

- TESIS DOCTORAL -

*Estudio de la aclimatación
al aporte variable de CO₂ en invernadero.
Nuevas estrategias para mejorar
la eficiencia del enriquecimiento carbónico
en condiciones mediterráneas*



MANUEL EDUARDO PORRAS SÁNCHEZ
SEPTIEMBRE, 2021

UNIVERSIDAD DE ALMERÍA

Departamento de Agronomía

Programa de Doctorado en Agricultura Protegida (8901)

Línea de Investigación en Control Climático y Gestión del agua en Agricultura
Protegida

TESIS DOCTORAL

**Estudio de la aclimatación al aporte variable de CO₂ en
invernadero. Nuevas estrategias para mejorar la eficiencia
del enriquecimiento carbónico en condiciones
mediterráneas.**

*Acclimation study of variable CO₂ supply in greenhouse. New
strategies to improve carbonic enrichment efficiency in
Mediterranean conditions.*

Memoria presentada por D. Manuel Eduardo Porrás Sánchez, Ingeniero
Agrónomo, para aspirar al grado de Doctor por la Universidad de Almería

Almería, Julio 2021

Dirigida por:

Dra. M^a Cruz Sánchez-Guerrero Cantó

Dra. Pilar Lorenzo Mínguez

UNIVERSIDAD DE ALMERÍA

Departamento de Agronomía



UNIVERSIDAD DE ALMERÍA

Programa de Doctorado en Agricultura Protegida (8901)

Línea de Investigación en Control Climático y Gestión del agua en Agricultura Protegida

TESIS DOCTORAL

Estudio de la aclimatación al aporte variable de CO₂ en invernadero. Nuevas estrategias para mejorar la eficiencia del enriquecimiento carbónico en condiciones mediterráneas.

Acclimation study of variable CO₂ supply in greenhouse. New strategies to improve carbonic enrichment efficiency in Mediterranean conditions.

Memoria presentada por D. Manuel Eduardo Porras Sánchez, Ingeniero Agrónomo, para aspirar al grado de Doctor por la Universidad de Almería

Fdo.: Manuel E. Porras Sánchez

V^oB^o Directoras del trabajo:

Fdo.: M^a Cruz Sánchez-Guerrero Cantó
Investigadora titular de IFAPA

Fdo.: Pilar Lorenzo Mínguez
Investigadora titular de IFAPA

Almería, Julio 2021

Los trabajos experimentales necesarios para llevar a cabo la presente Tesis han sido financiados por el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) y el Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA) de la Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural de la Junta de Andalucía; estando dentro del proyecto RTA2011-00026-C02-02, titulado “Mejora de la eficiencia del enriquecimiento carbónico en condiciones mediterráneas. Evaluación agronómica de diferentes estrategias de mitigación de la aclimatación a alto CO₂”.

Dichos trabajos experimentales se realizaron en el Centro IFAPA “La Mojonera” durante los años 2013 a 2016.

*No dejes que termine el día sin haber crecido un poco,
sin haber sido feliz, sin haber aumentado tus sueños.
No te dejes vencer por el desaliento.
No permitas que nadie te quite el derecho a expresarte,
que es casi un deber.
No abandones las ansias de hacer de tu vida algo extraordinario.
No dejes de creer que las palabras y las poesías
sí pueden cambiar el mundo.
Pase lo que pase nuestra esencia está intacta.
Somos seres llenos de pasión.
La vida es desierto y oasis.
Nos derriba, nos lastima,
nos enseña,
nos convierte en protagonistas
de nuestra propia historia.
Aunque el viento sople en contra,
la poderosa obra continúa:
Tú puedes aportar una estrofa.
No dejes nunca de soñar,
porque en sueños es libre el hombre.
No caigas en el peor de los errores:
el silencio.
La mayoría vive en un silencio espantoso.
No te resignes.
Huye.
“Emito mis alaridos por los techos de este mundo”,
dice el poeta.
Valora la belleza de las cosas simples.
Se puede hacer bella poesía sobre pequeñas cosas,
pero no podemos remar en contra de nosotros mismos.
Eso transforma la vida en un infierno.
Disfruta del pánico que te provoca
tener la vida por delante.
Vívela intensamente,
sin mediocridad.
Piensa que en ti está el futuro
y encara la tarea con orgullo y sin miedo.
Aprende de quienes pueden enseñarte.
Las experiencias de quienes nos precedieron
de nuestros “poetas muertos”,
te ayudan a caminar por la vida.
La sociedad de hoy somos nosotros:
Los “poetas vivos”
No permitas que la vida te pase a ti sin que la vivas.*

Walt Withman, No te detengas.

Agradecimientos

El poema atribuido a Walt Withman de las páginas previas define un poco todo lo vivido durante la redacción de esta Tesis Doctoral. Y es que, llegar hasta aquí ha sido un camino arduo donde he vivido “en desiertos y oasis” y tras muchas idas y venidas he conseguido “vencer al desaliento” y “encarar la tarea con orgullo y sin miedo” y “aprendiendo de quien me ha enseñado” he podido cumplir “mi sueño”.

Gracias a mis directoras de tesis, Dra. M^ª Cruz Sánchez-Guerrero y Dra. Pilar Lorenzo Mínguez, así como a la Dra. Evangelina Medrano, por confiar todos estos años en mí y ser pacientes en mis idas y venidas, siendo para mi vital vuestro apoyo y vuestro conocimiento. Han sido años de muchas experiencias vividas y muchos aprendizajes compartidos que me han permitido conocer el mundo de la investigación de primera mano durante los años que he formado parte del departamento de fisiología vegetal del Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA). Gracias de corazón.

Gracias a Francisco del Amor, Ginés Otralora y M^ª Carmen Piñero por recibirme en vuestro departamento en el Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (IMIDA) durante las estancias realizadas en el transcurso de mi investigación y permitirme llevar a cabo las determinaciones necesarias para la consecución de los resultados de la presente tesis.

Agradecer también al Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), por la concesión de la beca FPI-INIA, en el marco del proyecto del Plan Nacional de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica 2008-2011, según la Resolución de convocatoria 1 de Octubre de 2012 (BOE 2 de mayo de 2012) en el tema “Mejora de la eficiencia del enriquecimiento carbónico en condiciones mediterráneas. Evaluación agronómica de diferentes estrategias de mitigación de la aclimatación a alto CO₂”. RTA2011-00026-C02-02, con el que he podido realizar la presente Tesis Doctoral. Así mismo, dar las gracias a todo el personal de IFAPA Centro La Mojonera de Almería, ya que sin su ayuda incondicional no podría haber desarrollado cada uno de los experimentos propuestos.

Gracias también a Joaquín Hernández, mi tutor de la Universidad de Almería, que a pesar de la duración de mi periodo de redacción de este documento ha estado siempre en los momentos que lo he necesitado.

Durante esta tesis he conocido a infinidad de investigadores, docentes y profesionales de este sector, tanto a nivel nacional como internacional, y en este apartado quiero agradecer a Hans-Peter Kläring del centro Leibniz-Institut für Gemüse- und Zierpflanzenbau (IGZ), por recibirme en su equipo durante mi estancia y permitirme trabajar a su lado y al lado de su equipo. Son muchas las vivencias y experiencias adquiridas durante este período de tiempo en tierras germanas y que me han permitido desarrollarme tanto personal como profesionalmente. Danke schön!

Quisiera agradecer a mi familia el apoyo recibido durante estos años. A mis padres y mi hermana por la confianza depositada en mí. Y por último a “mis mujeres”, por ser las que me aguantan, las que me hacen sonreír cuando todo es gris y las que me sacan de quicio cuando se lo proponen. A vosotras os quiero dar las gracias de manera encarecida porque este camino ha sido muy largo y difícil, pero como siempre os digo, al final lo conseguiremos si nos lo proponemos.

Y a todos los que no he nombrado, pero de una manera han formado parte de esta historia, gracias también por compartir este viaje.

A todos, gracias, y “no permitáis que la vida pase sin que la viváis”

Publicaciones derivadas de la presente Tesis

- Porras, M.E.; Lorenzo, P.; Medrano, E.; Sánchez-González, M.J.; Baeza, E.; Piñero, M.C.; Sánchez-Guerrero, M.C. 2017. Sweet pepper grown under salinity stress as affected by CO₂ enrichment and nitrogen source. *Acta Horticulturae*. DOI: 10.17660/ActaHortic.2017.1170.103
- Porras, M.E.; Medrano, E.; Lorenzo, P.; Sánchez-González, M.J.; Baeza, E.; Sánchez-Guerrero, M.C. 2017. Sweet pepper acclimation to variable CO₂ supply in a Mediterranean greenhouse. *Acta Horticulturae*. DOI: 10.17660/ActaHortic.2017.1170.102
- Porras, M.E.; Lorenzo, P.; Medrano, E.; Sánchez-González, M.J.; Otálora, G.; Piñero, M.C.; Del Amor, F.; Sánchez-Guerrero, M.C. 2017. Photosynthetic acclimation to elevated CO₂ concentration in a sweet pepper (*Capsicum annuum*) crop under Mediterranean greenhouse conditions: Influence of the nitrogen source and salinity. *Functional Plant Biology* 44(6). DOI: 10.1071/FP16362

Índice general

Resumen..... I

CAPÍTULO I. Introducción general.

1. Introducción.....	1
1.1. Introducción general.	1
1.2. Cambio climático, un nuevo escenario para la agricultura del siglo XXI.	2
1.3. El enriquecimiento carbónico y el cultivo en invernadero.	5
1.4. Respuesta de las plantas a concentraciones elevadas de CO ₂ . Interacción con la salinidad... 6	
1.5. Enriquecimiento carbónico y aclimatación fotosintética.	9
1.5.1. <i>Los carbohidratos y la aclimatación fotosintética. Relación fuente/sumidero</i>	10
1.5.2. <i>El papel del nitrógeno en el proceso de aclimatación fotosintética a elevado CO₂</i> ..	13
1.5.3. <i>Inhibición de la fotorrespiración en condiciones de enriquecimiento carbónico.</i> .	14

CAPÍTULO II. Justificación, hipótesis y objetivos

2. Justificación, hipótesis y objetivos.	19
2.1. Justificación.....	19
2.2. Hipótesis y objetivos.....	20

CAPÍTULO III. Material y métodos

3. Material y métodos.	25
3.1. Marco de la investigación.	25
3.2. Instalaciones y equipamientos.....	26
3.3. Sistema de cultivo y manejo.	28
3.4. Manejo del clima y de la fertirrigación.....	28
3.5. Medidas de fotosíntesis neta.....	30
3.6. Medidas de bioproductividad.....	31

3.7. Determinación del contenido de carbohidratos no estructurales, nitrógeno y carbono en las hojas de muestreo fotosintético.....	32
3.8. Análisis del contenido mineral de la biomasa final.....	33
3.9. Cálculo de la eficiencia del enriquecimiento carbónico.....	33
3.9.1. <i>Eficiencia respecto a la asimilación de CO₂, EA.</i>	33
3.9.2. <i>Eficiencia respecto al rendimiento productivo (EP)</i>	34
3.10. Diseño experimental y análisis estadístico.....	34

CAPÍTULO IV. Resultados

4. Resultados	39
4.1. Respuesta del cultivo de pimiento al enriquecimiento carbónico en invernadero mediterráneo con diferentes fuentes de nitrógeno y nivel de salinidad en la solución nutritiva. (Experimento I)	39
4.1.1. <i>Condiciones de desarrollo del cultivo (ciclo 2013-14).</i>	39
4.1.2. <i>Aclimatación fotosintética a concentración elevada de CO₂ en invernadero mediterráneo. Influencia de la fuente de nitrógeno y la salinidad</i>	41
4.1.2.1. <i>Asimilación foliar de CO₂.</i>	41
4.1.2.2. <i>Morfología foliar.</i>	44
4.1.2.3. <i>Concentración foliar de carbohidratos no estructurales y nitrógeno en las hojas de medida de fotosíntesis. Ratio carbono:nitrógeno.</i>	45
4.1.2.4. <i>Potencia de sumidero</i>	47
4.1.3. <i>Crecimiento y producción de fruto</i>	48
4.1.4. <i>Eficiencia hídrica y mineral</i>	51
4.1.5. <i>Eficiencia del aporte de CO₂</i>	55
4.1.5.1. <i>Eficiencia del aporte de CO₂ respecto a la fracción asimilada.</i>	56
4.1.5.2. <i>Eficiencia respecto al rendimiento productivo.</i>	57
4.2. Evaluación de estrategias enfocadas a la mejora de la eficiencia del enriquecimiento carbónico en invernadero mediterráneo.....	57
4.2.1. <i>Condiciones climáticas durante el ciclo de cultivo 2014-15.</i>	57
4.2.2. <i>Respuesta del cultivo de pimiento con enriquecimiento carbónico al cese anticipado de su aplicación (Experimento II).</i>	59
4.2.2.1. <i>Asimilación foliar de CO₂</i>	59
4.2.2.2. <i>Bioproductividad</i>	60

4.2.2.3. Eficiencia del aporte de CO ₂	62
4.2.2.3.1. Eficiencia respecto al CO ₂ asimilado	62
4.2.2.3.2. Eficiencia respecto al rendimiento productivo	63
4.2.4. Influencia de la limitación de la poda de frutos en el cultivo de pimiento con enriquecimiento carbónico (Experimento III).....	63
4.2.4.1. Asimilación foliar de CO ₂	63
4.2.4.2. Bioproductividad.....	64
4.2.4.3. Eficiencia del aporte de CO ₂ respecto al rendimiento productivo	66

CAPÍTULO V. Discusión

5. Discusión.....	69
5.1. Estudio de la aclimatación fotosintética frente al enriquecimiento carbónico en un cultivo de pimiento en invernadero mediterráneo. Influencia de la fuente de nitrógeno y la salinidad. 69	
5.2. Evaluación de la fuente de nitrógeno aportada en la solución nutritiva como estrategia para mejorar el rendimiento de un cultivo de pimiento en condiciones de enriquecimiento carbónico.	72
5.3. Estrategias para la mejora de la eficiencia del enriquecimiento carbónico en invernadero mediterráneo.....	75
5.3.1. Reducción del aporte de CO ₂ mediante el cese anticipado de la aplicación.	75
5.3.2. Adecuación de la relación fuente/sumidero mediante el manejo de poda a nivel de frutos.	76

CAPÍTULO VI. Conclusiones

6. Conclusiones.....	81
----------------------	----

CAPÍTULO VII. Bibliografía

7. Bibliografía.....	85
----------------------	----

Índice de tablas

CAPÍTULO I

Tabla 1. Principales datos de cultivo de pimiento en la provincia de Almería en las últimas campañas.	1
---	---

CAPÍTULO III

Tabla 2. Fechas de trasplante, fin de cultivo y período de duración (días) para cada uno de los ciclos desarrollados.....	28
--	----

Tabla 3. Períodos de actuación de la malla móvil exterior y uso de la caldera durante el transcurso de cada uno de los ciclos de cultivo.....	29
--	----

Tabla 4. Diseño experimental. Factores y niveles evaluados en el experimento I, II y III.....	30
--	----

Tabla 5. Períodos de aplicación de nitrógeno para cada una de las fases de desarrollo del cultivo.	35
---	----

CAPÍTULO IV

Tabla 6. Conductividad eléctrica (CE, dS m^{-1}) y composición (mM) de la solución nutritiva aportada al cultivo durante el experimento tanto en la fase vegetativa (I) como en la generativa (II). Los tratamientos están basados en la combinación de la salinidad (CE-B/CE-A) y fuente de nitrógeno (SN1: NO_3^- /SN2: $\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+$).	41
---	----

Tabla 7. Ganancia en fotosíntesis foliar en relación al aumento en C_i , $(A_{C0\ 800} - A_{C0\ 380}) / (C_i\ 800 - C_i\ 380)$, en las plantas de referencia (C0) durante el experimento (dC: días de tratamiento de CO_2). Las plantas fueron desarrolladas en condiciones de baja (CE-B) o alta (CE-A) salinidad, con diferentes fuentes de nitrógeno (SN1: NO_3^- ; SN2: $\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+$). Los valores corresponden a la media de seis plantas por tratamiento. Diferencias significativas se indican como: **, $P < 0,01$ y *, $P > 0,05$; n.s., diferencias no significativas.	42
---	----

Tabla 8. Fotosíntesis a nivel de hoja medida a una concentración de CO_2 en el aire de $800\ \mu\text{mol mol}^{-1}$ (A_{800} ; $\mu\text{mol mol}^{-1}\text{s}^{-1}$) en plantas de C1 y C0 durante diferentes días de aporte de CO_2 (dC) y su relación con la C_i resultante. Las plantas desarrolladas en condiciones de baja (CE-B) o alta (CE-A) salinidad, con diferentes fuentes de nitrógeno (SN1: NO_3^- /SN2: $\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+$). Los valores corresponden a la media de seis plantas por tratamiento. Diferencias significativas se indican: **, $P < 0,01$; * $P > 0,05$; n.s., diferencias no significativas.....	43
--	----

Tabla 9. Índice de área foliar (LAI, $\text{m}^2\ \text{m}^{-2}$) y área foliar específica (SLA, $\text{m}^2\ \text{g}^{-1}$) determinados en los cultivos de los invernaderos enriquecido (C1) y testigo (C0). Plantas desarrolladas en condiciones de baja (CE-B) o alta (CE-A) salinidad, y diferentes fuentes de N (SN1: NO_3^- y SN2: $\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+$). Los	
---	--

valores corresponden a la media de seis plantas por tratamiento. Diferencias significativas se indican: **, P<0,01; * P>0,05; n.s., diferencias no significativas..... 45

Tabla 10. Concentración de almidón y azúcares solubles totales (TSS) en las hojas donde se midió fotosíntesis en dos fases del experimento. Concentración de nitrógeno (N) y ratio C:N en dichas hojas bajo condiciones de baja CE. Los valores corresponden a la media de seis plantas por tratamiento. Diferencias significativas se indican: **, P<0,01; * P>0,05; n.s., diferencias no significativas. 46

Tabla 11. Producción total, comercial e incidencia de BER obtenidas en los invernaderos enriquecido (C1) y testigo (C0). Plantas desarrolladas en condiciones de baja (CE-B) o alta (CE-A) salinidad, y diferentes fuentes de N (SN1: NO₃⁻ y SN2: NO₃⁻ + NH₄⁺). Los valores corresponden a la media de seis plantas por tratamiento. Diferencias significativas se indican: **, P<0,01; * P>0,05; n.s., diferencias no significativas. 51

Tabla 12. Agua total aportada (Ws) y absorbida (Wu) durante el cultivo en los diferentes tratamientos de CO₂ (C), salinidad (CE) y fuente de N (SN). Eficiencia del uso del agua, referida al total de producción comercial obtenida en relación al agua total aportada (WUEs, g L⁻¹) y absorbida (WUEu, g L⁻¹). Diferencias significativas se indican: **, P<0,01; * P>0,05; n.s., diferencias no significativas. 52

Tabla 13. Eficiencia medio ambiental (EMA) de los nutrientes (%) para cada uno de los diferentes tratamientos evaluados: enriquecimiento carbónico (C), fuente de nitrógeno (SN) y nivel de salinidad (CE).* y ** indican efectos e interacciones entre tratamientos significativos a P≤ 0,05 y 0,01 respectivamente; n.s., diferencias no significativas..... 54

Tabla 14. Eficiencia productiva (EP) de los nutrientes (kg kg⁻¹) para cada uno de los diferentes tratamientos evaluados: enriquecimiento carbónico (C), fuente de nitrógeno (SN) y nivel de salinidad (CE).* y ** indican efectos e interacciones entre tratamientos significativos a P≤ 0,05 y 0,01 respectivamente. n.s., diferencias no significativas..... 55

Tabla 15. Conductividad eléctrica (CE, dS m⁻¹) y composición (mM) de la solución nutritiva aportada durante el cultivo durante los experimentos II y III, tanto en la fase vegetativa (I) como en la generativa (II)..... 59

Tabla 16. Fotosíntesis a nivel de hoja medida a una concentración de CO₂ en el aire de 800 μmol mol⁻¹ (A800; μmol mol⁻¹ s⁻¹) en plantas de R y P durante diferentes días de aporte de CO₂ (dC) y su relación con la Ci resultante. Los valores corresponden a la media de seis plantas por tratamiento. Diferencias significativas se indican: **, P<0,01; n.s., diferencias no significativas. 60

Tabla 17. Índice de área foliar (LAI, m² m⁻²) y área foliar específica (SLA, m² g⁻¹) de plantas crecidas en el invernadero donde se interrumpió el aporte de CO₂ (P) y el invernadero de referencia (R). Los valores corresponden a la media de seis plantas por tratamiento. Las diferencias significativas se indican: n.s., sin diferencias significativas..... 61

Tabla 18. Producción de fruto final acumulada (kg m^{-2}), total y comercial, obtenida en el invernadero con enriquecimiento carbónico de referencia (R) y parcial (P). Las diferencias significativas se indican: n.s., no existen diferencias significativas a $P < 0,05$ 62

Tabla 19. Fotosíntesis a nivel de hoja medida a una concentración de CO_2 en el aire de $800 \mu\text{mol mol}^{-1}$ (A800; $\mu\text{mol mol}^{-1} \text{s}^{-1}$) en plantas donde se permitió el desarrollo de 1 fruto (1F) o 2 frutos (2F) por nudo y su relación con la C_i resultante. Los valores corresponden a la media de seis plantas por tratamiento. Diferencias significativas se indican: * $P > 0,05$; n.s., diferencias no significativas. 64

Tabla 20. Valores medios del peso seco final vegetativo (PSV) y generativo (PSG), del índice de área foliar (LAI) y del área foliar específica (SLA), obtenidos al final del experimento, con la poda para dejar 1 (1F) o 2 (2F) frutos por nudo principal. Diferencias significativas se indican mediante *, $P < 0,05$; n.s., sin diferencias significativas. 65

Tabla 21. Producción acumulada, número y peso medio de los frutos totales y comerciales de plantas a las que se les permitió el desarrollo de 1 fruto por nudo (1F) o de 2 frutos (2F). Diferencias significativas se indican mediante *, $P < 0,05$; n.s., sin diferencias significativas. 66

Índice de figuras

CAPÍTULO I

Figura 1. Concentración histórica de dióxido de carbono durante 1000 años. Datos registrados en la Antártida. Fuente: <http://cdiac.esd.ornl.gov/trends/co2/graphics/lawdome.gif> 2

Figura 2. Medias nocturnas de dióxido de carbono (CO₂) atmosférico medido en el Observatorio Atmosférico de Izaña para el período comprendido entre junio de 1984 hasta mayo de 2015. Fuente: izana.aemet.es..... 3

Figura 3. Curva A/Ci de respuesta de la velocidad de asimilación (A) al incremento de la presión parcial de CO₂ en una planta de metabolismo C3, donde se observa en la parte inicial de la curva la limitación por Rubisco (rojo), la limitación por regeneración de RuBP (verde) y por el reciclado de las TP (amarillo). Fuente: Gutiérrez, 2010..... 7

CAPÍTULO III

Figura 4. Esquema de los dos tipos de podas a nivel de fruto, 1F (izq.) y 2F (dcha.) evaluadas en el ciclo 2014-15. 26

Figura 5. Vista exterior de los invernaderos multitúnel utilizados para el desarrollo de los cultivos. 26

Figura 6. (A) Instalación del sistema de aporte de CO₂ y (B) detalle del descompresor y equipo calentador empleado en el sistema y (C) detalle de los emisores de CO₂ empleados junto al fertirriego. 27

Figura 7. Colocación de los contenedores con sustrato de perlita y trasplante de plántulas. 28

Figura 8. Equipo portátil de intercambio gaseoso (LI-6400; LI-COR Inc.) y detalle de toma de medida. 31

Figura 9. Fracciones de hoja y tallo preparadas para ser pesadas. Muestras situadas en estufa para secado y posterior obtención de peso seco. 32

Figura 10. Extracción de carbohidratos no estructurales y determinación de su contenido mediante espectrofotometría UV-VIS..... 33

CAPÍTULO IV

Figura 11. Evolución de la temperatura (°C) y del DPV (kPa) durante el experimento en el invernadero enriquecido (C1) y testigo (C0). Los datos corresponden a las medias semanales de valores medios (—), máximos (---) y mínimos (....). 39

Figura 12. (a) Concentración media diaria de CO₂ e integral de radiación global (RG) en el interior de C0 y C1. Las flechas grises indican las semanas en las que se llevaron a cabo las medidas de fotosíntesis. **(b)** Evolución diaria (27 de diciembre de 2013) de la concentración de CO₂ en el aire del invernadero enriquecido (C1) y testigo (C0) y de la radiación global exterior. 40

Figura 13. Tasa de asimilación foliar neta de CO₂ (A; $\mu\text{mol mol}^{-1} \text{s}^{-1}$) (columnas) y contenido de CO₂ intercelular (Ci, $\mu\text{mol mol}^{-1}$) (círculos) durante el experimento (dC= días de aplicación de CO₂) en condiciones de baja CE (a-d) y alta CE (e-h). Las medidas fueron tomadas a una concentración de CO₂ de 800 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ en plantas del invernadero con enriquecimiento carbónico (C1 800) y a 800 (C0 800) y 380 (C0 380) en plantas del invernadero referencia. SN1 y SN2 corresponden a los tratamientos de fuente de nitrógeno empleada: NO₃⁻ y NO₃⁻ + NH₄⁺ respectivamente. Los datos son los valores medios de 6 plantas por tratamiento, con la desviación estándar. 42

Figura 14. Índice de aclimatación fotosintética (IA) a lo largo de los días de aplicación de CO₂ (dC) en plantas desarrolladas con diferentes fuentes de N (SN1: NO₃⁻ y SN2: NO₃⁻ + NH₄⁺) y niveles de salinidad (baja: CE-B y alta: CE-A). IA<1 significa una pérdida de la capacidad fotosintética relativa a las plantas de referencia. Los datos representados son medias de 6 plantas por tratamiento, con la desviación estándar. 44

Figura 15. Fotosíntesis foliar medida a una concentración de CO₂ de 800 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ (A800, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) vs: (a, b) concentración foliar, por unidad de materia seca, de almidón y azúcares solubles totales (TSS) y (c, d) porcentaje de N foliar y relación carbono: nitrógeno (C:N). Los valores corresponden a medidas independientes realizadas en diferentes plantas de todos los tratamientos de baja CE, a los 58 y 155 dC. 47

Figura 16. Producto de la materia seca de los frutos desarrollándose en la planta (PSFp) y la tasa de crecimiento relativo de la fracción de fruto (RGRF), calculada en diferentes días de tratamiento de CO₂ (dC) para plantas enriquecidas (C1) y de referencia (C0) desarrolladas con diferentes fuentes de N (SN1: NO₃⁻ y SN2: NO₃⁻ + NH₄⁺) y niveles de salinidad (Baja, CE-B, y alta, CE-A). Diferencias significativas entre los tratamientos se indican: *<0,05; **<0,01; n.s., no significativas. Los datos son medias de 6 plantas por tratamiento con la desviación estándar. 48

Figura 17. Peso seco total (PST) y su reparto entre las fracciones generativa (PSG) y vegetativa (PSV), en diferentes días de tratamiento de CO₂ (dC) de plantas con enriquecimiento carbónico (C1) y de referencia (C0), cultivadas con diferentes fuentes de N (SN1: NO₃⁻ y SN2: NO₃⁻ + NH₄⁺) y niveles de salinidad (Bajo, CE-B, y alto, CE-A). Diferencias significativas entre los tratamientos se indican: *<0,05; **<0,01; n.s., no significativas. 49

Figura 18. Evolución del incremento relativo de producción del cultivo enriquecido frente al referencia ((C1 – C0) x 100/C0), desarrollados con diferentes fuentes de N (SN1: NO₃⁻ y SN2: NO₃⁻ + NH₄⁺) y niveles de salinidad: bajo, CE-B (a) y alto, CE-A (b). 50

- Figura 19.** Efecto del enriquecimiento carbónico y fuente de nitrógeno sobre el contenido de nitrógeno (a), potasio (b), calcio (c) y magnesio (d), expresado en % del elemento en relación a la materia seca, en cada una de las fracciones del cultivo de pimiento bajo condiciones de baja salinidad (CE-B) (izquierda) y elevada salinidad (CE-A) (derecha). Los asteriscos indican diferencias significativas. (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$). 53
- Figura 20.** Evolución del aporte de CO_2 , GC (kg m^{-2}) en el invernadero C1 durante el cultivo. 56
- Figura 21.** Evolución de la eficiencia del enriquecimiento carbónico respecto al CO_2 asimilado y localizado en la materia seca vegetativa (ϵAVEG) y generativa (ϵAGEN). Valores medios entre determinaciones de biomasa. 57
- Figura 22.** Evolución de la temperatura ($^{\circ}\text{C}$) y del DPV (kPa) durante el experimento en el invernadero donde se cesó la aplicación de CO_2 (P) y el invernadero enriquecido durante todo el experimento (R). Los datos corresponden a las medias semanales de valores medios ($\bar{}$), máximos (---) y mínimos (...). 58
- Figura 23.** Evolución durante el desarrollo del cultivo de la concentración media diaria de (CO_2) y de la integral diaria media de radiación global (RG) registradas en el interior de los invernaderos con enriquecimiento carbónico de referencia (R) y parcial (P). 58
- Figura 24.** Tasa de asimilación foliar neta de CO_2 a Ca de $800 \mu\text{mol m}^{-1}$ (A800, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (columnas) de plantas crecidas en el invernadero con enriquecimiento carbónico de referencia (R) y parcial (P), y concentración de CO_2 intercelular (C_i , $\mu\text{mol mol}^{-1}$) (círculos). Medidas realizadas a partir de los 115 días desde el inicio del aporte de CO_2 (dC) y a los 160 dC. Los datos son el valor promedio de 6 plantas por invernadero. 60
- Figura 25.** Peso seco total (PST) y su reparto entre fracción generativa (PSG) y vegetativa (PSV), de plantas desarrolladas en invernaderos con diferente estrategia de aporte de CO_2 : P: Aporte de CO_2 durante parte del ciclo; R: Aporte de CO_2 durante todo el ciclo. Las diferencias significativas se indican: n.s. sin diferencias significativas..... 61
- Figura 26.** Evolución de la producción (kg m^{-2}) total (a) y comercial (b) acumulada obtenida en el invernadero con cese anticipado del enriquecimiento carbónico (P) y referencia (R). La flecha indica el momento en el que se interrumpió el aporte de CO_2 en P. 62
- Figura 27.** Evolución de la eficiencia del enriquecimiento carbónico respecto al CO_2 asimilado y localizado en la materia seca vegetativa (ϵAveg) y generativa (ϵAgen). Valores medios de periodos de 10 días. 63
- Figura 28.** Tasa de asimilación foliar neta de CO_2 medida a Ca de $800 \mu\text{mol mol}^{-1}$ (A800, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (columnas) y concentración de CO_2 intercelular (C_i , $\mu\text{mol m}^{-1}$) (círculos) a los 115 días de inicio del aporte de CO_2 (dC) y a los 160 dC, en plantas donde se permitió el desarrollo de 1 fruto (1F) y 2

frutos (2F) por nudo. Los datos son el valor promedio de 6 plantas por tratamiento. Las diferencias significativas se indican: *, $P < 0,05$ 64

Figura 29. Evolución de la producción comercial (P, kg m^{-2}) acumulada a lo largo del experimento (días desde el inicio de la aplicación, dC). Diferencias significativas se indican mediante *, $P < 0,05$; n.s., sin diferencias significativas. 65

ABREVIATURAS Y UNIDADES

Abreviaturas	Descripción	Unidades
A	Tasa de fotosíntesis neta	$\mu\text{mol mol}^{-1} \text{s}^{-1}$
BER	“Blossom end root” (Necrosis apical de fruto)	
C_a	Concentración de CO ₂ en el aire	$\mu\text{mol mol}^{-1}$
CE	Conductividad eléctrica	dS m^{-1}
C_i	Concentración intercelular de CO ₂	$\mu\text{mol mol}^{-1}$
dC	Días de tratamiento de CO ₂	días
DPV	Déficit de presión de vapor	kPa
E	Transpiración	
EA	Eficiencia del enriquecimiento carbónico con respecto a la producción	%
EMA	Eficiencia medio ambiental de los nutrientes	%
EP	Eficiencia productiva de los nutrientes	kg kg^{-1}
g_s	Conductancia estomática	
IA	Índice de aclimatación	
LAI	Índice de área foliar	$\text{m}^2 \text{m}^{-2}$
N	Nitrógeno	
NaCl	Cloruro sódico	
NH₄⁺	Amonio	
NO₃⁻	Nitrato	
PPFD	Densidad de flujo de fotones fotosintéticos	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
ppm	partes por millón	-
PSFp	Materia seca de los frutos en planta	$\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$
PSG	Peso seco fracción generativa	g m^{-2}
PST	Peso seco total	g m^{-2}
PSV	Peso seco fracción vegetativa	g m^{-2}
RGR_f	Tasa de crecimiento relativo de la fracción de fruto	
RuBP	Ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa oxigenasa (Rubisco)	-
SLA	Área foliar específica	$\text{m}^2 \text{g}^{-1}$
T	Temperatura	°C
TP	Triosas fosfato	
TSS	Azúcares solubles totales	mg g^{-1}
Ws	Agua aportada total	L m^{-2}
Wu	Agua absorbida durante el cultivo	L m^{-2}
WUE	Eficiencia en el uso del agua	g L^{-1}
WUEs	Eficiencia del uso del agua referida al total de producción comercial obtenida en relación al agua aportada	g L^{-1}

WUEu	Eficiencia del uso del agua referida al total de producción comercial obtenida en relación al agua absorbida	g L^{-1}
δA	Incremento del contenido de C asimilado en la parte aérea del cultivo	$\text{g}_{\text{CO}_2} \text{m}^{-2} \text{d}^{-1}$
δGC	Cantidad de CO_2 aportado al aire del invernadero	$\text{g}_{\text{CO}_2} \text{m}^{-2} \text{d}^{-1}$

Resumen

La técnica del enriquecimiento carbónico del aire del invernadero permite aumentar la concentración presente de dicho gas con la finalidad de mejorar la productividad de los cultivos desarrollados en el invernadero. Esta técnica, generalizada en países del Norte y Oeste de Europa, mejora la producción, la eficiencia del uso del agua y del uso de fertilizantes. En condiciones del litoral mediterráneo se ha puesto de manifiesto el interés de dicha técnica, no sólo desde un punto de vista agronómico, sino como una solución ambiental, llegando a plantearse como un posible método para mitigar el efecto negativo del uso del agua procedente de acuíferos con una tendencia a la salinización. Sin embargo, en estas condiciones el mayor requerimiento de ventilación en comparación con los invernaderos del Norte de Europa supone un menor tiempo de aplicación de CO₂ a elevada concentración, lo que entre otros factores determina incrementos productivos inferiores a los obtenidos para las mismas especies en climas más fríos.. Además, está descrito en bibliografía como transcurrido un período de tiempo desde el inicio de la aplicación, la estimulación fotosintética se ve reducida, fenómeno conocido como aclimatación y que, según hipótesis de diferentes autores, puede estar relacionada con la regulación de la relación fuente/sumidero para la formación de carbohidratos, así como con la disponibilidad de N para la formación de proteínas y aminoácidos.

