



UNIVERSIDAD DE MURCIA
FACULTAD DE BIOLOGÍA

Optimización de la Respuesta al Incremento de
CO₂ en Cultivos de Invernadero en Condiciones de
Clima Mediterráneo

D^a. María Carmen Piñero Zapata

2017



Optimization of the Response to CO₂ Increase in
Greenhouse Crops under Mediterranean Climate
Conditions

Optimización de la Respuesta al Incremento de
CO₂ en Cultivos de Invernadero en Condiciones de
Clima Mediterráneo

María Carmen Piñero Zapata

Director: Dr. Francisco M. del Amor Saavedra

2017

AGRADECIMIENTOS

Quiero utilizar estas líneas para agradecerle a toda la gente que ha estado a mi lado durante estos años. Para intentar no olvidarme de nadie los nombraré en orden cronológico según han ido apareciendo en mi vida. Por tanto, debo empezar por la persona que me dio a conocer el mundo de la investigación y que es uno de los principales responsables de que hoy esté aquí, Antonio Ruiz. Él fue entre otras cosas, el que me presentó a un gran investigador y mejor persona, Miguel Ángel Sánchez Monedero, con el que hice mis primeros pinitos en investigación desarrollando mi Proyecto Final de Carrera.

Pero para poder dedicarme a la investigación de forma profesional necesitaba conseguir algún tipo de subvención y es entonces cuando apareció Francisco del Amor. A él tengo que agradecerle que confiara en mi y me diera la oportunidad de formar parte de su grupo de investigación, primero con una beca de tecnóloga y posteriormente, con una beca pre-doctoral. Quiero agradecerle que haya hecho de esta etapa una experiencia tan productiva y gratificante. Soy consciente de que estos años podrían haber sido muy duros de no contar con un director de tesis como él. Gracias por tus correcciones, consejos y tu fe en mi.

La elaboración de esta tesis no habría sido posible sin la ayuda de este gran equipo. Muchas gracias a Miguel, Ginés y Marga por esas horas de campo y laboratorio que hemos compartido. Pero en especial quiero agradecerle a Marga que con su experiencia me ha ido guiando y no sólo en el tema profesional, sino también en el personal, como la gran amiga que es.

A Amparo y Carmen, que son unas todo terreno incansables. A Manu por las charlas y las risas en las cámaras de cultivo durante las largas horas de medidas de fotosíntesis. Te he echado mucho de menos durante los últimos años. A Virginia, amiga y confidente durante esta tesis y a la que no dudo que seguiré teniendo a mi lado después. A los chicas/os de Citri y a Pepe Saez, que siempre han estado dispuestos para ayudar a solucionar un problema, prestar un reactivo que no llega, etc.

De mis estancias en otros centros de investigación, agradezco al Dr. Ian Dodd por acogirme en su grupo en el Lancaster Environment Center. A mis españolitos de Lancaster, Carlos, Paco, Jaime, Ainara y Artzai y a mis queridos brasileños, los dos André, Alexandro, Arlete y Cayo por hacerme esta estancia irreplicable. Al Dr. Boote por su paciencia y dedicación para enseñarme a realizar modelos. A Cecilia, Alison, Matt, Marta, Majo y Victor, por hacer de mi estancia en Florida un recuerdo inolvidable. A la Dra. Lisa Ainsworth por ser tan amable y darme la oportunidad de aprender más sobre CO₂ y fotosíntesis. A Pauline, Jennifer y Katherine, por hacerme más agradable la estancia en Urbana-Champaign.

A mis chicas Mariajo, Nuria y Noelia, por esas tardes de vinos tan necesarias para desconectar del trabajo. A Ander, la persona más buena y generosa que he conocido. Gracias entre otras cosas, por darme a conocer el mundo marino que tanto te apasiona, y el cual era un gran desconocido para mí.

A mis padres, mi hermano y María, quiero agradecerles su apoyo y el estar ahí siempre.

Y en especial, quiero darle las gracias a Antonio que es el que estos últimos años de tesis ha estado a mi lado para animarme, motivarme a seguir y darme el último empujón para terminar. Él ha sabido apoyarme y calmarme cuando los nervios aparecían. Gracias por ser el mejor compañero de vida que se puede tener.

Finalmente, agradezco al Instituto Murciano de Investigación Agrario y Alimentario (IMIDA) la concesión de la beca de tecnóloga, con la que pude empezar a aprender sobre el pimiento y los efectos del CO₂. Y al Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), por la concesión de la beca pre-doctoral que me ha permitido desarrollar esta investigación en el marco del proyecto (Mejora de la eficiencia del enriquecimiento carbónico en condiciones mediterráneas. Evaluación fisiología de estrategias de mitigación de la aclimatación frente a la elevada concentración de CO₂. RTA2011-00026-C02-01).

Muchas gracias a todos de corazón.

RESUMEN

El pimiento es uno de los cultivos hortícolas más importantes en España, localizado fundamentalmente en el sureste del país.

El aumento de la $[\text{CO}_2]$ atmosférico está provocando cambios en la frecuencia e intensidad de los fenómenos meteorológicos adversos. En la cuenca mediterránea, se prevé un incremento de la temperatura y largos periodos de sequía. De este modo, la escasez de agua unida a la elevada salinidad de acuíferos sobreexplotados o aguas con una concentración relativamente alta de boro, procedentes de la reutilización de aguas residuales o de desaladoras, pueden agravar la situación de la agricultura en estas zonas.

El incremento de la $[\text{CO}_2]$ es uno de los principales determinantes del crecimiento y la productividad de los cultivos; y tiene el potencial de mitigar el efecto negativo del uso de aguas de baja calidad. No obstante, este potencial puede verse reducido con una exposición prolongada de las plantas a elevado CO_2 . La forma en el que el N es aportado (NO_3^- o NH_4^+) puede afectar tanto al crecimiento como a las relaciones de intercambio del CO_2 y H_2O en las hojas. Así mismo, la aplicación de una alta concentración de calcio en el medio radicular puede reducir la absorción de boro, y aumentar la tolerancia de las plantas a este estrés.

En la presente tesis doctoral se llevaron a cabo diversos experimentos usando plantas de pimiento, en los que el factor común fue una elevada $[\text{CO}_2]$, en combinación con estrés abiótico (salinidad- NaCl y boro). Además, se estudiaron los efectos de diferentes tratamientos de fertilizaciones nitrogenadas (solo NO_3^- o $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$), y diferentes concentraciones de calcio, en relación a varios parámetros fisiológicos y agronómicos, con el objetivo de optimizar el manejo del cultivo de pimiento bajo escenarios de ambientes adversos.

A partir de los resultados obtenidos se concluyó que una elevada $[\text{CO}_2]$ provocó cambios en el balance hormonal de la planta de pimiento, los cuales generaron a su vez cambios positivos sobre el crecimiento, el intercambio de gases y la concentración foliar de nutrientes. La concentración de IAA fue reducida en las raíces de las plantas control, lo cual coincidió con un incremento en el peso seco de la raíz y mayor respiración radicular. Además, la alta concentración de CK en las raíces, podría prevenir la aclimatación fotosintética a alto CO_2 , ya que el nivel foliar de N se incrementó en comparación con las cultivadas a $[\text{CO}_2]$ ambiental. Asimismo, los efectos negativos causados por salinidad en los distintos parámetros estudiados, fueron reducidos por el alto CO_2 . Sin embargo, el aporte

de NH_4^+ a la solución nutritiva afectó negativamente sobre el crecimiento de esta especie, mientras que tuvo efectos positivos sobre otros parámetros como la eficiencia en el uso del agua, los compuestos fenólicos y aminoácidos totales.

A nivel del fruto, el aporte de NH_4^+ combinado con elevado CO_2 , aumentó los niveles de fenoles totales, poliaminas y recuperó los niveles control de proteínas, las cuales fueron reducidas por la elevada $[\text{CO}_2]$. Sin embargo, también tuvo efectos negativos reduciendo la acumulación de licopenos y minerales.

El exceso de boro provocó daños en la permeabilidad de la membrana de las raíces y un desequilibrio nutricional en las plantas. La mayor concentración de calcio en la solución nutritiva, mostró que el aporte adicional de calcio restableció parcialmente el balance nutricional, así como disminuyó la peroxidación lipídica.

Estos trabajos ponen de relieve la importancia de una fertilización adecuada para mitigar los efectos negativos de los estreses abióticos, así como la necesidad de estudiar estos efectos bajo elevada $[\text{CO}_2]$, ya que las respuestas de las plantas difieren significativamente si se comparan con previos estudios realizados bajo la actual $[\text{CO}_2]$ atmosférica.

Pepper is one of the most important horticultural crops in Spain, being grown mainly in the southeast of the country.

The increasing atmospheric [CO₂] is causing changes to the frequency and intensity of adverse climatic events. In the Mediterranean basin, increases in temperature and long periods of drought are expected. Thus, water scarcity -together with the high salinity of overexploited aquifers or water with a relatively high concentration of boron, originating from urban waste water, industry or desalination plants - may aggravate the situation faced by agriculture in these areas.

The increase in [CO₂] is one of the main determinants of growth and crop production; it has the potential to mitigate the negative effect of using low quality water for irrigation. However, this potential may be reduced by prolonged exposure of plants to high CO₂. The form in which N is supplied (NO₃⁻ or NH₄⁺) can affect both growth and the exchange ratios of CO₂ and H₂O in the leaves. Likewise, the application of a high concentration of calcium in the root medium could reduce the uptake of B and increase plant tolerance of this stress.

In the present doctoral thesis several experiments were carried out using pepper plants, in which the common factor was a high [CO₂], in combination with abiotic stress (salinity-NaCl and boron). In addition, the effects of different nitrogen fertilization treatments (only NO₃⁻ or NO₃⁻/NH₄⁺) and different concentrations of calcium were studied in relation to several physiological and agronomic parameters, the aim being to optimize management of pepper crops under adverse environmental scenarios.

From the results obtained, it was concluded that a high [CO₂] altered the hormonal balance of pepper plants, which generated positive changes in growth, gas exchange, and foliar nutrient concentrations. The concentration of IAA was reduced in the roots of control plants, which coincided with an increase in the root dry weight and greater root respiration. Additionally, the high CK concentration in the roots could have prevented downregulation of photosynthesis at high [CO₂], as the N level in the leaves was increased compared with the ambient [CO₂]. Likewise, the negative effects of salinity on the different parameters studied were reduced by the high [CO₂]. However, the addition of NH₄⁺ to the nutrient solution negatively affected the growth of this species, although it had positive effects on other parameters such as water use efficiency, phenolic compounds, and total amino acids.

ABSTRACT

In the fruits, NH_4^+ supply combined with elevated $[\text{CO}_2]$ increased the levels of total phenols and polyamines and restored the control levels of protein, which were reduced by the elevated $[\text{CO}_2]$. Nevertheless, it also had negative effects, reducing the accumulation of lycopene and minerals.

Excess boron damaged the membrane permeability of roots and led to a nutritional imbalance in the plants. The calcium surplus resulting from the higher calcium concentration in the nutrient solution partly restored the nutritional balance and diminished lipid peroxidation.

These studies emphasize the importance of adequate fertilization to mitigate the negative effects of abiotic stresses, as well as the need to study these effects under elevated $[\text{CO}_2]$, since the responses of the plants differ significantly when compared with previous studies performed under the current atmospheric $[\text{CO}_2]$.

INDICE

ANTECEDENTES	15
1. DESCRIPCION DEL CULTIVO	17
1.1. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA Y MORFOLÓGICA.....	17
1.2. COMPOSICIÓN Y VALOR NUTRITIVO	19
1.3. VARIEDADES CULTIVADAS Y SU CLASIFICACIÓN	20
2. EL CULTIVO DE PIMIENTO	24
2.1. EL CULTIVO DE PIMIENTO EN ESPAÑA.....	26
2.2. EL CULTIVO DE PIMIENTO EN LA REGIÓN DE MURCIA.....	28
3. EL DIÓXIDO DE CARBONO (CO₂).....	30
3.1. CAMBIO CLIMÁTICO	30
3.2. EFECTOS DEL CAMBIO CLIMÁTICO SOBRE LAS PLANTAS.....	31
3.3. ACLIMATACIÓN DE LA FOTOSÍNTESIS.....	33
4. CULTIVOS BAJO INVERNADERO	34
4.1. CULTIVOS SIN SUELO	34
4.2. CONTROL DE CO ₂	36
5. NITRÓGENO	37
5.1. EL CICLO DEL NITRÓGENO	37
5.2. ABSORCIÓN DEL NITRÓGENO	40
5.2.1. Absorción de nitrato.....	41
5.2.2. Absorción de amonio	42
6. PROBLEMÁTICAS DE LA CUENCA MEDITERRÁNEA.....	43
6.1. CONTAMINACIÓN POR NITRATOS	43
6.2. UTILIZACIÓN DE AGUAS DE BAJA CALIDAD: SALINIDAD	45
6.3. CONTAMINACIÓN POR BORO	47
REFERENCIAS	49
OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN	63
CONCLUSIONES GENERALES	69
PUBLICACIONES	75

CAPÍTULO I.....	77
CAPÍTULO II.....	97
CAPÍTULO III	109
CAPÍTULO IV	129
ANEXOS	131

ANTECEDENTES

1. DESCRIPCION DEL CULTIVO

Este cultivo forma parte de la familia de las Solanáceas y posee una gran variabilidad genética, que da lugar a que existan varias posturas respecto a su denominación botánica. Sin embargo, la mayoría de los autores están de acuerdo y aceptan que es *Capsicum annuum* L. la especie que engloba a casi todas las variedades cultivadas (Milla, 1996).

Es una planta originaria de América del Sur, en concreto de la zona de Perú-Bolivia, desde la que se extendió al resto de la zona Sur y Central de este continente. Fue introducida en España por Colón en el siglo XV y durante el siglo XVI se fue extendiendo por Europa, Asia y África.



Figura 1. Muestra de la variabilidad morfológica y de colores que presentan los pimientos (Azcoytia, 2009).

1.1. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA Y MORFOLÓGICA

Todas las formas de pimiento pertenecen al género *Capsicum*. El nombre científico del género deriva del griego: según unos autores de *kapsō* (picar), según otros de *kapsakes* (cápsula).

La taxonomía descrita para el género *Capsicum*, por encima de especie es: Reino, *Plantae*; División, *Magnoliophyta*; Clase, *Magnoliopsida*; Orden, *Solanales*; Familia; *Solanaceae*.

El pimiento se cultiva como una planta herbácea anual. Su aspecto es lampiño, de tallos erguidos y de crecimiento limitado, con altura y forma de desarrollo muy variables en función del cultivar y de las condiciones de cultivo.

- Sistema Radicular: es voluminoso y profundo. Consta de una raíz pivotante, de la que se ramifican un conjunto de raíces laterales y abundantes, también con un número elevado de raíces adventicias (Nuez et al., 1996). La producción de estas raíces adventicias respecto de la biomasa total disminuye a medida que se desarrolla la planta (Somos, 1984).
- Hojas: éstas son simples, de forma lanceolada, con un ápice muy pronunciado (acuminado), lampiñas, de color verde oscuro, con un peciolo largo, de borde entero o ligeramente sinuado en la base, apareciendo alternas en el tallo.
- Flores: aparecen solitarias en cada nudo una vez han desarrollado las diez primeras hojas aproximadamente, con una inserción aparentemente axilar. Son hermafroditas y autógamias, presentando un porcentaje variable de alogamia de entre el 10 % y el 20 % (Jiménez, 1992), aunque pueden encontrarse valores entre el 10 % y el 46 %. Son de color blanco y miden de 2 a 3 centímetros de diámetro.
- Fruto: se desarrolla a partir del gineceo de la flor, a partir del ovario fecundado. Es una baya hueca, semicartilaginosa y deprimida que está insertada de forma pendular, con la superficie lisa y brillante, de color verde o morado al principio, para finalmente virar a colores que van del rojo a morado-negruzco, pasando por el amarillo. Al igual que la variedad de colores, hay una gran cantidad de formas, con una longitud que varía entre los 3 y los 20 cm. Generalmente tienen de 2 a 4 celdas internas (dicho número de celdas será idéntico al número de carpelos del gineceo) separadas parcialmente. Estas características del fruto, así como su tamaño, dependen de la variedad.

En el fruto podemos distinguir las siguientes zonas:

- Epicarpio: capa externa del fruto, con una cutícula externa (exocarpo) que aparece una vez ha completado su desarrollo.
- Mesocarpio: zona carnosa intermedia.
- Endocarpio: capa membranosa interna.



Figura 2. *Planta (izquierda), flor (arriba) y fruto (abajo) de pimiento.*

1.2. COMPOSICIÓN Y VALOR NUTRITIVO

En el fruto de pimiento, hay diferentes atributos a los que el consumidor le da una gran relevancia, como son la textura, el sabor, el contenido en vitaminas y minerales, y la apariencia externa del producto, ya que son los que le confieren sus propiedades nutritivas y juegan un papel decisivo en la evaluación de su calidad.

El agua es el principal componente nutricional del pimiento, seguido por los glúcidos. Los pimientos son frutos con un bajo contenido de proteínas y grasas, pero son ricos en fibra, por lo que son una hortaliza poco calórica.

Otra razón por la que es ampliamente demandado, es que pueden ser consumido maduro o inmaduro, y en fresco o cocinado, lo que hace que sean una fuente importante de vitaminas C y E, carotenoides (provitamina A), y en menor medida de vitaminas B1 y B2 (Bosland et al., 2012).

