

Universidad de Almería



**MÁSTER EN HORTICULTURA MEDITERRÁNEA BAJO
INVERNADERO TRABAJO FIN DE MÁSTER**

**EFFECTO COMPARATIVO DE DIFERENTES FORMAS DE ZN, EN LA
BIOFORTIFICACIÓN DE TOMATE CHERRY (LYCOPERSICON
ESCULENTUM) EN CONDICIONES DE INVERNADERO**

Alumno: Luis Sainz Mendoza.

Tutores: José Miguel Guzmán Palomino ¹
Departamento de Agronomía, Universidad de Almería.

Curso 2018/2019
Convocatoria septiembre 2019

Efecto comparativo de diferentes formas de Zn, en la biofortificación de tomate cherry (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en condiciones de invernadero.

L. Sainz^{1,2}, A.I. Guzmán² and M. Guzmán²

¹Master en Horticultura Mediterránea bajo Invernadero, Universidad de Almería, lss969@inlumine.ual.es

²Departamento de Agronomía, Universidad de Almería

ABSTRACT

Biofortification is defined as the process that increases the concentration of bioavailable essential compounds in the edible portions of plants through an agronomic or genetic intervention. In this study we evaluate the biofortification in cherry tomato varieties with different sources of Zinc (Zinc-doped Hydroxyapatite (Zn-nHA); Zinc Lignosulfonate (Zn-LgSf); Zinc Sulphate (Zn-SO₄) and without Zinc application (Control). It was also analysed how it affects in each of these treatments the greater or lesser restriction of Calcium provided in the SN (100%, 50 and 0). The results obtained show that all the treatments applied significantly affect both the quality of the fruit and its composition. The effect of the limitation of Ca in the SN causes a decrease in Ca, Mg, Zn, Cu and Mn, while N, Fe and K increase their concentration as the Ca decreases. The foliar contributions of Zn to the fruit cause a significant increase in the content of Zn in fruit with respect to the control. The greatest increases are obtained by biofortifying the fruits with Zn-nHA > Zn-LgSf > Zn-SO₄. The number of fruits, the weight, the phenol content and the hardness of the fruits is also increased with biofortification, in the same measure (Zn-nHA > Zn-LgSf > Zn-SO₄). It is therefore concluded that biofortification with Zn allows to increase its concentration in fruit, reaching three times its concentration with respect to the control.

Keywords: Nano fertilizers, Lignosulfonate, , Hydroponic crops Zn-sulphate, nutraceutical food

RESUMEN

La Biofortificación se define como el proceso que incrementa la concentración de compuestos esenciales biodisponibles en las porciones comestibles de las plantas mediante una intervención agronómica o genética. En este estudio evaluamos la biofortificación en variedades de tomate cherry con distintas fuentes de Zinc (Hidroxiapatita dopada con Zinc (Zn-nHA); Lignosulfonato de Zinc (Zn-LgSf); Sulfato de Zinc (Zn-SO₄) y sin aplicación de Zinc (Control)). También se analizó como afecta en cada uno de estos tratamientos la mayor o menor restricción de Calcio aportado en la SN (100%, 50 y 0). Los resultados obtenidos muestran que todos los tratamientos aplicados afectan significativamente, tanto a la calidad del fruto como a su composición. El efecto de la limitación de Ca en la SN provoca un descenso de Ca, Mg, Zn, Cu y Mn, mientras que N, Fe y K aumentan su concentración en medida que la del Ca desciende. Los aportes foliares de Zn al fruto originan un aumento significativo del contenido en Zn en fruto respecto del control. Los mayores incrementos se obtienen biofortificando los frutos con Zn-nHA > Zn-LgSf > Zn-SO₄. El nº de frutos, el peso, el contenido en fenoles y la dureza de los frutos también se ve incrementado con la biofortificación, en la misma medida (Zn-nHA > Zn-LgSf > Zn-SO₄). Se concluye por tanto que la biofortificación con Zn permite aumentar la concentración de éste en fruto, llegando a la triplicar su concentración con respecto al control.

Palabras Clave: Nano fertilizantes, Lignosulfonatos, Nano-hidroxiapatitas, restricción de Ca.

INTRODUCCIÓN

La demanda de productos vegetales con mayor calidad tanto organoléptica como nutritiva está claramente en apogeo por parte de industrias y consumidores. Estos factores cambian de acuerdo con factores culturales, regionales y de género o edad (Causse, 2002). Esta tendencia no es algo transitorio sino que una necesidad ya que se estima que para 2050 la población humana llegará a 9.6 billones de personas en el mundo (UN, 2017). Población que tendrá que alimentarse con alimentos de alta calidad nutritiva, ya que es más barato para el sector público cubrir esta deficiencia nutricional con productos ricos en micronutrientes, ya sea genéticamente o agronómicamente modificados mediante una biofortificación, que abastecer grandes poblaciones con suplementos alimenticios o vitamínicos (Bouis, 2003).

Debido a esto la mayor parte de casas de semillas y empresas productoras de agroquímicos enfocan sus estudios en incrementar la calidad en sus variedades vegetales, mediante mejora genética (materiales genéticos) o aplicación de productos químicos para obtención de frutos de mejor calidad (Gruda, 2005). Esta técnica es conocida como Biofortificación y facilita la producción de alimentos con un elevado contenido de minerales. Actualmente, existe un alto grado de desnutrición mineral en los alimentos debido a la producción intensiva que acompañado de un mal manejo de los mismos, producen una presencia irregular de estos elementos en los suelos de uso agrícola (Vir, 2002). El consumo insuficiente de los micronutrientes aportados por los alimentos de la dieta diaria es la causa de la malnutrición mineral en humanos (Burchi, Fanzo, & Frison, 2011).