El hecho de confirmar la presencia de este proceso de aclimatación fotosintética y el estudio de los factores que intervienen en la aparición del mismo, permitiría el diseño de medidas que lo aminoren y mejoren la eficiencia de la técnica en condiciones mediterráneas, por lo que se establece como objetivo general de la presente memoria de tesis, la mejora de la eficiencia de la aplicación de CO₂ mediante el estudio del proceso de aclimatación fotosintética a elevada concentración de dióxido de carbono, con el fin de mitigar dicho proceso, así como la mejora del cultivo en combinación con la salinidad.

Por ello, para abordar este objetivo general se plantean las siguientes hipótesis:

- Hipótesis 1: El proceso de aclimatación fotosintética a largo plazo, en cultivos bajo enriquecimiento carbónico variable, en condiciones mediterráneas reduce la eficiencia de esta técnica.
- Hipótesis 2: La fuente de nitrógeno empleada en el desarrollo de un cultivo de pimiento bajo condiciones de elevado CO₂ juega un papel importante sobre el proceso de aclimatación fotosintética.
- Hipótesis 3: El manejo de la relación fuente/sumidero permite mitigar la aclimatación fotosintética.
- Hipótesis 4: El cese anticipado del aporte de CO₂ en invernadero mediterráneo, en base al fenómeno de aclimatación, permite una mayor eficiencia de la aplicación del enriquecimiento carbónico en condiciones mediterráneas.

Para dar respuesta al objetivo e hipótesis planteados, se han propuesto los siguientes objetivos específicos: 1) Estudiar la aclimatación fotosintética frente al enriquecimiento carbónico en un cultivo de pimiento en invernadero mediterráneo: influencia de la fuente de nitrógeno y la salinidad, 2) evaluar la variación en la fuente de nitrógeno aportado en la solución nutritiva como estrategia para mejorar el rendimiento de un cultivo de pimiento en condiciones de enriquecimiento carbónico, 3) examinar posibles estrategias para mejorar la eficiencia del enriquecimiento carbónico en invernadero mediterráneo: a) reducción del aporte de CO₂ por cese anticipado en relación a la aclimatación y b) adecuación de la relación fuente/sumidero mediante el manejo de poda de frutos.

El experimento I dio respuesta a los objetivos 1 y 2, cuyos resultados mostraron como la estimulación de la fotosíntesis derivada del aporte de CO₂ en la atmósfera del invernadero se vio reducida transcurrido un período de tiempo desde el inicio de la aplicación. El estudio de la morfología foliar, así como de la concentración de carbohidratos no estructurales y nitrógeno presentes en las hojas han permitido relacionar esta pérdida de estimulación con el fenómeno de aclimatación, pudiendo acotar en el tiempo el momento en el que el aporte de CO₂ muestra un descenso de la estimulación fotosintética esperada de la aplicación de esta técnica. Así mismo, el estudio del uso de diferentes fuentes de nitrógeno en la solución nutritiva aportada ha facilitado el conocimiento de su relación con el fenómeno de aclimatación, y su posible uso en combinación con el enriquecimiento carbónico para mitigar el efecto de la salinidad del agua de riego.

El experimento II ha dado respuesta al objetivo 3a, permitiendo conocer la respuesta del cultivo a la estimulación fotosintética una vez interrumpida la aplicación de CO₂ en el aire del invernadero. El momento del cese de dicha aplicación se ha determinado en función de los resultados de aclimatación obtenidos en el experimento I se ha puesto de manifiesto la posibilidad de la reversibilidad del fenómeno de aclimatación, obteniéndose como resultado una menor reducción de la estimulación fotosintética en el cultivo donde se interrumpió el aporte de CO₂ transcurrido el período establecido de aplicación. La estrategia ha resultado en una mejora de la eficiencia global del CO₂ aportado respecto a la producción obtenida.

El experimento III ha permitido dar respuesta al objetivo 3b. Para ello, se estudió el efecto de la adecuación de la relación fuente/sumidero mediante la poda de los frutos presentes en los tallos del cultivo de pimiento. El efecto de dicha poda ha puesto de manifiesto el impacto de la misma sobre la pérdida de estimulación fotosintética, observándose una menor reducción de dicha estimulación en aquellas plantas donde se permitió el desarrollo de un mayor número de frutos por nudo. Desde el punto de vista de la bioproductividad, esta técnica ha favorecido una mejoría en la producción precoz, pero en términos globales, el mayor número de frutos obtenidos no ha mejorado la producción final, al tratarse de frutos de menor peso.

El fenómeno de aclimatación fotosintética, entendido como la pérdida de estimulación inicial de la fotosíntesis derivada del enriquecimiento carbónico es un fenómeno que limita los beneficios de dicha técnica, pero el estudio de los factores relacionados con este fenómeno permiten diseñar

estrategias que mitiguen la aparición del mismo y optimicen, aún más, la aplicación de CO₂ en condiciones mediterráneas.

Summary

The greenhouse carbonic enrichment technique enables the present concentration of this gas to be increased in order to improve the productivity of crops developed in the greenhouse. This technique, frequently used in Northern and Western European countries, improve yield, water use efficiency and fertilization. In Mediterranean conditions, the interest of this technique has been shown, not only from agronomic issues, but as an environmental solution, could be focus as an alternative to alleviate negative effects of the use of water with high level of salinity. However, in those conditions, the major ventilation requirement, in comparison with Northern European greenhouses, means a shorter CO₂ application, which determines less productive improvements than obtains in colder climatic conditions. Furthermore, after a period since the beginning of application, photosynthetic stimulation is reduced, phenomenon known as acclimation and, according to the hypotheses of different authors, may be related to the regulation of source/skin to produce carbohydrates, as well as N availability to produce aminoacids and proteins.

The knowledge of the photosynthetic acclimation process and the study of factors that produce it, would allow the design of measures that reduce it and improve the efficiency of the carbonic enrichment technique in Mediterranean conditions, for which, the main objective of the thesis is the improvement of the efficiency on the CO₂ application by the study of the photosynthetic acclimation process to elevated carbon dioxide concentration, in order to mitigate this process, as well as the improvement of crops in salinity conditions.

Therefore, the following hypotheses are proposal:

- Hypothesis 1: Efficiency of variable carbonic enrichment exposure for a long time in Mediterranean conditions is reduced by photosynthetic acclimation process.
- Hypothesis 2: N supply in the development of pepper crop under high CO₂ conditions, plays and important role in the photosynthetic acclimation process.
- Hypothesis 3: Source/skink regulation would alleviate the photosynthetic acclimation.
- Hypothesis 4: Removal CO₂ application when acclimation occurs, allows major efficiency of CO₂ enrichment apply in Mediterranean conditions.

The following specific objectives are proposal: 1) Study of photosynthetic acclimation to elevated CO₂ in sweet pepper crop under Mediterranean greenhouse conditions: influence of the nitrogen source and salinity, 2) Evaluation of different sources of nitrogen as a strategy to improve the yield on a sweet pepper crop under carbonic enrichment conditions, 3) evaluate of different strategies to improve the efficiency of carbonic enrichment under Mediterranean greenhouse conditions: a) reduce the CO₂ application in based to acclimation process and b) influence of fruit pruning in source/skin relationship.

First experiment responded to 1st and 2nd objectives, which results showed how the photosynthetic stimulation of CO₂ enrichment was reduced after a period from the beginning of

the application. The study of leaf morphology non-structural carbohydrates and nitrogen contents on leaves, have made it possible to relate the loss of stimulation to the acclimation process, being able to limit the moment that photosynthetic stimulation expected. Likewise, the study of the use of different sources of nitrogen in the nutrient solution has facilitated the knowledge of its relationship with the acclimation process, and its possible use in combination with carbonic enrichment to alleviate the negative effect of salinity of water

Second experiment responded to 3rd a) objective, allowing to know the response of the crop to the photosynthetic stimulation when the supply of CO₂ was interrupted. The moment when the application was interrupted has been determined based on the results obtained in first experiment. The possibility to reverse the acclimation process has been observed on less reduction of the photosynthetic stimulation on the crop where the CO₂ supply was interrupted. This strategy has resulted in a major global efficiency of the technique.

Third experiment responded to 3rd b) objective. The study of the source/skin relationship and the effect of fruit pruning on it. This strategy allows the effect in the photosynthetic stimulation and a less reduction of this stimulation in plants where the number of fruits was major per node. On the bioproductivity point of view, this technique improves the early yield, but in general, final yield has been less for the minor weight of fruits.

Photosynthetic acclimation under carbon enrichment, understood as a loss of initial stimulation of photosynthesis, is a process that limits the benefit of enrichment technique, but the study of the factors involved on it allows the design of different strategies to mitigate the process and improve the CO₂ application in Mediterranean conditions.



Capítulo I
Introducción General

1. Introducción.

1.1. Introducción general.

El modelo agrícola de la provincia de Almería se caracteriza por el empleo de estructuras de bajo coste, con un bajo nivel tecnológico y un consumo de energía mínimo, lo que conlleva una dependencia total del clima de las diferentes zonas productivas (Lorenzo *et al.*, 2016).

Desde la aparición de los primeros invernaderos en los años 60 del pasado siglo XX, la modernización de las explotaciones se ha enfocado principalmente en la mejora de las estructuras para la optimización del uso de la radiación solar, la mejora de la ventilación y la protección de los cultivos frente a las precipitaciones, plagas y enfermedades (Lorenzo *et al.*, 2016).

El pimiento, junto con el tomate, es el cultivo que más superficie ocupa dentro de las especies que se desarrollan bajo cultivo protegido. Según la FAO (2012), España ocupa el sexto lugar en producción de pimiento, siendo China la principal productora a nivel mundial. En la Unión Europea, España es el país con mayor producción de pimiento, seguido de los Países Bajos e Italia, destacando las zonas de cultivo en invernadero del Levante y Sureste peninsular, siendo Almería, la principal provincia productora de pimiento destinado a exportación (Fernández- Zamudio *et al.*, 2006), llegando a representar el 82% de la superficie andaluza dedicada a este cultivo.

Según el informe de campaña presentado por el Observatorio de Precios y Mercados de la Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural de la provincia de Almería, la superficie destinada al cultivo de pimiento durante la campaña 2017-18 disminuyó un 1% respecto a la campaña pasada, siendo el cultivo más representativo de la provincia en cuanto a hortalizas protegidas se refiere. La producción aumentó un 6% respecto a la anterior campaña, lo que supuso un aumento en las exportaciones del 3%.

Tabla 1. Principales datos de cultivo de pimiento en la provincia de Almería en las últimas campañas.

	2010/11	2011/12	2012/13	2013/14	2014/15	2015/16	2016/17	2017/18
Valor producción (miles €)	349.500	325.946	413.913	457.686	477.631	573.426	627.714	533.307
Superficie (ha)	7.300	7.336	8.406	9.325	9.270	9.439	10.260	10.143
Producción (t)	470.263	511.645	540.590	649.957	629.512	664.340	693.215	732.118
Rendimiento (kg m⁻²)	6,4	7,0	6,4	7,0	6,8	7,0	6,8	7,2

Fuente: Avance de Superficies y producciones (D.T. Almería): Campaña 2017/18. CAPDER

La campaña 2018/19 fue positiva para el cultivo de pimiento. Según los datos recogidos por Coexphal (2019), se comercializaron hasta enero de dicha campaña 227,4 millones de kilos de pimientos, lo que supone un aumento del 11% respecto a la campaña anterior en la misma época; y según las tendencias, se espera un incremento del 3% total de producción para este cultivo al final de la campaña.

1.2. Cambio climático, un nuevo escenario para la agricultura del siglo XXI.

La agricultura depende directamente del clima, por lo que cambios en los patrones de comportamiento de las variables que lo definen (temperatura, precipitaciones, concentración de CO₂ atmosférico, etc.) afectan de manera significativa al desarrollo de los cultivos. Entre el 32% y el 39% de las variaciones en los rendimientos de los cultivos viene condicionado por la variabilidad climática, situación que se ve acentuada en las regiones mediterráneas (Ray *et al.*, 2015).

Aunque algunos de los cambios debidos al cambio climático, como el aumento de la temperatura o el incremento de CO₂ atmosférico, pueden resultar beneficiosos para la agricultura, la falta de disponibilidad de agua y su calidad, así como la ocurrencia de fenómenos climatológicos extremos, de manera más frecuente, tienen a su vez impactos negativos y adversos sobre la agricultura.

El dióxido de carbono (CO₂) representa una parte minoritaria de la composición de la atmósfera terrestre y su comportamiento es similar al que originan las cubiertas de los invernaderos, ya que retiene parte de la radiación emitida por la superficie terrestre a la atmósfera en forma de radiación de onda larga, provocando el aumento de la temperatura del aire (Larcher, 2003).

La concentración del dióxido de carbono presente en la atmósfera ha ido modificándose a lo largo de la historia. A partir de la revolución industrial, el aumento de dicha concentración experimenta un crecimiento del orden de 1,2 -1,5 μmol de CO₂ mol⁻¹ anual (Watson *et al.*, 1990) y ligeramente mayor para finales del siglo XX (figura 1).

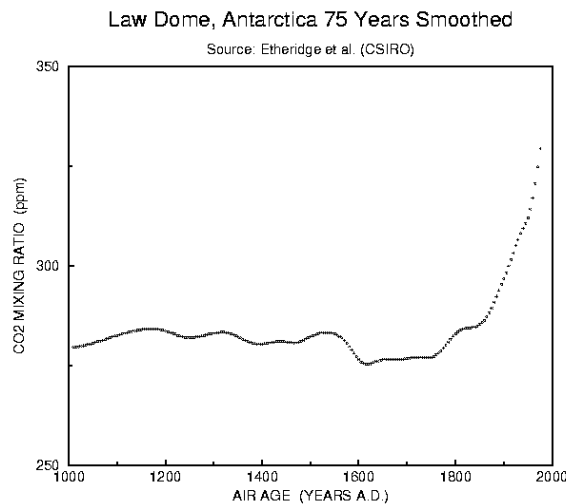


Figura 1. Concentración histórica de dióxido de carbono durante 1000 años. Datos registrados en la Antártida. Fuente: <http://cdiac.esd.ornl.gov/trends/co2/graphics/lawdome.gif>

El mes de abril de 2020, dicha concentración superó los 417 μmol mol⁻¹ de CO₂ según los datos registrados en el observatorio Mauna Loa (Hawaii) del National Oceanic & Atmospheric Administration (NOAA). Diferentes estudios realizados por el Panel Intergubernamental para el

Cambio Climático (IPCC) estiman que dicho valor se situará en torno a $530 \mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO_2 atmosférico, a nivel global, en el año 2050 (IPCC 2001, 2007).

En España, las mediciones realizadas en el Centro de Investigación Atmosférica de Izaña (CIAI) de la Agencia Estatal de Meteorología (AEMET) han permitido registrar la velocidad en el aumento de la concentración de CO_2 en la atmósfera desde 1984 (figura 2), mediante la medida directa desde esa fecha y el cálculo de la tendencia interanual a partir de los datos medidos. Estas medidas registraron en abril de 2020 valores superiores a los 415 ppm de CO_2 .

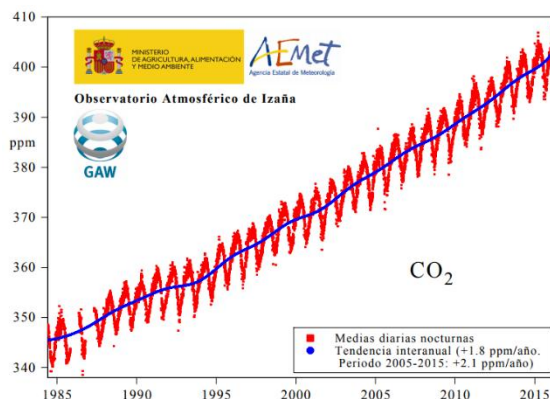


Figura 2. Medias nocturnas de dióxido de carbono (CO_2) atmosférico medido en el Observatorio Atmosférico de Izaña para el período comprendido entre junio de 1984 hasta mayo de 2015. Fuente: izana.aemet.es

El aumento continuado de la concentración de CO_2 atmosférico, junto al resto de gases de efecto invernadero, afecta de forma directa a las plantas (Gutiérrez, 2010). El CO_2 es la fuente a partir de la cual las plantas obtienen el carbono contenido en el aire que entra en las cavidades estomáticas, a través de los estomas presentes en la superficie de la hoja, y posteriormente es asimilado en hidratos de carbono en los cloroplastos mediante el uso de la energía procedente de la luz (Nederhoff, 1994). Esta relación directa con la fotosíntesis lo convierte en uno de los principales factores determinantes del crecimiento y la productividad de los cultivos.

Son numerosos los estudios llevados a cabo para entender la respuesta de las plantas al aumento del contenido de dióxido de carbono en la atmósfera, influenciados en gran parte por la preocupación ambiental que suscita el incremento de la concentración de este gas y por la necesidad de comprender los cambios fisiológicos de las plantas desarrolladas bajo estas condiciones y su relación con la fotosíntesis (Long, 1991; Moore *et al.*, 1999). En este sentido, diferentes trabajos han evidenciado una respuesta positiva de la fotosíntesis a exposiciones de elevada concentración de CO_2 en plantas C3. Drake *et al.* (1997), en una revisión de 60 experimentos, mostraron un incremento medio del 58% en la fotosíntesis de plantas cultivadas a elevada concentración de CO_2 frente a plantas desarrolladas en condiciones ambientales. Según Lawlor y Mitchell (1991), las plantas C3 que crecen bajo condiciones adecuadas de radiación, necesitan llegar a niveles de $800 - 1000 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$ para la saturación, por lo que a la concentración de CO_2 actual, en torno a $405 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$, la tasa de asimilación de carbono potencial está muy limitada (Lorenzo, 2012).

En relación también con el cambio climático, la reducción en las precipitaciones supone una mayor competencia entre el agua de regadío y la destinada a consumo humano e industrial, lo que da lugar a que la disponibilidad de agua de calidad destinada a uso agrícola disminuya de manera considerable (Cassman *et al.*, 2003; Ainsworth *et al.*, 2008). De esta manera, cada vez más se hace necesaria la utilización para el riego de aguas con cierto grado de salinidad.

En el caso concreto de la provincia de Almería, la presión a la que se someten los recursos hídricos ha provocado un déficit creciente sobre este recurso que ha generado una serie de problemas en los acuíferos de la provincia, como la bajada de los niveles freáticos de los acuíferos y la contaminación de los mismos (Valera *et al.*, 2016). Esto ha dado origen a la creciente salinización de dichos acuíferos debido al riego con aguas salobres (Thompson *et al.*, 2007), ya que existen zonas en las que se riega con aguas de conductividades eléctricas en torno a 3,5 dS m⁻¹ (Sánchez *et al.*, 2015).

La sobreexplotación de los acuíferos viene dada por la elevada concentración de cultivos intensivos (Garrido *et al.*, 2005), localizados principalmente en las comarcas del Campo de Dalías y Campo de Níjar, donde la agricultura de invernaderos tiene como factor limitante la disponibilidad del agua, tanto por la cantidad como por la calidad (Gómez-Limón & Riesgo, 2012).

La salinidad es uno de los principales factores limitantes en el desarrollo de las plantas, llegando a reducir la productividad de los cultivos en todo el mundo, pudiendo llegar a ser un problema mayor en el futuro debido al cambio climático (Dajic, 2006).

La salinidad puede tener diferentes efectos sobre los distintos procesos de crecimiento en las plantas, afectando tanto al desarrollo vegetativo como reproductivo (Cohen, 2003). La hipótesis más comúnmente aceptada explica que la inhibición del crecimiento en condiciones de estrés salino está asociada a relaciones hídricas modificadas (efectos osmóticos), a efectos derivados del exceso o déficit de ciertos iones, o a la disponibilidad de energía (Lazof y Bernstein, 1988).

Igualmente, puede derivar en efectos tóxicos sobre las plantas por la absorción excesiva de ciertos iones. La expansión foliar es uno de los primeros procesos afectados por la salinidad, la reducción de la superficie foliar, en primera instancia, da lugar también a una reducción en la interceptación de radiación y por tanto en la fotosíntesis neta, sin embargo, ésta queda parcialmente compensada en los cultivos tutorados al disminuir el autosombreado de las hojas.

La estrategia más común para evitar la reducción del rendimiento en condiciones salinas pasa por aumentar la tolerancia de las plantas mediante la mejora genética (Geissler *et al.*, 2009), sin embargo, existen estrategias que han permitido abordar el problema del desarrollo de las plantas en condiciones salinas desde un punto de vista fisiológico (Jiang *et al.* 2006). Estudios como el de Sánchez-González *et al.* (2014) han permitido poner de manifiesto la relación entre la aplicación de enriquecimiento carbónico en invernadero mediterráneo y su influencia sobre el efecto negativo de la salinidad, observando una mejora en el aprovechamiento de los nutrientes, así como una reducción en la limitación bioproductiva ocasionada por la salinidad en un cultivo de tomate.

1.3. El enriquecimiento carbónico y el cultivo en invernadero.

La agricultura protegida se caracteriza por mantener unas condiciones climáticas favorables para el desarrollo de los cultivos en comparación con el exterior mediante el empleo de cubiertas que modifican principalmente la radiación, la velocidad del viento, la temperatura, el déficit de presión de vapor de agua y la concentración de dióxido de carbono. Estas modificaciones y su efecto sobre el crecimiento, desarrollo y productividad de los cultivos han sido estudiadas por numerosos investigadores, como recogen Katsoulas y Kittas (2008) y Lorenzo *et al.* (2010) entre otros, poniendo de manifiesto la relación existente entre la respuesta de las plantas y dichas condiciones ambientales.

En la actualidad, el diseño ineficiente de la superficie de ventilación de la mayoría de las estructuras de cultivo en el área Mediterránea, junto a la necesidad de incorporar mallas anti-insectos para el control de plagas y enfermedades, provocan que la tasa de ventilación sea inadecuada (Baeza *et al.*, 2010). La limitada renovación del aire de los mismos en determinadas condiciones no permite compensar el consumo fotosintético de CO₂ por el cultivo, de manera que la concentración de CO₂ en el interior de los invernaderos llega a adquirir valores inferiores a la del exterior, de por sí limitante para los cultivos, tal como se menciona en el apartado previo. En invernaderos mediterráneos se han registrado descensos en la concentración de este gas inferiores a 300 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ durante un 60% del período diurno (Sánchez-Guerrero *et al.*, 2005). La primera medida para evitar la reducción de la concentración de CO₂ en el aire del invernadero pasa por la optimización de la ventilación natural.

La técnica del enriquecimiento carbónico, aplicada de forma generalizada en países del Norte y Oeste de Europa, consiste en el aporte de CO₂ dentro del invernadero con el fin de aumentar su concentración en el aire para mejorar la productividad de los cultivos. Según la bibliografía consultada, la práctica más común inicialmente consistía en aumentar la concentración de CO₂ entre 2000 y 3000 $\mu\text{mol mol}^{-1}$, ya que se tenía la certeza de que cuanto mayor fuese el aporte mejor sería la respuesta de las plantas; pero a raíz de diferentes trabajos, entre los que destacan los de Heij y Uffelen (1984) y Mortensen y Ulsaker (1985), se observó que aportes de CO₂ para mantener concentraciones superiores a los 900 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ rara vez suponía una mejora de los efectos beneficiosos esperados. A partir de los resultados obtenidos por Urban (1997) en el estudio de la concentración óptima para diferentes especies, se concluye que el aporte óptimo de este gas para el desarrollo de especies hortícolas en invernadero está situado entre los 600 y 900 $\mu\text{mol mol}^{-1}$.

En condiciones del litoral mediterráneo, la necesidad de controlar las altas temperaturas implica un mayor requerimiento de ventilación en comparación con los invernaderos del Norte de Europa, por lo que el período de aplicación de la técnica del enriquecimiento carbónico debe ajustarse a dicha ventilación (Nederhoff, 1994). El uso de estrategias de aporte de CO₂ vinculadas a la ventilación del invernadero se ha estudiado en condiciones de clima mediterráneo, con distintas especies hortícolas (tomate, pimiento, pepino, etc.); constatando el interés agrícola del aumento de la concentración de CO₂ en el interior del invernadero hasta aproximadamente el doble de la

exterior ($700-800 \mu\text{mol mol}^{-1}$) cuando las ventanas permanecen cerradas y en el caso de que estas se abran por exceso térmico o higrométrico, mantener una concentración similar a la exterior, con el objetivo de reducir posibles gradientes interior/exterior y así evitar pérdidas innecesarias de este gas (Sánchez-Guerrero *et al.*, 2005; Alonso, 2011; Lorenzo *et al.*, 2013). Los resultados han mostrado incrementos significativos de las producciones de fruto, desde un 12% en judía hasta un 25% en pepino o pimiento (Sánchez-Guerrero, 1999; Enoch *et al.*, 1976; Baba *et al.*, 2006), siendo estos valores inferiores a los obtenidos para las mismas especies en climas más fríos (Nederhoff, 1994), debido principalmente al manejo realizado en condiciones de clima mediterráneo en cuanto al menor tiempo de aplicación de CO_2 a elevada concentración, entre otros factores.

1.4. Respuesta de las plantas a concentraciones elevadas de CO_2 . Interacción con la salinidad.

La fotosíntesis es un proceso fundamental mediante el cual, las plantas son capaces de asimilar CO_2 de la atmósfera y transformarlo en hidratos de carbono utilizando como fuente de energía la radiación solar (Medrano & Flexas, 2000). En este proceso interviene de manera directa la proteína Ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa oxigenasa (Rubisco) considerada como la más abundante de la biosfera.

La velocidad de la fotosíntesis está limitada por la concentración de CO_2 , donde las propiedades de la Rubisco son las que limitan la asimilación de CO_2 . Cuando las condiciones ambientales son idóneas, hay tres procesos metabólicos que afectan directamente a la velocidad de asimilación: actividad Rubisco, regeneración de RuBP y metabolismo de triosas fosfato (TP) (Farquar *et al.*, 1980; Taiz & Zeiger, 2002). Cuando la concentración de CO_2 es baja, la Ribulosa 1,5 bisfosfato (RuBP) se sintetiza en la fase de regeneración del ciclo de Calvin, más rápidamente de lo que es utilizada por la rubisco y, por tanto, la RuBP se encuentra en exceso (figura 3). En estas condiciones, la fotosíntesis está limitada por la actividad carboxilasa de la Rubisco, dado que los niveles de CO_2 son bajos (Long, 1991).

Al aumentar los niveles de CO_2 se incrementa la tasa total de fotosíntesis, y la RuBP se utiliza con mayor velocidad. Al llegar el punto en el que la Rubisco puede usar la RuBP más rápidamente de lo que se sintetiza, la tasa de fotosíntesis ya no aumenta más, y ello corresponde a la zona de saturación de la curva (figura 3). La Rubisco tiene menor afinidad por el CO_2 que por el O_2 , por lo que al aumentar la proporción de CO_2 respecto al O_2 se estimula la reacción de carboxilación y se reduce la pérdida de carbono por fotorrespiración (Stitt, 1991; Long *et al.*, 2004), siempre y cuando no se vea limitada por otros factores (intensidad lumínica o temperatura), de tal forma que duplicando la concentración de CO_2 , Rubisco disminuirá la tasa de oxigenación a la mitad aproximadamente (Long, 1991). Así pues, la velocidad de regeneración de la RuBP en el ciclo de Calvin impone otro límite a la tasa fotosintética. Aunque se suele afirmar que en esta segunda parte de la curva A/Ci la fotosíntesis está limitada por la luz y su papel en el transporte de electrones y otras reacciones luminosas, lo más correcto y genérico es hablar de limitación por regeneración de RuBP, ya que dicha regeneración puede verse limitada por la velocidad con que el ión fosfato es liberado en la síntesis de sacarosa y almidón a partir de las triosas-fosfato formadas

en el ciclo de Calvin, ya que este mismo fosfato interviene en la fosforilación de la ribulosa 5-fosfato a RuBP en el último paso del ciclo de Calvin (Stitt, 1991, Azcón-Bieto, 2000).

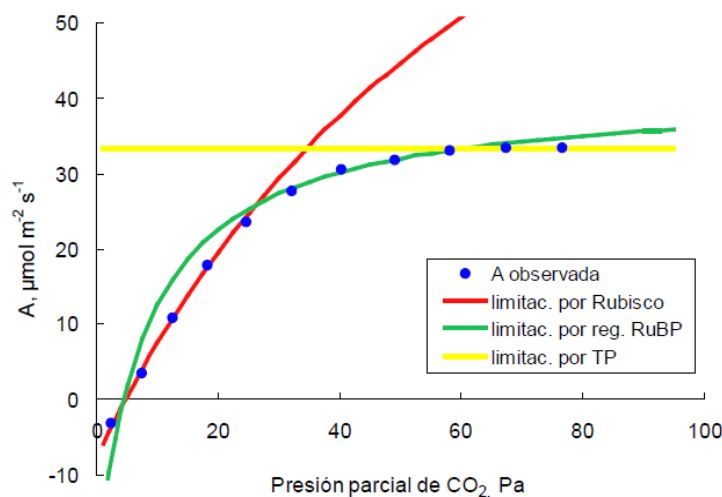


Figura 3. Curva A/Ci de respuesta de la velocidad de asimilación (A) al incremento de la presión parcial de CO₂ en una planta de metabolismo C₃, donde se observa en la parte inicial de la curva la limitación por Rubisco (rojo), la limitación por regeneración de RuBP (verde) y por el reciclado de las TP (amarillo). Fuente: Gutiérrez, 2010.

La tasa de fotosíntesis está también de algún modo regulada por el uso y transporte de fotoasimilados, ya que la capacidad de la planta para utilizar los productos de la fotosíntesis es limitada y puede reducir las tasas de asimilación de CO₂ en las hojas. Tanto la sacarosa como el almidón proceden de las TP generadas a través del ciclo de Calvin. Cuando la producción de TP en el cloroplasto excede la capacidad de utilizar sacarosa y almidón, disminuye la tasa de fotosíntesis, incluso cuando la hoja esté en condiciones de elevada iluminación y alta concentración de CO₂ (Herold, 1980; Foyer, 1987; Huber 1989).

La estimulación fotosintética a elevada concentración de dióxido de carbono atmosférico da lugar a un incremento de la cantidad de asimilados disponibles por la planta para la producción de biomasa y en definitiva un aumento tanto del crecimiento como de la producción de frutos (Acock y Pasternak, 1986). Así mismo, una mayor concentración de CO₂ incrementa la eficiencia del uso de la luz en la asimilación neta de CO₂ lo que se traduce en un aumento del crecimiento y por tanto de la velocidad de producción de superficie foliar (Drake *et al.*, 1997). El incremento en la eficiencia en el uso de la luz unido a la reducción del punto de compensación lumínico favorece el alargamiento del periodo diurno de actividad fotosintética (Lorenzo, 1996).

Otro de los resultados más importantes del aumento de la concentración de CO₂ en plantas es la disminución de la conductancia estomática (g_s), reduciendo la transpiración (E), lo que aumenta la eficiencia en el uso del agua (WUE) de la planta (Radoglou *et al.*, 1992; Morison, 1998). Este incremento en la WUE es importante para la agricultura, ya que permite una mayor adaptabilidad de las plantas a condiciones de sequía u otros estreses hídricos y una reducción en la cantidad de agua necesaria para su desarrollo y la producción de frutos (Wittwer, 1990). No obstante, según Jarvis y McNaughton (1986) la relación entre g_s y E depende de la escala del sistema estudiado, de

manera que a nivel de estoma aislado la regulación fisiológica es máxima, pero pierde su importancia progresivamente al considerar la transpiración a nivel de hoja, de planta y de dosel.

A nivel de hoja, al considerar un estoma aislado, los cambios de flujo de calor y vapor de agua debidos a una variación de g_s ejercen muy poco efecto sobre la humedad y temperatura en la superficie de la hoja. Sin embargo, cuando g_s varía, se produce una modificación inicial de E que altera la temperatura foliar, con el consiguiente efecto sobre el déficit de presión de vapor entre la cavidad subestomática y el aire ($DPV_{\text{hoja-aire}}$), el cual a su vez provoca una variación secundaria de la E (efecto “*feedback*” térmico). Aubinet *et al.* (1989) consideran que en condiciones de invernadero también se produce un efecto “*feedback*” hidrológico, como consecuencia de la limitación del intercambio de vapor de agua con el exterior. Un cambio en el flujo de transpiración puede alterar el balance hídrico del aire del invernadero que a su vez modifica el flujo de transpiración.

