

EFFECTO DE VARIOS NIVELES DE AZUFRE SOBRE EL CRECIMIENTO
Y COMPOSICION QUIMICA DE PLANTAS DE TOMATE

Tesis de Grado de *Magister Scientiae*

José Raymundo Pereira Chaves

INSTITUTO INTERAMERICANO DE CIENCIAS AGRICOLAS DE LA OEA

Centro de Enseñanza e Investigación

Departamento de Fitotecnia y Suelos

Turrialba, Costa Rica

Junio, 1970

EFFECTO DE VARIOS NIVELES DE AZUFRE SOBRE EL CRECIMIENTO
Y COMPOSICION QUIMICA DE PLANTAS DE TOMATE

Tesis

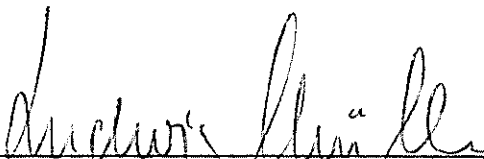
Presentada al Consejo de la Escuela para Graduados
como requisito parcial para optar al grado de

Magister Scientiae


en el

Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA

APROBADA:


Ludwig Müller, Ph.D.

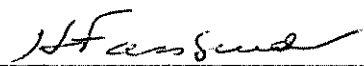
Consejero


José Fargas, Ph.D.

Comité


Adalberto Gorbitz, Ing. Agr.

Comité


Hans W. Fassbender, Dr. Cien. Agri.

Comité

Junio, 1970

A mi esposa Terezinha

A mis hijos Oraldo y Carlos Rogério

AGRADECIMIENTO

El autor desea expresar su agradecimiento al Dr. Ludwig Müller por su y constante dedicación durante el desarrollo del experimento.

Al Dr. Fargas por sus valiosos consejos, constante ayuda y acertadas sugerencias.

Al Ing. Adalberto Gorbitz por la revisión de la tesis.

Al Dr. Hans W. Fassbender por la colaboración que prestó en todo momento.

Al Dr. Gilberto Páez y Dr. Oscar Hidalgo por su sincera y valiosa colaboración.

A los laboratoristas, José J. Salazar, Alfredo Eddie y Alf José por la colaboración en los análisis químicos

Y a todas aquellas personas que de una forma u otra ayudaron en la elaboración de este trabajo.

BIOGRAFIA

El autor nació en la ciudad de Novo Cruzeiro, Brasil en 1938.

Realizó sus estudios universitarios en la Universidad Rural del Estado de Minas Gerais, graduándose de Ingeniero Agrónomo en 1963.

En 1965 se dedicó a la enseñanza universitaria, como instructor de Fisiología Vegetal en la Universidad Rural del Estado de Minas Gerais, y en 1967 fue promovido a Profesor Asistente de Fisiología Vegetal de la misma Universidad.

En enero de 1969 ingresó al Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA, finalizando sus estudios en junio de 1970

CONTENIDO

	página
1. INTRODUCCION	1
2. REVISION DE LITERATURA	3
2.1 Fuentes de Azufre para las Plantas	3
2.1.1 Atmósfera y lluvia.	3
2.1.2 Suelo	4
2.2 Retención y Pérdida de Azufre del Suelo.	5
2.3 Absorción, Interacción y Antagonismo	7
3. MATERIALES Y METODOS	15
3.1 Análisis Químico	16
3.2 Cromatografía de los Aminoácidos	17
3.2.1 Preparación del extracto.	17
3.2.2 Cromatografía de papel.	18
4. RESULTADOS Y DISCUSION	20
4.1 Síntomas Visuales de la Deficiencia de Azufre.	21
4.2 Producción de Materia Seca y Fresca.	21
4.3 Absorción y Formas de Azufre en la Planta.	21
4.4 Absorción y Formas de Nitrógeno en la Planta	24
4.5 Contenidos de P, K, Ca, Mg y Mn en el Vástago.	28
5. CONCLUSIONES	30
6. RESUMEN.	32
6a. SUMMARY.	33
7. LITERATURA CITADA.	34
APENDICE.	40

1. INTRODUCCION

El azufre es un nutrimento esencial para las plantas y es requerido en cantidades relativamente grandes.

El azufre es necesario para:

- 1) Síntesis de los aminoácidos cistina, cisteína y metionina, y por lo tanto, también para la síntesis de proteínas.
- 2) Activación de ciertas enzimas proteolíticas, tales como papainasas.
- 3) Síntesis de ciertas vitaminas, glutatión y coenzima-A.
- 4) Formación de glucósidos de aceite de mostaza, encontrados como ingrediente activo en la cebolla, ajo y ciertas crucíferas.
- 5) Formación de uniones disulfídicas que han sido asociadas con características estructurales del protoplasma.

Además, en algunas especies la presencia de grupos sulfhidrilo (-SH) en los tejidos de las plantas ha sido relacionada con la resistencia al frío.

Los fertilizantes comerciales, como superfosfato, sulfato de amonio, cloruro de potasio son los más usados, sea en forma individual o en una mezcla para la fertilización completa de N-P-K. El superfosfato contiene de 12% a 14% de azufre, mientras que el sulfato de amonio contiene aproximadamente 24%. Cuando se emplean estos materiales, el azufre también es aplicado como elemento secundario.

Por razones económicas, la utilización de materiales que contienen altos porcentajes de nitrógeno y fósforo ha sido últimamente muy incrementada. Una característica común de estos materiales es un bajo o ningún contenido de azufre.

La adopción de variedades de alta producción, las cuales requieren una alta concentración de nutrimentos en el suelo, lo mismo que el uso intensivo de

las tierras, ha alterado drásticamente las prácticas de fertilización. Así la demanda de N-P-K y de otros nutrimentos tiende necesariamente a incrementarse. Como resultado, los trabajos sobre deficiencias de azufre en varias partes de la tierra han aumentado considerablemente en la última década.

El contenido de azufre total de los suelos varía entre un rango de 0,01% a 0,15%. En los suelos tropicales húmedos, debido al proceso acelerado de meteorización, los iones sulfato resultantes de este proceso, son lixiviados por el agua de lluvia debido a su gran solubilidad, aún en suelos con cierta reserva de azufre. La lixiviación puede mostrar un ritmo mayor que la velocidad con que lleguen los iones sulfato a la solución del suelo. En consecuencia se alcanza un nivel crítico para las necesidades de las plantas.

La insuficiencia de azufre puede afectar tanto la producción como la calidad. Por lo tanto hay necesidad de incluir azufre y micronutrimentos en los planes de fertilización para obtener una mayor respuesta a las aplicaciones de N-P y K, simples o en combinación.

Son complejas las relaciones de azufre en el sistema suelo-planta, como también son múltiples los factores que determinan sus disponibilidad para las plantas. Por esa razón se ha planeado el presente trabajo con un suelo deficiente en azufre de la región de Liberia, Provincia de Guanacaste, Costa Rica.

Los objetivos fueron: a) Determinar las dosis de azufre que inducen una mayor producción de materia seca; b) Determinar las interacciones entre azufre y algunos de los elementos esenciales; c) Determinar las formas de acumulación de azufre en las plantas y d) Determinar los cambios en los compuestos nitrogenados (proteína, aminoácidos y amidas) cuando varían las concentraciones de azufre en el suelo.

2. REVISION DE LITERATURA

Desde hace mucho tiempo el azufre ha sido conocido como un elemento esencial para las plantas, pero sólo recientemente ha recibido mayor atención de los investigadores, debido al aumento del número de observaciones de deficiencia de este elemento en todas partes del mundo.

Los síntomas de deficiencia de azufre se desarrollan gradualmente. Nightingale *et al.* (53) verificaron que plantas de tomate deficientes en azufre presentan tallos más largos y leñosos. Las hojas son pequeñas y de color verde-amarillento, de aspecto carriáceo y con las nervaduras púrpuras. Las hojas nuevas se tornan amarillas antes que las viejas. En general, el sistema radical es menos afectado que el vástago, puesto que las raíces son bien desarrolladas y extensas, pero ambos, tallo y raíz, son de diámetro pequeño.

Eaton (23) describió síntomas similares; pero indicó que en las plantas deficientes, los síntomas más bien aparecen primeramente en las hojas inferiores y los tallos no presentan mucha elongación.

2.1 Fuentes de Azufre para la Planta

2.1.1 Atmósfera

Coleman (19) reconoció tres fuentes de azufre atmosférico, las cuales pueden ser aprovechadas por las plantas: a) Pantanos que liberan H_2S y sulfuros; b) El mar. c) SO_2 liberado de la quema de combustibles. La última es la fuente más importante. Las cantidades de azufre producidas por las tres fuentes son influenciadas por factores tales como proximidades de áreas industriales, proximidad del mar y dirección de los vientos.

Las cantidades depositadas sobre la tierra por las lluvias son extremadamente variables. Bajos valores se encuentran en áreas rurales y altos valores en las cercanías de las áreas industrializadas (19). Las cantidades varían también de año a año, dentro de una misma localidad.

2.1.2 Suelo

El azufre del suelo puede proceder de varios minerales, tales como pirita, epsomita, calcopirita, marcasita y otros (38).

Según Tisdale y Nelson (71) en las rocas expuestas al proceso de meteorización, los minerales son descompuestos y los sulfuros oxidados a sulfatos. Según los mismos autores, el azufre en el suelo puede ser clasificado en tres categorías de compuestos: a) Formas reducidas de azufre, contenido en compuestos orgánicos, b) Sulfatos y c) Azufre elemental y sulfuros.

Los residuos de plantas y animales introducidos en el suelo contienen una gran variedad de compuestos azufrados que son inmediatamente atacados por los microorganismos del suelo (32). Usualmente el 50 al 75% del azufre contenido en el perfil del suelo está en la forma orgánica (3).

Las condiciones en que procede la mineralización determinan tanto los productos formados como también la velocidad del proceso. Según Freney y Stevenson (32), en condiciones anaerobias, resulta una acumulación de sulfuros y mercaptanos. Bajo condiciones extremas, la acumulación de sulfuros puede alcanzar hasta niveles tóxicos para las plantas (64). Sin embargo, en presencia de aire, los sulfuros son oxidados a sulfatos y otros compuestos inorgánicos (38).

Cuando materiales con un alto contenido de carbono son añadidos al suelo, la relación C/S puede exceder 50:1 lo que resulta en una inmovilización de azufre por los microorganismos con efectos detrimenales para las plantas cultivadas (3, 38).

Otros factores, como temperatura, pH, tipo de suelo, especie de bacterio, humedad, etc. que frecuentemente influyen en la mineralización del azufre, son discutidos ampliamente por Attoe y Olson (7).

De acuerdo con Tisdale y Nelson (71) casi todo el azufre inorgánico se presenta como ión sulfato en combinación con cationes, tales como Ca^{++} , Mg^{++} , K^+ , NH_4^+ en la solución del suelo, precipitados como sales o adsorbidos.

Los compuestos inorgánicos de azufre, que pueden ser biológicamente transformados, representan varios estados de oxidación: de sulfuro (-2) hasta sulfato ($+6$). Los microorganismos que oxidan el azufre inorgánico (3) pueden ser divididos en cuatro grupos: 1) Bacterios quimoautotrófos como los del género *Thiobacillus*; 2) Heterotrófos, como bacterios, hongos y actinomicetáceas; 3) Bacterios sin pigmentación: *Beggiatoa*, *Thiotrix* y *Thioplaca*; 4) Bacterios fotosintetizantes verdes o púrpuros.

2.2 Retención y Pérdidas del Azufre del Suelo

La mayoría de los sulfatos son solubles y expuestos a perderse por lixiviación, pero algunos pueden ser retenidos por un proceso de adsorción y fijación. Esta capacidad de fijación de azufre es menor en las capas superficiales del suelo y se ha demostrado que los suelos ricos en alúmina hidratada presentan mayor capacidad de fijación (27). McClung *et al.* (45) estudiaron varios suelos del altiplano brasileño y constataron que en el horizonte B de suelos cultivados responde menos a la aplicación del azufre, sugiriendo una acumulación en aquellos horizontes.

Llanos (44), en estudios de adsorción de SO_4^{--} marcado en varios suelos de Costa Rica, verificó que la adsorción es mayor en latosoles que en suelos volcánicos o aluviales.

Chao *et al.* (16) reportaron que el hierro hidratado y el óxido de aluminio son factores dominantes en la fijación de sulfato y que las condiciones que favorecen la hidrólisis de estos materiales aumentan notablemente la fijación.

Experimentos con lisímetros llegados a cabo por Williams *et al.* (76) para estudiar la fijación de ^{35}S aplicado como azufre elemental y yeso, demostraron que con baja humedad las pérdidas por percolación fueron pequeñas.

En suelos tropicales que reciben abundante precipitación pluvial, los sulfatos adsorbidos son fácilmente lixiviados y su concentración en las capas superficiales del suelo alcanzan luego niveles extremadamente críticos para las plantas (27).

La presencia de otros aniones en el suelo también afecta la provisión de azufre. Abonamientos con grandes cantidades de fosfato pueden conducir una pérdida acentuada de azufre en el suelo (75).

Chao (15) investigó el efecto de veintiseis aniones en la adsorción de sulfato. Verificó que con excepción del acetato, arsenito, borato, cloruro, nitrato y silicato, todos los otros aniones estudiados disminuyeron la adsorción de sulfato en diferentes grados, dependiendo del tipo y concentración relativa del ión y de las propiedades del suelo. Los aniones inorgánicos más efectivos en disminuir la adsorción fueron el fosfato, molibdato y fluorito; otros como el arseniato, vanadato, tungstenato, selenito y selenato fueron de efecto intermedio. Los aniones orgánicos más efectivos fueron el oxalato, tartrato, malato, tiocianato y succinato. Aniones del mismo elemento, pero con diferente valencia, mostraron diferentes efectos. La depresión causada por selenato fue pequeña aún en alta concentración, pero con el selenito fue evidente en todas las concentraciones. Los hidróxidos y bicarbonatos disminuyeron la adsorción debido

a su efecto sobre el pH del suelo. Chao (15) explicó el efecto iónico sobre la adsorción por: a) Competencia por los sitios de intercambio o reemplazo aniónico; b) Habilidad del anión para formar quelatos complejos con Fe y Al; c) Reacción de precipitación. Sin embargo, más de un mecanismo pueda estar implicado en el proceso.

Hay algunas evidencias de que ciertas formas orgánicas de azufre y sulfuros son retenidos con mayor tenacidad (71).

Harward y Reisenauer (37) sumaron los factores relacionados con la retención de sulfato en la forma siguiente:

- a. Los suelos presentan cierta capacidad de retención de sulfatos,
- b. Los minerales del grupo de las caolinitas tienen mayor capacidad de retención de que los montmorilonitas;
- c. Oxidos de aluminio y de hierro hidratados muestran evidente tendencia para retener sulfato;
- d. Existe una correlación marcada con el pH;
- e. Las cantidades retenidas son dependientes de la concentración;
- f. Los distintos aniones de azufre presentan diferentes retenciones y hay evidentes efectos de otros iones sobre la retención del sulfato;
- g. La cantidad de sulfato retenida es afectada por el catión asociado y por el catión a intercambiar.

