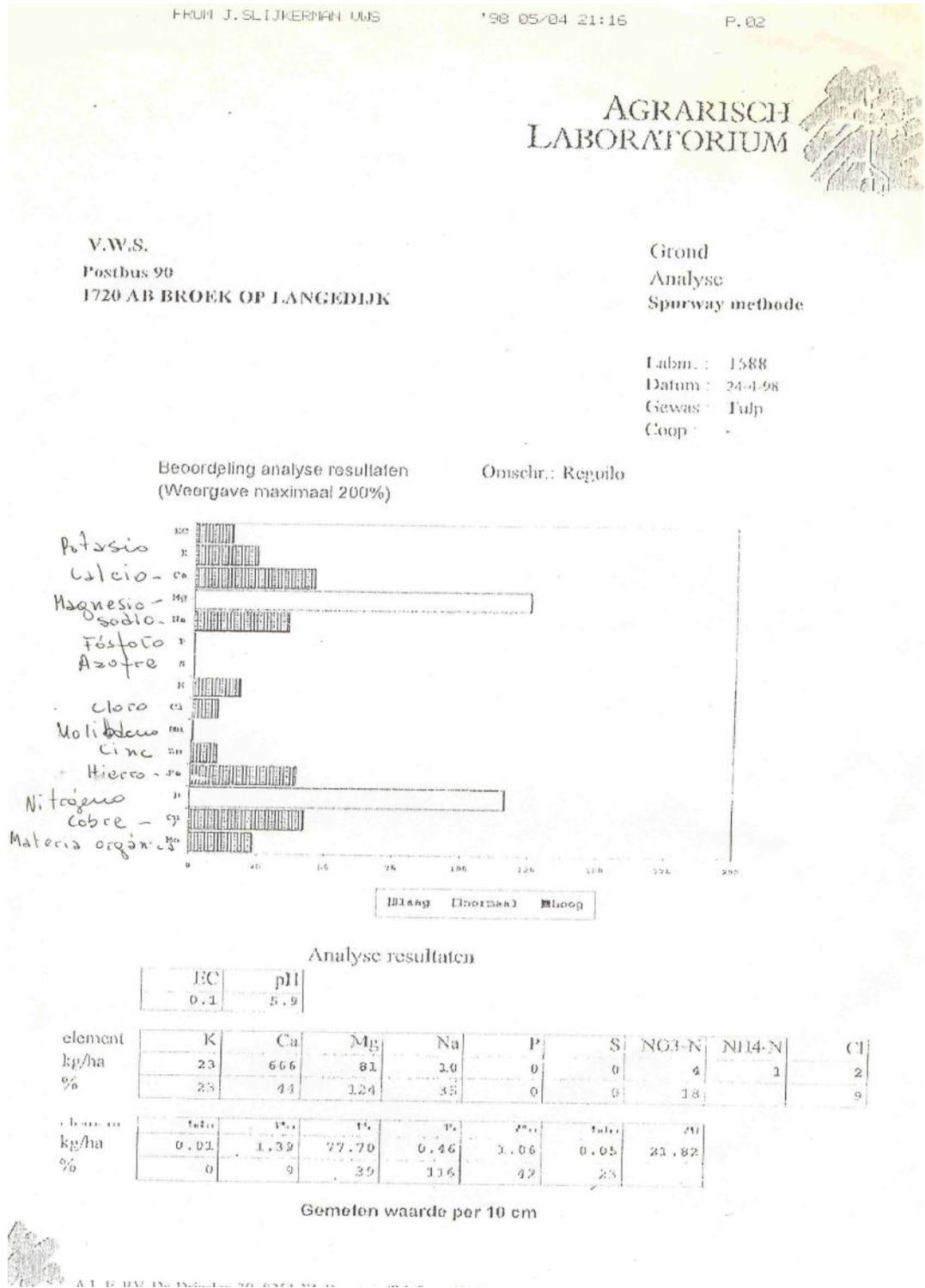
Yemm E.W. and Willis A.J. (1954). The estimation of Carbohydrates in Plant Extracts by Anthrone. *Biochem. J.* 57: 508-514.