En 1992, Nederhoff *et al.* describen la desvinculación de la conductancia foliar y transpiración frente al aumento de la concentración de CO_2 en invernadero, debida a los efectos “*feedback*” térmico e hidrológico que se producen en dichos sistemas de cultivos.

En las zonas del sureste español, la salinidad es considerada uno de los mayores factores limitantes del crecimiento de las plantas y productividad de los cultivos. Magán (2005) observó disminuciones del área foliar específica (SLA) con el aumento de la CE, coincidiendo con los estudios de Heuvelink *et al.* (2003) que obtuvieron una reducción del 8% por cada incremento unitario de CE desde 3 a 6 dS m^{-1} . Así mismo, se ha observado como el desarrollo bajo condiciones de salinidad puede dar lugar a reducciones de la producción de fruto (Cuartero y Fernández-Muñoz, 1999; Sonneveld, 2000), debido al desarrollo de un menor número de frutos y de menor tamaño (Alarcón *et al.*, 1994) o a la disminución del número de flores presentes, como observó Magán *et al.* (2003) sobre un cultivo de tomate.

El desarrollo de plantas en condiciones salinas afecta a la difusión de CO_2 en las hojas, principalmente por la reducción de la conductancia estomática y del mesófilo (Flexas *et al.*, 2004). Estudios como el de Heuer y Plaut (1982), ponen de manifiesto un descenso gradual de la tasa fotosintética bajo condiciones salinas y un aumento en la demanda de energía y fotoasimilados por parte de las plantas desarrolladas bajo salinidad. Es por ello que el mayor potencial de crecimiento de las plantas cultivadas con un alto CO_2 podría contrarrestar en parte la disminución en el crecimiento cuando se compara con plantas desarrolladas en condiciones salinas sin aporte de CO_2 .

Son numerosos los estudios llevados a cabo en condiciones de enriquecimiento carbónico que han puesto de manifiesto la posibilidad de reducir los daños celulares a nivel estructural de plantas expuestas a condiciones salinas (Pérez-López *et al.*, 2013; Ratnakumar *et al.*, 2013). Elevadas concentraciones de CO_2 aumentan la tolerancia de las plantas a la salinidad principalmente por el incremento en la asimilación de carbono y el aumento de la síntesis y actividad de diferentes enzimas y proteínas que confieren a las plantas una mayor energía que puede ser usada para compensar los efectos tóxicos provocados por la salinidad (Geissler *et al.*, 2009). Pérez-López *et al.* (2009) observó como el aporte de elevado CO_2 protegió a la planta de cebada del estrés oxidativo

provocado por la salinidad, sin embargo, la magnitud de este efecto positivo dependió de la variedad considerada.

Se ha evaluado el aumento de la tolerancia a la salinidad por el enriquecimiento carbónico, principalmente en invernaderos de vidrio (Li *et al.*, 1999). Sin embargo, se han realizado pocos estudios sobre cómo se puede atenuar el estrés salino a altas concentraciones de CO₂ en condiciones mediterráneas, a pesar de que el enriquecimiento carbónico en esta área ha mostrado mejoras en los rendimientos de los cultivos a nivel de producción y en la eficiencia del uso del agua (Sánchez-Guerrero *et al.*, 2005; Sánchez-Guerrero *et al.*, 2009; Alonso *et al.*, 2012; Lorenzo *et al.*, 2013). Recientemente se ha demostrado la mitigación de los efectos negativos de la salinidad sobre la productividad en un cultivo de tomate híbrido RAF, sin poner en compromiso la calidad de fruto, en invernadero mediterráneo (Sánchez-González *et al.*, 2016).

1.5. Enriquecimiento carbónico y aclimatación fotosintética.

Aunque la exposición a corto plazo de plantas C3 a una elevada concentración de CO₂ conduce a incrementos de la tasa de fotosíntesis (Cure y Acock, 1986), a largo plazo, generalmente reduce la capacidad fotosintética por unidad de área foliar (Moore *et al.*, 1999), de manera que pueden tener menores tasas de fotosíntesis a una concentración de CO₂ determinada que aquellas plantas cultivadas a menor concentración. En 1980, Farquhar *et al.* obtuvieron un incremento en la fotosíntesis del 37% aproximadamente en cultivos expuestos durante periodos cortos de tiempo a elevadas concentraciones de CO₂ (de 350 ppm a 550 ppm a 25°C); posteriormente, la tasa fotosintética se veía reducida en dichos cultivos en comparación con plantas que crecían en condiciones ambientales de CO₂. En 1983, Nilsen *et al.* observaron una mayor fotosíntesis neta en plantas de tomate cultivadas a 330 μmol CO₂ mol⁻¹ cuando se realizaban medidas a 1000 μmol CO₂ mol⁻¹ frente a plantas cultivadas durante todo el experimento a 1000 μmol CO₂ mol⁻¹.

Este proceso se conoce como aclimatación fotosintética a elevada concentración de CO₂ y está descrita en numerosas especies vegetales (Thomas & Strain, 1991; Hogan *et al.* 1996) entre las que se encuentran hortícolas como tomate (Yelle *et al.* 1989; Nederhoff, 1994); pepino (Ito, 1978; Peet *et al.*, 1986) y judía (Socias *et al.*, 1993).

La aclimatación a largo plazo, viene precedida por una serie de cambios bioquímicos, fisiológicos y hasta estructurales que terminan por reducir la capacidad fotosintética de la hoja, principalmente por una disminución de la capacidad de carboxilación (Stitt, 1991) y la disminución de la actividad de la Rubisco, hecho que ha sido observado en numerosas especies (Drake *et al.* 1997), incluyendo las solanáceas como el tomate (Van Oosten *et al.*, 1994).

Se han propuesto diferentes mecanismos que intervienen en este proceso de aclimatación fotosintética tras un período prolongado de exposición a elevadas concentraciones de CO₂ (Cruz, *et al.*, 2014):

- Limitación en la demanda (sumidero) de carbohidratos. La incapacidad de las plantas para utilizar la mayor cantidad de carbohidratos sintetizados bajo condiciones de

enriquecimiento carbónico, provoca un mecanismo de inhibición “feedback” que resulta en una reducción en la síntesis y actividad de la enzima Rubisco limitando la asimilación de CO₂ (Bowes, 1996; Stitt, 1991; Vu, 2005). De acuerdo con esta hipótesis, las plantas bajo enriquecimiento de CO₂ inicialmente asimilan más dióxido de carbono en forma de carbohidratos de lo que pueden incorporar en los tejidos en crecimiento. Por este motivo, se produce una disminución en la asimilación de dióxido de carbono mediante una disminución de los niveles de Rubisco (Long *et al.*, 2004). Este cambio, puede resultar de la disminución general en proteínas y en las concentraciones de nitrógeno (Ainsworth & Long, 2005; Makino & Mae, 1999). Su incidencia puede relacionarse con un desequilibrio en la relación fuente/sumidero de asimilados (Lawlor, 1995) que supone la incapacidad de las plantas para el uso completo de los asimilados extras producidos.

- Limitación progresiva del nitrógeno. La reducción en la concentración de nitrógeno producido en las hojas cuando su absorción por las raíces no consigue abastecer las necesidades de la planta para mantener el ritmo del elevado crecimiento (Reich *et al.*, 2006; Sage *et al.*, 1989; Hungate *et al.*, 2003). Es por ello que estrategias como la fertilización foliar nitrogenada adquieran una mayor relevancia y efectividad.
- Inhibición de la fotorrespiración. Estudios recientes han puesto de manifiesto la relación entre la fotorrespiración y la asimilación de nitrato en compuestos de nitrógeno orgánico. Por lo cual, cualquier condición que inhiba la fotorrespiración (elevada concentración de dióxido de carbono o bajas concentraciones de oxígeno) también inhibirá la asimilación de nitrato (Bloom *et al.*, 2010).

Los diferentes mecanismos que se ven envueltos en la respuesta de las plantas a la concentración atmosférica de CO₂ varían dependiendo de la especie, del tipo de planta y de las condiciones medioambientales, por lo que existen plantas que no muestran aclimatación fotosintética a elevadas concentraciones de CO₂, como por ejemplo algunas especies de árboles (Sholtis *et al.*, 2004) o algunos tubérculos como la patata (Fernández *et al.*, 2002). En relación con el cultivo de hortalizas en invernadero, un mayor conocimiento de estos mecanismos puede proporcionar herramientas para mejorar los resultados productivos de la aplicación del enriquecimiento carbónico.

1.5.1. Los carbohidratos y la aclimatación fotosintética. Relación fuente/sumidero

Los hidratos de carbono son los principales productos de la fotosíntesis (fotoasimilados) y se clasifican generalmente en estructurales y no estructurales. Estos últimos se componen principalmente de azúcares solubles (fundamentalmente glucosa, sacarosa y fructosa) y almidón, que son utilizados en los procesos metabólicos de fotosíntesis, respiración y producción. El almidón es utilizado para el almacenamiento energético a relativamente largo plazo. Los azúcares juegan un papel muy importante como mensajeros primarios en multitud de procesos metabólicos relacionados con el desarrollo y crecimiento de la planta (Taiz & Zeiger, 1991).

La mayor actividad fotosintética en condiciones de alta concentración de CO₂ en la atmósfera, conlleva una serie de ajustes fisiológicos en las plantas que favorecen, entre otros procesos, un

incremento en la producción de carbohidratos y su metabolismo (Moore *et al.*, 1999). Algunos autores cuantifican dichos aumentos entorno al 52% en cuanto a azúcares solubles y del 160% en cuanto al contenido de almidón presente en hojas (Long & Drake, 1992). El aumento del contenido de carbohidratos en las hojas influye en el control de la expresión de genes relacionados con la fotosíntesis y con otros procesos fisiológicos de las plantas (Koch, 1996), llegando a observarse una inhibición de los mismos (Vaughn *et al.*, 2002; Rook and Bevan, 2003). Diferentes trabajos en plantas expuestas a elevadas concentraciones de CO₂ en las que se detectó una reducción en la actividad fotosintética, han puesto de manifiesto una mayor concentración de almidón (Pritchard *et al.*, 1997) y de azúcares solubles en las hojas (Long *et al.*, 2004) en comparación con los contenidos observados en plantas desarrolladas en condiciones ambientales.

La relación entre la disminución en la transcripción de genes relacionados con la fotosíntesis y el incremento en los niveles de hexosas, mediante una ruta de detección de azúcares (Stitt, 1991; Moore *et al.*, 1998) la destrucción de los cloroplastos por la acumulación de almidón en forma de cristales de gran tamaño (Stitt, 1991) o la propia limitación en la conversión del carbono fijado en de la ratio por el cual el carbón fijado es convertido en almidón y azúcares (Stitt, 1991; Micallef *et al.*, 1998) son algunas de las teorías que intentan explicar este proceso de aclimatación.

Diferentes estudios han puesto de manifiesto como la exposición a elevadas concentraciones de CO₂ produce un aumento en los niveles de carbohidratos presentes en las hojas, como resultado de la incapacidad para su uso. La inhibición de la fotosíntesis no se debe a un aumento en el contenido de carbohidratos presentes, sino que está asociada con el metabolismo de las hexosas, probablemente derivadas de la hidrólisis de la sacarosa (Moore *et al.*, 1998). Esto provoca una serie de modificaciones que derivan en la represión de la expresión de numerosos genes involucrados en la fotosíntesis, así como la disminución de los niveles presentes de Rubisco y de su actividad (Moore *et al.*; 1998; Moore *et al.* 1999; Rolland *et al.*, 2002; Long *et al.* 2004). Van Oosten & Besford (1995) observaron una reducción en la expresión de los genes relacionados con la fotosíntesis en sus experimentos llevados a cabo sobre un cultivo de tomate expuesto a diferentes concentraciones de CO₂ durante periodos largos de tiempo. En estos experimentos pudieron comprobar como dicha reducción llevaba asociado el aumento en la concentración de azúcares presentes en las hojas.

Pero no siempre se observa relación entre el incremento en la concentración de carbohidratos y la aclimatación fotosintética, como es el caso del estudio de Ludewig *et al.* (1998) sobre cultivo de patata, lo que indica que puede estar relacionada con otros factores, como la deficiencia en alguno de los nutrientes disponibles por las plantas.

El contenido de azúcares no estructurales en las hojas y su composición (ratio glucosa/almidón) refleja el balance entre fuentes y sumideros de carbono en la planta e indican estrategias adaptativas de las plantas cuando se enfrentan a cambios ambientales (Li *et al.*, 2016). Se ha observado como la capacidad fotosintética puede llegar a restablecerse y los niveles de almidón presentes en las hojas disminuir transcurridos algunos días tras pasar de una concentración de CO₂ elevada hasta concentraciones ambientales, lo que sugiere que la respuesta

provocada a períodos de larga exposición puede depender de la relación fuente/sumidero (Sasek et al., 1985). Esta relación hace referencia al suministro de fotoasimilados respecto a su demanda. La potencia de la fuente va a depender de factores, como los niveles de luz, la concentración de CO₂ y la densidad de plantación, mientras que el sumidero se va a ver influenciado por la temperatura, el número de frutos y su posición en la planta (Marcelis et al., 2004).

La respuesta de las plantas al enriquecimiento carbónico está ligada en gran medida a su capacidad para poder desarrollar nuevos sumideros, como son nuevas estructuras vegetativas y/o reproductivas, incrementar la tasa de respiración o aumentar los sumideros existentes (Ceulemans, 1997; Aranjuelo et al., 2009), con una mayor capacidad de almacenamiento o tasa de crecimiento (Lewis et al., 2004).

La relación existente entre la demanda de fotoasimilados por parte de los sumideros y la actividad fotosintética ha sido documentada en numerosas especies vegetales. Arp (1991) observó un aumento en el desarrollo y formación de nuevos sumideros en plantas desarrolladas bajo condiciones de enriquecimiento carbónico con el fin de consumir los fotoasimilados extras procedentes de la estimulación de la fotosíntesis, aunque posteriormente estos se destinaron al almacenamiento y no al desarrollo de nuevos órganos. Los trabajos realizados por Thomas y Strain (1991) mostraron una reducción a largo plazo en la capacidad fotosintética a concentraciones elevadas de CO₂ de las plantas que no fueron capaces de incrementar la potencia de sumidero. Mientras exista una limitación en el desarrollo de los sumideros, la tasa fotosintética no se puede mantener a sus niveles máximos bajo las condiciones de enriquecimiento carbónico (Sun et al., 2009). De hecho, no se ha observado reducción de la actividad fotosintética en cultivos de tomate desarrollados bajo condiciones de elevado CO₂ con un número elevado de frutos en desarrollo capaces de consumir los asimilados extras generados (Qiang et al., 2012).

Por tanto, considerando la relación fuente/sumidero, aquellas plantas desarrolladas bajo condiciones de enriquecimiento carbónico que tengan limitaciones en la potencia de sumidero, pueden presentar de manera más acusada el fenómeno de aclimatación fotosintética, en comparación con plantas que presenten una mayor potencia de sumidero (Arp 1991; Ainsworth et al., 2004). Es el caso de aquellas especies que presentan órganos de almacenamiento subterráneos, como la patata (Sage et al., 1989), el rábano (Usuda, 2006) y plantas bulbosas (Gutjahr & Lapointe, 2008); o especies con etapas en su desarrollo de elevada demanda por parte de sus sumideros, por ejemplo, en etapas reproductivas (Heuvelink, 1995; Davey et al, 2006).

En general, son numerosas las especies vegetales que presentan condicionado su crecimiento por el tipo de nutrición nitrogenada aportada (Oaks, 1994), por tanto, el efecto que puede tener dicha nutrición sobre la aclimatación fotosintética a alto CO₂ va a depender en gran medida del balance entre el aporte y la demanda de N durante el período de crecimiento y el efecto de este sobre la distribución de la biomasa y la relación fuente/sumidero de carbono (Jifon & Wolfe, 2002). Por lo que existe una interacción entre el aporte de nitrógeno y la respuesta de las plantas a elevadas concentraciones de CO₂ (Stitt & Krapp, 1999). De hecho, algunos trabajos han puesto de manifiesto que no existe tal relación entre el aumento del contenido de carbohidratos en la

hoja y la aclimatación cuando la disponibilidad de nitrógeno es abundante (Geiger et al., 1999), lo que ha llevado a diferentes autores como Sicher & Bunce (1997) o Nakano et al. (1997) a concluir que la pérdida de estimulación fotosintética en plantas expuestas a elevadas concentraciones de CO₂ se debe a una reducción del contenido de nitrógeno y de proteínas presentes en las hojas y no a la acumulación de carbohidratos.

1.5.2. El papel del nitrógeno en el proceso de aclimatación fotosintética a elevado CO₂.

El carbono y el nitrógeno son considerados principales elementos que forman parte de los componentes estructurales de las plantas, representando el 45% y 5% de su materia seca, respectivamente (Marschner, 2012). El nitrógeno es el nutriente más limitante para el crecimiento de las plantas, es por ello que se suele emplear como práctica habitual el aporte de fertilizantes inorgánicos como nitrato (NO₃⁻) y amonio (NH₄⁺) en los suelos agrícolas (Britto et al., 2002).

El NO₃⁻ es la principal fuente de N para la mayoría de las plantas y está involucrado en la mayoría de las funciones de la planta, desde el metabolismo hasta la distribución de los recursos, así como el crecimiento y desarrollo de las mismas (Stitt et al., 2002).

Bajo condiciones de enriquecimiento carbónico se han observado modificaciones en la composición química de las plantas (Poorter et al., 1997). En el caso del nitrógeno, su concentración en los tejidos vegetales decrece en comparación con plantas desarrolladas en condiciones ambientales (Conroy & Hocking, 1993; Stitt & Krapp, 1999), llegando a registrarse descensos medios de hasta un 18% en el contenido de este mineral (Poorter et al., 1997); así como a una disminución en la absorción de nitrógeno desde el suelo (Polley et al., 1999).

En la zona del litoral almeriense, se han observado reducciones del contenido de nitrógeno presente en los tejidos de tomate desarrollado bajo condiciones de enriquecimiento carbónico (Sánchez-González et al., 2014.) Tras analizar numerosos estudios, Taub y Wang (2008) establecen estas reducciones entre valores del 10-15% aproximadamente, siendo numerosas las teorías que explican los mecanismos fisiológicos responsables de la reducción en la concentración de nitrógeno y el desarrollo en condiciones de elevado CO₂.

Algunas de estas teorías tratan de explicar esta reducción a partir de diferentes procesos: un mayor crecimiento y desarrollo del cultivo (Bernacchi et al., 2007), una limitación de los sumideros debido a un suministro finito de N (Rogers et al., 1996), la restricción en la absorción de N debido a una menor transpiración (McDonald et al., 2002), una reasignación del N disponible lejos de las hojas (Nakano et al., 1997), la inhibición en la asimilación del nitrato (Bloom et al., 2002, 2010, 2014) o la dilución del mismo por la acumulación de carbohidratos no estructurales (Gifford et al., 2000).

Al ser el nitrógeno uno de los componentes principales de la Rubisco y otras enzimas y estructuras relacionadas con la fotosíntesis, su papel es primordial a la hora de regular la respuesta de la actividad fotosintética en cultivos desarrollados a elevadas concentraciones de CO₂ (Lewis et al., 2004), observándose como la aclimatación fotosintética y el descenso de la actividad

de la Rubisco en condiciones de elevado CO₂ es más acusado en plantas desarrolladas con limitación en la disponibilidad de nitrógeno.

Son numerosos los estudios que relacionan el proceso de aclimatación fotosintética con una disminución en el crecimiento de las plantas derivado de la limitación en la absorción de N (Long *et al.*, 2004; Ainsworth *et al.*, 2007), asociado al papel que juega la fuente de nitrógeno en el metabolismo de las plantas sometidas a elevadas concentraciones de CO₂. Una reducción en la concentración de nitrógeno presente en las hojas en condiciones de enriquecimiento carbónico puede estar detrás de la acumulación de carbohidratos en las mismas, ya que la ausencia de este mineral puede provocar la inmovilización de recursos en los órganos fuente (Ellsworth *et al.*, 2004). Geiger *et al.* (1999) compararon el desarrollo de un cultivo de tabaco en condiciones de enriquecimiento carbónico con diferente disponibilidad de nitrógeno y observaron que en el cultivo donde la disponibilidad de nitrógeno fue alta, no aparecía el fenómeno de aclimatación. Sun *et al.* (2002) indican que cuando la disponibilidad de nitrógeno es adecuada, la capacidad para consumir los carbohidratos generados en el proceso de fotosíntesis aumenta; por consiguiente, la magnitud del proceso de aclimatación fotosintética decrece en función de la disponibilidad de nitrógeno (Cao *et al.*, 2007).

En este sentido, el efecto del enriquecimiento carbónico sobre los cultivos es diferente dependiendo de la fuente de nitrógeno empleada, ya sea como nitrato o como combinación de nitrato y amonio en diferentes proporciones. Li *et al.* (2007) observaron en tomate que el efecto del enriquecimiento carbónico depende de la ratio NH₄⁺/NO₃⁻ en el aporte nitrogenado, en cuanto a que un mayor contenido de nitrato aumentó la producción de biomasa mientras que mayores contenidos de amonio no estimularon ni la fotosíntesis ni el crecimiento. Sin embargo, algunos resultados experimentales indican que la fertilización a base de amonio, comparada con la fertilización a base de nitrato, aumenta la capacidad fotosintética y, por ende, retrasa la aparición del fenómeno de aclimatación (Bloom *et al.* 2002, 2010; Vega-Mas *et al.*, 2015).

La disponibilidad de nitrógeno influye en el mantenimiento de la capacidad fotosintética y el retraso en el proceso de aclimatación, ya que la reducción de la concentración de nitrógeno puede deberse a que la absorción y la asimilación del N no aumenta en la misma proporción que la fotosíntesis y el crecimiento en condiciones de elevado CO₂, o podría ser consecuencia de la dilución del nitrógeno por incrementos de la biomasa debidos a las elevadas concentraciones de dióxido de carbono (Stitt & Krapp, 1999).

1.5.3. Inhibición de la fotorrespiración en condiciones de enriquecimiento carbónico.

La actividad del enzima Rubisco juega un papel fundamental en los procesos de asimilación de CO₂ y fotorrespiración. Sharkey (1988) observó en condiciones ambientales, con concentraciones de CO₂ aproximadas de 360 μmol mol⁻¹ y de O₂ en torno a 209,7 μmol mol⁻¹, como la fotorrespiración redujo la asimilación de CO₂ un 25%. En cultivos con enriquecimiento carbónico, por el contrario, se han observado reducciones en la actividad oxigenasa de la Rubisco debidas al aumento de la actividad carboxilasa, lo que deriva en una disminución de la fotorrespiración (Long

et al., 2004; Stitt, 1991). Este efecto que en principio supone un aumento en la eficiencia de asimilación fotosintética de CO_2 , puede estar relacionado con el proceso de aclimatación fotosintética a largo plazo, ya que la fotorrespiración juega un papel muy importante en la asimilación de N, llegando a observarse reducciones del contenido de nitrógeno en hoja y proteínas en estas circunstancias (Ainsworth & Long, 2005; Taub *et al.*, 2008).

El trabajo realizado por Bloom *et al.* (2010) puso de manifiesto la relación existente entre la asimilación de NO_3^- en compuestos de nitrógeno orgánico y la fotorrespiración en algunas plantas C3, por lo que, si la fotorrespiración se ve inhibida, la asimilación de NO_3^- se verá reducida también, lo que lleva a la reducción de la capacidad fotosintética. Por tanto, en condiciones de enriquecimiento carbónico, aquellas plantas C3 que dependen del nitrato como fuente de nitrógeno pueden llegar a sufrir deficiencias severas en el contenido de compuestos orgánicos nitrogenados, como es el caso de las proteínas (Taub *et al.*, 2008), lo que implica una reducción importante del rendimiento de las plantas, como se vio en el apartado anterior.

De acuerdo con Bloom *et al.* (2002), el uso de NH_4^+ como parte de la fuente de nitrógeno en la solución nutritiva, en condiciones de enriquecimiento carbónico, podría jugar un papel importante en el mantenimiento de la fotosíntesis puesto que su asimilación no se ve afectada por la inhibición de la fotorrespiración, En este sentido, Piñero *et al.* (2014) observaron en un experimento en cámara de crecimiento, que la estimulación fotosintética por elevada concentración de CO_2 en plantas jóvenes de pimiento fue mayor cuando en la fertilización nitrogenada se combinó el uso de NO_3^- con un nivel bajo de NH_4^+ respecto al uso exclusivo de NO_3^- .



Capítulo II

Justificación, hipótesis y objetivos

2. Justificación, hipótesis y objetivos.

2.1. Justificación.

El modelo agrícola del litoral mediterráneo andaluz, favorecido por las condiciones climáticas de la zona, se caracteriza por la obtención de rendimientos de cultivo elevados mediante el uso de una tecnología de bajo coste, sin apenas control activo del clima, lo que le ha permitido hasta el momento seguir siendo un sector competitivo en el mercado internacional de hortalizas. La creciente aparición en el sector de países que cuentan con una climatología similar y que están llevando a cabo una apuesta fuerte por la tecnificación, está obligando a aumentar la calidad de las producciones del levante español, así como ampliar los ciclos de producción. Estas circunstancias conducen a la necesidad de aumentar el grado de control de los sistemas productivos, lo que implica la modernización y tecnificación de éstos, adaptando las estructuras de cultivo, instalaciones y equipos siguiendo criterios de sostenibilidad y respeto al medio ambiente.

Si a esto le sumamos la necesidad de abordar temas tan importantes como la escasez de agua y el aumento progresivo de la salinidad de los recursos hídricos en la cuenca mediterránea, queda más que justificado la incorporación de técnicas que hagan más eficiente el desarrollo de los cultivos, capaces de optimizar el uso de agua y de fertilizantes y enfocar el modelo productivo desde el prisma de la sostenibilidad.

El enriquecimiento carbónico es una técnica generalizada en la producción hortícola bajo invernadero de los países del norte de Europa que, adaptada a las condiciones del clima mediterráneo y en concreto diseñando una estrategia de aplicación vinculada a la ventilación, permite abrir nuevas oportunidades en la optimización de la producción agraria y su aumento de competitividad frente a países extracomunitarios. En este sentido apuntan resultados de estudios realizados en invernaderos del área mediterránea que confirman el interés de la técnica como herramienta para aumentar los rendimientos productivos entre un 15 y 20% para cultivos de judía, pepino, pimiento y tomate (Sánchez-Guerrero, 1999; Sánchez-Guerrero *et al.*, 2005; Alonso *et al.*, 2012, Sánchez-González *et al.*, 2014), además de inducir una mejora en la eficiencia en el uso del agua (Sánchez-Guerrero *et al.*, 1998) entre otras ventajas.

A pesar de que la estrategia de enriquecimiento carbónico recomendada en estas condiciones, con alto requerimiento de ventilación de los invernaderos, generalmente implica periodos cortos de exposición del cultivo a elevada concentración de CO₂, hay evidencias experimentales de que tras un período largo de aplicación se produce una pérdida en la eficiencia del uso del CO₂, en términos de respuesta productiva, que podría relacionarse con el proceso conocido como aclimatación fotosintética a concentraciones altas de CO₂ (Sánchez-Guerrero *et al.*, 2005).

La posibilidad de confirmar la presencia del proceso de aclimatación fotosintética e identificar las distintas hipótesis que lo regulan podría permitir diseñar medidas para aminorarlo y en

consecuencia aportar soluciones prácticas para mejorar la eficiencia del aporte de CO₂ en la atmósfera de los invernaderos, en relación a la productividad de los cultivos.

Por otra parte, el cultivo de pimiento es uno de los más importantes en España, siendo éste el país con mayor producción de la Unión Europea. Almería es una de las principales provincias a nivel productivo, aumentando la superficie de cultivo en las últimas décadas gracias a su cultivo en invernadero, llegando a alcanzar una superficie productiva invernada superior a las 10.000 hectáreas en campañas pasadas y representando el 82% de la superficie andaluza de pimiento (CAPDER, 2018).

2.2. Hipótesis y objetivos.

La presente memoria de tesis pretende profundizar en el conocimiento de la respuesta fisiológica y agronómica del cultivo de pimiento frente al enriquecimiento carbónico en los invernaderos de clima mediterráneo, estableciendo como objetivo general la mejora de la eficiencia de la aplicación de CO₂ mediante el estudio del proceso de aclimatación fotosintética a elevada concentración de dióxido de carbono, con el fin de mitigar dicho proceso, así como la mejora del cultivo en combinación con la salinidad.

Por ello, se plantean las siguientes hipótesis:

- Hipótesis 1: El proceso de aclimatación fotosintética a largo plazo en cultivos bajo enriquecimiento carbónico variable en condiciones mediterráneas reduce la eficiencia de esta técnica.
- Hipótesis 2: La fuente de nitrógeno empleada en el desarrollo de un cultivo de pimiento bajo condiciones de elevado CO₂ juega un papel importante sobre el proceso de aclimatación fotosintética.
- Hipótesis 3: El manejo de la relación fuente/sumidero permite mitigar la aclimatación fotosintética.
- Hipótesis 4: El cese anticipado del aporte de CO₂ en invernadero mediterráneo en base al fenómeno de aclimatación permite una mayor eficiencia de la aplicación del enriquecimiento carbónico en condiciones mediterráneas.

Los objetivos específicos planteados son los siguientes:

- Objetivo 1: Estudiar la aclimatación fotosintética frente al enriquecimiento carbónico en un cultivo de pimiento en invernadero mediterráneo: influencia de la fuente de nitrógeno y la salinidad.
- Objetivo 2: Evaluar la variación en la fuente de nitrógeno aportado en la solución nutritiva como estrategia para mejorar el rendimiento de un cultivo de pimiento en condiciones de enriquecimiento carbónico.
- Objetivo 3: Examinar posibles estrategias para mejorar la eficiencia del enriquecimiento carbónico en invernadero mediterráneo: a) reducción del aporte de CO₂ por cese

anticipado en relación a la aclimatación y b) adecuación de la relación fuente/sumidero mediante el manejo de poda de frutos.



Capítulo III
Material y métodos

3. Material y métodos.

3.1. Marco de la investigación.

Los diferentes experimentos desarrollados en la presente memoria de tesis se encuentran incluidos dentro del proyecto RTA2011-000260-CO2-02 titulado “Mejora de la eficiencia del enriquecimiento carbónico en condiciones mediterráneas. Evaluación agronómica y fisiológica de estrategias de mitigación de la aclimatación frente a la elevada concentración de CO₂” y han sido desarrollados en el Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA), situado en el término municipal de La Mojonera (Almería).

El trabajo engloba el estudio del proceso de aclimatación fotosintética en un cultivo de pimiento tipo “california” en invernadero mediterráneo frente al enriquecimiento de CO₂ en el aire aplicado según la estrategia vinculada a la ventilación descrita por Sánchez-Guerrero et al. (2005), así como la evaluación de la respuesta del cultivo frente a la aplicación de algunas estrategias con el fin de mitigar dicho proceso. Para ello, se llevaron a cabo 3 experimentos durante las campañas 2013-14 (Experimento I) y 2014-15 (Experimentos II y III).

En el experimento I se comparó la respuesta de un cultivo desarrollado en un invernadero con enriquecimiento carbónico (C1), aplicado siguiendo la estrategia vinculada a la ventilación, frente a un cultivo desarrollado en un invernadero sin aporte de CO₂ considerado como referencia (C0). Se determinó el momento en el que la estimulación de la fotosíntesis frente al aumento de la concentración de CO₂ era menor a la esperada en el cultivo enriquecido. Así mismo, se estudió la respuesta del cultivo al uso de dos fuentes de nitrógeno en la solución nutritiva y dos niveles de salinidad del agua de riego y su relación con el proceso de aclimatación fotosintética.

Los experimentos II y III se realizaron para evaluar posibles estrategias que pudieran mejorar los resultados de la aplicación del enriquecimiento carbónico en condiciones mediterráneas. En el experimento II se estudió el comportamiento del cultivo en un invernadero con enriquecimiento carbónico parcial (P), al cesar su aplicación cuando se llegó a una fase en la que los resultados previos indicaban la presencia de aclimatación, en comparación con el desarrollado en otro invernadero de referencia (R), con enriquecimiento carbónico durante el ciclo completo. En el experimento III se evaluó la respuesta del cultivo con enriquecimiento carbónico durante el ciclo completo frente a la aplicación de dos tipos de poda a nivel de fruto, permitiendo el desarrollo de 1 (1F) o 2 (2F) frutos por nudo (Figura 4).

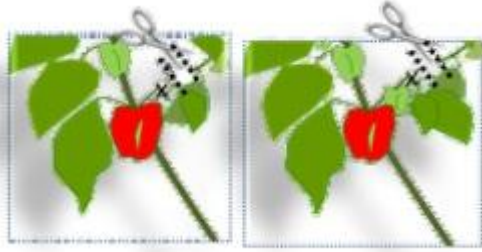


Figura 4. Esquema de los dos tipos de podas a nivel de fruto, 1F (izq.) y 2F (dcha.) evaluadas en el ciclo 2014-15.