Biofortificación

La Biofortificación se define como el proceso que incrementa la concentración de compuestos esenciales biodisponibles en las porciones comestibles de las plantas cultivables mediante una intervención agronómica vía través de la fertilización o de la mejora genética). La finalidad de la biofortificación consiste en el uso de estos productos vegetales tanto para el consumo humano como para el animal, generando así un sistema de flujo circular de micronutrientes (Hotz, 2012). Diversos estudios demuestran que la efectividad de la aplicación del producto utilizado para biofortificar depende del tipo de fertilizante empleado y el método de aplicación. La formulación del producto biofortificante determina en gran medida la capacidad de biodisponibilidad de este. Dependiendo del tipo de elemento usado para biofortificar, y la concentración del mismo, los resultados pueden ser positivos o negativos en el rendimiento de la planta y en su eficiencia para absorber (Rietra, Heinen, Dimkpa, & Bindraban, 2017).

La biofortificación mediante fertilizaciones foliares, o en partes comestibles de la planta, con micronutrientes presentan mejores resultados ya que estimula una mayor absorción de nutrientes (Lawson, Daum, Czuderna, Meuser, & Härtling, 2015). En cambio, en una biofortificación vía fertirriego pueden perderse gran parte de los microelementos, ya sea por precipitaciones o por lavado del suelo, antes de ser absorbidos por la planta (Phattarakul et al., 2012).

Variedad hortícola

El tomate es una de las variedades hortícolas con mayor producción y consumo a nivel mundial. Su producción mundial ha aumentado aproximadamente un 300% en las últimas cuatro décadas (Heuvelink, 2018), siendo esta una de las razones por la que nos interesa darle un valor añadido al tomate por su gran potencial de crecimiento (FAO, 2018).

La composición del tomate es principalmente de agua y su mayor macronutriente, hidratos de carbono. También destaca el contenido de vitamina A en forma de carotenoides, provitamina A y vitamina C (Navarro-González & Periago, 2016). Según la USDA y su servicio de investigación agrícola (USDA, 2016) una porción comestible de 100 g de tomate fresco aporta 0.2 mg de Zn (Institute of Medicine, 2006).

Micronutrientes

Como hemos indicado anteriormente, existe un alto grado de desnutrición mineral en los alimentos. Hoy día son 11 los elementos traza de máxima importancia para el buen desarrollo y crecimiento del ser humano (Fraga, 2005). Algunos de estos elementos son requeridos en cantidades tan insignificantes que su deficiencia puede llegar a ser incluso desconocida (Stein, 2010). Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) de las deficiencias más comunes son Zinc (Zn), Yodo (I), Hierro (Fe) y Vitamina A (Burlingame, 2013).

Entre los micronutrientes mencionados, el Zn es uno de los más estudiados debido a su importancia metabólica en los mamíferos. Su deficiencia se manifiesta tanto en la salud humana como en los cultivos (Brown, Rivera, Bhutta, Gibson, King, Lönnerdal, Ruel, Sandtröm, Wasantwisut, & Hotz, 2004; White & Zasoski, 1999). Siendo uno de los principales factores de riesgo de la salud humana y causa de muerte a nivel global. La deficiencia de Zn en humanos se notificó por primera vez en Egipto durante los años sesenta. Su déficit se manifestaba principalmente en adolescentes de sexo masculino denotando problemas de nutrición, enanismo y se caracterizaba por un retraso importante en el crecimiento y en la maduración sexual (Prasad, 2014). En estudios realizados posteriormente se demostró que los afectados respondían de manera muy positiva a tratamientos basados en una suplementación con Zn (Sandstead et al., 1967).

Se estima que la deficiencia de Zn afecta en promedio a un tercio de la población mundial, que oscila entre el 4 y 73% en diferentes países (Brown, Rivera, Bhutta, Gibson, King, Lönnerdal, Ruel, Sandtröm, Wasantwisut, Hotz, et al., 2004). La cantidad diaria recomendada (CDR) de Zn, según la Directiva de la Comisión Europea es de 10 mg de Zn. Por regla general, para decir lo que constituye una cantidad significativa se considera un 15% de la cantidad recomendada especificada en el anexo I (EC, 2008) y suministrada por 100 g o 100 ml, si este contiene una única porción.

Zinc y Selenio han sido hasta ahora los elementos que mejor respuesta han tenido frente a programas de biofortificación agronómica siendo por ello los más eficientes y utilizados en la actualidad (Cakmak, 2008).

En la biofortificación agronómica de Zn la molécula más utilizada es el $ZnSO_4$ por su alta solubilidad y su bajo costo (Gupta, Ram, & Kumar, 2016). También se recurre a productos quelatados como Zn-EDTA, y recientemente se ha empezado a trabajar con nanofertilizantes (ZnO NPs) en diferentes cultivos como en el cultivo de café (*Coffea arabica L*) (Rossi, Fedenia, Sharifan, Ma, & Lombardini, 2019). El que mayor efecto tiene en cuanto a la respuesta del cultivo por unidad de fertilizante aplicado hasta ahora conocido es Zn-EDTA en comparación a otros fertilizantes inorgánicos (Mortvedt & Mortvedt, 1991).