2.3 Absorción, Interacción y Antagonismo

El efecto de azufre en la planta está directamente relacionado con la presencia y la concentración de otros elementos nutritivos en el suelo. Por lo tanto, hay posibilidades de sinergismo y antagonismo. Sutcliffe (66) relató que la absorción de cationes es proporcional a la concentración, mientras que la

absorción de sulfato y fosfato varía en soluciones diluidas directamente con el logaritmo de la concentración externa y se torna independiente de la concentración en soluciones fuertes. Otros trabajos demostraron que la absorción de azufre es proporcional a la concentración de este elemento en el suelo o en la solución nutritiva (18, 30, 43, 46).

La concentración de azufre puede modificar la absorción de otros elementos. El antagonismo existente entre el sulfato y selenato fue estudiado por Legget y Epstein (43). Estos autores constataron que la absorción de sulfato involucra la unión del ión a sitios específicos del transportador y que estos sitios son comunes a sulfatos y selenatos. Para Alex (2) el efecto antagónico es debido a la competencia por el mismo sitio de absorción en la membrana celular y a la competencia dentro de la célula por el sistema enzimático responsable para las transformaciones de los metabolitos.

Bestrawson *et al.* (9) sugirieron tres modos por lo cual el azufre afecta la disponibilidad de los otros nutrimentos: bajando el pH, interacción iónica cuando forma sulfato, y sirviendo como reductor o donador de electrones.

Harward *et al.* (36) estudiaron la relación entre cloruros y sulfatos en presencia de diferentes formas de nitrógeno. En plantas de papa, que recibieron NO_3^- o $\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+$, los contenidos de Ca y Mg tendían a disminuir con el aumento de sulfato en la solución. Dilley *et al.* (22) demostraron que en manzano, cerezo, melocotón y vid el aumento de azufre redujo la absorción de Ca y Mg pero aumentó la de Mn y B y no afectó el potasio. Resultados similares fueron obtenidos por Parusp *et al.* (56).

Torio (73) verificó que en arándano y *Vaccinium macrocarpon* altos niveles de azufre estaban relacionados con altos niveles de N y P y baja concentración de K en las hojas.

El balance entre los elementos en el suelo determina en muchos casos la disponibilidad y la necesidad de azufre para la planta. Las aplicaciones de grandes cantidades de nitrato de amonio en cafetales de El Salvador causaron anomalías severas. Müller (50) lo explicó en la forma siguiente que la aplicación de NH_4NO_3 estimuló considerablemente el crecimiento, o sea la síntesis de proteínas en las plantas; a consecuencia, las pequeñas reservas de azufre en el suelo se agotaron rápidamente y las plantas mostraron síntomas de deficiencia severa.

Jordan (42), trabajando con avena no encontró con aplicación de varios niveles de nitrógeno grandes necesidades de azufre a bajos niveles de nitrógeno, pero con altos niveles de este elemento la necesidad de azufre fue mucho más grande.

El azufre es indispensable para la fijación simbiótica y posterior utilización del nitrógeno. Ashford y Bolton (6) verificaron que plantas deficientes en azufre inoculadas o no, presentan poco crecimiento aunque los niveles son altos. Cuando el azufre fue aplicado a plantas de trebol no inoculadas hubo buena respuesta particularmente si el nivel de NH_4NO_3 era alto. Hubo progresiva disminución en la nodulación con el aumento de nitrógeno en la solución y con la reducción de azufre. Este efecto depresivo fue eliminado por la aplicación de este elemento. El nivel de NH_4NO_3 tuvo efecto significativo en el porcentaje de nitrógeno en la parte aérea de plantas inoculadas y sin azufre. Cuando el azufre fue aplicado a estas plantas inoculadas, la concentración de NH_4NO_3 en la solución no tuvo efecto significativo sobre el porcentaje de nitrógeno en la planta. En el caso de plantas no inoculadas, el porcentaje de nitrógeno foliar aumentó con el incremento de NH_4NO_3 , independientemente de la aplicación de azufre.

Los autores concluyeron que el pequeño crecimiento de leguminosas deficientes en azufre, no es debido a la inefectiva fijación de nitrógeno, sino a la deficiencia de azufre en la planta hospedante.

Stewart y Porter (65) estudiaron la relación entre S y N en trigo, frijol y maíz. Verificaron que la adición de azufre solo no tenía efecto sobre la producción, mientras que el nitrógeno aumentó la producción, pero no hubo diferencias entre los niveles aplicados; el mayor aumento fue obtenido por la aplicación de nitrógeno más azufre. Plantas que recibieron nitrógeno y no azufre mostraron síntomas de deficiencia de este elemento. Los datos indicaron que una parte del azufre para cada 12 a 15 partes de nitrógeno garantiza una producción máxima, tanto en materia seca como en proteínas. Las plantas que recibieron altos niveles de nitrógeno, mostraron un alto porcentaje de nitrógeno en las hojas cuando el azufre fue limitante para el crecimiento. Una acumulación de nitratos, amidas y aminoácidos en plantas deficientes fue encontrado; sin embargo, cuando había suficiente azufre, aproximadamente 75% del nitrógeno se encontró como proteína comparado con un 25% en condiciones de deficiencia. Hubo mucha similitud en el comportamiento entre raíces y vástago.

En plantas desarrolladas bajo niveles críticos de azufre, la totalidad de este elemento se encontró en forma de proteínas. El aumento de azufre incrementó las cantidades de este elemento en las hojas, pero las cantidades en proteínas permanecieron constantes, indicando un consumo lujuriente de sulfato.

Nightingale *et al.* (53) estudiaron el efecto de azufre en el metabolismo del tomate en condiciones de deficiencia de azufre. Las plantas deficientes en azufre presentaron acumulación de hidratos de carbono y nitratos, puesto que la reducción de nitratos y oxidación de los hidratos de carbono fueron comparativamente bajos o enteramente inhibidos. La acumulación de nitratos disminuyó

rápidamente mientras que el nitrógeno orgánico aumentó tan pronto las plantas S-deficientes fueron tratadas con azufre. La acumulación de nitratos en plantas deficientes es debida a su baja reducción; cuando las plantas deficientes de azufre reciben este elemento, hay rápida aparición de nitritos y una disminución marcada de los hidratos de carbono acumulados.

El azufre orgánico en plantas que crecen en soluciones nutritivas completas está totalmente fijado en el complejo proteico, mientras que en plantas provenientes de soluciones deficientes en azufre se encuentra principalmente en la forma soluble en agua u orgánica no proteica; únicamente una pequeña fracción aparece como cistina y glutatión. La actividad proteolítica en las plantas está normalmente asociada con la disminución de las reservas de hidratos de carbono. En plantas de tomate deficientes en azufre parece tener lugar una actividad proteolítica intensa aunque el contenido de hidratos de carbono sea alto.

Mertz y Matsumoto (49) estudiaron los efectos de la deficiencia de azufre en alfalfa a través de las diversas fracciones proteicas y compuestos nitrogenados no proteicos. Verificaron que algunas proteínas aumentaron mientras otras disminuyeron.

Los resultados presentados por Eaton (23) concuerdan en muchos aspectos con los obtenidos por Nightingale *et al.* Ambos encontraron un alto porcentaje de almidón, sacarosa, amoníaco, amidas y nitratos en tallos de plantas deficientes en azufre. Los datos fueron interpretados con mira a dos factores opuestos: Proteólisis y disminución de la actividad de las reductasas. La proteólisis explicaría la acumulación de N-amoniaco, aminoácidos y amidas. Grandes cantidades de aminoácidos y amidas fueron también posiblemente debidas a la falta de azufre para la formación de proteínas. Los resultados de Eaton difieren de los de

Nightingale *et al.* en dos aspectos: Nightingale *et al.* encontraron que las hojas inferiores presentaban clorosis primeramente y que azúcares reductores se acumularon en los tallos deficientes, juntamente con almidón y sacarosa, mientras que Eaton verificó que la clorosis se desarrolló primeramente en las hojas superiores y que los azúcares reductores fueron bajos en los tallos de plantas deficientes. Eaton concluyó que estas diferencias fueron debidas a las condiciones atmosféricas en que los dos investigadores llevaron a cabo sus trabajos (Chicago y New Brunswick), como también a la composición de las soluciones nutritivas utilizadas.

Eaton (24) estudió en soya el efecto de deficiencia de azufre sobre el color y tamaño de hojas, espesura y alargamiento del tallo, desarrollo del sistema radical y tamaño y composición química de las hojas. Los síntomas de la deficiencia fueron semejantes a los descritos en otras plantas (6, 23, 26). La clorosis pareció ser debido a la poca asimilación de nitratos, deficiente síntesis de proteínas y bajo número de cloroplastos. En las plantas deficientes los tallos fueron marcadamente alargados pero de pequeño diámetro. El desarrollo del sistema radical fue afectado, pero en menor grado que el del vástago. La acumulación de nitratos, sin duda, puede ser explicado por el mismo mecanismo propuesto por Nightingale *et al.* (53), pero en relación a hidratos de carbono la situación no fue muy clara. Nightingale *et al.* verificaron que azúcares reductores, sacarosa y almidón se acumulan en plantas de tomate deficientes en azufre, mientras tanto no determinó el contenido de hemicelulosas. El almidón y las hemicelulosas fueron altas en soya deficiente en azufre, mientras tanto el azúcar fue uniformemente alto en todos los tratamientos. Por lo tanto, el efecto de la deficiencia de azufre sobre la acumulación de hidratos de carbono en soya no es tan

clara como en tomate. Parece que la deficiencia de este elemento causa en algunas plantas una acumulación mayor de ciertas formas de hidratos de carbono que de otras. Este trabajo reveló que las hemicelulosas sirvieron temporalmente como un alimento de reserva y por lo tanto fueron importantes para el metabolismo de la planta. La acumulación de nitrógeno orgánico soluble también fue verificado, siendo la causa en parte debido a la deficiente síntesis de proteínas.

Ergle y Eaton (26), trabajando con algodón, encontraron resultados similares a los de Nightingale *et al.*, Ashford, Scott y otros, con relación a la acumulación de nitrato y nitrógeno orgánico soluble. El nitrógeno proteico fue grandemente reducido en hojas nuevas y viejas mientras que mayor concentración de proteínas fue encontrada en tallos deficientes en azufre. Los autores afirmaron que, por regla general, la deficiencia de azufre induce más alta concentración de formas solubles de nitrógeno; pero esta regla no es aplicable a la formación de proteínas. En tallos de algodón y soya, la concentración de proteínas aumentó; en tomate hubo apenas pequeños cambios y en girasol y mostaza hubo marcada reducción.

Es evidente que la deficiencia de azufre afecta las cantidades de aminoácidos y amidas en las plantas, pero los cambios de cada aminoácido y amida varían con la especie de planta y los datos de los diversos autores no son concordantes.

Mertz y Matsumoto (49) estudiaron la composición de los aminoácidos en tallos y hojas de alfalfa normal y deficiente en azufre. Encontraron una evidente disminución de cistina, ácido glutámico, histidina, isoleucina, metionina, serina, treonina y triptofano en las hojas deficientes; sin embargo, arginina, ácidos aspártico y treonina aumentaron. En los tallos no hubo disminución de histidina, isoleucina y serina. Cuando las plantas deficientes recibieron azufre,

alcanzaron diez días después los mismos niveles que las plantas normales, con excepción de metionina.

Thompson *et al.* (69) compararon las concentraciones de aminoácidos libres en plantas de nabos normales y deficientes en nitrógeno, fósforo, potasio y azufre. Los resultados revelaron similitud entre los efectos de la falta de azufre y fósforo. Ácidos aspártico y glutámico, serina, glicina, treonina, alanina, glutamina, valina, tirosina, leucina y otros aumentaron considerablemente en las plantas deficientes en azufre, mientras que metil-cisteína-sulfoxi y cistina disminuyeron; no hubo variaciones significativas con respecto a metionina, puesto que las plantas deficientes presentaron valores más altos.

Delga y Touzé (20) encontraron una gran acumulación de citrulina, alanina y arginina en melón deficiente en azufre, junto con una disminución de los ácidos aspártico y glutámico.

3. MATERIALES Y METODOS

Los experimentos fueron llevados a cabo en invernadero con techo de plástico y con paredes hechas de malla fina, localizado en los terrenos del IICA-CEI, Turrialba, Costa Rica. Se recogió el suelo en el márgen de la carretera Interamericana, 12 km al sur de Liberia, provincia de Guanacaste, Costa Rica. Se sacaron las muestras del suelo a una profundidad de 0 a 30 cm. El suelo fue secado al aire y después de trituirarlo se pasó por una criba con malla de 2 mm. Una alícuota representativa fue sometida a un análisis químico, cuyos resultados se encuentran en el Cuadro 1.

Como potes se utilizaron latas de un litro de capacidad, las cuales se protegieron contra la corrosión con dos capas de pintura asfáltica. El fondo se cubrió con una capa de grava fina, bien lavada, para facilitar el drenaje. Todos los potes recibieron 750 g de suelo seco y tamizado. Para evitar cualquier deficiencia de elementos esenciales se hizo una aplicación básica de N, P, K, Ca, Mg, y micronutrientes. Las cantidades utilizadas están indicadas en el Cuadro 2. Las soluciones fueron aplicadas 2 cm abajo de la superficie, al mismo tiempo que se aplicaron los tratamientos. El diseño experimental fue de bloques al azar, con 4 repeticiones y las dosis de azufre fueron equivalentes a: 0, 50, 100, 150, 200 y 250 kg/hectárea.

Cada maceta se colocó sobre un platillo plástico, que recibió el exceso de agua. Se sembraron de 20 a 30 semillas de tomate de la variedad 'J. Morán' por maceta. Gradualmente se ralearon las plántulas hasta un número uniforme de siete plantas por maceta. Se regaron las macetas con agua deionizada una vez por día al principio del experimento y después dos o tres veces, manteniendo el suelo siempre cerca de la capacidad de campo.

A las seis semanas de sembradas las plantas indicadoras, se cosechó el experimento. Inicialmente se sacaron dos muestras de 5 g de las hojas frescas para análisis de aminoácidos; en seguida las plantas fueron cortadas al ras de la tierra. Luego se secaron al horno (65-70°C) por 36 horas. Después de enfriadas, se pesaron nuevamente para la obtención de peso seco.

3.1 Análisis Químico

Del material homogenizado seco y molido se tomaron alícuotas para los siguientes análisis:

1) Azufre total: La determinación siguió en rasgos generales el método AOAC después de la digestión con $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$.

2) El S-sulfato fue determinado por el método de Johnson y Nishitah (39), tratando previamente las muestras con BaCl_2 y centrifugándolas para eliminar interferencia de nitratos.

3) Para el azufre de aminoácidos se tomó una muestra de 1 ml del extracto purificado destinado a la cromatografía y se procedió en forma semejante como se hizo para la determinación de azufre total.

4) Nitrógeno total: Se siguió el método micro-Kjeldahl propuesto por Müller (50).