3.2. Instalaciones y equipamientos.

Los experimentos se llevaron a cabo en dos invernaderos idénticos de tipo multitúnel de 720 m² cada uno (Figura 5), formados por tres túneles, con orientación Este-Oeste, y cubierta de polietileno, dotados de ventilación automática lateral y cenital (equivalente al 19% de la superficie de suelo invernado). Las ventanas estaban cubiertas con protección anti-insectos (malla de 20x10 hilos cm⁻² y porosidad 38%). Los invernaderos contaban con sistema de sombreado móvil exterior (malla aluminizada OLS-ABRI con una reducción de la transmisión de radiación del 35%) y un sistema de calefacción de agua caliente por tuberías radiantes de baja temperatura.



Figura 5. Vista exterior de los invernaderos multitúnel utilizados para el desarrollo de los cultivos.

Cada invernadero disponía de un sistema para el enriquecimiento carbónico del aire compuesto por: bloques de 8 botellas con CO₂ puro en estado líquido a presión, equipo regulador de presión y calentador (para evitar problemas de obstrucción de la salida del gas por congelación) con dispositivo para el control manual del flujo de salida del gas, electroválvula y red de distribución del gas por tuberías de polietileno, con emisores situados en la base de las plantas (Figura 6).



Figura 6. (A) Instalación del sistema de aporte de CO₂ y (B) detalle del descompresor y equipo calentador empleado en el sistema y (C) detalle de los emisores de CO₂ empleados junto al fertirriego.

La gestión del funcionamiento de estos sistemas de climatización se realizó mediante un controlador de clima (CDC; INTA), al que estaban conectados sensores de concentración de CO₂ (analizadores de gas por infrarrojo GMD-20, Vaisala) y de temperatura/humedad (sensores HMP45C, Campbell Sci.), localizados en el interior de los invernaderos en una posición central de la estructura y a 2 m de altura; una estación meteorológica exterior (Vantage pro, Davis) también estaba conectada al controlador de clima.

Las lecturas de temperatura, humedad relativa y concentración de CO₂ del aire de los invernaderos se registraron cada minuto en un ordenador conectado al controlador de clima. La radiación global se midió cada minuto en el exterior y en el interior de los invernaderos con piranómetros (SP1110; Sky Instruments) y se registró la media de estas medidas cada 5 minutos mediante un datalogger (CR3000, Campbell Sci.). Puntualmente se midió la concentración de CO₂ en el exterior mediante un analizador de gases por infrarrojo portátil (LCA-2, ADC). Mediante el ordenador de clima también se registró cada minuto la actuación de la electroválvula de aporte de CO₂ (ON/OFF). Este último registro se transformó en tiempo diario de actuación para calcular el gasto de CO₂ (GC, kg m⁻² d⁻¹), teniendo en cuenta el flujo de salida del gas establecido (se modificó entre 45 y 70 L minuto⁻¹), la densidad del gas (1,842 kg m⁻³) y la superficie del invernadero (m²). El gasto diario calculado se ajustó posteriormente considerando la duración de los bloques de CO₂.

Ambos invernaderos contaron con una instalación de riego para cultivo en sustrato en circuito abierto que permitía la aplicación de solución nutritiva a través de riego por goteo. Un emisor autocompensante de caudal nominal de 3 L h⁻¹ se localizó en cada contenedor. La gestión del riego y la fertilización se llevó a cabo mediante un controlador (CDN, INTA), que proporciona la dosificación de nutrientes y el ajuste automático de pH y conductividad eléctrica (CE) de la disolución nutritiva. El controlador disponía de un método de riego basado en la integral de radiación global, medida mediante un piranómetro (INTA) ubicado sobre el cultivo en el interior de los invernaderos y conectado al controlador. A lo largo del desarrollo de los cultivos, se cuantificó el volumen de solución nutritiva aportada. Se monitoreó la solución de drenaje recogida mediante dos bandejas colectoras por tratamiento, con 6 plantas cada una; tres veces por semana se midieron, a primera hora de la mañana, el volumen drenado y la CE mediante un equipo portátil (HI8733, Hanna Instruments, Germany). Se cuantificó el volumen de agua consumida mediante el balance del volumen aportado-lixiviado.

3.3. Sistema de cultivo y manejo.

Se trasplantaron plántulas de pimiento tipo California cv. Melchor (Zeraim Iberica S.A.), en contenedores de 27 litros de capacidad (2 plantas por contenedor) con sustrato de perlita tipo B-12 (diámetro de partícula entre 0,1-5 mm). Se distribuyeron en líneas de cultivo orientadas Norte-Sur, con una separación de plantas de 0,4 m en la línea y 2 m entre líneas, de manera que se obtuvo una densidad de 2,5 plantas m⁻² (Figura 7). En la tabla 2 se resumen los datos de los ciclos de cultivos.



Figura 7. Colocación de los contenedores con sustrato de perlita y trasplante de plántulas.

El cultivo se desarrolló aplicando la técnica de poda holandesa, manteniendo solo 2 tallos principales a partir de la primera ramificación dicotómica, que fueron tutorados verticalmente. Las flores fueron eliminadas para dejar un único órgano reproductivo por nudo en los experimentos I y II y para dejar uno o dos frutos por nudo, según tratamiento, en el experimento III (apartado 3.1.).

El control fitosanitario de los cultivos se llevó a cabo según la normativa específica para pimiento recogida en el Reglamento Específico de Producción Integrada de Cultivos Hortícolas Bajo Abrigo (ORDEN CAP de 10 de octubre de 2007) y sus modificaciones.

Tabla 2. Fechas de trasplante, fin de cultivo y período de duración (días) para cada uno de los ciclos desarrollados.

	FECHA DE TRASPLANTE	FECHA FIN DE CULTIVO	DURACIÓN
Ciclo 2013-14	19 de agosto de 2013	24 de febrero de 2014	189 días
Ciclo 2014-15	5 de agosto de 2014	16 de marzo de 2015	223 días

3.4. Manejo del clima y de la fertirrigación.

La ventilación de los invernaderos se activó por consignas de temperatura (>25-26°C) y humedad relativa (>75/80% día/noche respectivamente). Las ventanas laterales iniciaban su apertura cuando se superaba el 30% de apertura de las cenitales. Durante los primeros días de ambos cultivos se empleó la malla móvil de sombreado instalada en el exterior como método de refrigeración, siendo activada por consigna de radiación global exterior, que fue aumentando de forma progresiva desde 300 hasta 600 W m⁻² conforme al desarrollo del cultivo. Posteriormente, en el periodo frío, la malla fue utilizada durante la noche como pantalla térmica. El sistema de calefacción se programó para actuar cuando la temperatura del aire fuera inferior a 12º C. En el

ciclo 2014-15, un fallo en el sistema impidió su aplicación durante buena parte de la época invernal (Tabla 3).

El enriquecimiento carbónico del aire del invernadero se inició a los 14 y 15 días después de llevar a cabo el trasplante en los invernaderos, en el primer y segundo ciclo de cultivo respectivamente. El cese anticipado a evaluar en el experimento II se realizó a los 132 días desde el inicio de la aplicación (dC). El período diario de aplicación daba comienzo 15 minutos antes de la salida del sol, para alcanzar la concentración deseada al comienzo de la actividad fotosintética, y finalizaba 75 minutos antes de la puesta de sol para un mejor aprovechamiento del CO₂ aplicado antes del cese diario de la actividad fotosintética. La estrategia seguida consistió en el aporte variable del gas vinculado a la ventilación, de tal manera que:

Cuando las ventanas cenitales estaban cerradas o su apertura era inferior al 30% de su capacidad, la aplicación tenía como objetivo mantener una concentración de 800 μmol mol⁻¹ de CO₂.

Cuando la apertura de las ventanas cenitales era superior al 30% de su capacidad la consigna era mantener una concentración similar a la ambiental (380 μmol mol⁻¹).

Tabla 3. Períodos de actuación de la malla móvil exterior y uso de la caldera durante el transcurso de cada uno de los ciclos de cultivo.

		Actuación	Fecha inicio	Fecha final
Ciclo2013-14	Malla móvil exterior	Diurna	19 de agosto de 2013	30 de septiembre de 2013
			21 de febrero de 2014	24 de febrero de 2014
		Nocturna	15 de octubre de 2013	24 de febrero de 2014
	Sistema de calefacción		25 de noviembre de 2013	24 de febrero de 2014
Ciclo2014-15	Malla móvil exterior	Diurna	5 de agosto de 2014	14 de octubre de 2014
			20 de febrero de 2015	16 de marzo de 2015
		Nocturna	6 de octubre de 2014	16 de marzo de 2015
	Sistema de calefacción		9 de diciembre de 2014	26 de diciembre de 2014

En el ciclo 2013-14 se aplicaron, en los dos invernaderos, cuatro tratamientos de la solución nutritiva. Se usaron dos niveles de salinidad del agua para regar la mitad de las plantas, agregando 8 mM (CE-B: Conductividad eléctrica baja) o 25 mM (CE-A: Conductividad eléctrica alta) de NaCl. La mitad de las plantas en cada tratamiento de salinidad recibieron similar cantidad total de nitrógeno (N) pero utilizando dos fuentes distintas: solo NO₃⁻ (SN1) y combinando NO₃⁻ y NH₄⁺ (SN2). El amonio se incorporó en SN2 como NH₄NO₃. Con el objetivo de ajustar el aporte de nitrógeno a la demanda del cultivo (Sánchez-Guerrero et al., 2009), se establecieron dos fases:

En la fase inicial del cultivo el aporte de nitrógeno fue: 12 mM NO₃⁻ en el tratamiento SN1 y de 10 mM NO₃⁻ + 2 mM NH₄⁺ en el tratamiento SN2.

En la segunda fase, coincidiendo con el desarrollo generativo del cultivo, se redujo en 2 mM de NO₃⁻ los aportes de nutrientes siendo para SN1 10 mM NO₃⁻ y para SN2 8 mM NO₃⁻ + 2 mM NH₄⁺.

En el ciclo 2014-15 la fertirrigación fue la misma en todos los tratamientos, similar a la aplicada en el ciclo previo, en el tratamiento de baja CE y SN1.

Los períodos de aplicación de cada una de las fases en cada uno de los experimentos llevados a cabo se presentan en la tabla 4.

Tabla 4. Diseño experimental. Factores y niveles evaluados en el experimento I, II y III.

Experimento	Fase	Fecha de Inicio	Fecha Final
Ciclo de cultivo 2013-14	Fase 1	19 de agosto de 2013	30 de octubre de 2013
	Fase 2	31 de octubre de 2013	25 de febrero de 2014
Ciclo de cultivo 2014-15	Fase 1	5 de agosto de 2014	14 de octubre de 2014
	Fase 2	15 de octubre de 2014	30 de marzo de 2015

El control del aporte de la solución nutritiva se realizó automáticamente por consignas de radiación solar acumulada incidente sobre los cultivos que se modificaron desde 850 a 400 Wh m⁻² conforme el crecimiento del cultivo y ajustadas para obtener un drenaje próximo al 40% en los tratamientos de CE baja y al 50% en los de CE alta. El volumen medio de solución aportada en cada riego fue de 0,5 L por contenedor y la frecuencia de riego diaria osciló entre 1 y 5 riegos, dependiendo de las necesidades hídricas de la planta.

Durante el desarrollo de ambos cultivos se realizaron análisis cada 15 días de la solución nutritiva aportada, así como de las soluciones lixiviadas, y en base a los resultados obtenidos se realizaron ajustes en la composición química de la solución nutritiva, adecuándola a las exigencias del cultivo en los diferentes estadios fenológicos y al tratamiento de estudio.

3.5. Medidas de fotosíntesis neta.

Las medidas de intercambio gaseoso foliar se realizaron durante el experimento I transcurridos 31, 58, 135 y 155 días desde el inicio de la aplicación de CO₂ (dC); y en el experimento II a los 115 y 160 dC (17 días antes y 28 días después del cese anticipado del aporte de CO₂ respectivamente); mediante un equipo portátil (LI-6400; LI-COR Inc.), compuesto por dos IRGA y una cámara de hoja (cubeta de 2x3 cm) dotado con un accesorio para el control de la radiación mediante una fuente de luz LED roja/azul (LI-6400-02B, LI-COR Inc.), un sistema de modulación del flujo radiante y sensores de medida de la densidad de flujo de fotones fotosintéticos (PPFD) y un sistema inyector de CO₂ autorregulado (LI-6400-01, LI-COR Inc.) que permitió obtener una concentración estable de dióxido de carbono mediante el uso de botellas de CO₂ puro (Figura 8).

La tasa de fotosíntesis neta (*A*) y la concentración intercelular de CO₂ (*C*) se determinaron en seis hojas por tratamiento evaluado (una hoja por planta). Se eligieron hojas jóvenes totalmente expandidas, teniendo en cuenta que el grado de desarrollo del órgano reproductivo contiguo fuera similar en todas las repeticiones, con el fin de evitar diferencias en su influencia sobre la tasa fotosintética (González-Real et al., 2009). Las medidas se llevaron a cabo en días despejados en

torno al mediodía solar, iniciándose sobre las 10:00 hora solar y completándose en un periodo de aproximadamente 3 horas, fijando la misma condición de radiación a saturación foliar (densidad de flujo de fotones fotosintéticos de $1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).



Figura 8. Equipo portátil de intercambio gaseoso (LI-6400; LI-COR Inc.) y detalle de toma de medida.

En el experimento I, la fotosíntesis se midió a una concentración de CO_2 (C_a) de $800 \mu\text{mol mol}^{-1}$ en plantas cultivadas con enriquecimiento carbónico ($A_{C1\ 800}$) mientras que en aquellas cultivadas a concentración de CO_2 ambiental se midió a 800 y $380 \mu\text{mol mol}^{-1}$ ($A_{C0\ 800}$ y $A_{C0\ 380}$ respectivamente). A partir de estas medidas, con el fin de poder determinar cuándo se reducía la respuesta fotosintética al incremento de la concentración de CO_2 , se calculó el índice de aclimatación (IA) mediante la fórmula propuesta por Pierce et al. (2003):

$$IA = \frac{(A_{C1\ 800} - A_{C0\ 380})}{(A_{C0\ 800} - A_{C0\ 380})}$$

Donde la media de las plantas en C_0 se utilizó por cada una en C_1 . Los valores de IA inferiores a 1 indican una pérdida de la capacidad fotosintética.

En el experimento II y III todas las medidas se realizaron a la concentración de CO_2 de $800 \mu\text{mol mol}^{-1}$.

3.6. Medidas de bioproductividad.

A lo largo del desarrollo de los cultivos se determinó la biomasa aérea de las plantas y su distribución entre las fracciones vegetativa y generativa a los 42, 85, 133 y 175 dC en el ciclo 2013-14 y a los 17, 42, 85 y 188 dC en el ciclo 2014-15.

En cada determinación, se seleccionaron 6 plantas por tratamiento de zonas homogéneas en las líneas de cultivo. Cada planta se cortó a nivel de los cotiledones y en el laboratorio se procedió al separar de las diferentes fracciones aéreas: hoja, tallos (incluidos peciolos y flores) y fruto. Se pesaron en fresco y en seco, tras permanecer a 80°C hasta peso constante en una estufa de desecación con calentamiento por convección forzada, (Roberts et al., 1985) (Figura 9). Cuando el volumen de material vegetal fue muy grande (a partir del tercer muestreo), el peso seco de cada

una de las fracciones estudiadas se estimó a partir de submuestras representativas. Todo el material vegetal extraído de las plantas previamente a cada determinación (podas y frutos recolectados) fue muestreado para cuantificar su peso fresco y seco por planta e incorporarlos en la fracción correspondiente.



Figura 9. Fracciones de hoja y tallo preparadas para ser pesadas. Muestras situadas en estufa para secado y posterior obtención de peso seco.

El área foliar de cada planta se cuantificó mediante un medidor de superficie (LI-3100; LICOR Biosciences) y a partir de los valores obtenidos se calculó el índice de área foliar (LAI, $m^2 m^{-2}$), definido como la relación entre la superficie foliar de la planta y la superficie de suelo que ocupa; se determinó el área foliar específica (SLA, $m^2 g^{-1}$), como la relación entre la superficie foliar y su peso seco.

Durante el periodo de recolección de los cultivos (56 dC – 175 dC y 77 dC – 210 dC, para los ciclos 2013/14 y 2014/15 respectivamente) la producción de frutos se cuantificó en 6 repeticiones por tratamiento, compuestas por 12 plantas cada una. La recolección de los frutos se realizó cuando alcanzaron su estado de madurez comercial en rojo, excepto en la primera y última recolección que se recolectaron en verde los frutos comerciales presentes. Se cuantificó por separado la producción comercial y la no comercial, esta última fue básicamente afectada por necrosis apical de fruto (Blossom end rot en inglés, o sus siglas BER).

3.7. Determinación del contenido de carbohidratos no estructurales, nitrógeno y carbono en las hojas de muestreo fotosintético.

En el experimento I, inmediatamente después de las medidas de fotosíntesis realizadas a los 58 y 155 dC, las hojas muestreadas fueron cortadas y almacenadas a $-80^{\circ}C$ hasta que se liofilizaron (Lyoquest HT40, Azbil TELSTAR S.L.) y pulverizaron con molino de bolas (Tissulyser II, Qiagen), para la posterior determinación de su contenido de azúcares solubles totales (AST), almidón, nitrógeno y carbono.

Para la obtención del contenido de azúcares solubles totales (TSS) se incubaron 40 mg de tejido de hoja, previamente liofilizado y molido, disuelto en 5 ml de etanol al 60% durante 15 minutos a una temperatura constante de $40^{\circ}C$. Esta mezcla se centrifugó durante 5 minutos a

10414g a 20°C y los dos sobrenadantes se mezclaron. Posteriormente se añadieron 5 ml de cloroformo y se agitó la mezcla para después centrifugar a 937g durante 10 minutos a 20 °C. La capa incolora superior, (20% de etanol) se diluyó 4 veces con etanol puro para obtener un extracto al 80% de etanol en el que se midió el contenido en azúcares solubles según el procedimiento descrito por Buysse y Merckx (1993). El residuo obtenido en las extracciones con un 60% de etanol fue hidrolizado con ácido clorhídrico al 3% durante 3 horas a 100°C y los azúcares solubles obtenidos en este proceso fueron empleados para la determinación del contenido de almidón (Walker et al., 2008) para lo cual se utilizó un espectrofotómetro UV-VIS (Shimadzu UV-1800, Shimadzu).



Figura 10. Extracción de carbohidratos no estructurales y determinación de su contenido mediante espectrofotometría UV-VIS.

Las concentraciones de azúcares solubles y de almidón se expresaron en base a la materia seca (mg g^{-1}).

El porcentaje de nitrógeno y carbono presente en las hojas se obtuvo mediante el análisis de 1 g de las muestras liofilizadas del tratamiento no salino (CE-B) utilizando un analizador elemental CHNS (EA 1108 CHNSO; Fison Instruments).

3.8. Análisis del contenido mineral de la biomasa final.

Con el fin de evaluar la eficiencia de los tratamientos en el experimento I, se analizó en un laboratorio comercial el contenido de nitrógeno, potasio, calcio y magnesio de las diferentes fracciones: hoja, tallo y fruto, a partir de muestras de la materia seca de las plantas obtenidas en la última determinación de bioproduktividad, secada en estufa de ventilación forzada, en esta ocasión, a 65°C. A partir de los resultados obtenidos, se calculó la eficiencia medio ambiental (EMA), expresada en kg de nutriente absorbido por kg de nutriente aplicado, con el fin de conocer su distribución en la planta, así como la eficiencia productiva de los nutrientes (EP), mediante la relación entre los kg de fruto comercial obtenido y los kg de nutriente aplicados.

3.9. Cálculo de la eficiencia del enriquecimiento carbónico.

3.9.1. *Eficiencia respecto a la asimilación de CO_2 , EA.*

En los experimentos I y II se evaluó la eficiencia del enriquecimiento carbónico con respecto al CO_2 asimilado, EA, calculada como la relación (%) entre el incremento del contenido de C-

asimilado en la parte aérea del cultivo, debido al enriquecimiento carbónico, δA ($\text{g}_{\text{CO}_2} \text{m}^{-2} \text{d}^{-1}$), y la cantidad de CO_2 aportado en el invernadero, δGC ($\text{g}_{\text{CO}_2} \text{m}^{-2} \text{d}^{-1}$). En el experimento I se consideró el cultivo sometido al tratamiento convencional de fertirrigación (SN1 y CE-B), durante todo el ciclo. En el experimento II se consideró el periodo transcurrido tras el cese de la aplicación de CO_2 en uno de los invernaderos. En ambos experimentos se evaluó la eficiencia global y por periodos entre determinaciones de biomasa. δA se calculó a partir de la diferencia en la producción de la materia seca, durante los periodos considerados, entre los cultivos con y sin enriquecimiento carbónico que se transformó en CO_2 asimilado mediante los factores de conversión de 0,7 g de materia seca formada por g glucosa consumida y de 0,68 g de glucosa formada por g de CO_2 asimilado (Ehler y Karlsen, 1993).

3.9.2. Eficiencia respecto al rendimiento productivo (EP)

Para comparar las diferentes estrategias encaminadas a mejorar la eficiencia del enriquecimiento carbónico se determinó la relación entre la producción comercial de fruto obtenida en los tratamientos con la aplicación y el CO_2 aportado (kg kg^{-1}). Adicionalmente se calculó el rendimiento económico de la técnica; los ingresos (€ m^{-2}) se estimaron aplicando a los datos acumulados semanales de la producción comercial el precio medio semanal registrado en el Observatorio de Precios de la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta Andalucía para el ciclo de cultivo correspondiente. El coste del CO_2 (€ m^{-2}) se estimó aplicando un precio medio de 0,20 € kg^{-1} (dato facilitado por Carbueros Metálicos S.A.) al gasto diario del gas aportado. En el estudio no se han considerado los costes de instalación ni los derivados del alquiler de las botellas/tanque empleadas para el aporte de CO_2 .

3.10. Diseño experimental y análisis estadístico.

El experimento I se llevó a cabo de acuerdo con un diseño factorial de 3 factores: concentración de CO_2 (C), fuente de nitrógeno en la solución nutritiva (SN) y nivel de salinidad del agua de riego (CE), con dos niveles para cada factor, según se muestra en la tabla 6. Los tratamientos SN y CE se distribuyeron en líneas de cultivo de manera aleatoria en cada invernadero.

El experimento II se realizó según un diseño factorial de medidas repetidas, con un factor: estrategia de aplicación de CO_2 (E) y 2 niveles (tabla 5).

Tabla 5. Períodos de aplicación de nitrógeno para cada una de las fases de desarrollo del cultivo.

	FACTOR	NIVEL
Experimento I	Concentración de CO ₂ (C)	C0: Invernadero de referencia: sin aplicación de CO ₂
		C1: Invernadero enriquecido con CO ₂
	Fuente de Nitrógeno (SN)	SN1: Aporte de nitrógeno en forma de NO ₃ ⁻
		SN2: Aporte de nitrógeno en forma de NO ₃ ⁻ +NH ₄ ⁺
	Salinidad (CE)	CE-B: Nivel de salinidad bajo.
		CE-A: Nivel de salinidad alto.
Experimento II	Estrategia de aplicación de CO ₂ (E)	R: Referencia, con aplicación de CO ₂ durante todo el ciclo.
		P: Parcial, con cese anticipado de la aplicación de CO ₂
Experimento III	Poda de fruto (P)	1F: Se permite el desarrollo de un fruto por nudo.
		2F: Se permite el desarrollo de dos frutos por nudo.

En el experimento III se aplicó en un invernadero un diseño completamente aleatorio con un factor: Modelo de poda de frutos (PF), con 2 niveles (tabla 5).

Para cada variable estudiada en los experimentos se tomaron 6 repeticiones. El análisis de los datos obtenidos se realizó mediante el uso del programa informático Statistix v. 9.0. Para discriminar entre las medias se utilizó el método de la mínima diferencia significativa (LSD) con un nivel de confianza del 95%.



Capítulo IV

Resultados

4. Resultados

4.1. Respuesta del cultivo de pimiento al enriquecimiento carbónico en invernadero mediterráneo con diferentes fuentes de nitrógeno y nivel de salinidad en la solución nutritiva. (Experimento I)

4.1.1. Condiciones de desarrollo del cultivo (ciclo 2013-14).

Durante el experimento I, tanto la temperatura (T) como el Déficit de presión de vapor (DPV) fueron similares en el interior de los invernaderos con y sin enriquecimiento carbónico del aire (Figura 11).

Los valores medios diarios de las máximas, medias y mínimas, registradas en C1/C0 fueron, respectivamente: 29,3/29,6; 19,9/20; 14,7/14,8 para la T (°C) y 2,2/2,3; 0,7/0,8; 0,2/0,3 para DPV (kPa). La radiación global incidente sobre el cultivo fue también similar en ambos invernaderos (Figura 12a).

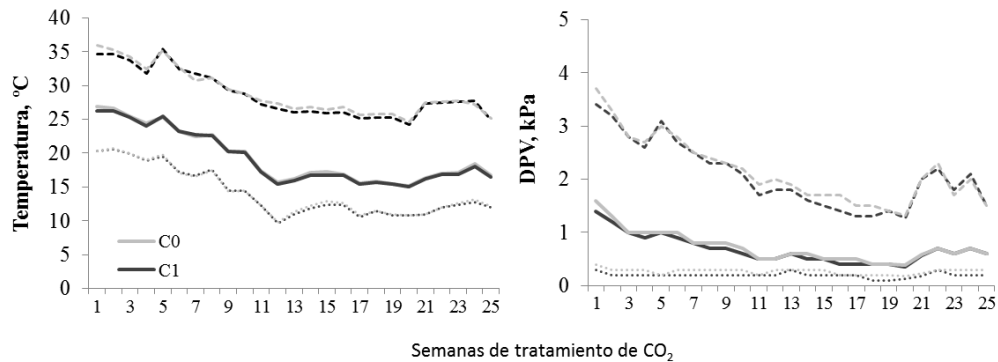


Figura 11. Evolución de la temperatura (°C) y del DPV (kPa) durante el experimento en el invernadero enriquecido (C1) y testigo (C0). Los datos corresponden a las medias semanales de valores medios (—), máximos (---) y mínimos (....).

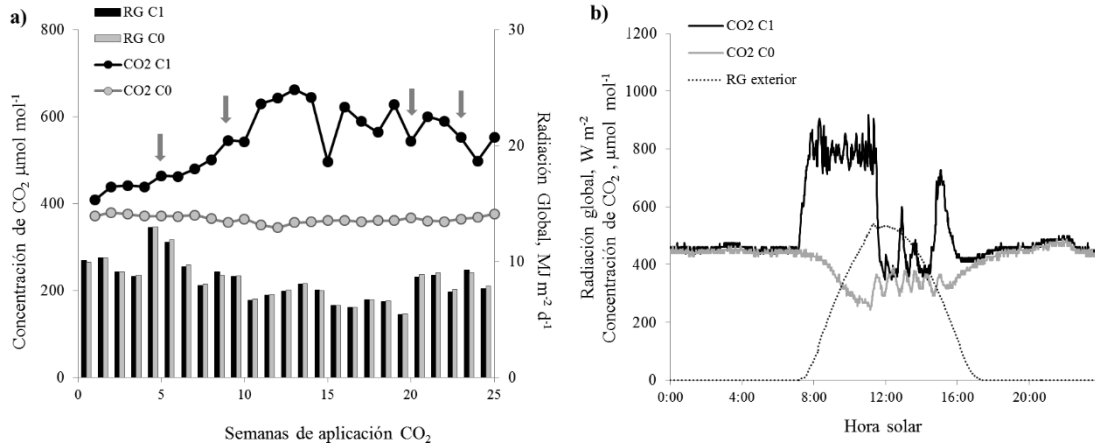


Figura 12. (a) Concentración media diaria de CO₂ e integral de radiación global (RG) en el interior de C0 y C1. Las flechas grises indican las semanas en las que se llevaron a cabo las medidas de fotosíntesis. **(b)** Evolución diaria (27 de diciembre de 2013) de la concentración de CO₂ en el aire del invernadero enriquecido (C1) y testigo (C0) y de la radiación global exterior.

Por el contrario, el aporte de CO₂ en C1 generó diferencias variables en su concentración respecto a C0 (Figura 12). La figura 12b muestra la variación diaria en la concentración de CO₂ para un día típico de invierno (27 de diciembre de 2013) en la zona sureste de España, con el cultivo crecido durante 130 días. En este día, el incremento diario promedio por hora de la concentración de CO₂ en C1 respecto a C0, osciló entre 40 y 500 μmol mol⁻¹. El incremento en la concentración media diaria en C1, respecto C0 (Figura 12a), fue del orden del 14% durante el periodo vegetativo (hasta la 5ª semana), coincidiendo con el periodo de mayor requerimiento de ventilación, y en torno al 49% para todo el período de enriquecimiento. Durante los 15 días previos a las determinaciones de la actividad fotosintética a los 31, 58, 135 y 155 dC (indicado con flechas en la figura 12a), la media diaria de la concentración de CO₂ fue, respectivamente, 67, 120, 237 y 234 μmol mol⁻¹ mayor en C1 que en C0.

Respecto a la fertirrigación, la media de la concentración de la mayoría de los nutrientes aportados fue similar para los tratamientos SN1 y SN2 (tabla 6). Estos tratamientos se diferenciaron en sus concentraciones de NO₃⁻ y NH₄⁺, pero el aporte total de N fue similar. La presencia de una pequeña fracción de NH₄⁺ en SN1 se atribuyó a la formulación del fertilizante de nitrato de calcio empleado. En SN2, la concentración de SO₄²⁻ fue mayor que en SN1 por el uso de sulfato de potasio como fuente de K⁺. La CE estuvo condicionada por los tratamientos de salinidad (CE-B y CE-A), que diferían en las concentraciones de Cl⁻ y Na⁺.

Tabla 6. Conductividad eléctrica (CE, dS m^{-1}) y composición (mM) de la solución nutritiva aportada al cultivo durante el experimento tanto en la fase vegetativa (I) como en la generativa (II). Los tratamientos están basados en la combinación de la salinidad (CE-B/CE-A) y fuente de nitrógeno (SN1: NO_3^- /SN2: $\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+$).

Fase	Salinidad	Fuente N	CE	Ca^{2+}	Cl	K^+	Na^+	NH_4^+	NO_3^-	Mg^{2+}	PO_4^{3-}	PO_4^{2-}	SO_4^{2-}
I	CE-B	SN1	2,6	4,3	9,3	4,6	5,9	0,4	11,5	2,7	1,3	1,3	0,8
		SN2	2,7	4,8	9,3	5,4	5,9	2,3	9,7	3	1,5	1,5	3,3
	CE-A	SN1	4,7	4,8	25,4	5	22,9	0,6	11,6	3	1,5	1,5	1,3
		SN2	4,6	5,7	25,4	6,1	22,9	3,2	9,8	3	1,8	1,8	4,5
II	CE-B	SN1	2,7	3,9	9,2	5,1	5,4	0,6	10	2,8	1,7	1,7	1,1
		SN2	2,7	4	9,2	6,3	5,4	2,4	8,6	3,2	1,7	1,7	3,1
	CE-A	SN1	4,7	4,5	26,8	5,8	22,7	0,9	9,8	2,9	1,5	1,5	0,9
		SN2	4,5	4,8	26,8	6,4	22,7	2,7	7,9	3	2	2	3,6

4.1.2. Aclimatación fotosintética a concentración elevada de CO_2 en invernadero mediterráneo. Influencia de la fuente de nitrógeno y la salinidad

4.1.2.1. Asimilación foliar de CO_2 .

En la figura 13 se presenta la tasa de asimilación neta de CO_2 (A) medida durante el experimento en plantas desarrolladas en C0 (concentración de CO_2 en el aire de 380 y 800 $\mu\text{mol mol}^{-1}$) y C1 (800 $\mu\text{mol mol}^{-1}$). Las medidas realizadas en plantas desarrolladas en C0 reflejan la respuesta positiva de A frente al aumento a corto plazo de la concentración de CO_2 en el aire, aunque su magnitud varió ligeramente durante el ciclo. La ganancia de A relativa al incremento de C_i ($A_{800} - A_{380} / C_{800} - C_{i380}$) aumentó por el uso de una fracción de NH_4^+ (SN2) a los 58 dC, mientras que el efecto contrario se encontró a los 58 dC y 135 dC al aumentar la salinidad (Tabla 8). Las plantas a las que se aportó NH_4^+ (SN2) mostraron una ganancia fotosintética más estable durante el transcurso del experimento con respecto a aquellas que se desarrollaron solo con NO_3^- (SN1): El valor medio fue $0,046 \pm 0,004$ en condiciones de baja CE y algo menor ($0,037 \pm 0,002$) en condiciones de alta CE.