Dado a esta información recopilada se ha decidido hacer la aplicación de los productos mediante aplicaciones foliares ya que la forma en la que los iones de Zn^{2+} es asimilado por las plantas al momento de hacer la aplicación foliar es a través de los poros estomales, atravesando la vía apoplastica y así aumentando la concentración de Zn en el tejido del floema de la hoja desde donde se puede trasladar a sumideros en crecimiento, además en el floema el Zn aumenta su movilidad como resultado de quelatación de iones (Gupta et al., 2016).

Hipótesis y Objetivos

Es posible conseguir frutos de tomate enriquecidos con Zn (biofortificados) utilizando diferentes fuentes de Zn.

El objetivo principal de este trabajo es lograr aumentar la concentración de Zn en variedades de tomate cherry, para acercarse lo máximo posible a los niveles definidos como significativos (1.5 g de Zinc/100g de tomate). Este objetivo permitirá cumplir las

condiciones para el uso de declaraciones nutricionales y de propiedades saludables del Reglamento Comunitario nº1924/2006 (EC, 2006) y utilizar las declaraciones autorizadas de propiedades saludables de los alimentos de las relativas a la reducción del riesgo de enfermedad y al desarrollo y la salud de los niños recogidas en el Reglamento UE 432/2012 (EC, 2012). La producción de estos alimentos biofortificados facilitara al consumidor obtener un porcentaje elevado de la CDR (DRI en inglés) mediante la dieta, sin la necesidad de tomar pastillas vitamínicas o suplementos dietéticos.

Por otro lado, la aportación suplementaria de Zn foliar puede modificar el equilibrio nutritivo de la planta y este traducirse en modificaciones del contenido nutricional del fruto. Puesto que una de las formas de aplicación de >Zn en un nanofertilizantes basado en Hidroxiapatita biomimética, dopada con Zn (WO 2016/012452 A1, 2016), el aporte adicional de Ca y P puede variar la composición de estos elementos en el fruto, por lo que en necesario evaluar su composición total.

Este objetivo principal se desglosa en objetivos específicos:

1. Comprobar que las diferentes formas de Zn Aplicado directamente al fruto pueden incrementar la concentración de Zn hasta valores cercanos al definido en el objetivo general.
2. La adición de compuestos ricos en Zn también puede modificar la composición nutricional de otros elemento diferentes del aplicado como objetivo general.
3. La aplicación al fruto de compuestos ricos en Zn puede modificar las propiedades cualitativas del fruto.

MATERIALES Y METODOS

Ubicación y descripción del ensayo

El estudio se realizó bajo invernadero ubicado en la unidad experimental de la Universidad de Almería en las coordenadas 36°49'45''N 2°24'16''O y a una altura de 6 metros sobre nivel del mar. El invernadero es del tipo monotúnel de 130 m² con un control pasivo de clima mediante manejo de ventanas cenitales y blanqueos periódicos. Se estableció un sistema hidropónico abierto, utilizando sacos de fibra de coco de 29 L. de la marca Hortalan con un balance 70/30, donde fueron trasplantadas 3 plantas por contenedor con un gotero independiente por planta con un caudal de 1,2 L·h⁻¹.

Material vegetal

El cultivo utilizado fue *Lycopersicon esculentum* Mill. var. *cerasiforme*, cv. HTL1708480 ® de la casa Axia de hábito de crecimiento indeterminado, del tipo cherry pera. El trasplante se realizó a los 35 días después de la siembra el día 10 de abril del 2018.

Manejo del cultivo

Debido a la alta radiación y falta de blanqueo en el invernadero se realizó un raleo de frutos donde fueron eliminados los primero 3 ramilletes florales con el propósito de generar una tendencia vegetativa a la planta. Una vez que se blanqueó el invernadero se comenzó a realizar la polinización con la ayuda de abejorros (*Bombus terrestris*), para el entutorado se emplearon hilos de polipropileno (rafia) hasta llegar al cable del tutor donde una vez cruzado este punto ya se contaba con los tres racimos definidos por 12 frutos por clúster. A partir del R4 se podó todo ramillete floral que surgiera, lo único que se pretendía era generar planta suficiente para mantener un microclima favorable en el invernadero y no generar un alto déficit de presión de vapor por falta de la transpiración de las hojas que se venían quitando de la base de la planta, manteniendo siempre un balance entre vegetativo/generativo, 12 hojas después del R4 se eliminó el punto de crecimiento.

El riego era controlado por un autómata (Himarcan R01A) en el cual se le fijo la dotación y

la frecuencia, tras realizar los estudios previos a nuestro sustrato como lo determina (De la Rosa-Rodríguez, Lara-Herrera, Padilla-Bernal, Avelar-Mejía, & España-Luna, 2018). Se estableció 140 ml como dotación y en cuanto a la frecuencia fue determinada por la relación entre dotación y drenaje en el cual el número de aplicaciones variaba según las condiciones climáticas y el estado fenológico del cultivo, manteniéndose en un rango de 8 a 17 riegos por día.

Manejo de la solución nutritiva y fertilizantes

Cada sector contaba con un tanque para formulación de SN independiente. En el tanque A se preparó una SN completa (Ca%SN = 100); El tanque B una SN pero reduciendo Ca²⁺ a la mitad (Ca%SN = 50); y el tanque C una SN incompleta (Ca%SN = 0). Las SN fueron preparada cada 3 días con la siguiente composición para la SN completa: [(en mMol) NO₃: 10; NH₄:1; PO₄: 1; K:8; Ca:2; Mg:1.5; SO₄:2]; [(en μMol) Fe:4; Mn:2; Zn:1; Cu:1; B:1; Mo:0.5]. Las restricciones de Ca se aplicaron sobre 100% de Ca = 2 mMOL.