Yolsna V.K. and Mathewvsha (2008). Boron nutrition of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) grown in the leterite soils of southern Kerata. *Journal of Tropical Agriculture* 46: 73-75

Zehirov Gr. T. and Georgiev G.I. (2003). Effects of boron starvation on the apoplastic and total solute concentration influencing nodule growth and acetylene reduction rate. *Bulg. J. Plant Physilo., Special Issue*, 367-373.

ANEXO 1

Resultados de análisis de suelo realizados en el año 1998 en campos destinados a producción de bulbos de tulipán.



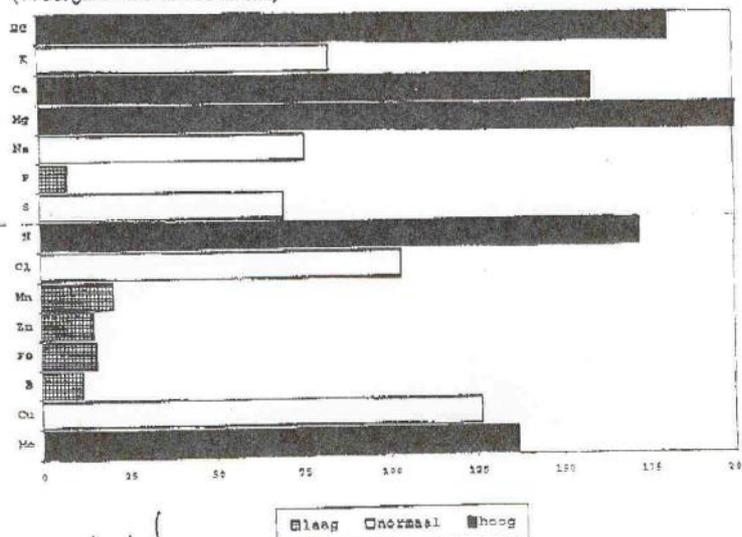


V.W.S.
Postbus 90
1720 AB BROEK OP LANGEDIJK

Grond
Analyse
Spurway methode

Labnr.: 6586
Datum: 10-7-98
Gewas: Tulp
Coop: Tuinbouw

Beoordeling analyse resultaten Omschr.: Picco - Omar
(Veergave maximaal 200%)



leeg
high!
EC pH
1.5 7.4

Analyse resultaten

element	K	Ca	Mg	Na	P	S	NO3-N	NH4-N	Cl
kg/ha	84	2386	205	23	2	21	43	0	26
%	94	159	315	76	9	70	173		104

element	Mn	Zn	Fe	B	Cu	Mo	Si
kg/ha	0.91	2.21	31.04	0.05	3.16	0.27	77.00
%	20	25	16	11	126	137	

Gemeten waarde per 10 cm



low.
A.L.F. BV, De Drieslag 30, 8251 JZ Dronten, Telefoon (0321) 387970 Fax (0321) 310158
Rabobank rek. nr. 33.81.49.554, K.v.K. Lelystad reg. nr. 39051603, lev. voorw. ggd 92/145

PHONE NO. : 54 965 54509

PHONE NO. : 54 965 54509

FROM : Jardin al Mar

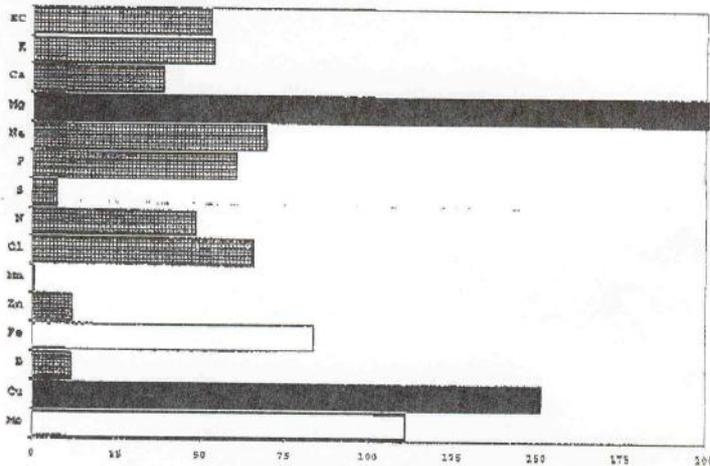


V.W.S.
 Postbus 90
 1720 AB BROEK OP LANGEDIJK

Grond
 Analyse
 Spurway methode

Labnr.: 6587
 Datum: 10-7-98
 Gewas: Tulp
 Coop: Tuinbouw

Beoordeling analyse resultaten Omschr.: Chiquichano R.
 (Weergave maximaal 200%)