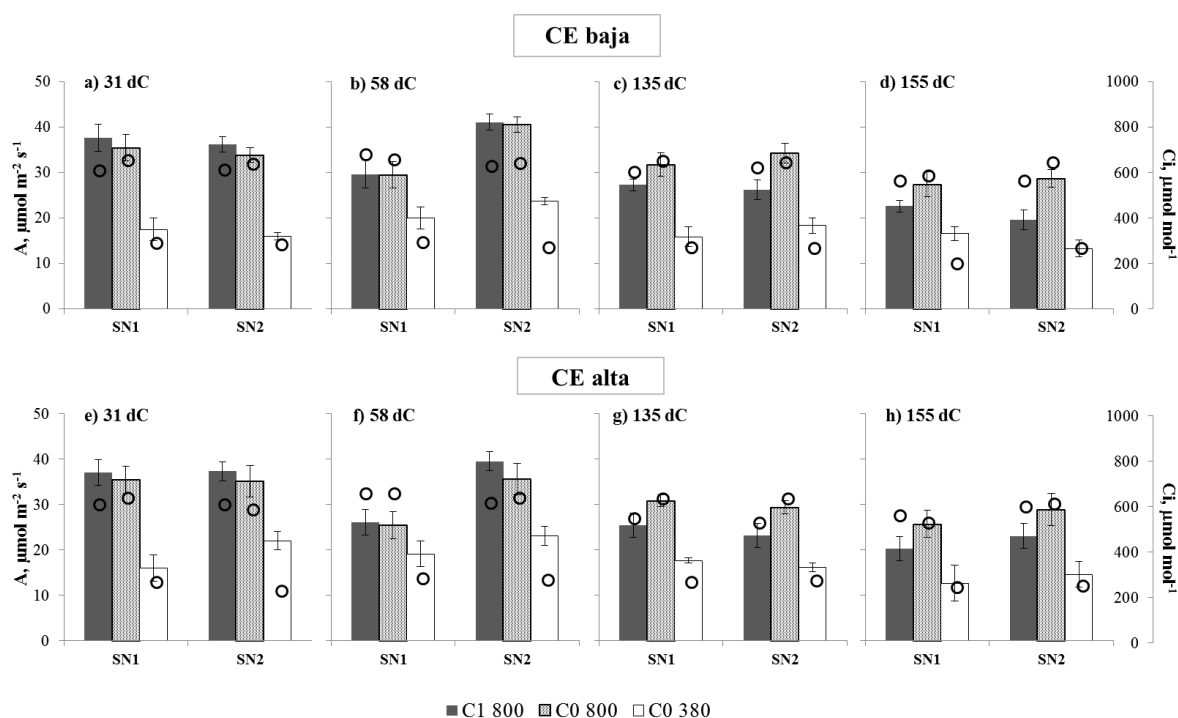


Figura 13. Tasa de asimilación foliar neta de CO₂ (A ; $\mu\text{mol mol}^{-1} \text{s}^{-1}$) (columnas) y contenido de CO₂ intercelular (C_i , $\mu\text{mol mol}^{-1}$) (círculos) durante el experimento (dC= días de aplicación de CO₂) en condiciones de baja CE (a-d) y alta CE (e-h). Las medidas fueron tomadas a una concentración de CO₂ de 800 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ en plantas del invernadero con enriquecimiento carbónico (C1 800) y a 800 (C0 800) y 380 (C0 380) en plantas del invernadero referencia. SN1 y SN2 corresponden a los tratamientos de fuente de nitrógeno empleada: NO₃⁻ y NO₃⁻ + NH₄⁺ respectivamente. Los datos son los valores medios de 6 plantas por tratamiento, con la desviación estándar.

Tabla 7. Ganancia en fotosíntesis foliar en relación al aumento en C_i , $(A_{C0\ 800} - A_{C0\ 380}) / (C_i\ 800 - C_i\ 380)$, en las plantas de referencia (C0) durante el experimento (dC: días de tratamiento de CO₂). Las plantas fueron desarrolladas en condiciones de baja (CE-B) o alta (CE-A) salinidad, con diferentes fuentes de nitrógeno (SN1: NO₃⁻; SN2: NO₃⁻ + NH₄⁺). Los valores corresponden a la media de seis plantas por tratamiento. Diferencias significativas se indican como: **, $P < 0,01$ y *, $P > 0,05$; n.s., diferencias no significativas.

Salinidad	Fuente N	31 dC	58 dC	135 dC	155 dC
CE-B	SN1	0,049	0,026	0,042	0,028
	SN2	0,051	0,045	0,042	0,045
CE-A	SN1	0,052	0,017	0,035	0,053
	SN2	0,037	0,034	0,036	0,039
Salinidad (CE)		n.s.	*	*	n.s.
Fuente de Nitrógeno (SN)		n.s.	**	n.s.	n.s.
CE x SN		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Comparando la actividad fotosintética a elevada concentración de CO₂ en las hojas de plantas desarrolladas bajo condiciones de enriquecimiento carbónico y de referencia (C1 800 y C0 800 respectivamente) se observó una pérdida de la actividad fotosintética en C1 después del

enriquecimiento carbónico a largo plazo (135 dC y 155 dC), tanto a baja (Figura 13c, d) como a alta CE (Figura 13g, h). En estas medidas, el valor de C_i se mantuvo bastante estable, con valores medios de $625 \pm 34 \mu\text{mol mol}^{-1}$ para C0 y ligeramente inferior para C1 ($600 \pm 39 \mu\text{mol mol}^{-1}$). La tabla 8 muestra el análisis estadístico para esta comparativa: la actividad fotosintética medida a elevada concentración de CO_2 (A_{800}) fue inicialmente mayor en plantas enriquecidas (C1) que en las de referencia (C0), independientemente de la fuente de nitrógeno aportada y la salinidad. Sin embargo, a los 135 dC y 155 dC se encontraron reducciones significativas de A_{800} en plantas cultivadas en C1, respecto a C0 (-19% y -23 %, respectivamente).

Tabla 8. Fotosíntesis a nivel de hoja medida a una concentración de CO_2 en el aire de $800 \mu\text{mol mol}^{-1}$ (A_{800} ; $\mu\text{mol mol}^{-1}\text{s}^{-1}$) en plantas de C1 y C0 durante diferentes días de aporte de CO_2 (dC) y su relación con la C_i resultante. Las plantas desarrolladas en condiciones de baja (CE-B) o alta (CE-A) salinidad, con diferentes fuentes de nitrógeno (SN1: NO_3^- /SN2: $\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+$). Los valores corresponden a la media de seis plantas por tratamiento. Diferencias significativas se indican: **, $P < 0,01$; *, $P > 0,05$; n.s., diferencias no significativas.

C	CE	SN	31 dC		58 dC		135 dC		155 dC	
			A_{800}	A_{800}/C_i	A_{800}	A_{800}/C_i	A_{800}	A_{800}/C_i	A_{800}	A_{800}/C_i
C0	CE-B	SN1	35,5	0,055	29,5	0,045	31,9	0,049	27,4	0,047
		SN2	33,9	0,055	40,6	0,064	34,3	0,054	28,8	0,046
	CE-A	SN1	35,4	0,055	25,5	0,039	30,8	0,048	25,7	0,05
		SN2	35,2	0,061	35,6	0,056	29,3	0,046	28,9	0,047
C1	CE-B	SN1	37,7	0,062	29,7	0,044	27,3	0,046	22,7	0,041
		SN2	36,3	0,06	41,1	0,066	26,2	0,043	19,6	0,035
	CE-A	SN1	37,1	0,061	26,1	0,04	25,4	0,047	20,3	0,037
		SN2	37,3	0,062	39,5	0,065	23,2	0,044	23,1	0,038
Aporte de CO_2 (C)			*	*	n.s.	n.s.	**	**	**	**
Salinidad (CE)			n.s.	n.s.	**	**	**	n.s.	n.s.	n.s.
Aporte de Nitrógeno (SN)			n.s.	n.s.	**	**	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
C x CE			n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
C x SN			n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CE x SN			n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.
C x CE x SN			n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

En ambos tratamientos de CO_2 , A_{800} fue menor a elevada CE a los 58 dC (-10%) y 135 dC (-9%). El uso de NH_4^+ (SN2) dio lugar a un incremento de A_{800} a los 58 dC (41,5%), respecto al uso exclusivo de NO_3^- como fuente de N (SN1). Sin embargo, a partir de los 135 dC este efecto no se encontró y a los 155 dC había una interacción significativa con la salinidad, de manera que A_{800} fue un 13% superior en SN2 respecto a SN1 en condiciones de alta CE.

Con el fin de evaluar las limitaciones no-estomáticas de la fotosíntesis, las tasas fotosintéticas se han expresado también en relación a la concentración intercelular de CO_2 (A_{800}/C_i), que representa la eficiencia en la fijación de CO_2 una vez que dicho gas se encuentra en el interior de la hoja (tabla 9). Esta ratio mostró la misma respuesta a los tratamientos de CO_2 que la descrita para A_{800} , con una menor eficiencia en las plantas desarrolladas durante 135 y 155 días bajo condiciones de enriquecimiento (C1), respecto a las plantas de referencia (C0).

La evolución del índice de aclimatación (IA) para las plantas enriquecidas (C1) se muestra en la figura 14. No se observó un efecto estadísticamente significativo de SN ni de salinidad sobre dicho índice. Sin embargo, la duración del tratamiento de CO₂ afectó significativamente al IA: los valores fueron similares y superiores a 1, a los 31 y 58 dC (con un valor medio de 1,12) y se redujo tras 135 y 155 dC hasta valores inferiores a 1 (valor medio de 0,56), lo que indica la pérdida de capacidad fotosintética.

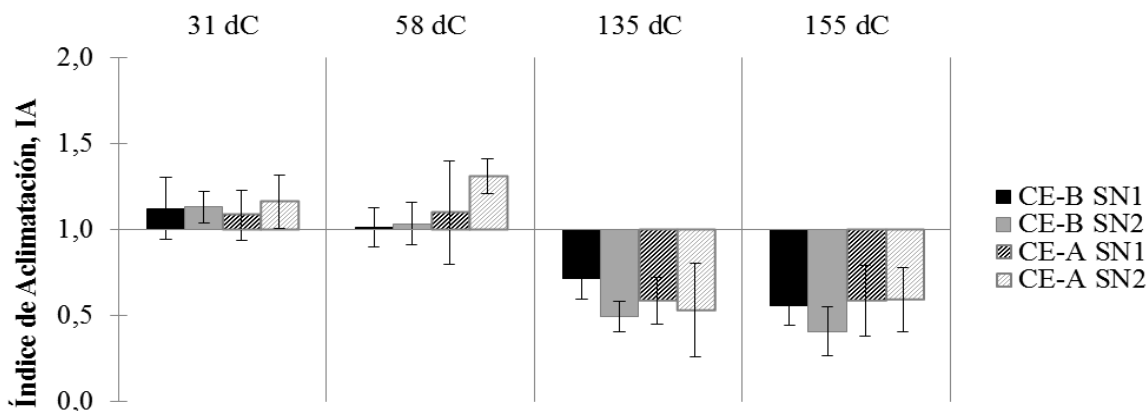


Figura 14. Índice de aclimatación fotosintética (IA) a lo largo de los días de aplicación de CO₂ (dC) en plantas desarrolladas con diferentes fuentes de N (SN1: NO₃⁻ y SN2: NO₃⁻ + NH₄⁺) y niveles de salinidad (baja: CE-B y alta: CE-A). IA<1 significa una pérdida de la capacidad fotosintética relativa a las plantas de referencia. Los datos representados son medias de 6 plantas por tratamiento, con la desviación estándar.

4.1.2.2. Morfología foliar.

Independientemente del nivel de salinidad y la fuente de N aportado, no se observó efecto del enriquecimiento carbónico sobre el índice de área foliar (LAI), pero se mostró una reducción significativa del área foliar específica (SLA) a los 84 dC (-8%) y a los 133 dC (-12%) (Tabla 9).

Tabla 9. Índice de área foliar (LAI, $m^2 m^{-2}$) y área foliar específica (SLA, $m^2 g^{-1}$) determinados en los cultivos de los invernaderos enriquecido (C1) y testigo (C0). Plantas desarrolladas en condiciones de baja (CE-B) o alta (CE-A) salinidad, y diferentes fuentes de N (SN1: NO_3^- y SN2: $NO_3^- + NH_4^+$). Los valores corresponden a la media de seis plantas por tratamiento. Diferencias significativas se indican: **, $P < 0,01$; * $P > 0,05$; n.s., diferencias no significativas.

C	CE	SN	42 dC		84 dC		133 dC	
			LAI	SLA	LAI	SLA	LAI	SLA
C0	CE-B	SN1	0,9	0,019c	1,4	0,019	1,8	0,018
		SN2	1,3	0,023ab	1,7	0,02	2	0,017
	CE-A	SN1	0,9	0,023ab	1,3	0,021	1,7	0,016
		SN2	0,8	0,020bc	1,3	0,021	1,5	0,018
C1	CE-B	SN1	1	0,019c	1,4	0,017	1,7	0,016
		SN2	1,3	0,020abc	1,6	0,02	1,7	0,016
	CE-A	SN1	0,9	0,021abc	1,4	0,019	1,5	0,016
		SN2	0,9	0,023ab	1,4	0,019	1,3	0,013
Aporte de CO_2 (C)			n.s.	n.s.	n.s.	**	n.s.	*
Salinidad (CE)			**	*	**	n.s.	**	n.s.
Aporte de Nitrógeno (SN)			**	n.s.	**	n.s.	n.s.	n.s.
C x CE			n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
C x SN			n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CE x SN			**	*	**	n.s.	n.s.	n.s.
C x CE x SN			n.s.	**	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Inicialmente los tratamientos de salinidad y fuente de N mostraron efectos sobre el LAI y se detectó una interacción significativa entre ellos: a baja CE, el uso de NH_4^+ incrementó el LAI (+37% a los 42 dC y +18% a los 84 dC) mientras que el incremento en salinidad lo redujo únicamente cuando se utilizó NH_4^+ (-35% a los 42 dC y -18% a los 84 dC). A los 133 dC no se observó efecto de la fuente de N y el efecto perjudicial derivado de la salinidad fue independiente de la fuente de N (-17%).

4.1.2.3. Concentración foliar de carbohidratos no estructurales y nitrógeno en las hojas de medida de fotosíntesis. Ratio carbono:nitrógeno.

La tabla 10 muestra los niveles de almidón y azúcares solubles totales (TSS) en las muestras foliares realizadas a los 58 y 155 dC, coincidiendo, respectivamente, con las fases previa y posterior a la detección de aclimatación fotosintética en las plantas enriquecidas. Independientemente del nivel de salinidad y de la fuente de N, las hojas de plantas desarrolladas durante 58 días bajo condiciones de enriquecimiento carbónico tenían una concentración de almidón un 30% superior a las de plantas de referencia. Sin embargo, se observó una interacción significativa entre los efectos del CO_2 y la fuente de N sobre la concentración de TSS, que fue un 40% mayor en las hojas enriquecidas que en las de referencia cuando se aportó amonio (SN2). Estos efectos desaparecieron posteriormente y a los 155 dC los valores de TSS fueron notablemente inferiores y se observó una interacción entre los efectos de CO_2 y la salinidad que

aumentó los valores de TSS en las hojas del cultivo de referencia mientras que se observó una reducción en el valor de TSS en las hojas de C1

Respecto al contenido mineral de las hojas del tratamiento de baja salinidad, la concentración de N se redujo significativamente (-10%) en respuesta a la aplicación de CO₂ a los 58 dC, lo que incrementó la relación C:N (+11%) (Tabla 10). El uso de NH₄⁺ en la solución nutritiva (SN2) aumentó la concentración de N en las hojas respecto al uso exclusivo de NO₃⁻ en SN1 (+7%). La misma tendencia se observó a los 155 dC pero sin diferencias significativas.

Tabla 10. Concentración de almidón y azúcares solubles totales (TSS) en las hojas donde se midió fotosíntesis en dos fases del experimento. Concentración de nitrógeno (N) y ratio C:N en dichas hojas bajo condiciones de baja CE. Los valores corresponden a la media de seis plantas por tratamiento. Diferencias significativas se indican: **, P<0,01; * P>0,05; n.s., diferencias no significativas.

C	CE	SN	58 dC				155 dC			
			Almidón (mg g ⁻¹ DW)	TSS (mg g ⁻¹ DW)	N (%)	C:N	Almidón (mg g ⁻¹ DW)	TSS (mg g ⁻¹ DW)	N (%)	C:N
C0	CE-B	SN1	21,1	67,9	5	8,29	15	19,3	3,64	10,56
		SN2	21,5	42,7	5,37	7,84	12,7	26,6	4,02	9,7
	CE-A	SN1	23,9	72,4	--	--	9,3	37,9	--	--
		SN2	22,3	56,5	--	--	11	30,8	--	--
C1	CE-B	SN1	26	67,5	4,56	9,04	15,3	28,9	3,24	11,63
		SN2	31,5	63,6	4,83	8,92	15,6	24,9	3,52	10,87
	CE-A	SN1	23,9	67	--	--	10,9	25,4	--	--
		SN2	33,8	74,9	--	--	10,8	23,2	--	--
Aporte de CO ₂ (C)			**	n.s.	**	**	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Salinidad (CE)			n.s.	n.s.	--	--	n.s.	n.s.	--	--
Aporte de Nitrógeno (SN)			n.s.	*	**	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
C x CE			n.s.	n.s.	--	--	n.s.	**	--	--
C x SN			n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CE x SN			n.s.	n.s.	--	--	n.s.	n.s.	--	--
C x CE x SN			n.s.	n.s.	--	--	n.s.	n.s.	--	--

En condiciones de baja salinidad, no se encontró una relación entre la actividad fotosintética de las hojas a elevada concentración de CO₂ (A₈₀₀) y su concentración de almidón o de TSS (Figura 15a, b). Sin embargo, se encontró una correlación lineal (R²=0,64) entre A₈₀₀ y la concentración foliar de N (Figura 15c): aquellas hojas con el menor contenido de N son las que tenían la menor actividad fotosintética a elevada concentración de CO₂. Se observó una débil correlación negativa (R²=0,51) entre A₈₀₀ y la ratio C:N (Figura 15d).

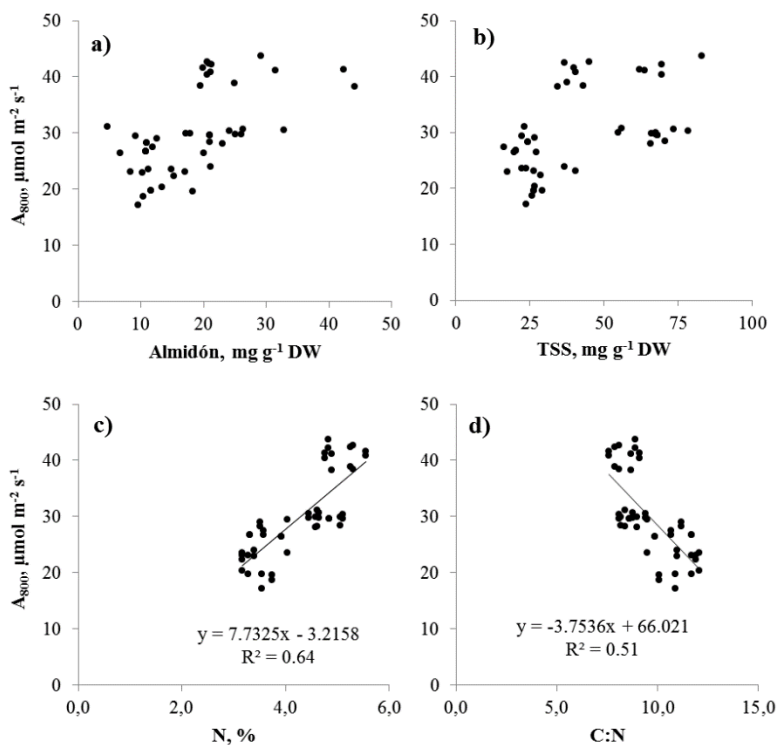


Figura 15. Fotosíntesis foliar medida a una concentración de CO_2 de $800 \mu\text{mol mol}^{-1}$ (A_{800} , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) vs: (a, b) concentración foliar, por unidad de materia seca, de almidón y azúcares solubles totales (TSS) y (c, d) porcentaje de N foliar y relación carbono:nitrógeno (C:N). Los valores corresponden a medidas independientes realizadas en diferentes plantas de todos los tratamientos de baja CE, a los 58 y 155 dC.

4.1.2.4. Potencia de sumidero

La figura 16 muestra el producto de la materia seca de los frutos en desarrollo en la planta (PSF_p) y la tasa de crecimiento relativo de la fracción de fruto (RGR_f), como indicador de la potencia de sumidero de los frutos para los fotoasimilados, en diferentes fases del cultivo. No se encontró ninguna interacción estadísticamente significativa entre los tratamientos. Inicialmente, se encontraron valores más altos en las plantas cultivadas con enriquecimiento de CO_2 que en las de referencia (+32 y +19% a los 42 y 84 dC, respectivamente) pero este efecto no se observó después de 133 dC. El aumento de la salinidad en la solución nutritiva tuvo el efecto contrario (-48 y -17% a los 42 y 133 dC, respectivamente) y no se encontró ningún efecto de la fuente de nitrógeno empleada.

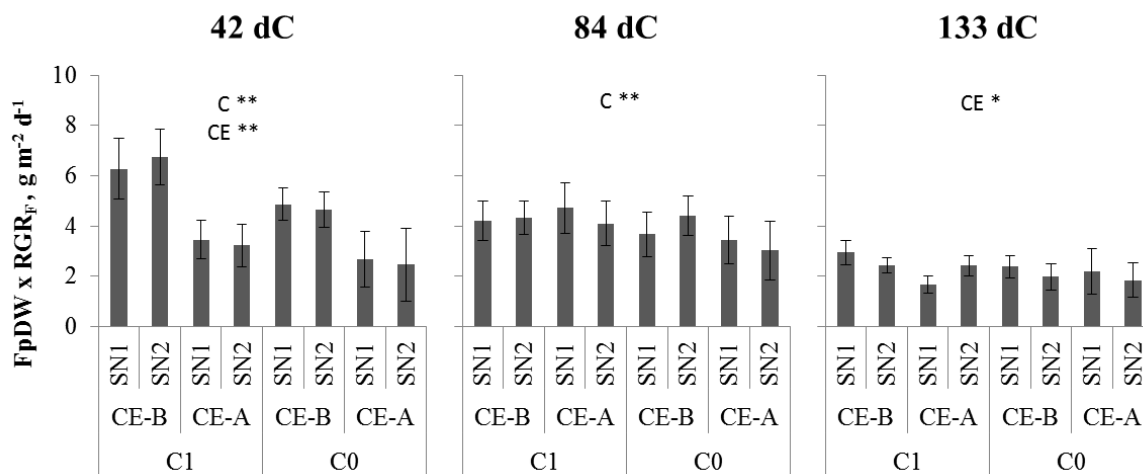


Figura 16. Producto de la materia seca de los frutos desarrollándose en la planta (PSFp) y la tasa de crecimiento relativo de la fracción de fruto (RGRf), calculada en diferentes días de tratamiento de CO₂ (dC) para plantas enriquecidas (C1) y de referencia (C0) desarrolladas con diferentes fuentes de N (SN1: NO₃⁻ y SN2: NO₃⁻ + NH₄⁺) y niveles de salinidad (Baja, CE-B, y alta, CE-A). Diferencias significativas entre los tratamientos se indican: *<0,05; **<0,01; n.s., no significativas. Los datos son medias de 6 plantas por tratamiento con la desviación estándar.

4.1.3. Crecimiento y producción de fruto

El peso seco total (PST) de las plantas y su reparto entre las fracciones generativa (PSG) y vegetativa (PSV), para diferentes días de tratamiento de CO₂ (dC), se muestran en la figura 17

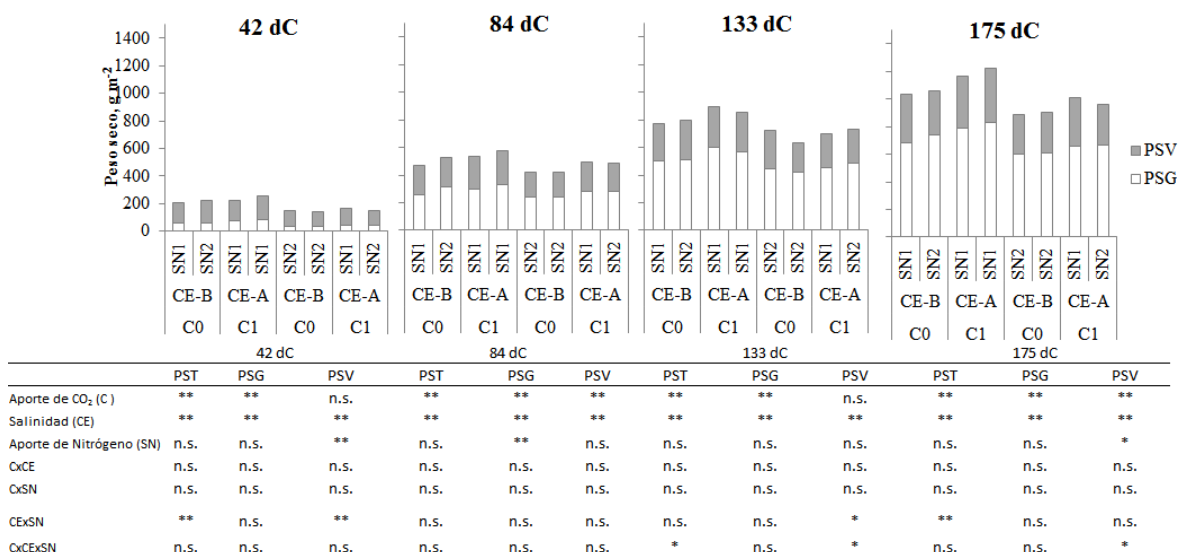


Figura 17. Peso seco total (PST) y su reparto entre las fracciones generativa (PSG) y vegetativa (PSV), en diferentes días de tratamiento de CO₂ (dC) de plantas con enriquecimiento carbónico (C1) y de referencia (C0), cultivadas con diferentes fuentes de N (SN1: NO₃⁻ y SN2: NO₃⁻ + NH₄⁺) y niveles de salinidad (Bajo, CE-B, y alto, CE-A). Diferencias significativas entre los tratamientos se indican: * < 0,05; ** < 0,01; n.s., no significativas.

Durante el experimento, las plantas desarrolladas en condiciones de enriquecimiento carbónico produjeron más materia seca que las de referencia, debido principalmente al efecto sobre la fracción generativa (PSG aumentó un 34, 13, 12 y 12% a los 42, 84, 133 y 175 dC, respectivamente). El aumento de la salinidad en la solución nutritiva mostró un efecto negativo significativo sobre ambas fracciones, generativa y vegetativa. En condiciones de baja CE, el aporte de amonio mejoró inicialmente el crecimiento vegetativo (PSV 19% mayor en SN2 que en SN1 a los 42 dC). Sin embargo, el efecto positivo de SN2 se observó en la fracción generativa únicamente a los 84 dC (PSG 9% mayor en SN2 que en SN1). Al final del cultivo todos los tratamientos mostraron un efecto significativo sobre la biomasa vegetativa con interacción entre ellos, de manera que el enriquecimiento carbónico mejoraba el PSV de manera significativa cuando las plantas crecieron en condiciones combinadas: CE-alta + SN1 (+22%) o CE-baja + SN2 (+23%). El efecto negativo de la salinidad sobre el PSV fue compensado por el efecto del enriquecimiento carbónico cuando se aplicó solo NO₃⁻ como fuente de N en la solución nutritiva.

El enriquecimiento de CO₂ provocó un incremento del peso fresco en la fracción de fruto, en relación a las plantas de referencia (C0) que varió a lo largo del experimento (Figura 18 a y b). Durante la primera fase del periodo de recolección no se observó efecto significativo del aporte de CO₂. Desde los 94 o 100 dC, en condiciones de baja o alta salinidad respectivamente, la ganancia en producción acumulada del cultivo enriquecido respecto al testigo aumentó hasta alcanzar valores máximos de 23% y 29% con SN1 y SN2 respectivamente, en condiciones de baja salinidad (CE-B) y 21% con SN1 a alta salinidad (CE-A). Posteriormente, estos valores se redujeron progresivamente desde los 106 dC en SN1 y 129 dC en SN2 a baja salinidad. La ganancia

productiva máxima fue mucho menor cuando se combinaron NH_4^+ y CE alta en la solución nutritiva (6% a los 101 dC).

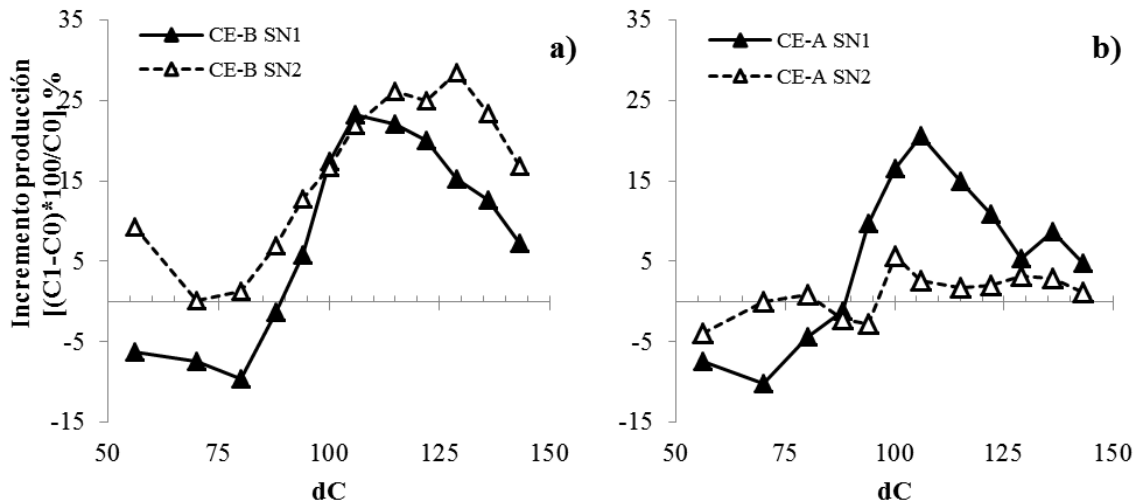


Figura 18. Evolución del incremento relativo de producción del cultivo enriquecido frente al referencia $((C1 - C0) \times 100 / C0)$, desarrollados con diferentes fuentes de N (SN1: NO_3^- y SN2: $\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+$) y niveles de salinidad: bajo, CE-B (a) y alto, CE-A (b).

Los valores finales del peso fresco de fruto acumulado durante el cultivo en los diferentes tratamientos se muestran en la tabla 11. El enriquecimiento carbónico del aire mejoró la producción total y comercial, sin afectar a la incidencia de B.E.R. Se observó una interacción significativa entre C y CE de tal forma que el beneficio de C1 fue mayor en condiciones de CE baja (+22% en producción comercial) que en condiciones de CE alta (+8% en producción comercial). El aporte de una fracción de N en forma de amonio en SN2 mostró una tendencia de mejora en la producción total de fruto, respecto al uso exclusivo de nitrato como fuente de N (SN1), que fue significativa en condiciones de baja salinidad (+10%); sin embargo, dicho efecto no se vio reflejado en la producción comercial debido a la mayor incidencia de BER.

Tabla 11. Producción total, comercial e incidencia de BER obtenidas en los invernaderos enriquecido (C1) y testigo (C0). Plantas desarrolladas en condiciones de baja (CE-B) o alta (CE-A) salinidad, y diferentes fuentes de N (SN1: NO_3^- y SN2: $\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+$). Los valores corresponden a la media de seis plantas por tratamiento. Diferencias significativas se indican: **, $P < 0,01$; * $P > 0,05$; n.s., diferencias no significativas.

C	CE	SN	Producción total	Producción Comercial	B.E.R.
			kg m ⁻²	kg m ⁻²	%
C0	CE-B	SN1	6,1	6	1,3
		SN2	6,9	6,3	8
	CE-A	SN1	5,6	4,7	13,9
		SN2	5,8	4,6	19,9
C1	CE-B	SN1	7,5	7,4	0,4
		SN2	8,1	7,5	6,9
	CE-A	SN1	6,1	5,3	13,2
		SN2	6,2	4,8	21,2
Aporte de CO ₂ (C)			*	*	n.s.
Salinidad (CE)			*	*	*
Aporte de nitrógeno (SN)			*	n.s.	*
CxCE			*	*	n.s.
CxSN			n.s.	n.s.	n.s.
CExSN			*	*	n.s.
CxCExSN			n.s.	n.s.	n.s.

4.1.4. *Eficiencia hídrica y mineral*

Al final del experimento se determinó la eficiencia en el uso del agua considerada como la relación entre la producción comercial acumulada durante el ciclo y el agua aportada (WUEs) o el agua absorbida (WUEu) por el cultivo en los diferentes tratamientos (Tabla 12). El aporte de CO₂ en C1 incrementó significativamente WUEs debido principalmente a su efecto sobre la producción, y se reflejó así la interacción significativa de C*CE según la cual el aumento en WUEs fue mayor a baja que a alta CE (+24% y +9% respectivamente). El efecto del CO₂ sobre la producción y sobre la absorción hídrica propició un incremento significativo de la WUEu en C1 respecto C0 (+23%); por el contrario, el aumento de la salinidad en la solución nutritiva dio como resultado una menor WUEu (-11%) en comparación con CE-B. La incorporación de amonio en la solución nutritiva redujo de manera significativa ambas eficiencias, WUEs y WUEu (-4% y -10% respectivamente).

Tabla 12. Agua total aportada (W_s) y absorbida (W_u) durante el cultivo en los diferentes tratamientos de CO_2 (C), salinidad (CE) y fuente de N (SN). Eficiencia del uso del agua, referida al total de producción comercial obtenida en relación al agua total aportada ($WUEs$, $g L^{-1}$) y absorbida ($WUEu$, $g L^{-1}$). Diferencias significativas se indican: **, $P < 0,01$; * $P > 0,05$; n.s., diferencias no significativas.

C	CE	SN	W_s ($L m^{-2}$)	$WUEs$ ($g L^{-1}$)	W_u ($L m^{-2}$)	$WUEu$ ($g L^{-1}$)
C0	CE-B	SN1	409,6	14,6	221,5	27,1
		SN2	443,9	14,2	265,6	23,7
	CE-A	SN1	421,5	11,2	199,9	23,5
		SN2	403,5	11,4	211,3	21,8
C1	CE-B	SN1	403,5	18,3	231	32,0
		SN2	431,3	17,4	247	30,4
	CE-A	SN1	412,9	12,8	176,3	30,1
		SN2	400,3	12	186,1	25,8
Aporte de CO_2 (C)				**		**
Salinidad (CE)				**		**
Aporte de nitrógeno (SN)				*		**
CxCE				**		n.s.
CxSN				n.s.		n.s.
CExSN				n.s.		n.s.
CxCExSN				n.s.		n.s.