Tratamientos de biofortificación

Para los tratamientos foliares las distintas fuentes de Zinc fueron directamente suspendidas en agua destilada. Para la suspensión de todos los materiales se utilizó un agitador magnético ANZESER SH-2 durante 30 min, una vez suspendidos fueron aplicados con un atomizador directamente al fruto.

Diseño experimental

Para la realización de este trabajo fin de máster (TFM) el experimento fue diseñado siguiendo un diseño factorial completo con tres factores principales: Porcentaje de Calcio en la solución nutritiva (Ca%SN); Fuente de Zinc empleado para la biofortificación (Zn Fuente); y, por último, número de aplicaciones foliares (Zn-Aplicación). Cada tratamiento consta de 3 repeticiones.

- El factor Ca%SN se planteó con 3 niveles de acción: SN Completa con el (100% Ca); Solución nutritiva con la concentración de Ca²⁺ a la mitad (50% Ca); SN sin Ca²⁺ (0% Ca).
- Los niveles de acción del Factor Zn Fuente fueron: Hidroxiapatita dopada con Zinc (Zn-nHA); Lignosulfonato de Zinc (Zn-LgSf); Sulfato de Zinc (Zn-SO₄); Sin aplicación de Zinc (Control).

Recolección de fruto y preparación de muestras

Se recolecto solo el fruto fisiológicamente maduro por tratamiento. Se registró su peso en fresco. Para determinar el peso seco, se tomó cada tomate recolectado y se cortó en 24 partes, se seleccionó uno a dos trozos por pieza hasta llegar a 31 gr por tratamiento para someterlo a 72 horas en la estufa a 70°C. Posteriormente, se volvió a pesar para obtener la relación entre Ps/Pf, tal y como se describe para el procedimiento de preparativo de la muestra.

Una vez obtenida la muestra seca se tomó 0,25 g y se pasó a un matraz Kjeldahl perfectamente seco, para realizar su mineralización por la vía húmeda para determinaciones de N, P, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn y Cu siguiendo el procedimiento de Kjeldahl según (Amin & Flowers, 2004).

Análisis de muestras

Calidad del fruto

Se analizaron el número de frutos, peso por fruto individual y peso medio del racimo (Metler 3000). El porcentaje de grados Brix se determinó por (refractómetro digital Atago KERM), la dureza con (penetrómetro PSE-PTR 200N). Se usó el método de Bärlocher and Graça

(2005) para medir el porcentaje de fenoles. El color se midió siguiendo con un colorímetro (Konica Minolta CR-400) y los resultados se expresaron en E-Lab, siguiendo el método delta-E (Mokrzycki & Tatol, 2011).

Determinación de nutrientes

Tras realizar un lavado, los frutos se secaron hasta humedad constante y se molieron hasta homogeneizar su tamaño. Se mineralizó el material obtenido por el método húmedo utilizando SO_4H_2 / H_2O_2 hasta obtener un mineralizado transparente para su posterior análisis.

Nitrógeno: Para esta determinación se utilizó el aparato de Bouat que permite efectuar, simultáneamente, la destilación y valoración del amoníaco formado por la reacción de la mezcla del mineralizado con NaOH y el indicador Shiro-Tashiro. El procedimiento usado es el descrito, modificando el volumen de mineralizado debido a la alta concentración de N presente en las muestras. El método consiste en introducir 1ml del mineralizado en el matraz Kjeldahl, mezclado con 25-30 ml de NaOH y conectarlo inmediatamente al aparato de Bouat y esperar a que este genere el vapor de amoníaco que llegará al matraz colector donde se hará una valorización con el colorante Shiro-Tashiro.

Fósforo: El fósforo fue determinado por medio de un espectrofotómetro, en el que se midió la absorbancia entre las 3 y 24 horas una vez hecha la curva patrón, el espectrofotómetro se manejó a 700 nm para poder realizar la determinación siguiendo el protocolo del complejo fosfo-molibdico.

El resto de los nutrientes (K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn y Cu) se mandaron a analizar en los Servicios Centrales de Investigación de la Universidad Almería utilizando un espectrómetro de Masas: XSERIES 2 ICP-MS (Thermo Fisher) de plasma de acoplamiento inductivo ICP-Masas.

RESULTADOS

Del análisis estadístico realizado se obtiene que todas las fuentes de variación (FdV) analizadas, excepto el factor Repetición, presentan un valor de P mayor a 0,05. Esto significa que todos los tratamientos aplicados afectan significativamente, tanto a la calidad del fruto como a su composición. En el caso de las Repeticiones, al no tener un efecto significativo se eliminarán de los análisis subyacentes. Los valores medios de contenido elemental en frutos se encuentran en la Tabla 1. Los valores medios se expresan como contenido en mg de elemento contenidos en 100 gramos de tomate fresco. Se incluyen en esta tabla los valores de referencia para frutos de tomate (Valero Gaspar, Rodríguez Alonso, Ruiz Moreno, Ávila Torres, & Varela Moreiras, 2018) junto a los intervalos de la CDR recomendadas para niños y adultos (Institute of Medicine, 2006).

Contenido en minerales en fruto.

Los resultados de los análisis de contenido de elementos en los frutos de tomate se presentan en la Tabla 1 y el análisis gráfico de la interacción entre los factores analizados respecto del contenido en Zn de los frutos, se presentan en la Fig. 1.