El cuerpo humano es incapaz de sintetizar vitamina C, y además, debido a que ésta es una vitamina hidrosoluble, tampoco se almacena en el organismo durante mucho tiempo, lo que hace necesario aportarla diariamente con la dieta. En el pimiento, la vitamina C se encuentra en un rango de valores de 63 a 243 mg/100g de peso fresco (Howard et al., 2000; Tadesse et al., 2002). La importancia de la vitamina C para el ser humano radica en sus propiedades antioxidantes, ayudando a prevenir algunos tipos de cáncer, enfermedades neurodegenerativas, enfermedades cardiovasculares, problemas oculares, etc. (Davey et al., 2000).

Durante la maduración, que es cuando se produce el cambio del fruto de verde a rojo, se produce la degradación de la clorofila, responsable del color verde, y la síntesis de pigmentos carotenoides, también conocidos como precursores de la vitamina A. Al igual que la vitamina C, tienen actividad antioxidante, por lo que ayudan a proteger frente a diversas enfermedades, como pueden ser algunos tipos de cáncer, así como también ayudan a la diferenciación celular humana (Arimboor et al., 2015).

1.3. VARIEDADES CULTIVADAS Y SU CLASIFICACIÓN

La especie *Capsicum annuum* L. resulta difícil de clasificar de forma clara y concisa, debido a su gran complejidad taxonómica y la gran cantidad de variedades existentes.

Según su sabor, podemos clasificar las variedades en tres grandes grupos diferentes: pimiento dulce, pimiento picante y pimiento de industria o pimentón (en realidad, a este último se le incluye como subgrupo del pimiento dulce).

Milla en 1996 estableció otra clasificación atendiendo a las diferentes morfologías que presentan los frutos (Figura 3):

- Pimientos cuadrados: Dentro de estos podemos diferenciar tres familias.
 - o *Cuadrado americano*: presentan 4 lóbulos con el ápice o punta que vuelve a entrar, creando una cavidad entre los mismos lóbulos. Los frutos son de tamaño medio-pequeño, uniformes de elevado peso específico, por el

notable espesor de la pulpa. Coloración roja cuando están maduros, y sabor dulce.

- *Cuadrado holandés*: Aunque son cuatrilobulados como los anteriores presentan un ápice más entrante. Son más alargados y con una superficie menos lisa que el tipo cuadrado americano. De calibre son aproximadamente un 20 % más pesados que los anteriores. Coloración uniforme rosa o amarilla.
- *Cuadrado italiano*: Estos frutos son inconfundibles por su forma cúbica y por sus enormes dimensiones, son los frutos más anchos y de sabor más dulce. Coloración amarilla y roja.

- Pimientos rectangulares:

- *Rectangular 1/2 largo*: Son frutos de forma cuadrada ligeramente alargadas con 3-4 lóbulos en el ápice, los cuales suelen terminar en punta. Con coloración tanto en verde-rojo como en amarillo.
- *Rectangular 3/4 largos*: Frutos con la superficie externa retorcida y el ápice tiende a terminar en punta. Con dimensiones notables, sobretodo en longitud, y sabor dulce. Se suelen comercializar en verde.
- *Rectangular largo*: Frutos excepcionalmente gruesos y alargados, de sabor dulce.

- Pimientos cordiformes o acorazonados: Frutos con cualidades importantes de espesor de la pulpa, carne crujiente, dureza. El prototipo es el morrón de conserva. Son variedades estándar de maduración completa en rojo.

- Pimientos dulces italianos: Frutos generalmente estrechos aunque son heterogéneos de dimensiones y muy grandes, entre 18 y 35 cm, así como también el espesor de la pulpa, que es muy variable. De color rojo o amarillo al madurar.

- Pimientos tipo cuerno picante: A este grupo pertenecen los pimientos picantes tipo Cayenne, de pequeñas dimensiones y los híbridos también picantes, pero de mayores tamaños. Coloración roja al madurar.

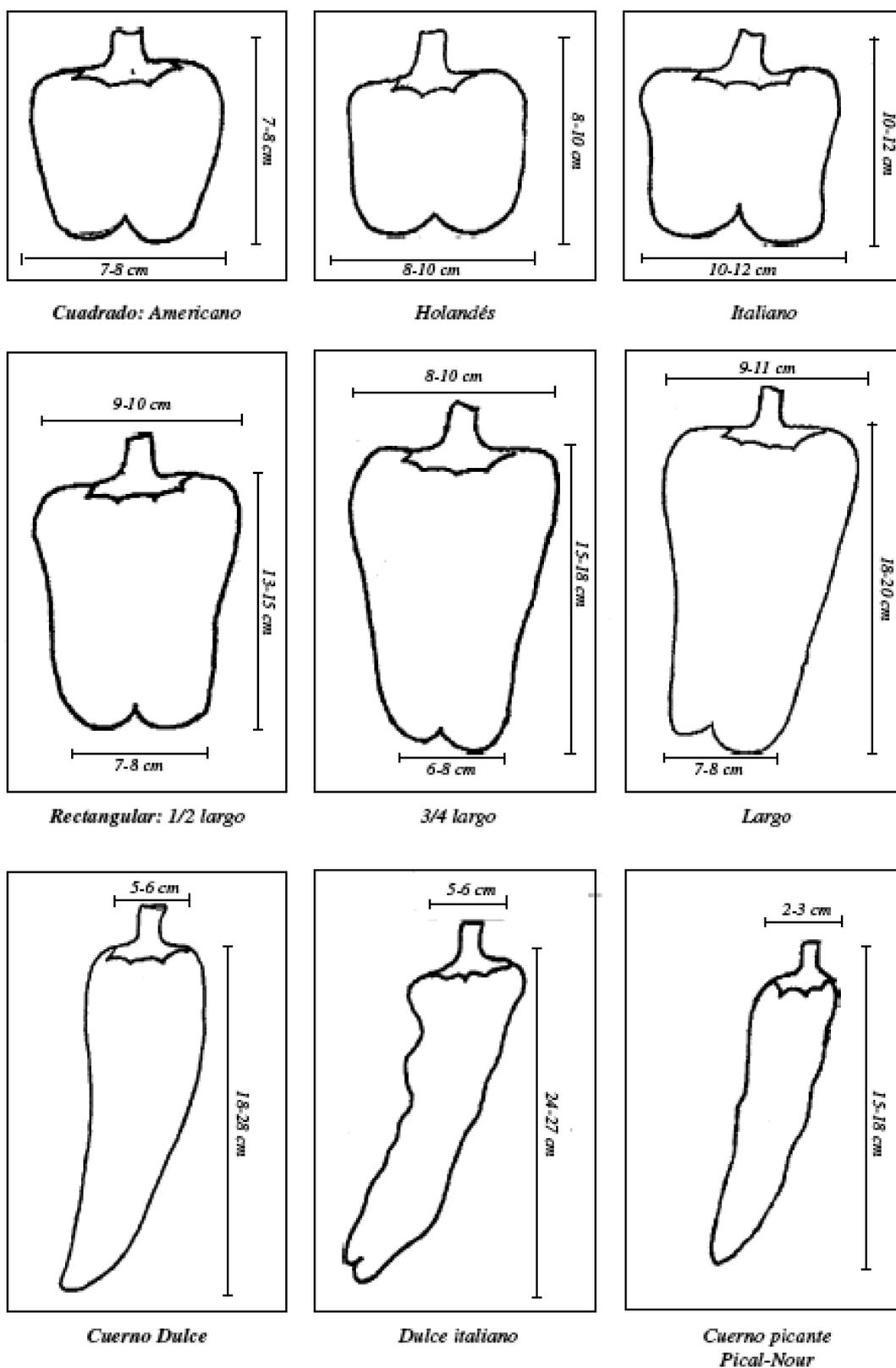


Figura 3. Tipos de pimiento caracterizados por su relación ancho/largo (Milla, 1996).

Tabla 1. Clasificación de los cultivares de fruto grande y dulce de pimiento (Nuez et al., 1996).

A	Sección longitudinal Cuadrangular Largo=ancho	A1	Superficie lisa. Pedúnculo no hundido, muy carnoso	California Wonder
		A2	Pedúnculo hundido, bastante carnoso, lóbulos marcados	Cuadrado de Asti
		A3	Pedúnculo hundido, medianamente carnoso	Carré Doux
				Dulce Cuadrado
A4	Carne delgada, peso < 100 g	Sverka		
B	Sección longitudinal Rectangular Largo < ancho	B1	Relación longitud/anchura < 2	Morro de Vaca
				Lamuyo
		B2	Relación longitud/anchura < 2	Dulce de España
				Largo de Reus
B3	Trococónico, peso ≈ 100 g	Ruby King		
B4	Peso < 100 g	Jade		
		Dulce Aurora		
C	Sección longitudinal triangular	C1	Muy largo, puntiagudo	Cuerno de Toro
				Dulce Italiano
		C2	Muy largo, obtuso	Dulce de Argentina
		C3	Alargamiento medio, parte superior ancha	Najerano
Infantes				
C4	Fruto corto, frecuentemente erecto	Pico de Mendavia		
		Datler		
F	Fruto aplastado, tipo tomate		Topepo	
N	Fruto subesférico		Ñora o pimiento de bola	
P	Fruto acorazonado		Morrón de conserva	

Sin embargo, la clasificación más aceptada es la clasificación de cultivares internacionales de Pochard también en 1996, por utilizar un criterio sencillo para su clasificación. Esta clasificación sólo incluye cultivares de fruto grande y dulce, ya que son los más cultivados en Europa y otros lugares del mundo. En la Tabla 1 se muestra la clasificación de Pochard adaptada por Nuez et al. (1996).

Dicha clasificación está realizada en base a los distintos tamaños y aspectos morfológicos que poseen los pimientos dulces, diferenciándolos y denominándolos con letras, según la sección longitudinal de los frutos (cuadrados, rectangulares, triangulares, aplastados, subesféricos o acorazonados).

Dentro de cada grupo, al que se le asigna una letra diferente, los clasifica refiriéndose ahora a los distintos aspectos en cuanto al grosor de su carne, a la relación longitud/anchura, a la conformación de los lóculos, etc.

2. EL CULTIVO DE PIMIENTO

El pimiento es una de las hortalizas cultivadas que ha experimentado una de las mayores expansiones a nivel mundial. La producción mundial de pimiento en 2012 alcanzó valores de 31.167.000 t, siendo la superficie cultivada sobre 1.914.685 ha, según los últimos datos que se tienen a nivel mundial del organismo de estadística de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2012).

China es el primer productor de pimiento a nivel mundial, produciendo en la actualidad más de 15 millones de toneladas anuales, más de la mitad de la producción mundial. Le siguen México y Turquía que rondan los 2 millones de toneladas anuales. Dentro del ranking de los diez mayores productores de pimiento a nivel mundial, España se encuentra en el 6º lugar con una producción de 898.260 t en 2012 (FAO, 2012).

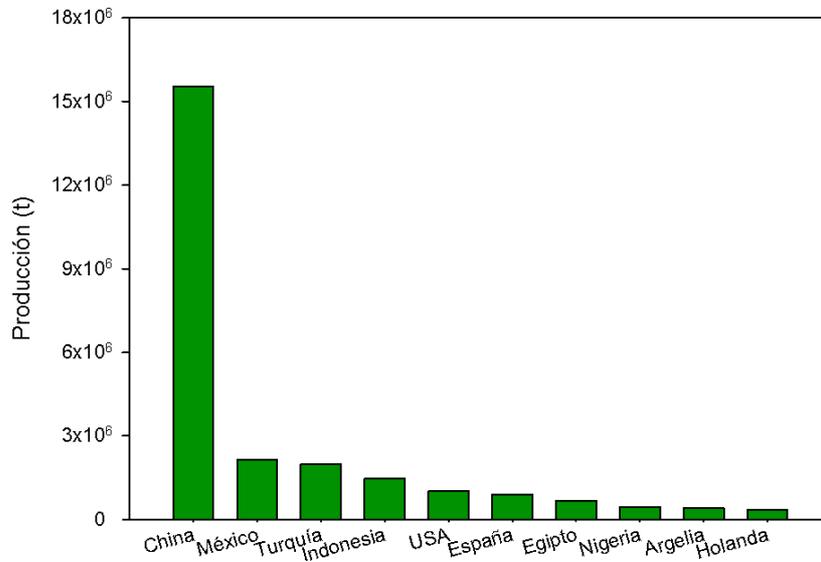


Figura 4. Principales países productores de pimienta expresados en toneladas producidas (FAOSTAT, 2012). (<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>)

Sin embargo, en términos de rendimiento (expresado en Kg/m²), España se encuentra en la 9ª posición dentro del ranking de los diez países con mayores rendimientos. Los mayores rendimientos están en torno a los 27 kg/m², dándose éstos en países con un alto grado de industrialización en su sector hortícola, como es el caso de Bélgica, Holanda y Reino Unido. Por su parte, el rendimiento medio anual en España es de 5,32 kg/m² (FAO, 2012).

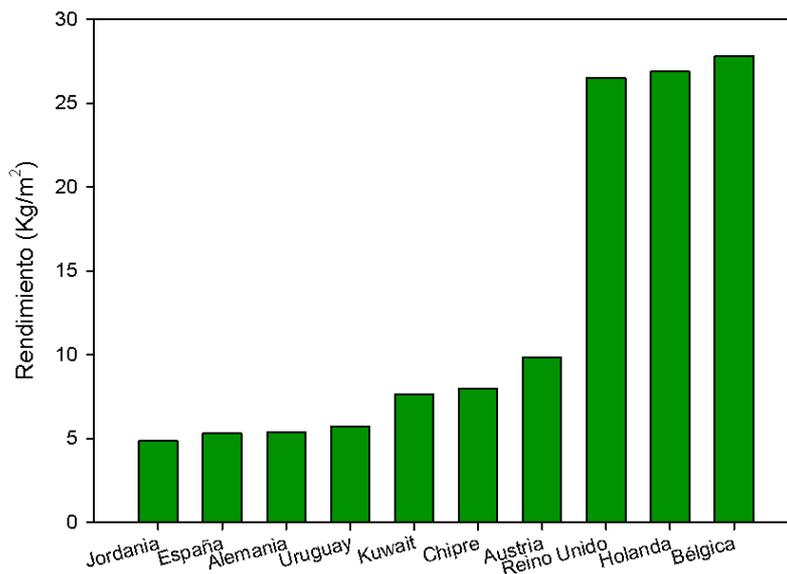


Figura 5. Principales países productores de pimienta expresados en rendimiento (Kg/m²) (FAOSTAT, 2012). (<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>)

2.1. EL CULTIVO DE PIMIENTO EN ESPAÑA

En España el pimiento es uno de los cultivos hortícolas más importantes. Según el Anuario de Estadística Agraria del MAGRAMA (2014), es el 8º cultivo hortícola en importancia en cuanto a superficie, precedido por el tomate, la lechuga, la coliflor y el brócoli, la cebolla, el melón, los tomates de invernadero y el ajo. En la Tabla 2, se ve reflejada la evolución que ha tenido el cultivo del pimiento en España durante la última década, desde 2003 hasta 2013. La superficie cultivada durante el 2013 fue de 18.100 ha y la producción de 1.016.800 t (Tabla 2).

Al profundizar en el análisis de éstos datos se observa que la superficie cultivada ha disminuido desde el 2003 en 4.300 ha, habiendo ocurrido la mayor bajada en superficie cultivada entre los años 2007 y 2008 (Tabla 2). De igual manera, la producción se vio reducida durante estos años, pero de forma no proporcional, lo que indica que en este periodo se produce un incremento del rendimiento productivo.

Tabla 2. Serie histórica de superficie, rendimiento y producción de los últimos 10 años de pimiento en España. (MAGRAMA, 2014). (<http://www.marm.es/es/agricultura/estadisticas/>).

Año	Superficie (miles de hectáreas)	Rendimiento (t/ha)	Producción (miles de toneladas)
2003	22,4	47,2	1.056,2
2004	22,7	47,3	1.075,5
2005	23,7	44,8	1.060,4
2006	23,7	48,4	1.147,8
2007	21,8	48,5	1.057,5
2008	18,7	49,1	918,1
2009	18,9	49,1	929,3
2010	18,0	48,6	873,0
2011	17,6	52,2	918,5
2012	17,4	55,6	970,3
2013	18,1	56,2	1.016,8

El rendimiento del cultivo del pimiento en España ha ido oscilando durante los años. En la actualidad ha experimentado un incremento, pasando de las 55,6 a las 56,2 t/ha en el año 2013 (Tabla 2). En el 2013 se produce un incremento de la superficie cultivada, el cual junto con el aumento del rendimiento se vio reflejado en un incremento de la producción en el último año de 46.500 t (Tabla 2).

El incremento en el rendimiento se debe sin duda a factores como el porcentaje de superficie dedicada al cultivo al aire libre o bajo invernadero. La superficie dedicada en España al cultivo de pimiento durante el año 2013, fue el 65,2 % bajo invernadero, y este porcentaje sigue en aumento (MAGRAMA, 2014). El rendimiento medio del pimiento en España es del 3,72 Kg/m², pero si se observan los rendimientos individuales por tipo de sistema de cultivo vemos como esta cifra no es significativa, ya que el rendimiento en seco es del 0,85 Kg/m², en regadío al aire libre de 3,51 Kg/m² y en regadío bajo invernadero es de 6,80 Kg/m² (Figura 6).

