

ALGUNAS ALTERACIONES FISIOLÓGICAS Y MORFOLÓGICAS EN "MARACUYA"  
(Passiflora Edulis) CAUSADAS POR DEFICIENCIAS DE ALGUNOS  
ELEMENTOS ESENCIALES

Tesis de Grado de *Magister Scientiae*

*Alejandro Morales Abanto*

INSTITUTO INTERAMERICANO DE CIENCIAS AGRICOLAS DE LA OEA  
Centro de Enseñanza e Investigación  
Departamento de Fitotecnia y Suelos  
Turrialba, Costa Rica  
Enero, 1970

ALGUNAS ALTERACIONES FISIOLÓGICAS Y MORFOLÓGICAS EN "MARACUYA"  
(PASSIFLORA EDULIS) CAUSADAS POR DEFICIENCIAS DE ALGUNOS  
ELEMENTOS ESENCIALES

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

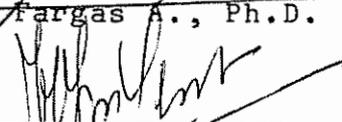
APROBADA:

  
Ludwig Müller, Ph.D.

Consejero

  
José Fargas A., Ph.D.

Comité

  
H. J. van der Slooten, M. S.

Comité

  
Adalberto Gorbitz, Ing. Agr.

Comité

Enero, 1970

A mis padres

A mi esposa

A mis hijas

AGRADECIMIENTO

El autor desea expresar su agradecimiento a las siguientes personas e instituciones:

Al Dr. Ludwig E. Müller, Consejero Principal, por su acertada orientación.

A los Drs. José Fargas A. y H. J. van der Slooten, así como al Ing. Agr. Adalberto Gorbitz, miembros de su Comité Consejero, por la corrección de los respectivos borradores del presente estudio.

Al Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA y a la Universidad Nacional Técnica de Piura, Perú, por haberle otorgado la beca y licencia respectivamente, que le permitieron realizar sus estudios de postgrado.

A todos sus profesores, colegas y amigos que en una u otra forma contribuyeron a la realización de este trabajo.

## BIOGRAFIA

El autor, de nacionalidad peruana, nació el 21 de Febrero de 1934.

Realizó sus estudios universitarios en la Antigua Escuela Nacional de Agricultura, actual Universidad Nacional Agraria, La Molina, Perú, graduándose de ingeniero agrónomo en el año 1959.

Inició sus labores profesionales como Administrador de la Negociación Agrícola Ganadera "Río Quiroz" S. A., Piura, Perú, hasta 1960. Luego se desempeñó como Perito Técnico del Banco de Fomento Agropecuario del Perú, Sucursal de Piura, hasta 1962. Al año siguiente ingresó como profesor a tiempo completo de Botánica y Fisiología Vegetal de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional Técnica de Piura, donde además desempeñó las jefaturas del Departamento de Biología y de la Oficina de Asuntos Estudiantiles; habiendo integrado también los Consejos de Facultad y Universitario.

Ingresó a la Escuela para Graduados del Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA en Octubre de 1968, finalizando sus estudios en Enero de 1970.

## CONTENIDO

	<u>Página</u>
LISTA DE CUADROS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
1. INTRODUCCION.....	1
2. REVISION DE LITERATURA.....	3
2.1 Características de la planta de "maracuyá" y su importancia.....	3
2.2 La importancia de los elementos esenciales en estudio en la nutrición de las plantas .....	5
2.3 Alteraciones fisiológicas y morfológicas debido a deficiencias de algunos elementos esenciales.....	9
2.3.1 Deficiencia de nitrógeno.....	9
2.3.2 Deficiencia de fósforo.....	10
2.3.3 Deficiencia de potasio.....	12
2.3.4 Deficiencia de magnesio.....	14
2.3.5 Deficiencia de calcio.....	16
2.3.6 Deficiencia de azufre.....	19
2.3.7 Deficiencia de manganeso.....	20
2.3.8 Deficiencia de hierro.....	22
2.3.9 Deficiencia de boro.....	23
2.3.10 Deficiencia de zinc.....	25
3. MATERIALES Y METODOS.....	27
3.1 Material vegetal usado.....	27
3.1.1 Almácigo.....	27
3.1.2 Trasplante.....	28

	<u>Página</u>
3.2 Tratamientos.....	28
3.3 Muestreo.....	33
3.4 Preparaciones permanentes para estudios anatómicos.	34
4. RESULTADOS Y DISCUSION.....	36
4.1 Planta testigo.....	36
4.1.1 Morfología externa.....	36
4.1.2 Anatomía.....	37
4.1.2.1 Raíz.....	37
4.1.2.2 Tallo.....	44
4.1.2.3 Hoja.....	47
4.1.2.4 Zarcillo.....	47
4.2 Planta deficiente en nitrógeno.....	50
4.2.1 Síntomas visibles de deficiencia.....	50
4.2.2 Alteraciones anatómicas.....	52
4.3 Planta deficiente en fósforo.....	54
4.3.1 Síntomas visibles de deficiencia.....	54
4.3.2 Alteraciones anatómicas.....	56
4.4 Planta deficiente en potasio.....	58
4.4.1 Síntomas visibles de deficiencia.....	58
4.4.2 Alteraciones anatómicas.....	59
4.5 Planta deficiente en magnesio.....	61
4.5.1 Síntomas visibles de deficiencia.....	61
4.5.2 Alteraciones anatómicas.....	62

	<u>Página</u>
4.6 Planta deficiente en calcio.....	62
4.6.1 Síntomas visibles de deficiencia.....	62
4.6.2 Alteraciones anatómicas.....	63
4.7 Planta deficiente en azufre.....	65
4.7.1 Síntomas visibles de deficiencia.....	65
4.7.2 Alteraciones anatómicas.....	67
4.8 Planta deficiente en manganeso.....	69
4.8.1 Síntomas visibles de deficiencia.....	69
4.8.2 Alteraciones anatómicas.....	69
4.9 Planta deficiente en hierro.....	70
4.9.1 Síntomas vasibles de deficiencia.....	70
4.9.2 Alteraciones anatómicas.....	72
4.10 Planta deficiente en boro.....	72
4.10.1 Síntomas visibles de deficiencia.....	72
4.10.2 Alteraciones anatómicas.....	74
4.11 Planta deficiente en zinc.....	76
4.11.1 Síntomas visibles de deficiencia.....	76
4.11.2 Alteraciones anatómicas.....	78
5. CONCLUSIONES.....	81
6. RESUMEN.....	83
6a. SUMMARY.....	85
7. LITERATURA CITADA.....	87
APENDICE.....	95

## LISTA DE CUADROS

<u>Cuadro</u>		<u>Página</u>
1	Composición de las soluciones nutritivas tipo Hoagland (media dosis de cada elemento y carencia de B, Mn, y Zn).....	31
2	Composición de las soluciones nutritivas tipo Hoagland (carencia de cada elemento en estudio)....	32
3	Promedios de temperatura y humedad relativa durante el tiempo de crecimiento de las plantas.....	33

## LISTA DE FIGURAS

<u>Figura</u>		<u>Página</u>
1	Corte transversal de un botón floral joven.....	37
2	Corte transversal del ovario de una flor joven.....	39
3	Corte longitudinal de un botón floral joven.....	40
4	Corte transversal de una raíz joven.....	42
5	Corte transversal de una raíz adulta.....	43
6	Corte transversal de un tallo adulto.....	45
7	Corte longitudinal de un tallo adulto.....	46
8	Corte transversal de una hoja.....	48
9	Corte transversal de un pecíolo.....	49
10	Corte transversal de un zarcillo.....	51
11	Síntomas visibles de deficiencia de nitrógeno.....	53
12	Alteraciones anatómicas en tallo deficiente en nitrógeno.....	53
13	Alteraciones anatómicas en hoja deficiente en nitrógeno.....	55
14	Síntomas visibles de deficiencia de fósforo.....	55
15	Alteraciones anatómicas en hoja deficiente en fósforo.....	57
16	Síntomas visibles de deficiencia de potasio.....	57
17	Alteraciones anatómicas en tallo deficiente en potasio.....	60
18	Síntomas visibles de deficiencia de magnesio.....	60
19	Síntomas visibles de deficiencia de calcio.....	64
20	Alteraciones anatómicas en tallo deficiente en calcio.....	64

<u>Figura</u>		<u>Página</u>
21	Alteraciones anatómicas en hoja deficiente en calcio.....	66
22	Síntomas visibles de deficiencia de azufre.....	66
23	Alteraciones anatómicas en tallo deficiente en azufre.....	68
24	Síntomas visibles de deficiencia de manganeso.....	68
25	Alteraciones anatómicas en hoja deficiente en manganeso.....	71
26	Síntomas visibles de deficiencia de fierro.....	71
27	Alteraciones anatómicas en hoja deficiente en fierro.	73
28	Síntomas visibles de deficiencia de boro.....	73
29	Alteraciones anatómicas en raíz deficiente en boro...	75
30	Alteraciones anatómicas en tallo deficiente en boro..	75
31	Alteraciones anatómicas en hoja deficiente en boro...	77
32	Síntomas visibles de deficiencia de zinc.....	77
33	Alteraciones anatómicas en tallo deficiente en zinc..	79
34	Alteraciones anatómicas en hoja deficiente en zinc...	79

## 1. INTRODUCCION

Uno de los factores principales de la producción agrícola es la apropiada nutrición de las plantas. Los constituyentes inorgánicos que toma la planta del medio exterior forman parte integral de las moléculas de diversos productos orgánicos del metabolismo vegetal en el caso de los macroelementos, y actúan como catalizadores de las complicadas reacciones enzimáticas o forman parte de las enzimas en el caso de los microelementos.

La deficiencia o carencia de cualquier elemento esencial origina serios trastornos en los procesos fisiológicos de las plantas, lo cual se traduce en síntomas visibles, principalmente en el follaje, y alteraciones anatómicas en varios tejidos. Además, factores internos como las auxinas (46) y externos como la temperatura, luz y humedad (7) también afectan la morfogénesis y fisiología de las plantas.

El efecto morfogenético que pueda causar la deficiencia o carencia de un determinado elemento esencial, es generalmente estudiado por medio del cultivo de plantas en soluciones nutritivas bajo condiciones de invernadero (81). Así resultan fáciles las correspondientes observaciones macroscópicas y los estudios anatómicos mediante la preparación de láminas microscópicas con el auxilio de métodos especiales de la microtécnica (65, 79).

En el presente estudio se escogió a *Passiflora edulis*, conocida con el nombre vulgar de "maracuyá", por ser una especie frutal que tiene un buen porvenir económico en muchas regiones tropicales y subtropicales donde actualmente se lo cultiva; pero se carece de los conocimientos básicos sobre muchos aspectos anatómicos de esta especie, así como sobre síntomas visibles y alteraciones anatómicas producidas

por las deficiencias nutrimentales.

Los objetivos de esta investigación fueron los siguientes:

a) Determinar las alteraciones morfológicas y anatómicas que puedan producir la deficiencia ó ausencia de nitrógeno, fósforo, potasio, magnesio, calcio, azufre, manganeso, fierro, boro y zinc en *Passiflora edulis*.

b) Obtener información sobre los síntomas visibles producidos por la deficiencia de cada uno de los elementos mencionados en esta especie, la que pueda ayudar para identificar los síntomas de deficiencias minerales que ocurren en condiciones naturales de campo.

## 2. REVISION DE LITERATURA

### 2.1 Características de la planta de "maracuyá" y su importancia

La planta de "maracuyá", es una especie muy poco estudiada en su aspecto botánico, a pesar de constituir un cultivo frutícola de interés económico en muchas regiones tropicales y subtropicales.

"Maracuyá" es el nombre vulgar o criollo con el que se conoce a la *Passiflora edulis* en Panamá, Perú y Brasil, considerándose a este último país como su centro de origen (102). En Colombia y Venezuela se le llama "parchita" (15, 62); en Costa Rica se le conoce también con el mismo nombre por haber sido introducida de Venezuela (35); también se llama "granadilla" por el gran parecido de sus frutos a los de la verdadera granadilla (*Passiflora ligularis*). Igualmente, en Australia y Sur Africa se le llama granadilla (54, 55, 69, 102). También recibe otros nombres como "lilikoi" en Hawaii y "parcha" en Puerto Rico (62).

La *Passiflora edulis* pertenece a la familia Passifloraceae, que comprende 11 géneros y aproximadamente 580 especies, que en su mayoría pertenecen al género *Passiflora* (72).

Wills, Stephens y Gröszmann (102), León (58) y Morton (62) dieron las siguientes características morfológicas para *Passiflora edulis*; es una planta trepadora, semileñosa y perenne, de tallo cilíndrico, provista de abundantes hojas de color verde oscuro y profundamente trilobadas con bordes aserrados, en cuyas axilas nacen largos zarcillos caulinares. El pecíolo tiene dos nectarios o glándulas cortas cerca de la inserción con la lámina. Las flores tienen sépalos y pétalos amarillentos, y los filamentos de la corona son coloreados de blanco y morado en forma alternada. Las flores son hermafroditas y nacen aisladamente

en las axilas de las hojas sobre pedúnculos articulados. El ovario es tricarpelar, con un estilo que termina en tres estigmas, formando cada uno una prominente estructura central. El androceo está constituido por cinco estambres. Los frutos son casi esféricos; cuando están inmaduros tienen el exocarpo moteado, con pequeñas manchas blancas, y cuando están maduros su color es amarillo dorado pálido. Los frutos contienen gran cantidad de semillas de color marrón oscuro, cubiertas por un arilo pulposo amarillento, de olor aromático y de sabor ácido.

Ayensu y Stern (5) dieron las siguientes características anatómicas del tallo: hay ausencia de crecimiento de anillos en el xilema, donde existen grandes tráqueas solitarias de sección transversal redondeada y con placas perforadas en forma simple. Los elementos fibro-traqueídas no son perforados. Hay presencia de cristales en las células radiales. El tallo, por su aspecto anatómico, pertenece al tipo 3 dentro de las passifloráceas, llamado "tipo interrumpido" (interrupted type), donde porciones de xilema de forma cuneiforme alternan en la parte periférica del tallo con secciones de floema de forma similar.

El "maracuyá" prospera, como ya se dijo anteriormente, en climas tropicales y subtropicales. Actualmente se cultiva en Australia, Ceilán, India, Nueva Guinea, Nueva Zelandia, Hawaii, Kenya, Sur Africa, Brasil, Venezuela, Colombia y recientemente en Costa Rica. En la mayoría de estos países se utiliza para consumo fresco y para la extracción del jugo, actividad que está dando lugar a una prometedora industria del enlatado del jugo (14, 15, 19, 35, 37, 40, 54, 55, 58, 62, 69, 90, 102) pues tiene grandes posibilidades para su exportación hacia los mercados de Estados Unidos y Europa (35, 90). Actualmente

también se está cultivando esta planta en algunas zonas subtropicales del Perú, con la misma finalidad.

## 2.2 La importancia de los elementos esenciales en estudio en la nutrición de las plantas

Si la deficiencia de cada elemento esencial en la nutrición de las plantas se manifiesta por alteraciones morfológicas visibles, se lo debe a que cada elemento cumple tareas específicas, sea estructuralmente dentro de las complicadas reacciones del metabolismo. Así, el nitrógeno forma parte de muchos compuestos orgánicos como aminoácidos, alcaloides, pigmentos y otras sustancias nitrogenadas, sobre todo de proteínas y ácidos nucleicos (97). Cumple así un rol fisiológico importantísimo en la vida de las plantas al constituir la parte fundamental del protoplasto.

El fósforo interviene en un gran número de compuestos intermediarios en el metabolismo de las plantas. Entre los principales se encuentran las hexosas fosfato (glucosa, fructosa y galactosa - fosfatos), ribosa fosfato, fosfatos de adenosina, fosfopiridín nucleótidos, ácido fosfoenolpirúvico, ácido fosfogluconico, ácido fosfoglicérico y triosas fosfato (11). El fósforo también interviene como constituyente de los lípidos del citoplasma (fosfolípidos), contribuyendo a la absorción selectiva por control de cambios de permeabilidad; así mismo juega un papel importante en la división celular y en la síntesis de almidón (24, 78).

El potasio no ha sido identificado como constituyente estructural de la célula (4), a pesar de ser uno de los cationes más abundantes, particularmente en aquellos tejidos con metabolismo activo como son

los meristemas (82). Su totalidad siempre aparece en la fracción soluble. El potasio juega un papel como regulador y catalizador en el metabolismo vegetal (4), siendo esencial, al igual que el magnesio, en diferentes reacciones de transferencia de fosfatos (97). Así está implicado en la síntesis de carbohidratos y proteínas (47, 82) e indirectamente en la división celular (68, 96).

El magnesio forma parte estructural de la molécula de clorofila, y al igual que el potasio, actúa como catalizador en diversas reacciones del metabolismo, siendo esencial en diferentes transferencias de fosfatos y en la formación de enlaces peptídicos e interviene así en la síntesis de proteínas (97).

El calcio es un constituyente estructural de la lámina media de la pared celular en forma de pectatos de calcio o magnesio (4, 49). Sorokín y Sommer (85) sostuvieron que el calcio es esencial para las divisiones mitóticas normales; quizás sea ésta la razón de que se encuentre confinado mayormente en las regiones meristemáticas (80). Según Burström (12), el calcio incrementa la elasticidad de las paredes celulares, fenómeno indispensable para la plasticidad de éstas. Así interviene durante la primera fase de la elongación celular, aunque ésta al comienzo es todavía independiente de la presencia del calcio; la formación de los compuestos elásticos de la pared por intususcepción es inducida por este elemento.

El azufre integra la estructura de varias moléculas de compuestos orgánicos como de los aminoácidos: cisteína, cistina y metionina; de las vitaminas tiamina y biotina (104), y de otros compuestos que juegan papel importante en el metabolismo de las plantas. También interviene en el metabolismo y traslación de carbohidratos (29, 30).

El manganeso es un microelemento que actúa como catalizador de muchas reacciones enzimáticas (80, 99) y de algunas reacciones fotoquímicas de la fotosíntesis (4). También interviene en la adición de moléculas de xilosa al material no celulósico de la pared celular, lo que representa parte del cemento intercelular en la lámina media. Su comprobación está en que cuando el manganeso es deficiente, este material cementante se desintegra (6).

El fierro, otro típico microelemento, interviene en los procesos catalíticos de la formación de clorofila (32, 45), siendo componente de varias enzimas, principalmente en la forma de hierro-porfirinas (citocromos). Por medio de reducciones y oxidaciones (sistemas red-ox) efectúa el transporte de electrones (4, 44, 99) en la cadena final de la fosforilación oxidativa de la respiración.

El rol metabólico exacto del boro en la planta no está totalmente determinado (26). Albert (3), al estudiar la disminución del contenido de ácido ribonucléico en puntas de raíces de tomate deficientes en boro, sugirió que este elemento tiene algún efecto sobre el metabolismo de RNA; esto puede relacionarse con el efecto que tiene el boro en los procesos metabólicos confinados mayormente a las regiones meristemáticas (8), especialmente en la división celular en meristemas primarios y secundarios (67, 83, 100, 101). La deficiencia de boro produce la paralización de la división celular, con lo cual se reducen los sitios para la utilización de los productos del metabolismo, dando lugar así a la acumulación principalmente de carbohidratos y también de aminoácidos (86, 100). Esto explicaría la hipótesis de Gauch y Dugger (36) en el sentido de que el boro es esencial en el traslado

de azúcares formando un complejo azúcar-borato que pasa a través de las membranas celulares. Una vez utilizado el azúcar por la célula, se libera el ión borato. Puede ser también que el ión borato esté asociado con la membrana celular y allí reacciona químicamente con la molécula de azúcar, facilitando así su pasaje a través de la membrana. Esta hipótesis ha sido compartida posteriormente por otros investigadores (83, 86, 99, 103). Torsell (1956), citado por Skok (83), sugirió que el boro interviene en la regulación de la formación de la pared celular, ya que complejos ácido bórico-carbohidratos regulan la deposición de las micelas de celulosa. Eaton (28) encontró que el boro es esencial en la formación de auxinas en las plantas, pues tratamientos con ácido indolacético en plantas de algodón mostraron los mismos efectos que la adición de boro.