El contenido mineral de N, K, Ca y Mg, expresado en % respecto a la materia seca de cada fracción aérea de la planta, al final del ciclo, para cada uno de los tratamientos de CE (CE-B, CE-A) se muestra en la figura 19 y se observa cómo el K es el constituyente mineral de la planta de pimiento con mayor presencia en ambos tratamientos, llegando a superar al contenido de N presente en los tejidos analizados. En condiciones de baja salinidad, el aporte de CO_2 aumentó de manera significativa el contenido de Ca (+26%) y Mg (+30%) en la fracción hoja, siendo la concentración de N y K menor en estas condiciones (-16% y -19% respectivamente). En condiciones salinas, el enriquecimiento carbónico tuvo únicamente efecto significativo en el contenido de N y K presente en hoja, siendo menor en C1 (-21% y -19% respectivamente).

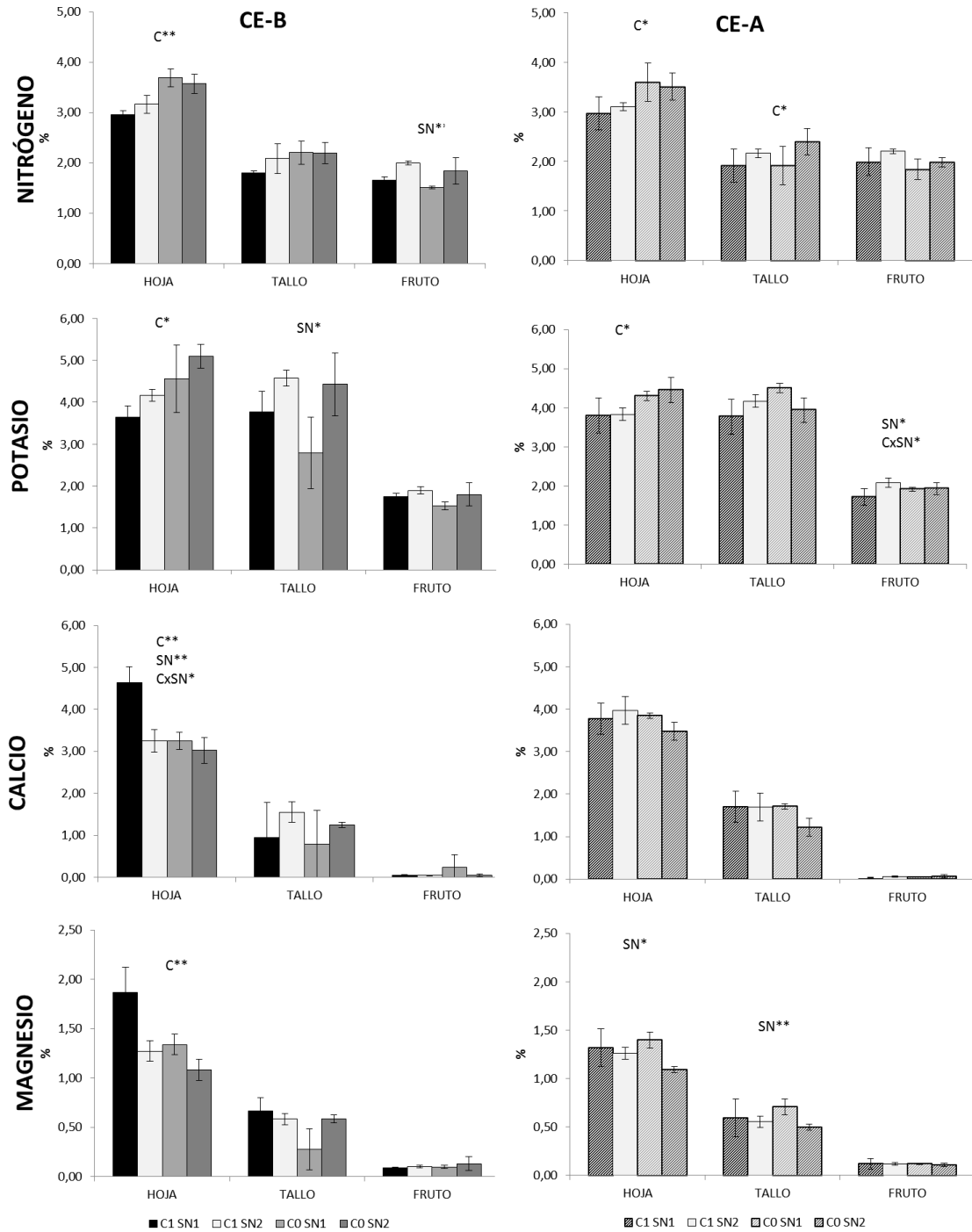


Figura 19. Efecto del enriquecimiento carbónico y fuente de nitrógeno sobre el contenido de nitrógeno (a), potasio (b), calcio (c) y magnesio (d), expresado en % del elemento en relación a la materia seca, en cada una de las fracciones del cultivo de pimiento bajo condiciones de baja salinidad (CE-B) (izquierda) y elevada salinidad (CE-A) (derecha). Los asteriscos indican diferencias significativas. (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$).

El enriquecimiento carbónico afectó de manera significativa a la eficiencia medio ambiental (EMA) de los nutrientes evaluados, expresada como el porcentaje de nutriente absorbido por la parte aérea de la planta con respecto al nutriente aplicado (tabla 13); obteniéndose incrementos

en C1 respecto C0 del 14% para el N y del 23% para el Ca; en el caso del K este efecto positivo del aporte de CO₂ fue mayor a baja salinidad (+20%) que a alta (+6%) y en el caso del Mg varió tanto con la CE (+100% a CE-B y +64% a CE-A) como con la fuente de nitrógeno aplicada (+91% en SN1 y +72% en SN2).

El aporte de una fracción de amonio en la solución nutritiva afectó significativamente a la EMA, de manera positiva en el caso del N frente a SN1 (+8%), mientras que para el resto de los nutrientes evaluados mostró un efecto negativo: K (-8%), Ca (-19%) y Mg (-20%).

Respecto a la salinidad, el aumento de la conductividad eléctrica de la solución nutritiva derivó en una reducción de la EMA de los elementos estudiados: N (-7%), K (-16%), Ca (-15%) y Mg (-14%).

Tabla 13. Eficiencia medio ambiental (EMA) de los nutrientes (%) para cada uno de los diferentes tratamientos evaluados: enriquecimiento carbónico (C), fuente de nitrógeno (SN) y nivel de salinidad (CE). * y ** indican efectos e interacciones entre tratamientos significativos a $P \leq 0,05$ y $0,01$ respectivamente; n.s., diferencias no significativas.

CARBONO	SALINIDAD	NITROGENO	N	K	Ca	Mg
C0	CE-B	SN1	30,4	27,9	11,4	9,7
		SN2	31	26,4	8,2	8,4
	CE-A	SN1	27,1	25,6	9,2	9,5
		SN2	30,3	23,3	7,7	8,1
C1	CE-B	SN1	33	34,2	3,2	20,9
		SN2	37	30,9	11,2	15,3
	C-A	SN1	31,7	26,6	11,2	15,8
		SN2	33,3	25	9,3	13
		C	**	**	**	**
		SN	**	**	**	**
		CE	**	**	*	**
		CxSN	ns	ns	ns	**
		CxCE	ns	*	ns	**
		SNxCE	ns	ns	ns	ns
		CxSNxCE	ns	ns	ns	ns

El análisis de la eficiencia productiva de los nutrientes (EP), expresada en kg de fruto comercial por kg de nutriente aplicado (tabla 14), permitió observar un aumento de la misma en condiciones de enriquecimiento carbónico para todos los nutrientes analizados, aunque mostró interacción significativa con la fuente de nitrógeno utilizada, de manera que el aumento fue mayor sin aporte amonio en SN1 (+21% para N, K, Ca y +75% para Mg) que con él en SN2 (+15% para N, K, Ca y +66% para Mg); así mismo el efecto del CO₂ sobre la EP del K, Ca y Mg se redujo al aumentar la CE de la solución nutritiva, mostrando incrementos del +24% (N), +23% (Ca), +80% (Mg) en CE-B y del 11% (N), 10% (Ca) y 58% (Mg) en CE-A.

Tabla 14. Eficiencia productiva (EP) de los nutrientes (kg kg^{-1}) para cada uno de los diferentes tratamientos evaluados: enriquecimiento carbónico (C), fuente de nitrógeno (SN) y nivel de salinidad (CE). * y ** indican efectos e interacciones entre tratamientos significativos a $P \leq 0,05$ y $0,01$ respectivamente. n.s., diferencias no significativas.

C	CE	SN	P			
			N	K	Ca	Mg
C0	CE-B	SN1	94,1	76,9	90,2	189
		SN2	89,3	61,6	82,4	159,3
	CE-A	SN1	70,5	52	60,3	132,7
		SN2	70,3	46,6	55,2	136,1
C1	CE-B	SN1	117,6	96,2	112,7	335,9
		SN2	108,9	75,3	100,4	291
	CE-A	SN1	81,2	60	69,5	225,8
		SN2	73,8	49	57,9	199,6
		C	**	**	**	**
		SN	**	**	**	**
		CE	**	**	**	**
		CxSN	*	*	*	**
		CxCE	ns	*	*	*
		SNxCE	ns	*	ns	*
		CxSNxCE	ns	ns	ns	ns

4.1.5. Eficiencia del aporte de CO_2

Durante el experimento la cantidad total de CO_2 aportado en el invernadero enriquecido fue de $5,635 \text{ kg m}^{-2}$. La figura 20 muestra la evolución de dicho aporte a lo largo del ciclo de cultivo en la que se ve cómo inicialmente va aumentando a lo largo de las semanas, principalmente por la disminución de los requerimientos de ventilación por exceso de temperatura, debido por una parte, a la evolución de la temperatura exterior y por otra, al efecto térmico del aumento de la transpiración por el desarrollo de las plantas de pimiento, alcanzándose los mayores aportes entre la semana 13 y 16. Posteriormente, la aplicación de CO_2 se redujo por la necesidad de ventilar el invernadero para reducir los excesos de humedad.

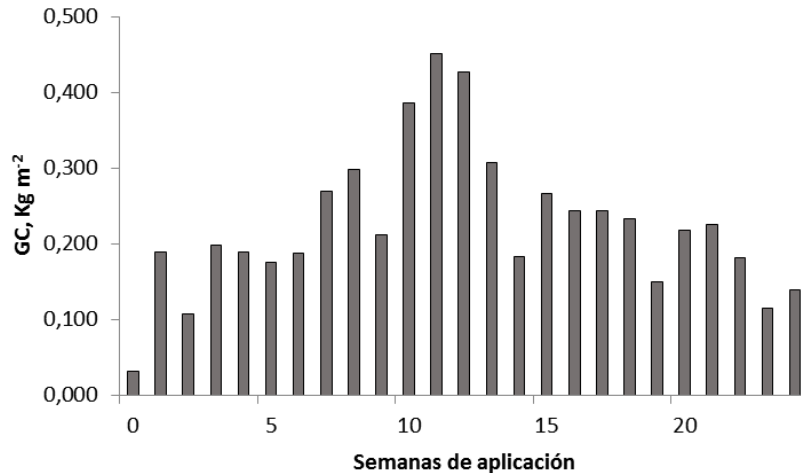


Figura 20. Evolución del aporte de CO₂, GC (kg m⁻²) en el invernadero C1 durante el cultivo.

4.1.5.1. Eficiencia del aporte de CO₂ respecto a la fracción asimilada.

La eficiencia con la que el CO₂ aportado fue asimilado y transformado en materia seca, EA (%), se evaluó en el cultivo sometido a condiciones convencionales de fertirrigación (SN1 y CE-B), diferenciando entre las fracciones de biomasa vegetativa (EA_{VEG}) y generativa (EA_{GEN}). En la figura 21 se muestra la evolución de dicha eficiencia que muestra un comportamiento diferente según la fracción considerada. Una vez iniciada la fase de producción, la fracción generativa adquiere la mayor eficiencia, con valores próximos a 6%, coincidiendo con el desarrollo de sumideros que permiten una elevada estimulación fotosintética frente al aumento de CO₂ y por tanto de la producción de fruto. A los 42 dC la eficiencia de la fracción generativa desciende y se mantiene similar a la obtenida para la fracción vegetativa (2,53% y 2,88% respectivamente), en una etapa de autorregulación de frutos en desarrollo en el invernadero enriquecido, hasta los 84 dC que recuperan los valores previos. Transcurridos 133 días desde el inicio de la aplicación de CO₂, se observa una pérdida de eficiencia que se mantiene en la fracción de fruto (EA_{GEN}) en un valor de 2,5% hasta el final del cultivo.

Los valores medios de EA, calculados a partir de la materia seca acumulada durante todo el ciclo de cultivo, fueron del 0,7% y 4,1% para la fracción vegetativa y generativa respectivamente.

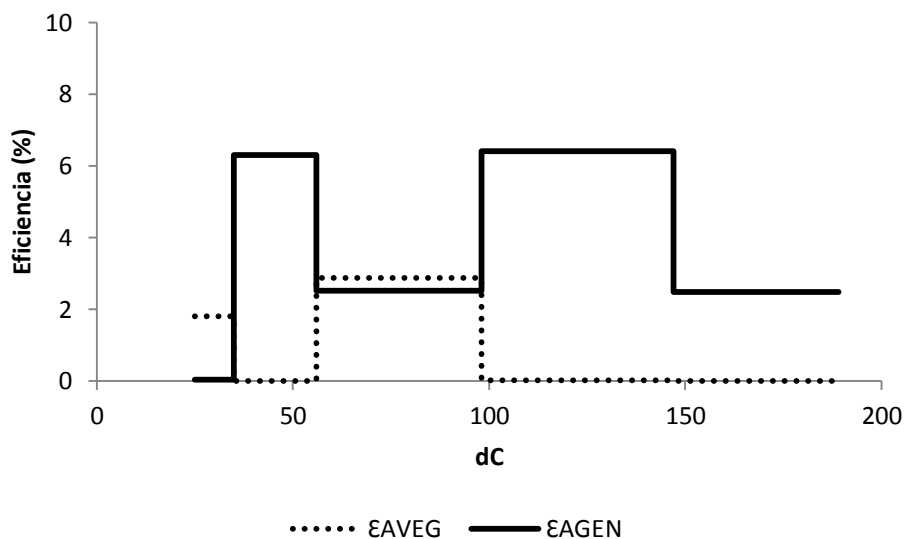


Figura 21. Evolución de la eficiencia del enriquecimiento carbónico respecto al CO₂ asimilado y localizado en la materia seca vegetativa (EAVEG) y generativa (EAGEN). Valores medios entre determinaciones de biomasa.

4.1.5.2. Eficiencia respecto al rendimiento productivo.

Bajo condiciones convencionales de fertirrigación (SN1 y CE-B), la eficiencia final del enriquecimiento carbónico respecto a la producción comercial de fruto (EP) fue de 1,3 kg fruto kg⁻¹ CO₂. En términos económicos, el valor de la producción comercial acumulado al final del experimento fue de 6,17 € m⁻² y 4,90 € m⁻² en C1 y C0 respectivamente, lo que supone un ingreso extra acumulado al final del experimento de 1,27 € m⁻². El gasto total del aporte de CO₂ en C1 fue de 1,13 € m⁻², por lo que la diferencia entre el ingreso extraordinario acumulado y el gasto final del aporte de CO₂ fue de 0,14 € m⁻².

4.2. Evaluación de estrategias enfocadas a la mejora de la eficiencia del enriquecimiento carbónico en invernadero mediterráneo.

4.2.1. Condiciones climáticas durante el ciclo de cultivo 2014-15.

Los valores registrados de la temperatura (T) y el déficit de presión de vapor (DPV) durante el transcurso del experimento fueron similares en el invernadero con aporte de CO₂ completo (referencia, R) y en el que se realizó de manera parcial con cese anticipado (P) (Figura 22). Los valores medios diarios de las máximas, medias y mínimas, registrados en R/P fueron respectivamente: 28,7/29,1; 19,0/19,2; 13,3/13,5 para T (°C) y 2,2/2,2; 0,7/0,7; 0,2/0,2 para DPV (kPa).

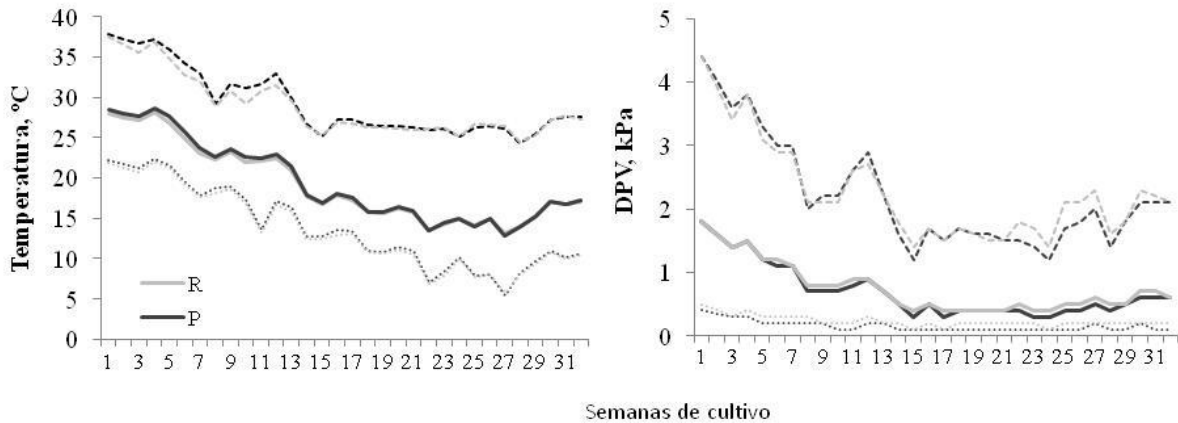


Figura 22. Evolución de la temperatura (°C) y del DPV (kPa) durante el experimento en el invernadero donde se cesó la aplicación de CO₂ (P) y el invernadero enriquecido durante todo el experimento (R). Los datos corresponden a las medias semanales de valores medios (—), máximos (----) y mínimos (....).

La integral de radiación en el interior de los dos invernaderos fue similar durante todo el experimento, como también lo fue la concentración media diurna de CO₂ en el aire hasta el momento en el que se cesó el aporte de CO₂ en el invernadero para evaluar la estrategia de enriquecimiento carbónico parcial (P) (Figura 23).

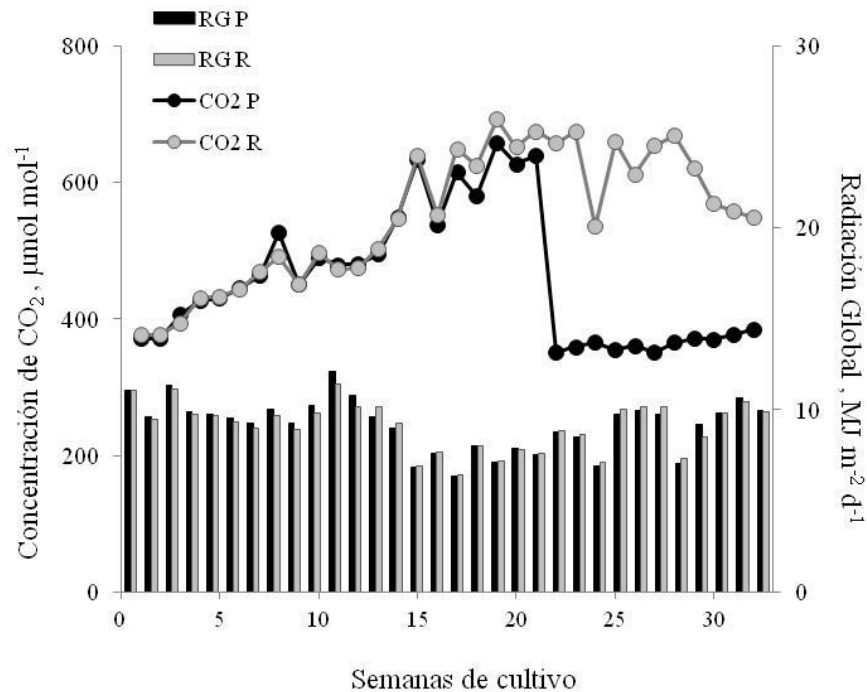


Figura 23. Evolución durante el desarrollo del cultivo de la concentración media diurna de (CO₂) y de la integral diaria media de radiación global (RG) registradas en el interior de los invernaderos con enriquecimiento carbónico de referencia (R) y parcial (P).

Respecto a la fertirrigación, la media de la concentración de la mayoría de los nutrientes para cada una de las fases, generativa y vegetativa, se presenta en la tabla 15.

Tabla 15. Conductividad eléctrica (CE, dS m^{-1}) y composición (mM) de la solución nutritiva aportada durante el cultivo durante los experimentos II y III, tanto en la fase vegetativa (I) como en la generativa (II).

Fase	CE	Ca ²⁺	Cl ⁻	K ⁺	Na ⁺	NH ₄ ⁺	NO ₃ ⁻	Mg ²⁺	P	SO ₄ ⁼
I	2,8	4,6	9,5	4,3	5,8	0,8	12,7	2,8	2,2	1,5
II	2,7	4,3	9,9	4,9	5,1	1	8,8	2,8	2,2	1,5

4.2.2. Respuesta del cultivo de pimiento con enriquecimiento carbónico al cese anticipado de su aplicación (Experimento II).

4.2.2.1. Asimilación foliar de CO₂

La actividad fotosintética medida a elevada concentración de CO₂ (A_{800}) en las hojas de plantas cultivadas con enriquecimiento carbónico de referencia (R) y con cese anticipado del mismo (P) se muestra en la figura 24 y tabla 15. Previamente a la diferenciación del tratamiento de CO₂, a los 115 dC, en ambos invernaderos se observó una A_{800} similar; sin embargo, después de 160 dC, a los 28 días después del cese del enriquecimiento carbónico, las hojas en R presentaban una pérdida de su actividad fotosintética del 39%, al mismo tiempo que las hojas en P presentaban una reducción de A_{800} mucho menor, sólo del 6%. La misma tendencia reflejó el análisis de la relación de la tasa fotosintética y la concentración intercelular de CO₂ (A_{800}/C_i) (tabla 15), por lo que el cese anticipado del aporte de CO₂ permitió mitigar la pérdida de la eficiencia en la fijación fotosintética de CO₂ en las plantas enriquecidas a largo plazo.

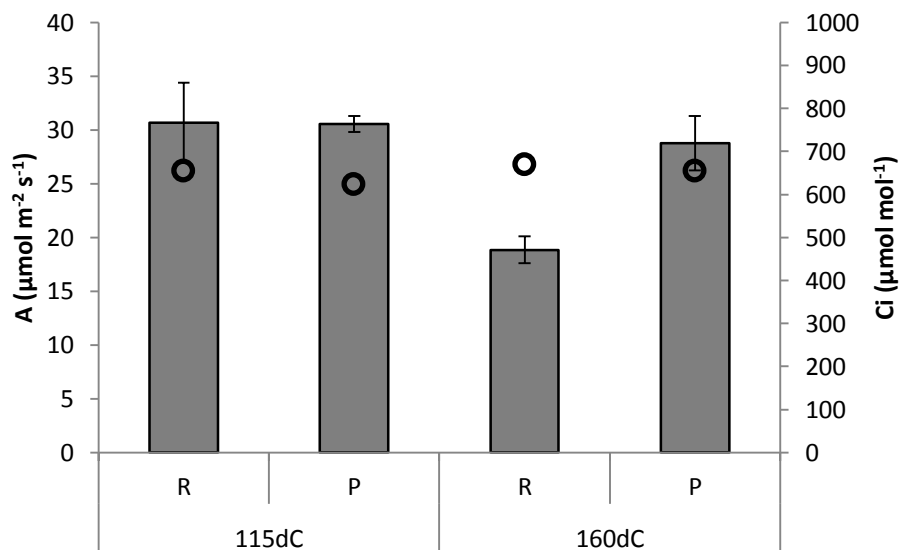


Figura 24. Tasa de asimilación foliar neta de CO_2 a Ca de $800 \mu\text{mol m}^{-1}$ (A_{800} , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (columnas) de plantas crecidas en el invernadero con enriquecimiento carbónico de referencia (R) y parcial (P), y concentración de CO_2 intercelular (C_i , $\mu\text{mol mol}^{-1}$) (círculos). Medidas realizadas a partir de los 115 días desde el inicio del aporte de CO_2 (dC) y a los 160 dC. Los datos son el valor promedio de 6 plantas por invernadero.

Tabla 16. Fotosíntesis a nivel de hoja medida a una concentración de CO_2 en el aire de $800 \mu\text{mol mol}^{-1}$ (A_{800} ; $\mu\text{mol mol}^{-1} \text{s}^{-1}$) en plantas de R y P durante diferentes días de aporte de CO_2 (dC) y su relación con la C_i resultante. Los valores corresponden a la media de seis plantas por tratamiento. Diferencias significativas se indican: **, $P < 0,01$; n.s., diferencias no significativas.

	115dC		160dC	
	A	A_{800}/C_i	A	A_{800}/C_i
R	30,68	0,047	18,85	0,030
P	30,55	0,046	28,78	0,044
Aporte	ns	ns	**	**

4.2.2.2. Bioproductividad

El análisis del peso seco total (PST) y su reparto entre las fracciones generativa (PSG) y vegetativa (PSV) (figura 25), mostró valores similares de producción de materia seca en las plantas de ambos invernaderos durante todo el experimento, no observándose diferencias significativas en las determinaciones realizadas antes del cese del aporte de CO_2 en P (85 dC), ni en las realizadas al final del experimento (188 dC). De igual manera, el estudio de los índices LAI y SLA (Tabla 17) no mostraron diferencias significativas entre invernaderos en el transcurso del experimento.

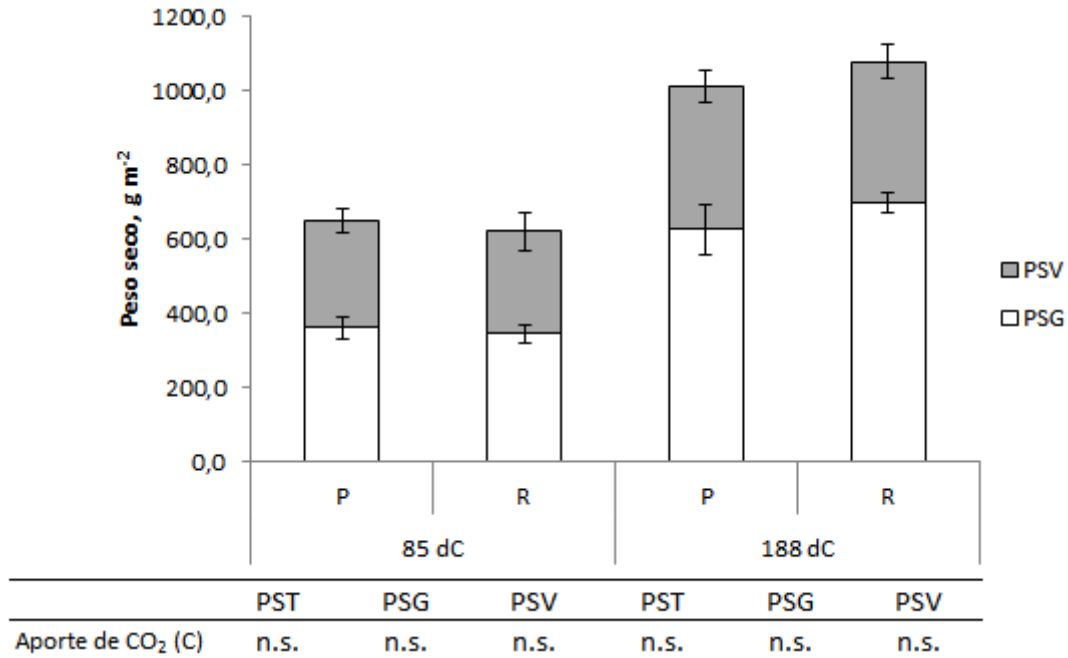


Figura 25. Peso seco total (PST) y su reparto entre fracción generativa (PSG) y vegetativa (PSV), de plantas desarrolladas en invernaderos con diferente estrategia de aporte de CO₂: P: Aporte de CO₂ durante parte del ciclo; R: Aporte de CO₂ durante todo el ciclo. Las diferencias significativas se indican: n.s. sin diferencias significativas

Tabla 17. Índice de área foliar (LAI, m² m⁻²) y área foliar específica (SLA, m² g⁻¹) de plantas crecidas en el invernadero donde se interrumpió el aporte de CO₂ (P) y el invernadero de referencia (R). Los valores corresponden a la media de seis plantas por tratamiento. Las diferencias significativas se indican: n.s., sin diferencias significativas.

C	85 dC		188 dC	
	LAI	SLA	LAI	SLA
P	2,2	0,021	2,4	0,018
R	2,2	0,02	2,4	0,018
Estrategia APORTE CO ₂ (C)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

En ambos invernaderos se obtuvo una evolución similar de la producción de fruto acumulada, total y comercial (figura 26), no mostraron diferencias significativas a lo largo del experimento. La tabla 18 muestra los valores finales con diferencias inferiores al % que no fueron significativas.

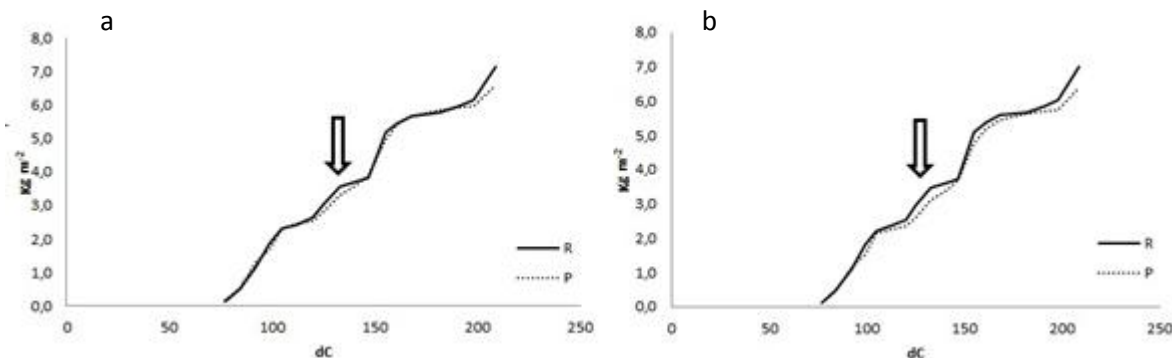


Figura 26. Evolución de la producción (kg m^{-2}) total (a) y comercial (b) acumulada obtenida en el invernadero con cese anticipado del enriquecimiento carbónico (P) y referencia (R). La flecha indica el momento en el que se interrumpió el aporte de CO_2 en P.

Tabla 18. Producción de fruto final acumulada (kg m^{-2}), total y comercial, obtenida en el invernadero con enriquecimiento carbónico de referencia (R) y parcial (P). Las diferencias significativas se indican: n.s., no existen diferencias significativas a $P < 0,05$.

	Producción total (kg m^{-2})	Producción comercial (kg m^{-2})
R	9,6	9,5
P	8,8	8,6
	n.s.	n.s.

4.2.2.3. Eficiencia del aporte de CO_2

Durante la primera fase del experimento con enriquecimiento carbónico similar en ambos invernaderos se gastó en ellos la misma cantidad de CO_2 ($4,83 \text{ kg m}^{-2}$). Después del cese anticipado de la aplicación en P, el enriquecimiento de referencia supuso un aporte de $2,21 \text{ kg m}^{-2}$ hasta alcanzar un total de $7,04 \text{ kg m}^{-2}$ al final del experimento (209 dC) en dicho invernadero, de manera que el enriquecimiento parcial resultó en una reducción del 31% en el aporte total respecto a R.

4.2.2.3.1. Eficiencia respecto al CO_2 asimilado

A partir de la diferenciación de tratamientos con la interrupción del aporte de CO_2 en el invernadero P a los 132 dC, se determinó la ϵ_A en el cultivo con enriquecimiento carbónico de referencia (R) en relación a su respuesta en la producción de materia seca respecto al cultivo ya sin aporte de CO_2 en el invernadero P. Durante este periodo (figura 27) los valores de $\epsilon_{A_{\text{VEG}}}$ fueron muy bajos, inferiores al 1%. En cuanto a la fracción generativa, $\epsilon_{A_{\text{GEN}}}$, aunque inicialmente se mantuvo en torno al 7%, en 10 días después la aplicación resultó totalmente ineficiente.

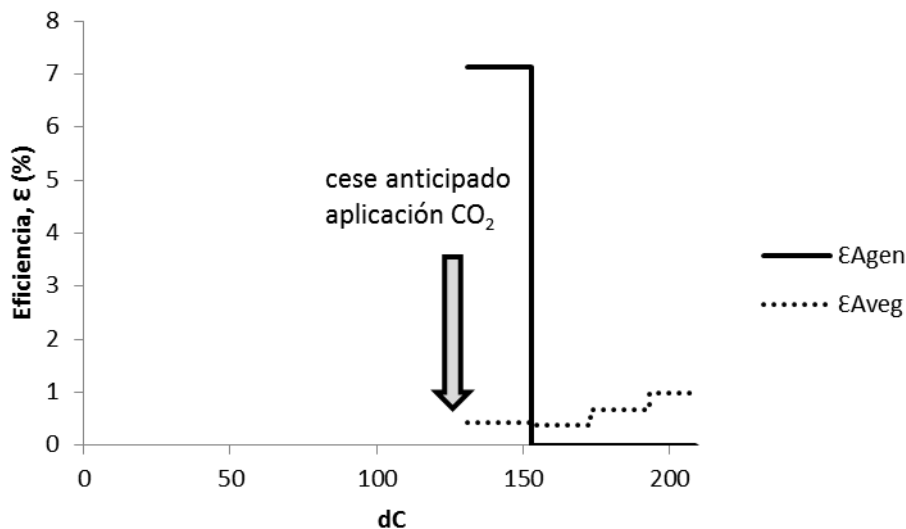


Figura 27. Evolución de la eficiencia del enriquecimiento carbónico respecto al CO_2 asimilado y localizado en la materia seca vegetativa (ϵ_{Aveg}) y generativa (ϵ_{Agen}). Valores medios de periodos de 10 días.