5) Para nitrógeno soluble se tomó 1 g del material seco y molido. Se añadieron 30 ml de agua destilada. Se agitó por espacio de 30 minutos y se filtró. Del extracto se tomaron 10 ml y se determinó el nitrógeno por el método micro-Kjeldahl.

6) Para la determinación cualitativa de los azúcares se tomó en un tubo de ensayo 3 ml del extracto acuoso (el mismo que se usó en la determinación del nitrógeno soluble), se añadió 2 ml de licor de Fehling y se puso dentro de un

vaso de precipitación con agua caliente hasta desarrollar la coloración ladrillo.

7) Para nitrógeno proteico se utilizó el residuo centrifugado que se obtuvo en el proceso de extracción de aminoácidos (65). El residuo fue secado a 65-70°C y se procedió al análisis de nitrógeno.

8) Para determinar las concentraciones de fósforo, potasio, calcio, magnesio y manganeso se hicieron digestiones con una mezcla de ácidos nitro-perclórico 5:1. En el extracto obtenido se determinaron fósforo por el método sulfo-molibdico, mientras que para K, Ca, Mg y Mn se empleó el espectrofotómetro de absorción atómica Perkin-Elmer, modelo 303.

3.2 Cromatografía de los Aminoácidos

3.2.1 Preparación del extracto:

Del material fresco se tomaron 5 g de hojas y se introdujeron en un frasco Erlenmeyer de 150 ml que contenía 40 ml de etanol al 80%. Se maceró en una licuadora Waring a 16.000 rpm por 5 minutos, quedando el material finamente dividido. Se guardó el material así preparado en la refrigeradora por 24 horas. Luego se centrifugó a 3000 rpm por 8 minutos y se devolvió el supernadante al frasco Erlenmeyer. La centrifugación fue repetida dos veces más, añadiendo cada vez 20 ml de etanol al 80%. La parte precipitada fue secada a 70°C y se utilizó para la determinación de nitrógeno proteico.

El extracto fue filtrado, empleando un embudo Büchner con dos papeles de filtro de Whatman No. 1, sobre un kitasato previamente aforado a 150 ml. Se completó el volumen a 150 ml con etanol al 80% y se lo transfirió a un embudo de separación de 500 ml. Se agregaron 90 ml de agua deionizada y unos 40 ml de cloroformo. La fase inferior (conteniendo clorofilas y lípidos) se desechó. La operación se repitió varias veces usando cada vez 5 ml de cloroformo, hasta que la fase superior quedó incolora.

Se ajustó el pH a 7 con NH_4OH y se pasó el extracto a través de una columna de resina ácida tipo Amberlite 1R-120 de malla 30-50. La columna tenía 30 cm de largo con 1,4 cm de diámetro, siendo la altura de la resina 10 cm. El flujo fue regulado a 3 ml por minuto. Después que pasó todo el extracto, la columna fue lavada con etanol al 80% (100 ml) y agua deionizada (50 ml) en cantidades suficientes hasta que ya no hubo reacción positiva con cloruro férrico y nitrato de plata.

La elución de los aminoácidos se llevó a cabo con 25 ml de hidróxido de amonio 4 N, seguido por 15 ml de agua deionizada. El material eluido se recogió en un vaso de precipitación de 150 ml.

El extracto fue luego secado en el mismo vaso colocado sobre un plato que giraba a 6 rpm, accionado por un motor de tocadisco y bajo un flujo de aire caliente proveniente de un ventilador. La temperatura fue mantenida siempre cerca de 35°C , alejando o acercando el ventilador.

Una vez seco, se lo disolvió con 2 ml de acetona-agua (1:1) y se guardó en una refrigeradora a -18°C .

3.2.2 Cromatografía de papel

Para la determinación cualitativa y cuantitativa de aminoácidos se siguió el método usado por Fargas (29). El papel filtro usado fue de Whatman No. 1. Se aplicó una alícuota de 200 microlitros en el punto de partida. El primer solvente fue butanol-ácido acético-agua (4-1-1). Los papeles permanecieron en la cámara por 30-32 horas, dependiendo de la temperatura. Después de sacados de la cámara, se secaron por 24 horas. Como segundo solvente se utilizó fenol-agua (75-25). Después de asperjarse con ninhidrina al 0,2 %, disuelta en etanol al 95%, los colores se desarrollaron a $65-70^\circ\text{C}$ por 30 minutos en una atmósfera saturada

con etanol. Se recortaron las manchas coloreadas y se pesaron con una precisión de ± 1 mg. Cada mancha se cortó en trozos pequeños los que se colocaron en tubos de ensayo conteniendo 8 ml. de etanol al 50%.

Las lecturas colorimétricas se efectuaron entre 16 y 24 horas después de haberse realizado la elución. La transmisión de luz se leyó en un espectrofotómetro Coleman Junior modelo 6A, en una longitud de onda de 570 nm.

Se hicieron cromatogramas duplicados para cada extracto. Para fines de identificación se emplearon patrones de 12 aminoácidos, a una concentración de 1 mg/ml cada uno. Para la obtención de la curva de calibración se hicieron cromatogramas duplicados conteniendo 10, 20 y 50 μ l de cada solución patrón. Los resultados se emplearon para elaborar las curvas que fueron utilizadas para determinar las concentraciones en los extractos foliares.

No fue posible por esta técnica separar las manchas sobrepuestas de histidina, asparagina y arginina y las de metionina y valina.

La estimación de metionina y valina se hizo entonces por cromatografía bidimensional de capa delgada, según el método propuesto por Jones y Heathcote (41). En la preparación de la placa se utilizó Cellulose Powder MN300, manufacturado por Gallard Schlesinger Chemical Mfg. Corp. Como solvente se utilizó n-butanol-metil etil cetona-NH₃(d=0,98)-agua (50:30:10:10 v/v) en ambas direcciones de los cromatogramas. El revelado fue hecho con ninhidrina 0,3% en n-butanol. La evaluación fue hecha comparando las áreas de las manchas correspondientes de los dos aminoácidos.

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 Síntomas Visuales de la Deficiencia de Azufre

Las plantas de tomate son sensibles a la falta de azufre y muy rápidamente desarrollan síntomas con su deficiencia. Pocos días después de la germinación, las plantas en las macetas que no recibieron azufre presentaron clorosis en la región entre las nervaduras, quedando con un aspecto notablemente mosqueado. Posteriormente la clorosis se expandió y al cabo de pocos días toda la superficie de las hojas presentó amarillamiento. Las plantas de las macetas que recibieron azufre en cualquiera de los niveles tenían las hojas de color verde intenso. Además las hojas deficientes eran pequeñas y de aspecto coriáceo.

Estos síntomas fueron similares a aquellos descritos en otros trabajos (23, 53, 57). Sin embargo, las plantas deficientes no mostraron evidente desarrollo de antocianos en las hojas o tallos como lo afirmó Eaton (23), quien sostuvo que el desarrollo de antocianos en hojas jóvenes es un buen indicio de una deficiencia de azufre en tomate.

En general la deficiencia de azufre es muy semejante a aquella debida a la falta de nitrógeno (57). Pero debe recordarse que en el caso de azufre aparece primeramente en las hojas nuevas, mientras que la de nitrógeno en las viejas. Posiblemente debido a la extrema carencia de azufre en el suelo en que se realizó este trabajo, las plantas mostraron muy tempranamente los síntomas de la deficiencia, tanto en hojas nuevas como viejas. El tamaño de las plantas deficientes fue muy reducido y no se presentó alargamiento de los tallos, o sea que quedaron desde el inicio hasta el final del experimento de tamaño reducido y de color amarillento.

4.2 Producción de Materia Seca y Fresca

Las aplicaciones de azufre al suelo aumentaron significativamente la producción en peso seco y fresco (Figs. 1, 2; Cuadro 3) del vástago. Las macetas que no recibieron azufre presentaron producciones muy bajas comparadas con aquellas que lo recibieron. El peso seco y fresco incrementó exponencialmente con la cantidad de azufre en el suelo. Las plantas deficientes alcanzaron 13 g y 60 g de peso seco y fresco, respectivamente. Las dosis que permitieron los rendimientos máximos (calculados por las ecuaciones de respuestas) fueron 160 kg/ha para peso seco y 170 kg/ha de azufre para peso fresco, respectivamente. Estas dosis corresponden a las producciones de 22 g y 114 g para peso seco y fresco respectivamente. Dosis mayores que aquellas tendían a declinar las producciones, tanto en peso seco como en fresco. La tasa del incremento por unidad de azufre aplicado fue de 0,095 g para peso seco y 0,582 g para peso fresco.

4.3 Absorción y Formas de Azufre en la Planta

El efecto de los tratamientos sobre el contenido de azufre total, sulfatos y azufre en forma de aminoácidos libres en el vástago está representado en las Figuras 3, 4 y 5 y en el Cuadro 4. Puede verse que el porcentaje de azufre en el vástago fue notablemente afectado por los tratamientos. Con el aumento de la dosis de azufre aplicado al suelo aumentó su absorción por las plantas. Esta fue inicialmente muy grande en los niveles más bajos, con tendencia a estabilizarse en los niveles más altos. La respuesta fue exponencial en relación a las dosis aplicadas y el incremento en la absorción por unidad de azufre aplicado fue de 0,0201%.

Los datos demuestran que el contenido de azufre total en el vástago es un buen indicador de la disponibilidad de este elemento en el suelo. Tendencias

similares fueron observadas por varios investigadores (7, 18, 30).

Las cantidades de azufre en la forma de sulfatos también incrementaron con el aumento de azufre en el suelo; pero este incremento fue lineal. Su tasa fue de 0,01065 g/kg de azufre aplicado al suelo.

Resultados similares fueron obtenidos con respecto al azufre contenido en los aminoácidos libres. Las plantas que no recibieron azufre (testigo) acumularon cantidades mayores de este elemento en la forma de aminoácidos libres que en forma de sulfatos. La tasa de incremento por unidad de azufre añadido al suelo fue de 0,2234 µg y 0,01065 g para S-aminoácidos y sulfatos, respectivamente. Los datos indican que los sulfatos son una forma de acumulación de azufre de reserva en las plantas de tomate. Cuando la disponibilidad de azufre es limitante para el crecimiento, toda la cantidad absorbida es prontamente metabolizada. Este hecho fue comparado por la completa ausencia de sulfatos en las plantas testigo y por las grandes cantidades acumuladas en los niveles más altos.

Nightingale *et al.* (53) verificaron que los porcentajes de azufre orgánico total no difieren sustancialmente entre plantas de tomate deficientes y no deficientes en azufre; pero en las plantas no deficientes casi todo se encontró en forma de proteínas. Los mismos autores verificaron que cuando las plantas perdieron su fuente externa de azufre, hubo muy poco azufre proteico, pero mucho como azufre soluble pero no en forma de sulfatos.

Los datos de este trabajo difieren en algunos aspectos de los arriba mencionados. Nightingale *et al.* afirmaron que el azufre orgánico total no varía significativamente en las plantas deficientes y no deficientes. La Figura 6 muestra el contenido de azufre orgánico, calculado por la diferencia entre azufre total y sulfatos. El porcentaje de azufre orgánico en el testigo (0,37%) fue muy bajo en comparación con los niveles de 50, 100 y 150 kg/ha de azufre aplicado

al suelo. Sin embargo, en los niveles más altos tienden a decrecer otra vez, mientras que los sulfatos aún continúan aumentando. Nightingale *et al.* compararon solamente plantas en solución nutritiva con y sin azufre, no consideraron el efecto de diferentes concentraciones de azufre. Los mismos autores encontraron también que en las plantas que recibieron azufre, casi todo fue incorporado a las proteínas. Comparando las Figuras 4 y 6 se nota que las plantas que recibieron azufre (hasta niveles intermedios) presentaron grandes cantidades de azufre orgánico, pero con niveles más altos su concentración tiende a disminuir, mientras que las formas inorgánicas (sulfatos) presentaron tendencia lineal en relación al azufre aplicado. Apenas las plantas deficientes no presentaron formas inorgánicas, evidenciando que todo azufre absorbido fue metabolizado. Aún más, las cantidades de proteínas (Figuras 9, 10 y Cuadro 6) no variaron significativamente con los tratamientos, lo que indica una capacidad limitada de síntesis de proteínas y consecuentemente de metabolización de azufre.

Nightingale *et al.* también encontraron que cuando las plantas de tomate fueron sometidas a condiciones de deficiencia, había poco azufre proteico pero mucho azufre orgánico soluble. La Figura 4 muestra que en el presente experimento las plantas deficientes en azufre presentaron completa ausencia de sulfatos, mientras que los porcentajes de proteínas no difieren de aquellas plantas que recibieron azufre. Esto es lógico, puesto que los sulfatos son una forma de reserva de azufre en las plantas.

En el presente trabajo sólo se determinó las cantidades de azufre orgánico total y no específicamente el azufre proteico. Las cantidades de azufre en aminoácidos libres fueron relativamente grandes (63 $\mu\text{g/g}$ peso fresco) en las plantas deficientes, hecho que concuerda plenamente con Nightingale *et al.*

4.4 Absorción y Formas de Nitrógeno en la Planta

Los efectos de los tratamientos sobre el contenido de nitrógeno total, nitrógeno soluble, nitrógeno proteico y aminoácidos se encuentran en las Figuras 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, y los Cuadros 5 y 6.

Hubo marcada acumulación de nitrógeno total en las plantas deficientes de azufre. Las plantas testigo presentaron un promedio de 1,59% de nitrógeno total sobre la base de peso seco. Sin embargo, cuando las plantas recibieron azufre, el contenido de nitrógeno bajó rápidamente. Con 50 kg de azufre, por hectárea el porcentaje fue de 0,71% y se mantuvo prácticamente constante en los demás niveles de azufre. Resultados similares fueron obtenidos para nitrógeno soluble. Las plantas deficientes tenían un promedio de 0,99% y con la aplicación de 50 kg de S/ha este promedio bajó significativamente a 0,16% y se mantuvo constante en los demás niveles.

Las variaciones del nitrógeno proteico (calculado en porcentaje del residuo centrifugado que se obtuvo después de la extracción de los aminoácidos, amidas y otras formas solubles) aparecen en la Figura 9 y Cuadro 3. No hubo diferencias significativas entre los tratamientos, a pesar de que las plantas testigo produjeron poco peso fresco y seco. Este resultado fue confirmado, cuando se calculó nitrógeno proteico por la diferencia entre nitrógeno total y nitrógeno soluble (Figura 10), ambos expresados en porcentaje de peso seco.

La composición de los aminoácidos libres está indicada en las Figuras 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 y 18 y en el Cuadro 5. Los resultados indican que plantas deficientes en azufre acumulan grandes cantidades de aminoácidos y amidas. Entre éstos predominan: lisina, triptofano, serina, glicina, glutamina, tirosina y valina. El grupo asparagina+histidina+arginina, no fue posible separarlo por cromatografía de papel. Pero en las plantas deficientes la coloración

ladrillo típica de la asparagina fue bastante intensa, mostrando claramente su acumulación.