El zinc es otro microelemento que es importante para la producción de clorofila, o al menos en algunos procesos en que interviene en su síntesis (77, 88). El zinc también participa en la síntesis del triptófano e indirectamente en la de auxinas (91, 99). Investigaciones con *Neurospora crassa* han revelado que el zinc regula la acción de algunas enzimas, puesto que una deficiencia de este elemento produce una disminución de la concentración del triptófano, desmolasa y alcohol deshidrogenasa (43). Además, el zinc cataliza algunas reacciones esenciales en los procesos de oxidación en las plantas (16) y es importante para muchos procesos metabólicos que afectan profundamente la intensidad de multiplicación celular (75).

## 2.3 Alteraciones fisiológicas y morfológicas debido a deficiencias de algunos elementos esenciales

No se ha encontrado literatura sobre alteraciones fisiológicas y morfológicas causadas por deficiencias de elementos esenciales en "maracuyá"; por eso se tratará brevemente sobre dichas alteraciones en otras especies.

### 2.3.1 Deficiencia de nitrógeno:

#### a) Síntomas visibles.

Todos los trabajos realizados sobre la deficiencia de nitrógeno en guayaba (*Psidium guajava* L.) (2), café (21, 63), tabaco (22), camote (*Ipomaea batatas*) (23), zarzamora (*Vaccinium vacillans*) (52), guavo (*Inga* sp.) (59), papaya (*Carica candemarcencis*) (66) y tomate (61, 94) coinciden en que el primer síntoma de deficiencia de este elemento es una clorosis uniforme de las hojas, comenzando por las inferiores y progresando hacia las superiores. Cuando la deficiencia se torna severa, se produce el secamiento de las hojas inferiores y la consiguiente defoliación prematura. También se reduce el crecimiento de las hojas y se produce un estancamiento del desarrollo de toda la planta. Sin embargo, en algunas especies como camote, zarzamora y tomate (23, 52, 94) se presentaron otras alteraciones, además de las anotadas, como la aparición de color rojo en todo el pecíolo y pequeñas manchas del mismo color o de color naranja en las márgenes de las hojas que se extienden gradualmente hacia la nervadura principal. En tabaco y guavo (22, 59) las hojas, además de tener un tamaño reducido, se presentaron relativamente más erectas, formando un ángulo agudo con el tallo.

b) Alteraciones anatómicas.

Accorsi y Haag (1), trabajando con café, y Accorsi *et al.* (2) trabajando con guayaba, al estudiar la anatomía de las hojas afectadas por la deficiencia de nitrógeno, encontraron algunas deformaciones en los cloroplastos del mesofilo, tanto en su tamaño como en su forma. Los cloroplastos eran menos numerosos, tanto en el parénquima en empalizada como en el lagunoso. En numerosas células en empalizada los cloroplastos estaban aglutinados, formando masas un tanto irregulares. Thomson y Weier (88), estudiando la estructura fina de cloroplastos de hojas de frijol deficientes en nitrógeno, observaron que la cantidad de estroma del cloroplasto era marcadamente reducido con relación al grana, el cual estaba compuesto de poquísimos compartimientos (laminillas) y muchos de ellos estuvieron excesivamente hinchados.

Sommer y Sorokín (94) observaron en ápices de raíces de arveja deficientes en nitrógeno, que las células eran relativamente más largas y de menor diámetro. En la región del periblema, las células aparecieron desarregladas, con largos espacios intercelulares. La caliptra tuvo un desarrollo muy reducido.

2.3.2 Deficiencia de fósforo:

a) Síntomas visibles.

En trabajos realizados con camote (23), girasol (31), zarzamora (52), tabaco (61) y papaya (66), cultivados en medios deficientes en fósforo, el primer síntoma en manifestarse fue la aparición de un color verde oscuro de las hojas, especialmente en las superiores, fenómeno que se extiende luego hacia las inferiores. En muchos casos se produjo una disminución en el tamaño de las hojas así como en el

desarrollo de la planta entera, con pocos brotes laterales. En guavo (59) y otras especies (8, 94), al acentuarse la deficiencia, aparecieron manchas de color purpúreo o rojo en las márgenes de las hojas inferiores, que se extendían posteriormente hacia el centro de la lámina, formando manchas intervenales de color purpúreo o marrón, produciéndose finalmente una defoliación prematura. En el caso del camote (23) y de varias plantas anuales (8) fueron las nervaduras, especialmente sobre la cara inferior, que tomaron la coloración purpúrea o rojiza, como también los pecíolos (66). En la guayaba (2) toda la superficie del limbo se tornó roja.

En el tabaco (22, 61), girasol (31), café (63) y papaya (66) las manchas que aparecieron en las hojas inferiores fueron cloróticas y de forma irregular, esparcidas en toda la lámina, dando el aspecto moteado. Estas manchas se tornaron posteriormente de color violáceo o rojizo en el caso del café, y necróticas en el caso del girasol.

La deficiencia de fósforo en "curuba redonda" (*Passiflora vitifolia*) produjo aborto de las flores y deformación de los frutos (20).

#### b) Alteraciones anatómicas

Accorsi y Haag (1), y Accorsi *et al.* (2), que estudiaron la anatomía de áreas cloróticas de hojas de café y guayaba respectivamente, afectadas por la deficiencia de fósforo, observaron que los cloroplastos habían sufrido alteraciones en su forma y tamaño, siendo más pequeños y su número más reducido. En muchas células los cloroplastos estaban reunidos en pequeñas masas.

Thomson y Weier (88), que investigaron la estructura fina de los cloroplastos de hojas de frijol deficientes en fósforo, encontraron las mismas alteraciones que aquellas producidas por la deficiencia de nitrógeno; además, observaron en los cloroplastos un sistema laminar altamente ordenado, con laminillas muy largas y extendidas.

Eckerson (1931), citado por Eaton (31), observó que la anatomía de los tallos de tomate eran afectados por la deficiencia de fósforo, ya que las paredes celulares del colénquima, parénquima xilemático y medula fueron más gruesas que las del testigo; así mismo el tamaño de las células de la medula y corteza fue menor. Además, la división celular había cesado en el cambium y en los ápices de raíces.

Sommer y Sorokín (84) encontraron que los núcleos de las células de los ápices de raíces de arveja, deficientes en fósforo, fueron los más afectados, tomando formas irregulares (ameboide, elongado, forma de huso y con constricciones); algunos de ellos fueron más pequeños y otros aplastados contra la pared celular.

### 2.3.3 Deficiencia de potasio

#### a) Síntomas visibles.

Investigaciones realizadas para determinar los síntomas visibles de la deficiencia de potasio en guayaba (2), café (21, 63), tabaco (22), tomate (60, 94), papaya (66), *Tropaeolum majus* (82) y en otras especies (61, 92, 94) dieron resultados muy similares. Los síntomas de deficiencia se manifestaron primeramente en las hojas inferiores o adultas, en las cuales aparecieron manchas cloróticas o de color pardo cerca del borde de las hojas. Estas manchas se extendieron gradualmente, formando luego áreas necróticas de color oscuro a lo

largo del margen y en el ápice de la hoja, o en las áreas limitadas por los nervios secundarios, mientras que el tejido central quedaba verde, igual que las áreas adyacentes a las nervaduras junto con éstas. En casos de deficiencia avanzada se produjo frecuentemente defoliación prematura. En la zarzamora (52), en estados avanzados de deficiencia de potasio, las márgenes de las hojas se tornaron rojas y posteriormente tomaron el aspecto de chamuscado, comenzando por el ápice de la hoja. Además se presentaron lesiones necróticas en la base de los nuevos brotes. En el guavo (59) la deficiencia de potasio se presentó con un amarillamiento ligero de las hojas inferiores, con bordes de apariencia marrón purpúreo. Habían también pequeñas manchas de un color purpúreo intenso, dispersadas sobre toda la lámina, aunque más concentradas hacia las márgenes. El crecimiento de la planta fue afectado. Idéntico síntoma se presentó también en el tomate, cuyos tallos fueron además duros y de apariencia leñosa (68, 96). Así mismo aparecieron rajaduras de color marrón purpúreo en los tallos, los que continuaron su crecimiento en longitud pero no en diámetro (47, 68).

La deficiencia de potasio en plantas con frutos produjo la muerte de aquéllas, ya que la mayor parte del contenido de potasio es eventualmente trasladado a los frutos. Como resultado los ápices de los tallos mueren y finalmente se seca la planta entera (68).

En "curuba redonda" la deficiencia de potasio originó aborto de flores y deformación de frutos (20).

b) Alteraciones anatómicas.

La anatomía de áreas cloróticas de hojas de café (1) y guayaba (2) deficientes en potasio mostró que los cloroplastos habían

sufrido alteraciones, siendo muchos de ellos de forma irregular y más pequeños. En las células empalizada, los cloroplastos se aglomeraron, formando masas de variados tamaños, que en algunos casos llegaron a ocupar casi toda la cavidad celular. También se observaron en una misma célula y al lado de la masa de cloroplastos granulaciones verdes provenientes de la fragmentación de cloroplastos. Menos pronunciados fueron las alteraciones de los cloroplastos del tejido lagunoso.

Thomson y Weier (88) encontraron que la estructura fina de los cloroplastos de hojas inferiores de frijol deficientes en potasio había sufrido fuertes alteraciones. El sistema de grana había sido reemplazado por uno de cuerpos bastante difusos y conectados entre sí por un sistema laminar altamente desordenado; algunas veces estos cuerpos parecieron estar libres en el estroma.

Nightingale, Schermerhorn y Robbins (68) hallaron una acentuada acumulación de almidón en tallos de tomate deficientes en potasio, así como la presencia de paredes celulares engrasadas en el xilema, floema y tejidos mecánicos. Los mismos autores relacionaron este engrosamiento con los constituyentes carbohidratados de las paredes celulares, especialmente la celulosa.

Watts (96), en sus estudios sobre la anatomía de tallos de tomate deficientes en potasio, detectó que había abundancia de floema externo, así como de las primeras formaciones de xilema. La explicación de este fenómeno la basó en que la deficiencia de potasio detuvo el crecimiento de otros tejidos antes de paralizar el crecimiento del floema y de las primeras formaciones de xilema.

Según Sommer y Sorokín (84), la anatomía de los ápices de raíces de arveja, crecidos en un medio sin potasio, no presentó ninguna alteración.

#### 2.3.4 Deficiencia de magnesio:

##### a) Síntomas visibles.

Investigaciones realizadas para producir síntomas visibles de deficiencia de magnesio en cítricos (7), *Passiflora ligularis* (20), café (21, 63), tabaco (22), camote (23), manzano (34), papaya (66), tomate (94) y en otras especies cultivadas (33, 61), indicaron que los síntomas de deficiencias aparecieron primeramente en las hojas viejas y puede avanzar progresivamente a las hojas jóvenes. Al comienzo se manifestó una pérdida del color verde entre los nervios, seguida por una clorosis, la cual puede comenzar en forma de pequeñas manchas cerca de las márgenes, base o ápice de la hoja y progresar intervenalmente hacia el interior, dando un aspecto moteado. En casos avanzados de deficiencia toda la hoja puede tornarse amarilla, o pueden desarrollarse manchas necróticas a lo largo de los nervios. Estos quedan verdes junto con franjas angostas de parénquima, tanto a lo largo del nervio central así como de los laterales principales. En la papaya y tomate, las márgenes de las hojas se encorvaron hacia arriba. Defoliación prematura ocurrió generalmente.

En la zarzamora (52) los síntomas de deficiencia de magnesio fueron muy similares a los anotados anteriormente, pero al progresar la deficiencia aparecieron largas manchas de color rojo claro en las áreas intervenales.

b) Alteraciones anatómicas.

Accorsi y Haag (1) anotaron que en la estructura de las áreas cloróticas de hojas de café deficientes en magnesio, las células del mesofilo tenían sus protoplastos desorganizados y los cloroplastos estaban en algunas células ligeramente aglutinados. Según Accorsi *et al.* (2) las áreas cloróticas de hojas de guayaba, afectadas por la misma deficiencia, tenían sus células con cloroplastos alterados en su forma, tamaño y posición.

Thomson y Weier (88), en sus investigaciones sobre la estructura fina de cloroplastos de hojas de frijol deficientes en magnesio, observaron numerosos cuerpos estrellados que parecían llenar por completo a los plastidios, los cuales tuvieron además contornos irregulares.

Sommer y Sorokín (84) no observaron ninguna alteración en la anatomía de los ápices de raíces de arveja, crecidos en medios sin magnesio.

2.3.5 Deficiencia de calcio:

a) Síntomas visibles

Especies cultivadas en medios deficientes en calcio exhibieron síntomas de deficiencia muy característicos. Estos síntomas se iniciaron en las yemas y hojas tiernas. Las yemas pueden presentar necrosis en sus ápices, muriendo finalmente en estados avanzados de deficiencia (2, 18, 49, 50, 63, 94). Las hojas tiernas tuvieron un crecimiento anormal y presentaron una coloración amarillento, con áreas cloróticas o necróticas de color oscuro, que comenzaron en los

bordes o parte basal y se extendieron hacia el interior. En varias plantas estas hojas tuvieron una consistencia coriácea. Las hojas también presentaron escrespamientos o quemaduras en los bordes o curvatura de la lámina hacia arriba e interior seguida por una defoliación prematura (2, 18, 21, 22, 23, 27, 49, 50, 52, 63, 66, 87, 94).

En plantas de camote deficientes en calcio las hojas mostraron un color bronceado desde los ápices y bordes hacia el centro del nervio principal (23).

En plantas de tomate (50) y de zarzamora (52) la deficiencia de calcio causó la aparición de una pigmentación roja en las hojas, que produjo luego manchas necróticas de color marrón rojizo.

En estados severos de deficiencia de calcio, los síntomas se extendieron hacia las hojas inferiores (66), las cuales también se volvieron cloróticas (27) o verde oscuras con consistencia coriácea y con áreas necróticas (50, 52). Las hojas afectadas se pueden secar y mantenerse adheridas a la planta (66). En general, el crecimiento de la planta deficiente en calcio es pobre (22, 27, 50).

El sistema radical es más afectado por la deficiencia de calcio que el vástago. Hay poco desarrollo y muchas raicillas mueren. Aquellas que logran desarrollarse son cortas, gruesas y duras, llegando a necrosificarse fuertemente las más viejas (18, 50, 63, 85, 94). Las raíces pueden tomar una coloración oscura, y a veces un moteado con manchas marrón oscuro (50). Pueden aparecer zonas translúcidas en los ápices de las raíces principales (85) y en algunos casos las raíces presentaron un aspecto gelatinoso (94).

b) Alteraciones anatómicas.

Los estudios anatómicos efectuados en algunos órganos de plantas deficientes en calcio demostraron la existencia de alteraciones en varios tejidos. En hojas de tomate deficientes en calcio, las células del mesofilo formaron una masa protoplasmática y en algunos casos sólo se distinguieron los vasos del xilema. No existió diferenciación entre el parénquima en empalizada y el lagunoso (50). Hojas de lechuga deficientes en calcio también manifestaron alteraciones anatómicas muy similares a las descritas anteriormente. Además, las células del floema de los principales haces tenían paredes engrosadas, y los elementos del xilema estuvieron taponados con una sustancia gomosa, que interfirió posiblemente con el pasaje de materiales a otras partes de la planta (87). Hojas de café y guayaba afectadas por la misma deficiencia exhibieron sus células en empalizada plasmolizadas, contraídas y de contorno irregular. Los cloroplastos se aglutinaron formando masas irregulares. En el parénquima lagunoso, las alteraciones fueron menos pronunciadas (1, 2).

Tallos de tomate (50), deficientes en calcio, mostraron necrosis en la corteza, pocos vasos en el xilema y una actividad limitada del cambium. También se produjo una reducción en los tejidos primarios, especialmente de la corteza y medula y un incremento en los tejidos secundarios, particularmente del xilema (25).

Apices de raíces de tomate (50) con deficiencia de calcio fueron afectados en su anatomía, con la aparición de anomalías primeramente en el dermatógeno y luego en el procambium, lo que dió lugar a una reducción del tejido meristemático y finalmente su completa desaparición. Apices de raíces de arveja (85), afectados por la misma defi-

ciencia, presentaron en las zonas translúcidas del periblema y pleroma pequeñas células isodiamétricas sin ninguna diferenciación visible. En caso de una deficiencia fuerte, se originó una casi total desorganización del citoplasma de las células de los ápices de las raíces (49).

### 2.3.6 Deficiencia de azufre:

#### a) Síntomas visibles

Especies como guayaba (2), tabaco (22, 61, 98), soya (29), girasol (30), tomate (61, 64) y papaya (66) cultivadas en medios deficientes de azufre exhibieron sus primeros síntomas de deficiencia en las hojas superiores, las cuales tomaron una coloración verde amarillenta. La clorosis se inició por los tejidos intervenales o por manchas irregulares en toda la superficie de la lámina, dando un aspecto moteado, ya que zonas verdes permanecieron a lo largo de los nervios principales. Las yemas terminales tomaron una coloración fuertemente amarillenta, pero la deficiencia no progresó a las hojas inferiores.

En brócoli (89) y otras especies (94) deficientes en azufre, se presentaron curvaturas de los ápices de las hojas hacia el nervio principal, las que luego se enrollaron por su superficies superior. En estados avanzados de deficiencia, las hojas se tornaron duras y frágiles y presentaron además necrosis marginal. La defoliación prematura fue severa en algunos casos y eventualmente las yemas terminales murieron.

Frecuentemente la deficiencia de azufre redujo el crecimiento de las hojas terminales, de los brotes laterales y de la planta en general (29, 30, 64, 94, 98).

b) Alteraciones anatómicas.

Observaciones anatómicas realizadas en áreas cloróticas de hojas de café (1) y guayaba (2), deficientes en azufre, confirmaron alteraciones en el parénquima en empalizada, donde los cloroplastos presentaron formas anormales (fusiformes y alargados), aglomerándose en masas irregulares. En el tejido lagunosos los cloroplastos sufrieron menos alteraciones.

Tallos de girasol (30) deficientes en azufre revelaron gran acumulación de carbohidratos. Igual alteración mostraron tallos de soya (29) que sufrieron la misma deficiencia. Esta anomalía fue correlacionada con el mayor grosor que exhibieron las paredes celulares.

Tallos de tabaco (98), afectados por la misma deficiencia, exhibieron una notable reducción en el grosor de las paredes celulares de los elementos del xilema. Las células epidérmicas, corticales y medulares fueron más pequeñas y redondeadas. También hubo reducción en el número de estratos de células del cambium. Así mismo las células del floema fueron más pequeñas, las fibras floemáticas mal diferenciadas y las células anexas fueron algunas veces deformadas y se desintegraron.

Apices de raíces de arveja (84), crecidas en un medio sin azufre, tuvieron como única alteración espacios intercelulares más conspicuos.

2.3.7 Deficiencia de manganeso:

a) Síntomas visibles.

Estudios efectuados para producir síntomas de deficiencia de manganeso confirmaron varios tipos de clorosis y manchas necróticas (99). Las hojas jóvenes fueron las más afectadas, las

cuales perdieron su color verde en las áreas intervenales. Al avanzar la deficiencia, dichas áreas se tornaron cloróticas, permaneciendo los nervios de color verde junto con una franja delgada de parénquima a ambos lados, lo que dió un aspecto moteado o reticulado grueso (21, 22, 23, 32, 38, 56, 61, 62, 63, 66, 94). Al intensificarse la deficiencia, las manchas cloróticas frecuentemente se tornaron necróticas (22, 32, 56, 61, 62) y éstas se desintegraron dando a la hoja la apariencia rasgada (22). En otros casos de severa deficiencia se produjo un encrespamiento de las hojas, sea que éstas se encorvaron a lo largo del nervio principal, o que la región apical se encorvó ventralmente, lo que finalmente produjo una defoliación prematura (38). En algunos casos, la clorosis avanzó a las hojas inferiores (94) y los brotes retardaron su crecimiento (38) y murieron en casos severos de deficiencia (56).

b) Alteraciones anatómicas.