laag normaal hoog

goal →

EC	pH
0.4	6.2

Analyse resultaten

goed
 ↓
 zeer laag
 ↓

element	K	Ca	Mg	Na	P	S	NO3-N	NH4-N	Cl
kg/ha	54	580	152	21	12	2	12	0	16
%	54	39	234	69	50	7	48		66

element	Mn	Zn	Fe	B	Cu	Mo	Si
kg/ha	0.01	2.74	167.10	0.05	3.78	0.22	102.70
%	0	12	94	11	151	111	

Gemeten waarde per 10 cm

low.



A.L.F. BV, De Drieslag 30, 8251 JZ Dronten, Telefoon (0321) 38 79 70, Fax (0321) 31 01 58
 Rabobank rek. nr. 33.81.49.554, K.v.K. Lelystad reg. nr. 39051603, lev. voorw. ged. 92/145

AGRARISCH
LABORATORIUM



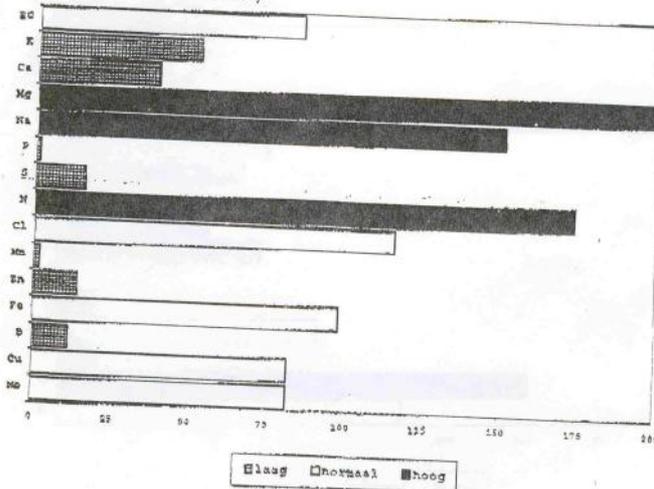
V.W.S.
Postbus 90
1720 AB BROEK OP LANGEDIJK

Grond
Analyse
Spurway methode

Labnr. : 6588
Datum : 10-7-98
Gewas : Tulp
Coop : Tuinbouw

Beoordeling analyse resultaten
(Weergave maximaal 200%)

Omschr.: Jones K.



Analyse resultaten

goed. →

EC	pH
0.7	5.8

element	K	Ca	Mg	Na	P	S	NO3-N	NH4-N	Cl
kg/ha	52	584	132	45	0	5	43	0	29
%	52	39	201	151	1	16	173		116

element	Mn	Zn	Fe	B	Cu	Mo	Si
kg/ha	0.03	2.11	196.20	0.05	2.09	0.16	85.20
%	2	14	98	1	82	82	

Gemeten waarde per 10 cm



A.L.F. BV, De Drieslag 30, 8251 JZ Dronten, Telefoon (0321) 387970, Fax (0321) 310158
Rabobank rvk. nr. 33.81.49.534, K.v.K. Lelystad reg. nr. 39051603. lev. voorw. ned. 03/14

ANEXO 2

TÉCNICAS ANALÍTICAS

La información sobre las técnicas utilizadas para las determinaciones analíticas fue proporcionada por el Licenciado Gustavo Trincherro, Laboratorio de Servicios Analíticos Especiales Lab FAUBA, Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires.

DETERMINACIÓN DE BORO POR EL MÉTODO DE CARMÍN

Se toma 0.5 gramos aproximadamente de muestras de bulbos molidos y secos.

Se lleva a cenizas en mufla (600 °C, 8 hs).