Metionina y valina tampoco pudieron ser separados por el método cromatográfico empleado, pero se logró estimarlos por cromatografía bidimensional en capa delgada. Esta estimación fue hecha a través del área de las manchas (58). En las plantas testigos se verificó que la mancha correspondiente a metionina era extremadamente débil o casi imperceptible, mientras tanto que en los demás tratamientos fueron bastante visibles pero no se notó gran variación entre los tratamientos que recibieron azufre.

La aplicación de azufre al suelo bajó drásticamente el contenido de aminoácidos y amidas, mientras que la cistina aumentó hasta el tratamiento de 200 kg/ha y bajó después. Los aminoácidos: alanina, tirosina, ácido aspártico y ácido glutámico no variaron significativamente. En niveles muy altos de azufre aplicado al suelo hubo cierta tendencia de acumularse lisina, serina, glicina y el conjunto histidina+glutamina+arginina.

Nightingale *et al.* (53) explicaron que la acumulación de nitratos es debido a su deficiente asimilación o sea que su reducción a otros compuestos fue inhibido. Un buen apoyo a esta teoría fue el hecho descubierto por Ecker-son (25) que la actividad de reductasas es baja en condiciones de deficiencia de azufre.

En general, la reducción de nitratos es acompañada por la oxidación de azúcares y síntesis de aminoácidos (23, 24, 53). Como consecuencia plantas deficientes en azufre deberían presentar altos contenidos de hidratos de carbono, a la vez que la reducción de nitratos es baja. Varios trabajos demostraron la acumulación de hidratos de carbono debido a la deficiencia de azufre (23, 24, 53).

En el presente trabajo se comparó por la prueba de Fehling plantas normales y deficientes. Las plantas deficientes mostraron gran acumulación de azúcares reductores y además presentaron aspecto coriáceo que es un fuerte indicio de acumulación de hidratos de carbono (53). Se verificó también la acumulación de aminoácidos y amidas en las plantas deficientes. Posiblemente hubo disminución de la actividad de reductasas, pero no fue completa su inhibición.

Eaton (23), trabajando con tomate, llegó a la misma conclusión, esto es, que encontró acumulación de hidratos de carbono, amidas, aminoácidos y nitratos en los tallos. Lo explicó debido a dos procesos: Disminución de la actividad de las reductasas y proteólisis. La baja actividad de las reductasas explicaría la acumulación de almidón, amidas y sacarosa, mientras que la proteólisis sería responsable para la acumulación de aminoácidos, amonía y también de amidas. Cantidades considerables de amidas se deben posiblemente también a la poca síntesis de proteínas en las plantas deficientes en azufre. El mismo autor afirmó que usualmente los hidratos de carbono disminuyeron cuando la proteólisis estaba interferida y se acumularon cuando había baja actividad de las reductasas.

En el presente estudio, para el análisis de nitrógeno proteico, no se separaron hojas y tallos, como también no hubo fraccionamiento de las proteínas. Los resultados indican que el nitrógeno proteico en el vástago no fue afectado por la deficiencia de azufre. Ergle y Eaton (26) demostraron que en algodón las hojas deficientes en azufre presentaron bajo contenido de nitrógeno proteico, pero los tallos mostraron más proteínas cuando fueron deficientes. Mertz y Matsumoto (49) encontraron que en alfalfa la deficiencia de azufre disminuyó algunas proteínas mientras aumentó otras. Ergle y Eaton (26) obtuvieron alguna evidencia de que las plantas de algodón podrían reutilizar el azufre oriundo de la proteólisis.

Es posible que los dos procesos, la proteólisis y la disminución de la actividad de las reductosas actúen simultáneamente en las plantas de tomate deficientes en azufre. Desafortunadamente no fue posible en el presente trabajo determinar la intensidad de cada proceso. La falta de reducción de los contenidos de nitrógeno proteico y el bajo desarrollo de las plantas deficientes, sugieren la reutilización del azufre producido por la proteólisis.

Mertz y Matsumoto (49) encontraron que en alfalfa, deficiente en azufre, hubo gran acumulación de aminoácidos y amidas. Entre los aminoácidos tanto la asparagina como el ácido glutámico fueron los que más se acumularon. Estos autores postularon que la acumulación de arginina pueda estar relacionada con el metabolismo de los ácidos aspártico y glutámico. El ácido glutámico es precursor de la ornitina, citrulina y arginina. Para la transformación de citrulina en arginina, el átomo de nitrógeno añadido se origina del ácido aspártico. En condiciones de deficiencia de azufre hay aumento en la asparagina, lo que favorece esta transaminación.

Si este mecanismo es verdadero, el ácido glutámico tendría que disminuir mientras la arginina aumentaría en plantas deficientes en azufre. En el presente trabajo no hubo acumulación de ácido glutámico, pero no fue posible determinar exactamente las cantidades de arginina. A pesar de que la diferencia entre los Rf de arginina y asparagina es muy pequeña, se verificó que en la posición correspondiente a la arginina la mancha fue bastante intensa en las plantas deficientes. Además fue posible comprobar la acumulación por la coloración típica cuando se usa ninhidrina (asparagina da color ladrillo y arginina azul). Es posible, por lo tanto, que este mecanismo también funcione en plantas de tomate deficientes en azufre.

En los niveles intermedios (100, 150, 200 kg/ha) de azufre, las cantidades de aminoácidos libres y amidas fueron en general bajas, pero con niveles altos (250 kg/ha) hubo tendencia definitiva de aumentar; así en el caso de: lisina, serina, glutamina, glicina, y el grupo histidina, asparagina, arginina, mientras que cistina disminuyó. El peso seco y fresco reflejaron la misma tendencia en los niveles altos. Estos datos sugieren que altas concentraciones de azufre en el suelo alteran el metabolismo de las plantas.

4.5 Contenidos de P, K, Ca, Mg y Mn en el Vástago

Los resultados de los análisis foliares para P, K, Ca, Mg, Mn son representados en las Figuras 19, 20, 21, 22, 23 y en los Cuadros 7 y 8.

Las plantas deficientes en azufre mostraron una acumulación fuerte de fósforo en el vástago pero con las aplicaciones de azufre al suelo existe una tendencia de hacer decrecer rápidamente el contenido de fósforo. Esta correlación fue observada hasta el nivel de 150 kg/ha de azufre. Sin embargo, en los niveles más altos hubo otra vez cierta tendencia de un aumento en el porcentaje de fósforo en el vástago.

Resultados similares fueron observados en los casos de Ca y Mg, pero no hubo tendencia de acumular estos elementos en niveles elevados (250 kg/ha) de azufre.

Potasio y manganeso no variaron significativamente entre los tratamientos.

La acumulación de fósforo por las plantas deficientes en azufre se explica posiblemente por la necesidad de azufre para el metabolismo del fósforo. Nim-gade (54) sugirió un efecto antagónico entre fósforo y azufre.

Las cantidades de fósforo aplicado por maceta fueron iguales en todos los tratamientos; pero en las plantas que no recibieron azufre, comparado con aquellas

que si lo recibieron, el desarrollo normal del vástago fue reducido. Como la deficiencia de azufre afecta más el vástago que el sistema radical (53) y las cantidades de fósforo son fijas para cada maceta, es lógico suponer que las plantas que recibieron azufre presentaron bajos porcentajes de fósforo, debido a que las cantidades de este elemento fueron limitantes para las plantas que presentan un desarrollo fuerte. Sin embargo, esta hipótesis no explicaría la tendencia de acumular fósforo en las plantas que se desarrollaron con altos niveles de azufre. Nimgade (54) verificó que la aplicación al suelo de 2000 pp2m de azufre en forma de polvo fino, juntamente con roca fosfatada, incrementó sustancialmente la disponibilidad de fósforo para las plantas. Es posible que por aplicaciones elevadas de azufre al suelo y por la acción de microorganismos, hubo liberación de ácido sulfúrico. El ácido reaccionó con minerales fosfatados del suelo, incrementando así la disponibilidad de fósforo para las plantas.

Las tendencias para Ca y Mg son consistentes con varios trabajos (22, 36). Nightingale *et al.* (53) afirmaron que plantas de tomate deficientes en azufre presentan algunas veces altas concentraciones de calcio, lo que se debe aparentemente a grandes depósitos de oxalato de calcio, especialmente en el floema.

Las cantidades absolutas de P, Ca y Mg (pesos secos multiplicados por porcentajes) son presentadas en el Cuadro 8.

Las plantas normales absorbieron más fósforo, calcio y magnesio que las plantas deficientes. Posiblemente las acumulaciones fueron debidas a la mayor disponibilidad de estos elementos para las plantas deficientes.

5. CONCLUSIONES

- 1- Los síntomas de deficiencia de azufre se desarrollan rápidamente. Al comienzo se apreció una clorosis entre las nervaduras y al cabo de pocos días todas las hojas estaban cloróticas, los tallos son pequeños y de color amarillento, pero no hubo desarrollo marcado de antocianos.
- 2- Las aplicaciones de azufre aumentaron el peso seco y fresco hasta las dosis de 160 y 170 kg/ha, respectivamente. Dosis mayores que éstas tendían a decrecer la producción de peso seco y fresco.
- 3- El contenido de S-total, sulfatos y S-aminoácidos libres incrementaban con las aplicaciones de azufre. El azufre total tendía a declinar con dosis altas de azufre aplicado al suelo, mientras que sulfatos y S-aminoácidos no presentaron disminución dentro de los niveles estudiados. Los datos evidencian que sulfatos y S-aminoácidos libres son formas de reserva de azufre en la planta.
- 4- Hubo marcada acumulación de N-total, N-soluble, N-aminoácidos libres, pero N-proteico no varió significativamente entre los tratamientos. Los datos fueron interpretados por dos procesos actuando simultáneamente: Proteólisis y disminución de la actividad de las reductasas. Es posible que la acumulación de arginina esté involucrada con el metabolismo de ácidos aspártico y glutámico.
- 5- La tendencia de acumular aminoácidos, fósforo y disminución del peso seco y fresco en niveles elevados de azufre, sugieren alteraciones en el metabolismo de la planta.

6- Las plantas deficientes presentaron altos contenidos de P, Ca y Mg. Los resultados fueron interpretados por: Necesidad de azufre para el metabolismo de estos elementos; Efecto antagónico; Efecto de dilución dentro de la planta, pero más de un proceso puede estar involucrado al mismo tiempo.

6. RESUMEN

Este trabajo fue llevado a cabo en un invernadero utilizando suelo de la Provincia de Guanacaste, Costa Rica, reconocidamente deficiente en azufre. Se hicieron aplicaciones de azufre equivalentes a 0, 50, 100, 150, 200, 250 kg/ha. Como planta indicadora se utilizó tomate y se cosechó a los 45 días.

Las plantas que no recibieron azufre presentaron síntomas típicos de la deficiencia: Hojas cloróticas pequeñas y coriáceas, crecimiento reducido y tallos delgados.

Los rendimientos de peso seco y fresco tendían a aumentar con las aplicaciones de azufre. La absorción de azufre aumentó de modo exponencial mientras que sulfatos y S-aminoácidos incrementaron de modo lineal.

Las plantas deficientes en azufre acumularon cantidades considerables de N-total, N-soluble, aminoácidos, P, Ca, Mg y azúcares. Posiblemente dos procesos son responsables por la acumulación de nitrógeno y azúcares: Proteólisis y disminución de la actividad de las reductasas.

Con las aplicaciones de azufre hubo tendencia de disminución del contenido de las sustancias citadas, pero en la dosis elevada (250 kg/ha) hubo evidente tendencia a acumular aminoácidos y fósforo, mientras que los pesos seco y fresco disminuyeron.

6a. SUMMARY

This work was carried out in a greenhouse using soil from the Province of Guanacaste, Costa Rica, which is known for its sulphur deficiency. Sulphur applications were made equivalent to 0, 50, 100, 150, 200 and 250 kg/ha. Tomato was used as the test plant and it was harvested when 45 days old.

The plants which did not receive sulphur presented the symptoms typical of the deficiency: Small, coriaceous, chlorotic leaves, stunted growth and thin stems.

The dry and fresh weight yields tended to increase with the sulphur applications. The sulphur absorption increased in an exponential manner while the sulphates and S-amino acids increased in a linear manner.

Sulphur deficient plants accumulated considerable quantities of total N, soluble N, amino acids, P, Ca, Mg and sugars. Two processes are possibly responsible for the accumulation of nitrogen and sugars: Proteolysis and a decrease in the reductases activity.

There was a tendency to decrease the contents of the mentioned substances with the sulphur applications, but in the high dose (250 kg/ha) there was an evident tendency to accumulate amino acids and phosphorus, while the dry and fresh weights decreased.

7. LITERATURA CITADA

1. ADAMS, C. A. A. y RINNE, R. W. Influence of age and sulphur metabolism on ATP-sulfurilase activity in the soy bean and a survey of selected species. *Plant Physiology* 14(9):1242-1246. 1969.
2. ALEX, S. Sulphur-selenium antagonism. I. Antimetabolite action of selenats on the growth of *Chlorella vulgaris*. *American Journal of Botany* 41(3): 223-230. 1954.
3. ALEXANDER, M. Introduction to soil microbiology. New York, Wiley, 1961. 472 p.
4. ALLAWAY, W. H. y THOMPSON, J. F. Sulphur in nutrition of plant and animal. *Soil Science* 101(4):240-247. 1966.
5. ASHFORD, R. y BOLTON, J. L. Effect of sulphur and nitrogen fertilization and inoculation with *Rhizobium meliloti* on the growth of sweet clover (*Helilotus alba ders*). *Canadian Journal of Plant Science* 41(1):81-90. 1961.
6. ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. Methods of analyses of the Association of Official Agricultural Chemists. Washington, 1955. 1008 p.
7. ATTOE, O. J. y OLSON, R. A. Factors affecting rate of oxidation in soil of elemental sulfur and that added in rock phosphate-sulfur fusions. *Soil Science* 101(4):317-325. 1966.
8. BEATON, J. D. Sulfur requirements of cereals, tree fruits, vegetables, and other crops. *Soil Science* 101(4):267-282. 1966.
9. BERTRAMSON, B. R. *et al.* Sulfur studies of Indiana, soil and crops. *Soil Science* 70(1):27-40. 1950.
10. BLACKBURN, S. Amino acid determination and techniques. New York, Marcel Dekker, 1968. 271 p.
11. BOUMA, D. y DOWLING, E. J. The physiological assessment of the nutrient status of plant. IV. The effects of the interaction between nutrient elements on the leaf area responses. *Australian Journal of Agricultural Research* 18(2): 223-233. 1967.
12. BRUPBACHER, R. H. y SEDBERRY, Jr., J. E. Effects of magnesium and sulphur on growth and chemical composition of clover on fourteen coastal plain soils in Louisiana. Louisiana Agricultural Experiment Station, Bulletin 599. 1965. 19 p.
13. BRZOZOWSKA, J. y HANOWER, P. Absorption and distribution of ³⁵S in some tropical crops. I. *Grówniet. O liagineux* 19(11):663-672. 1964.