Hojas de cítricos (38), con deficiencia avanzada de manganeso, registraron un estado avanzado de desintegración de células mesofílicas. Según Bar-Akiva (6), esto se debió a la descomposición del material cementante de la pared celular, lo que originó el hundimiento de las células del mesofilo.

Eltinge (32), y West y Harris (99) comprobaron que en hojas de tomate, deficientes en manganeso, los cloroplastos exhibieron primeramente alteraciones, llegando a vacuolizarse, desintegrándose muchos de ellos en el interior de la célula para formar masas a lo largo del citoplasma.

Tallos de tomate (32) deficientes en manganeso tuvieron menos xilema y muchos vasos taponado con material coagulado.

Estudios efectuados sobre la estructura anatómica de brotes de manzano (70) comprobaron que la deficiencia de manganeso afectó el normal desarrollo de los tejidos corticales, fibras liberianas y tejidos vasculares.

Apices de raíces de arveja (84), crecidas en un medio sin manganeso, revelaron que en la región de crecimiento las paredes celulares fueron anormales; solamente tenían engrosamientos en forma irregular.

#### 2.3.8 Deficiencia de fierro:

##### a) Síntomas visibles.

Los síntomas visibles, producidos por la deficiencia de fierro, son muy similares en casi todas las especies en las cuales se han determinado dichos síntomas.

Las hojas superiores en crecimiento, son las primeramente afectadas, mostrando una clorosis intervenal. Al acentuarse la deficiencia, las hojas se tornan completamente amarillas, permanciendo todos los nervios hasta los más finos de color verde, dando a las hojas un aspecto reticulado. En estados severos de deficiencia las hojas adquieren una coloración totalmente blanquecina (21, 22, 23, 38, 52, 53, 61, 63, 94, 95, 99).

Con esta deficiencia, el crecimiento de la planta se afecta en algunos casos; igual ocurre con las raíces que luego tomaron una coloración amarilla (53).

##### b) Alteraciones anatómicas.

La deficiencia de fierro causó una reducción en el tamaño de los cloroplastos y una desorganización en su estructura.

Así mismo originó una rápida cesación de la división celular en los meristemas apicales de raíces de guisantes (99).

Apices de raíces de arveja (84), cultivadas en un medio sin fierro, no mostraron ninguna alteración.

### 2.3.9 Deficiencia de boro:

#### a) Síntomas visibles.

Los síntomas de deficiencia de boro aparecen en manifestaciones bien específicas según las diferentes especies de plantas (83). Sin embargo, hay cierta uniformidad de síntomas especialmente en las regiones meristemáticas, siendo el crecimiento retardado y acompañado de una muerte eventual de las yemas terminales (10, 21, 22, 52, 63, 76, 94, 99, 100). Al morir estas yemas, se produce generalmente una proliferación de yemas axilares, que dan lugar, según la intensidad de la deficiencia, al desarrollo de varias ramas en el mismo nudo, las que en unos casos siguieron creciendo y en otros murieron (10, 52, 63, 76, 94, 99). En casos intensivos de deficiencia, los tallos y pecíolos se mostraron frágiles, presentaron necrosis o se engrosaron, dando el aspecto corchoso con el consiguiente agrietamiento (10, 61, 76, 94, 99).

Las hojas superiores retardaron su crecimiento y se deformaron, ya que la deficiencia de boro alteró el desarrollo de los tejidos del mesofilo, dando lugar a encrespamientos, ondulaciones o curvaturas de las hojas, las que presentaron además una consistencia coriácea. Los nervios fueron afectados en algunos casos por pequeñas necrosis que se extendieron en todo su recorrido (10, 21, 22, 52, 63; 66, 87, 94, 99, 100).

En algunas especies deficientes en boro se formaron en las hojas manchas cloróticas, rojas o purpúreas, además de quemaduras en los bordes y ápices de las hojas (10, 23, 66, 76, 87, 94, 99). En casos de fuerte deficiencia presentaron también las hojas inferiores deformaciones o manchas cloróticas, con la consiguiente defoliación prematura (23, 66).

b) Alteraciones anatómicas.

La deficiencia de boro produjo en las plantas degeneración de los tejidos meristemáticos de tallos y raíces, así como desorganización de las paredes celulares de los parénquimas y débil desarrollo de los tejidos vasculares (9, 10, 26, 48, 57).

Observaciones anatómicas, realizadas en hojas de melocotón (51), tomate y algodón (71) y lechuga (87), deficientes en boro, mostraron un alargamiento de las células del mesófilo, estando muchas de ellas destruidas. En la mayoría de las hojas los cloroplastos fueron pequeños. También se observó interrupción en la región del floema de los haces vasculares y una reducción en el tamaño del parénquima xilemático y de los haces conductores.

Tallos de algodón y tomate (71), deficientes en boro, exhibieron un menor crecimiento de sus tejidos secundarios, especialmente del xilema, cuyos vasos fueron de pequeño diámetro. También hubo disminución de la zona colenquimatosa. La zona cambial y el floema fueron aparentemente sanos y funcionales. En casos de extrema deficiencia se presentaron células necrosificadas en la medula. En los tallos de tomate se observaron en el floema externo un menor número de tubos cribosos, con células anexas reducidas. Existía, además, una zona cambial ancha como consecuencia de una menor diferenciación.

Raíces jóvenes de *Vicia faba* (101), crecidas en un medio deficiente en boro, mostraron alteraciones en las zonas meristemáticas, donde hubo una reducción de la división celular y un aumento del volumen de las células de los ápices de las raíces. A consecuencia de este fenómeno se notó un aumento en el tamaño de dichos ápices. Lo mismo se observó en ápices de raíces de arveja crecidas en un medio sin boro (84), en las cuales las células meristemáticas también cesaron de dividirse.

En raíces viejas de remolacha (48) la deficiencia de boro produjo degeneración en el xilema primario y secundario, tejidos que presentaron distorsiones de sus elementos. Cuando la deficiencia se acentuó, se formaron también áreas necróticas. En raíces de repollo (48), expuestas a la misma deficiencia, el cambium fue mucho más desarrollado debido a la poca diferenciación del floema y xilema, hallándose áreas necróticas en las zonas sin diferenciar.

### 2.3.10 Deficiencia de zinc:

#### a) Síntomas visibles.

La deficiencia de zinc afecta mayormente a la parte terminal de las plantas, produciendo en muchas especies una típica hoja moteada con clorosis intervenal. Al acentuarse la deficiencia, las hojas quedan chicas, deformadas y en muchos casos con pequeñas manchas necróticas. Hay también una fuerte reducción del crecimiento de los entrenudos en formación, lo que resulta en brotes con una típica apariencia de roseta (7, 13, 16, 17, 42, 61, 63, 74, 75, 94, 99).

En algunas especies las hojas fueron alargadas, angostas y puntiagudas, presentando manchas verdes sólo entre los nervios laterales. En otras especies fueron los nervios los que quedaron verdes, formando un retículo sobre el fondo amarillento del mesófilo (7).

b) Alteraciones anatómicas.

La deficiencia de zinc causa en algunas especies una evidente desorganización celular en los meristemas apicales y una retardación en los procesos de crecimiento, diferenciación y multiplicación celular (75).

La misma deficiencia también da lugar al aumento de tamaño de las células en empalizada y a una reducción del tamaño de los cloroplastos (77, 99). En estados avanzados de deficiencia, las células en empalizada tienen pocos cloroplastos, los que se encontraron en los extremos de la célula. En otros casos la deficiencia de zinc dió lugar también a un parénquima esponjoso mucho más compacto (74).

Investigaciones sobre la estructura fina de cloroplastos de hojas de frijol (88), deficientes en zinc, manifestaron que éstos tenían gran cantidad de estroma en relación al sistema grana, el cual fue extremadamente reducido y desorganizado.

Tallos de tomate (13) y de naranja (73), deficientes en zinc, exhibieron una reducida cantidad de elementos xilemáticos, debido posiblemente a la poca actividad del cambium. En los tallos de tomate se observó la falta casi completa de cambium interfascicular además de un cambium fascicular pobremente desarrollado que estaba totalmente ausente en algunos haces vasculares.

### 3. MATERIALES Y METODOS

El presente estudio se llevó a cabo en los invernaderos y el laboratorio de Fisiología Vegetal del Centro de Enseñanza e Investigación del IICA, en Turrialba, Costa Rica.

#### 3.1 Material vegetal usado

##### 3.1.1 Almácigo.

Se utilizó semilla proveniente de la Universidad Nacional Agraria, La Molina, Lima, Perú. Se realizaron algunas pruebas preliminares de germinación. Primeramente se hizo un almácigo en arena de cuarzo, regando 3 a 4 veces al día con agua corriente; pero no se obtuvieron resultados satisfactorios. En otro ensayo las semillas fueron sometidas a escarificación con ácido sulfúrico diluido, a varias concentraciones, colocando las semillas tratadas sobre papel secante que se mantenía constantemente húmedo. Tampoco se obtuvo buen resultado. Semillas remojadas previamente en agua por espacio de 12 y 24 horas dieron la misma respuesta negativa. Esto hizo pensar que en las semillas existía alguna sustancia inhibidora de la germinación. Con esta premisa se preparó un nuevo almácigo en grava gruesa, bien lavada con agua, y contenida en una bandeja metálica, perforada convenientemente en el fondo para tener un buen drenaje. El riego se efectuó con una solución nutritiva de macroelementos. Para esta prueba se aprovechó un mecanismo automático y regulado por un sistema de relojería, lo que permitía que los riegos se realizaran con una frecuencia de 12 minutos y con duración de un minuto, durante todo el día desde las 6 am. hasta las 6 pm., interrumpiéndose el riego durante la noche.

Este continuo remojo de las semillas probablemente lavó a la sustancia inhibidora de la germinación, pues ésta se inició a los 21 días y se prolongó por espacio de unas tres semanas más hasta que germinaron las últimas semillas .

### 3.1.2 Trasplante

El trasplante se realizó a la edad de 27 a 48 días, seleccionando las plántulas más uniformes. Se traspasaron a frascos de vidrio de 3.5 litros de capacidad, forrados exteriormente con bolsas negras de polietileno con la finalidad de evitar la proliferación de algas. Cada frasco llevó una tapa de madera con 3 perforaciones laterales, en cada una de las cuales se colocó una plantita sujeta con algodón. Además había una perforación central para aerear la solución nutritiva contenida en cada frasco por medio de una manguera.

Los frascos fueron colocados en mesas para facilitar las labores de cambio de soluciones y demás operaciones propias de este trabajo.

El invernadero que se usó tenía un techo de material plástico transparente, con paredes de malla fina que permitía una conveniente aereación del ambiente e impedía la entrada de insectos.

### 3.2 Tratamientos

Las soluciones nutritivas de cada uno de los tratamientos se prepararon de acuerdo a lo recomendado por Hoagland y Arnon (41). Las plantas trasplantadas en la forma indicada se sometieron a los siguientes tratamientos:

- T: testigo, solución nutritiva completa, tipo Hoagland Nº 1
- N: solución nutritiva deficiente en nitrógeno
- P: solución nutritiva deficiente en fósforo
- K: solución nutritiva deficiente en potasio
- Mg: solución nutritiva deficiente en magnesio
- Ca: solución nutritiva deficiente en calcio
- S: solución nutritiva deficiente en azufre
- Fe: solución nutritiva deficiente en hierro
- Mn: solución nutritiva carente de manganeso
- B: solución nutritiva carente de boro
- Zn: solución nutritiva carente de zinc

Estos tratamientos se distribuyeron al azar sobre las mesas, utilizándose cuatro frascos para cada tratamiento (44 frascos en total). Esta distribución se hizo con la finalidad de contrarrestar los efectos del ambiente.

La disposición de los tratamientos en las mesas del invernadero se realizó según se indica a continuación:

Mesas	Tratamientos	Mesas	Tratamientos
4	-B -Mg -P -Zn -K T -Ca -N -Fe -Mn -S -	3	-S -P -N T -Zn -Fe -B -Ca -K -Mg -Mn -
2	-Fe -S -Zn -B -P -Ca -N -K -Mg T -Mn -	1	T -Mg -S -P -Ca -K -N -B -Fe -Zn -Mn -

En una primera fase cada elemento en estudio se aplicó a la respectiva solución nutritiva a la mitad de su concentración presente en la del testigo, excepto en el caso de los micronutrientes Mn, B y Zn que suprimieron de las soluciones desde el principio (Cuadro 1).

Con esta clase de soluciones se realizaron cinco cambios, los tres primeros con intervalos de 30 días y los dos siguientes cada 15 días.

En una segunda fase se suprimió por completo de las soluciones nutritivas cada uno de los elementos en estudio (Cuadro 2). Esto se hizo con la finalidad de que los síntomas de deficiencia se manifestaran en forma clara. Estas soluciones se cambiaron cinco veces más a intervalos de 15 días. Los cambios sexto y séptimo se hicieron con todos los tratamientos, el octavo y noveno solo con los de -P y -K y el décimo solamente con el -K.

Cuando las plantas comenzaron a desarrollar sus zarcillos, se seleccionó a la más vigorosa de las tres contenidas en cada frasco. Al mismo tiempo se acondicionó una espaldera de alambre desde las mesas al techo del invernadero para que sirviera de soporte a las plantas.

Los datos de temperatura y humedad relativa durante el tiempo que las plantas permanecieron en el invernadero, desde el inicio del almácigo (Enero-Octubre, 1969), fueron proporcionados por la estación meteorológica de este Centro, situada a 602 m. sobre el nivel del mar, a 9°53' de latitud norte y a 83°38' de longitud oeste. Dicha estación queda a unos 25 m del invernadero donde crecieron las plantas. Los referidos datos se dan en el Cuadro 3.

Cuadro 1. Composición de las soluciones nutritivas tipo Hoagland No. 1  
(Media dosis de cada elemento y carencia de B, Mn y Zn)

Tratamientos	Partes por millón (mg/l)											
	N	P	K	Ca	Mg	S	Fe	B	Mn	Zn	Cu	Mo
T (Solución completa N° 1)	210	31	235	200	48	64	5	0,5	0,5	0,05	0,02	0,01
1/2N	105	31	137	100	48	64	5	0,5	0,5	0,05	0,02	0,01
1/2P	210	16	215	200	48	64	5	0,5	0,5	0,05	0,02	0,01
1/2K	175	16	117	200	48	64	5	0,5	0,5	0,05	0,02	0,01
1/2Ca	140	31	235	100	48	64	5	0,5	0,5	0,05	0,02	0,01
1/2Mg	210	31	235	200	24	32	5	0,5	0,5	0,05	0,02	0,01
1/2S	210	31	235	200	24	32	5	0,5	0,5	0,05	0,02	0,01
1/2Fe	210	31	235	200	48	64	2,5	0,5	0,5	0,05	0,02	0,01
-B	210	31	235	200	48	64	5		0,5	0,05	0,02	0,01
-Mn	210	31	235	200	48	64	5	0,5		0,05	0,02	0,01
-Zn	210	31	235	200	48	64	5	0,5	0,5		0,02	0,01

Cuadro 2. Composición de las soluciones nutritivas tipo Hoagland.

(Carencia de cada elemento en estudio)

Tratamiento	Partes por millón (mg/l)											
	N	P	K	Ca	Mg	S	Fe	B	Mn	Zn	Cu	Mo
T (Solución completa nº 1)	210	31	235	200	48	64	5	0,5	0,5	0,05	0,02	0,01
-N		31	196	100	48	208	5	0,5	0,5	0,05	0,02	0,01
-P	196		235	160	48	64	5	0,5	0,5	0,05	0,02	0,01
-K	140	31		220	48	64	5	0,5	0,5	0,05	0,02	0,01
-Ca	70	31	235		48	64	5	0,5	0,5	0,05	0,02	0,01
-Mg	196	31	390	160		48	5	0,5	0,5	0,05	0,02	0,01
-S	252	31	273	160	48		5	0,5	0,5	0,05	0,02	0,01
-Fe	210	31	235	200	48	64		0,5	0,5	0,05	0,02	0,01
-B	210	31	235	200	48	64	5		0,5	0,05	0,02	0,01
-Mn	210	31	235	200	48	64	5	0,5		0,05	0,02	0,01
-Zn	210	31	235	200	48	64	5	0,5	0,5		0,02	0,01

Cuadro 3. Promedios de temperatura y humedad relativa durante el tiempo de crecimiento de las plantas

D a t o s	M e s e s									
	Ene.	Feb.	Mzo.	Abr.	May.	Jun.	Jul.	Ago.	Set.	Oct.
<u>Temperatura (°C)</u>										
Media °	20,8	20,7	22,1	22,7	23,4	22,8	21,9	22,0	22,0	22,8
Prom. máximas	26,6	26,1	27,5	28,3	29,2	28,5	26,7	27,6	27,2	27,9
Prom. mínimas	16,5	16,6	18,0	18,3	19,2	19,5	18,7	18,5	19,0	17,9
Máxima absoluta	27,8	29,7	30,2	30,2	31,2	30,3	29,7	28,8	29,0	30,8
Mínima absoluta	13,5	12,9	14,9	16,3	17,0	17,6	16,8	17,3	17,2	14,5
<u>Humedad relativa (%)</u>										
Prom. diario °	84,0	81,4	82,5	81,8	82,8	86,2	87,3	86,1	87,3	89,0
Prom. mínimas	53,4	51,8	54,0	52,0	52,8	56,9	60,1	57,5	58,7	63,0
Mínima absoluta	37,0	33,0	34,0	43,0	35,0	47,0	50,0	51,0	50,0	42,0

° Promedio bihorario

### 3.3 Muestreo

Para la descripción de los síntomas visibles de deficiencia de cada elemento se escogió una planta de cada tratamiento, la que mostraba en forma clara dichos síntomas. En cada una de estas plantas seleccionadas también se realizaron los estudios anatómicos, para cuyo objetivo se tomaron las siguientes muestras:

Raíces. En todos los tratamientos se cortaron segmentos apicales de 3 a 4 cm de raíces jóvenes.

Tallos. En cada tratamiento se tomaron tres muestras de tallo de 10 cm de longitud, de la parte más tierna del tercio superior, del tercio medio y del tercio inferior.

Zarcillos. Se seleccionaron tres a cuatro zarcillos del tercio superior del tallo e igual número del tercio medio e inferior de la planta respectivamente.

Hojas. Se escogieron dos a tres hojas del tercio inferior del tallo e igual número en el tercio medio y superior de la planta.

En el caso del testigo se muestrearon además pecíolos desarrollados en la parte céntrica del tallo, botones florales muy jóvenes y frutos tiernos.

#### 3.4 Preparaciones permanentes para estudios anatómicos

En todos los pasos de este proceso se siguieron las recomendaciones de Müller (65) y Sass (79).

Después de la subdivisión del material vegetal seleccionado, se lo identificó convenientemente. En el caso de las hojas, al subdividir las en fragmentos, se tuvo cuidado de tomar las áreas más afectadas por la deficiencia de cada uno de los elementos.

Para matar y fijar a los tejidos se usó la mezcla FAA (formalina-ácido acético-alcohol etílico) en todos los tratamientos y muestras seleccionadas. La penetración de dicha mezcla en las muestras se facilitó por medio de la extracción de aire al vacío de los tejidos. El tiempo que duró esta operación dependió de la naturaleza de los tejidos.

Para la deshidratación de los tejidos se usó el método indirecto de la serie de los etanoles. Después del último cambio, las muestras se traspasaron a cloroformo, un solvente de parafina.

En la infiltración se empleó parafina de punto de fusión de 56° a 58°C, de la casa Arthur H. Thomas Co. Para el moldeado se utilizó "Paraplast"\* de punto de fusión 56° a 57°C.

El montaje del material moldeado en parafina se efectuó sobre pequeños bloques de madera para poder hacer los correspondientes cortes con el micrótopo.

Para las muestras de tejidos blandos se usó el micrótopo de cuchilla fija y el grosor de los cortes varió de 15 a 20 micras. Para las muestras de tejidos lignificados se empleó el micrótopo de desliz. En este último caso el grosor de los cortes varió de 20 a 25 micras.