Se disuelven las cenizas con 10 ml de HCl 0,1 N

Se centrifuga 30 minutos a 2000 g

Se toma 1 ml del sobrenadante

Se agregan 5 ml de H₂SO₄ (c) + 1 ml solución Carmín (0.92 g/l H₂SO₄).

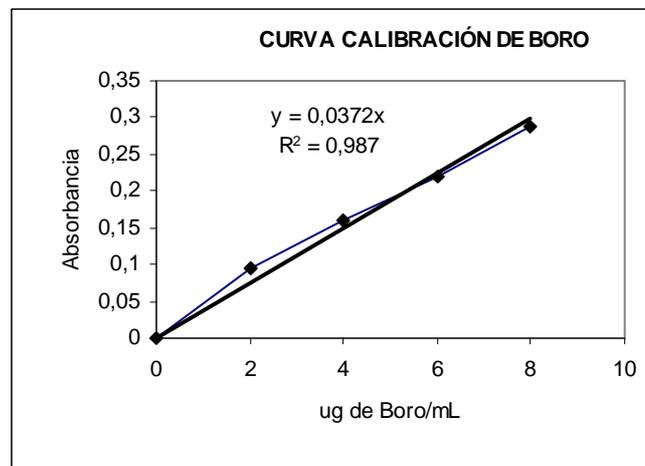
Se homogeneiza en Vortex

Se deja reaccionar 2 horas en oscuridad.

Se mide con espectrofotómetro a 585 nm.

Se realizó una curva de calibración utilizando ácido bórico como patrón.

Se realizó una curva de calibración utilizando ácido bórico como patrón.



DETERMINACIÓN DE CARBOHIDRATOS MEDIANTE LA REACCIÓN DE ANTRONA

Extracto: 0,1 gramos de materia seca de muestra en 100 ml.

Pesar 0.1 g de muestra.

Colocar la muestra en un tubo de ensayo + 25 ml de etanol 80° y calentar durante una hora a 80 °C.

Filtrar el sobrenadante en un matraz de 100 ml

Agregar al tubo con el residuo, 25ml de Etanol 80° y calentar nuevamente durante una hora a 80°C.

Volver a filtrar el sobrenadante en el mismo matraz de 100 ml.

Agregar ahora al mismo tubo, 25ml de agua destilada, calentar durante una hora a 60 °C, filtrarla en el mismo matraz. Llevar a volumen con alcohol 80° (100 ml)

Técnica: ANTRONA

0.5 ml de extracto

2.5 ml solución (1)

Reposar durante 30 minutos

Agitar en vortex

Hervir 10 minutos a Baño María

Preparar curva de calibración a partir de la solución patrón de azúcares (2)

Leer en espectrofotómetro a 620 nm.

Solución 1: (prepararla en el día)

100 ml de ácido sulfúrico para antrona (3) + 200 mg antrona.

(3) 75 ml de ácido sulfúrico (cc) + 25 ml de Agua destilada. (Preparar y dejar enfriar, antes de agregarle la antrona)

(2) Solución patrón de azúcares: 1mg glucosa/ ml

Curva: 0, 10, 20, 30, 50 µl de solución patrón de azúcares. Completar a volumen con alcohol 80% y realizar la misma técnica.

DETERMINACIÓN DE CLOROFILA

Se procedió a realizar una extracción del pigmento sobre una muestra de aproximadamente 2 g con un homogeneizador Omnimixer a 12.000 rpm durante 1 minuto utilizándose como solvente extractante una mezcla acetona-agua 4:1 . Se lleva el extracto a volumen de 50 ml y luego se centrifuga durante 5 minutos a 5.000 rpm leyéndose espectrofotométricamente las absorbancias del sobrenadante a 652 nm.

Se aplicó la expresión:

$$\text{mg de clorofila/g de hoja} = \text{Abs}_{652} \cdot 50 \text{ (ml)} / 34,5 \text{ (mg/ml)}^{-1} \cdot m \text{ (g)}$$

DETERMINACIÓN DE ANTOCIANAS

Aproximadamente de 1 g de tépalos se extrajeron las antocianinas con una mezcla Etanol-CI 1N (85:15) utilizando un homogeneizador Omnimixer a 15.000 rpm durante 1 minuto. Se completó el volumen a 50 ml centrifugándose una alícuota a 12.000 rpm durante 10 minutos. Una alícuota del sobrenadante se mide en espectrofotómetro con detector de arreglo de díodos a 535 nm.