Efecto de la limitación de Ca en la Solución nutritiva.

La reducción en el suministro de Ca en la solución nutritiva genera diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) en todos los elementos analizados (Tabla 1).

Como cabría esperar, la limitación de Ca en la solución nutritiva provoca un descenso en el contenido de este elemento en fruto (25 y 38% para 50 y 0 respectivamente) respecto de los aportes convencionales. En ningún caso se observan síntomas visuales de *Blosson End Root*, lo que indica que el Ca aportado por el agua de riego y por el sustrato de cultivo es suficiente para evitar esta fisiopatía.

En la medida en que el Ca desciende en los frutos, las concentraciones de N, Fe y en, menor

medida, K aumentan. El resto de los elementos muestran comportamientos diferentes respecto de esta limitación de Ca en la solución nutritiva. Mientras que P presenta unos valores máximos de contenido en fruto para limitaciones de Ca al 50%, el resto (Mg, Mn, Zn y Cu) presentan los menores valores de contenido para limitaciones de Ca limitadas (50% de SNC).

Efecto de la biofortificación con Zn en diferentes formas.

Los aportes foliares de Zn al fruto originan un aumento significativo del contenido en Zn en fruto respecto del control. Los mayores incrementos se obtienen biofortificando los frutos con Zn-nHA > Zn-LgSf > Zn-SO₄. El mismo comportamiento se obtiene para los contenidos en fruto de N, P, y Ca., con el mismo orden de incrementos. Comportamientos similares se obtiene respecto al control en los contenidos de Mn y Cu, pero en estos elementos los mayores incrementos se obtienen biofortificando con Zn-SO₄ ≥ Zn-LgSf > Zn-nHA. Finalmente, los tomates biofortificados con Zn-nHA presentan ≤ contenido que el control y solo alcanzan mayores contenidos cuando la biofortificación se realiza con Zn-LgSf > Zn-SO₄.

Interacción Ca %SN x Zn-Fuente (CxF) sobre el contenido mineral.

El análisis gráfico de las interacciones CxF no muestra (Fig. 1) un comportamiento de acumulación de Zn que es independiente de la cantidad de Ca restringido en la Solución nutritiva. Los valores de Zn en fruto no alcanzan el 10% de la CDR para ninguno de las fuentes utilizadas en la biofortificación, sin embargo están bastante próximas a los valores mínimos exigidos para el etiquetado de productos enriquecidos para alimentos dirigidos a la población infantil (EC, 2008, 2012). Sin embargo, se obtienen contenidos de Zn en frutos biofortificados con Zn-LgSf y Zn-nHA de entre 3 y 4.5 veces superiores respectivamente, a los estándares de tomate y a los obtenidos en el tratamiento testigo. Estos resultados confirman nuestra hipótesis y nos hacen pensar que la biofortificación con otras formas de Zn y con otras metodologías de aplicación nos permitirá obtener el objetivo planteado.

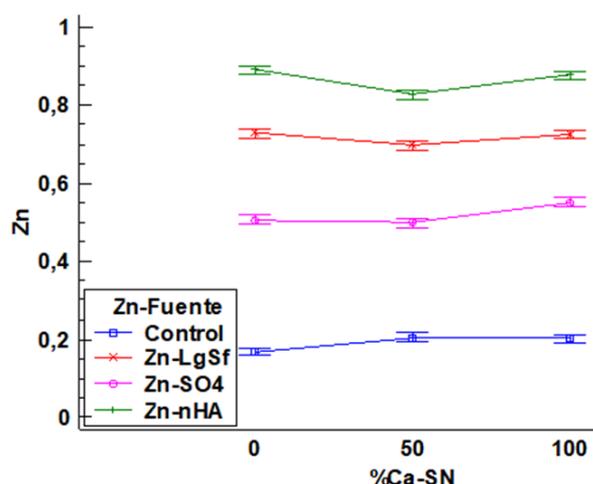


Fig. 1. Interacción Ca %SN x Zn Fuente (CxF) para el contenido de Zn en frutos de tomate cherry.

Parámetros de calidad en frutos biofortificados

Los parámetros de calidad medidos en los frutos de tomate aparecen en la Tabla 2.

Efecto del %Ca en la SN.

Hay que mencionar que los datos presentados solo se refieren a los frutos del primer ramillete y que los siguientes ramilletes (datos no presentados) presentan

comportamientos diferentes. De forma sorprendente, el número y el peso de los frutos cosechados, así como su peso medio aumenta con la restricción de Ca en la solución nutritiva. Como ya se ha comentado anteriormente, el Ca aportado por el agua de riego y el sustrato originado parece ser suficiente para que no se manifiesten síntomas de deficiencia por Ca, incluso en la SN a la que no se aportó Ca. Por el contrario, la intensidad del color rojo de los frutos y su dureza desciende de manera proporcional a como lo hace la cantidad de Ca aportada en la SN (Tabla 2). Por otro lado, el contenido en fenoles y los grados Brix presentan los máximos valores en frutos a los que se limitó parcialmente el suministro de Ca. Este comportamiento puede deberse a una respuesta de la planta a la limitación de Ca, pero hay que tener en cuenta que solo se analizan los frutos del primer ramillete, dado que el objetivo de la fortificación no es el de obtener producciones elevadas, sino frutos con propiedades nutraceuticas y de calidad distintiva y contrastable.