Los cortes se fijaron a los porta-objetos con un adhesivo que consistió de albúmina de huevo, agua y formalina y se dejaron secar en una plancha por espacio de 48 horas.

Para colorear a los cortes se empleó el sistema safranina-verde rápido, donde los dos colorantes son de contraste específico. La safranina se preparó en solución acuosa al 1% y el verde rápido en alcohol etílico de 95%. Finalmente, las preparaciones se sellaron con una resina sintética disuelta en xilol y cubre-objetos, identificándolas convenientemente mediante etiquetas pegadas a un extremo de cada lámina.

---

\* Marca registrada de la Casa Fisher Scientific Co. (USA), para una parafina mejorada.

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSION

##### 4.1 Planta testigo:

###### 4.1.1 Morfología externa

La mayoría de las características morfológicas descritas por León (58), Morton (62) y Wills, Stephens y Groszmann (102), coinciden con los observadores. Los tallos son cilíndricos, de consistencia semileñosa y de ramificación monopódica; son trepadores mediante zarcillos caulinares que nacen entre una hoja y una yema que permanece en estado latente.

Se constató dimorfismo foliar, con las primeras hojas juveniles de forma oblonga y de bordes finamente aserrados y hojas adultas trilobadas con el mismo típico borde. Las hojas juveniles también aparecen de trecho en trecho en el tercio medio y superior de la planta. La haz y el envés de las hojas son completamente lisos y desprovistos de pelos epidérmicos.

Debajo de cada flor hay tres brácteas sésiles de bordes partidos, característica que según Puri (72) es distintiva del género *Passiflora*.

Los cinco sépalos que componen al cáliz son de consistencia esponjosa y bastante gruesos en el centro; este grosor disminuye hacia los bordes, son de color amarillento en su cara interna y verdoso en la externa. Estas piezas florales están soldadas en su parte inferior y son concrecentes con las bases de los pétalos, formando un tubo de aproximadamente un centímetro de longitud que envuelve al tálamo floral. Los sépalos dentro del botón floral se disponen en prefloración quincuncial (Fig. 1).

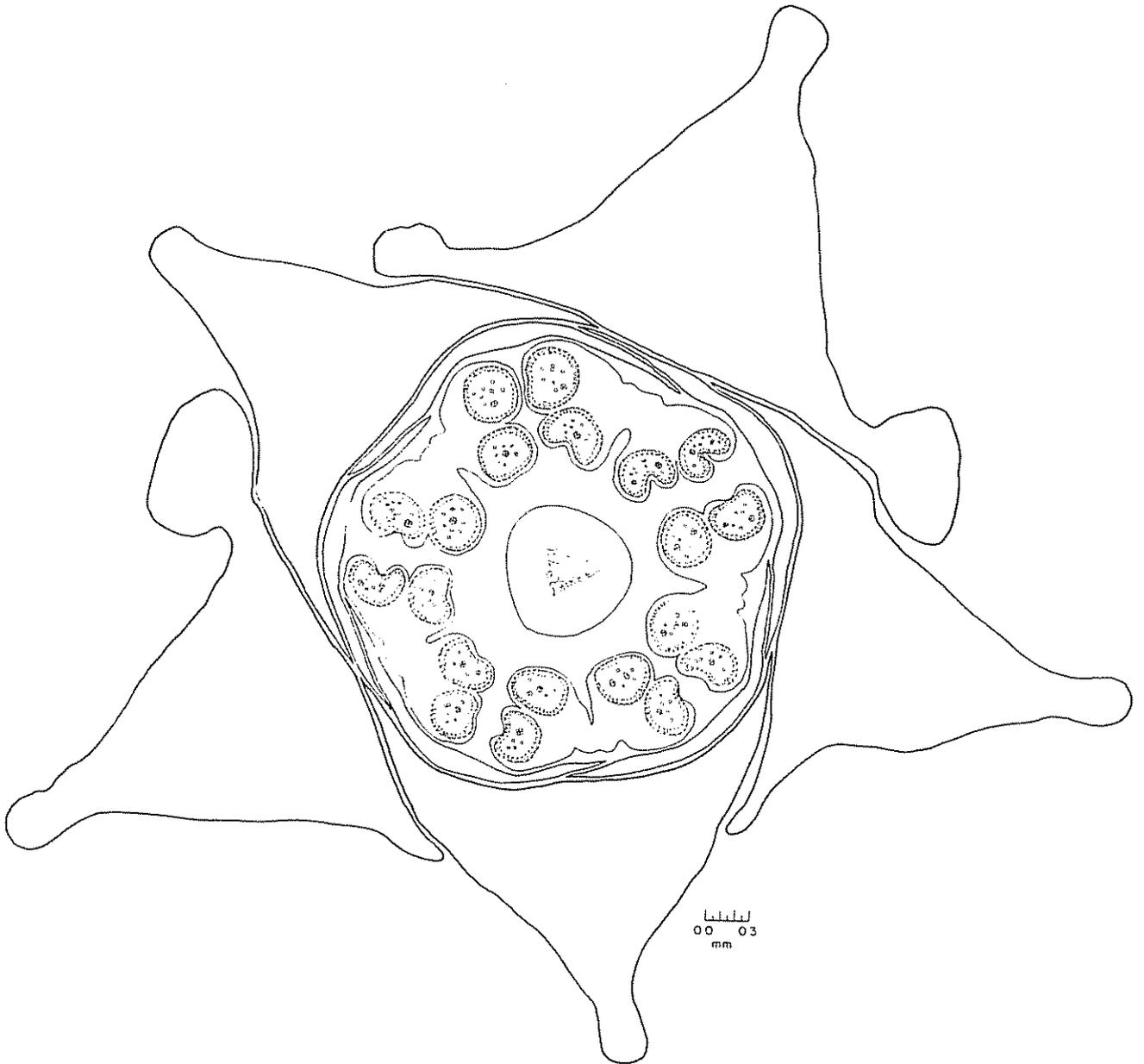


Fig.1 Corte transversal de un botón floral joven, mostrando la prefloración imbricada de la corola y quincuncial del cáliz.

Los cinco pétalos de la corola alternan con los sépalos, son delgados y de color amarillento en ambas caras. En el capullo los pétalos se arreglan en prefloración imbricada (Fig. 1).

El androceo se compone de cinco estambres unidos por sus bases, formando una membrana adherente al androginóforo. Las anteras son de dehiscencia introrsa cuando el botón floral está iniciando su apertura.

El gineceo es tricarpelar con un ovario unilocular, donde los primordios seminales anátropos están fijados en placentación parietal (Fig. 2). El ovario es sésil; después llega a ser pedunculado por una elongación gradual del receptáculo, donde se insertan el androceo y gineceo, formándose así el androginóforo. El tálamo forma una copa que lleva una corona de lígulas filamentosas de color morado en sus bases y blanco hacia el exterior. Los estilos, en igual número que los carpelos, son libres y erectos mientras jóvenes, pero caídos al madurar. Los estigmas son bastante abultados y forman una prominente estructura central (Fig. 3). Estas últimas características del gineceo, coinciden con las descritas por Ayensu (5) y Puri (72) para la familia *Passifloraceae*.

El sistema radical desarrollado en medio hidropónico fue fascicular, donde el crecimiento de la raíz principal se detuvo y todo el sistema de raíces es de origen adventicio, naciendo en los nudos inferiores del tallo; o sea que se trata de un caso de homorriza secundaria.

#### 4.1.2 Anatomía

##### 4.1.2.1 Raíz

En un corte transversal de una raíz joven,



Fig.2 Corte transversal del ovario de una flor joven, mostrando la cavidad unilocular, los primordios seminales anátropos y la placentación parietal.

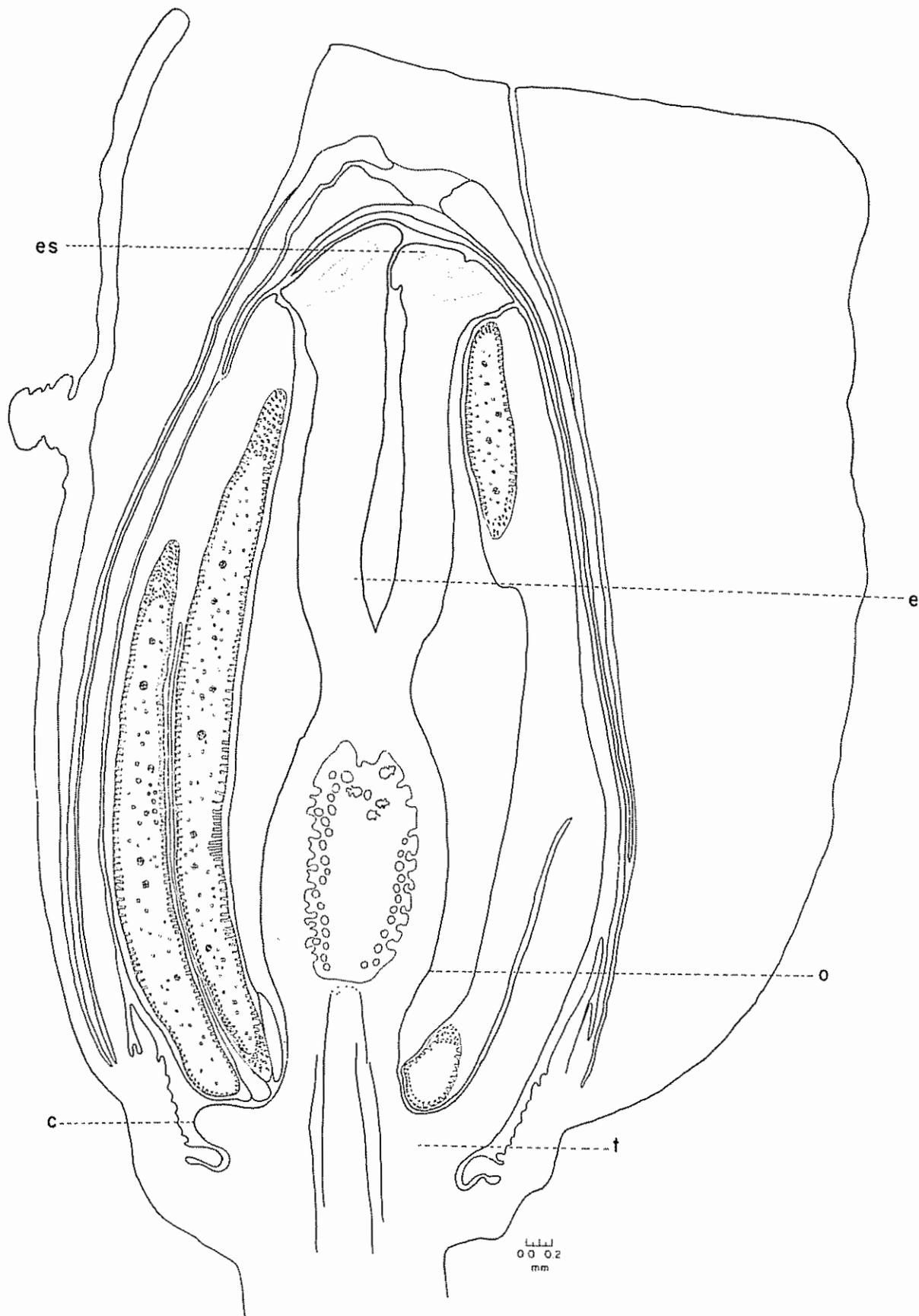


Fig.3 Corte longitudinal de un botón floral joven. c, copa; es, estigmas; e, estilo; o, ovario; t, receptáculo.

realizado a unos 10 cm del ápice, se observó una protostela radial tetraarca, rodeada por un periciclo uniseriado de células un poco alargadas que limita por el exterior a los cuatro grupos de floema primario (Fig. 4). La región cortical está constituida por varios estratos de células redondeadas que dejan conspicuos espacios intercelulares. Además está limitada interiormente por una endodermis de células redondeadas y más grandes que las del periciclo. La rizodermis está formada por una capa de células redondeadas y de paredes delgadas.

El corte transversal de una raíz adulta muestra un cambium fascicular bastante regular, siendo el cambium interfascicular muy poco desarrollado. Hay la formación de cuatro porciones de xilema secundario separados por radios medulares multiseriados (Fig. 5). Este xilema secundario está constituido por vasos escalariformes, traqueídas y parénquima xilemático. El xilema primario mantiene su posición en el centro de la raíz, persistiendo la configuración original de la protostela.

El floema secundario está integrado por tubos cribosos, fibras y parénquima. En muchas células del parénquima del floema secundario y de la corteza hay cristales de oxalato de calcio en forma de drusas con numerosas aristas. Hacia la parte exterior del parénquima cortical se encuentra un tejido meristemático secundario, el felógeno, que da resultado a la peridermis. Esta se compone de células redondeadas y con espacios intercelulares relativamente grandes. En el parénquima floemático, cortical y en la peridermis se hallan muchas células mucilaginosas, en menor número en este último tejido.

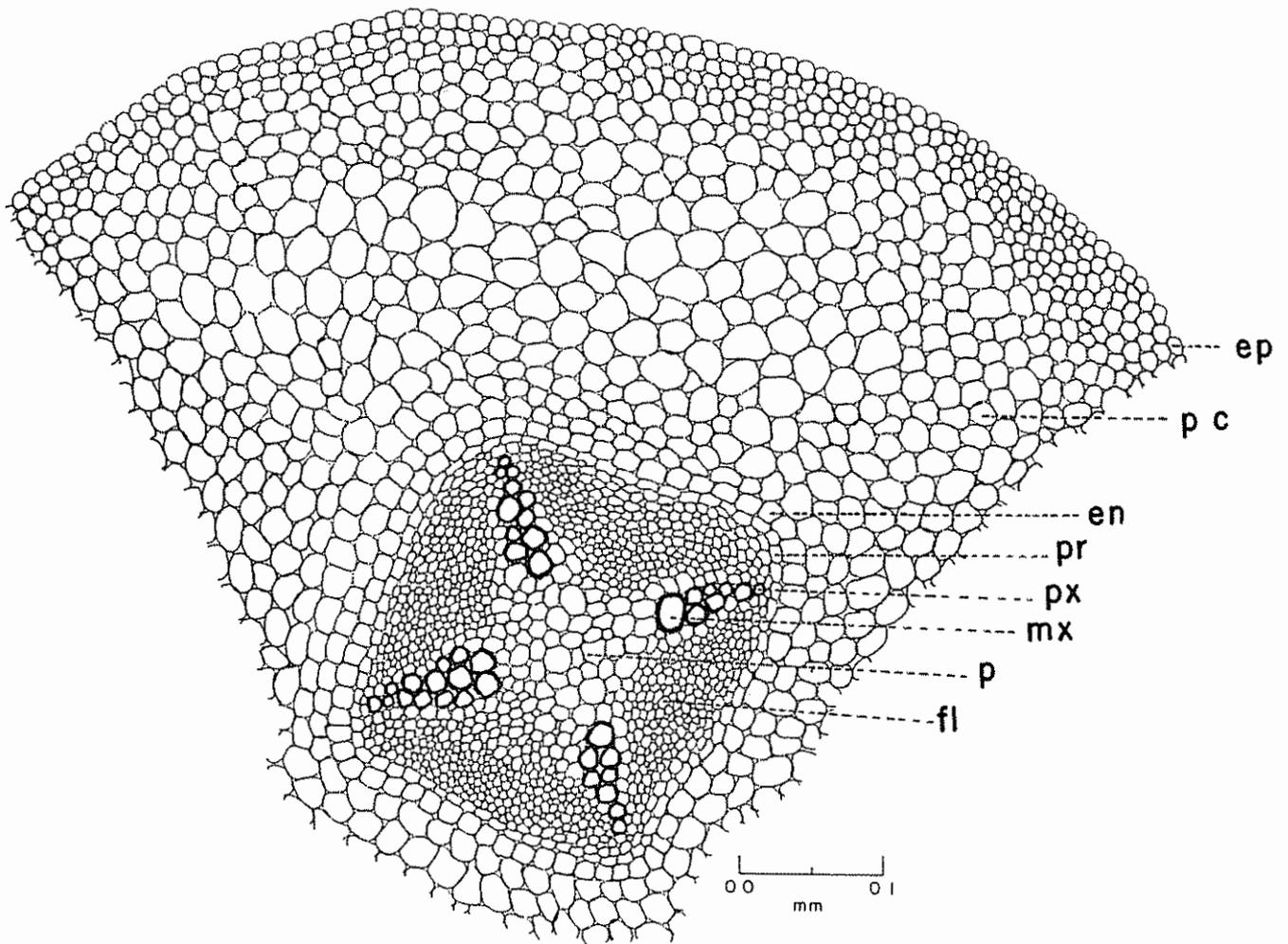


Fig.4 Corte transversal de una raíz joven, mostrando una protostela radial tetrarca. ep, rizodermis; pc, parénquima cortical; en, endodermis; pr, periciclo; px, protoxilema; mx, metaxilema; p, parénquima; fl, floema.

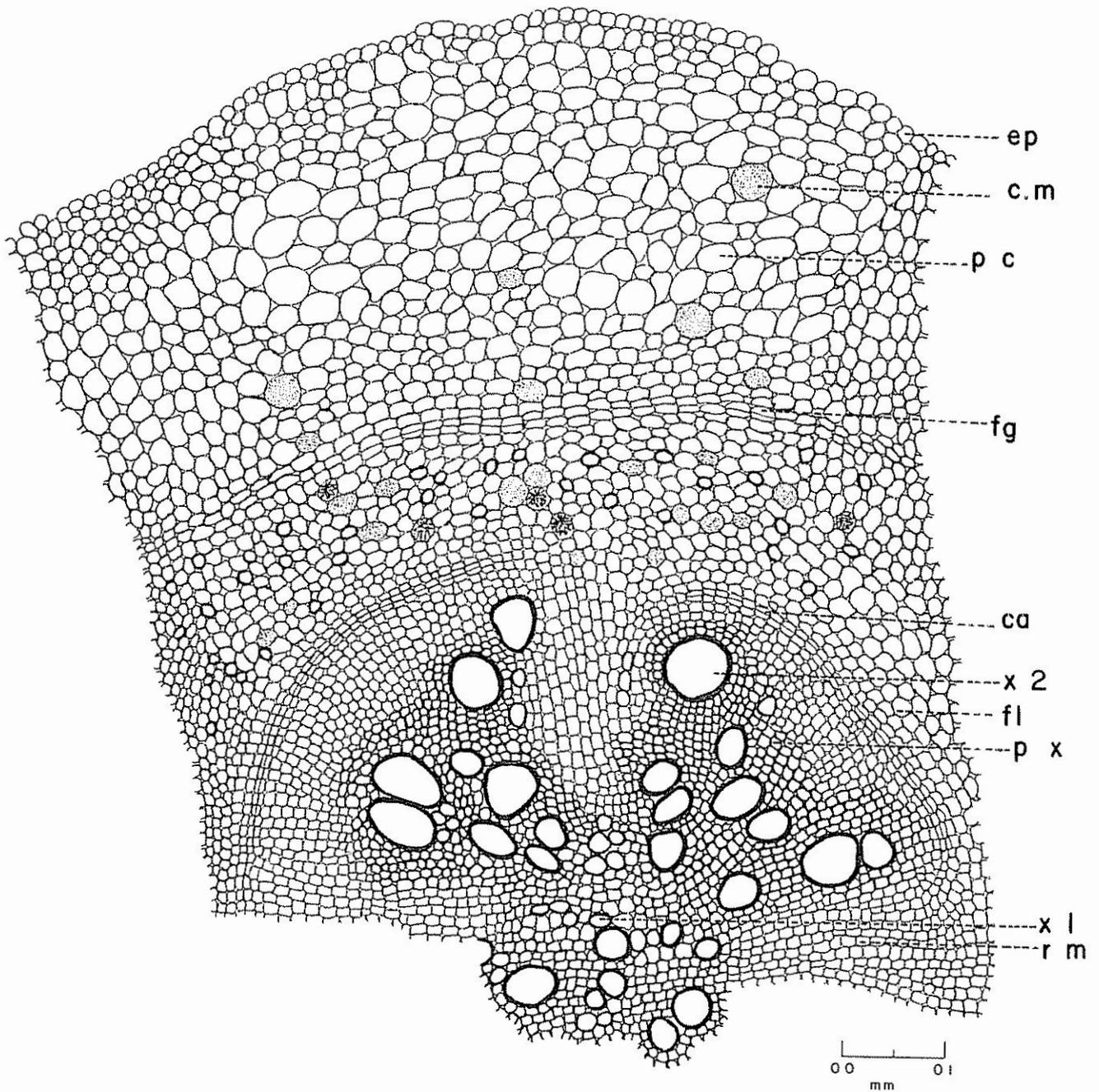


Fig.5 Corte transversal de una raíz adulta. ep, rizodermis; cm, célula mucilaginoso; pc, parénquima cortical; fg, felógeno; fl, floema; ca, cambium; x1, xilema primario; x2, xilema secundario; px, parénquima del xilema; rm, radio medular multiseriado.