El resultado se expresa como mg de antocianinas totales por Kg de tejido fresco.

Las antocianinas totales se miden como cianidin 3-glucósido (C3G).

Los tépalos se escanearon y se determinó superficie (mm^2) mediante el programa UTHSCSA, Image Tool for Windows versión 3.00, Development Team: Don Wilcox, Brent Dove, Doss McDavid, David Greer, Copyright 1995-2002, The University of Texas Health Science Center in San Antonio.

Con la superficie de los tépalos y el peso fresco de los mismos, los datos se expresaron como mg de antocianinas totales por unidad de superficie (mm^2).

ANEXO 3

TABLAS DE RESULTADOS

3.1 Producción de bulbos de tulipán

Tabla 3.1.1: Concentración de B en bulbos cultivados en un sustrato de arena volcánica fertirrigados con soluciones Johnson con tres concentraciones distintas de B (T_0 : 0,0 mg/l, T_1 : 0,271 mg/l y T_2 : 1.352 mg/l) comparados con la concentración inicial del microelemento previo al inicio de los tratamientos (inicial). Los valores representan el promedio \pm ES (n= 20). Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$). DMS: diferencia mínima significativa para una $p \leq 0,05$.

Tratamiento (mg/l de boro en solución)	Concentración de B en bulbo (mg/kg)	
Inicial	12,74 \pm 1,32	B
T_0 : 0	7,00 \pm 1,40	A
T_1 : 0,271	9,20 \pm 1,20	A B
T_2 : 1,352	20,90 \pm 1,91	C
DMS	5,49	

Tabla 3.1.2: Tasa de multiplicación (TM: n° de bulbos obtenidos /bulbo plantado) de tulipán cv Rococo producidos en sustrato de arena volcánica con tres concentraciones de B en solución (T_0 : 0,0 mg/l, T_1 : 0,271 mg/l y T_2 : 1.352 mg/l). Los valores indican el promedio \pm ES (n= 100). Letras distintas indican diferencias significativas para $p \leq 0,05$. DMS: diferencia mínima significativa para una $p \leq 0,05$.

Tratamiento (mg/l de boro en solución)	Tasa de multiplicación (n° de bulbos/planta)	
T_0 : 0	1,70 \pm 0,08	A
T_1 : 0,271	2,11 \pm 0,10	B
T_2 : 1,352	1,90 \pm 0,09	A B
DMS	0,31	

Tabla 3.1.3: Tamaño de los bulbos obtenidos de un cultivo de tulipán cv Rococo producidos sobre un sustrato de arena volcánica con diferentes concentraciones de B en solución (T_0 : 0,0 mg/l, T_1 : 0,271 mg/l y T_2 : 1.352 mg/l). Los valores indican el promedio \pm ES (n= 100). Letras distintas indican diferencias significativas para $p \leq 0,05$. DMS: diferencia mínima significativa para una $p \leq 0,05$.

Tratamiento (mg/l de boro en solución)	Tamaño de bulbos (cm de circunferencia)	
T_0 : 0	9,49 \pm 0,17	A
T_1 : 0,271	10,11 \pm 0,13	B
T_2 : 1,352	9,52 \pm 0,16	A
DMS	0,53	

Tabla 3.1.4: Peso de bulbos por bulbo plantado de plantas de tulipán cultivadas en un sustrato de arena volcánica con diferentes concentraciones de B en solución (T₀: 0,0 mg/l, T₁: 0,271 mg/l y T₂: 1.352 mg/l). Los valores indican el promedio +/- ES (n=100). Letras distintas indican diferencias significativas para p ≤ 0,05. DMS: diferencia mínima significativa para una p ≤ 0,05.