Efecto de la forma de Zn aplicado en la biofortificación.

El nº, el peso, contenido en fenoles y la dureza de los frutos presentan un comportamiento similar. En todos los casos, la biofortificación incrementa estos parámetros respecto del testigo con el siguiente orden Zn-nHA > Zn-LgSf > Zn-SO₄ > Control. También presentan mayor peso medio que el control, pero en este caso Zn-LgSf = Zn-SO₄ > Zn-nHA. Los frutos biofortificados con Zn-SO₄ presentan el mismo contenido en solidos solubles (ºBrix) que el testigo, pero menor que Zn-nHA, siendo los tratados con Zn-LgSf los que alcanzan mayores contenidos en azucares (Tabla 2).

Interacción Ca %SN x Zn-Fuente (CxF) sobre la calidad de frutos.

Como hemos constatado anteriormente la dureza de los frutos está directamente relacionada con la restricción de Ca en la solución nutritiva, sin embargo, este efecto es más acusado en los tratamientos de biofortificación con Zn-LgSf y Zn-nHA a dosis moderadas de restricción.

El incremento de coloración roja en los frutos tratados es mucho más intenso en los frutos tratados con Zn-LgSf y se comporta de forma inversamente proporcional a la restricción de Ca en la solución nutritiva (Fig. 2). El mismo comportamiento se observa para el color rojo en los frutos biofortificados con Zn-nHA y Zn-SO₄, pero en menor intensidad.

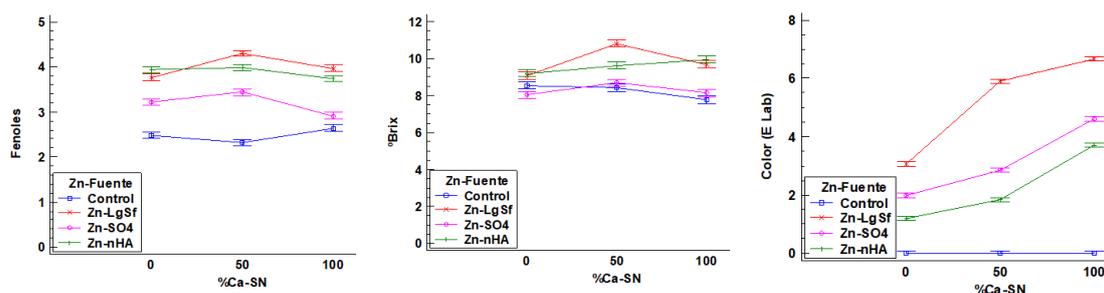


Fig. 2. Interacción Ca %SN x Zn Fuente (CxF) para la calidad de frutos de tomate cherry biofortificados con Zn.

Los mejores resultados para el contenido fenólico y en solidos solubles se obtienen en los tomates biofortificados con Zn-LgSf con restricciones moderadas de Ca (50%) en la solución nutritiva.

Viabilidad Económica

La cuestión sigue siendo si la biofortificación agronómica tiene un ostentación efectiva, sostenible y factible para erradicar la carencia de micronutrientes, comparada con otras estrategias de mediación tales como la biofortificación genética y suplementación farmacéutica. Los estudios que comparan los beneficios relativos de las diferentes practicas

sobre la nutrición apenas están disponibles y los análisis económicos disponibles no consideran la biofortificación agronómica (de Valença, Bake, Brouwer, & Giller, 2017). Entre las otras prácticas la biofortificación mediante la mejora genética es la más rentable, toma más tiempo pero solo requiere de una sola inversión y se mantiene a largo plazo (Stein et al., 2007), la biofortificación agronómica se considera más como una solución a corto plazo para aumentar los niveles de concentración de microelementos de interés en la planta y principalmente para complementar la biofortificación genética que muestra un enfoque más sostenible (Sánchez, García-Bañuelos, & Sida-Arreola, 2012).

CONCLUSIONES

1. Se puede afirmar que la aplicación de compuestos ricos en Zn a frutos de tomate durante el cultivo puede incrementar la concentración de Zn en estos hasta permitir su etiquetado, de acuerdo con la normativa vigente, como alimentos “enriquecidos” o “biofortificados”. Sin embargo, estas técnicas de biofortificación agronómica debería complementarse con otras técnicas de selección genéticas y de tratamiento poscosecha.
2. Aunque en este trabajo no se ha conseguido alcanzar el 15% de la CDR de Zn, se obtuvieron contenidos de entre 3 y 4.5 veces superiores (en frutos biofortificados con Zn-LgSf y Zn-nHA respectivamente) a los valores estándar de un tomate convencional, lo que arroja resultados prometedores.
3. La adición de compuestos ricos en Zn ha generado un cambio en la composición elemental de los frutos que puede afectar a su composición nutricional, por lo que sería recomendable estudiar estos cambios en mayor profundidad.
4. La aplicación de complejos lignosulfonatos y nanopartículas de hidroxiapatita mejora las propiedades cualitativas de los frutos, y lo hacen en mayor medida cuando se limita moderadamente el aporte de Ca al cultivo.

Tabla 1. Valores nutricionales medios, Cantidad Diaria Recomendada (CDR) y Contenido elemental en frutos de tomate (*Lycopersicon Esculentum* Mill) var. cerasiforme en función de la dosis de Ca aportada en la solución nutritiva (Ca %SN) y de la forma de Zn aportada (Zn Fuente) directamente al fruto. Valores expresados en mg/100g de fruto fresco.