14. CAIRNS, R. R. y CARSON, R. B. Effect of sulphur treatments on yield and nitrogen and sulphur content of alfalfa grown on sulphur deficient and sulphur sufficient grey wooded soils. Canadian Journal of Plant Science 41(4): 709-715. 1961.
15. CHAO, T. T. Ammoniac effects on sulphate adsorption by soils. Soil Science Society of America Proceedings 28(4):581-583. 1964.
16. _____, HARWARD, H. E. y FANG, S. C. Iron or aluminum coating in relation to sulfate adsorption characteristic of soil. Soil Science Society of America Proceedings 28(5):632-635. 1964.
17. CHAPMAN, H. D. y LIEBIG Junior, G. F. Nitrate concentration and ion balance in relation to citrus nutrition. Hilgardia 13(4):141-174. 1940.
18. CHOPRA, S. L. y KANWAR, J. S. Effect of sulphur fertilization on the chemical composition and nutrient uptake by legumes. Journal of Indian Society of Soil Science 14:69-76. 1966.
19. COLEMAN, R. The importance of sulphur as a plant nutrient in world crop production. Soil Science 101(4):230-239. 1966.
20. DELGA, A. M. y TOUZÉ, A. Repercussion de quelques cauces en macro-éléments (S, Mg, P, K) sur les métabolismes. Comptes Rendus des Seances de l'Académie des Sciences, Paris 263D(12):876-879. 1966.
21. DIAZ-ROMEY, R. y BALERDI, F. Determinación de la capacidad de intercambio iónico del suelo. Turrialba, IICA, 1969. 2 p. (mimeo)
22. DILLEY, D. R. *et al.* Growth and nutrient absorption of apple, cherry, peach and grape plants as influenced by various levels of chloride and sulfate. Proceedings of American Society of Horticultural Science 72:64-78. 1958.
23. EATON, S. V. Effects of sulphur deficiency on growth and metabolism of tomato. Botanical Gazette 112(1):300-307. 1951.
24. _____. Influence of sulphur deficiency on the metabolism of the soy bean. Botanical Gazette 97:68-100. 1935.
25. ECKERSON, S. H. Conditions affecting nitrate reduction in plant. Contribution from the Boyce Thompson Institute 4:119-130. 1932.
26. ERGLE, D. R. y EATON, F. M. Sulphur nutrition of cotton. Plant Physiology 26(4):639-654. 1957.
27. ESPINOZA, M. F. Informe preliminar sobre la deficiencia de azufre en El Salvador. Instituto Salvadoreño del Café. Boletín Informativo. Suplemento 24. 1966. 25 p.
28. ESTER, G. O. y LAUSMAN, H. W. Some effect of sulphur-magnesium ratio on the potato plant. American Potato Journal 38:43-50. 1961.

29. FARGAS, J. A. Influencia de algunas deficiencias minerales sobre el contenido de sustancias nitrogenadas simples en hojas de café. Tesis Mag. Agr. Turrialba, IICA. 1963. 49 p. (mimeo)
30. FOX, R. L. *et al.* Factors influencing the availability of sulphur fertilizer to alfalfa and corn. Soil Science Society of America Proceedings 28(3): 406-408. 1964.
31. _____, OLSON, R. A. y RHOADES, H. F. Evaluating the sulfur status of soil by plant and soil test. Soil Science Society of America Proceedings 28(2): 243-246. 1964.
32. FRENEY, J. R. y STEVENSON, F. J. Organic sulfur transformations in soil. Soil Science 101(4):307-316. 1966.
33. GUPTA, S. M. B. y CORNFIELD, D. H. Effect of four acidifying materials added to a calcareous soil on the availability of phosphorus to ryegrass. Plant and Soil 21(3):388-390. 1964.
34. HAIS, I. M. y MACEK, K. Paper chromatography a comprehensive treatise. New York, Academic Press, 1963. 955 p.
35. HANOWER, P. y BRZOZOWSKA, J. Evolution de l'arginine libre chez l'arachide déficient ou non en soufre. Comptes Rendus des Séances de l'Académie des Sciences, Paris 263 D(25):1969-1972. 1966.
36. HARWARD, M. E. *et al.* The relationship of chloride and sulfate ion to form of nitrogen in the nutrition of irish potato. Soil Science Society of America Proceedings 20(2):231-236. 1956.
37. _____ y REISENAUER, H. M. Reaction and movement of inorganic soil sulphur. Soil Science 101(4):326-335. 1966.
38. JACKSON, M. L. Chemical composition of soils. In Bear, F. E., ed. Chemistry of the Soil. New York, Chapman. 1964. pp. 71-134.
39. JOHNSON, C. M. y NISNITAH. Micro estimation of sulfur in plant materials, soil and irrigation water. Analytical Chemistry 24(4):736-742. 1952.
40. _____ y ULRICH, D. Determination of nitrate in plant materials. Analytical Chemistry 22(12):1526-1529. 1950.
41. JONES, K. y HEATHCOTE, J. G. The rapid resolution of naturally occurring amino acids by thin-layer chromatography. Journal of Chromatography 24:106-111. 1966.
42. JORDAN, H. V. Sulfur as a plant nutrient in the Southern United States. U. S. Department of Agriculture Technical Bulletin no. 1297. 1964. 45 p.
43. LEGGETT, J. E. y EPSTEIN, E. Kinetics of sulfate absorption by barley roots. Plant Physiology 31(3):222-226. 1956.

44. LLANOS, L. R. Estudio del movimiento, adsorción y desorción de sulfatos en suelos tropicales. Tesis Mag. Agr. Turrialba, IICA. 1966. 62 p. (mimeo).
45. McCLUNG, C. A. *et al.* Analisis of several Brazilian soils in relation to plant responses to sulphur. Soil Science Society of America Proceedings 23(3):221-224. 1959.
46. McKELL, C. A. y WILLIAMS, W. A. A lysimeter study of sulphur fertilization of an annual rangeland soil. Journal of Range Management 13(3):113-117. 1960.
47. McLACHLAN, K. D. The occurrence of sulphur deficiency on a soil of adequate phosphorus states. Australian Journal of Agricultural Research 3(2): 125-127. 1952.
48. MARTIN, W. E. y WALKER, T. W. Sulfur requirements and fertilization of pasture and forage crops. Soil Science 101(4):248-257. 1966.
49. MERTZ, E. T. y MATSUMOTO, J. Further studies on the amino acids and proteins of sulfur-deficient alfalfa. Archives Biochemistry and Biophysics 63: 50-63. 1956.
50. MUELLER, L. E. Deficiencia de azufre en algunos suelos de Centro América. Turrialba 15(3):208-215. 1965.
51. _____ Un aparato micro-Kjeldahl simple para analisis rutinarios rápidos de materias vegetales. Turrialba 11(1):17-25. 1961.
52. NELLER, J. R. Sulfur versus phosphorus for soil in pasture of Florida. Soil Science Society of Florida, Proceedings 12:123-127. 1952.
53. NIGHTINGALE, G. I. *et al.* Effects of sulfur deficiency on metabolism in tomato. Plant Physiology 2(4):565-595. 1932.
54. NINGADE, N. M. Effect of mixing rock phosphate with molten sulphur on phosphorus availability. In International Congress of Soil Science, 9th, Adelaide, 1968. Transactions. Sydney, Halstead, 1968. v.2, pp. 765-774.
55. PARR, J. F. y PAPENDICK, R. I. Agronomic effectiveness of anhydrous ammonia-sulfur solution. Soil Science 101(4):336-345. 1966.
56. PARUSP, E. *et al.* Growth and composition of leaves and roots of montmorency cherry tree in relation to the sulfate and chloride supply in nutrient solution. American Society of Horticultural Science 71:135-144. 1958.
57. PURVIS, E. R. y CARDLU, R. L. Nutrient deficiencies in vegetable crops. In Sprague, H. B., ed. Hunger signs in crops. New York, McKay, 1964. pp. 245-275.
58. RANDERATH, K. Thin-layer chromatography. Translated from the German by Libman, D. D. New York, Academic Press, 1963. 250 p.

59. RENDIG, V. V. y McCOMB, E. D. Effect of plant composition. I. The evaluation of added nitrogen with varying sulphur supply. Soil Science Society of America Proceedings 23(5):377-380. 1959.
60. _____ y McCOMB, E. A. Effects of nutritional stress on plant composition. II. Change in sugar and amide nitrogen content of normal and sulfur-deficient alfalfa during growth. Plant and Soil 14(2):176-186. 1961.
61. SELMAN, I. W. *et al.* Changes in the free amino acid and amides in tomato plant inoculated in the tomato spotted wilting virus. Annals of Applied Biology 49(4):601-615. 1961.
62. SOOFI, C. S. y FUEHRING, H. D. Nutrition of corn on a calcareous soil. I. Interrelationship of N, P, K, Mg and S on the growth and composition. Soil Science Society of America Proceedings 28:76-78. 1964.
63. SPENCER, K. Soil properties in relation to the sulfur and phosphorus status of some basaltic soils. Australian Journal of Soil Research 4:115-130. 1960.
64. STARNEY, R. L. Oxidation and reduction of sulfur compounds in soils. Soil Science 101(4):297-306. 1966.
65. STEWART, B. A. y PORTER, L. K. Nitrogen-sulfur relationships in wheat (*Triticum aestivum* L.), corn (*Zea mays*), and beans (*Phaseolus vulgaris*). Agronomy Journal 61(2):267-271. 1969.
66. SUTCLIFFE, J. F. Mineral salt absorption in plant. New York, Pergamon Press, 1962. 194 p.
67. THOMAS, M. D. Assimilation of sulfur and physiology of essential S-compounds. In Ruhland, W., Handbuch der Pflanzenphysiologie. Berlin, Springer-Verlag. 1959. v. 9, pp. 37-63.
68. _____ *et al.* Sulfur metabolism in alfalfa. Soil Science 70(1):19-26. 1950.
69. THOMPSON, J. F. *et al.* The effects of mineral supply on the amino acid composition of plant. Qualitas Plantarum et Material Vegetabile 6(1):261-275. 1960.
70. TISDALE, S. L. *et al.* Methionine and cystine content of two strains of alfalfa as influenced by deficient concentration of the sulphate ion. Agronomy Journal 42(5):221-223. 1950.
71. _____ y NELSON, W. L. Soil fertility and fertilizers. New York, MacMillan 1968. 694 p.
72. TORII, K. y FUJIWARA, A. Physiology of sulphate in higher plants. II. Uptake and translocation of radioactive sulfate in sulphur deficient plants. Tohoku Journal of Agricultural Research, 17(1):99-99. 1966.

73. TORIO, J. C. The influence of nutrition on the incidence of fruit rot in canbury, *Vaccinium macrocarpon* Ait. Dissertation Abstracts 5636. 1965.
74. VLAMIS, J. y GOWANS, K. D. Availability of nitrogen, phosphorus and sulfur after brush burning. *Journal of Range Management* 14(1):38-40. 1961.
75. WILLIAMS, C. H. Nitrogen, sulphur, and phosphorus their interaction and availability. In Jacks, G. V., ed. *Soil Chemistry and Fertility*. Aberdeen, Scotland, International Society of Soil Science, 1967. pp. 93-111.
76. WILLIAMS, W. A. *et al.* Sulfur fertilization of an annual ranger soil during year of below-normal rainfall. *Journal of Fange Management*, 17(1):1-5. 1964.

APENDICE

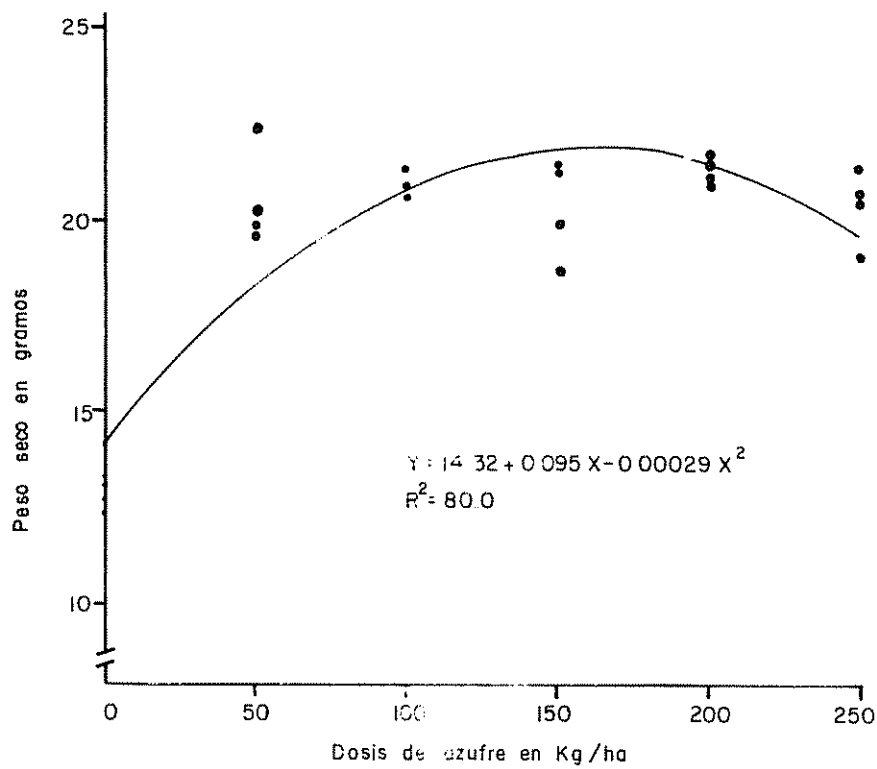


Fig. 1 Rendimiento de peso seco de plantas de tomate en relación a la cantidad de azufre aplicada

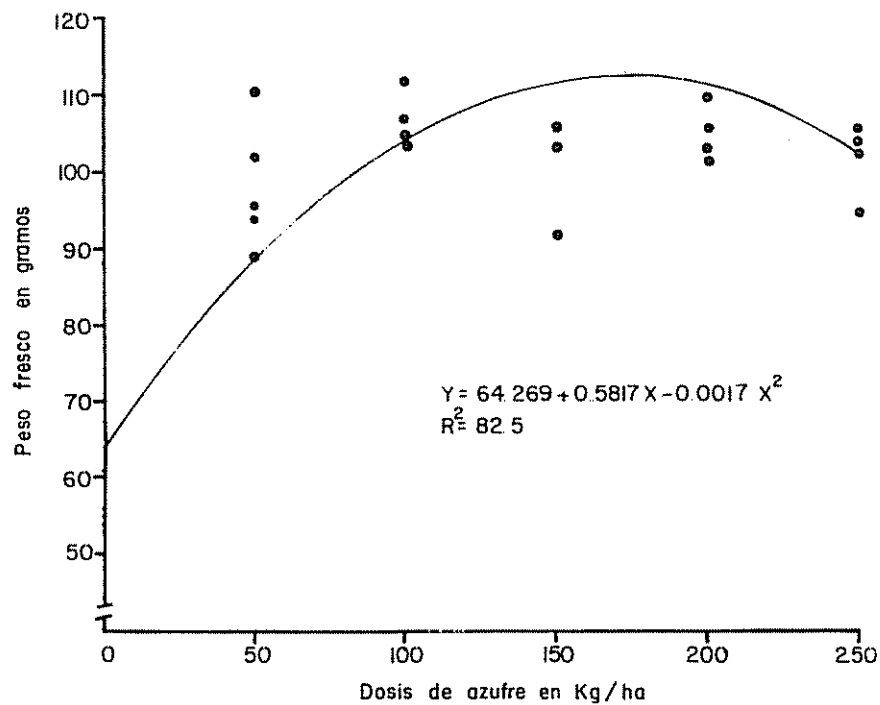


Fig. 2 Rendimiento de peso fresco de plantas de tomate en relación a la cantidad de azufre aplicada