#### 4.1.2.2 Tallo

Las observaciones realizadas en un corte transversal de un tallo adulto coinciden con las características anatómicas descritas por Ayensu y Stern (5). Además hay una epidermis con células de paredes exteriores bastante cutinizadas. En muchas de estas células existen grandes drusas en número de una por célula que llena casi todo el lumen. Hay ausencia completa de pelos epidérmicos. Inmediatamente debajo de la epidermis se halla un felógeno que dará lugar a la formación de una peridermis. Luego se encuentra el parénquima cortical, cuya parte exterior contiene cloroplastos y en cual se hallan de trecho en trecho paquetes de fibras esclerenquimáticas dispuestas en toda la parte periférica del tallo. Hacia el interior de estos paquetes de fibras y separadas por una a dos filas de células se hallan otras fibras esclerenquimáticas aisladas o reunidas en pequeños grupos. El cambium fascicular y el interfascicular forman un anillo bastante regular, constituido por tres a cuatro filas de células (Fig. 6). El floema secundario está integrado por pocos estratos de tubos cribosos, células anexas y parénquima. En el parénquima cortical, floema secundario y radios medulares hay células que contienen una drusa que ocupa la mayor parte de su lumen. Tanto en el parénquima cortical como en el floema secundario se encuentran dispersas muchas células mucilaginosas.

El xilema secundario se compone por grandes tráqueas de engrosamiento escalariforme (Fig. 7), por traqueídas que rodean a éstas y por parénquima de células con paredes engrosadas. El xilema primario está replegado contra la medula; sus vasos son espiralados en el protoxilema y escalariformes en el metaxilema. Las células de la medula son iso-

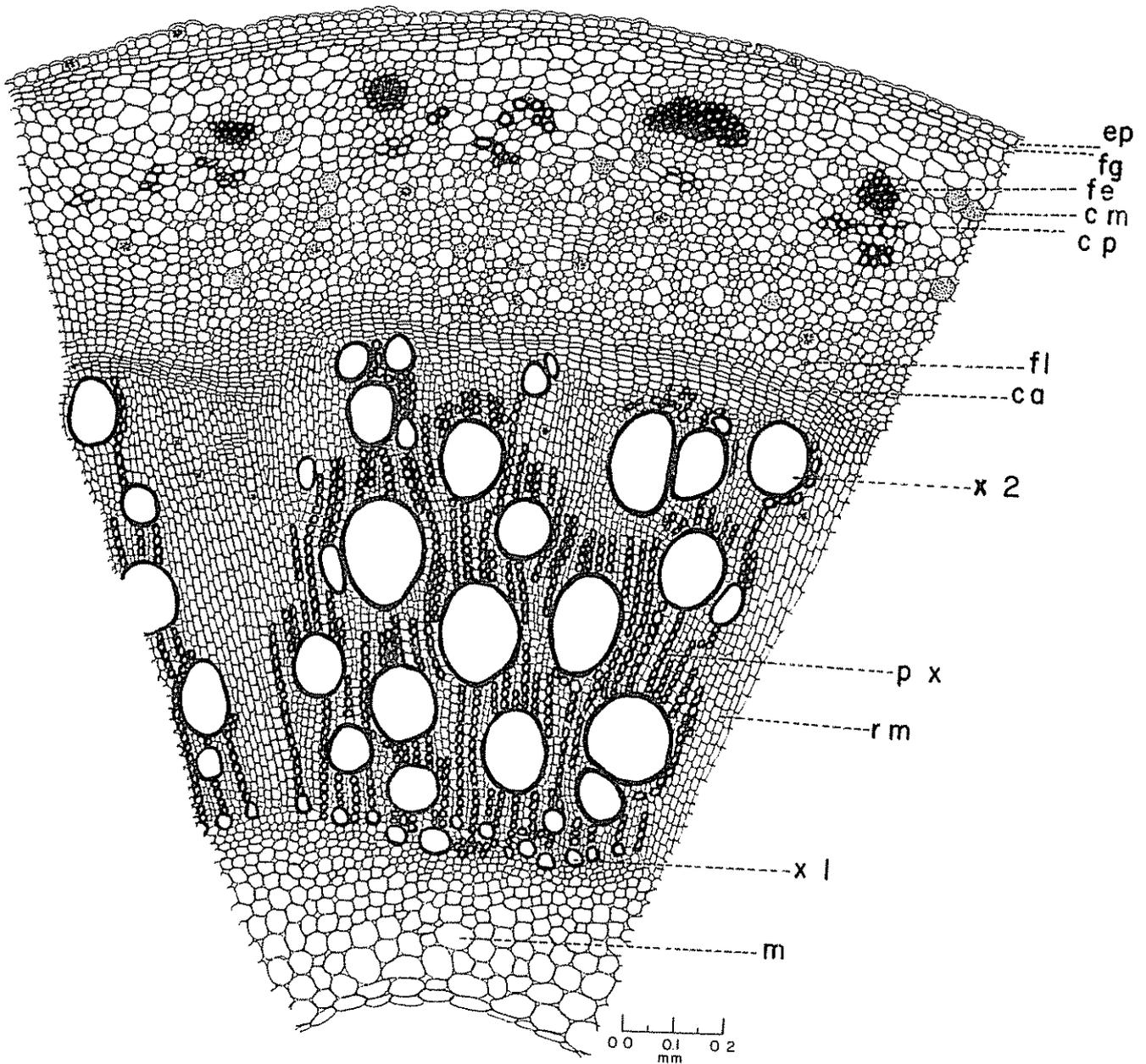


Fig.6 Corte transversal de un tallo adulto. ep, epidermis; fg, felógeno; fe, haz de fibras esclerenquimáticas; cm, célula mucilaginosa; pc, parénquima cortical; fl, floema; ca, cambium; x1, xilema primario, x2, xilema secundario; px, parénquima del xilema; rm, radio medular multiseriado; m, medula.

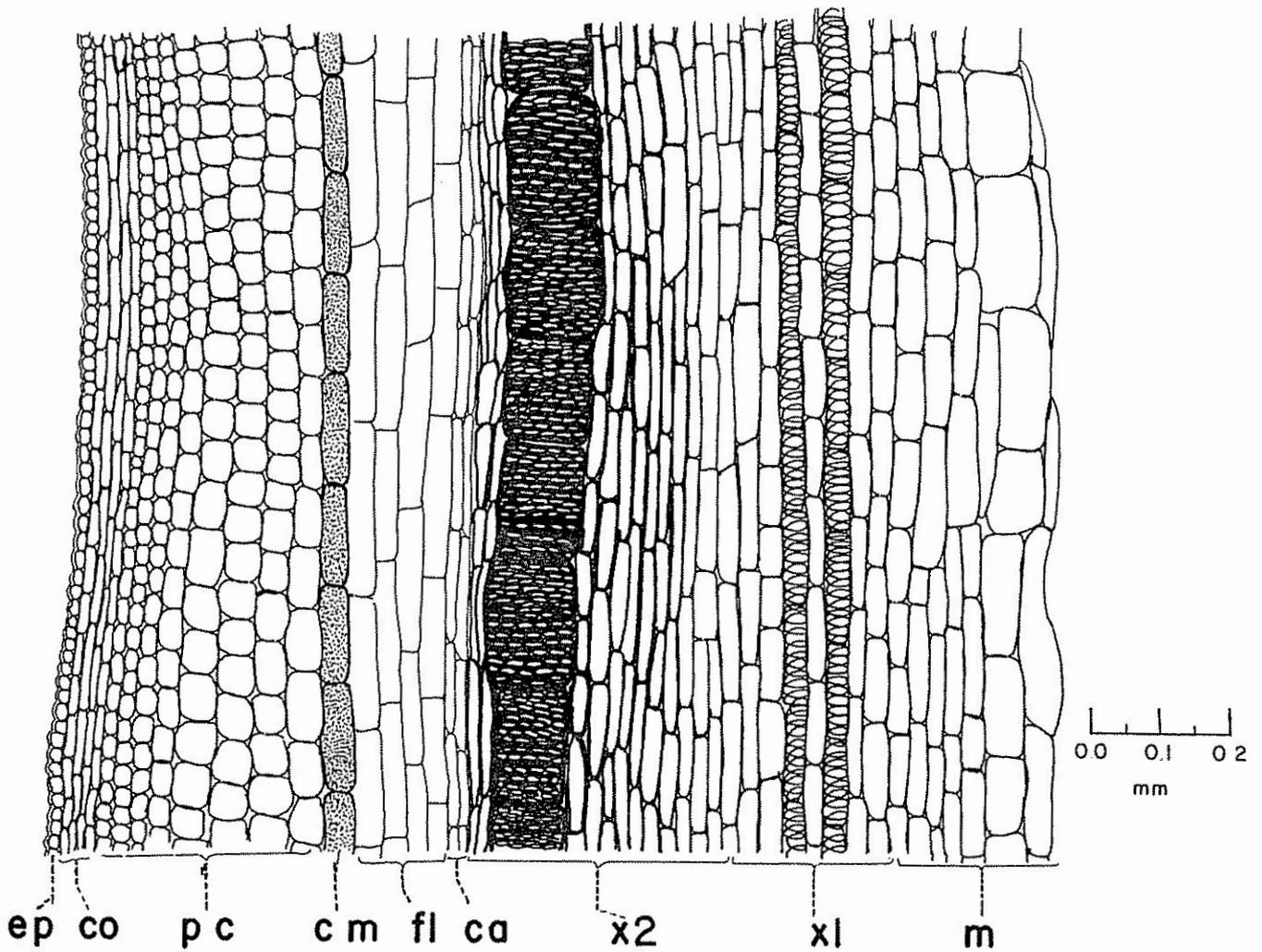


Fig.7 Corte longitudinal de un tallo adulto. ep, epidermis; co, colénquima; pc, parénquima cortical; cm, células mucilaginosas; fl, floema; ca, cambium; x1, xilema primario, mostrando vasos helicoidales; x2, xilema secundario, incluyendo vasos escalariformes y parénquima; m, medula.

diamétricas y algunas contienen granos de almidón; en el centro de este último tejido se desintegran muchas paredes para dar lugar a una cavidad irregular, formándose así un tallo hueco.

#### 4.1.2.3 Hoja

Las hojas son de estructura bifacial típica. La epidermis superior consta de una capa de células rectangulares y de paredes exteriores cutinizadas. Debajo de esta epidermis se halla el tejido en empalizada constituido por un solo estrato de células alargadas, que dejan espacios intercelulares relativamente grandes. Hacia abajo se encuentra el tejido esponjoso, bastante desarrollado, de células redondeadas (Fig. 8). Finalmente sigue la epidermis inferior, cuyas células son más pequeñas que las de la epidermis superior; está interrumpida por estomas.

En la haz de la hoja, sobre el nervio principal, existe una saliente pronunciada, debajo de cuya epidermis se encuentra un tejido colenquimatoso. En forma complementaria existe en el envés otra porción de colénquima, más amplia y de formación redondeada, integrada por tres a cuatro estratos de células típicas.

El pecíolo es de forma subcilíndrica y acanalado. Debajo de la epidermis hay de tres a cuatro capas de células colequimatosas y luego un parénquima, en el cual se disponen 7 haces vasculares periféricos y uno central (Fig. 9).

#### 4.1.2.4 Zarcillo

El zarcillo, en sección transversal, es redondeado. La epidermis tiene células en forma de papilas, especialmente

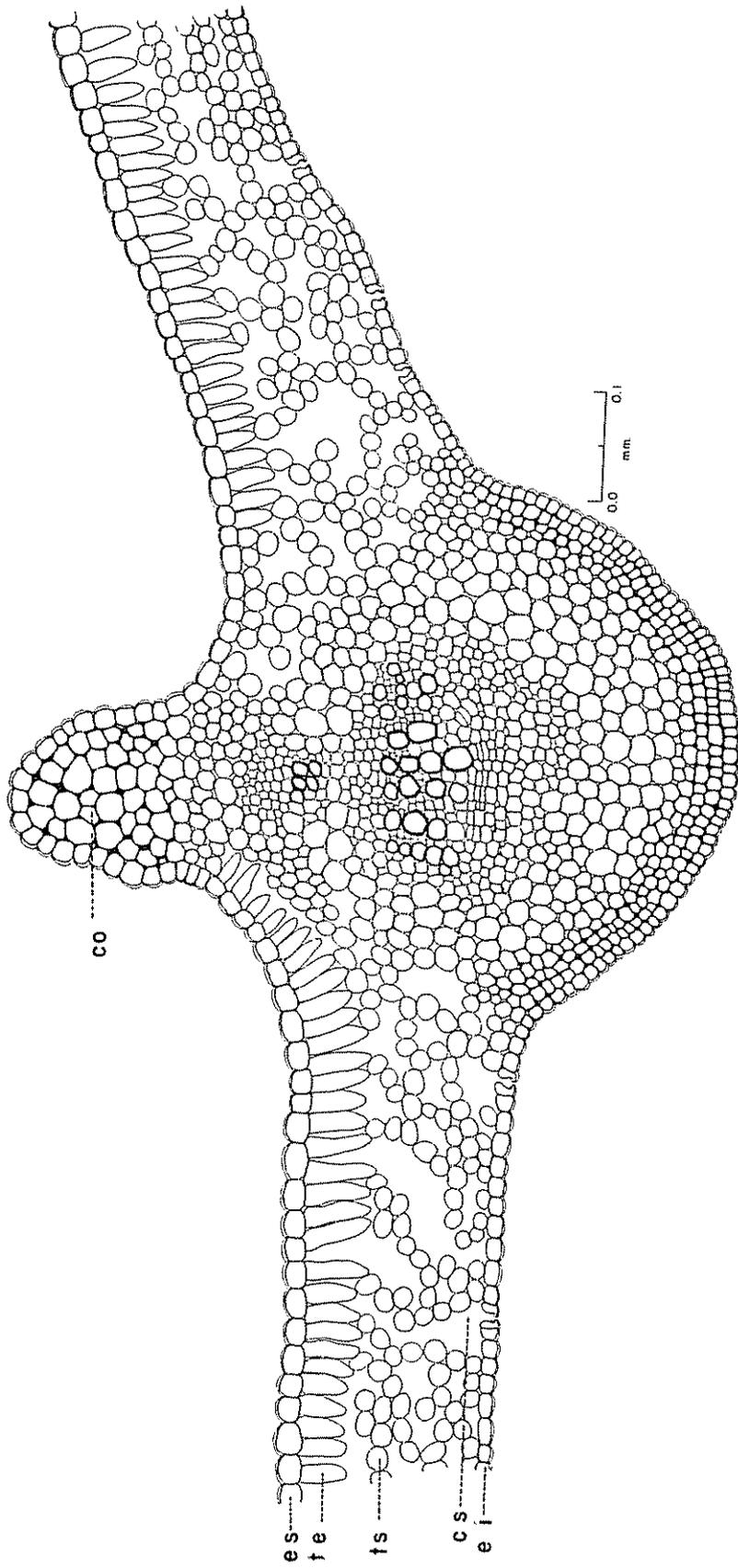


Fig.8 Corte transversal de una hoja. es, epidermis superior; co, colénquima; te, tejido en empalizada; ts, tejido esponjoso; cs, cámara subestomática; ei, epidermis inferior.

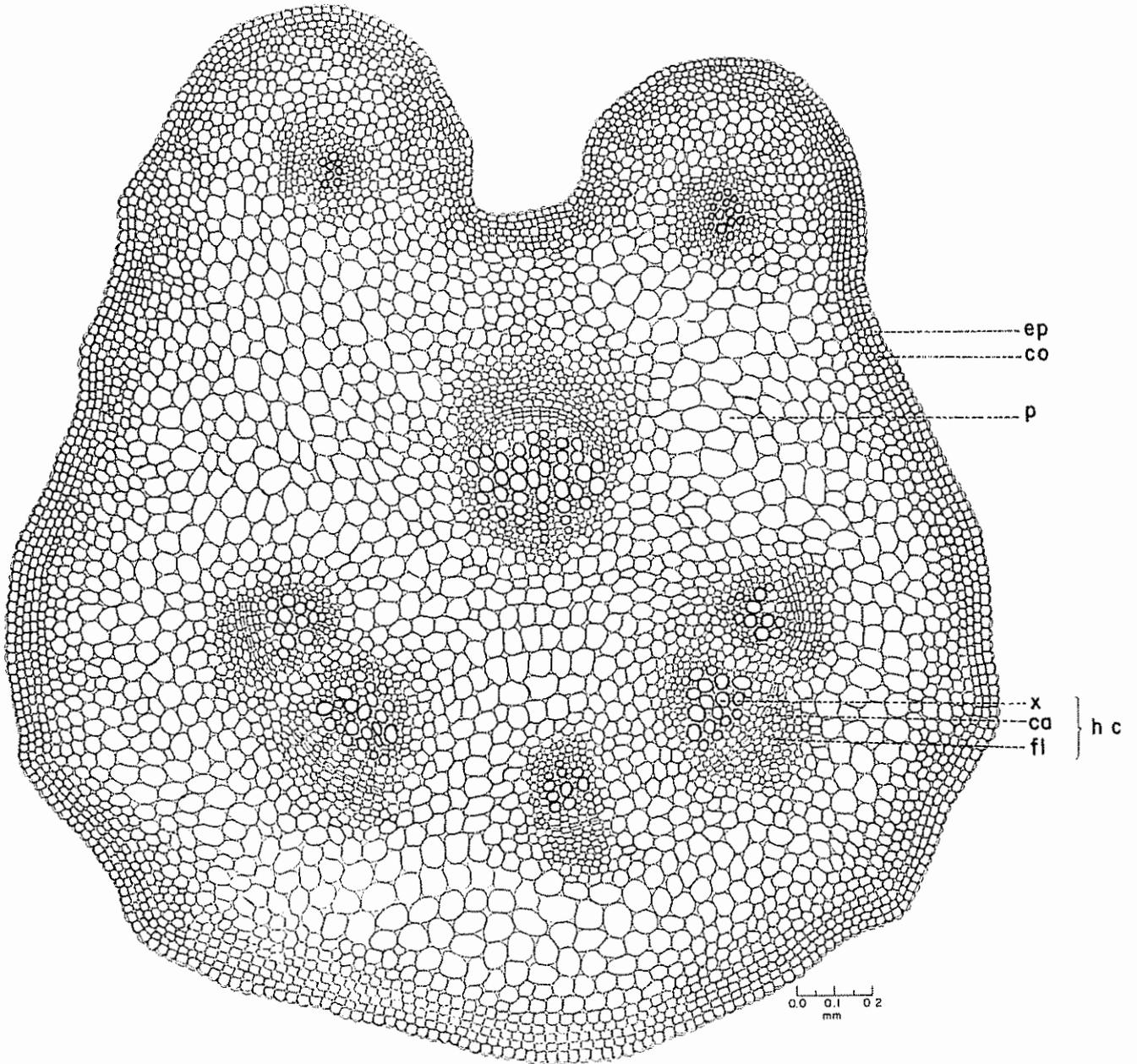


Fig.9 Corte transversal de un pecíolo. ep, epidermis; co, colénquima; p, parénquima; x, xilema; ca, cambium; fl, floema; hc, haz vascular.

en el lado abaxial, donde muchas de ellas tienen salientes pronunciadas. Debajo de la epidermis hay un estrato de colénquima de un espesor de dos a tres filas de células. El parénquima cortical es reducido y en su mayor parte es clorofiliano, de células redondeadas. En este parénquima cortical se encuentran paquetes de fibras esclerenquimáticas regularmente distribuidas en la parte periférica del zarcillo. Las paredes de estas fibras son muy engrosadas en el lado adaxial; mientras que en el lado abaxial tienen paredes bastante delgadas (Fig. 10). Según Haberlandt (39), el lado abaxial de los zarcillos en general es el sensible, pues es el lado por donde se enrollan a su soporte. La cantidad de floema secundario es pequeña con relación al xilema secundario. La medula está constituida por varios estratos de grandes células redondeadas y de paredes engrosadas. La parte céntrica de la medula se desintegra con el tiempo para dar lugar a una cavidad irregular.