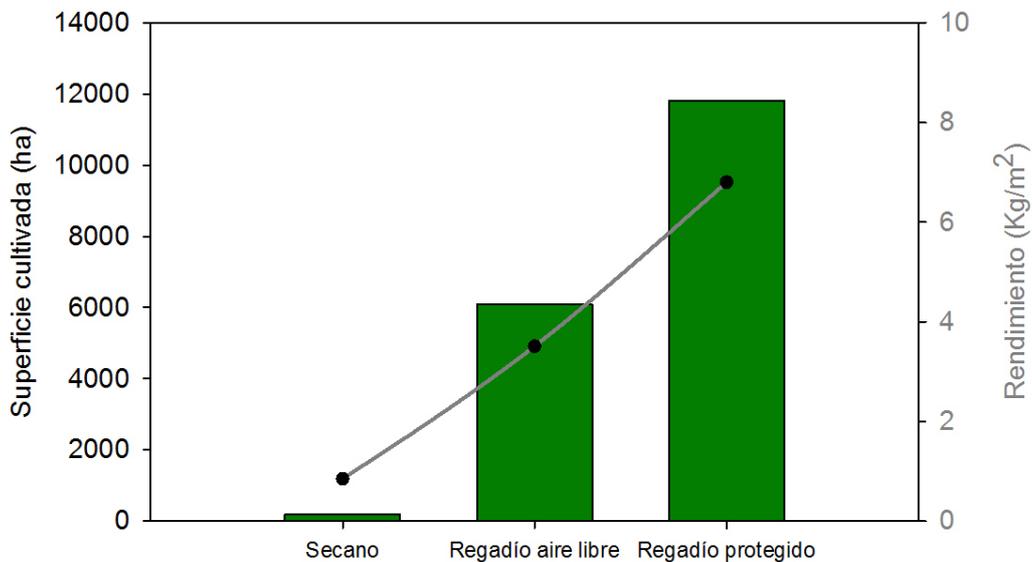


Figura 6. Superficie de pimiento cultivada en España (ha) y rendimiento del pimiento (Kg/m²) en el año 2013 dividida por sistemas de cultivo. (MAGRAMA, 2014). (<http://www.marm.es/es/agricultura/estadisticas/>).

En el territorio nacional, y según se puede observar en la Figura 7, el cultivo de esta hortaliza no está repartido por igual en todas las comunidades autónomas. El 61,4 % de la superficie cultivada de pimiento está en Andalucía (11.113 ha), seguida por Castilla la Mancha (1.315 ha), Murcia (1.233 ha) y Galicia (1.188 ha) con un 7,3 %, 6,8 % y 6,6 %, respectivamente. En cuanto a la producción en toneladas, Andalucía sigue estando en el

primer puesto, con un 65,1 % de la producción nacional de pimiento (662.304 t), mientras que Murcia pasa a situarse en un segundo puesto produciendo el 10,6 %, Galicia el 6,6 % y Castilla la Mancha un 5,3 %.

Las diferencias entre los porcentajes de superficie y producción que se pueden observar, son debidas a las diferencias de rendimiento que se producen por cuestiones de climatología, por utilizarse variedades comerciales de pimiento con distintos rendimientos en las diferentes comunidades, tener ciclos de cultivo más o menos largos, y sobre todo, por las diferentes proporciones de superficie cultivada al aire libre o bajo invernadero, como ya se ha visto anteriormente.

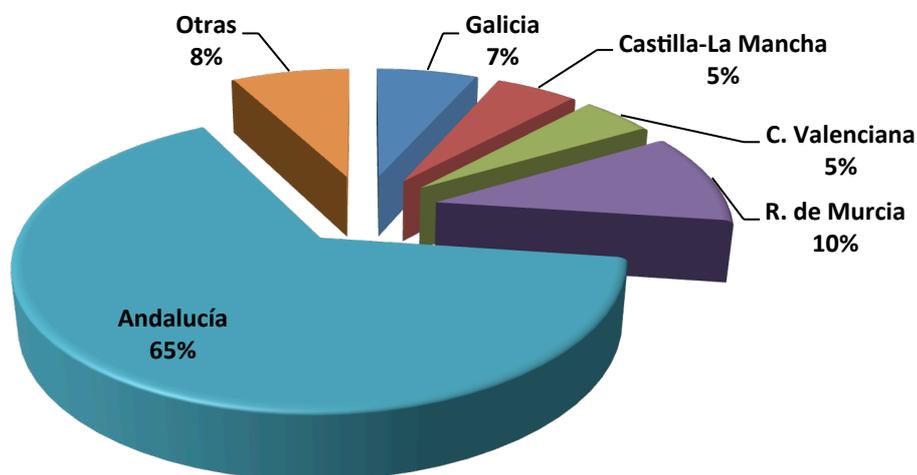


Figura 7. Tasas producción de pimiento cultivada en España en el año 2013 dividida por comunidades autónomas. (MAGRAMA, 2014). (<http://www.marm.es/es/agricultura/estadisticas/>).

2.2. EL CULTIVO DE PIMIENTO EN LA REGIÓN DE MURCIA

Los pimientos españoles implican sobre el 55 % de la producción del sur de Europa, los cuales se concentran en las regiones mediterráneas. Andalucía y Murcia producen alrededor del 75 % de la producción del pimiento español (MAGRAMA, 2014).

El cultivo de pimiento tiene una gran importancia en la economía regional, ya que constituye un ejemplo típico de las nuevas orientaciones productivas de la agricultura comercial de la Región de Murcia. Del total de superficie dedicada al cultivo de pimiento en

la Región de Murcia (1.233 ha), el campo de Cartagena engloba el 91 % del total, de la cual el 79 % es cultivado bajo invernadero (CARM, 2016).

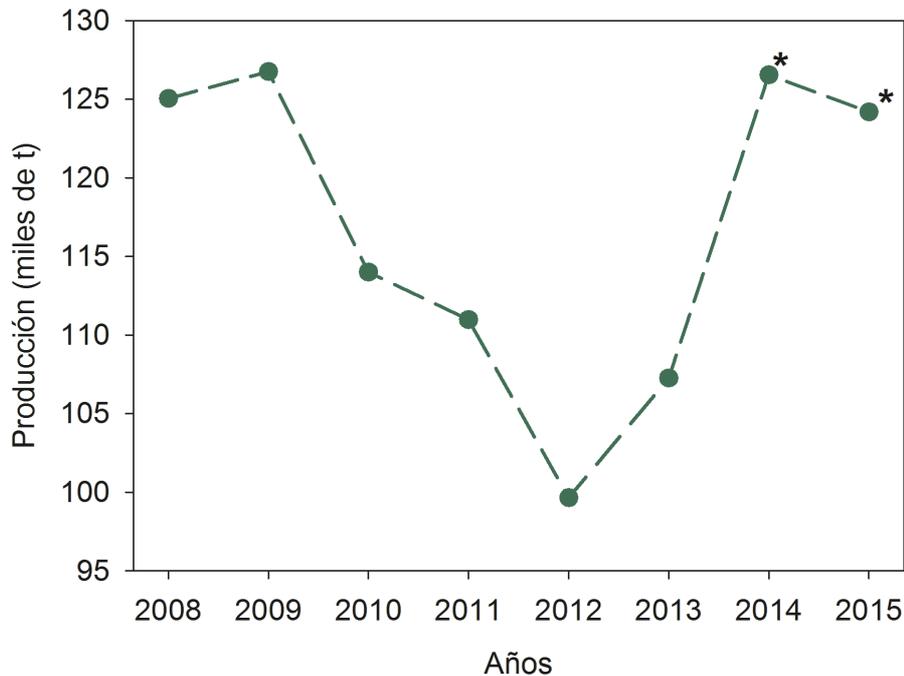


Figura 8. Serie histórica de la producción de pimiento en la Región de Murcia expresada como miles de toneladas. (*)Datos provisionales. Sujetos a modificaciones. (CARM, 2016). (<http://www.carm.es>)

Desde el 2009 al 2012 se produjo un descenso en la producción de este cultivo, pero en los últimos años se ha recuperado de forma considerable, presentando una variación porcentual del último año respecto a la media de los 5 años anteriores del 13 % (Figura 8). Gran parte de la producción se destina a la exportación siendo los principales países destinatarios Alemania, Francia, Holanda y Reino Unido. El resto de la producción se destina al mercado interior.

Respecto a las variedades de pimiento, el tipo más cultivado para el comercio exterior es el de carne gruesa, como el tipo California de sección cuadrada, semilargo, pimiento amarillo, etc. En España, para los cultivos intensivos, en especial los de invernadero, se utilizan los pimientos gruesos de sección rectangular (más largos que anchos), de maduración en rojo cuyo modelo es el híbrido Lamuyo (Costa y Gil, 2001).

3. EL DIÓXIDO DE CARBONO (CO₂)

3.1. CAMBIO CLIMÁTICO

El CO₂ es el gas de efecto invernadero (GEI) que más contribuye al cambio climático y el que más ha aumentado su proporción. A nivel mundial, el crecimiento económico demográfico es uno de los motores más importantes de los aumentos en las emisiones de CO₂ derivadas de la quema de combustibles fósiles (IPCC, 2014). El incremento de la concentración de CO₂ ([CO₂]) comenzó con la revolución industrial en 1750, pasando de 280 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ hasta superar hoy día los 403 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ (Figura 9), con un incremento actual de aproximadamente 3,05 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ año⁻¹ (NOAA, 2016). Así, se prevé que llegue a concentraciones entre los 750 y los 1300 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ para finales de siglo (IPCC, 2014). Además, el CO₂ es de especial relevancia ya que es un gas de larga permanencia, es decir, permanece activo en la atmósfera durante muchos años. Así, por ejemplo, del CO₂ emitido a la atmósfera, sobre el 50 % tardará unos 30 años en desaparecer, un 30 % permanecerá varios siglos y el 20 % restante durará varios millares de años (Solomon et al., 2007).

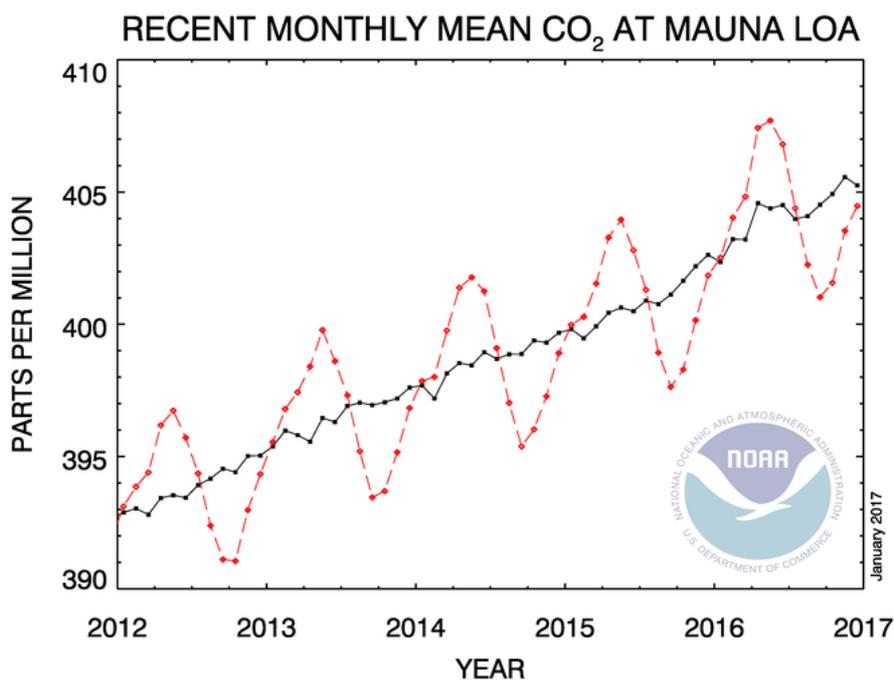


Figura 9: Evolución de la concentración media mundial de CO₂ registrada en el observatorio de Mauna Loa, de la NOAA, en Hawái. (<http://www.esrl.noaa.gov/gmd/ccgg/trends/>).

El cambio climático, se relaciona con una serie de cambios registrados en otros factores climáticos, así como en un aumento de la temperatura global, modificaciones en los patrones de precipitación, incremento del nivel del mar y reducción de la criósfera, y modificaciones de los patrones de eventos climáticos extremos. Según los expertos, los modelos sobre las modificaciones de los patrones de precipitaciones, predicen un incremento en los eventos de lluvia extremos (lluvias torrenciales), un menor número de días de lluvia, y periodos de sequía más largos (Easterling et al., 2000). Se prevé que todos estos cambios de aumento de temperatura y reducción de precipitaciones combinados con un incremento de la $[CO_2]$, tengan un gran impacto sobre los ecosistemas áridos y semiáridos.

3.2. EFECTOS DEL CAMBIO CLIMÁTICO SOBRE LAS PLANTAS

El aumento de la $[CO_2]$ es un tema que viene preocupando a la comunidad científica desde hace años. De Saussure en 1890 fue el primero en observar el crecimiento de plantas con CO_2 elevado, aunque los primeros estudios realizados con plantas expuestas a una $[CO_2]$ elevada datan de 1928 (Bolas y Henderson, 1928).

Se espera que el aumento de la $[CO_2]$ tenga un impacto considerable en las plantas provocando una amplia variedad de respuestas tanto a nivel fisiológico como en el crecimiento de las mismas (Smith y Dukes, 2013; Pérez-Jiménez et al., 2015). Se ha observado que la elevada $[CO_2]$ aumenta la biomasa, el crecimiento radicular y el área foliar total, y altera las tasas de fotosíntesis neta, la conductancia estomática y la eficiencia en el uso del agua. No obstante, la magnitud de tales respuestas depende de la disponibilidad de otros recursos que pueden ser limitantes (del Amor et al., 2010; O'leary et al., 2015). La disponibilidad de nitrógeno en el suelo, la temperatura o la luz pueden afectar a dichas respuestas.

Ante una situación en el que el resto de variables ambientales son idóneas, hay tres procesos metabólicos que afectan directamente a la fotosíntesis: la actividad de la Rubisco, la regeneración de ribulosa-1,5-bisfosfato (RuBP) y el metabolismo de las triasas fosfato (TP) (Taiz y Zeiger, 2002). Cuando la $[CO_2]$ es baja, las reacciones de regeneración de RuBP del ciclo de Calvin son más rápidas que su carboxilación por parte de la Rubisco y la fotosíntesis estará limitada por la disponibilidad de CO_2 o por la Rubisco, dado que en este

caso el CO₂ es el sustrato limitante (Long y Bernacchi, 2003; Salazar-Parra et al., 2015). Niveles de CO₂ más altos incrementan la velocidad de fijación, ya que la Rubisco tiene baja afinidad por el CO₂, por lo que al aumentar la proporción de CO₂ respecto al O₂, se estimularía la reacción de carboxilación sobre la oxigenación y reducirá la pérdida de carbono por fotorrespiración (Long et al., 2004; Aranjuelo et al., 2005). Por tanto, la fotosíntesis en las plantas C3 inicialmente se eleva, pero al seguir elevando la concentración de este gas, la velocidad de carboxilación superará a la velocidad de regeneración de la RuBP, que es el otro sustrato de la enzima, y la tasa fotosintética neta, aunque sigue aumentando ligeramente por la inhibición gradual de la oxigenación, alcanzará un máximo – parte estacionaria de la curva – donde la fotosíntesis no aumenta más (Figura 10).

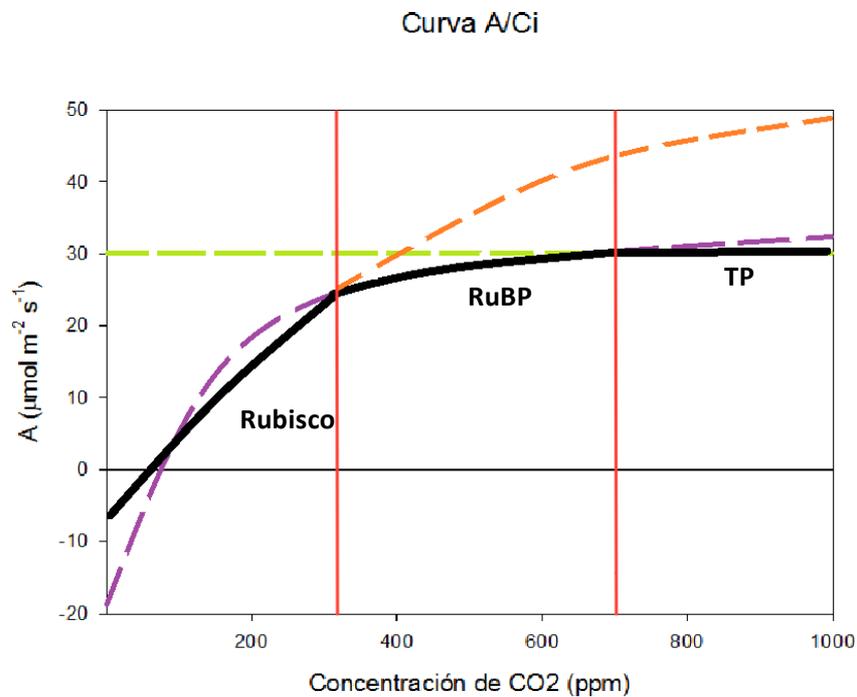


Figura 10: Curva A/Ci de respuesta de la velocidad de asimilación (A) al incremento de la concentración de CO₂ medida en una planta de metabolismo C3 (negro), donde se observa en la parte inicial de la curva la limitación por Rubisco (naranja), la limitación por regeneración de RuBP (morado) y por el reciclado de las TP (verde). (Fuente: Gráfica adaptada de Bernacchi et al., 2013).

El metabolismo de las TP junto con la regeneración de RuBP – que necesita mucha de la energía química obtenida en la fase lumínica junto con el fosfato liberado en el metabolismo de las TP – se convierten en los factores limitantes cuando el CO₂ es elevado (Azcón-Bieto y Talón, 2000).