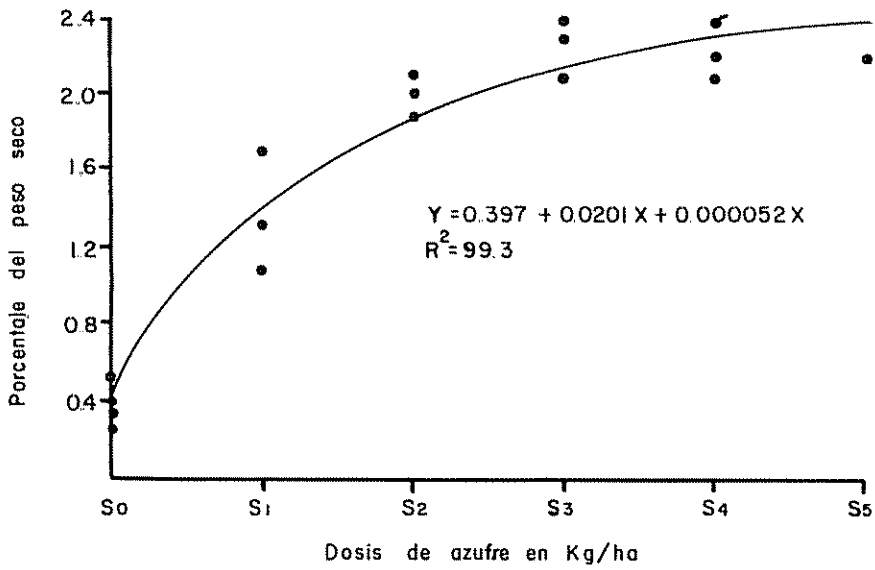


Fig. 3 Contenido de S-total en el vástago de plantas de tomate en relación a la cantidad de azufre aplicada

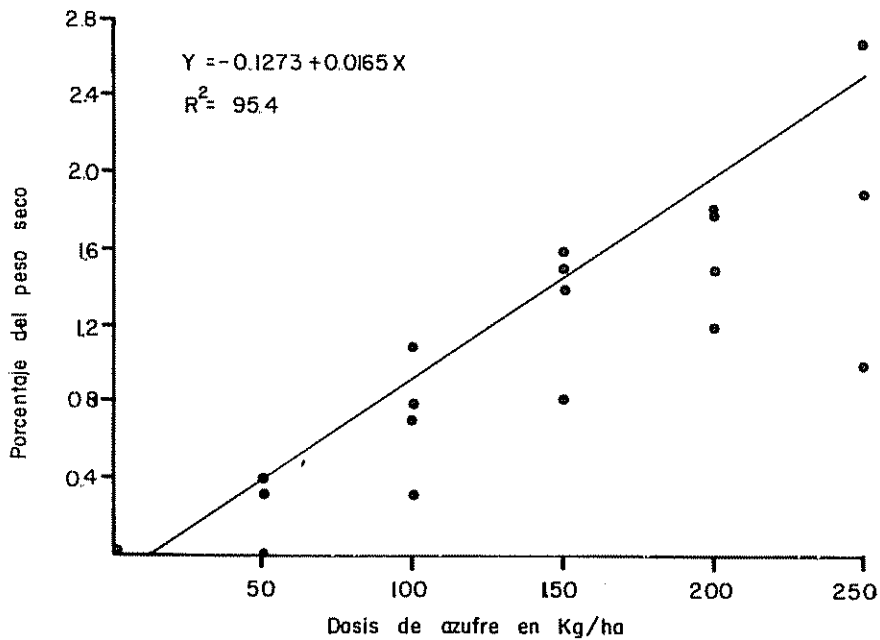


Fig. 4 Contenido de sulfato en el vástago de plantas de tomate en relación a la cantidad de azufre aplicada

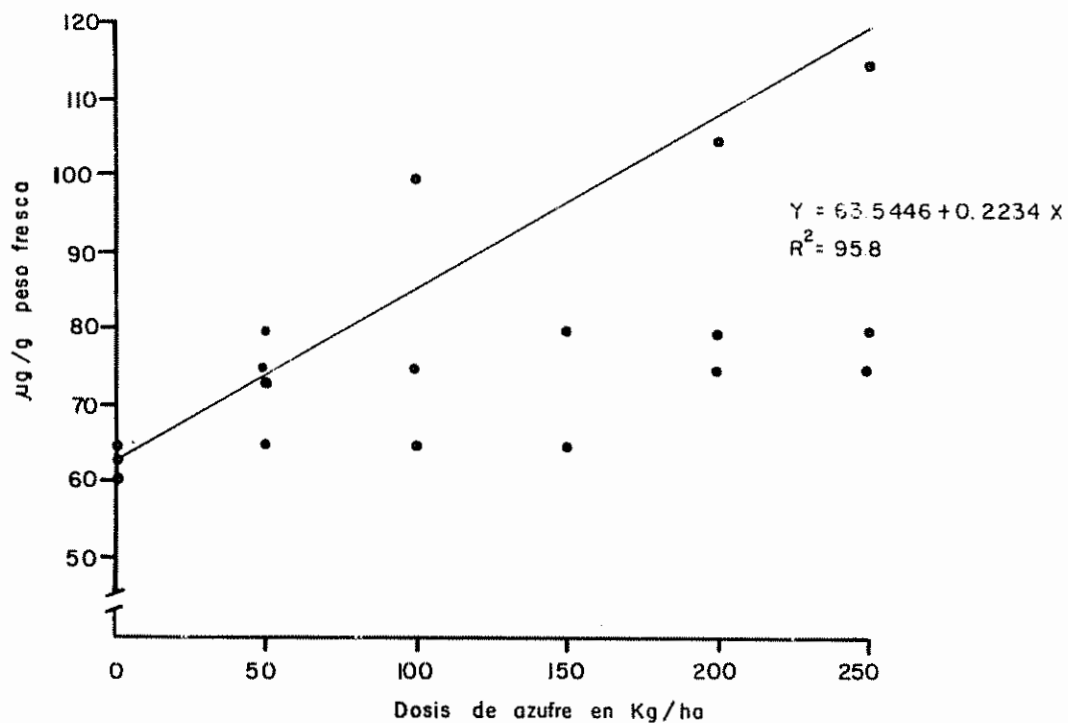


Fig. 5 Contenido de S- en aminoácidos libres de hojas de plantas de tomate en relación a la cantidad de azufre aplicada

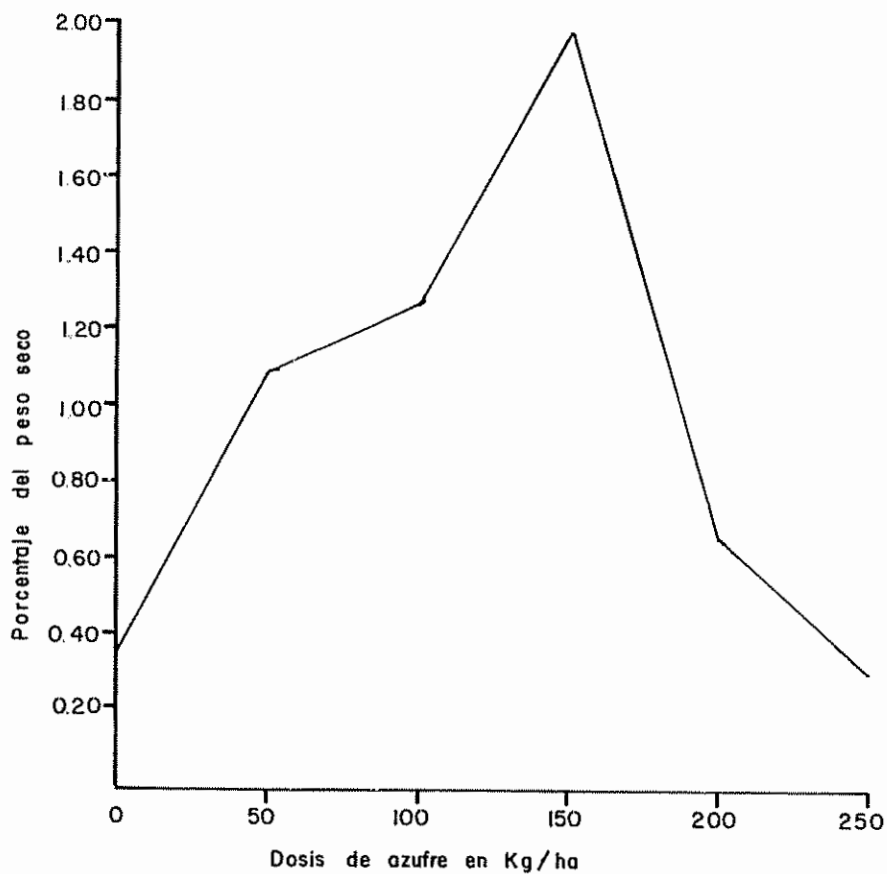


Fig. 6 Contenido de S-orgánico total en el vástago de plantas de tomate en relación a la cantidad de azufre aplicada

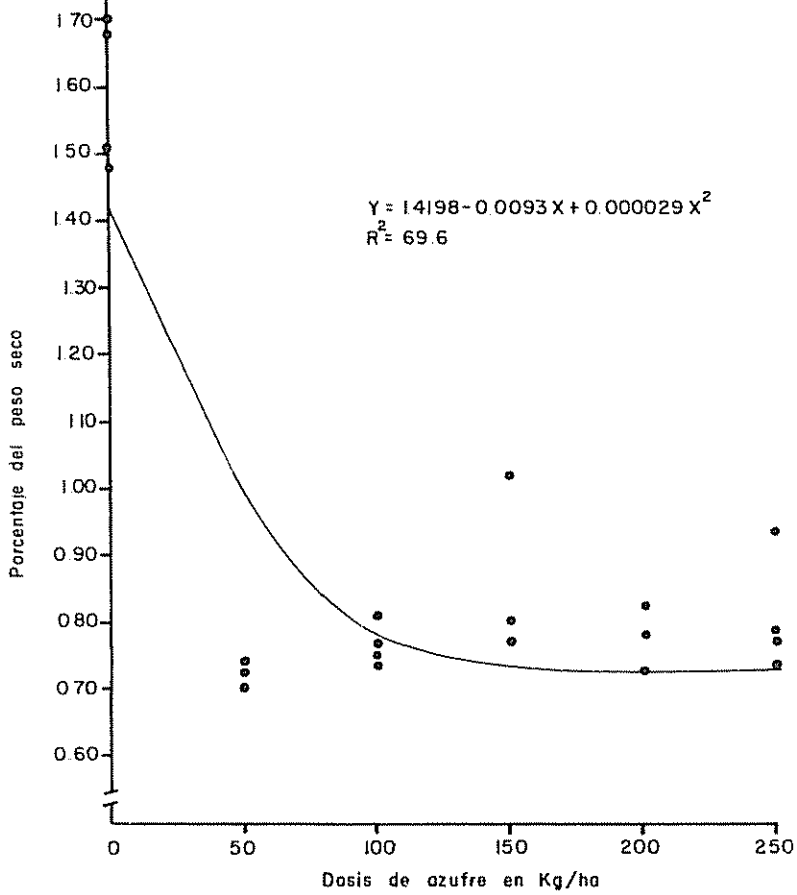


Fig. 7 Contenido de N-total en el vástago de plantas de tomate en relación a la cantidad de azufre aplicada

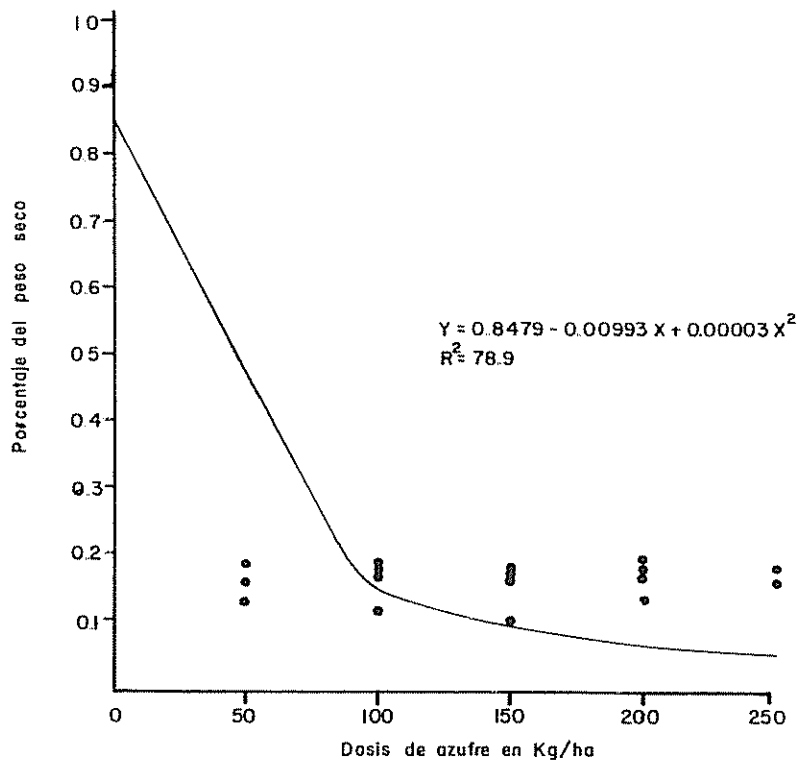


Fig. 8 Contenido de N-soluble en el vástago de plantas de tomate en relación a la cantidad de azufre aplicada

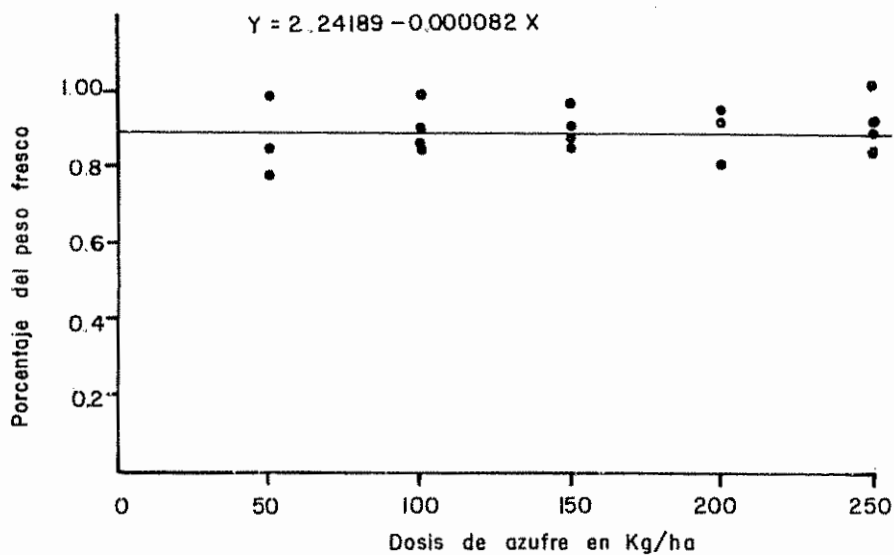


Fig. 9 Contenido de N-proteico en hojas de tomate en relación a la cantidad de azufre aplicada