FdV	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu
Valor nutr. /100 g	-	27	290	11	10	0.6	-	0.20	-
CDR	-	700-1200	1200-2000	800-1200	300-400	12-15	-	10-15	
Ca %SN	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
100	1.98a	23.22a	233.80a	18.14c	10.71b	0.71a	0.34c	0.59c	0.13b
50	2.42b	26.48c	234.38a	13.71b	10.25a	0.76b	0.32a	0.56a	0.10a
0	3.71c	25.60b	243.39b	11.21a	12.05c	0.84c	0.33b	0.57b	0.10a
Zn Fuente	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
Control	2.34a	23.49a	235.34ab	9.07a	10.57a	0.77b	0.30a	0.19a	0.10a
Zn-SO ₄	2.42b	24.65b	240.17bc	12.60b	11.74c	0.79c	0.36c	0.52b	0.14c
Zn-LgSf	2.93c	26.23c	240.89c	15.27c	11.28b	0.74a	0.33b	0.72c	0.14c
Zn-nHA	3.13d	28.30d	232.36a	20.47d	10.43a	0.77b	0.34b	0.86d	0.11b
Repetición	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CxF	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadísticamente significativa con un nivel de confianza del 95%.

Tabla 2. Parámetro de calidad medios de tomate (*Lycopersicon Esculentum Mill*) var. cerasiforme en función de la dosis de Ca aportada en la solución nutritiva (CA %SN) y de la forma de Zn aportada (Zn Fuente) directamente al fruto.

FdV	Nº Frutos (#)	Peso Frutos (g)	Peso medio (g)	Fenoles %	Brix (°)	Dureza (N)	Color (E-lab)
<i>Ca %SN</i>	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
100	30.2a	336.6a	10.9a	3.35a	8.89a	71.2b	3.75c
50	39.1b	456.7b	11.7b	3.51b	9.38b	69.9b	2.64b
0	40.0c	484.8c	12.1c	3.32a	8.71a	64.8a	1.55a
<i>Zn Fuente</i>	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
Control	13.2a	141.6a	10.7a	2.48a	8.25a	64.1a	0.0a
Zn-SO ₄	39.2b	479.7b	12.1c	3.19b	8.28a	66.0b	3.14c
Zn-LgSf	45.9c	555.2d	12.2c	4.01d	9.86c	71.0c	5.21d
Zn-nHA	47.5d	527.6c	11.2b	3.89c	9.59b	73.5d	2.24b
<i>Repetición</i>	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
<i>CxF</i>	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadísticamente significativa con un nivel de confianza del 95%.

BIBLIOGRAFÍA

- Amin, M., & Flowers, T. (2004). Evaluation Of Kjedahl Digestion Method. *Journal of Research (Science)*.
- Bouis, H. E. (2003). Micronutrient fortification of plants through plant breeding: can it improve nutrition in man at low cost? *Proceedings of the Nutrition Society*, 62(2), 403–411. <https://doi.org/10.1079/pns2003262>
- Brown, K. H., Rivera, J. A., Bhutta, Z., Gibson, R. S., King, J. C., Lönnerdal, B., ... Hotz, C. (2004). Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. *Food and Nutrition Bulletin*, 25(2 (technical document #1)), S99-203.
- Brown, K. H., Rivera, J. A., Bhutta, Z., Gibson, R. S., King, J. C., Lönnerdal, B., ... Peerson, J. M. (2004). International Zinc Nutrition Consultative Group (IZiNCG) technical document #1. Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. *Food and Nutrition Bulletin*.
- Burchi, F., Fanzo, J., & Frison, E. (2011). The role of food and nutrition system approaches in tackling hidden hunger. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. <https://doi.org/10.3390/ijerph8020358>
- Burlingame, B. (2013). *Priority Agriculture- Linkages for Sustainable Diets. IOM Sustainable Diets*.
- Cakmak, I. (2008). Enrichment of cereal grains with zinc: Agronomic or genetic biofortification? *Plant and Soil*, 302(1–2), 1–17. <https://doi.org/10.1007/s11104-007-9466-3>
- Causse, M. (2002). QTL analysis of fruit quality in fresh market tomato: a few chromosome regions control the variation of sensory and instrumental traits. *Journal of Experimental Botany*. <https://doi.org/10.1093/jxb/erf058>
- De la Rosa-Rodríguez, R., Lara-Herrera, A., Padilla-Bernal, L. E., Avelar-Mejía, J. J., & España-Luna, M. P. (2018). Proporción de drenaje de la solución nutritiva en el rendimiento y calidad de tomate en hidroponía. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, (20), 4343–4353. <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i20.1003>
- de Valença, A. W., Bake, A., Brouwer, I. D., & Giller, K. E. (2017). Agronomic biofortification of crops to fight hidden hunger in sub-Saharan Africa. *Global Food Security*, 12(December 2016), 8–14. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2016.12.001>
- Delgado López, J. M., Gómez-Morales, J., Fernández Penas, R., Iafisco, M., Tampieri, A., & Panseri, S. (2016). *WO 2016/012452 A1*.
- EC. (2006). Regulation (EC) No 1924/2006 of the European Parliament and of the Council (L404/9) on nutrition and health claims made on foods. Retrieved 12 September 2019, from <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:32006R1924>
- EC. (2008). COMMISSION DIRECTIVE 2008/100/EC. L 285/9 on nutrition labelling for foodstuffs as regards recommended daily allowances, energy conversion factors and definitions. Retrieved 12 September 2019, from <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/?uri=CELEX:32008L0100>
- EC. (2012). Commission Regulation (EU) No 432/2012 (L 136/1) establishing a list of permitted health claims made on foods, other than those referring to the reduction of disease risk and to children's development and health. Retrieved 12 September 2019, from <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2012/432/oj>
- FAO. (2018). El estado mundial de la agricultura y la alimentación. Migración, agricultura y desarrollo rural. In J. Graziano da Silva (Ed.), *El Estado del Mundo*. (p. 187). Roma.: FAO.
- Fraga, C. G. (2005). Relevance, essentiality and toxicity of trace elements in human health. *Molecular Aspects of Medicine*. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2005.07.013>
- Gruda, N. (2005). Impact of environmental factors on product quality of greenhouse vegetables for fresh consumption. *Critical Reviews in Plant Sciences*. <https://doi.org/10.1080/07352680591008628>
- Gupta, N., Ram, H., & Kumar, B. (2016). Mechanism of Zinc absorption in plants: uptake, transport, translocation and accumulation. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*. <https://doi.org/10.1007/s11157-016-9390-1>
- Heuvelink, E. (2018). *Tomatoes, 2nd Edition. Crop Production Science in Horticulture*. Boston MA: CABI.