A nivel foliar se ha observado que el aumento de los niveles de CO₂ reduce la apertura estomática, mejorando la eficiencia en el uso del agua por una reducción de la transpiración, e incrementa la eficiencia del uso de la luz en la asimilación neta de CO₂, dando lugar a un aumento del crecimiento, y por tanto, de la velocidad de producción de superficie foliar. Como consecuencia de estos cambios, tienen lugar una serie de respuestas secundarias, como aumento de los carbohidratos no estructurales, una mejora del estado hídrico de la planta, y en muchos casos incrementos del ratio C/N, y reducción de la densidad de los estomas y de la relación de masas raíz/tallo (Drake et al., 1997; Ainsworth y Rogers, 2007).

3.3. ACLIMATACIÓN DE LA FOTOSÍNTESIS

El incremento producido en la fotosíntesis por un aumento de la [CO₂] se ve reducido cuando las plantas crecen durante largos periodos a altas concentraciones. Este fenómeno se conoce con el nombre de “aclimatación”, “regulación a la baja” o “downregulation”.

Se ha relacionado este fenómeno con la acumulación de hidratos de carbono y la reducción de la concentración de enzimas fotosintéticas clave, con la Rubisco. Las hojas presentan una menor concentración de N y un aumento de la relación C/N. La aclimatación aumenta con la duración del periodo de exposición a elevadas [CO₂], y se hace más pronunciada cuando las plantas crecen con limitaciones en el aporte de nutrientes (N, P, etc.), o cuando los sumideros de los hidratos de carbono son insuficientes, y se supera la capacidad de exportación y utilización de asimilados. Esto provoca la acumulación en las hojas de azúcares solubles, los cuales alteran la expresión de los genes, y reprimen la expresión otros genes de enzimas fotosintéticas. Además, el incremento de azúcares frecuentemente va asociado con un incremento de almidón, causando alteraciones en la organización de los cloroplastos (Sharma et al., 2014). Sin embargo, otros estudios apuntan a que la aclimatación se debe a una reducción no selectiva del contenido de N, y por tanto, a la disminución del contenido de Rubisco, lo cual provocaría una reducción en la capacidad fotosintética de la planta (Long et al., 2004)

4. CULTIVOS BAJO INVERNADERO

En España, la superficie actual ocupada por una horticultura protegida está sobre las 19.126 ha , las cuales se localizan principalmente (77,7 %) en el litoral mediterráneo (MAGRAMA, 2014). Andalucía es la comunidad autónoma con mayor número de hectáreas dedicadas al cultivo de hortalizas bajo invernadero (13.770 ha), seguida de la Región de Murcia (1.098 ha) y el País Vasco (1.061 ha).

Las principales ventajas de cultivar bajo invernadero fueron descritas por Nuñez en 1988: 1) se consigue precocidad en las cosechas, 2) aumento del rendimiento, 3) cultivar fuera de época, 4) obtener frutos de mayor calidad, 5) ahorro de agua, 6) mejor control de plagas y enfermedades, 7) siembra de variedades selectas con rendimientos máximos, y 8) posibilidad de obtener dos o tres cosechas al año.

4.1. CULTIVOS SIN SUELO

Los cultivos sin suelo son también conocidos como “cultivos hidropónicos”. Este término procede de las palabras griegas hydro (agua) y ponos (cultivo, labor). Se utiliza para definir a los cultivos cuyas raíces se desarrollan directamente en la disolución acuosa, o bien en un medio inerte, provisto de los nutrientes esenciales y suficientemente aireado. Entre los sustratos más utilizados se encuentran: fibra de coco, perlita, lana de roca y vermiculita.

Los cultivos sin suelo presentan ciertas ventajas frente a los cultivos tradicionales realizados directamente sobre el suelo (Cánovas, 1997; Nakano et al., 2010; Sánchez del Castillo et al., 2014), como son:

- Mayor eficiencia en el uso de agua y fertilizantes.
- Posibilidad de cambiar la nutrición aplicada en cualquier momento, en función de las condiciones climáticas.
- Fácil control del pH de la disolución nutritiva.
- Ausencia inicial de plagas, enfermedades y maleza.
- Facilidad de esterilización de los sustratos.
- Mayor rendimientos y calidad.
- Más sanidad e inocuidad.

- Posibilidad de cultivar regiones del mundo que carecen de tierras cultivables.
- Mayor densidad de plantación que nos conducen a un incremento de cosecha por unidad de superficie.
- Menor impacto ambiental al evitar que grandes cantidades de minerales contaminen ríos, lagos, ramblas, aguas subterráneas y mares.

A todas estas ventajas se le podría añadir el hecho de que la hidroponía ha sido y es, un sistema excelente para todo tipo de investigaciones en fisiología o patología vegetal y casi imprescindible para el estudio de la nutrición mineral de las plantas. Esta técnica ha permitido determinar qué elementos son esenciales y qué proporciones de los mismos son las más adecuadas para un mayor desarrollo de las plantas.

Sin embargo, no todo son ventajas, también presentan las siguientes desventajas (Cánovas, 1997):

- Inversiones altas al inicio del cultivo.
- Necesidad de un mayor conocimiento técnico sobre los requerimientos agronómicos del cultivo.
- Al tratarse de un sistema cerrado, en caso de aparecer una infección la propagación es rápida.

Generalmente, en los cultivos hidropónicos el riego se hace por goteo (Figura 11). Los invernaderos suelen contar con tanques que contiene todos los nutrientes minerales esenciales para las plantas (Figura 11), y mediante bombas de fertirrigación, se van aportando en las concentraciones óptimas para el crecimiento y desarrollo de las plantas. La concentración de nutrientes y el volumen de agua aportado irá variando en función de la fase de desarrollo en la que se encuentre el cultivo y de las condiciones ambientales.

La disolución de drenaje en este tipo de sistemas se encuentra normalmente entre el 10 % y el 30 % de la solución suministrada, evitando así la acumulación de nutrientes y sales en el sustrato, en el caso de aguas que contienen sodio (Na) y cloruros (Cl). La disolución drenada se suele recoger y se vuelve a usar en el cultivo, tras una previa esterilización y ajuste de pH, CE y concentración de nutrientes.



Figura 11: *Detalle de los goteros (izquierda) y las cubas de fertilizantes (derecha) en el invernadero.*

4.2. CONTROL DE CO₂

El carbono que incorporan las plantas a sus tejidos vegetales mediante la fotosíntesis, procede del CO₂ atmosférico. El contenido de CO₂ en el aire es uno de los principales determinantes del crecimiento y la productividad de los cultivos. En la actualidad la [CO₂] se encuentra en 403 μmol mol⁻¹, mientras que la concentración óptima para la fotosíntesis está en torno a los 900-1000 μmol mol⁻¹, lo que significa que la tasa de asimilación de carbono potencial está muy limitada por la actual [CO₂].

Además, en los invernaderos el nivel de CO₂ se reduce notablemente conforme el cultivo se desarrolla, de manera que adquiere valores inferiores al atmosférico, de por sí limitante para los cultivos, debido a la baja tasa de renovación del aire de los invernaderos mediterráneos. En invernaderos mediterráneos con cultivo desarrollado se han registrado niveles inferiores a 300 μmol mol⁻¹ durante un 60 % del periodo diurno (Sánchez-Guerrero et al., 2005), lo que supone pérdidas importantes de producción.

El enriquecimiento carbónico del aire es una de las técnicas aplicadas de manera generalizada en los invernaderos del norte de Europa. Su efecto positivo sobre la producción de frutos está ampliamente documentado, no solo en términos de cantidad sino también en calidad de los mismos (organoléptica y nutricional) (Wang et al., 2003). Sin embargo, la incorporación de esta técnica en las condiciones mediterráneas está limitada por la necesidad frecuente de ventilar los invernaderos.

En condiciones mediterráneas, el aporte de CO₂ debe seguir una estrategia basada en la variación del nivel de consigna de concentración durante el día según la apertura de las ventanas, para que la técnica sea viable tanto por razones económicas como medioambientales. Esta aplicación ha resultado en importantes mejoras productivas (15-20 %) en cultivo de pepino, pimiento y judía (Sánchez-Guerrero et al., 2005; Alonso et al., 2010) y una mejora de la eficiencia en el uso del agua (40 %) y los nutrientes (Sánchez-Guerrero et al., 2009).

La principal fuente de enriquecimiento de CO₂ en los invernaderos suele ser el gas puro; pero también se utilizan los gases de combustión de hidrocarburos, como la parafina baja en azufre, propano, butano, gas natural y biogás. En estos casos, debe prestarse atención a los niveles de SO₂, SO₃ y NO_x, que pueden dañar los cultivos incluso a concentraciones bajas.

5. NITRÓGENO

5.1. EL CICLO DEL NITRÓGENO

El nitrógeno (N) es uno de los compuestos mayoritarios en los organismos de los seres vivos. Éstos lo utilizan para formar proteínas, ácidos nucleicos (ADN y ARN) y otras moléculas fundamentales del metabolismo.

La atmósfera contiene aproximadamente un 78 % de N molecular (N₂), sin embargo, éste es poco reactivo en la mayoría de condiciones naturales, por lo que no está disponible para muchos organismos, exceptuando algunas bacterias y algas cianofíceas. Estas bacterias y algas cianofíceas que son capaces de utilizar el N₂ atmosférico, juegan un papel fundamental en el ciclo del N. Para pasar el N₂ a formas asimilables por las plantas, amonio (NH₄⁺) o nitrato (NO₃⁻), realizan un proceso denominado “fijación de N₂”. Este proceso puede producirse también mediante la combustión de N₂ con oxígeno a altas temperaturas, como ocurre con las descargas eléctricas, que son arrastrados al suelo por la lluvia, o en el proceso de fabricación de fertilizantes.

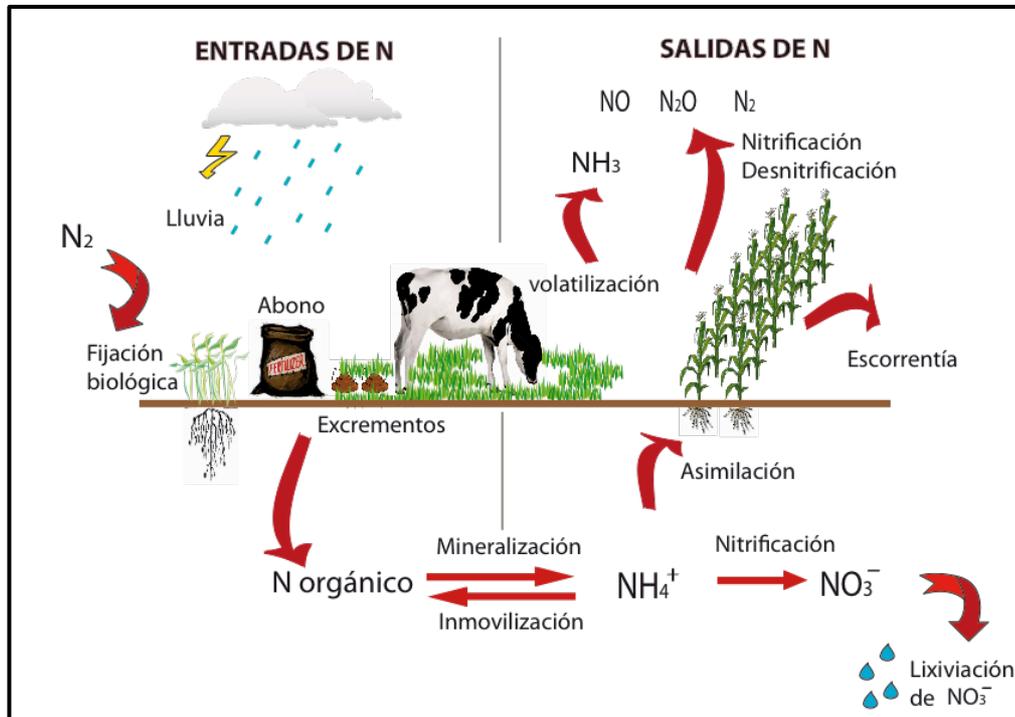


Figura 12: Esquema simplificado del ciclo del nitrógeno.

Por tanto, las principales entradas de N al sistema suelo-planta son las deposiciones atmosféricas, las excreciones de los animales, la fijación biológica del N y la fertilización nitrogenada (Figura 12). La deposición de la atmósfera y la lluvia puede suponer hasta $45 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$. (González-Murua, 2004). Los excrementos animales son un recurso indispensable que permite completar el ciclo de nutrientes y que hace que gran parte del N, fijado por las leguminosas y cosechado en forma de forraje, pueda volver al suelo.

Otros dos procesos importantes en el ciclo del N que tienen lugar en el suelo, son la mineralización e inmovilización. La mayor parte del N presente en los primeros centímetros de suelos se encuentra formando parte de compuestos orgánicos, y por tanto, no está disponible para las plantas. La “mineralización” es la transformación del N orgánico en N inorgánico (principalmente como NH_4^+) mediante la acción de microorganismos del suelo. El proceso contrario a la mineralización es la “inmovilización” del N inorgánico (tanto en forma de NO_3^- como de NH_4^+) por los microorganismos, y ocurre cuando éstos no obtienen el suficiente N para su crecimiento y toman el N inorgánico del suelo y lo transforman en el N constituyente de sus células y tejidos. Ambos procesos ocurren a la vez y el balance entre ellos denominado “mineralización neta”, determina la cantidad de N que hay disponible en el suelo para las plantas.

Por otro lado, las principales pérdidas de N del suelo se producen debido a la absorción por las plantas, lixiviación o lavado de nitratos, arrastre por escorrentía, desnitrificación y volatilización. Las plantas tienen la capacidad de absorber por las raíces tanto NO_3^- como NH_4^+ .

El NH_4^+ presente en el suelo suele ser retenido por las cargas negativas de las arcillas. No obstante, si el pH del suelo aumenta, el NH_4^+ se transforma en amoníaco (NH_3), que es un gas volátil. De este modo, se produce una pérdida por volatilización de NH_3 hacia la atmósfera (Pan et al., 2016).

El N en el agua de escorrentía puede estar presente en forma orgánica junto con las partículas del suelo erosionado o en forma inorgánica disuelto en el agua. La lixiviación se produce cuando un suelo está saturado en agua y las plantas no pueden absorberla toda. En este caso las pérdidas de N se deben a que el NO_3^- se une débilmente a las partículas del suelo, y por tanto, sigue el movimiento del agua, lo que provoca contaminación de las aguas. Es muy importante ajustar las dosis aplicadas de fertilizantes nitrogenados a la capacidad del cultivo de aprovechar el N aplicado (Gao et al., 2016).

La nitrificación es un proceso aeróbico microbiano por el que se oxida el ión NH_4^+ a NO_2^- y después a NO_3^- . Durante este proceso de oxidación se libera óxido de nitrógeno (N_2O) a la atmósfera (Wrage et al., 2001). Por el contrario, la desnitrificación es un proceso anaeróbico en el que el carbono orgánico se utiliza como fuente de energía y el NO_3^- como oxidante, reduciéndose a los compuestos gaseosos nitrogenados finales, N_2O y N_2 , que son liberados a la atmósfera.

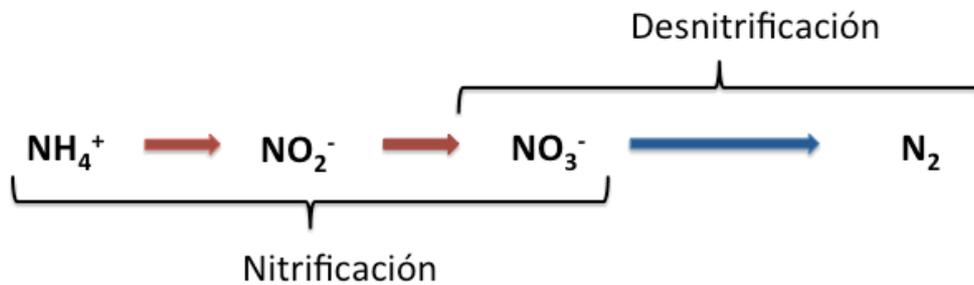


Figura 13: Esquema simplificado del proceso de nitrificación y desnitrificación.

5.2. ABSORCIÓN DEL NITRÓGENO

El nitrógeno, junto a otros elementos como el potasio y el fósforo, es el más importante en la nutrición de las plantas. Se podría decir que el N, después de la disponibilidad de agua, es el principal factor que controla el crecimiento de las plantas, su desarrollo y productividad (Yuan et al., 2015). Éstas lo absorben por sus raíces desde el suelo y lo incorporan a compuestos orgánicos (más del 90 % se encuentran formando parte de las proteínas) que son esenciales para el crecimiento y desarrollo.

Las plantas absorben y asimilan el N preferentemente en las formas iónicas de NO_3^- y NH_4^+ , en el caso de plantas no fijadoras de N, o como N_2 en el caso de las que forman nódulos radiculares (Lea y Azevedo, 2006). La preferencia por una u otra forma dependerá de la especie y de otros factores ambientales, como la temperatura y la humedad (Calatayud et al., 2008; De Souza Miranda et al., 2016). No obstante, el crecimiento óptimo se obtiene habitualmente cuando ambas formas, NO_3^- y NH_4^+ , están presentes en la solución nutritiva (Hachiya et al., 2012), aunque la proporción óptima de $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ dependerá también de la especie, la edad de la planta y del pH del medio (Kant et al., 2007; Zhu et al., 2014).

Sin embargo, la aplicación de NH_4^+ como única fuente de N es perjudicial para las plantas (Dejoux et al., 2000; Britto y Kronzucker, 2006). Existe una relación directa entre la absorción de NH_4^+ y la reducción del crecimiento de la planta, ya que H^+ son liberados al ser asimilado este ión. Estos H^+ son excretados al incrementarse la actividad de la H^+ -ATPasa de la membrana plasmática, generando la acidificación de la rizosfera, lo que inhibe la absorción de otros cationes (M'rah et al., 2010). Otra razón que puede provocar una reducción del crecimiento de las plantas por aportar como única fuente el NH_4^+ , es la ausencia de NO_3^- , el cual es un ión esencial en el metabolismo de las plantas.