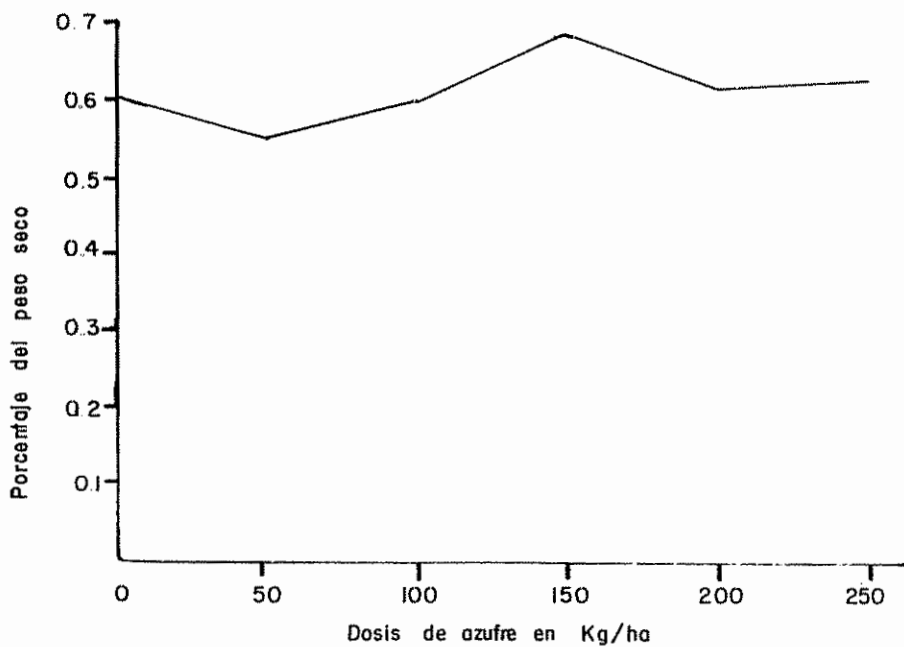
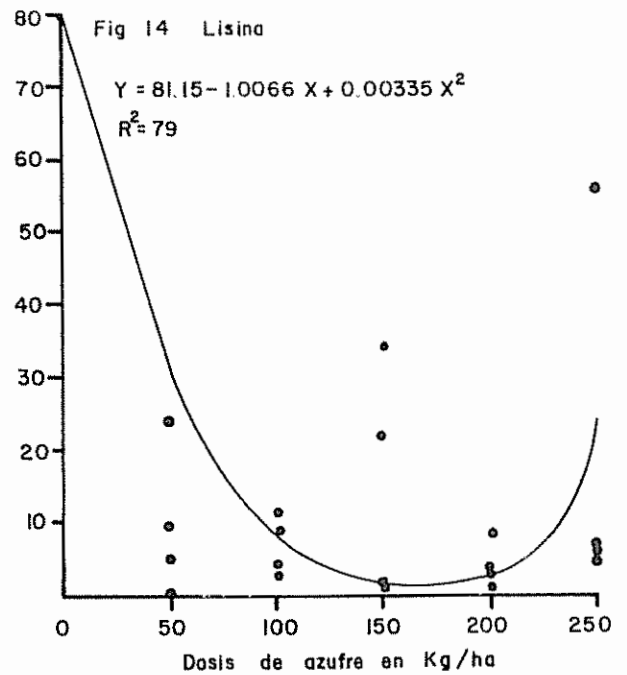
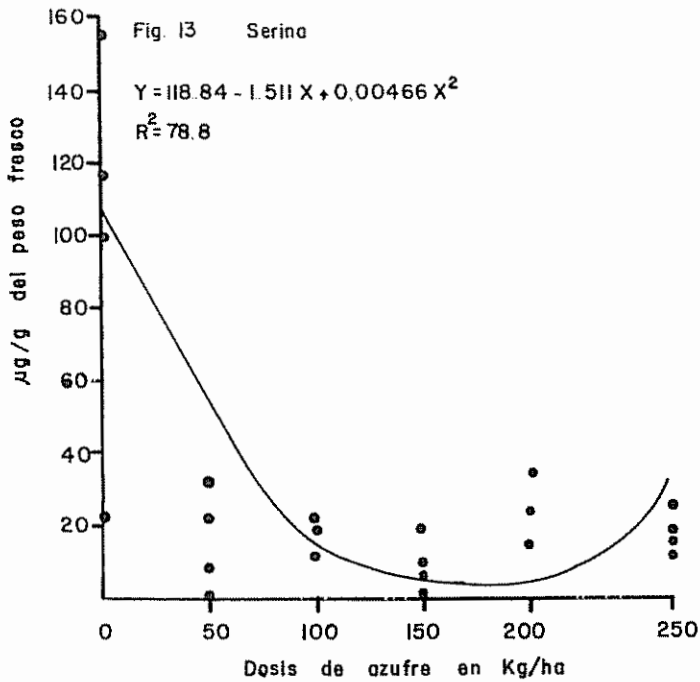
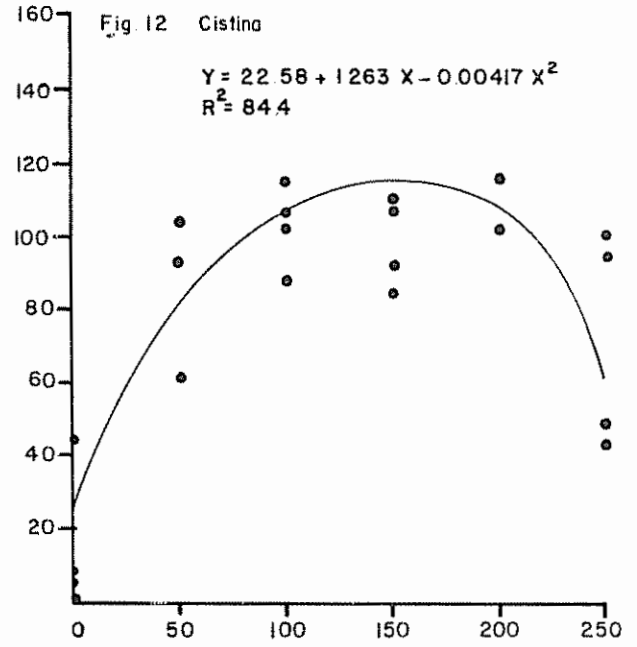
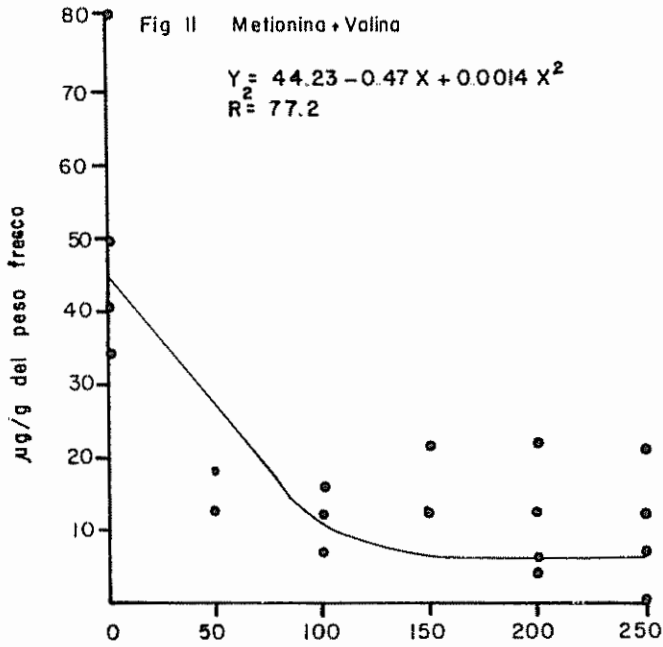
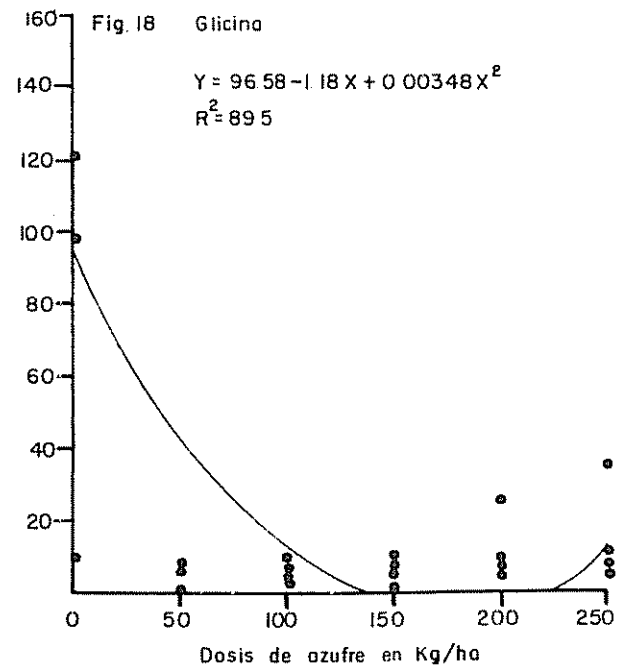
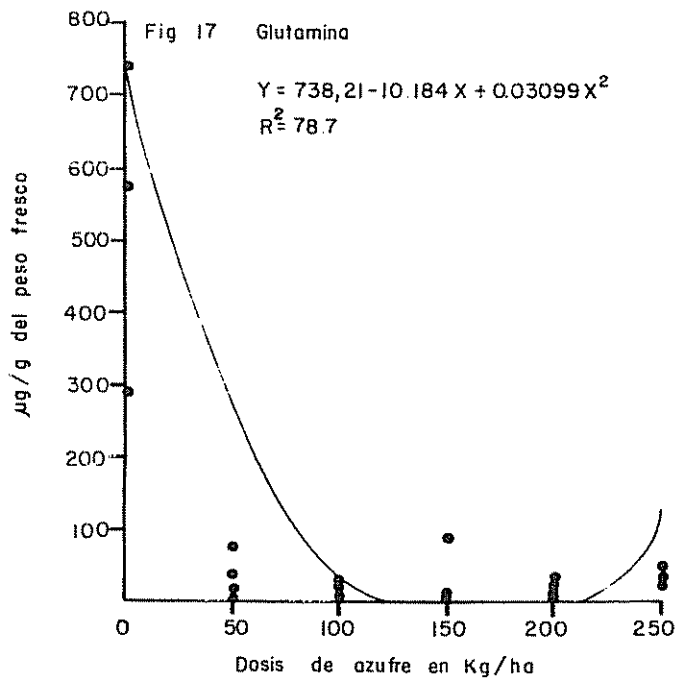
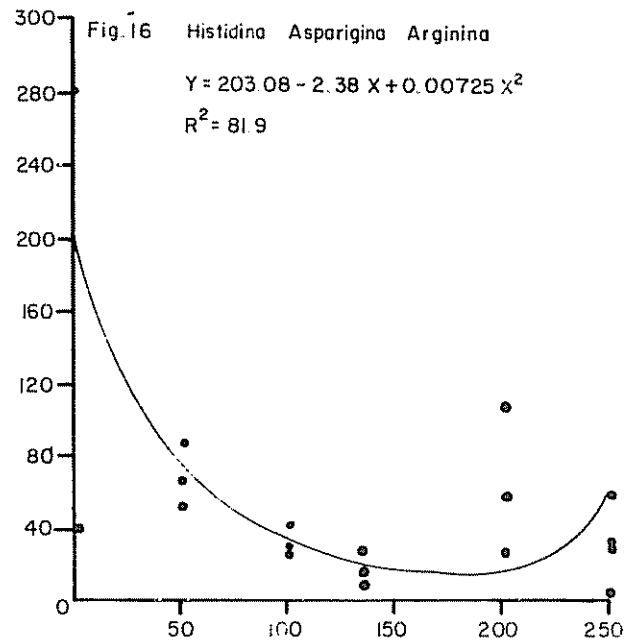
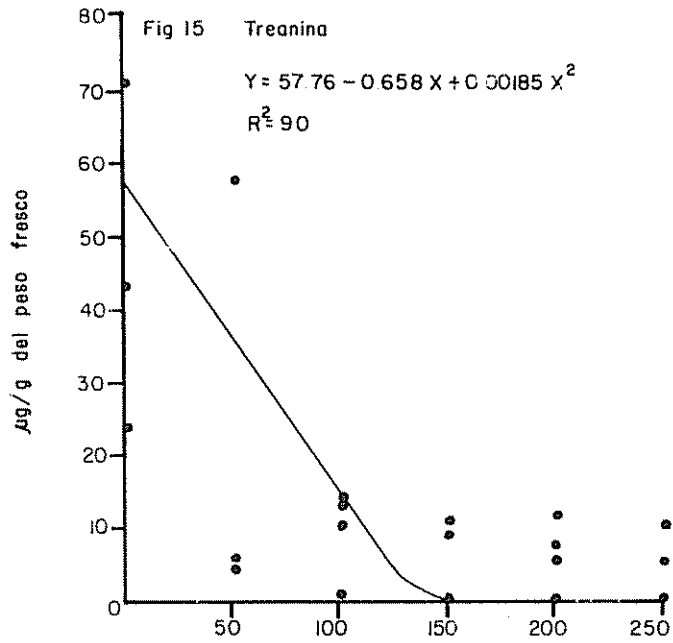


Fig. 10 Contenido de N-proteico en el vástago de plantas de tomate en relación a la cantidad de azufre aplicada



Contenido de aminoácidos libres en hojas de tomate en relación a la cantidad de azufre aplicada.



Contenido de aminoácidos libres en hojas de tomate en relación a la cantidad de azufre aplicada.