#### 4.2 Planta deficiente en nitrógeno:

##### 4.2.1 Síntomas visibles de deficiencia

Los síntomas visibles de deficiencia de nitrógeno se manifestaron a los 120 días, por una clorosis moteada que se inició en las hojas inferiores. Al acentuarse la deficiencia, dichas hojas se tornaron de un color amarillo uniforme, afectándose sucesivamente las hojas superiores (Fig. 11), mientras que las inferiores se iban secando, resultando en una defoliación prematura. El desarrollo de la planta fue menor que la del testigo y el crecimiento del tallo fue afectado tanto en longitud como en diámetro, tomando una coloración rojo-vinosa.

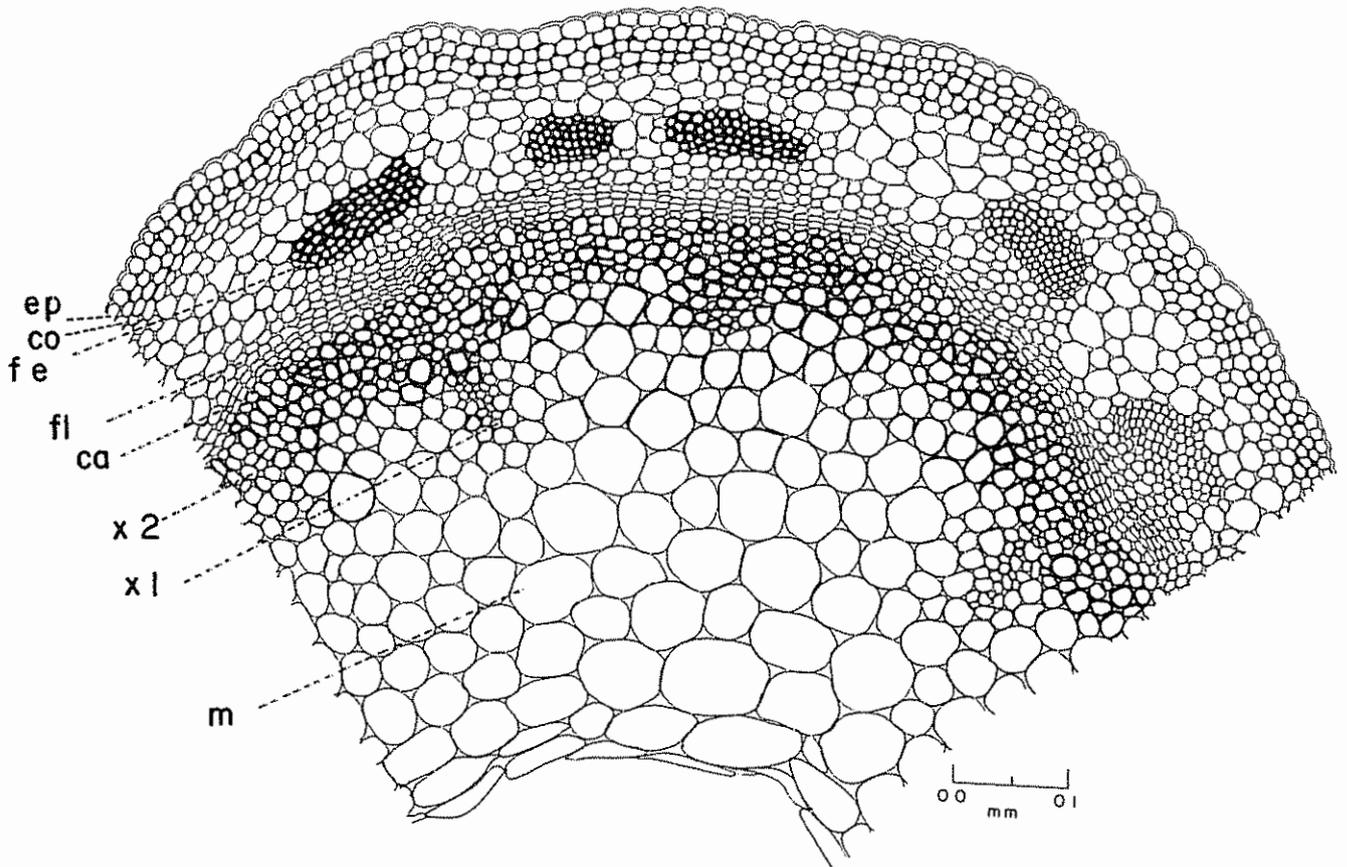


Fig.10 Corte transversal de un zarcillo. ep, epidermis; co, colénquima; fe, haz de fibras esclerenquimáticas; fl, floema; ca, cambium; xl, xilema primario; x2, xilema secundario; m, medula.

Estos síntomas de deficiencia coincidieron con los descritos para guayaba (2), café (21, 63), tabaco (22), camote (23), zarzamora (52), guavo (59), papaya (66) y tomate (94).

Además los zarcillos inferiores tomaron una coloración rojo intensa, secándose sus partes terminales. Aquellos zarcillos inmediatamente superiores, o sea los de la parte media del tallo, también mostraron esta coloración rojiza, la que estaba sin embargo limitada principalmente a la porción céntrica del zarcillo, permaneciendo su parte apical verde. Los demás zarcillos, o sea los más jóvenes tenían su coloración verde normal.

#### 4.2.2 Alteraciones anatómicas

En un corte transversal del tercio inferior de un tallo deficiente en nitrógeno se observó muy poco desarrollo de las fibras esclerenquimáticas, o sea que habían pocas fibras en cada paquete en comparación con el testigo. Los elementos del xilema fueron de menor diámetro, aunque en mayor número con relación al testigo (Fig. 12). Hubo gran acumulación de almidón en los parénquimas cortical, xilemático y medular. Esto se debe posiblemente a que al faltar nitrógeno, los carbohidratos producidos en la fotosíntesis no se utilizan en los procesos de síntesis de aminoácidos y por lo tanto de proteínas que van a formar las estructuras de nuevas células. A consecuencia la planta crece poco. Al mismo tiempo estos carbohidratos son trasladados y depositados en forma de almidón en los tejidos mencionados.

Un corte transversal del tercio medio de un tallo deficiente en nitrógeno mostró las mismas alteraciones que en el tercio inferior del mismo tallo, pero atenuadas. En el tercio superior no se observó



Fig.11 Síntomas visibles de deficiencia de nitrógeno.

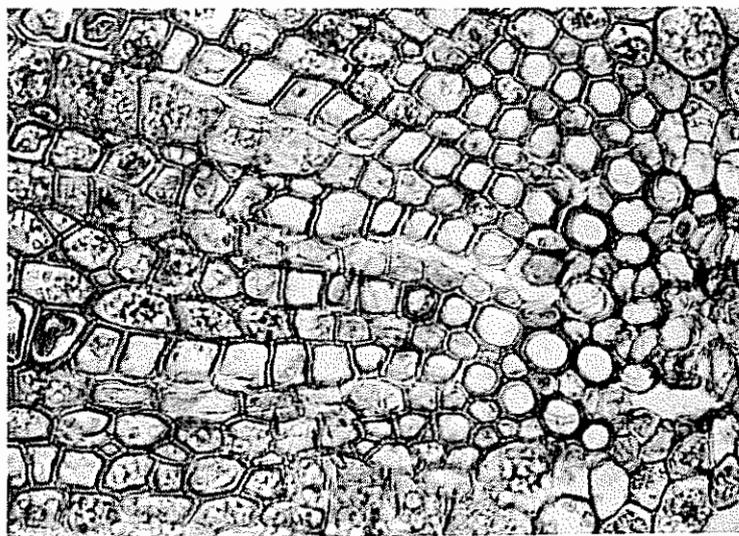


Fig.12 Alteraciones anatómicas en tallo deficiente en nitrógeno.

ninguna alteración.

Cortes transversales de áreas cloróticas de hojas afectadas por la deficiencia de nitrógeno mostraron una gran distorsión de las células en empalizada y del tejido esponjoso, a tal extremo, que no llegaron a diferenciarse estos tejidos (Fig. 13). Los cloroplastos aparecieron bastante deformados y aglutinados en masas irregulares. Estas últimas alteraciones coinciden con las observadas por Accorsi y Haag (1), y Accorsi *et al.* (2) en hojas de café y guayaba respectivamente, deficientes en nitrógeno.

En raíces y zarcillos no se encontró ninguna alteración anatómica.

#### 4.3 Planta deficiente en fósforo:

##### 4.3.1 Síntomas visibles de deficiencia

Los primeros síntomas se manifestaron a los 180 días, resultando las hojas inferiores y algunas del tercio medio afectadas en su crecimiento y con una coloración verde oscura. Luego aparecieron manchas cloróticas en las áreas intervenales de las hojas inferiores, dando el aspecto moteado. Los mismos síntomas se presentaron también en las hojas medias (Fig. 14), permaneciendo las hojas superiores de color verde oscuro. Al acentuarse la deficiencia las manchas cloróticas se unieron y toda la superficie de la hoja se tornó amarillenta comenzando por los bordes y ápices; a esta descoloración siguió una defoliación prematura. Los síntomas de deficiencia descritos coincidieron con aquellos para el tabaco (22), girasol (31), café (63), y papa-ya (66), afectados por la misma deficiencia. Sin embargo, en el caso

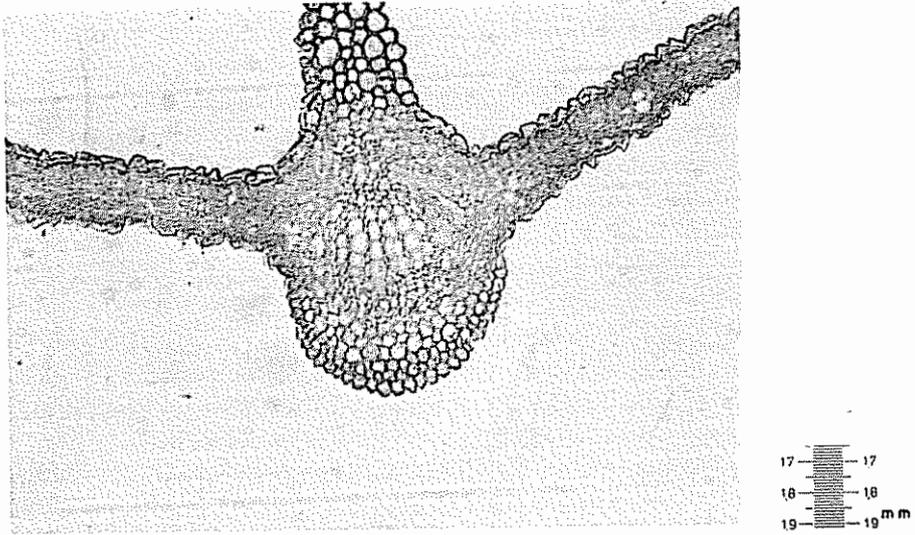


Fig.13 Alteraciones anatómicas en hoja deficiente en nitrógeno.

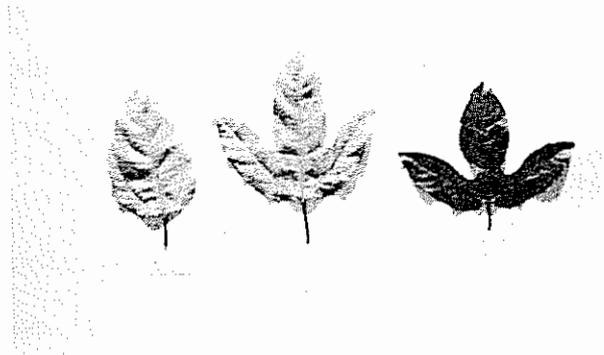


Fig.14 Síntomas visibles de deficiencia de fósforo.

de maracuyá las manchas cloróticas no se tornaron de color violáceo, ni rojizo, ni se volvieron necróticas como en el caso del girasol (31), y café (63).

Los pecíolos y nervaduras tomaron una coloración rojo clara; mientras que el tallo se tornó de un color rojo oscuro. Los brotes laterales tuvieron poco desarrollo. Estas últimas alteraciones coincidieron con las observadas en varias plantas anuales (8, 23).

#### 4.3.2 Alteraciones anatómicas

No se encontró ninguna alteración anatómica en raíces y tallos; Estos resultados no concuerdan con los obtenidos por Eckerson, citado por Eaton (31), quién notó que en tallos de tomate deficientes en fósforo las paredes celulares del colénquima, parénquima xilemático y medula eran más gruesas que las correspondientes del testigo; así mismo que la división celular en el cambium había cesado por la misma deficiencia. Posiblemente la ausencia de alteraciones en dichos órganos de la planta de maracuyá se debió a que durante los cuatro primeros meses se aplicó media dosis de fósforo, lo cual puede haber sido suficiente para suplir las necesidades mínimas de la planta durante su crecimiento ulterior.

En las áreas más afectadas de las hojas deficientes en fósforo, se observó que las células en empalizada habían sufrido serias deformaciones (Fig. 15), no así las células del tejido esponjoso. Los cloroplastos en ambos tejidos mesofílicos estaban agrupados en masas irregulares. Estas alteraciones producidas en los cloroplastos coinciden con los descritos por Accorsi y Haag (1) y Accorsi *et al.* (2) en hojas

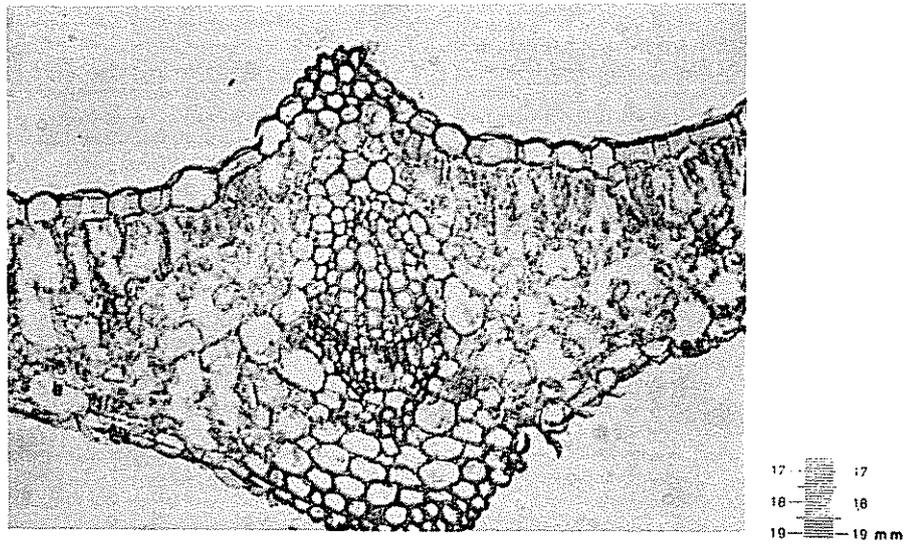


Fig.15 Alteraciones anatómicas en hoja deficiente en fósforo.

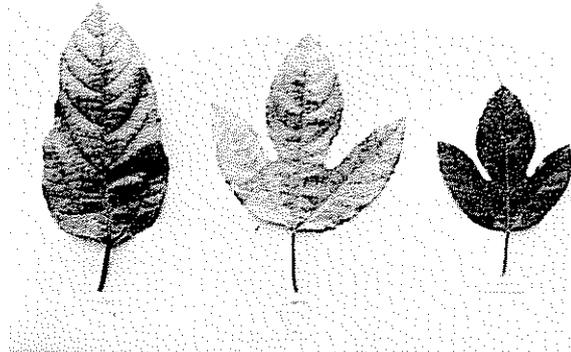


Fig.16 Síntomas visibles de deficiencia de potasio.

de café y guayaba respectivamente, afectadas por la misma deficiencia.

#### 4.4 Planta deficiente en potasio:

##### 4.4.1 Síntomas visibles de deficiencia

Los primeros síntomas de esta deficiencia aparecieron a los 180 días son una clorosis bastante ténue en las hojas inferiores. Los bordes de las hojas tomaron una coloración marrón oscura, apareciendo luego manchas amarillentas en toda la superficie de la hoja, comenzando principalmente por las márgenes y ápices (Fig. 16). En estados más avanzados de deficiencia, lo que ocurrió aproximadamente a los 200 días, las manchas amarillentas se unieron y toda la hoja se tornó clorótica. Luego se formaron pequeñas manchas necróticas en los ápices y márgenes de las hojas, lo que produjo finalmente una fuerte defoliación prematura. Estos síntomas de deficiencia de potasio fueron muy parecidos a los descritos para guayaba (2), café, (21, 63), tabaco (22), tomate (60, 61), papaya (66) y *Tropaeolum majus* (82), afectados por la misma deficiencia. Sin embargo, los nervios y las áreas adyacentes no quedaron de color verde, sino que se tornaron amarillos junto con toda la superficie de la hoja. Además, las áreas necróticas que se desarrollaron a lo largo de las márgenes y ápice fueron muy reducidos.

Los zarcillos del tercio inferior y medio de la planta se marchitaron y finalmente se secaron. Aquellos del tercio superior permanecieron de color verde, pero tuvieron una apariencia leñosa, lo que tiene cierta semejanza con tallos de tomate deficientes en potasio (68, 96).

#### 4.4.2 Alteraciones anatómicas

Observaciones realizadas en cortes transversales de la raíz adulta, deficiente en potasio mostraron que los elementos del xilema tenían paredes celulares más engrosadas. Además, en el parénquima cortical existía gran número de células mucilaginosas en relación con el testigo. En el parénquima del xilema y en el cortical se produjo cierta acumulación de almidón. En la raíz joven no se encontró ninguna alteración.

En el tercio inferior del tallo, aparecieron las mismas alteraciones que en la raíz adulta, pero había una acumulación de almidón importante en el parénquima cortical, xilemático y medular (Fig. 17). En el tercio medio del tallo se observaron las mismas alteraciones que en la parte basal; solamente la acumulación de almidón en el parénquima cortical fue menor. El tercio superior del tallo no mostró ninguna particularidad.

La acumulación de almidón en los tejidos mencionados se debe posiblemente a que al existir una deficiencia de potasio, se altera en cierto grado las reacciones de transferencia de fosfatos que intervienen en la síntesis de proteínas, puesto que el potasio es esencial en estas reacciones (97). Luego, debido a la reducción de la síntesis de proteínas, los azúcares producidos en la fotosíntesis son trasladados y se acumulan en forma de almidón en las células parenquimatosas.

Estas alteraciones anatómicas encontradas en el tallo deficiente en potasio coinciden plenamente con las descritas por Nightingale, Schermerhorn y Robbins (68) para tallos de tomate afectados por la misma deficiencia.