Ambos iones tienen rutas metabólicas comunes, por lo que no es extraño que tengas características parecidas: 1) ambos iones son absorbidos por las células de las raíces aunque se encuentren a bajas concentraciones en el suelo; 2) se absorben mediante sistemas de transporte de alta y baja afinidad (HATS y LATS, respectivamente); 3) el influjo de ambos iones es responsable del estado nitrogenado de la planta; 4) el influjo está regulado por cambios diurnos y los genes que codifican las proteínas transportadoras de NH_4^+ y

NO_3^- se regulan de una forma similar. A pesar de estas similitudes, también existen diferencias en la absorción de ambos iones, así como en su uso por la planta (Glass et al., 2002).

5.2.1. Absorción de nitrato

La absorción de NO_3^- del medio por las plantas disminuye a bajas temperaturas, en la anaerobiosis, y en presencia de inhibidores metabólicos, lo que demuestra que es un transporte activo. Este transporte se realiza a través del plasmalema y es facilitado por una permeasa o proteína transportadora. El NO_3^- al igual que el NH_4^+ presenta dos tipos de sistemas de transporte, el de alta afinidad y el de baja afinidad (Bittsánszky et al., 2015).

Los sistemas de transporte de alta afinidad absorben N inorgánico cuando éste se encuentra en concentraciones de 1 μM y 1 mM, por encima de esta concentración el sistema se satura. Mientras que los sistemas de transporte de baja afinidad solo se expresan cuando las concentraciones superan los 0.5 mM (Kox y Jetten, 2015). Éste se distingue del anterior en que su cinética de transporte es lineal, y menos sensible a la temperatura y a los inhibidores metabólicos, lo cual sugiere que está constituido por canales iónicos.

El NO_3^- induce la síntesis de su propia proteína transportadora. Además, el transporte se encuentra regulado negativamente por la presencia de NH_4^+ o de otras formas reducidas de N, como la glutamina. De igual forma, una elevada concentración interna de NO_3^- ejerce un control negativo sobre su propia absorción.

Una vez absorbido, el ión NO_3^- puede ser reducido y asimilado en la propia raíz o ser transportado a la parte aérea de las plantas para ser asimilado e incorporado a moléculas orgánicas. Para poder ser incorporado a moléculas orgánicas, este ión tiene que ser previamente reducido a NH_4^+ . En esta reducción intervienen dos enzimas, la nitrato reductasa (NR) que reduce el NO_3^- en NO_2^- con un coste de 2 electrones, y la nitrito reductasa (NiR) que reduce el NO_2^- a NH_4^+ gastando 6 electrones. Por tanto, la reducción de NO_3^- a NH_4^+ tiene un gasto para la planta de 8 electrones:

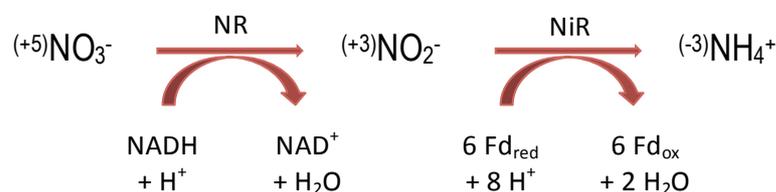


Figura 14: Esquema simplificado del proceso de reducción de nitrato a amonio.

5.2.2. Absorción de amonio

El NH_4^+ es una fuente de N importante cuyo estado de oxidación no requiere su reducción en las células vegetales (Salsac et al., 1987) y es un intermediario de muchas reacciones metabólicas y procesos fundamentales de las plantas, como la reducción de NO_3^- , fotorrespiración, metabolismo de fenilpropanoides, degradación de amidas de transporte y catabolismo de proteínas (Bittsánszky et al., 2015).

Como se ha indicado anteriormente, al igual que el NO_3^- la entrada del NH_4^+ en la planta es multifásica. Se han observado al menos dos componentes cinéticamente diferentes para la absorción de NH_4^+ , uno de baja afinidad no saturable y otro de alta afinidad saturable (Wang et al., 1993; Yuan et al., 2007).

Su concentración en los tejidos vegetales suele mantenerse baja (Howitt y Udvardi, 2000), ya que se han apreciado síntomas de toxicidad en algunas, pero no todas, las plantas que se cultivan con NH_4^+ como única fuente de N (Britto y Kronzucker, 2002). Para eliminar la toxicidad por NH_4^+ las plantas convierten rápidamente el NH_4^+ que contienen por su absorción, o generado por la asimilación de NO_3^- o por fotorrespiración, en aminoácidos.

No obstante, el ión NH_4^+ es esencial para las plantas, ya que es necesario para mantener homeostáticamente el pH celular y el balance anión/catión durante la absorción mineral (Marschner, 1995). Además, algunas plantas prefieren absorber NH_4^+ en lugar de NO_3^- cuando ambos se encuentran presentes en el medio (Gazzarrini et al., 1999). Muchos genes implicados en la asimilación de NO_3^- y de otras formas de N están reprimidos en

presencia de NH_4^+ , lo que favorece la absorción de éste frente a la del NO_3^- (Glass, 2002). Esta preferencia se puede deber a los requerimientos energéticos para la asimilación de NO_3^- . Así, cuando el N es asimilado por las raíces, el NH_4^+ ahorraría cerca del 8-12 % de los costes globales de crecimiento con respecto al NO_3^- .

6. PROBLEMÁTICAS DE LA CUENCA MEDITERRÁNEA

6.1. CONTAMINACIÓN POR NITRATOS

La contaminación difusa de las aguas, la cual se debe a la aplicación de nutrientes nitrogenados, se ha convertido en un grave problema en algunas zonas. La aplicación excesiva de fertilizantes nitrogenados, y su posterior arrastre por las aguas de lluvia o riego, están provocando concentraciones elevadas de nitratos en las aguas superficiales y subterráneas (del Amor et al., 2009). La contaminación por nitratos, es uno de los principales responsables de la contaminación de acuíferos y corrientes superficiales de alto impacto ambiental, derivado de actividades agropecuarias, ya que el ión NO_3^- presenta una gran movilidad en el medio (De Wit et al., 2000; Groeneveld et al., 2001).

La gran preocupación existente por este grave problema, ha promovido la creación de leyes tanto a nivel europeo, nacional como autonómico. A nivel europeo se creó la Directiva 91/676/CEE del Consejo de 12 de diciembre de 1991, que tiene por objetivo reducir la contaminación por nitratos de las aguas, ya que se considera que la aplicación de fertilizantes nitrogenados es la responsable de la contaminación difusa de las aguas subterráneas de la U.E. Uno de los objetivos de esta directiva es reducir la contaminación de las aguas provocada o inducida por los nitratos procedentes de fuentes agrarias, así como prevenir en mayor medida dicha contaminación para proteger la salud humana, los recursos vivos y los ecosistemas acuáticos, además de salvaguardar otros usos legítimos de las aguas.

Mediante el Real Decreto 261/1996, del 16 de febrero, sobre la protección de las aguas, contra la contaminación producida por los nitratos procedentes de fuentes agrarias, se incorpora al ordenamiento español la Directiva 91/676/CEE. Este Real Decreto

establece las medidas necesarias para prevenir y corregir la contaminación de las aguas, continentales y litorales, causadas por los nitratos de origen agrario.

Y por último, a nivel autonómico, en la Región de Murcia de acuerdo con el Real Decreto citado, se designaron zonas vulnerables a la contaminación por nitratos de origen agrario mediante la elaboración de Órdenes (Orden de 20 de diciembre de 2001; Orden 22 de diciembre de 2003 y Orden de 26 de junio de 2009), las cuales han sido recientemente modificadas por la Orden de 16 de junio de 2016. Además, fueron aprobados programas de actuación de las zonas vulnerables.

El programa medioambiental de las Naciones Unidas, emitió en 2002 un informe en el que señalaba de nuevo los riesgos que está teniendo la acción humana en el ciclo del N. Con respecto a la intensificación agrícola y al uso excesivo de fertilizantes nitrogenados, advierte que la agricultura intensiva en muchos casos puede provocar la eutrofización de los hábitat de agua dulce, poniendo en peligro la conservación de su fauna y flora silvestre (Orús, 2006). De los sitios lacustres de Europa contemplados en el Convenio Ramsar, cerca del 46 % de los sitios han sufrido disminución de la calidad del agua, en gran parte como resultado de la eutrofización. En las zonas costeras como el Golfo de Méjico, el Mar del Norte, el Mar Báltico, el Mar Mediterráneo o el Mar Negro se está haciendo cada vez más evidente que el crecimiento de algas, la aparición de mareas rojas o las condiciones de anoxia son debidos a los altos aportes de N.

Actualmente, en la Región de Murcia dichos efectos se están haciendo cada vez más visibles en la laguna del Mar Menor, la cual además se encuentra incluida en el convenio Ramsar. El Campo de Cartagena y el entorno del Mar Menor presentan una conflictiva relación. El Campo de Cartagena constituye una gran llanura de unos 1.200 km² drenada por un conjunto de ramblas que desembocan en la laguna litoral del Mar Menor, de gran singularidad ecológica y turística. En esta zona se ha ido desarrollando progresivamente una agricultura de regadío basada en el aprovechamiento de los recursos subterráneos y agua del transvase Tajo-Segura. Los aportes de fertilizantes nitrogenados han ido llegando a través de estas ramblas y aguas subterráneas al Mar Menor, provocando un incremento de la concentración de nitratos y por consiguiente, una proliferación del crecimiento de algas microscópicas. Éstas posteriormente han ido muriendo y cayendo al fondo, donde se van acumulando y sufren un proceso de descomposición que consume el oxígeno presente en

el agua. Este proceso no solo tiene unas graves consecuencias ecológicas, sino también económicas, ya que es una zona de gran importancia turística a nivel regional y nacional.

Todos estos problemas medioambientales, han forzado a la comunidad científica a estudiar la forma de incrementar la eficiencia en el uso de los fertilizantes nitrogenados, y decrecer así su potencial contaminante en el medio ambiente, todo ello sin mermar la producción y calidad de los productos (del Amor et al., 2009). Las grandes pérdidas que se producen por lixiviación de N, sugiere que las prácticas de fertilización utilizadas actualmente pueden ser mejoradas, así como el método de aplicación (del Amor et al., 2009; del Amor et al., 2013; Gómez-López y del Amor, 2013).

Las formas de N aplicadas (NO_3^- , NH_4^+ o Urea) pueden afectar de forma considerable al crecimiento de las plantas (Fernández-Crespo et al., 2012). Generalmente, las plantas muestran preferencia por el ión NO_3^- más que por el ión NH_4^+ , y otras crecen mejor con una combinación de ambos (Zhou et al., 2011). Sin embargo, cada especie tiene una proporción $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ óptima, la cual depende del estado de desarrollo en el que esté la planta y de las condiciones medioambientales. Por otro lado, entre los posibles métodos para aplicar N, podemos encontrar el uso de urea foliar, la cual se caracteriza por tener una alta tasa de penetración foliar y un bajo coste (del Amor y Cuadra-Crespo, 2011).

6.2. UTILIZACIÓN DE AGUAS DE BAJA CALIDAD: SALINIDAD

En muchas regiones de la cuenca mediterránea, la salinidad es uno de los estreses abióticos más importantes. En las zonas áridas y semiáridas donde la actividad agrícola depende del riego, la necesidad de utilizar agua de poca calidad (salina) está limitando considerablemente la producción agrícola (Chatrath et al., 2000; del Amor et al., 2001; Penella et al., 2013).

La salinidad puede tener consecuencias desastrosas causando efectos dañinos de forma directa e indirecta. Inhibe la germinación de las semillas, induce disfunciones fisiológicas y limita el desarrollo agrícola (García-Sánchez et al., 2010; Penella et al., 2015). Además, transforma suelos fértiles y productivos en suelos estériles, provocando la pérdida de hábitat y biodiversidad (Ghassemi et al., 1995). En muchas ocasiones la salinidad del

suelo se debe a actividades antropogénicas, como son el uso indiscriminado de fertilizantes químicos y la sobreexplotación de acuíferos. La sobreexplotación de los acuíferos próximos a la costa, provoca la inclusión de aguas marinas y causa la salinización de las aguas subterráneas, lo cual es un problema creciente en las zonas costeras europeas. La agricultura juega un papel primordial en la extracción de agua y su consumo, sobre todo en zonas costeras del Mediterráneo donde la horticultura intensiva de regadío está ampliamente extendida.

Los impactos de la salinidad para los agricultores pueden ser muy graves, tanto en términos económicos como sociales. Además, los pronósticos actuales de cambio climático, con el aumento de las temperaturas y la considerable subida del nivel del mar, podría aumentar la salinidad y provocar la extensión de las áreas afectadas.

La alta concentración de sales afecta tanto a la fisiología de las plantas como a su metabolismo, ocasionando un desequilibrio iónico y un estrés osmótico (Penella et al., 2016). Las sales presentes en los suelos reducen el potencial hídrico de éstos, y por tanto, inducen un estrés hídrico en las plantas. Esto es conocido como el componente osmótico de la salinidad. Por otro lado, el componente iónico se debe a la acumulación de ciertos iones tóxicos (Adem et al., 2014). La salinidad a su vez provoca una reducción del crecimiento de la planta y la expansión foliar (Beltrano et al., 2013), induce desequilibrio hormonal (Prakash y Prathapasanen, 1990), alteración del metabolismo de proteínas (Dantas et al., 2005), desestabilización de la membrana (Hasegawa et al., 2000), daño irreversible en las células y tejidos de las plantas (Pérez-López et al., 2013), y la pérdida de control en la captación de nutrientes (Munns, 1993). Estos efectos son también considerados causa del componente osmótico y la toxicidad iónica generada por la sal (Egamberdieva y Lugtenberg, 2014).

La alta concentración de Na^+ en los suelos salinos reduce la captación de Ca^{2+} y K^+ , provocando una reducción de la conductancia estomática, lo cual resulta en una menor concentración de CO_2 y, consecuentemente, menores valores de la tasa fotosintética (del Amor y Cuadra-Crespo, 2011; del Amor, 2013). Sin embargo, la alta concentración de Cl^- causa degradación de las clorofilas y reduce el rendimiento cuántico real del transporte de electrones del PSII (Ranjbar-Fordoei y Dehghani-Bidgoli, 2016).

Las plantas de pimiento son normalmente clasificadas como sensibles o moderadamente sensibles al estrés salino (del Amor y Cuadra-Crespo, 2012; Rameshwaran et al., 2016). Por lo que la salinidad provoca una reducción de la producción comercial de pimiento (Navarro et al., 2010; Serrano-Martínez et al., 2014).

6.3. CONTAMINACIÓN POR BORO

Para las plantas el boro (B) es un microelemento esencial, sin embargo, en exceso puede ser fitotóxico y limitar la productividad de los cultivos (Gimeno et al., 2012). La concentración máxima en el agua de riego que toleran las plantas más sensibles, es de 0.3 mg L^{-1} . La exposición de las plantas a altas concentraciones puede causar reducción del área foliar, parches cloróticos y/o necróticos en las hojas maduras, retraso en el desarrollo, e inhibición del crecimiento, así como reducción en la producción de frutos (Nali et al., 2015). En definitiva, se traduce en una disminución del rendimiento de los cultivos, como consecuencia de alteraciones a nivel fisiológico y metabólico. Un ejemplo, es la reducción que está teniendo lugar en la producción de los cítricos españoles, los cuales se encuentran aproximadamente el 80 % localizados en el sureste español (García-Sánchez et al., 2000; Syvertsen y García-Sánchez, 2014). Es conocido que los cítricos son muy sensibles a un exceso de B (Gimeno et al., 2012).

La captación del B tiene lugar a través de las raíces de las plantas, principalmente, en forma de ácido bórico. Debido a que el ácido bórico es muy permeable a través de la bicapa lipídica de las raíces, inicialmente se pensaba que el único mecanismo de absorción era por difusión pasiva. Sin embargo, estudios recientes han puesto de manifiesto que también utiliza canales y transportadores para su paso a través de la raíz (Takano et al., 2008).

La disponibilidad del B en los suelos va a depender de varios factores como son la textura, el pH, la temperatura, el contenido de materia orgánica, cationes y aniones presentes en el suelo. De todos estos factores el más importante es el pH, provocando una reducción en la disponibilidad de B cuando el pH se incrementa (Sarkar et al., 2015), ya que se produce la conversión de ácido bórico en anión borato, el cual es más fuertemente retenido por el suelo.

En algunas regiones el B presenta elevadas concentraciones de forma natural. Sin embargo, en otras aparece como consecuencia de actividades antropogénicas, tales como la industria (fábricas de vidrio, industria de curtido de cuero, cosméticos, etc), aguas residuales urbanas y la desalinización de aguas.

En zonas áridas y semiáridas, como es el caso de la Región de Murcia, la escasez de agua hace necesario recurrir a aguas de baja calidad como son las aguas desalinizadas, y las procedentes del uso industrial y doméstico. Aunque los tratamientos de las aguas residuales pueden eliminar algunos contaminantes y materia orgánica, a menudo la concentración de B permanece alta en estas aguas. En el caso de las aguas desalinizadas, la concentración de B normalmente alcanza los 2 mg l^{-1} , la cual podría ser tóxica para los cultivos (Yermiyahu et al., 2008). La razón de que el nivel de B sea tan elevado se debe a que la concentración media de B de los océanos, es de 4.75 mg l^{-1} y es incluso mayor, 9.57 mg l^{-1} , en el Mar Mediterráneo (Argust, 1998).