- Hotz, C. (2012). Biofortification. *Encyclopedia of Human Nutrition*, 1–4, 175–181. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-375083-9.00025-8>
- Institute of Medicine. (2006). *Dietary Reference Intakes: The Essential Guide to Nutrient Requirements*. (J. J. Otten, J. Pizzi Hellwig, & L. D. Meyers, Eds.), *The National Academies Press*. Washington, D.C. <https://doi.org/10.17226/11537>
- Lawson, P. G., Daum, D., Czauderna, R., Meuser, H., & Härtling, J. W. (2015). Soil versus foliar iodine fertilization as a biofortification strategy for field-grown vegetables. *Frontiers in Plant Science*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00450>
- Mokrzycki, W. S., & Tatol, M. (2011). Colour difference Delta-E. A survey. *Machine Graphics and Vision*, 20(4), 383–411.
- Mortvedt, J. J., & Mortvedt, J. J. (1991). Micronutrient Fertilizer Technology. <https://doi.org/10.2136/sssabookser4.2ed.c14>
- Navarro-González, I., & Periago, M. J. (2016). El tomate, ¿alimento saludable y/o funcional? *Revista Española de Nutrición Humana y Dietética*, 20(4), 323. <https://doi.org/10.14306/renhyd.20.4.208>
- Phattarakul, N., Rerkasem, B., Li, L. J., Wu, L. H., Zou, C. Q., Ram, H., ... Cakmak, I. (2012). Biofortification of rice grain with zinc through zinc fertilization in different countries. *Plant and Soil*. <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1211-x>
- Prasad, A. S. (2014). Impact of the discovery of human zinc deficiency on health. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2014.09.002>
- Rietra, R. P. J. J., Heinen, M., Dimkpa, C. O., & Bindraban, P. S. (2017). Effects of Nutrient Antagonism and Synergism on Yield and Fertilizer Use Efficiency. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. <https://doi.org/10.1080/00103624.2017.1407429>
- Rossi, L., Fedenia, L. N., Sharifan, H., Ma, X., & Lombardini, L. (2019). Effects of foliar application of zinc sulfate and zinc nanoparticles in coffee (*Coffea arabica* L.) plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 135, 160–166.
- Sánchez, E., García-Bañuelos, M. L., & Sida-Arreola, J. P. (2012). Biofortification - promising approach to increasing the content of iron and zinc in staple food crops. *Journal of Elemntology*. <https://doi.org/10.5601/jelem.2014.19.3.708>
- Sandstead, H. H., Prasad, A. S., Schulert, A. R., Farid, Z., Miale, A., Bassilly, S., & Darby, W. J. (1967). Human zinc deficiency, endocrine manifestations and response to treatment. *American Journal of Clinical Nutrition*.
- Stein, A. J. (2010). Global impacts of human mineral malnutrition. *Plant and Soil*. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0228-2>
- Stein, A. J., Nestel, P., Meenakshi, J. V., Qaim, M., Sachdev, H. P. S., & Bhutta, Z. A. (2007). Plant breeding to control zinc deficiency in India: How cost-effective is biofortification? *Public Health Nutrition*, 10(5), 492–501. <https://doi.org/10.1017/S1368980007223857>
- UN. (2017). *World Population Prospects: The 2017 Revision (Department of Economic and Social Affairs)*. Population Division. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- USDA. (2016). What's In The Foods You Eat: Select food quantity. Retrieved 12 September 2019, from <https://readdir.arsnet.usda.gov/codesearchwebapp>
- Valero Gaspar, T., Rodríguez Alonso, P., Ruiz Moreno, E., Ávila Torres, J. M., & Varela Moreiras, G. (2018). Composición nutricional del tomate. In Moreiras et a. (Ed.), *La alimentación española. Característica Nutricionales de los principales Alimentos de Nuestra Dieta* (2nd ed., pp. 229–230). Madrid: Fundación Española de Nutrición-MAPAMA.
- Vir, S. C. (2002). Current status of Iodine Deficiency Disorders (IDD) and strategy for its control in India. In *Indian Journal of Pediatrics*. <https://doi.org/10.1007/BF02722687>
- White, J. G., & Zasoski, R. J. (1999). Mapping soil micronutrients. *Field Crops Research*. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(98\)00130-0](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(98)00130-0)