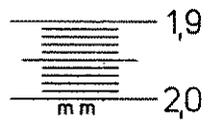
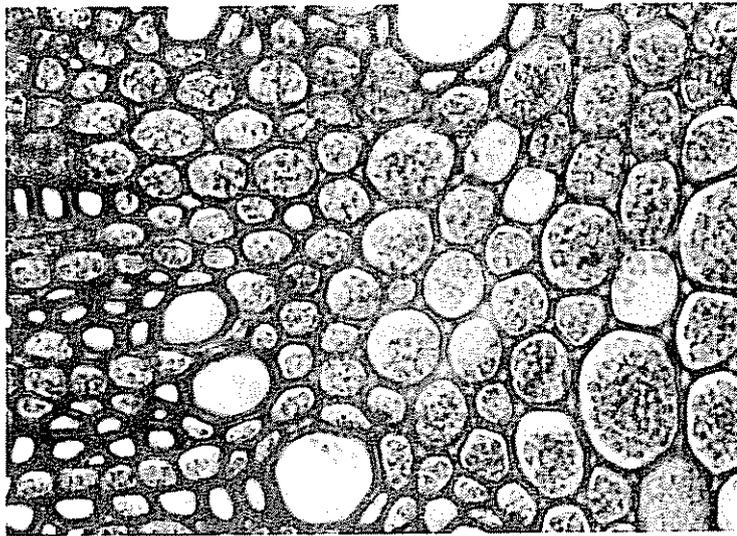


Fig.17 Alteraciones anatómicas en tallo deficiente en potasio.



Fig.18 Síntomas visibles de deficiencia de magnesio.

En las áreas cloróticas de hojas deficientes en potasio se observaron deformaciones de las células en empalizada y las del tejido esponjoso, con menor intensidad en estas últimas. En ambas partes del mesofilo el número de cloroplastos fue reducido y los existentes daban la impresión de estar fragmentados y aglomerados irregularmente. Estas observaciones coinciden en mucho con las descritas para hojas de café (1) y guayaba (2).

Los zarcillos no mostraron ninguna anomalía.

#### 4.5 Planta deficiente en magnesio:

##### 4.5.1 Síntomas visibles de deficiencia

Los síntomas de deficiencia de magnesio se manifestaron a los 120 días, iniciándose primeramente en las hojas inferiores, las que presentaron manchas cloróticas en las áreas intervenales, lo que dió un aspecto moteado. Al agudizarse la deficiencia, las manchas cloróticas se unieron, comenzando por la base de la hoja, y luego se tornaron necróticas (Fig. 18). Además, hubo una fuerte defoliación prematura.

Los brotes laterales inferiores tuvieron poco desarrollo y sus hojas presentaron fuerte clorosis, la cual era menos evidente en los brotes medios y aún menos en los superiores.

Estos resultados fueron muy similares a las anomalías producidas en cítricos (7), *Passiflora ligularis* (20), café (21, 63), tabaco (22), camote (23), manzano (34), papaya (66) y tomate (94) afectados por la misma deficiencia. Solamente que en maracuyá los nervios no permanecieron de color verde, sino que se tornaron amarillos junto con el parénquima foliar.

Los zarcillos inferiores se marchitaron y luego se secaron. Los del tercio medio y superior tomaron una coloración rojiza.

#### 4.5.2 Alteraciones anatómicas

Las raíces y zarcillos parecieron completamente normales.

Cortes transversales, realizados en el tercio inferior y medio del tallo de la misma planta, mostraron acumulación de almidón en el parénquima xilematoso y medular, y especialmente en el parénquima cortical. Esto se debía posiblemente a que el magnesio, al igual que el potasio, interviene como activador de las reacciones de transferencia de fosfatos en la síntesis de proteínas y carbohidratos (97). Luego, al existir deficiencia de magnesio, resultaría afectado en cierto grado este proceso metabólico, lo que daría lugar a un exceso de azúcares que son trasladados y almacenados en forma de almidón.

En las áreas cloróticas de las hojas, las células en empalizada exhibieron un contorno deformado. Los cloroplastos, tanto en las células en empalizada como en las esponjosas, se replegaron hacia la pared celular, donde se agruparon en masas irregulares. Estos resultados concuerdan plenamente con los obtenidos por Accorsi y Haag (1) y Accorsi *et al.* (2) en áreas cloróticas de hojas de café y guayaba respectivamente, afectadas por deficiencia de magnesio.

#### 4.6 Planta deficiente en calcio:

##### 4.6.1 Síntomas visibles de deficiencia

La deficiencia de calcio se presentó a los 120 días, mediante una clorosis intervenal uniforme en las hojas más jóvenes, permaneciendo todas las nervaduras, hasta las más finas, de color verde,

lo que dió un aspecto de malla. Además, las yemas terminales presentaron pequeñas manchas necróticas. En estados avanzados de deficiencia, las hojas del tercio medio también sufrieron de las mismas alteraciones, produciéndose encrespamiento de los bordes de las hojas, las cuales mostraron cierta consistencia coriácea (Fig. 19).

Una necrosis fuerte afectó a los zarcillos del tercio inferior del tallo en casi toda su longitud. Los del tercio medio y superior permanecieron normales.

El crecimiento de la planta fue reducido y los brotes laterales se desarrollaron muy poco.

Estos resultados coinciden en su mayoría con los descritos para guayaba (2), café (21, 63), tabaco (22), camote (23), arveja (27), tomate (50), zarzamora (52), papaya (66) y lechuga (87). Sin embargo, las yemas terminales de maracuyá no se murieron como sucedió en muchas otras plantas. Esto se debió a que no se dejó que la deficiencia se agudizara a tal extremo.

#### 4.6.2 Alteraciones anatómicas

En tallos y zarcillos las células cambiales presentaron en algunas zonas deformaciones bastante acentuadas (Fig. 20), lo que dió lugar a un reducido crecimiento en grosor de estos órganos. El floema tuvo poco desarrollo, al igual que la corteza y medula, siendo las paredes celulares de ésta fuertemente engrosadas y ligeramente lignificadas. Los paquetes de fibras esclerenquimáticas también presentaron poco desarrollo y algunos estuvieron poco lignificados. Estas alteraciones fueron menos pronunciadas en el tercio inferior del tallo.

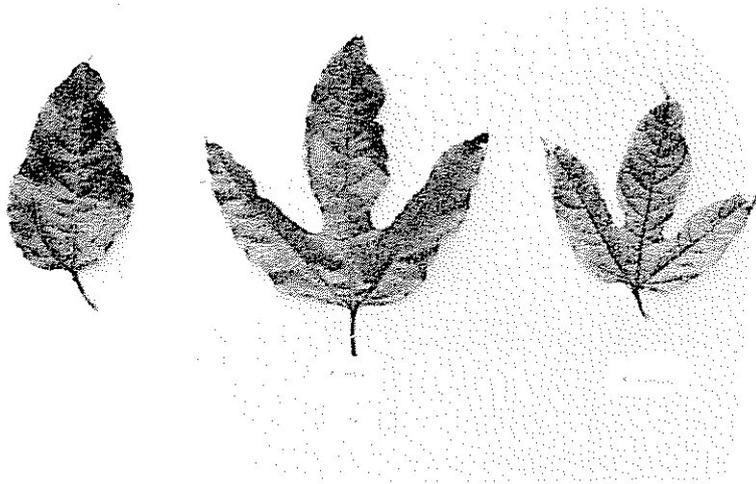


Fig.19 Síntomas visibles de deficiencia de calcio.

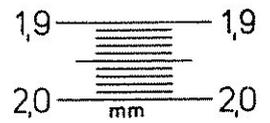
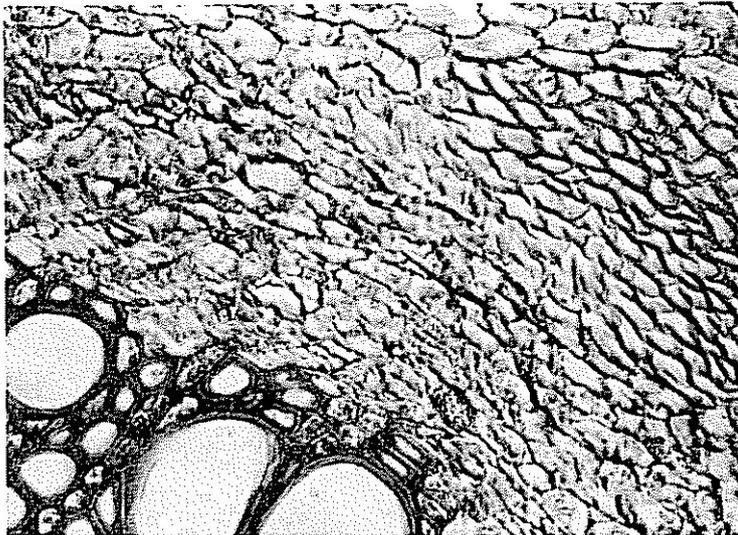


Fig.20 Alteraciones anatómicas en tallo deficiente en calcio.

Estas anormalidades coinciden en algunos aspectos con los descritos para tallos de *Pinus taeda* (25) y tomate (50), deficientes en calcio, con la diferencia de que en el tomate se presentó necrosis en la corteza; no así en maracuyá. Otro síntoma en esta última planta fue engrosamiento de las paredes de las células medulares.

Las áreas afectadas de hojas deficientes en calcio mostraron una deformación completa de las células en empalizada y esponjosas, las cuales formaron una sola masa entre las dos epidermis. Sólo los vasos de los nervios que atraviezan el mesofilo de la hoja se distinguieron claramente (Fig. 21). En áreas menos afectadas de las hojas, las células esponjosas eran menos deformadas que las en empalizada. Sin embargo, éstas últimas dieron un aspecto de estar plasmolizadas, con los cloroplastos amontonados.

Estas alteraciones, causadas por la deficiencia de calcio, fueron muy similares con las descritas para hojas de guayaba (1), café (2), tomate (50) y lechuga (87), afectadas por la misma deficiencia. Solamente en las hojas de esta última especie las células del floema de los principales haces vasculares tenían paredes engrosadas, y los vasos del xilema estuvieron taponados con una sustancia gomosa.

#### 4.7 Planta deficiente en azufre:

##### 4.7.1 Síntomas visibles de deficiencia

A los 150 días se iniciaron en las hojas superiores los síntomas de deficiencia de azufre, en forma de clorosis en todas las áreas intervenales, quedando pequeñas áreas de color verde a ambos lados de todas las nervaduras (Fig. 22). Al agudizarse la deficiencia, las hojas de los brotes terminales quedaron chicas y se tornaron completa-

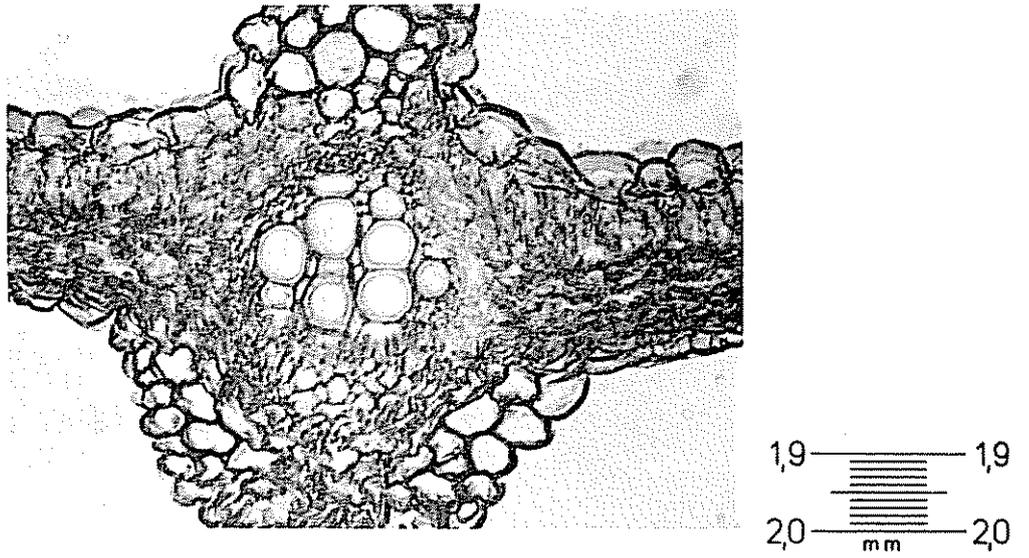


Fig.21 Alteraciones anatómicas en hoja deficiente en calcio.

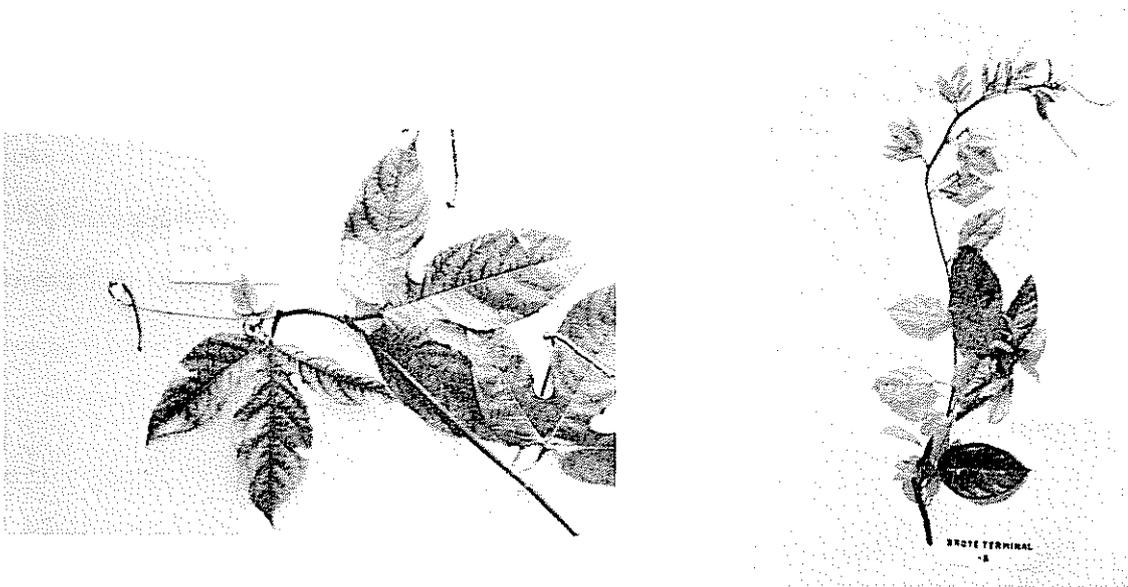


Fig.22 Síntomas visibles de deficiencia de azufre.

mente amarillas, mientras que las hojas del tercio medio e inferior conservaron su color verde normal.

Estos resultados fueron muy similares a los obtenidos para guayaba (2), tabaco (22, 61, 98), soya (29), girasol (30), tomate (61, 64), y papaya (66). Pero en maracuyá no se produjo una marcada reducción en el crecimiento de la planta, debido posiblemente a la media dosis de azufre que se aplicó durante los cuatro primeros meses.

#### 4.7.2 Alteraciones anatómicas

Cortes transversales realizados en el tercio medio e inferior del tallo deficiente en azufre, mostraron deformaciones de los elementos del cambium en algunas zonas (Fig. 23). Además se observó acumulación de almidón en el parénquima cortical y medular, cuyas paredes celulares estuvieron engrosadas. En el tercio superior del tallo el cambium estaba tan bien definido como en el testigo.

Estos resultados coincidieron con los hallados en tallos de soya (29) y girasol (30), pero contrastaron con los descritos por tallos de tabaco (98), afectados por la misma deficiencia. En maracuyá no se observó reducción en el tamaño de las células epidérmicas, corticales, floemáticas y medulares, como sucedió en los tallos de tabaco (98).

En áreas cloróticas de hojas afectadas por la deficiencia de azufre las células en empalizada exhibieron ciertas deformaciones, con los cloroplastos ligeramente agrupados. En las células esponjosas no se observó ninguna diferencia con respecto al testigo.

Estas alteraciones anatómicas encontradas en las hojas deficientes en azufre fueron muy similares a las encontradas en hojas de café (1) y guayaba (2), afectadas por la misma deficiencia.

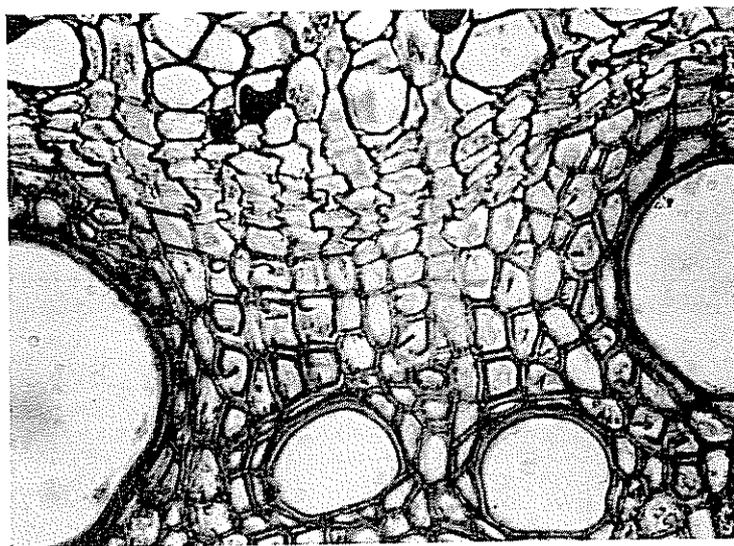


Fig.23 Alteraciones anatómicas en tallo deficiente en azufre.

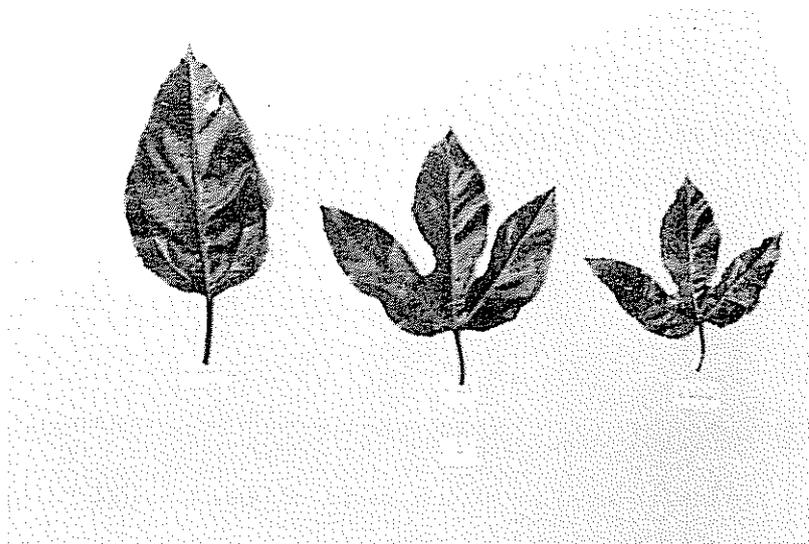


Fig.24 Síntomas visibles de deficiencia de manganeso.

#### 4.8 Planta deficiente en manganeso:

##### 4.8.1 Síntomas visibles de deficiencia

Las síntomas se iniciaron a los 120 días en las hojas superiores, las que presentaron manchas cloróticas en las áreas inter-venales, lo que dió un aspecto moteado, ya que los nervios junto con una delgada franja de parénquima permanecieron verdes (Fig. 24). Al agudizarse la deficiencia, dichas hojas se tornaron amarillas, apareciendo puntos necróticos de color blanquecino. Posteriormente se produjo un encurvamiento de los bordes de las hojas hacia abajo.

Estos resultados fueron muy semejantes a los descritos para varias especies afectadas por deficiencia de manganeso (21, 22, 23, 32, 38, 56, 61, 63, 66, 94), con la diferencia de que en maracuyá no se produjo defoliación prematura y la clorosis no avanzó a las hojas del tercio inferior, como sucedió en algunas otras especies.

Los zarcillos presentaron ciertas deformaciones y necrosis en su parte media, lo que posiblemente dió lugar a desenrollamientos. Como consecuencia de estas alteraciones, dichos órganos tenían el aspecto de resortes estirados.

##### 4.8.2 Alteraciones anatómicas

Las raíces, tallos y zarcillos no mostraron ninguna alteración anatómica. Estos resultados contrastaron con los encontrados por Eltinge (32), pues tallos de tomate deficientes en manganeso, tenían menos xilema y muchos vasos aparecieron taponados con material coagulado. También fueron diferentes de las alteraciones halladas en brotes de manzano (70), donde la deficiencia de manganeso afectó el buen desarrollo de los tejidos corticales y vasculares.