REFERENCIAS

- Adem, G.D., Roy, S.J., Zhou, M., Bowman, J.P., Shabala, S. (2014). Evaluating contribution of ionic, osmotic and oxidative stress components towards salinity tolerance in barley. *BMC plant biology*, 14(1), 1.
- Ainsworth, E.A., Rogers, A. (2007). The response of photosynthesis and stomatal conductance to rising [CO₂]: mechanisms and environmental interactions. *Plant, cell & environment*, 30(3), 258-270.
- Alonso, F.J., Sánchez-Guerrero, M.C., Lorenzo, P., Medrano, E. (2010). Hacia una aplicación más eficaz del enriquecimiento carbónico en cultivos hortícolas. *Vida Rural*, 309, 38-41.
- Aranjuelo, I., Pérez, P., Hernández, L., Irigoyen, J.J., Zita, G., Martínez-Carrasco, R., Sánchez-Díaz, M. (2005). The response of nodulated alfalfa to water supply, temperature and elevated CO₂: photosynthetic downregulation. *Physiologia Plantarum*, 123(3), 348-358.
- Argust, P. (1998). Distribution of boron in the environment. *Biological Trace Element Research*, 66, 131-143.
- Arimboor, R., Natarajan, R.B., Menon, K.R., Chandrasekhar, L.P., Moorkoth, V. (2015). Red pepper (*Capsicum annuum*) carotenoids as a source of natural food colors: analysis and stability—a review. *Journal of food science & technology*, 52(3), 1258-1271.
- Azcón-Bieto J, Talón M. (2003). Fundamentos de fisiología vegetal. (1 ed.). Editorial McGraw Hill Interamericana, Madrid, España, pp.: 198.
- Azcoytia, C. (2009). Historia del pimiento, guindilla, chili, axí o ají. Recuperado el 24 de Octubre de 2013, de Historia de la cocina y la gastronomía: <http://www.historiacocina.com/historia/articulos/pimiento.htm>

- Beltrano, J., Ruscitti, M., Arango, M.C., Ronco, M. (2013). Effects of arbuscular mycorrhiza inoculation on plant growth, biological and physiological parameters and mineral nutrition in pepper grown under different salinity and p levels. *Journal of soil science & plant nutrition*, 13(1), 123-141.
- Bernacchi, C.J., Bagley, J.E., Serbin, S.P., Ruiz-Vera, U.M., Rosenthal, D.M., VanLoocke, A. (2013). Modelling C3 photosynthesis from the chloroplast to the ecosystem. *Plant, cell & environment*, 36(9), 1641-1657.
- Bittsánszky, A., Pilinszky, K., Gyulai, G., Komives, T. (2015). Overcoming ammonium toxicity. *Plant Science*, 231, 184-190.
- Britto, D.T., Kronzucker, H.J. (2002). NH_4^+ toxicity in higher plants: a critical review. *Journal of Plant Physiology*, 159(6), 567-584.
- Britto, D.T., Kronzucker, H.J. (2006). Futile cycling at the plasma membrane: a hallmark of low-affinity nutrient transport. *Trends in plant science*, 11(11), 529-534.
- Bolas, B.D., Henderson, F.Y. (1928). The effect of increased atmospheric carbon dioxide on the growth of plants. *Annals of Botany*, 42, 509-523.
- Bosland, P.W., Votava, E.J., Votava, E.M. (2012). Peppers: vegetable and spice capsicums (Vol. 22). Editorial *CABI Publishing*, Texas, USA, pp.: 7-8.
- Calatayud, Á., Gorbe, E., Roca, D., Martínez, P.F. (2008). Effect of two nutrient solution temperatures on nitrate uptake, nitrate reductase activity, NH_4^+ concentration and chlorophyll *a* fluorescence in rose plants. *Environmental & Experimental Botany*, 64(1), 65-74.
- Cánovas, F. (1997). Los sustratos y su manejo práctico. La disolución de fertirrigación. Manual de cultivo sin suelo. Universidad de Almería, pp.: 166-189.

- Chatrath, A., Mandal, P.K., Anuradha, M. (2000). Effect of secondary salinization on photosynthesis in fodder oat (*Avena sativa* L.) genotypes. *Journal of Agronomy & Crop Science*, 184(1), 13-16.
- Consejería de Agua, Agricultura y Medio Ambiente Región de Murcia, 2016. <http://www.carm.es>
- Costa, J.C., Gil, R. (2001). La horticultura española. *Sociedad Española de Ciencias Hortícolas* (SECH), pp.: 208-211.
- Dantas, B.F., Sa Ribeiro, L., Aragao, C.A. (2005). Physiological response of cowpea seeds to salinity stress. *Revista Brasileira Sementes*, 27(1), 144–148.
- Davey, M.W., Van Montagu, M., Inzé, D., Sanmartín, M., Kanellis, A., Smirnoff, N., Benzie, I.J.J., Favell, D., Fletcher, J. (2000). Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *Journal Science Food Agriculture*, 80, 825-860.
- del Amor, F.M. (2013). Variation in the leaf $\delta^{13}C$ is correlated with salinity tolerance under elevated CO_2 concentration. *Journal of plant physiology*, 170(3), 283-290.
- del Amor, F.M., Cuadra-Crespo, P. (2011). Alleviation of salinity stress in broccoli using foliar urea or methyl-jasmonate: analysis of growth, gas exchange, and isotope composition. *Plant Growth Regulation*, 63(1), 55-62.
- del Amor, F.M., Cuadra-Crespo, P. (2012). Plant growth-promoting bacteria as a tool to improve salinity tolerance in sweet pepper. *Functional Plant Biology*, 39, 82–90
- del Amor, F.M., Cuadra-Crespo, P., Varó, P., Gómez, M.C. (2009). Influence of foliar urea on the antioxidant response and fruit color of sweet pepper under limited N supply. *Journal of the Science of Food & Agriculture*, 89(3), 504-510.

- del Amor, F.M., Cuadra-Crespo, P., Walker, D.J., Cámara, J.M., Madrid, R. (2010). Effect of foliar application of antitranspirant on photosynthesis and water relations of pepper plants under different levels of CO₂ and water stress. *Journal of plant physiology*, 167(15), 1232-1238.
- del Amor, F.M., Martínez, V., Cerdá, A. (2001). Salt tolerance of tomato plants as affected by stage of plant development. *HortScience*, 36(7), 1260-1263.
- del Amor, F.M., Serrano-Martínez, A., Fortea, M.I., Gómez-López, M.D., Núñez-Delicado, E. (2013). Yield and fruit quality response of sweet pepper genotypes grown under soilless cultivation. *Journal of plant nutrition*, 36(8), 1247-1257.
- Dejoux, J.F., Recous, S., Meynard, J.M., Trinsoutrot, I., Leterme, P. (2000). The fate of nitrogen from winter-frozen rapeseed leaves: mineralization, fluxes to the environment and uptake by rapeseed crop in spring. *Plant & Soil*, 218(1), 257-272.
- De Saussure, T. (1890). *Chemische Untersuchungen über die Vegetation* (trans.A. Wieler). Leipzig: Engelmann.
- de Souza Miranda, R., Gomes-Filho, E., Prisco, J.T., Álvarez-Pizarro, J.C. (2016). Ammonium improves tolerance to salinity stress in *Sorghum bicolor* plants. *Plant growth regulation*, 78(1), 121-131.
- De Wit, M., Meinardi, C., Wendland, F., Kunkel, R. (2000). Modelling water fluxes for the analysis of diffuse pollution at the river basin scale. *Hydrological processes*, 14, 1707-1723.
- Drake, B.G., González-Meler, M.A., Long, S.P. (1997). More efficient plants: A consequence of rising atmospheric CO₂? *Annual Review of Plant Physiology & Plant Molecular Biology* 48, 609-639.
- Easterling, D.R., Meehl, G.A., Parmesan, C., Changnon, S.A., Karl, T.R., Mearns, L.O. (2000). Climate extremes: observations, modeling, and impacts. *Science*, 289(5487), 2068-2074.

- Egamberdieva, D., Lugtenberg, B. (2014). Use of plant growth-promoting rhizobacteria to alleviate salinity stress in plants. In *Use of Microbes for the Alleviation of Soil Stresses, Volume 1*, Springer New York, pp.: 73-96.
- Fernández-Crespo, E., Camañes, G., García-Agustín, P. (2012). Ammonium enhances resistance to salinity stress in citrus plants. *Journal of plant physiology*, 169(12), 1183-1191.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2012). FAOSTAT (FAO, Rome). <http://www.fao.org/faostat/>
- García-Sánchez, F., Carvajal, M., Sánchez-Pina, M.A., Martínez, V., Cerdá, A. (2000). Salinity resistance of *Citrus* seedlings in relation to hydraulic conductance, plasma membrane ATPase and anatomy of the roots. *Journal of plant physiology*, 156(5-6), 724-730.
- García-Sánchez, F., Rubio, F., Martínez V. (2010). Abiotic stresses: salinity y drought. In: *Agricultural Sciences: Topics in modern Agriculture*. Studium Press, USA.
- Gao, S., Xu, P., Zhou, F., Yang, H., Zheng, C., Cao, W., Tao, S., Piao, S., Zhao, Y., Ji, X., Shang, Z., Chen, M. (2016). Quantifying nitrogen leaching response to fertilizer additions in China's cropland. *Environmental Pollution*, 211, 241-251.
- Gazzarrini, S., Lejay, L., Gojon, A., Ninnemann, O., Frommer, W. B., von Wirén, N. (1999). Three functional transporters for constitutive, diurnally regulated, and starvation-induced uptake of ammonium into *Arabidopsis* roots. *The Plant Cell*, 11(5), 937-947.
- Ghassemi, F., Jakeman, A.J., Nix, H.A. (1995). Salinisation of land and water resources: Human causes, extent, management and case studies. Editorial *CAB International*, Australia, pp.: 562.
- Gimeno, V., Simón, I., Nieves, M., Martínez, V., Cámara-Zapata, J.M., García, A.L., García-Sánchez, F. (2012). The physiological and nutritional responses to an excess of

- boron by Verna lemon trees that were grafted on four contrasting rootstocks. *Trees*, 26(5), 1513-1526.
- Glass, A.D., Britto, D.T., Kaiser, B.N., Kinghorn, J.R., Kronzucker, H.J., Kumar, A., Okamoto, M., Rawat, S., Siddiqi, M.Y., Unkles, S.E., Vidmar, J.J. (2002). The regulation of nitrate and ammonium transport systems in plants. *Journal of Experimental Botany*, 53(370), 855-864.
- Gómez-López, M.D., del Amor, F.M. (2013). Sustainable nitrogen fertilisation in sweet pepper: assessing growth and fruit quality and the potential nitrate pollution from different organic manures. *Journal of the Science of Food & Agriculture*, 93(5), 1062-1069.
- González Murua, C., González Moro, M.B., Estavillo, J.M. (2004). Nitrógeno, agricultura y medio ambiente. En: *La ecofisiología vegetal, una ciencia de síntesis*. Editorial Thompson Paraninfo, Madrid, pp.: 49-58.
- Groeneveld, R., Bouwman, L., Kruitwagen, S., van Ierland, E. (2001). Land cover changes as a result of environmental restrictions on nitrate leaching in dairy farming. *Environmental Modeling & Assessment*, 6(2), 101-109.
- Hachiya, T., Watanabe, C.K., Fujimoto, M., Ishikawa, T., Takahara, K., Kawai-Yamada, M., Uchimiya, H., Uesono, Y., Terashima, I., Noguchi, K. (2012). Nitrate addition alleviates ammonium toxicity without lessening ammonium accumulation, organic acid depletion and inorganic cation depletion in *Arabidopsis thaliana* shoots. *Plant and Cell Physiology*, 53(3), 577-591.
- Hasegawa, P.M., Bressan, R.A., Zhu, J.K., Bohnert, H.J. (2000). Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual review of plant biology*, 51(1), 463-499.
- Howard, L.R, Talcott, S.T., Brenes, C.H., Villalon, B. (2000). Changes in phytochemical and antioxidant activity of selected pepper cultivars (*Capsicum* Species) as influenced by maturity. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 48, 1713-1720.

- Howitt, S.M., Udvardi, M.K. (2000). Structure, function and regulation of ammonium transporters in plants. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1465(1), 152-170.
- Intergovernmental Panel on Climate Change. (2014). Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on climate change. Editorial *Core Writing Team, R.K., Pachauri, L.A., Meyer*. IPCC, Geneva, Switzerland, pp.: 151.
- Jiménez, M. (1992). Desde América a Europa con escala en Canarias. Pimientos I Parte. *Horticultura*, 83, 22-28.
- Kant, S., Kant, P., Lips, H., Barak, S. (2007). Partial substitution of NO_3^- by NH_4^+ fertilization increases ammonium assimilating enzyme activities and reduces the deleterious effects of salinity on the growth of barley. *Journal of plant physiology*, 164(3), 303-311.
- Kox, M.A., Jetten, M.S. (2015). The nitrogen cycle. In *Principles of Plant-Microbe Interactions*. Editorial *Springer International Publishing*, pp.: 205-214.
- Lea, P. J., Azevedo, R.A. (2006). Nitrogen use efficiency. 1. Uptake of nitrogen from the soil. *Annals of Applied Biology*, 149(3), 243-247.
- Long, S.P., Ainsworth, E.A., Rogers, A., Ort, D.R. (2004). Rising atmospheric carbon dioxide: plants FACE the future. *Annual Review of Plant Biology*, 55, 591-628.
- Long, S.P., Bernacchi, C.J. (2003). Gas exchange measurements, what can they tell us about the underlying limitations to photosynthesis? Procedures and sources of error. *Journal of Experimental Botany*, 54(392), 2393-2401.
- MAGRAMA (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente) (2014). Avance Anuario Estadística.
<http://www.magrama.gob.es/es/estadistica/temas/publicaciones/anuario-de-estadistica/#para1>

- Marschner, H. (1995). Functions of Mineral Nutrients-8: Macronutrients.
- M'rah, S., Nebli, H., Kaddour, R., Mahmoudi, H., Lachaâl, M., Ouerghi, Z. (2010). Influence of nitrate-ammonium ratio on growth and nutrition of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Soil*, 336, 65-74.
- Milla, A. (1996). *Capsium* de capsia, cápsula: el pimiento. En: *Compendios de Horticultura*. Reus, España, pp.: 21-31.
- Munns, R. (1993). Physiological processes limiting plant growth in saline soils: some dogmas and hypotheses. *Plant, Cell & Environment*, 16(1), 15-24.
- Nakano, Y., Sasaki, H., Nakano, A., Suzuki, K., Takaichi, M. (2010). Growth and yield of tomato plants as influenced by nutrient application rates with quantitative control in closed rockwool cultivation. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 79(1), 47-55.
- Nali, C., Francini, A., Pellegrini, E., Loppi, S., Lorenzini, G. (2015). Visible injury, CO₂ assimilation and PSII photochemistry of *Eucalyptus* plants in response to boron stress. In: *Plants, Pollutants and Remediation*. Editorial Springer, Netherlands, pp.: 1-11.
- National Oceanic and Atmospheric Administration, (2016). <http://www.noaa.gov>
- Navarro, J.M., Garrido, C., Flores, P., Martínez, V. (2010). The effect of salinity on yield and fruit quality of pepper grown in perlite. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 8(1), 142-150.
- Nuez, F., Gil Ortega, R., Costa, J. (1996). El cultivo de pimientos, chiles y ajíes. Editorial *Mundi-Prensa*, 1, 11-123.
- Nuñez, P.G. (1988). La influencia del riego en el cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill), bajo el sistema de acolchado en condiciones de invernadero. Tesis de Licenciatura. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coah., Méjico, pp.: 71.

- O'leary, G.J., Christy, B., Nuttall, J., Huth, N., Cammarano, D., Stöckle, C., Basso, B., Shcherbak, I., Fitzgerald, G., Luo, Q., Farre-Codina, I., Palta, J., Asseng, S. (2015). Response of wheat growth, grain yield and water use to elevated CO₂ under a free-air CO₂ enrichment (FACE) experiment and modelling in a semi-arid environment. *Global change biology*, 21(7), 2670-2686.
- Orús, F., (2006). Introducción. En la fertilización nitrogenada. Guía de actualización. *Informaciones técnicas*. Zaragoza, España, pp.: 7-9.
- Pan, B., Lam, S.K., Mosier, A., Luo, Y., Chen, D. (2016). Ammonia volatilization from synthetic fertilizers and its mitigation strategies: A global synthesis. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 232, 283-289.
- Pérez-Jiménez, M., López-Pérez, A.J., Otálora-Alcón, G., Marín-Nicolás, D., Piñero, M.C., del Amor, F.M. (2015). A regime of high CO₂ concentration improves the acclimatization process and increases plant quality and survival. *Plant Cell, Tissue & Organ Culture*, 121(3), 547-557.
- Pérez-López, U., Miranda-Apodaca, J., Mena-Petite, A., Muñoz-Rueda, A. (2013). Barley growth and its underlying components are affected by elevated CO₂ and salt concentration. *Journal of plant growth regulation*, 32(4), 732-744.
- Prakash, L., Parthaprasenan, G. (1990) Interactive effect of NaCl salinity and gibberellic acid on shoot growth, content of abscisic acid and gibberellin like substances and yield of rice (*Oryza sativa*). *Plant Science*, 100, 173–181.
- Penella, C., Landi, M., Guidi, L., Nebauer, S.G., Pellegrini, E., San Bautista, A., Remorini, D., Nali, C., López-Galarza, S., Calatayud, A. (2016). Salt-tolerant rootstock increases yield of pepper under salinity through maintenance of photosynthetic performance and sinks strength. *Journal of plant physiology*, 193, 1-11.
- Penella, C., Nebauer, S.G., Galarza, S.V.L., Primo, A.S.B., Gorbe, E., Calatayud, A. (2013). Evaluation for salt stress tolerance of pepper genotypes to be used as rootstocks. In *Journal of Food Agriculture & Environment* (Vol. 11, No. 3, pp. 1101-1107). WFL.