4.2.2.3.2. Eficiencia respecto al rendimiento productivo

La estrategia de enriquecimiento carbónico parcial (P), no supuso una reducción significativa de la producción. La eficiencia del aporte respecto al rendimiento productivo (ϵ_P) fue superior en el tratamiento P respecto R ($1,8 \text{ kg fruto kg}^{-1} \text{ CO}_2$ frente a $1,3 \text{ kg fruto kg}^{-1} \text{ CO}_2$ obtenido en R).

Según los precios publicados por el Observatorio de Precios de la Junta de Andalucía para la campaña 2014/15, el valor de la producción obtenida en R y P fueron de $5,48 \text{ € m}^{-2}$ y $4,92 \text{ € m}^{-2}$, respectivamente. Previo al período de recolección, el coste acumulado del aporte de CO_2 en ambos invernaderos fue de $0,46 \text{ € m}^{-2}$, lo que supuso el 32,6% y el 47,7% del coste total de la aplicación para el invernadero donde se aportó CO_2 durante todo el ciclo (R) y en el que se interrumpió la aplicación (P) respectivamente.

En el momento en el que se suspende el aporte de CO_2 en el invernadero P, el coste acumulado de la aplicación en ambos invernaderos fue de $0,97 \text{ € m}^{-2}$. El gasto total acumulado en el invernadero donde se mantuvo el aporte de CO_2 durante todo el ciclo fue de $1,41 \text{ € m}^{-2}$. Por lo que la estrategia del cese anticipado del enriquecimiento carbónico en P supuso un ahorro del 31% en el gasto total de CO_2 respecto a la estrategia de referencia (R).

4.2.4. Influencia de la limitación de la poda de frutos en el cultivo de pimiento con enriquecimiento carbónico (Experimento III)

4.2.4.1. Asimilación foliar de CO_2 .

La figura 28 y tabla 19 muestran los valores medidos de la actividad fotosintética de hojas a elevada concentración de CO_2 (A_{800} , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) realizadas en plantas con diferente tipo de poda,

a los 115 y 160 dC. En el primer muestreo no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos 1F y 2F; posteriormente, la actividad fotosintética medida a los 160 dC se redujo considerablemente en ambos tratamientos, aunque en menor medida en el cultivo con menos poda (2F) que mostró un valor de A_{800} un 27,2% superior que en 1F. Este efecto fue más evidente en términos relativos a la C_i (A_{800}/C_i), un 40% mayor con el tipo de la poda de 2F respecto a 1F.

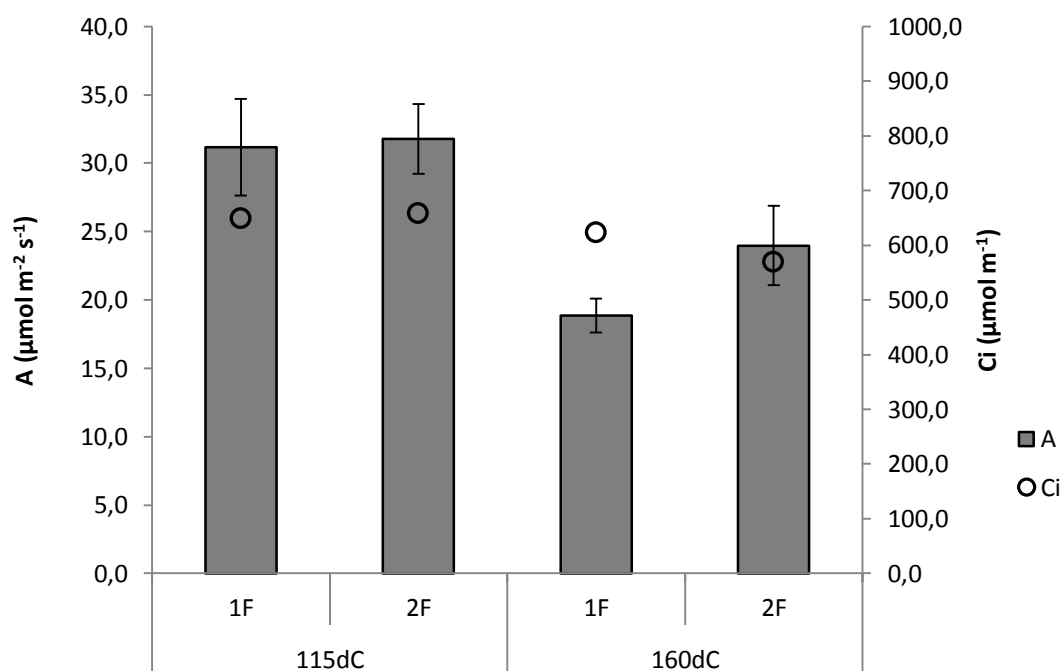


Figura 28. Tasa de asimilación foliar neta de CO_2 medida a C_a de $800 \mu\text{mol mol}^{-1}$ (A_{800} , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (columnas) y concentración de CO_2 intercelular (C_i , $\mu\text{mol m}^{-1}$) (círculos) a los 115 días de inicio del aporte de CO_2 (dC) y a los 160 dC, en plantas donde se permitió el desarrollo de 1 fruto (1F) y 2 frutos (2F) por nudo. Los datos son el valor promedio de 6 plantas por tratamiento. Las diferencias significativas se indican: *, $P < 0,05$.

Tabla 19. Fotosíntesis a nivel de hoja medida a una concentración de CO_2 en el aire de $800 \mu\text{mol mol}^{-1}$ (A_{800} ; $\mu\text{mol mol}^{-1} \text{s}^{-1}$) en plantas donde se permitió el desarrollo de 1 fruto (1F) o 2 frutos (2F) por nudo y su relación con la C_i resultante. Los valores corresponden a la media de seis plantas por tratamiento. Diferencias significativas se indican: * $P > 0,05$; n.s., diferencias no significativas.

	115dC		160dC	
	A	A_{800}/C_i	A	A_{800}/C_i
1F	31,2	0,048	18,05	0,030
2F	31,8	0,048	23,98	0,042
Aporte	ns	ns	*	*

4.2.4.2. Bioproduktividad

En la tabla 20 se presenta la producción final de biomasa aérea generativa (PSG) y vegetativa (PSV) obtenida en el experimento, así como el índice de área foliar (LAI) y el área foliar específica

(SLA), para ambos tratamientos (1F, 2F). Aquellas plantas donde se permitió el desarrollo de 2 frutos por nudo (2F) mostraron un aumento significativo en el PSG (+7%), respecto a aquellas plantas donde únicamente se permitió el desarrollo de un fruto (1F). Por otra parte, la fracción vegetativa (PSV) no mostró diferencias significativas entre tratamientos, al igual que no se observaron para el índice de área foliar y el área foliar específica.

Tabla 20. Valores medios del peso seco final vegetativo (PSV) y generativo (PSG), del índice de área foliar (LAI) y del área foliar específica (SLA), obtenidos al final del experimento, con la poda para dejar 1 (1F) o 2 (2F) frutos por nudo principal. Diferencias significativas se indican mediante *, $P < 0,05$; n.s., sin diferencias significativas.

	PSV ($\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$)	PSG ($\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$)	LAI ($\text{m}^2\cdot\text{m}^{-2}$)	SLA ($\text{cm}^2\cdot\text{g}^{-1}$)
1F	448,3	966,7	2,3	120
2F	458,0	1038,5	2,6	130
	ns	*	ns	ns

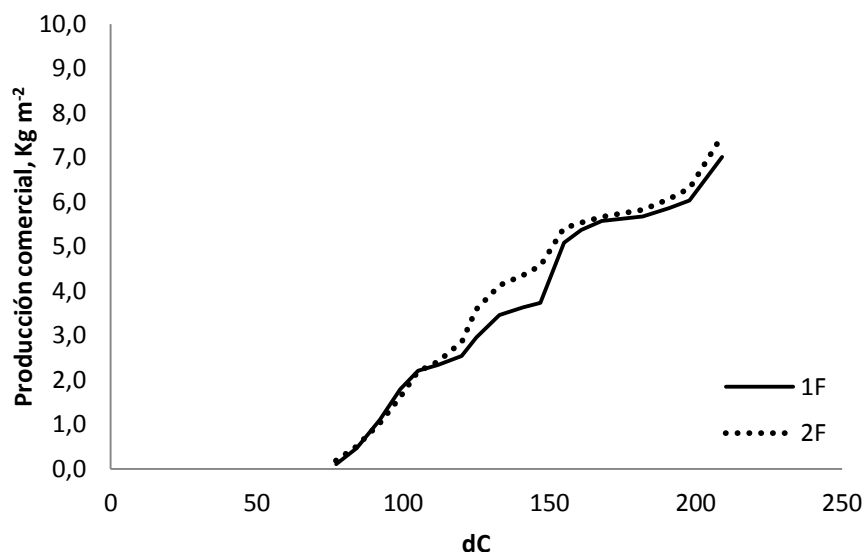


Figura 29. Evolución de la producción comercial (P , kg m^{-2}) acumulada a lo largo del experimento (días desde el inicio de la aplicación, dC). Diferencias significativas se indican mediante *, $P < 0,05$; n.s., sin diferencias significativas.

La figura 29 muestra la evolución del peso fresco del fruto recolectado a lo largo del experimento. La limitación de la poda a nivel de frutos mejoró la producción precoz, de manera que la fracción comercial acumulada hasta los 147 días desde el inicio de la aplicación de CO_2 (dC) en el tratamiento 2F ($4,72 \text{ kg m}^{-2}$) fue un 24% superior a 1F ($3,82 \text{ kg m}^{-2}$). Posteriormente, estas diferencias se amortiguaron y al final del cultivo, no se observaron diferencias significativas en la producción total y comercial acumuladas obtenidas con ambos tipos de poda (tabla 21), debido principalmente a que el aumento en el número de frutos con la poda 2F se compensó con una reducción significativa de su peso medio, frente a los frutos procedentes del tratamiento 1F.

Tabla 21. Producción acumulada, número y peso medio de los frutos totales y comerciales de plantas a las que se les permitió el desarrollo de 1 fruto por nudo (1F) o de 2 frutos (2F). Diferencias significativas se indican mediante *, $P < 0,05$; n.s., sin diferencias significativas.

	Producción (kg.m ⁻²)		Nº Frutos (Frutos.m ⁻²)		Peso Medio Fruto (g)	
	Total	Comercial	Total	Comercial	Total	Comercial
1F	9,6	9,5	37,8	37,1	254,3	255,3
2F	10,0	9,7	43,0	41,3	231,7	234,6
	ns	ns	*	*	*	*

4.2.4.3. Eficiencia del aporte de CO₂ respecto al rendimiento productivo

La eficiencia productiva final del enriquecimiento carbónico (EP) fue similar entre tratamientos, obteniéndose valores de 1,3 y 1,4 kg fruto kg⁻¹ CO₂ para 1F y 2F respectivamente.

El coste final acumulado derivado del aporte de CO₂ en el aire del invernadero fue de 1,41 € m⁻². Según los precios de producto publicados por el Observatorio de Precios de la Junta de Andalucía para la campaña 2014/15, la diferencia de producción precoz, obtenida hasta los 147 dC, a favor de 2F permitió un aumento de ingresos del 14,3% respecto a 1F. Sin embargo, el valor acumulado final de la producción fue similar en ambos tratamientos, de 5,48 € m⁻² en 1F, y de 5,74 € m⁻² en 2F.



Capítulo V

Discusión

5. Discusión

5.1. Estudio de la aclimatación fotosintética frente al enriquecimiento carbónico en un cultivo de pimiento en invernadero mediterráneo. Influencia de la fuente de nitrógeno y la salinidad.

La estimulación fotosintética de plantas en respuesta al enriquecimiento de CO₂ (800 μmol mol⁻¹) durante un periodo corto de exposición se observó en plantas cultivadas a la concentración ambiental (figura 13), tal como está documentado ampliamente (Cure and Acock, 1986). El aumento de la salinidad en la solución nutritiva generalmente mostró una reducción en la ganancia de dicha estimulación *versus* el incremento en C_i (estadísticamente significativa a los 58 y 135 dC) y se observó una influencia positiva del aporte de NH₄⁺ a los 58 dC. Otros autores no han encontrado interacción en el efecto del aumento en la concentración de CO₂ sobre la fotosíntesis ni con la salinidad (Mavrogianopoulos *et al.*, 1999) ni con la fuente de N (Cruz *et al.* 2014). Sin embargo, Guo *et al.* (2002) describieron, en plantas de judía, una mejora de la actividad fotosintética por el uso de NH₄⁺ respecto al uso exclusivo de NO₃⁻, lo que también se ha observado en pimiento (Piñero *et al.*, 2014).

La estrategia de enriquecimiento carbónico seguida en el cultivo desarrollado durante el ciclo 2013-14 permitió mantener la concentración de CO₂ en el invernadero C1 mayor o similar a la atmosférica, siendo variable en el tiempo, cada día y a lo largo del ciclo de cultivo (figura 12); observándose inicialmente (después de 31 y 58 días) una actividad fotosintética a nivel de hoja similar o ligeramente superior a la de plantas desarrolladas en condiciones ambientales de CO₂ (figura 13). A menudo durante el experimento, las plantas estuvieron sometidas a alta concentración de CO₂ solo durante periodos del día relativamente cortos. Sin embargo, la mayoría de los estudios realizados sobre aclimatación se refieren a una exposición a largo plazo a una concentración alta y fija, mientras que son escasos aquellos en los que se ha aplicado enriquecimiento carbónico variable, como el llevado a cabo en tomate por Hao *et al.* (2006).

Las plantas cultivadas en condiciones de enriquecimiento carbónico mostraron inicialmente (31 y 58 dC) una actividad fotosintética a elevada concentración de CO₂ (A₈₀₀) similar a la de plantas desarrolladas en condiciones atmosféricas (Figura 13). La aplicación de NH₄⁺ en la solución nutritiva, en comparación con el uso exclusivo de NO₃⁻, mejoró la actividad fotosintética a alta concentración de CO₂ a los 58 dC; sin embargo, después de 135 días de crecimiento bajo enriquecimiento carbónico variable se observó una pérdida de la actividad fotosintética en ambos tratamientos de fuente de nitrógeno.

La evaluación del índice de aclimatación (IA) mostró un cambio estadísticamente significativo desde los 58 dC (con un valor medio de 1,12) a los 135 dC (con un valor medio de 0,58) (figura 14). Esto indica la aclimatación de las plantas después de estar bajo condiciones de enriquecimiento carbónico variable en el periodo comprendido entre las determinaciones. Los valores del IA, menores a 1, están en el rango encontrado por Pierce *et al.* (2003) en pastos aclimatados a altas concentraciones de CO₂. A diferencia de los resultados obtenidos por Pérez-López *et al.* (2014), no

se encontró una menor aclimatación fotosintética al enriquecimiento carbónico a alta CE que a baja CE, aunque el nivel de estrés salino aplicado en su estudio fue mucho mayor (80 – 240 mM NaCl) que en este (25 mM NaCl).

Delucia *et al.* (1985) indicó que el cierre parcial estomático es insuficiente para explicar la aclimatación fotosintética. En el experimento I, los valores de la ratio A_{800}/C_i (tabla 8) mostraron que el proceso de aclimatación estuvo relacionado con una pérdida en la eficiencia para la fijación de CO₂, como sugirió Yelle *et al.* (1990).

El proceso de aclimatación fotosintética a elevadas concentraciones de CO₂ se ha asociado frecuentemente a cambios en la morfología y la composición de las hojas. Qian *et al.* (2012) concluyeron que la concentración de CO₂ elevada reduce el SLA, señal de aclimatación morfológica de las plantas. En el experimento llevado a cabo durante el ciclo 2013-14, se observó una tendencia de reducción del SLA en las plantas desarrolladas bajo condiciones de enriquecimiento carbónico variable, independientemente de la concentración de salinidad y de la fuente de N empleada en la nutrición (tabla 9). Nederhoff (1994) y Peñuelas *et al.* (1995) observaron que el SLA en plantas de pimiento fue menor a alta que a baja concentración de CO₂ y Bertin & Gary (1998) encontraron un incremento en el peso específico foliar (valor inverso al SLA) en plantas de tomate en condiciones de enriquecimiento carbónico cuando la carga de fruto era baja. De acuerdo con los resultados obtenidos por Yelle *et al.* (1990), durante el experimento I, se detectó una mayor reducción de SLA debido al efecto del enriquecimiento carbónico a medida que aumentaban los días de tratamiento (dC) (tabla 9).

Los resultados no mostraron cambios en el LAI debidos al enriquecimiento carbónico, por lo que la reducción del SLA podría estar relacionada con la acumulación de carbohidratos a nivel de hoja o con el incremento del espesor de la hoja (Wolfe *et al.* 1998). La reducción de SLA en condiciones de elevado CO₂ está generalmente asociada a un excedente de larga duración de asimilados, cuando su producción supera a la capacidad de ser utilizados o transportados a otros órganos sumidero. El almidón es considerado un producto de desbordamiento de la fotosíntesis y su acumulación puede ser un indicador del estado del carbono (C) en la planta (Edwards *et al.* 2008). El contenido de carbohidratos no estructurales (NSCs) y su composición (almidón y TSS) reflejan el balance entre fuente y sumidero de C en plantas e indican las estrategias de adaptación de las plantas cuando las condiciones ambientales cambian (Li *et al.*; 2016). La acumulación de NSCs es una respuesta común de muchas especies a la concentración elevada de CO₂ (Körner *et al.*, 1995; Wang *et al.*, 1999). Edwards *et al.* (2010) señalaron a las hojas superiores del dosel vegetal como las de mayor información del estatus de C en plantas de tomate. En este sentido, las concentraciones de carbohidratos presentadas en este trabajo están referidas a hojas localizadas en la parte superior del dosel vegetal, siendo las mismas donde se midió la fotosíntesis.

En el experimento I, previo a la detección de aclimatación fotosintética (58 dC), las hojas desarrolladas en condiciones de enriquecimiento carbónico mostraron un mayor contenido en almidón en comparación con las hojas desarrolladas en el invernadero testigo (tabla 10). El aumento en el contenido de carbohidratos presentes en las hojas es el cambio más común

observado en hojas de plantas C_3 desarrolladas bajo condiciones de elevado CO_2 (Drake et al.; 1997). EL uso de NH_4^+ en la solución nutritiva incrementó los TSS pero no afectó a la acumulación de almidón a los 58 dC; esta respuesta podría relacionarse con una mejor utilización de los productos de la fotosíntesis extra. Posteriormente, las hojas de plantas crecidas durante 155 días en condiciones de enriquecimiento carbónico no acumularon más almidón que las de plantas cultivadas en condiciones de referencia, debido probablemente a la menor tasa fotosintética registrada en esta fase del cultivo (figura 13). Bajo condiciones no salinas, Pérez-López et al. (2014) encontraron una relación directa entre aclimatación fotosintética y el contenido de almidón en hojas de cebada, indicando que un incremento del contenido de almidón disminuía la asimilación fotosintética de CO_2 . A pesar de que la acumulación de carbohidratos a elevada concentración de CO_2 está relacionada generalmente con la aclimatación, a menudo está mal correlacionado con la pérdida de capacidad fotosintética (Long et al., 2004). Los resultados presentados no mostraron una correlación entre NSC y A_{800} (figura 15). Al contrario de los resultados obtenidos por Pérez-López et al. (2014), no se observó un efecto de la salinidad sobre la acumulación de almidón y su relación con la aclimatación fotosintética.

Además de la acumulación de almidón, se ha observado una reducción del contenido de N en hoja en cultivos enriquecidos de pepino (Ito, 1978), lechuga (Knecht y O'Leary, 1983) y judías (Porter y Grodzinski, 1984). Los resultados obtenidos en pimiento registraron una menor concentración de N foliar tras 58 días bajo condiciones de enriquecimiento variable de CO_2 (-10%) frente a las medidas realizadas en R (tabla 10). Esta reducción está dentro del rango 10-15% (Kant et al., 2012). No se observó efecto del CO_2 sobre el contenido de N foliar a los 155 dC, al igual que lo observado en el contenido de almidón.

Se ha sugerido que los cambios en el metabolismo foliar causado por elevadas concentraciones de CO_2 están relacionados con alteraciones en el estado del N en las hojas (Kim et al., 2006; Leaky et al., 2009; Sanz-Sáez et al., 2010). Los resultados obtenidos han mostrado que la concentración foliar de N podría contribuir a la variación de la actividad fotosintética foliar medida a elevadas concentraciones de CO_2 (figura 15). La limitación de N suele estar relacionada con la aclimatación de la fotosíntesis bajo periodos prolongados de enriquecimiento carbónico (Sun et al., 2002). Algunos autores atribuyen el descenso de la concentración de N a la incapacidad de absorción de N a la misma velocidad que aumenta la acumulación de carbohidratos (Hungate et al., 2003; Norby et al., 2001) o a una limitación progresiva de N (Luo et al., 2004; Reich et al.; 2006). El descenso de N puede verse mitigado por una fertilización nitrogenada (Yin, 2002). En este estudio, la concentración de N presente en hoja aumentó cuando se aportó una fracción de N como NH_4^+ .

La estrecha coordinación entre la actividad fotosintética y la demanda de C por los órganos sumideros está documentada en diferentes especies (de Groot et al., 2003). Sin considerar el nivel de salinidad o la fuente de N en la solución nutritiva, los resultados obtenidos en el experimento I mostraron que la mayor actividad fotosintética bajo enriquecimiento variable de CO_2 , comparado con las condiciones de referencia (figura 13), inicialmente estaba acompañada de una mayor demanda de sumidero por parte de los frutos (Figura 16). Sin embargo, la diferencia de demanda

de sumidero entre los tratamientos de CO₂ desapareció a los 133 dC de la exposición a elevadas concentraciones de CO₂. En este sentido, Sanz-Sáez *et al.* (2010) indicaron que tras largos periodos de exposición a elevadas concentraciones de CO₂ el desarrollo de órganos sumideros se reduce. Una concentración elevada de CO₂ provoca inicialmente una estimulación y formación de sumideros adicionales para utilizar los fotoasimilados extra, pero posteriormente hay un cambio, de manera que, estos se destinan al almacenaje más que al crecimiento (Arp 1991). En el experimento I, la falta de diferencias entre tratamientos de CO₂ en la demanda de sumidero observada a los 133 dC podría haber limitado la capacidad para usar los fotoasimilados extra producidos en las plantas enriquecidas. Esta limitación de sumidero podría haber contribuido a la aclimatación fotosintética detectada a los 135 dC. Qian *et al.* (2012) sugerían que la elevada concentración de CO₂ no causaba la inhibición “feed-back” de la fotosíntesis en los cultivos con alta producción, con suficientes sumideros (frutos) para utilizar los asimilados extra.

5.2. Evaluación de la fuente de nitrógeno aportada en la solución nutritiva como estrategia para mejorar el rendimiento de un cultivo de pimiento en condiciones de enriquecimiento carbónico.

El enriquecimiento carbónico mejoró la bioproductividad final del cultivo de pimiento, especialmente en la fracción de fruto, de acuerdo a los resultados de Alonso *et al.* (2011) obtenidos en dicha especie bajo condiciones mediterráneas similares. Este efecto además mitigó parcialmente la reducción de la producción (total y comercial) causada por alta salinidad, de acuerdo a los resultados encontrados en cultivo de tomate por Li *et al.* (1999) y Lorenzo *et al.* (2013). Conroy y Hocking (1993) observaron como la tasa de crecimiento de las plantas desarrolladas bajo niveles elevados de CO₂ podría verse limitado por el N disponible.

El efecto del enriquecimiento carbónico en la reducción del contenido de nutrientes en diferentes tejidos de plantas desarrolladas bajo estas condiciones está ampliamente documentado. Segura *et al.* (2001) y Sánchez-González (2014) observaron una reducción del contenido de nutrientes en un cultivo de pepino y tomate respectivamente desarrollado bajo enriquecimiento carbónico. Esta reducción varía según el órgano de la planta y del ciclo de cultivo. Peet *et al.* (1986) observaron una reducción drástica de todos los elementos presentes en los tejidos durante el crecimiento vegetativo y generativo de un cultivo de pepino con aporte de CO₂, especialmente la concentración de Ca. Los resultados de este estudio han puesto de manifiesto una reducción significativa en el contenido de N y K extraído por la fracción HOJA en el cultivo desarrollado bajo enriquecimiento variable de CO₂ (figura 19) coincidiendo con los resultados obtenidos por Alonso (2011) para un cultivo de pimiento. La relación entre los nutrientes extraídos y aportados para los elementos estudiados fue de un 50% menor que los resultados obtenidos por Sánchez-González *et al.* (2014) para un cultivo de tomate desarrollado en condiciones similares a las nuestras.

La absorción y asimilación del N en forma de NO₃⁻ pueden verse reducidas en condiciones de salinidad alta (Botella *et al.*, 1994) y de enriquecimiento carbónico (Bloom *et al.* 2002). En el experimento I, el uso de una pequeña fracción de NH₄⁺ como fuente de N incrementó inicialmente el crecimiento vegetativo (en ausencia de frutos), en coherencia con la mejora de la actividad

fotosintética, respecto al uso exclusivo de NO_3^- como fuente de N, reduciendo así también el efecto negativo de la salinidad y confiriendo al cultivo un mayor potencial productivo. Sin embargo, este beneficio inicial del crecimiento vegetativo por el uso de amonio no permaneció durante la fase generativa e incluso el efecto llegó a ser perjudicial en combinación con condiciones de alta salinidad.

El efecto del enriquecimiento carbónico variable sobre la producción mostró una evolución según la cual una vez alcanzada una ganancia máxima se produjo una reducción del efecto positivo, lo cual es coherente con la pérdida observada en la capacidad fotosintética a alta concentración de CO_2 por el proceso de aclimatación. Otros autores han encontrado que la influencia del enriquecimiento carbónico sobre la producción fue mayor durante las primeras fases del período generativo en tomate (Yelle *et al.*, 1990), pimiento (Nederhoff, 1994) y pepino (Sánchez-Guerrero *et al.*, 2005). La mayor ganancia en producción debida al enriquecimiento carbónico se encontró en plantas desarrolladas a baja CE y con aporte de NH_4^+ en la solución nutritiva. Esto es consistente con el aumento de concentración de N en las hojas bajo esas condiciones y su relación con la mayor tasa fotosintética medida a alta concentración de CO_2 . Además, estas condiciones causaron un retraso (23 días) en la pérdida de estimulación de la producción (figura 18a) lo que sugiere un retraso en la aparición de la aclimatación fotosintética. El efecto positivo del uso de NH_4^+ podría estar relacionado con el aumento en la asimilación de N (Bloom *et al.*, 2010; Cruz *et al.*, 2014) porque la máxima estimulación del crecimiento a elevada concentración de CO_2 requiere N adicional para maximizar la asimilación de C (Kant *et al.*, 2012). Xu *et al.* (2002) reportaron una estimulación de la asimilación de N y un aumento de la producción total en pimiento cuando una parte del N aportado fue como NH_4^+ . Por el contrario, bajo condiciones de elevada salinidad, se observó un efecto negativo del uso de NH_4^+ sobre la ganancia máxima de producción, lo cual podría estar relacionado con una limitación de otros nutrientes como el calcio, cuya absorción es inhibida en estas condiciones (Navarro *et al.*, 2005). El estrés salino reduce la asimilación de NO_3^- (Botella *et al.*, 1994) y una fertilización combinada con $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ podría ser beneficiosa en condiciones de salinidad; sin embargo, existen diferencias entre los niveles óptimos para diferentes especies (Sandoval-Villa *et al.*, 1999) y condiciones climáticas.

A nivel de producción comercial, la mayor incidencia de blossom end rot (BER) en los frutos desarrollados con aporte de NH_4^+ (tabla 11) contribuyó a que no hubiese diferencias significativas entre tratamientos de fuente de N en la solución nutritiva. Bar-Tal *et al.* (2001), en condiciones de enriquecimiento carbónico observaron un incremento en la incidencia de este desorden al variar la relación entre $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$. Piñero *et al.* (2017) observaron una reducción del contenido mineral, especialmente Ca, Cu, Mg, P y Zn, presente en los frutos cuando estos fueron desarrollados con un aporte de NH_4^+ en la solución nutritiva. Ghoname *et al.* (2009) observaron que el contenido de Ca y Mg se vio reducido cuando aumentaba la proporción de NH_4^+ en la solución nutritiva, lo que sugiere una competencia entre NH_4^+ y estos minerales en el cultivo de pimiento.

Según Giuffrida y Leonardi (2012), la cantidad de nutrientes aplicados en relación a diversos parámetros de los sistemas productivos va a determinar la eficiencia del uso de los nutrientes. De esta manera, la eficiencia en el uso de los nutrientes, como el nitrógeno entre otros nutrientes, se

puede calcular de diferentes formas (Fageria y Baligar, 2005). En este documento se han calculado la eficiencia medioambiental (EMA) y la eficiencia productiva (EP) con el fin de conocer la eficiencia del uso de los diferentes nutrientes, basándonos en los trabajos de Contreras et al. (2013); Yasour et al. (2013) y Fageria (2014).

Según Yasour et al. (2013), la eficiencia medio ambiental (EMA) de un nutriente corresponde al porcentaje del nutriente en cuestión absorbido por la planta respecto del total aplicado en la solución nutritiva. Maximizando esta eficiencia reducimos el impacto ambiental generado por la aplicación excesiva de fertilizantes. En nuestro estudio, el aporte de enriquecimiento carbónico mejoró de manera significativa la EMA de los elementos estudiados (tabla 13). La incorporación de una fracción de amonio en la solución nutritiva resultó en variaciones de la EMA para cada uno de estos elementos, obteniéndose solo una mejora de la misma en el caso del N. Contreras (2014) observó variaciones de la EMA en diferentes cultivos, entre ellos el pimiento, al variar la concentración en la composición de la solución nutritiva empleada en la fertirrigación, llegando a observar una disminución de dicha eficiencia al aumentar el aporte de fertilizantes.

El estudio de la eficiencia productiva de los nutrientes (EP) nos permite conocer el porcentaje de nutriente absorbido por el fruto en relación al total de nutriente absorbido por la planta (Segura et al., 2009, Contreras et al., 2013). Este indicador es de gran importancia al estudiar directamente la proporción que va destinada a fruto, que en el caso del pimiento es el órgano consumible.

Aunque en nuestro estudio los valores de EP (tabla 14) fueron inferiores a los resultados obtenido por Contreras (2014) para el cultivo de pimiento (39-45% para el N y 40-47% para el K), el aporte de CO₂ mejoró de manera significativa dicha eficiencia.

Dependiendo de la dosis de nutrientes empleadas, se han observado variaciones en la proporción de N y K destinadas a la parte generativa y vegetativa de las plantas, siendo mayor el porcentaje de N y K de la parte vegetativa cuando existe un excesivo aumento de la fertilización de NK en detrimento del fruto (Contreras, 2014). En nuestro trabajo, el aporte de una fracción de amonio en la solución nutritiva se tradujo en una menor EP, respecto al uso exclusivo de NO₃⁻, para N, K, Ca y Mg.

El aporte de CO₂ durante el experimento I resultó en una mayor eficiencia en el uso del agua aportada (WUEs) en condiciones de baja salinidad (tabla 12) respecto al valor obtenido en CO (23%) siendo este incremento similar a los obtenidos por Alonso (2010) y Baba et al. (2006) en un cultivo de pimiento en invernadero mediterráneo (25% y 26% respectivamente). Así mismo, los resultados obtenidos en condiciones de alta conductividad en el agua de riego, mostraron un aumento de la eficiencia (+10%) en el uso del agua aportada en condiciones de enriquecimiento carbónico. Sánchez-González et al. (2016) observaron que el enriquecimiento carbónico en el aire del invernadero mediterráneo dio una mayor eficiencia tanto en el uso del agua aportada como absorbida en cultivo de tomate RAF, independientemente de las condiciones de salinidad.

Del mismo modo, en este estudio Sánchez-González *et al.* (2016) no observaron una mejora en la eficiencia en el uso del agua absorbida (WUEu) en condiciones de salinidad. En nuestro caso, tampoco hemos observado dicho incremento de la eficiencia en condiciones de alta salinidad (tabla 12). Tanto WUEs como WUEu no mejoraron mediante el aporte de una fracción de amonio en la solución nutritiva.

5.3. Estrategias para la mejora de la eficiencia del enriquecimiento carbónico en invernadero mediterráneo

La eficiencia media del aporte de CO₂ realizado en el experimento I, referida a su asimilación en materia seca vegetativa ($\epsilon_{A_{VEG}}$) y generativa ($\epsilon_{A_{GEN}}$) en el cultivo con solución nutritiva de referencia (SN1 y B-EC), fue aproximadamente del 1% y 4% respectivamente, valores que son del mismo orden, aunque inferiores, a los descritos bajo condiciones similares de enriquecimiento carbónico en cultivo de pepino ($\epsilon_{A_{VEG}}= 2\%$ y $\epsilon_{A_{GEN}}= 6\%$) (Sánchez-Guerrero *et al.*, 2005) y en pimiento ($\epsilon_{A_{GEN}}=7\%$) (Alonso, 2011). Así mismo, la pérdida de eficiencia, referida a ambas fracciones, observada en la última fase del cultivo también está descrita en pepino por Sánchez-Guerrero *et al.* (2005), quienes la relacionan con la posible aclimatación del cultivo a condiciones de enriquecimiento carbónico.