Tratamiento (mg/l de boro en solución)	Peso de bulbos/planta (g)
T₀: 0	15,81 ± 0,66 A
T₁: 0,271	17,28 ± 0,58 A
T₂: 1,352	15,59 ± 0,62 A
DMS	2,05

Tabla 3.1.5: Concentración de azúcares solubles (expresados como % de glucosa) en bulbos de plantas de tulipán cv Rococo cultivadas en sustrato de arena volcánica con diferentes concentraciones de boro en solución (T₀: 0,0 mg/l, T₁: 0,271 mg/l y T₂: 1.352 mg/l). Los valores indican el promedio +/- ES (n= 20). Letras distintas indican diferencias significativas para p ≤ 0,05. DMS: diferencia mínima significativa para una p ≤ 0,05.

Tratamiento (mg/l de boro en solución)	Concentración de Azúcares solubles (% glucosa)
T₀: 0	34,75 ± 1,51 B
T₁: 0,271	26,92 ± 1,61 A
T₂: 1,352	26,44 ± 1,39 A
DMS	4,50

3.2 Producción de flor de tulipán en maceta

Tabla 3.2.1: Peso seco de raíces, al momento de plena floración, de plantas de tulipán cv Rococo, producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido, T_{bf0} : 7mg/kg, T_{bf1} : 9,2 mg/kg y T_{bf2} : 20,9 mg/kg. Los valores indican el promedio +/- ES (n=20). Letras distintas indican diferencias significativas para $p \leq 0,05$. DMS: diferencia mínima significativa para una $p \leq 0,05$.

Tratamiento (mg/kg B en bulbo)	Peso seco de raíces (g)
T_{bf0} : 7	0,69 ± 0,03 A
T_{bf1} : 9,2	0,72 ± 0,02 AB
T_{bf2} : 20,9	0,80 ± 0,03 B
DMS	0,09

Tabla 3.2.2: Largo de raíces, al momento de plena floración, en plantas de tulipán cv Rococo producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido, T_{bf0} : 7mg/kg, T_{bf1} : 9,2 mg/kg y T_{bf2} : 20,9 mg/kg. Los valores indican el promedio +/- ES (n=20). Letras distintas indican diferencias significativas para $p \leq 0,05$. DMS: diferencia mínima significativa para una $p \leq 0,05$.

Tratamiento (mg/kg B en bulbo)	Largo de raíces (mm)
T_{bf0} : 7	90,99 ± 2,45 A
T_{bf1} : 9,2	100,91 ± 3,08 B
T_{bf2} : 20,9	109,64 ± 2,29 B
DMS	8,96

Tabla 3.2.3: Concentración de clorofila, al momento de plena floración, en hojas de plantas de tulipán cv Rococo, producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido, T_{bf0} : 7mg/kg, T_{bf1} : 9,2 mg/kg y T_{bf2} : 20,9 mg/kg. Los valores indican el promedio +/- ES (n=20). Letras distintas indican diferencias significativas para $p \leq 0,05$. DMS: diferencia mínima significativa para una $p \leq 0,05$.

Tratamiento (mg/kg B en bulbo)	Concentración de clorofila en hojas (mg/g)
T_{bf0} : 7	0,81 ± 0,01 A
T_{bf1} : 9,2	0,87 ± 0,01 B
T_{bf2} : 20,9	0,83 ± 0,01 AB
DMS	0,04

Tabla 3.2.4: Peso seco, peso fresco y relación entre ambos en hojas al momento de plena floración, en plantas de tulipán cv Rococo producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido, T_{bf0}: 7mg/kg, T_{bf1}: 9,2 mg/kg y T_{bf2}: 20,9 mg/kg. Los valores indican el promedio +/- ES (n=20). Letras distintas indican diferencias significativas para p ≤ 0,05. DMS: diferencia mínima significativa para una p ≤ 0,05.