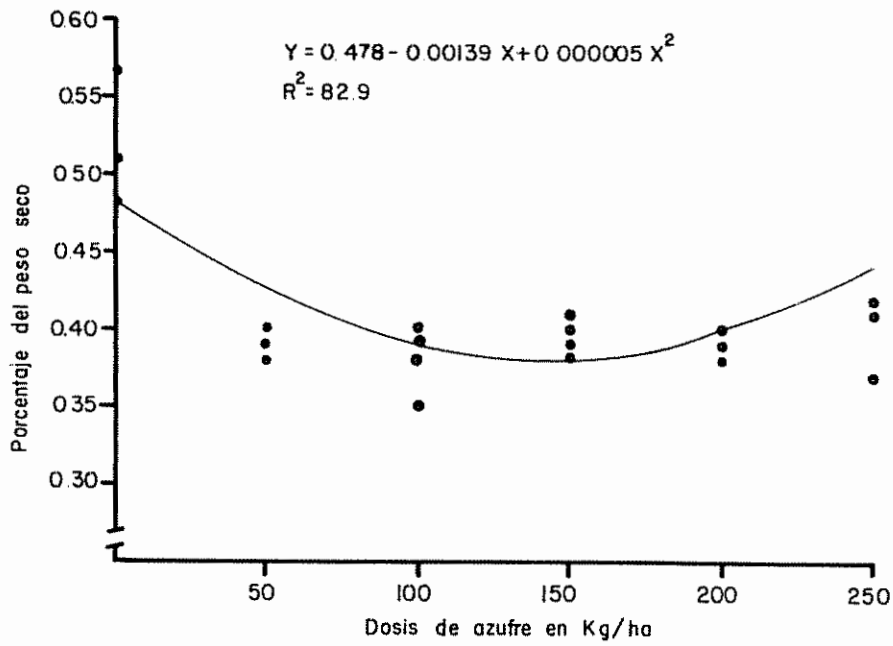


Fig. 19 Contenido de fósforo en el vástago de plantas de tomate en relación a la cantidad de azufre aplicada

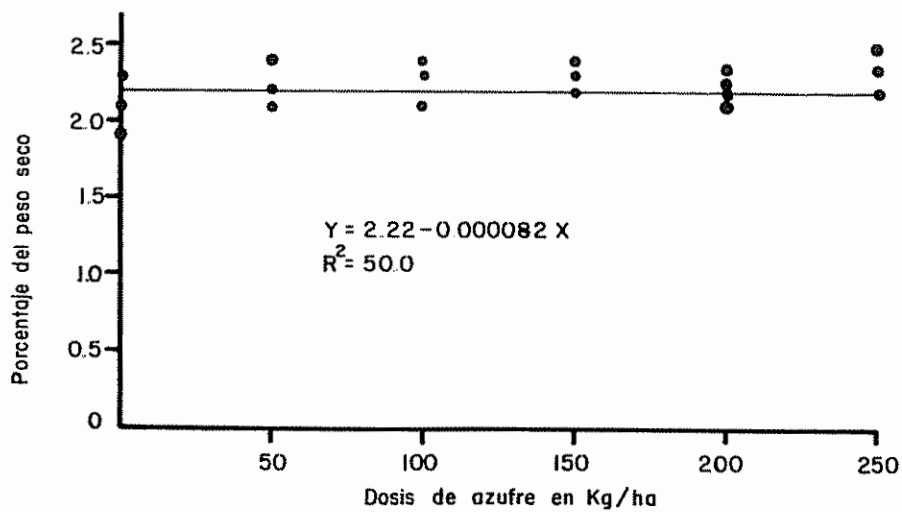


Fig. 20 Contenido de potasio en el vástago de plantas de tomate en relación a la cantidad de azufre aplicada

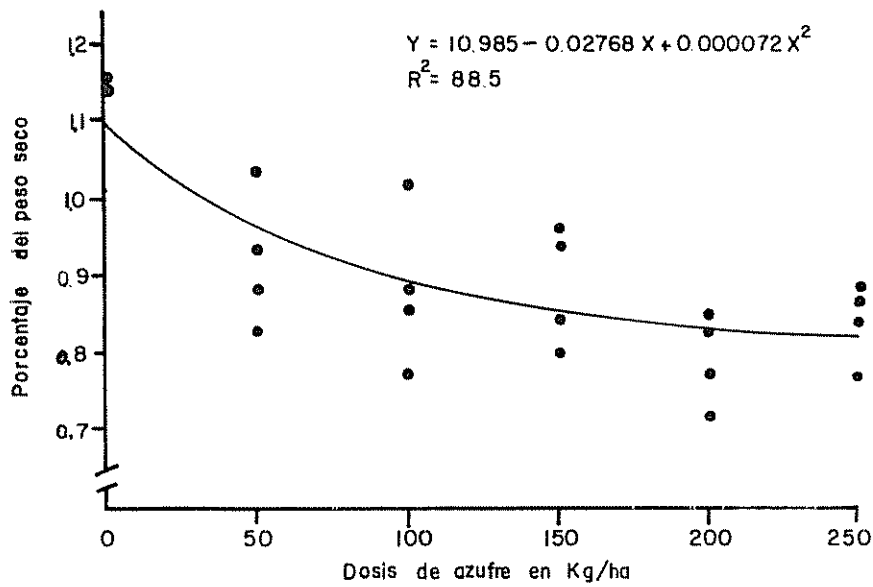


Fig. 21 Contenido de calcio en el vástago de planta de tomate en relación a la cantidad de azufre aplicada.

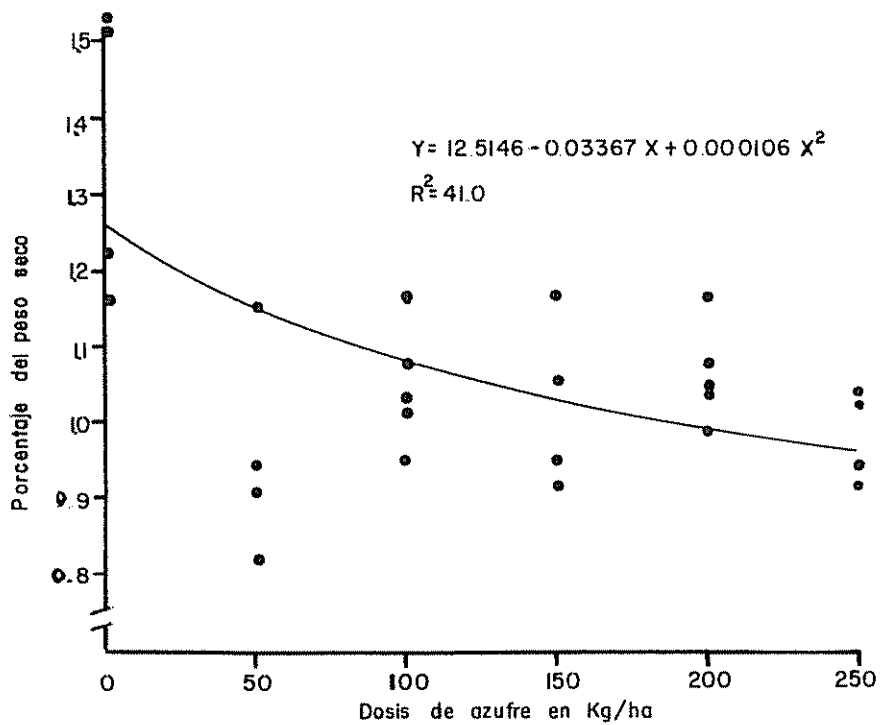


Fig. 22 Contenido de magnesio en el vástago de planta de tomate en relación a la cantidad de azufre aplicada

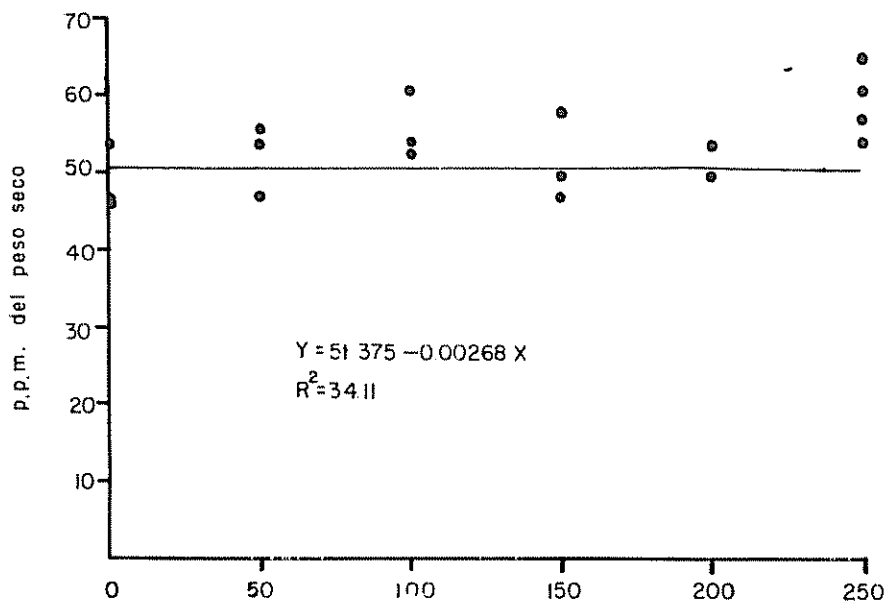


Fig 23 Contenido de manganeso en el vástago de plantas de tomate, en relación a las cantidades de azufre aplicada

CUADRO 1. Características químicas del suelo de Liberia y métodos de análisis usados.

Característica	Resultados	Métodos
pH	5,5	CaCl ₂ . 0.01 N
Azufre total	0,01 %	HClO ₄ + HNO ₃
Nitrógeno total	0,21 %	Kjeldahl
Fósforo	5 ppm	HCl + H ₂ SO ₄
Materia orgánica	4,58 %	H ₂ SO ₄ + K ₂ CrO ₇
Capacidad de intercambio	14,3 meq/100 g	Acetato de amonio
Porcentaje saturación de bases	70 %	
Potasio intercambiable	0,2 meq/100 g	Acetato de amonio
Calcio intercambiable	8,4 meq/100 g	Acetato de amonio
Magnesio intercambiable	1,5 meq/100 g	Acetato de amonio
Hierro	3400 ppm	HCl + HNO ₃
Manganeso	80 ppm	HCl + HNO ₃
Zinc	90 ppm	HCl + HNO ₃

CUADRO 2. Composición de las disoluciones madres, cantidades aplicadas por maceta y equivalente en Óxido respectivo (excepto N y S) por maceta y cantidad aproximada por hectárea.

DISOLUCIONES MADRES			EQUIVALENTES		
Sustancia	g/litro	ml/maceta	Compuesto	g/maceta	kg/ha
ABONAMIENTO BASICO					
NH ₄ NO ₃	114,4	6	N	0,25	290
NaH ₂ PO ₄	96,0	25	P ₂ O ₅	0,60	700
KCl	124,0	6	K ₂ O	0,38	430
CaCO ₃	20,0	6	CaO	0,50	580
MgCO ₃	80,0	6	MgO	0,25	290
MnCl ₂ ·4H ₂ O	60,0	2,5	Mn ₂ O ₃	0,04	45
ZnO	9,0	2,5	ZnO	0,02	23
CuCl ₂	2,3	2,5	CuO	0,004	4,5
FeC ₆ H ₅ O ₇ ·5H ₂ O	20,0	2,5	Fe ₂ O ₃	0,05	60
Na ₂ B ₄ O ₇	11,0	2,5	B ₂ O ₃	0,004	4,5
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	4,0	2,5	Mo ₂ O ₃	0,004	4,5
TRATAMIENTOS					
Na ₂ SO ₄	35,7		S		
		0		0	S ₀
		5		0,039	S ₁
		10		0,078	S ₂
		15		0,117	S ₃
		20		0,156	S ₄
		25		0,195	S ₅

CUADRO 3. Promedio de rendimientos de peso seco y fresco de plantas de tomate (g/maceta) en relación a la cantidad de azufre aplicado.

	Kg/ha de S aplicado					
	0	50	100	150	200	250
Peso fresco	56,9	101,0	107,9	102,3	105,6	102,7
Peso seco	13,0	20,6	21,2	20,4	21,2	20,5

CUADRO 4. Contenido de azufre total, sulfatos, azufre orgánico (porcentaje del peso seco) y azufre en aminoácidos ($\mu\text{g/g}$ peso fresco) en el vástago de plantas de tomate, en relación a la cantidad de azufre aplicada. Los datos representan el promedio de 4 repeticiones.

	Kg/ha de S aplicado					
	0	50	100	150	200	250
Azufre total	0,37	1,28	1,96	2,23	2,24	2,22
Sulfato	0,0	0,18	0,72	1,24	1,60	1,52
S-aminoácidos	63,7	73,2	78,7	87,5	83,7	85,0
S-orgánico total	0,37	1,10	1,24	1,09	0,63	0,30

CUADRO 5. Cantidades de aminoácidos y amidas en hojas de plantas de tomate ($\mu\text{g}/\text{g}$ peso fresco) en relación a la cantidad de azufre aplicada. Los datos representan el promedio de 8 cromatogramas.

	Kg/ha de azufre aplicado					
	0	50	100	150	200	250
Cistina	66,0	363,0	413,0	393,0	515,0	287,0
Lisina	95,7	9,5	6,7	14,7	3,5	18,0
Asp.+hist.+arg.	233,0	52,7	33,2	19,7	57,2	34,5
Ac. Asp.	137,0	29,0	46,0	36,0	60,0	69,0
Serina	140,7	15,7	15,7	9,2	22,2	17,2
Glicina	108,0	28,0	7,5	6,7	13,0	9,2
Glutamina	891,0	32,7	25,2	34,5	30,0	36,7
Ac. glutámico	81,5	42,2	68,0	54,2	68,0	101,2
Treonina	64,2	18,5	9,5	5,0	6,5	4,2
Alanina	38,7	34,7	33,2	28,5	38,2	39,2
Tirosina	233,2	290,2	360,0	239,0	434,0	389,0
Metionina + valina	51,7	11,0	10,5	11,7	11,2	10,0

CUADRO 6. Porcentaje sobre el peso seco de nitrógeno total, soluble y proteico en relación a la cantidad de azufre aplicada. Los datos representan el promedio de 4 repeticiones.

	Kg de azufre/ha					
	0	50	100	150	200	250
Nitrógeno total	1,59	0,71	0,76	0,84	0,78	0,80
Nitrógeno soluble	0,99	0,16	0,16	0,15	0,16	0,17
Nitrógeno proteico	0,90	0,86	0,90	0,90	0,87	0,95

CUADRO 7. Contenidos de P, K, Ca, Mg (porcentaje sobre el peso seco) y Mn (ppm sobre el peso seco) en el vástago de plantas de tomate en relación a la cantidad de azufre aplicada. Los datos representan el promedio de 4 repeticiones.

	Kg de azufre/ha					
	0	50	100	150	200	250
Fósforo	0,49	0,39	0,38	0,39	0,39	0,40
Potasio	2,2	2,2	2,3	2,3	2,2	2,4
Calcio	1,12	0,92	0,91	0,88	0,79	0,86
Magnesio	1,36	0,90	1,04	1,02	1,09	0,98
Manganeso	49,0	53,0	55,0	51,0	51,0	59,0

CUADRO 8. Cantidad absoluta (peso seco x porcentaje) de P, Ca y Mg absorbido por planta de tomate en relación a la cantidad de azufre aplicada. Los datos representan el promedio de 4 repeticiones.

	Kg/ha de azufre					
	0	50	100	150	200	250
Fósforo	6,37	8,03	8,05	7,96	8,27	8,20
Calcio	14,5	18,9	19,2	17,9	16,7	17,6
Magnesio	17,6	18,5	22,0	20,8	23,1	20,0