- Penella, C., Nebauer, S.G., Quiñones, A., San Bautista, A., López-Galarza, S., Calatayud, A. (2015). Some rootstocks improve pepper tolerance to mild salinity through ionic regulation. *Plant science*, 230, 12-22.
- Pochard, E. (1966). Données expérimentales sur la selection du piment (*Capsicum annum* L.). *Ann Amélior Plantes*, 16(2), 185-197.
- Rameshwaran, P., Tepe, A., Yazar, A., Ragab, R. (2016). Effects of drip-irrigation regimes with saline water on pepper productivity and soil salinity under greenhouse conditions. *Scientia Horticulturae*, 199, 114-123.
- Ranjbar-Fordoei, A., Dehghani-Bidgoli, R. (2016). Impact of salinity stress on photochemical efficiency of photosystem II, chlorophyll content and nutrient elements of nitere bush (*Nitraria schoberi* L.) plants. *Journal of Rangeland Science*, 6(1), 1-9.
- Salazar-Parra, C., Aranjuelo, I., Pascual, I., Erice, G., Sanz-Sáez, Á., Aguirreolea, J., Sánchez-Díaz, M., Irigoyen, J.J., Araus, J.L., Morales, F. (2015). Carbon balance, partitioning and photosynthetic acclimation in fruit-bearing grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Tempranillo) grown under simulated climate change (elevated CO₂, elevated temperature and moderate drought) scenarios in temperature gradient greenhouses. *Journal of plant physiology*, 174, 97-109.
- Salsac, L., Chaillou, S., Morot-Gaudry, J.F., Lesaint, C., Jolivoie, E. (1987) Nitrate and ammonium nutrition in plants. *Plant Physiology Biochemistry*, 25, 805 –812.
- Sánchez del Castillo, F., González-Molina, L., Moreno-Pérez, E.D.C., Pineda-Pineda, J., Reyes-González, C.E. (2014). Dinámica nutrimental y rendimiento de pepino cultivado en hidroponía con y sin recirculación de la solución nutritiva. *Revista fitotecnica mexicana*, 37(3), 261-269.
- Sánchez-Guerrero, M.C., Lorenzo, P., Medrano, E., Baille, A., Castilla, N. (2009). Effects of EC-based irrigation scheduling and CO₂ enrichment on water use efficiency of a greenhouse cucumber crop. *Agricultural Water Management*, 96, 429-436.

- Sánchez-Guerrero, M.C., Lorenzo, P., Medrano, E., Castilla, N., Soriano, T., Baille, A. (2005). Effect of variable CO₂ enrichment on greenhouse production in mild winter climates. *Agricultural & forest meteorology*, 132(3), 244-252.
- Sarkar, D., Ghosh, S., Batabyal, K., Mandal, B., Chattopadhyay, A.P. (2015). Liming effects on extractable boron in six acidic soils. *Communications in Soil Science & Plant Analysis*, 46(10), 1320-1325.
- Serrano-Martínez, A., del Amor, F.M., Fortea, M.I., Lucas-Abellán, C., López-Miranda, S., Núñez-Delicado, E. (2014). Effect of plant age and saline water on antioxidant and peroxidase activity in sweet pepper fruit. *Journal of Agricultural Science*, 6(12), 139.
- Sharma, N., Sinha, P.G., Bhatnagar, A.K. (2014). Effect of elevated [CO₂] on cell structure and function in seed plants. *Climate Change & Environmental Sustainability*, 2(2), 69-104.
- Smith, N.G., Dukes, J.S. (2013). Plant respiration and photosynthesis in global-scale models: incorporating acclimation to temperature and CO₂. *Global Change Biology*, 19(1), 45-63.
- Solomon, S., Qin, D. (2007). Technical Summary. In 'Climate change 2007: the physical science basis. Contribution of working group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change'. Editorial *Miller*, pp.: 25.
- Somos, A. (1984). The paprika. Editorial *Akadémiai*, Kiado, Budapest. Hungary, pp.: 182-192.
- Syvertsen, J.P., Garcia-Sanchez, F. (2014). Multiple abiotic stresses occurring with salinity stress in citrus. *Environmental & Experimental Botany*, 103, 128-137.
- Tadesse, T., Hewett, E.W., Nichols, M.A., Fisher, K.J. (2002). Changes in physicochemical attributes of sweet pepper cv. Domino during fruit growth and development. *Science Horticulturae*, 93, 91-103.
- Taiz L, Zeiger E. (2002). Plant physiology. (3 ed.). Editorial *Sinauer Associates Inc.*, Sunderland, USA, pp.: 690.

- Takano, J., Miwa, K., Fujiwara, T. (2008). Boron transport mechanisms: collaboration of channels and transporters. *Trends in plant science*, 13(8), 451-457.
- Wang, S.Y., Bunce, J.A., Maas, J.L. (2003). Elevated carbon dioxide increases contents of antioxidant compounds in field-grown strawberries. *Journal Agricultural Food Chemistry*. 51, 4315-4320.
- Wang, M.Y., Siddiqi, M.Y., Ruth, T.J., Glass, A.D. (1993). Ammonium uptake by rice roots (II. Kinetics of $^{13}\text{NH}_4^+$ influx across the plasmalemma). *Plant physiology*, 103(4), 1259-1267.
- Wrage, N., Velthof, G.L., van Beusichem, M.L., Oenema, O. (2001). Role of nitrifier denitrification in the production of nitrous oxide. *Soil Biological Biochemistry*. 33, 1723-1732.
- Yermiyahu, U., Ben-Gal, A., Keren, R., Reid, R.J. (2008). Combined effect of salinity and excess boron on plant growth and yield. *Plant Soil*, 304, 73-87.
- Yuan, S., Li, Z., Li, D., Yuan, N., Hu, Q., Luo, H. (2015). Constitutive expression of rice MicroRNA528 alters plant development and enhances tolerance to salinity stress and nitrogen starvation in creeping bentgrass. *Plant physiology*, 169(1), 576-593.
- Yuan, L., Loqué, D., Kojima, S., Rauch, S., Ishiyama, K., Inoue, E., Takahashi, H., von Wirén, N. (2007). The organization of high-affinity ammonium uptake in *Arabidopsis* roots depends on the spatial arrangement and biochemical properties of AMT1-type transporters. *The Plant Cell*, 19(8), 2636-2652.
- Zhou, Y.H., Zhang, Y.L., Wang, X.M., Cui, J.X., Xia, X.J., Shi, K., Yu, J.Q. (2011). Effects of nitrogen form on growth, CO_2 assimilation, chlorophyll fluorescence, and photosynthetic electron allocation in cucumber and rice plants. *Journal Zhejiang University Science B*, 12, 126-134.
- Zhu, Z.B., Yu, M.M., Chen, Y.H., Guo, Q.S., Zhang, L.X., Shi, H.Z., Liu, L. (2014). Effects of ammonium to nitrate ratio on growth, nitrogen metabolism, photosynthetic

efficiency and bioactive phytochemical production of *Prunella vulgaris*. *Pharmaceutical biology*, 52(12), 1518-1525.

OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN

El cultivo de pimiento es uno de los productos hortícolas más importantes en España. Alrededor del 75 % de toda la producción nacional, se cultiva en la cuenca mediterránea, en concreto en Andalucía y Murcia, donde la mayoría del cultivo se realiza bajo invernadero.

Por otro lado, el incremento de la $[CO_2]$ a nivel global, está teniendo consecuencias en otros factores climáticos como son, entre otros, los cambios en la frecuencia e intensidad de los fenómenos meteorológicos. En concreto, en la cuenca mediterránea se prevé un incremento los periodos de sequía y las lluvias serán de tipo torrencial, lo que provocará la sobreexplotación de los acuíferos y con ello, la salinización de las aguas subterráneas. Si a esto le sumamos una relativa falta de optimización en el uso de fertilizantes por la agricultura, los problemas por salinidad en estas zonas serán cada vez de mayor importancia, provocando significativas pérdidas económicas. A su vez, la falta de agua de buena calidad para el riego hace necesario recurrir a las aguas desalinizadas o de usos urbanos, las cuales se ha observado que pueden presentar concentraciones de B que podrían ser tóxicas para muchos cultivos.

Sin embargo, este incremento de la $[CO_2]$ afecta positivamente sobre la tasa fotosintética, el crecimiento y desarrollo de las plantas. Por lo que el CO_2 elevado podría ser capaz de reducir el impacto que tiene un estrés moderado por sequía, salinidad y temperatura.

A pesar de que actualmente se realizan muchas investigaciones sobre el efecto del aumento de CO_2 atmosférico, resultan escasas aquellas que estudian su interacción con otros estreses presentes en la cuenca mediterránea. Por ello, la evaluación de las implicaciones tanto del cambio climático como del enriquecimiento de CO_2 en invernadero sobre la respuesta de las planta, requiere el reconocimiento de que las interacciones entre varios factores ambientales pueden causar efectos que no pueden predecirse en un análisis separado de los mismos, siendo recomendable su análisis conjunto.

Además, investigaciones previas han constatado que el incremento de CO₂ altera el balance entre asimilación de carbono y otros nutrientes, especialmente nitrógeno. Por ello, los investigadores señalan la importancia de la disponibilidad de N sobre las respuestas de las plantas a CO₂ elevado, y por tanto, la necesidad adicional en el estudio del efecto de diferentes fuentes nitrogenadas.

Por todo esto, el objetivo principal de esta tesis es:

Estudiar el efecto de una elevada [CO₂] sobre la producción de pimiento en el área mediterránea. Para lograrlo, evaluaremos la elevada [CO₂] en combinación con algunos de los posibles escenarios de climas futuros en la cuenca mediterránea, donde es previsible el agravamiento de los problemas asociados a la salinidad y el exceso de B en las aguas de riego.

Para ello establecemos los siguientes objetivos parciales:

1. Estudiar el efecto de la elevada [CO₂] en combinación con el uso de agua de mala calidad (salina) sobre los mecanismos fisiológicos de las plantas de pimiento. Para ello, se identificará el grado en el que la elevada [CO₂] modificará el crecimiento, la fotosíntesis, conductancia estomática, fluorescencia, clorofilas y contenido foliar de NO₃⁻ y Cl⁻, en plantas crecidas bajo un estrés salino. Así mismo, se determinará bajo estas mismas condiciones, la respuesta hormonal endógena (ABA, IAA, Z, tZR, cZR, DHZ, DHZR, iP e iPR) de las plantas de pimiento.
2. Evaluar la medida en la que la forma de N aportado (NO₃⁻ solo o combinado con NH₄⁺) puede modular la tolerancia a la salinidad bajo elevado CO₂.
3. Estudiar los efectos de las diferentes formas de N (NO₃⁻ solo o combinado con NH₄⁺) bajo elevada [CO₂], en la calidad y valor nutricional de los frutos de pimiento.
4. Investigar si la elevada [CO₂] y la aplicación adicional de Ca, pueden aumentar la tolerancia al B de las plantas de pimiento.

Con dichos conocimientos será posible desarrollar estrategias de manejo razonables para optimizar y disminuir las pérdidas debidas a los diferentes tipos de estrés abiótico.

Los experimentos realizados para alcanzar el objetivo principal de esta tesis tendrán lugar tanto en cámara climática, donde se estudiarán los efectos a nivel fisiológico de las plantas, como en invernadero, donde principalmente se evaluarán los efectos sobre la producción y calidad de los frutos.

CONCLUSIONES GENERALES

A la vista de los resultados obtenidos durante la realización de esta tesis, podemos concluir:

1. El estrés salino incrementó la concentración foliar de ABA, lo cual provocó una importante reducción de la conductancia estomática y la inhibición del crecimiento.
2. La elevada $[\text{CO}_2]$ provocó una reducción en la concentración de IAA en las raíces de las plantas control, lo cual coincidió con un mayor peso seco de la raíz y mayor respiración radicular.
3. A elevada $[\text{CO}_2]$ se observó una mayor concentración de CK en las raíces (especialmente tZR), lo cual podría prevenir la aclimatación fotosintética por elevado CO_2 , ya que la mayor concentración foliar de N presente en las plantas crecidas bajo estas condiciones, está relacionada en el papel de la CK en la absorción de nutrientes.
4. La elevada $[\text{CO}_2]$ provocó una reducción en la transpiración, unida a una reducción de la concentración de iones cloruro y sodio, siendo alterada por el aporte de NH_4^+ .
5. El aporte de NH_4^+ en la solución nutritiva no provocó cambios sustanciales en la actividad de la ascorbato peroxidasa, ni en la peroxidación lipídica, al igual que no alteró la osmolaridad ni el potencial hídrico de plantas crecidas bajo estrés salino.
6. La combinación de elevada $[\text{CO}_2]$ y NH_4^+ , provocó un incremento en la eficiencia del uso del agua, tanto bajo estrés salino como en condiciones control.
7. El estrés salino incrementó la concentración total de aminoácidos en hoja, mientras que el aporte de NH_4^+ la redujo. Sin embargo, la elevada $[\text{CO}_2]$ produce el efecto contrario en plantas con aporte de NH_4^+ bajo condiciones control y salinidad. Bajo

elevada [CO₂] y estrés salino, el NH₄⁺ reduce la concentración de aminoácidos mientras que bajo condiciones control lo incrementa.

8. La aplicación de NH₄⁺, de elevado CO₂, o la combinación de ambos, redujo la acumulación de licopenos en frutos y el valor de *a**, aunque esta reducción no era apreciable a simple vista. En general un elevado CO₂ redujo la concentración de minerales en los frutos. Si bien la aplicación de NH₄⁺ redujo la concentración de calcio bajo condiciones control, ésta fue restituida a un CO₂ elevado. A su vez, la combinación (NH₄⁺ y elevado CO₂) incrementó el nivel de fenoles totales y poliaminas en frutos.
9. La concentración de aminoácidos en los frutos fue incrementada por la combinación de elevada [CO₂] y NO₃⁻ como única fuente de N.
10. El exceso de B afectó más a las raíces que a la parte aérea, siendo el impacto menor cuando crecieron a [CO₂] elevada.
11. La interacción de B y elevada [CO₂] redujo la fotosíntesis e incrementó la peroxidación lipídica. Sin embargo, el aporte combinado de Ca y elevada [CO₂] redujo la peroxidación lipídica causada por el alto nivel de B.
12. El B afectó a la permeabilidad de la membrana de las raíces, causando un desequilibrio nutricional en las plantas, el cual fue reducido con el aporte adicional de Ca en la solución nutritiva.

PUBLICACIONES

CAPÍTULO I

María Carmen Piñero, Fabrice Houdusse, Jose M. García-Mina, María Garnica y Francisco M. del Amor. (2014) “Regulation of hormonal responses of sweet pepper as affected by salinity and elevated CO₂ concentration”. *Physiologia Plantarum* 151(4), 375-389.

DOI:10.1111/ppl.12119.

ABSTRACT

This study examines the extent to which the predicted CO₂-protective effects on the inhibition of growth, impairment of photosynthesis and nutrient imbalance caused by saline stress are mediated by an effective adaptation of the endogenous plant hormonal balance. Therefore, sweet pepper plants (*Capsicum annuum*, cv. Ciclón) were grown at ambient or elevated [CO₂] (400 or 800 μmol mol⁻¹) with a nutrient solution containing 0 or 80 mM NaCl. The results show that, under saline conditions, elevated [CO₂] increased plant dry weight, leaf area, leaf relative water content and net photosynthesis compared with ambient [CO₂], whilst the maximum potential quantum efficiency of photosystem II was not modified. In salt-stressed plants, elevated [CO₂] increased leaf NO₃⁻ concentration and reduced Cl⁻ concentration. Salinity stress induced ABA accumulation in the leaves but it was reduced in the roots at high [CO₂], being correlated with the stomatal response. Under nonstressed conditions, IAA was dramatically reduced in the roots when high [CO₂] was applied, which resulted in greater root DW and root respiration.

Additionally, the observed high CK concentration in the roots (especially tZR) could prevent downregulation of photosynthesis at high [CO₂], as the N level in the leaves was increased compared with the ambient [CO₂], under salt-stress conditions. These results demonstrate that the hormonal balance was altered by the [CO₂], which resulted in significant changes at the growth, gas exchange and nutritional levels.

URL: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ppl.12119/full>

CAPÍTULO II

María Carmen Piñero, Margarita Pérez-Jiménez, Josefa López-Marín y Francisco M. del Amor (2016). “Changes in the salinity tolerance of sweet pepper plants as affected by nitrogen form and high CO₂ concentration”. *Journal of Plant Physiology*, 200, 18-27.

DOI: 10.1016/j.jplph.2016.05.020

ABSTRACT

The assimilation and availability of nitrogen in its different forms can significantly affect the response of primary productivity under the current atmospheric alteration and soil degradation. An elevated CO₂ concentration (e[CO₂]) triggers changes in the efficiency and efficacy of photosynthetic processes, water use and product yield, the plant response to stress being altered with respect to ambient CO₂ conditions (a[CO₂]). Additionally, NH₄⁺ has been related to improved plant responses to stress, considering both energy efficiency in N-assimilation and the overcoming of the inhibition of photorespiration at e[CO₂]. Therefore, the aim of this work was to determine the response of sweet pepper plants (*Capsicum annuum* L.) receiving an additional supply of NH₄⁺ (90/10 NO₃⁻/NH₄⁺) to salinity stress (60 mM NaCl) under a[CO₂] (400 μmol mol⁻¹) or e[CO₂] (800 μmol mol⁻¹). Salt-stressed plants grown at e[CO₂] showed DW accumulation similar to that of the non-stressed plants at a[CO₂]. The supply of NH₄⁺ reduced growth at e[CO₂] when salinity was imposed. Moreover, NH₄⁺ differentially affected the stomatal conductance and water use efficiency and the leaf Cl⁻, K⁺, and Na⁺ concentrations, but the extent of the effects was influenced by the [CO₂]. An antioxidant-related response was prompted by salinity, the total phenolics and proline concentrations being reduced by NH₄⁺ at e[CO₂]. Our results show that the effect of NH₄⁺ on plant salinity tolerance should be globally re-evaluated as e[CO₂] can significantly alter the response, when compared with previous studies at a[CO₂].

URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0176161716300992>

CAPÍTULO III

María Carmen Piñero, Ginés Otálora, Manuel E. Porras, Marí Cruz Sánchez-Guerrero, Pilar Lorenzo, Evagelina Medrano y Francisco M. del Amor (2017). “The form in which nitrogen is supplied affects the polyamines, amino acids, and mineral composition of sweet pepper fruit under an elevated CO₂ concentration”. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*.

DOI:10.1021/acs.jafc.6b04118

ABSTRACT

We investigated the effect of supplying nitrogen, as NO₃⁻ or as NO₃⁻/NH₄⁺, on the composition of fruits of sweet pepper (*Capsicum annuum* L. cv. Melchor) plants grown with different CO₂ concentrations ([CO₂]): ambient or elevated (800 μmol mol⁻¹). The results show that the application of NH₄⁺ and high [CO₂] affected the chroma related to the concentrations of chlorophylls. The concentrations of Ca, Cu, Mg, P, and Zn were significantly reduced in the fruits of plants nourished with NH₄⁺, the loss of Fe being more dramatic at increased [CO₂], which was also the case with the protein concentration. The concentration of total phenolics was increased by NH₄⁺, being unaffected by [CO₂]. Globally, the NH₄⁺ was the main factor that affected fruit free amino acid concentrations. Polyamines were affected differently: putrescine was increased by elevated [CO₂], whilst the response of cadaverine depended on the form of N supplied.

URL: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.jafc.6b04118>

CAPÍTULO IV

María Carmen Piñero, Margarita Pérez-Jiménez, Josefa López-Marín, y Francisco M. del Amor. “Amelioration of boron toxicity in sweet pepper as affected by calcium management under an elevated CO₂ concentration”. *Environmental Science & Pollution Research*.

DOI: 10.1007/s11356-017-8742-x

ABSTRACT

We investigated B tolerance in sweet pepper plants (*Capsicum annuum* L.) under an elevated CO₂ concentration, combined with the application of calcium as a nutrient management amelioration technique. The data show that high B affected the roots more than the aerial parts, since there was an increase in the shoot/root ratio, when plants were grown with high B levels; however, the impact was lessened when the plants were grown at elevated CO₂, since the root FW reduction caused by excess B was less marked at the high CO₂ concentration (30.9 % less). Additionally, the high B concentration affected the membrane permeability of roots, which increased from 39 % to 54 % at ambient CO₂ concentration, and from 38 % to 51 % at elevated CO₂ concentration, producing a cation imbalance in plants, which was differentially affected by the CO₂ supply. The Ca surplus in the nutrient solution reduced the nutritional imbalance in sweet pepper plants produced by the high B concentration, at both CO₂ concentrations. The medium B concentration treatment (toxic according to the literature) did not result in any toxic effect. Hence, there is a need to review the literature on critical and toxic B levels taking into account increases in atmospheric CO₂.

URL: <http://link.springer.com/article/10.1007/s11356-017-8742-x>

ANEXOS

En este anexo se enumeran todas las publicaciones en las que he participado durante mi periodo predoctoral en el IMIDA, así como las comunicaciones a congresos realizadas durante estos años.

Publicaciones:

1. **Piñero, M.C.**, Houdusse, F., Garcia-Mina, J.M., Garnica, M., del Amor, F.M. (2014). Regulation of hormonal responses of sweet pepper as affected by salinity and elevated CO₂ concentration. *PHYSIOLOGIA PLANTARUM*, 151(4), 375-389.
2. Pérez-Jiménez, M., López-Pérez, A.J., Otálora-Alcón, G., Marín-Nicolás, D., **Piñero, M.C.**, del Amor, F.M. (2015). A regime of high CO₂ concentration improves the acclimatization process and increases plant quality and survival. *PLANT CELL, TISSUE & ORGAN CULTURE (PCTOC)*, 121(3), 547-557.
3. **Piñero, M.C.**, Pérez-Jiménez, M., López-Marín, J., del Amor, F.M. (2016). Changes in the salinity tolerance of sweet pepper plants as affected by nitrogen form and high CO₂ concentration. *JOURNAL OF PLANT PHYSIOLOGY*, 200, 18-27.
4. Pérez-Jiménez, M., Pazos-Navarro, M., **Piñero, M.C.**, Otálora-Alcón, G., López-Marín, J., del Amor, F.M. (2016). Regulation of the drought response of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) by foliar-applied hormones, in Mediterranean-climate greenhouse conditions. *PLANT GROWTH REGULATION*, 80(2), 159-169.
5. Marín, J.L., López, A.G., Del Amor, F.M., Jiménez, M.P., **Zapata, M.C.P.**, Ros, C., Porras, I., Martínez, J.M.B. (2016). Beneficios y rentabilidad del uso del injerto en cultivo de pimiento en invernadero en el sudeste español. *AGRÍCOLA VERGEL: FRUTICULTURA, HORTICULTURA, FLORICULTURA*, 35(393), 161-167.
6. Alcón, G.O., Vicedo, P.V., **Zapata, M.C.P.**, Jiménez, M.P., Marín, J.L., Miñano, M.M., del Amor Saavedra, F.M. (2016). Manejo sostenible del riego y la fertilización nitrogenada en el cultivo del melón. *AGRÍCOLA VERGEL: FRUTICULTURA, HORTICULTURA, FLORICULTURA*, 35(392), 126-128.
7. **Piñero, M.C.**, Otálora, G., Porras, M.E., Sánchez-Guerrero, M.C., Lorenzo, P., Medrano, E., del Amor, F.M. (2017). The form in which nitrogen is supplied affects the polyamines, amino acids, and mineral composition of sweet pepper fruit under an elevated CO₂ concentration. *JOURNAL OF AGRICULTURAL & FOOD CHEMISTRY*, 65(4), 711-717.
8. Pérez-Jiménez, M., Hernández-Munuera, M., **Piñero, M.C.**, López-Ortega, G., del Amor, F.M. (2017). Are commercial sweet cherry rootstocks adapted to climate change? Short-term waterlogging and CO₂ effects on sweet cherry cv. 'Burlat'. *PLANT, CELL & ENVIRONMENT*. DOI: 10.1111/pce.12920.

9. **Piñero, M.C.**, Pérez-Jiménez, M., López-Marín, J., del Amor, F.M. (2017). Amelioration of boron toxicity in sweet pepper as affected by calcium management under an elevated CO₂ concentration. ENVIRONMENTAL SCIENCE & POLLUTION RESEARCH. DOI:10.1007/s11356-017-8742-x.
10. Pérez-Jiménez, M., Hernández-Munuera, M., **Piñero, M.C.**, López-Ortega, G., del Amor, F.M. (2017). CO₂ effects on waterlogging response of 'Gisela 5' and 'Gisela 6' (*Prunus canescens* x *Prunus cerasus*) sweet cherry (*Prunus avium*) rootstocks. JOURNAL OF PLANT PHYSIOLOGY. DOI: 10.1016/j.jplph.2017.03.011
11. Porras, M.E., Lorenzo, P., Medrano, E., Sánchez-González, M.J., Otálora-Alcón, G., **Piñero, M.C.**, del Amor, F.M., Sánchez-Guerrero, M.C. (2017). Photosynthetic Acclimation to Variable CO₂ Supply in a Sweet Pepper (*Capsicum annuum* L.) crop under Mediterranean Greenhouse. Influence of the nitrogen source and salinity conditions. FUNCTIONAL PLANT BIOLOGY. DOI: 10.1071/FP16362
12. Pérez-Jiménez, M., **Piñero, M.C.**, del Amor, F.M. Heat shock does not stress sweet pepper plants by itself. High CO₂ and nitrogen fertilization effects in plants submitted to elevated temperatures. (Enviado a JOURNAL OF EXPERIMENTAL BOTANY)
13. Pérez-Jiménez, M., Hernández-Munuera, M., **Piñero, M.C.**, López-Ortega, G., del Amor, F.M. Two minuses can make a plus: waterlogging and elevated CO₂ interactions in sweet cherry cultivars (*Prunus avium* L. Batsch). (Enviado a PLANT, CELL & ENVIRONMENT)
14. **Piñero, M.C.**, Porras, M.E., Sánchez-Guerrero, M.C., Lorenzo, P., Medrano, E., del Amor, F.M. Influence of different N form on the nutritional quality of sweet pepper fruit under salinity. (*En preparación*)
15. **Piñero, M.C.**, Pérez-Jiménez, M., López-Marín, J., del Amor, F.M. Response to nitrate/ammonium nutrition of sweet pepper plant (*Capsicum annuum* L.) under a scenario climate change. (*En preparación*)
16. **Piñero, M.C.**, Pérez-Jiménez, M., López-Marín, J., del Amor, F.M. Foliar Ca application as a tool to improve yield and fruit quality of sweet as affected by salinity under an elevated CO₂ concentration. (*En preparación*)
17. Serret Molins, M.D., Yousfi, S., **Piñero, M.C.**, del Amor, F.M., Araus, J.L. Dissecting the interactive effects of CO₂ concentration and water regime on stable isotope signatures, nitrogen assimilation and growth in sweet pepper. (*En preparación*)

Comunicaciones a Congresos:

1. *Autores:* **Piñero, M.C.**, Otálora, G., Marín, M., Pazos, M., del Amor, F.M.
Título: Influence of different forms of nitrogen on the salinity tolerance of pepper to elevated CO₂ concentration.
Congreso: Congreso Luso-Español de Fisiología Vegetal.
Publicación: Libro de resúmenes (pág. 376)
Lugar de publicación y fecha: Julio de 2013. Lisboa, Portugal.
2. *Autores:* **Piñero, M.C.**, Otálora, G., Marín, M., Porras, M.E., del Amor, F.M.
Título: Ammonium, nitrate and urea nutrition in pepper plants in response to elevated CO₂ concentration.
Congreso: Congreso Luso-Español de Fisiología Vegetal.
Publicación: Libro de resúmenes (pág. 376)
Lugar de publicación y fecha: Julio de 2013. Lisboa, Portugal.
3. *Autores:* **Piñero, M.C.**, Pazos, M., Otálora, G., Pérez Jiménez, M., Marín, M., del Amor, F.M.
Título: Relaciones hídricas y de intercambio gaseoso en plantas de pimiento bajo estrés salino. Respuesta diferencial de la fertilización NO₃⁻/NH₄⁺ y el enriquecimiento de CO₂.
Congreso: V Jornada del Grupo de Fertilización.
Publicación: Actas de horticultura (pág. 90)
Lugar de publicación y fecha: Mayo de 2014. Granada, España.
4. *Autores:* **Piñero, M.C.**, Otálora, G., Marín, M., Porras, M.E., del Amor, F.M.
Título: Efecto de la relación NO₃⁻/NH₄⁺ y enriquecimiento de CO₂ sobre la actividad antioxidante de plantas de pimiento sometidas a salinidad.
Congreso: V Jornada del Grupo de Fertilización.
Publicación: Actas de horticultura (pág. 85)
Lugar de publicación y fecha: Mayo de 2014. Granada, España.
5. *Autores:* Porras, M.E., Medrano, E., Lorenzo, P., Sánchez-González, M.J., García, M.L., Baeza, E.J., **Piñero M.C.**, Sánchez-Guerrero, M.C.
Título: Incorporación de amonio en la solución nutritiva del cultivo de pimiento con aporte de CO₂ en el aire del invernadero.
Congreso: V Jornada del Grupo de Fertilización.
Publicación: Actas de horticultura (pág. 97)
Lugar de publicación y fecha: Mayo de 2014. Granada, España.
6. *Autores:* Varó, P., Gómez, M.C., Pazos, M., **Piñero, M.C.**, Otálora, G., Marín, M., del Amor, F.M.
Título: Análisis de la aplicación exógena de hormonas para el control productivo de pimiento en invernadero.
Congreso: XLIV Seminario de Técnicos y Especialistas en Horticultura.
Publicación: Libro de resúmenes.
Lugar de publicación y fecha: Marzo-Abril de 2014. Sevilla, España.

7. *Autores:* del Amor, F.M., **Piñero, M.C.**, Otálora-Alcón, G., Pérez-Jimenez, M., Marín-Miñano, M.
Título: Effect of different nitrogen forms and CO₂ enrichment on the nutrient uptake and water relations of pepper plants (*Capsicum annuum* L.).
Congreso: Agriculture and Climate Change. Adapting Crops to Increased Uncertainty,
Publicación: Procedia Environmental Sciences 29 (2015): 203-204.
Lugar de publicación y fecha: Febrero de 2015. Amsterdam, Holanda.

8. *Autores:* Porras, M.E., Lorenzo, P., Medrano, E., Sánchez-González, M.J., Baeza, E.J., **Piñero M.C.**, Sánchez-Guerrero, M C.
Título: Sweet Pepper Grown under Salinity Stress as Affected by CO₂ enrichment and Nitrogen source.
Congreso: International Symposium on New Technologies and Management for Greenhouses.
Publicación: Libro de resúmenes.
Lugar de publicación y fecha: Julio de 2015. Évora, Portugal.

9. *Autores:* Pérez-Jiménez, M., López Pérez, A.J., Otálora Alcón, G., **Piñero, M.C.**, Marín, M., del Amor, F.M.
Título: Mejora de la aclimatación de las plantas in vitro con altas concentraciones de CO₂.
Congreso: XIV Congreso Nacional de Ciencias Hortícolas.
Publicación: Libro de resúmenes (pág. 106).
Lugar de publicación y fecha: Junio de 2015. Orihuela, España.

10. *Autores:* **Piñero, M.C.**, Otálora Alcón, G., Marín, M., Porras, M.E., Pérez Jiménez, M., del Amor, F.M.
Título: Efecto del aporte de CO₂ y diferentes formas de nitrógeno sobre la calidad de frutos de pimiento (cv. Melchor).
Congreso: XIV Congreso Nacional de Ciencias Hortícolas.
Publicación: Libro de resúmenes (pág. 107).
Lugar de publicación y fecha: Junio de 2015. Orihuela, España.

11. *Autores:* **Piñero, M.C.**, Pérez-Jiménez, M., Otálora Alcón, G., López-Marín, J., Marín-Miñarro, M., del Amor, F.M.
Título: Efecto de la aplicación de boro y calcio en pimiento bajo elevada concentración de CO₂.
Congreso: XVI Simposio Hispano-Luso de Nutrición Mineral de las Plantas.
Publicación: Libro de resúmenes (pág. 32).
Lugar de publicación y fecha: Septiembre de 2016. San Pedro del Pinatar - Murcia España.

12. *Autores:* **Piñero, M.C.**, Pérez-Jiménez, M., Otálora Alcón, G., Marín-Miñarro, M., del Amor, F.M.
Título: Influencia de la nutrición con nitrato y amonio en plantas de maíz y pepino.
Congreso: XVI Simposio Hispano-Luso de Nutrición Mineral de las Plantas.
Publicación: Libro de resúmenes (pág. 41).
Lugar de publicación y fecha: Septiembre de 2016. San Pedro del Pinatar - Murcia España.

13. *Autores:* Otálora-Alcón, G., **Piñero, M.C.**, Pérez-Jiménez, M., López-Marín, J., Marín-Miñano, M., del Amor, F.M.
Título: Influencia del riego y la fertilización nitrogenada en el cultivo ecológico del melón.
Congreso: XVI Simposio Hispano-Luso de Nutrición Mineral de las Plantas.
Publicación: Libro de resúmenes (pág. 60).
Lugar de publicación y fecha: Septiembre de 2016. San Pedro del Pinatar - Murcia España

14. *Autores:* López-Marín, J., Gálvez, A., Rodríguez, C.M., Otálora-Alcón, G., **Piñero, M.C.**, Pérez-Jiménez, M., del Amor, F.M.
Título: Influencia de la fotoselectividad de diferentes mallas de sombreo en el contenido nutricional en frutos de pimiento de invernadero.
Congreso: XVI Simposio Hispano-Luso de Nutrición Mineral de las Plantas.
Publicación: Libro de resúmenes (pág. 26).
Lugar de publicación y fecha: Septiembre de 2016. San Pedro del Pinatar - Murcia España.

15. *Autores:* López-Marín, J., Gálvez, A., Rodríguez, C.M., Pérez-Jiménez, M., **Piñero, M.C.**, del Amor, F.M.
Título: Influencia de diferentes mallas fotoselectivas de sombreo en cultivos de pimiento.
Congreso: XLVI Seminario de técnicos y especialistas en horticultura. Enfermedades emergentes en horticultura.
Publicación: Libro de resúmenes (pág. 23).
Lugar de publicación y fecha: Septiembre de 2016. Valladolid, España.

16. *Autores:* López-Marín, J., Gálvez, A., Rodríguez, C.M., Pérez-Jiménez, M., **Piñero, M.C.**, del Amor, F.M.
Título: Mallas de sombreo fotoselectivas para cultivo de pimiento en el Sureste español.
Congreso: XIV Jornadas del Grupo de Horticultura. Producción sostenible de hortalizas y fresón para una alimentación saludable.
Publicación: Libro de resúmenes (pág. 40).
Lugar de publicación y fecha: Febrero de 2017. Almería, España.