Tratamiento (mg/kg B en bulbo)	Peso seco hojas (g)	Peso fresco hojas (g)	Relación Peso seco / Peso fresco en hojas
T _{bf0} : 7	1,09 ± 0,04 A	6,62 ± 0,21 A	0,16 ± 0,0017 B
T _{bf1} : 9,2	1,02 ± 0,04 A	6,75 ± 0,34 A	0,15 ± 0,0024 A
T _{bf2} : 20,9	0,95 ± 0,04 A	6,24 ± 0,23 A	0,15 ± 0,0018 A
DMS	0,14	0,86	0,006

Tabla 3.2.5: Área foliar determinada al momento de plena floración, en plantas de tulipán cv Rococo producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido, T_{bf0}: 7mg/kg, T_{bf1}: 9,2 mg/kg y T_{bf2}: 20,9 mg/kg. Los valores indican el promedio +/- ES (n=20). Letras distintas indican diferencias significativas para p ≤ 0,05. DMS: diferencia mínima significativa para una p ≤ 0,05.

Tratamiento (mg/kg B en bulbo)	Área Foliar (mm ²)
T _{bf0} : 7	10734,38 ± 613,14 A
T _{bf1} : 9,2	10862,38 ± 916,62 A
T _{bf2} : 20,9	10280,20 ± 916,62 A
DMS	2538,4

Tabla 3.2.6: Diámetro de la vara floral a nivel de suelo, al momento de plena floración, de plantas de tulipán cv Rococo, producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido, T_{bf0}: 7mg/kg, T_{bf1}: 9,2 mg/kg y T_{bf2}: 20,9 mg/kg. Los valores indican el promedio +/- ES (n=20). Letras distintas indican diferencias significativas para p ≤ 0,05. DMS: diferencia mínima significativa para una p ≤ 0,05.

Tratamiento (mg/kg B en bulbo)	Diámetro (mm)
T _{bf0} : 7	8,43 ± 0,12 B
T _{bf1} : 9,2	8,31 ± 0,14 AB
T _{bf2} : 20,9	8,01 ± 0,11 A
DMS	0,36

Tabla 3.2.7: Diámetro de la vara floral en el punto de inserción de los tépalos, al momento de plena floración, en plantas de tulipán cv Rococo, producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido, T_{bf0}: 7mg/kg, T_{bf1}: 9,2 mg/kg y T_{bf2}: 20,9 mg/kg. Los valores indican el promedio +/- ES (n=20). Letras distintas indican diferencias significativas para p≤ 0,05. DMS: diferencia mínima significativa para una p≤ 0,05.

Tratamiento (mg/kg B en bulbo)	Diámetro (mm)
T _{bf0} : 7	6,00 ± 0,07 A
T _{bf1} : 9,2	5,81 ± 0,09 AB
T _{bf2} : 20,9	5,62 ± 0,07 B
DMS	0,25

Tabla 3.2.8: Largo de la vara floral en el punto de inserción de los tépalos, al momento de plena floración, en plantas de tulipán cv Rococo, producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido, T_{bf0}: 7mg/kg, T_{bf1}: 9,2 mg/kg y T_{bf2}: 20,9 mg/kg. Los valores indican el promedio +/- ES (n=20). Letras distintas indican diferencias significativas para p≤ 0,05. DMS: diferencia mínima significativa para una p≤ 0,05.

Tratamiento (mg/kg B en bulbo)	Largo vara floral (mm)
T _{bf0} : 7	261,96 ± 3,02 A
T _{bf1} : 9,2	275,39 ± 3,8 B
T _{bf2} : 20,9	289,76 ± 4,6 C
DMS	13,19

Tabla 3.2.9: Longitud de cada entrenudo de la vara floral, al momento de plena floración, de plantas de tulipán cv Rococo, producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido, T_{bf0}: 7mg/kg, T_{bf1}: 9,2 mg/kg y T_{bf2}: 20,9 mg/kg. Los valores indican el promedio +/- ES (n=20) Letras distintas indican diferencias significativas para p≤ 0,05. DMS: diferencia mínima significativa para una p≤ 0,05.