Las observaciones realizadas en las áreas cloróticas de hojas afectadas por deficiencia de manganeso mostraron algunos células en empalizada deformadas, con los cloroplastos reunidos en forma desordenada (Fig. 25). Las células esponjosas sufrieron menos alteraciones. Estos resultados difieren de los descritos por Haas (38) en hojas de cítricos, afectadas por la misma deficiencia, pues este autor encontró desintegración de las células mesofílicas. Pero estas observaciones coinciden, en parte, con las descritas por Eltinge (32) y West y Harris (99) en hojas de tomate, donde la deficiencia de manganeso causó las mismas alteraciones que en maracuyá, faltando, sin embargo, cloroplastos desintegrados.

#### 4.9 Planta deficiente en fierro:

##### 4.9.1 Síntomas visibles de deficiencia

La deficiencia de fierro en maracuyá se manifestó a los 150 días con una clorosis intervenal en las hojas superiores, donde todos los nervios permanecieron de color verde, lo que dió un aspecto reticulado. Al agudizarse la deficiencia la clorosis afectó también a las hojas de los brotes del tercio medio de la planta, y todas las hojas tiernas tomaron una coloración blanquecina, incluyendo sus nervaduras (Fig. 26).

Estos síntomas coinciden plenamente con los encontrados para otras especies afectadas por la deficiencia de fierro (21, 22, 23, 38, 52, 53, 61, 63, 94, 95, 99).

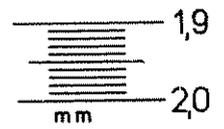
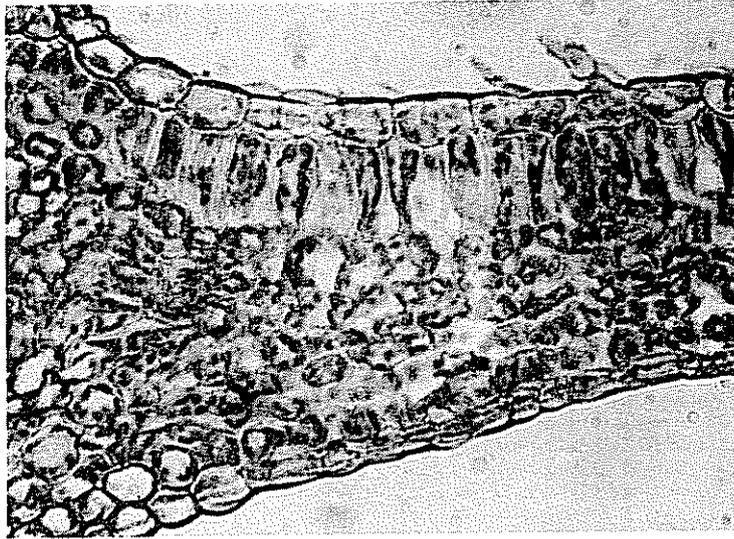


Fig.25 Alteraciones anatómicas en hoja deficiente en manganeso

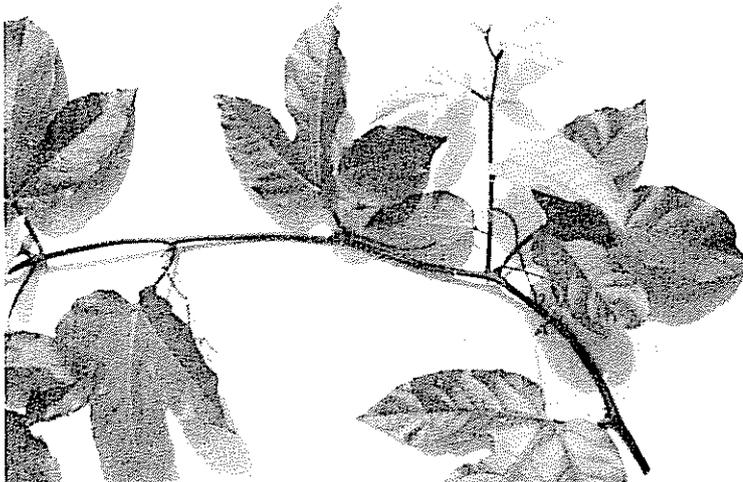


Fig.26 Síntomas visibles de deficiencia de fierro.

#### 4.9.2 Alteraciones anatómicas

Cortes transversales realizados en raíces, tallos y zarcillos no mostraron ninguna alteración anatómica.

Hojas afectadas por la deficiencia de fierro presentaron un parénquima en empalizada poco desarrollado, con células cortas, mientras que el parénquima esponjoso fue compacto (Fig. 27). En todo el mesofilo habían muy pocos cloroplastos, de tamaño reducido, y replegados a la parte periférica de las células.

Estas alteraciones coinciden con las encontradas en hojas de tomate y espinaca (93), así como en guisantes (99), afectadas por la deficiencia de fierro.

#### 4.10 Planta deficiente en boro:

##### 4.10.1 Síntomas visibles de deficiencia

A los 120 días de omitir el boro de la solución nutritiva, el primer órgano afectado por la deficiencia fue la yema terminal, que sufrió necrosis y atrofiamiento, lo que dió lugar a un estancamiento en el desarrollo de la planta (Fig. 28). Las hojas crecieron poco y presentaron clorosis, la cual fue más pronunciada en las hojas superiores o jóvenes. Todas las hojas afectadas mostraron una consistencia coriácea y ondulaciones en sus bordes.

Estos síntomas se parecieron en algunos aspectos a los descritos para otras especies afectadas por deficiencia de este elemento (10, 21, 22, 52, 63, 76, 94, 99, 100). Pero en maracuyá no se produjo proliferación de yemas axilares ni agrietamientos de tallos y pecíolos como se reportó para otras especies (10, 76, 94, 99).

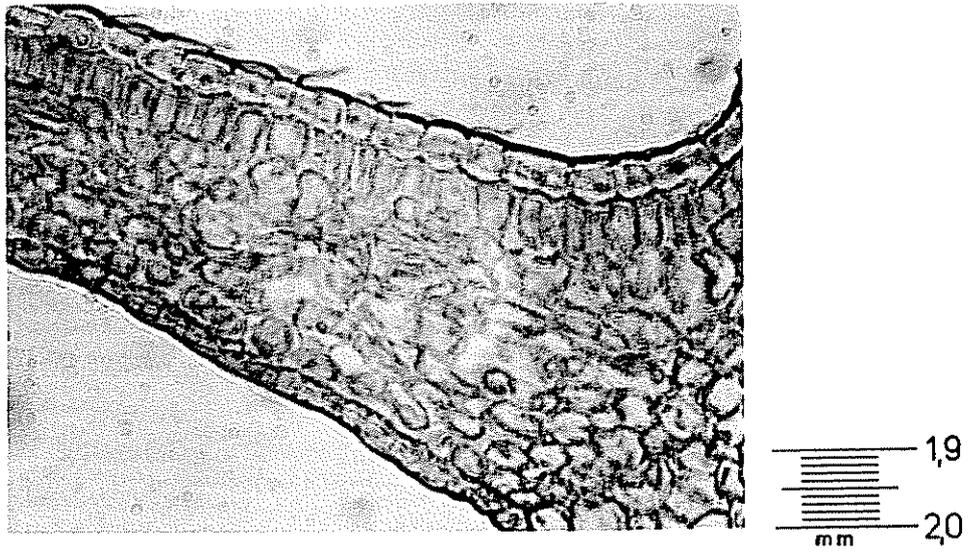


Fig.27 Alteraciones anatómicas en hoja deficiente en fierro.



Fig.28 Síntomas visibles de deficiencia de boro.

#### 4.10.2 Alteraciones anatómicas

En raíces jóvenes se observó destrucción de los elementos del floema y necrosis aparente en las células endodérmicas y pericíclicas (Fig. 29).

Cortes realizados en el tercio inferior, medio y superior de tallos afectados por la deficiencia de boro mostraron deformaciones en muchas células cambiales e interrupción del cambium interfascicular en algunas zonas. Además, se notó una fuerte acumulación de almidón en el parénquima cortical, xilemático y medular (Fig. 30). También se redujo el xilema cuyos vasos eran de diámetro menor en comparación con el testigo.

Las alteraciones producidas en el cambium, dieron lugar posiblemente a una reducción del crecimiento en grosor, ya que la cantidad de tejido vascular fue bastante reducido con relación al testigo.

La fuerte acumulación de almidón en los tejidos mencionados apoyaría la hipótesis de Gauch y Dugger (36): al existir deficiencia de boro en los tejidos no se forma los complejos azúcar-borato o la asociación del borato con la membrana celular que facilitaría, según dicha hipótesis, el pasaje de azúcares de una célula a otra. Al ser afectado el traslado de los azúcares, éstos se depositan en forma de granos de almidón.

Estas alteraciones anatómicas fueron bastante similares a las descritas para tallos de tomate y algodón deficientes en boro (71), con la diferencia de que en maracuyá no se observaron células necrosificadas en la medula. Iguales resultados que los encontrados se obtuvieron en otras especies afectadas por la misma deficiencia (9, 10, 26, 48, 57).

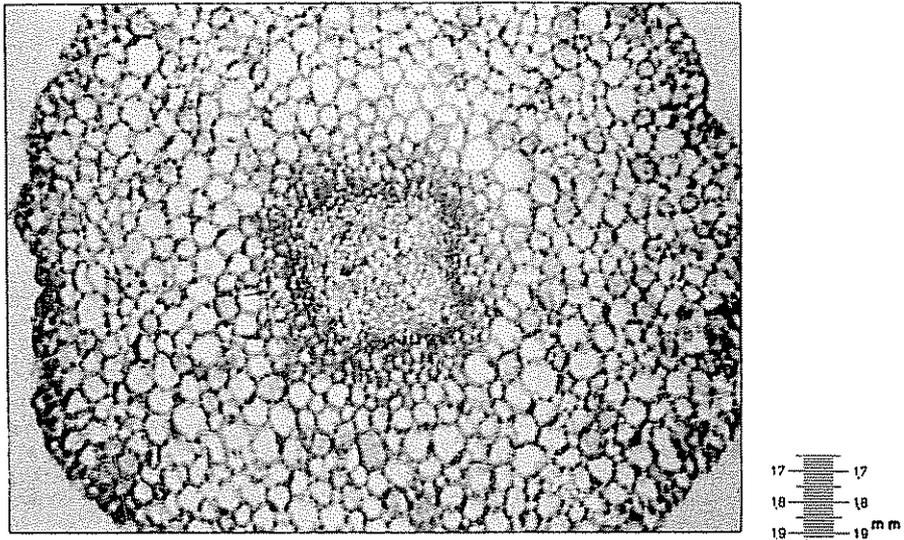


Fig.29 Alteraciones anatómicas en raíz deficiente en boro.

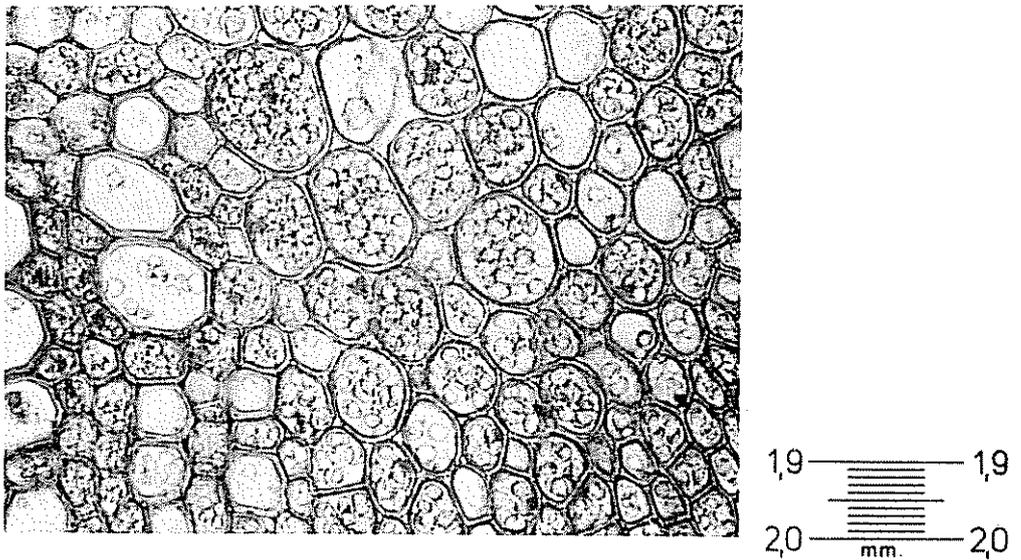


Fig.30 Alteraciones anatómicas en tallo deficiente en boro.

Las células en empalizada de las hojas deficientes en boro mostraron fuerte deformación, dando la apariencia de estar destruidas (Fig. 31). Las células del tejido esponjoso fueron aparentemente más largas que en el testigo. En la epidermis aparecieron algunas células muertas, llenas de un material granular. Los cloroplastos se presentaron agrupados cerca de la pared celular, especialmente en las células en empalizada. En el floema y parénquima de los haces vasculares se observó acumulación de almidón.

Estas alteraciones anatómicas de las hojas difieren en algunos aspectos con los descritos para melocotón (51), tomate y algodón (71) y lechuga (87). En algunas especies no se registraron células muertas en la epidermis, ni almidón en los tejidos que rodearon a los haces vasculares, como sucedió en maracuyá, mientras que en esta planta no se observó reducción de los haces vasculares como se describe para las especies citadas.

#### 4.11 Planta deficiente en zinc:

##### 4.11.1 Síntomas visibles de deficiencia

Los síntomas se manifestaron a los 150 días en las hojas superiores, y en algunas del tercio medio de la planta, en forma de pequeñas manchas necróticas de color blanquecino, rodeadas de un halo amarillento. Las hojas inferiores permanecieron normales con un color verde oscuro intenso (Fig. 32). Al intensificarse la deficiencia, las hojas superiores se tornaron amarillas, mostrando todavía las manchas necróticas; a lo largo de los nervios permanecieron delgadas franjas de parénquima de color verde. Las hojas presentaron ondulaciones en sus bordes. En las más tiernas, donde la deficiencia fue más severa,

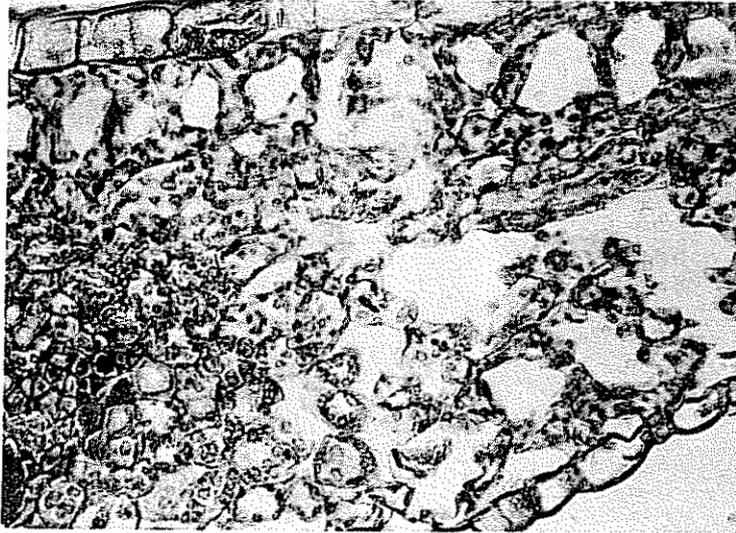


Fig.31 Alteraciones anatómicas en hoja deficiente en boro.



Fig.32 Síntomas visibles de deficiencia de zinc.

estas ondulaciones aparecieron en toda la hoja, la que además quedó chica, con sus lóbulos delgados y puntiagudos. Habían muchas hojas con deformaciones.

En los brotes terminales hubo acortamiento de los entrenudos, lo que dió lugar a la formación de la típica "roseta".

Estos síntomas visibles de deficiencia de zinc coinciden plenamente con los descritos para otras especies (7, 13, 16, 17, 42, 61, 63, 74, 75, 94, 99).

#### 4.11.2 Alteraciones anatómicas.

En cortes realizados a lo largo de todo el tallo deficiente en zinc, se observaron algunas deformaciones de las células cambiales e interrupciones del cambium interfascicular en algunas zonas (Fig. 33). Los dos tercios inferiores del tallo mostraron, además, cierta acumulación de almidón en los parénquimas cortical, xilamatoso y medular, y algunas deformaciones y rupturas en los elementos del xilema primario.

Estas alteraciones anatómicas en el cambium fueron semejantes a las halladas en tallos de tomate (13); pero difirieron en algunos aspectos con los descritos para otras especies afectadas por la misma deficiencia (75), ya que en maracuyá no se produjo retardación en los procesos de crecimiento, diferenciación y multiplicación celular. También hubo en maracuyá acumulación de almidón.

Las hojas afectadas por la deficiencia de zinc mostraron células en empalizada anchas y cortas y algunas completamente destruídas. Las células del tejido esponjoso también exhibieron deformaciones, pero

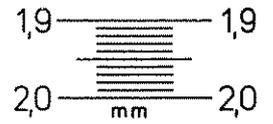
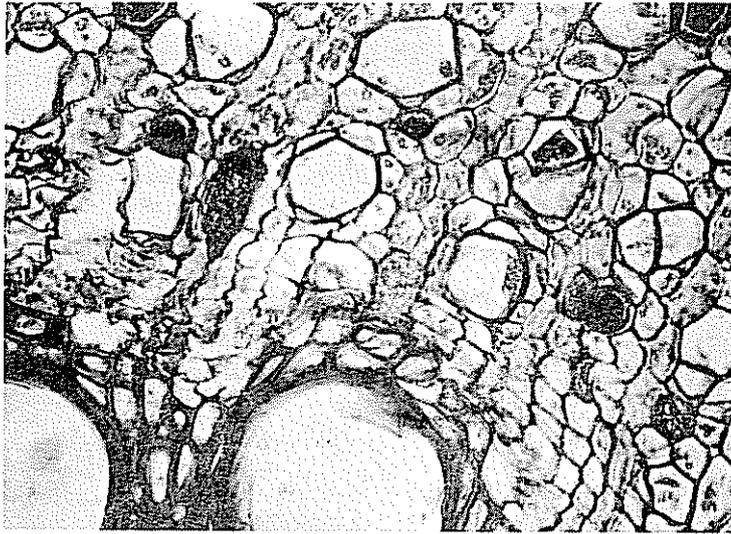


Fig.33 Alteraciones anatómicas en tallo deficiente en zinc.

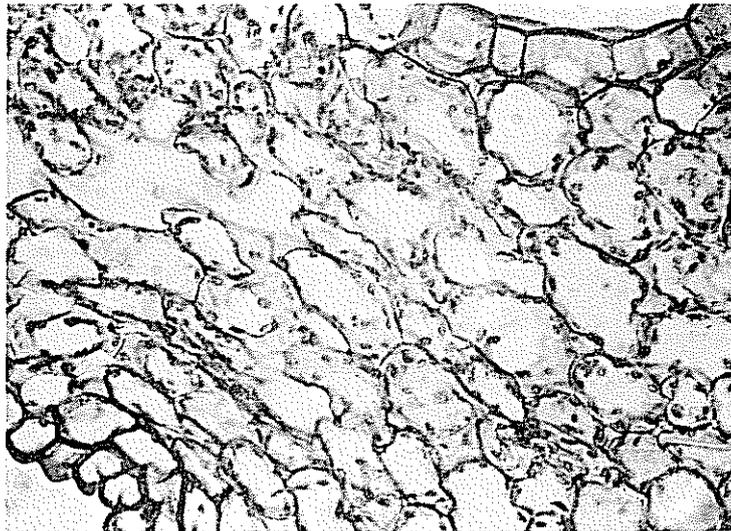


Fig.34 Alteraciones anatómicas en hoja deficiente en zinc.

con menor intensidad; además, este tejido fue más compacto (Fig. 34). Los cloroplastos del mesofilo se agruparon desordenadamente y muchos mostraron la apariencia de estar fragmentados.

Estas alteraciones fueron muy semejantes a las descritas para algunas especies afectadas por la deficiencia de zinc (74, 77, 99). Pero en maracuyá no se observó aumento en el tamaño de las células en empalizada, sino más bien un acortamiento de dichas células, aunque quedaron más anchas que las del testigo.