Tratamiento (mg/kg B en bulbo)	Largo 1 ^{er} entrenudo (mm)	Largo 2 ^{do} entrenudo (mm)	Largo 3 ^{er} entrenudo (mm)	Largo 4 ^{to} entrenudo (mm)
T _{bf0} : 7	20,34 ± 1,09 A	18,74 ± 0,87 A	25,34 ± 0,94 A	120,52 ± 2,16 A
T _{bf1} : 9,2	18,46 ± 1,28 A	19,25 ± 0,91 A	27,58 ± 0,80 AB	133,31 ± 2,90 B
T _{bf2} : 20,9	16,86 ± 1,40 A	22,12 ± 1,27 A	29,16 ± 1,14 B	146,43 ± 2,51 C
DMS	4,30	3,51	3,23	8,09

Tabla 3.2.10: Diámetro de la flor, medido en el momento de plena floración, en plantas de tulipán cv Rococo producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido, T_{bf0}: 7mg/kg, T_{bf1}: 9,2 mg/kg y T_{bf2}: 20,9 mg/kg. Los valores indican el promedio +/- ES (n=20). Letras distintas indican diferencias significativas para p ≤ 0,05. DMS: diferencia mínima significativa para una p ≤ 0,05.

Tratamiento (mg/kg B en bulbo)	Diámetro de flor (mm)
T _{bf0} : 7	107,76 ± 2,18 A
T _{bf1} : 9,2	104,55 ± 3,21 A
T _{bf2} : 20,9	102,03 ± 3,50 A
DMS	10,41

Tabla 3.2.11 Peso fresco de tépalos, medidos en el momento de plena floración, en plantas de tulipán cv Rococo producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido, T_{bf0}: 7mg/kg, T_{bf1}: 9,2 mg/kg y T_{bf2}: 20,9 mg/kg. Los valores indican el promedio +/- ES (n=20). Letras distintas indican diferencias significativas para p ≤ 0,05. DMS: diferencia mínima significativa para una p ≤ 0,05

Tratamiento (mg/kg B en bulbo)	Peso fresco de tépalos (g)
T _{bf0} : 7	9.38 ± 0,26 B
T _{bf1} : 9,2	8,76 ± 0,27 A B
T _{bf2} : 20,9	8,08 ± 0,32 A
DMS	0,96

Tabla 3.2.12: Ancho de tépalos, medidos en el momento de plena floración, en plantas de tulipán cv Rococo producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido, T_{bf0}: 7mg/kg, T_{bf1}: 9,2 mg/kg y T_{bf2}: 20,9 mg/kg. Los valores indican el promedio +/- ES (n=20). Letras distintas indican diferencias significativas para p ≤ 0,05. DMS: diferencia mínima significativa para una p ≤ 0,05.

Tratamiento (mg/kg B en bulbo)	Ancho de tépalos (mm)
T _{bf0} : 7	42,86 ± 0,59 A
T _{bf1} : 9,2	42,16 ± 0,76 AB
T _{bf2} : 20,9	40,13 ± 0,89 B
DMS	2,58

Tabla 3.2.13: Largo de tépalos, medidos en el momento de plena floración, en plantas de tulipán cv Rococo producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido, T_{bf0}: 7mg/kg, T_{bf1}: 9,2 mg/kg y T_{bf2}: 20,9 mg/kg. Los valores indican el promedio +/- ES (n=20). Letras distintas indican diferencias significativas para p≤ 0,05. DMS: diferencia mínima significativa para una p≤ 0,05.

Tratamiento (mg/kg B en bulbo)	Largo de tépalos (mm)
T_{bf0}: 7	77,06 ± 0,75 A
T_{bf1}: 9,2	76,78 ± 0,85 A
T_{bf2}: 20,9	75,19 ± 0,71 A
DMS	2,68

Tabla 3.2.14: Concentración de antocianas en los tépalos de flor de plantas de tulipán producidas a partir de bulbos con diferentes concentraciones de B en tejido, T_{bf0}: 7mg/kg, T_{bf1}: 9,2 mg/kg y T_{bf2}: 20,9 mg/kg. Los valores indican el promedio +/- ES (n=20). Letras distintas indican diferencias significativas para p≤ 0,05. DMS: diferencia mínima significativa para una p≤ 0,05.

Tratamiento (mg/kg B en bulbo)	Concentración de Antocianas (mg/mm²)
T_{bf0}: 7	0,61 ± 0,03 A
T_{bf1}: 9,2	0,87 ± 0,05 B
T_{bf2}: 20,9	0,73 ± 0,03 AB
DMS	0,14