El aporte de CO₂ durante el experimento I, vinculado a la ventilación, supuso en condiciones de baja salinidad una eficiencia del aporte respecto al rendimiento productivo de 1,3 kg fruto kg⁻¹ de CO₂ aportado. Alonso (2011) obtuvo resultados similares siguiendo esta estrategia.

Según Nederhoff *et al.* (1994), la mejora de la eficiencia de la aplicación de CO₂ puede llevarse a cabo mediante la optimización de la aplicación del enriquecimiento carbónico, o bien a través de la modificación de la relación fuente/sumidero del cultivo para aumentar la cantidad de CO₂ asimilado. Los estudios realizados en invernaderos de clima mediterráneo sobre la aplicación del enriquecimiento carbónico del aire han puesto de manifiesto el interés de la técnica por la mejora que supone a nivel de productividad y eficiencia en el uso de agua, si bien es cierto que la eficiencia de la técnica es susceptible de mejora, tanto a nivel de precisión de las consignas seguidas como mediante la aplicación de técnicas de cultivo que permitan adecuar la relación entre fuente y sumidero de asimilados (Sánchez-Guerrero *et al.*, 2010). Por otra parte, mejorar esta eficiencia pasaría también por un mejor control de las diferentes variables climáticas en el invernadero mediterráneo que permitiera eludir las situaciones de estrés (efecto factor limitante).

5.3.1. Reducción del aporte de CO₂ mediante el cese anticipado de la aplicación.

Los resultados obtenidos en el experimento I permitieron establecer la fase de cultivo en la que se produjo el proceso de aclimatación fotosintética en el cultivo de pimiento con enriquecimiento carbónico variable, entre el comienzo de la reducción en la ganancia productiva y la fecha en la que se detectó la pérdida en la estimulación fotosintética a alto CO₂. Por término medio esta fase se podría situar entre los 110 y 135 dC. El cese del aporte de CO₂ en la atmósfera del invernadero una vez alcanzada esta fase es una de las estrategias planteadas en este trabajo para mejorar su eficiencia. Esta estrategia permitió reducir la pérdida de la eficiencia en la fijación

fotosintética de CO₂ de las plantas enriquecidas a largo plazo, observándose una mayor tasa fotosintética foliar a elevada concentración de CO₂ en las plantas tras 28 días desde el cese de la aplicación, en comparación con las que continuaron con el aporte durante todo el ciclo (figura 24). Estos resultados están en línea con los obtenidos por Sasek *et al.* (1985), que indican que la pérdida de tasa fotosintética tras un periodo de exposición a elevadas concentraciones de CO₂ en un cultivo de algodón puede ser revertida mediante la exposición a concentraciones ambientales de CO₂ (350 μmol mol⁻¹).

Las determinaciones realizadas durante el experimento II no mostraron diferencias significativas en la producción entre el invernadero donde se aportó CO₂ de manera variable durante todo el ciclo respecto al que se cesó el aporte en la fase de aclimatación (tabla 18). Este hecho pudo estar relacionado con la menor capacidad fotosintética observada en las plantas que continuaron en condiciones enriquecidas con CO₂ una vez alcanzada la fase de aclimatación.

El cese anticipado de la aplicación de CO₂ en uno de los invernaderos (P), supuso una interesante reducción del gasto total de CO₂ aplicado respecto a R, como se muestra en el apartado 4.2.2.3.2, observándose en este último una pérdida de la eficiencia respecto a la asimilación muy drástica en la fracción generativa a partir de 150 dC que estaría en línea con la aclimatación fotosintética del cultivo observada también en el experimento I después de 135 días de aplicación de enriquecimiento carbónico.

Esta estrategia mejoró la eficiencia respecto al rendimiento productivo en un 32% (1,8 y 1,3 kg fruto kg⁻¹ CO₂ en P y R respectivamente). Sin embargo, en términos económicos, no supuso ninguna ventaja.

5.3.2. Adecuación de la relación fuente/sumidero mediante el manejo de poda a nivel de frutos.

Thomas y Strain (1991) indicaron que cuando las plantas expuestas a elevado CO₂ tienen limitaciones para incrementar la potencia de sumidero, éstas disminuyen su tasa fotosintética para equilibrar la actividad de la fuente de C y la capacidad de suministro. En este sentido la ausencia de diferencias en la potencia de sumidero observada en el experimento I entre tratamientos de CO₂ a los 133 dC podría haber limitado el uso de los fotoasimilados adicionales producidos en las plantas enriquecidas (figura 16), contribuyendo a la aclimatación fotosintética detectada a los 135 dC.

La reducción de la poda habitual de frutos realizada en el experimento II en el tratamiento 2F propició inicialmente un aumento de la producción precoz (147 dC) respecto a la poda de referencia (1F). Este efecto podría estar relacionado con la menor pérdida de la estimulación fotosintética a elevada concentración de CO₂ observada después de 160 dC en el cultivo 2F respecto al 1F. Estos resultados están en línea con los de Qiang *et al.* (2012) quienes observaron la ausencia de reducción de la actividad fotosintética en cultivos de tomate desarrollados bajo condiciones de elevado CO₂ con un número elevado de frutos en desarrollo, capaces de consumir los asimilados extras generados. En la misma línea está la mayor respuesta al enriquecimiento carbónico obtenida por Nederhoff (1994) en plantas de tomate sin poda de frutos.

En cultivo de pimiento está descrita una reducción del SLA en atmósferas con elevada concentración de CO₂ (Nederhoff, 1994) que podría relacionarse con la acumulación de asimilados en las hojas cuando se aumenta la relación fuente/sumidero. Al final del experimento III no se observó un efecto significativo de la restricción de poda de frutos sobre el SLA de plantas enriquecidas, al contrario del aumento que cabría esperar de un mayor equilibrio fuente/sumidero; Nederhoff (1994) encontró en cultivo de tomate una mayor respuesta del SLA al cambio en la densidad de tallos que a la poda de frutos y en este sentido Alonso (2011) obtuvo un aumento del SLA al incrementar el número de tallos por planta en pimiento con enriquecimiento carbónico, lo que indica que dicha estrategia de poda parece ser más eficiente que la reducción de la poda de frutos en la adecuación de la relación fuente/sumidero de asimilados en atmósferas enriquecidas con CO₂.

La producción de fruto final (total y comercial) no se modificó de manera significativa con el cambio en la estrategia de poda de frutos, debido a que el mayor número de frutos obtenido en el tratamiento 2F, respecto a 1F, se compensó por su menor peso medio. Alonso (2011), obtuvo mayor producción final de pimiento enriquecido al aumentar la densidad de tallos presentes. Marcellis *et al.* (2004) observaron que los frutos en desarrollo inhiben el crecimiento vegetativo y la formación de nuevos frutos, manteniendo constante la capacidad de los sumideros durante periodos largo de tiempo, y aunque la asimilación de CO₂ y la cantidad de asimilados disponibles sea abundante, la cantidad de asimilados demandada por los sumideros es más o menos fija, lo que limita la adaptación de la demanda de los sumideros. En el experimento III, obtuvimos un mayor número de frutos en 2F respecto 1F, pero el peso de estos frutos fue menor en dicho tratamiento (tabla 21).

La eficiencia respecto al rendimiento productivo (kg fruto kg⁻¹ CO₂) fue similar entre tratamientos, no observándose una mejora significativa al aumentar el número de frutos presentes. Los valores fueron del mismo orden que los obtenidos en los experimentos anteriores en los tratamientos C1/SN1/CE-B (Exp.I) y R (Exp.II). Por el contrario, Alonso (2011) obtuvo mejores resultados con una estrategia de poda para aumentar la densidad de 2 a 3 tallos.



Capítulo VI

Conclusiones

6. Conclusiones

1. El aporte variable de CO₂ en invernadero mediterráneo siguiendo una estrategia vinculada a la ventilación aumenta la actividad fotosintética del cultivo de pimiento y, por consiguiente, incrementa la producción final. Así mismo, el enriquecimiento carbónico mitiga los efectos negativos sobre la bioproductividad derivados del uso de agua de riego salina.
2. Después de una aplicación a largo plazo, el aporte variable de CO₂ muestra una pérdida de sus beneficios asociada a la reducción progresiva de la estimulación fotosintética a concentración alta de CO₂, fenómeno conocido como aclimatación fotosintética, independientemente de la CE de la solución nutritiva aportada.
3. La tasa fotosintética medida a una concentración elevada de CO₂ muestra una relación más estrecha con la limitación en la concentración foliar de N que con la acumulación de carbohidratos no estructurales.
4. A baja salinidad, el uso de una pequeña fracción de NH₄⁺ como fuente de N en la solución nutritiva permite inicialmente mantener una mayor concentración de N en las hojas, respecto al uso exclusivo de NO₃⁻, mejorando así la actividad fotosintética y por tanto el crecimiento vegetativo. Sin embargo, a largo plazo esta estrategia no mitiga la aclimatación a elevada concentración de CO₂ en términos de reducción en fotosíntesis, aunque los resultados sobre el rendimiento productivo indican que esta vía de fertilización nitrogenada podría ser una estrategia para retrasar el proceso de aclimatación cuyo estudio debería continuar.
5. El cese anticipado del aporte de CO₂ cuando el cultivo presenta aclimatación fotosintética permite revertir el proceso de manera que las hojas, tras 28 días de exposición a baja concentración, mejoran la respuesta fotosintética frente al aumento en la concentración. Esta estrategia supone una reducción del aporte total de CO₂ sin afectar significativamente a la producción final obtenida en el cultivo de pimiento, lo que supone una mejora de la eficiencia global del CO₂ aportado.
6. El manejo de poda a nivel de fruto en cultivo de pimiento, bajo las condiciones climáticas del invernadero mediterráneo, afecta a la producción precoz, obteniendo mejores resultados cuando se permite el desarrollo de 2 frutos por nudo en vez de uno solo, sin embargo, esta estrategia no supone una mejora en el equilibrio de la relación fuente/sumidero de asimilados en atmósferas enriquecidas de CO₂, y no muestra efecto sobre la producción final.

7. El cese de la aplicación del enriquecimiento carbónico, una vez alcanzada la fase de aclimatación del cultivo de pimiento, permite mejorar la eficiencia respecto al rendimiento productivo; sin embargo, el posible beneficio económico de la aplicación dependerá del precio de la fuente de CO₂.



Capítulo VII

Bibliografía

7. Bibliografía

Acock, B.; Pasternak, D. 1986. Effects of CO₂ concentration on composition, anatomy and morphology of plants. P. 41-52. In: H.Z. Enoch & B.A. Kimball (eds.). Carbon dioxide enrichment of greenhouses crops. Vol II. Physiology, yield and economics. CRC Press Inc., Boca Raton, Florida.

Ainsworth, E.A.; Rogers, A.; Nelson, R.; Long, S.P. 2004. Testing the “source-sink” hypothesis of down regulation of photosynthesis in elevated [CO₂] in the field with single gene substitutions in *Glycine max*. *Agri. Forest. Meteor.* 122: 85-94.

Ainsworth, E.A.; Long, S.P. 2005. What have we learned from 15 years of free-air CO₂ enrichment (FACE)? A meta-analytic review of the responses of photosynthesis canopy. *New Phytolog* 165: 135-71.

Ainsworth, E.A.; Rogers, A. 2007. The response of photosynthesis and stomatal conductance to rising [CO₂]: mechanisms and environmental interactions. *Plant Cell. Environ* 30: 258-270.

Ainsworth, E.A.; Beier, C.; Calfapietra, C. Ceulemans, R.; Durand-Tardif, M.; Farquhar, G.D. 2008. Next generation of elevated CO₂ experiments with crops: a critical investment for feeding the future world. *Plant Cell Environ.* 31: 1317-1324.

Alarcón, J.J.; Bolarin, M.C.; Sánchez Blanco, M.J.; Torrecilas, A. 1994. Growth, yield and water relations of normal fruited and cherry tomato cultivars irrigated with saline water. *Journal Horticultural Science.* 69(2): 283-288.

Alonso, F. J. 2011. Efecto del enriquecimiento carbónico sobre la bioproduktividad y la absorción hídrica y mineral del cultivo de pimiento. Tesis Doctoral. Universidad de Almería. Pp. 179.

Alonso, F.J.; Lorenzo, P.; Medrano, E.; Sánchez-Guerrero, M.C. 2012. Greenhouse sweet pepper productive response to carbon dioxide enrichment and crop pruning. *Acta Hortic.* 927, 345-352.

Aranjuelo, I.; Pardo, A.; Biel, C.; Savé, R.; Azcón-Bieto, J.; Nogués, S. 2009. Leaf carbon management in slow growing plants exposed to elevated CO₂. *Global Change Biol* 95: 97-109.

Arp W.J. 1991. Effects of source-sink relations on photosynthetic acclimation to elevated carbon dioxide. *Plant Cell & Environment* 14: 869-875.

Aubinet, M.; Deltour, J.; De Halleux, D.; Nijskens, J. 1989. Stomatal regulation in greenhouse crops: Analysis and stimulation. *Agricultural and Forest Meteorology*, 48: 21-44. En M. C. Sánchez-Guerrero. 1999. Enriquecimiento carbónico en cultivos hortícolas bajo invernadero de polietileno. Tesis Doctoral. Universidad de Granada. 266 pp.

Azcón-Bieto, J.; Fleck, I.; Aranda, X. 2000. Fotosíntesis en un ambiente cambiante. *En: Fundamentos de Fisiología Vegetal.* J. Azcón-Bieto & M. Talón (Eds.) McGraw-Hill Interamericana, 203-216.

Baba, M.Y.; Maroto, J.V.; San Batoutista, A.; Pascual, B.; Lopez, S. and Baixauli, C. 2006. Agronomic response of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) to CO₂ enrichment in greenhouses with static ventilation. *Acta Horticulturae*, 719: 521-528.

Baeza, E.; Pérez-Parra, J.; López, J.C.; Gázquez, J.C. 2010. Ventilación natural. P.13-35. En: Sánchez-Guerrero, M.C.; Alonso, F.J.; Lorenzo, P.; Medrano, E. (Eds.). *Manejo del clima en invernadero mediterráneo*. (pp 13-35). Almería, IFAPA.

Bar-Tal A, Aloni B, Karnni L, Oserovitz J, Hazan A, Itach M, Gantz S, Avidan A, Posalski I, Tratkovski N, Rosenberg R (2001) Nitrogen nutrition of greenhouse pepper. I. Effects of nitrogen concentration and NO₃:NH₄⁻ ratio on yield, fruit shape and the incidence of blossom-end root in relation to plant mineral composition. *Hortscience* 36 (7): 1244-1251.

Bernacchi, C.J.; Kimball, B.A.; Quarles, D.R.; LLong, S.P.; Ort, D.R. 2007. Decreases in stomatal conductance of soybean under open-air elevation of [CO₂] are closely coupled with decreases in ecosystem evapotranspiration. *Plant Physiol* 143: 134-144.

Bertin, N.; Gary, C. 1998. Short and long term fluctuations of the leaf mass per area of tomato plants-implications for growth models. *Annals of Botany* 82: 71-81. doi: 10.1006/anbo.1998.0647.

Bloom, A. J.; Smart, D.R.; Nguyen, D.T.; Searles, P.S. 2002. Nitrogen assimilation and growth of wheat under elevated carbon dioxide. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99: 1730-1735.

Bloom, A.J.; Burger, M.; Rubio-Asensio, J.S.; Cousins, A.B. 2010. Carbon dioxide enrichment inhibits nitrate assimilation in wheat and *Arabidopsis*. *Science* 328: 899-903.

Bloom, A.J.; Burger, M.; Kimball, B.A.; Pinter, P.J. Jr. 2014. Nitrate assimilation is inhibited by elevated CO₂ in field-grown wheat. *Nat. Clim. Change* 4: 477-480.

Botella, M.A.; Cerdá, A.; Lips, S.H. 1994. Kinetics of NO₃⁻ and NH₄⁺ uptake by wheat seedlings. Effect of salinity and nitrogen source. *Journal of Plant Physiology*, 144: 53-57. doi: 10.1016/S0176-1617(11)80992-2.

Bowes, G. 1996. Photosynthetic responses to changing atmospheric carbon dioxide concentration. In: Bajer NR (ed) *Photosynthesis and the Environment*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp 397-407.

Britto, D.T.; Kronzucker, H.J. 2002. NH₄⁺ toxicity in higher plants: a critical review I. Introduction. *J. Plant Physiology* 159: 567-584.

Buysse, J.; Merckx, R. 1993. An improved colorimetric method to quantify sugar content of plant tissue. *Journal of Experimental Botany*, 44(10): 1627-1629. <https://doi.org/10.1093/jxb/44.10.1627>.

- Cao, B.; Dang, Q.-L.; Zhang, S. 2007. Relationship between photosynthesis and leaf nitrogen concentration in ambient and elevated [CO₂] in white birch seedlings. *Tree Physiology*, 27: 891-899.
- Cassman, K.G.; Doberman, A.; Walters, D.T.; Yang, H. 2003. Meeting cereal demand while protecting natural resources and improving environmental quality. *Ann. Rev. Environ. Res.*, 28: 315-318.
- Ceulemans, R. 1997. Direct impacts of CO₂ and temperature on physiological processes in trees. In: Mohren, GMJ; Kramer, K; Sabatés, eds. *Impacts of global change on tree physiology and forest ecosystems*. Boston (London): Kluwe Academic publisher. Pp 3-14.
- Coexphal. 2019. Mejora del 3% en la comercialización de tomate, pimiento y pepino en lo que llevamos de campaña. *Aenverde: La revista del agricultor* 173: 18-19.
- Cohen, Y. 2003. Respuestas fisiológicas a la utilización de aguas salinas. En: *Mejora de la eficiencia en el uso del agua en cultivos protegidos* (Fernández Fernández, M.; Lorenzo, P.; Cuadrado, I.M. eds). Pp. 131-147.
- Conroy, J.; Hocking, P. 1993. Nitrogen nutrition of C3 plants at elevated atmospheric CO₂ concentrations. *Physiol. Plant.* 89: 570-576.
- Contreras, J.I; López, J.G.; Lao, M.T.; Eymar, E.; Segura, M.L. 2013. Dry-matter allocation and nutrient uptake dynamic in pepper plant irrigated with recycled water by different nitrogen and potassium rate. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 44: 758-766.
- Contreras, J.I. 2014. Optimización de las estrategias de fertirrigación de cultivos hortícolas en invernadero utilizando aguas de baja calidad (agua salina y agua regenerada) en condiciones del litoral de Andalucía. Tesis doctoral. Universidad de Almería. Pp. 287.
- Cruz, J.L.; Alves, A.A.C.; LeCain, D.R.; Ellis, D.D.; Morgan, J.A. 2014. Effect of elevated CO₂ concentration and nitrate: ammonium ratios on gas Exchange and growth of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Plant and Soil*, 374: 33-43. doi: 10.1007/s1104-013-1869-8.
- Cuartero, J. Fernández-Muñoz, R. 1999. Tomato and salinity. *Scientia Horticulturae* 78: 83-125.
- Cure, J.D.; Acock, B. 1986. Crop responses to carbon dioxide doubling: a literature survey. *Agricultural and Forest Meteorology* 38: 127-245. doi: 10.1016/0168-1923(86)90054-7.
- Dajic, Z. 2006. Salt stress. In: Madhava Rao, K.V.; Raghavendra, A.S.; Janardhan Reddy, K. (Eds.) *Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants*. Springer, Netherlands, pp. 41-99.
- Davey, P.A.; Olcer, H.; Zakhleniuk, O.; Bernacchi, C.J.; Calfapietra, C.; Long, S.P.; Raines, C.A. 2006. Can fast-growing plantation trees escape biochemical down-regulation of photosynthesis when grown throughout their complete production cycle in the open air under elevated carbon dioxide? *Plant Cell Environ.* 29: 1235-1244.

De Groot, C.C.; van den Boogaard, R.; Marcelis, L.F.; Harbison, J.; Lambers, H. 2003. Contrasting effects of N and P deprivation on the regulation of photosynthesis in tomato plants in relation to feed-back limitation. *J. Exp. Bot.* 54: 1957-1967.

Delucia, E.H.; Sasek, T.W.; Strain, B.R. 1985. Photosynthesis inhibition after long-term exposure to elevated levels of atmospheric carbon dioxide. *Photosynthesis Research* 7: 175-184. doi: 10.1007/BF00037008.

Drake, B.G.; González-Meler, M.A.; Long, S.P. 1997. More efficient plants: A consequence of rising atmospheric CO₂? *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 48: 609-639.

Edwards, D.; Jolliffe, P.; Baylis, K. Ehret, D. 2008. Towards a plant-based method of CO₂ management. *Acta Horticulturae*, 797: 273-278. doi: 10.17660/ActaHortic.2008.797.38.

Edwards, D.; Jolliffe, P.; Ehret, D. 2010. Canopy profiles of starch and leaf mass per area in greenhouse tomato and the relationship with leaf area and fruit growth. *Scientia Horticulturae*, 125: 637-647. doi: 10.106/j.scientia.2010.05.019.

Ehler, N.; Karlsen, P. 1993. OPTICO – a model based real-time expert system for dynamic optimization of CO₂ enrichment of greenhouse vegetable crops. *Journal of Horticultural Science*, 68: 485-494.

Ellsworth, D.S.; Reich, P.B.; Naumburg, E.S.; Koch, G.W.; Kubiske, M.E.; Smith, S.D. 2004. Photosynthesis, carboxylation and leaf nitrogen responses of 16 species to elevated pCO₂ across four free-air CO₂ enrichment experiments in forest, grassland and desert. *Global Change Biol*19: 2121-38.

Enoch, H.Z.; Rylski, I. and Spigelman, M. 1976. CO₂enrichment of strawberry and cucumber plants grown in unheated greenhouses in Israel. *Sci. Horticulturae*, 5: 33-41.

Fageria, N.K. 2014. Growth, nutrient uptake and use efficiency in dry bean in Tropical Upland soil. *Journal of Plant Nutrition* 37(12): 2085-2093.

Fageria, N.K.; Baligar, V.C. 2005. Enhancing Nitrogen Use Efficiency in crop plants. *Advances in Agronomy* 88: 97-185.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2012. Estadística. <http://faostat.fao.org/> (5 de mayo de 2021).

Farquhar, G.D.; von Caemmerer, S.; Berry, J.A. 1980. A Biochemical-Model of Photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C3 species. *Planta* 149: 78-90.

Fernández, M.D.; Tezara, W.; Rengifo, E.; Herrera, A. 2002. Lack downregulation of photosynthesis in a tropical root crop, cassava, grown under an elevated CO₂ concentration. *Funct Plant Biol.* 29: 805-814.

Fernández-Zamudio, M.A.; Pérez, A; Caballero, P. 2006. Análisis económico de la tecnología de los invernaderos mediterráneos: aplicación en la producción del pimiento. *Información Técnica Económica Agraria* 102 (3): 260-277.

Flexas, J.; Bota, J.; Loreto, F.; Cornic, G.; Sharkey, TD. 2004. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C3 plants. *Plant Biol* 6: 269-279.

Foyer, C.H. 1987. The basis for source-sink interaction in leaves. *Plant Physiology and Biochemistry* 25: 649-657. *En: Mecanismos de aclimatación de la asimilación fotosintética de carbono a los aumentos de CO₂ y temperatura del aire en el trigo.* A. Alonso. 2008. Tesis doctoral. Universidad de Salamanca. 149 pp.

Garrido, A.; Martínez-Santos, P.; Llamas, M.R. 2005. Groundwater irrigation and its implications for water policy in semiarid countries: the Spanish experience. *Hydrogeology Journal* 14(3): 340-349.

Geiger, M.; Haake, V.; Ludewig, F.; Sonnewald, U.; Stitt, M. 1999. The nitrate and ammonium nitrate supply have a major influence on the response of photosynthesis, carbon metabolism, nitrogen metabolism and growth to elevated carbon dioxide in tobacco. *Plant, Cell and Environment* 22: 1177-1199.

Geissler, N.; Hussin, S., Koyri, H. W. 2009. Interactive effects of NaCl salinity and elevated atmospheric CO₂ concentration on growth, photosynthesis, water relations and chemical composition of the potential cash crop halophyte *Aster tripolium* L. *Environmental and Experimental Botany* 65, 220-231.

Ghoname, A.A.; Dawood, Mona. G.; Riad, G.S.; El-Tohamy, W.A. 2009. Effect of nitrogen forms and biostimulants foliar application on the growth, yield and chemical composition of hot pepper grown under sandy soil conditions. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 5(5): 840-852.

Gifford, R.; Barret, D.; Lutze, J. 2000. The effects of elevated [CO₂] on the C:N and C:P mass ratios of plant tissues. *Plant soil* 224:1-14.

Giuffrida, F.; Leonardi, C. 2012. Nutrient solution concentration on pepper grown in a soilless closed system: Yield, fruit quality, water and nutrient efficiency. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B- Soil & Plant Science* 62(1): 1-6.

Gómez-Limón, J.A.; Riesgo, L. 2012. Agriculture and economics in the Water Framework Directive: progress and limitations. *Water Policy* 14(1): 31-44.

González-Real, M.M.; Liu, H-Q; Baille, A. 2009. Influence of fruit sink strength on the distribution of leaf photosynthetic traits in fruit-bearing shoots of pepper plants (*Capsicum annuum* L.). *Environ. Experim. Bot.* 66: 195-202.

Guo, S.; Brueck, H.; Sattelmacher, B. 2002. Effects of supplied nitrogen form on growth and water uptake of French bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants. *Plant and soil* 239: 267-275. doi: 10.1023/A:1015014417018.

Gutiérrez, D. 2010. Aclimatación de la fotosíntesis en el dosel vegetal del trigo al aumento del CO₂ atmosférico. Función del nitrógeno y las citoquininas en cultivos en cámaras de campo con clima mediterráneo. Tesis Doctoral. Universidad de Salamanca.

Gutjahr, S.; Lapointe, L. 2008. Carbon dioxide enrichment does not reduce leaf longevity or alter accumulation of carbon reserves in the woodland spring ephemeral *Erythronium americanum*. *Ann. Bot.* 102: 835-843.

Hao, X.; Wang, Q.; Khosla, S. 2006. Responses of a long greenhouse tomato crop to summer CO₂ enrichment. *Canadian Journal of Plant Science* 86: 1395-1400. doi: 10.4141/P06-123.

Heij, G. y van Uffelen J.A.M. 1984. Effects of CO₂ concentration on growth of glasshouse cucumber. *Acta Horticulturae* 162:19-36.

Herold, A. 1980. Regulation of photosynthesis by sink activity – the missing link. *New Phytologist* 86: 131-144. *En: Mecanismos de aclimatación de la asimilación fotosintética de carbono a los aumentos de CO₂ y temperatura del aire en el trigo.* A. Alonso. 2008. Tesis doctoral. Universidad de Salamanca. 149 pp.

Heuer, B.; Plaut, Z. 1982. Activity and properties of ribulose-1.5-biphosphate carboxylase of sugarbeet plants grown under saline conditions. *Physiologia Plantarum*, 54: 505-509.

Heuvelink, E. 1995. Growth, development and yield of a tomato crop: periodic destructive measurements in a greenhouse. *Sci. Hortic.* 61: 77-99.

Heuvelink, E.; Bakker, M.; Stanghellini, C. 2003. Salinity effects on fruit yield in vegetable crops: a simulation study. *Acta Hortic.* 609: 133-140.

Hogan, KP.; Whitehead, D.; Kallarackal, J.; Buwalda, JG.; Meekings, J.; Rogers GND. 1996. Photosynthetic activity of leaves of *Pinus radiata* and *Nothofagus fusca* after 1 year of growth at elevated CO₂. *Aust. J. Plant Physiol.* 23:623-630.

Huber, S.C. 1989. Biochemical mechanism for regulation of sucrose accumulation in leaves during photosynthesis. *Plant Physiology* 91: 656-662. *En: Mecanismos de aclimatación de la asimilación fotosintética de carbono a los aumentos de CO₂ y temperatura del aire en el trigo.* A. Alonso. 2008. Tesis doctoral. Universidad de Salamanca. 149 pp.

Hungate, B.A.; Dukes, J.S.; Shaw, M.R.; Luo, Y.; Field, C.B. 2003. Nitrogen and climate change. *Science*, 302: 1512-1513. doi: 10.1126/science.1091390.

Ito, T. 1978. Physiological aspects of carbon dioxide enrichment to cucumber plants grown in greenhouses. *Acta Horticulturae*, 87: 139-146.

Jarvis, P.G.; McNaughton, K.G. 1986. Stomatal control of transpiration: Scaling up from leaf to region. *Advances in Ecological Research*. 15: 1-49.

Jiang, Q.; Roche, D.; Monaco, T.A.; Durham, S. 2006. Gas exchange, chlorophyll fluorescence parameters and carbon isotope discrimination of 14 barley genetic lines in response to salinity. *Field Crops Res*; 96: 269-78.

Jifon, J.L.; Wolfe, D.W. 2002. Photosynthetic acclimation to elevated CO₂ in *Phaseolus vulgaris* L. is altered by growth response to nitrogen supply. *Global Change Biol*. 8: 1018-1027.

Kant, S. Seneweera, S.; Rodin, J.; Materne, M.; Burch, D.; Rothstein, S.J.; Spangenberg, G. 2012. Improving yield potential in crop under elevated CO₂: integrating the photosynthetic and nitrogen utilization efficiencies. *Frontiers in Plant Science*, 3: 162. doi: 10.3389/fpls.2012.00162.

Katsoulas, N.; Kittas, C. 2008. Impact of Greenhouse Microclimate on Plant Growth and Development with Special Reference to the Solanaceae. *The European Journal of Plant Science and Biotechnology*. 2 (Special Issue 1): 31-44.

Kim, S.H.; Sicher, R.C.; Bae, H.; Gitz, D.C.; Baker, J.T.; Timlin, D.J.; Reddy, V.R. 2006. Canopy photosynthesis, evapotranspiration, leaf nitrogen, and transcription profiles of maize in response to CO₂ enrichment. *Global Change Biology* 12: 588-600. doi: 10.1111/j.1365-2486.2006.01110.x

Knecht, G.N.; O'Leary, J.W. 1983. The influence of carbon dioxide on the growth, pigment, protein, carbohydrate, and mineral status of lettuce. *Journal of Plant Nutrition*, 6: 301-312. doi: 10.1080/01904168309363091.

Koch, K. E. 1996. Carbohydrate-modulated gene expression in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 47:509-540.

Körner C.H.; Pelaez-Riedl, S.; Can Bel, A.J.E. 1995. CO₂ responsiveness of plants: a possible link to phloem loading. *Plant, Cell & Environment*, 18: 595-600. doi: 10.1111/j.1365-3040.1995.tb00560.x

Larcher, W. 2003. *Physiological Plant Ecology*. Springer-Verlag, Berlin. pp 57 – 166.

Lawlor, D.W. 1995. Photosynthesis, productivity and environment. *Journal of Experimental Botany*, 46: 1449-1461.

Lawlor, D.W.; Mitchell, R.A.C. 1991. The effects of increasing CO₂ on crop photosynthesis and productivity: a review of field studies. *Plant, Cell and Environment* 14: 807-818.

Lazof D.B.; Bernstein, N. 1988. The NaCl-induced inhibition of shoot growth: The case of disturbed nutrition with special consideration of calcium nutrition. *Bot. Res*. 29: 115-190.

Leakey, A.D.B.; Ainsworth, E.A.; Bernacchi, C.J.; Rogers, A.; Long, S.P.; Ort, D.R. 2009. Elevated CO₂ effects on plant carbon, nitrogen and water relations: six important lessons from FACE. *Journal of Experimental Botany*, 60: 2859-2876. doi: 10.1093/jxb/erp096.

Lewis, J.D.; Lucash, M.; Olszyk, D.M.; Tingey, D.T. 2004. Relationships between needle nitrogen concentration and photosynthetic responses of Douglas-fir seedlings to elevated CO₂ and temperature. *New Phytol* 162: 355-364.

Li, J.H.; Sagi, M.; Gale, J.; Volokita, M.; Novoplansky, A. 1999. Response of tomato plants to saline water as affected by carbon dioxide supplementation. I Growth, yield and fruit quality. *J. Hortic. Sci. Biotech.* 74(2): 238-242.

Li, N.; He, N. Yu, G.; Wang, Q.; Sun, J. 2016. Leaf non-structural carbohydrates regulated by plant functional groups and climate: evidences from a tropical to cold-temperate forest transect. *Ecological Indicators*, 62: 22-31. doi: 10.1016/j.ecolind.2015.11.017.

Li, J.; Zhoy, J.M.; Duan, Z.Q. 2007. Effects of elevated CO₂ concentration on growth and water usage of tomato seedling under different ammonium/nitrate ratios. *J. Environ. Sci.* 19: 1100-1107.

Long, S.P. 1991. Modification of the response of photosynthetic productivity to rising temperature by atmospheric CO₂ concentrations: Has its importance been underestimated?. *Plant, Cell and Environment*, 14: 729-739.

Long, S.P.; Drake, B.G. 1992. Photosynthetic CO₂ assimilation and rising atmospheric CO₂ concentrations. In Moore, B.D.; Cheng, S-H; Sims, D.; Seemann, J.R. 1999. The biochemical and molecular basis for photosynthetic acclimation to elevated atmospheric CO₂. *Plant, Cell and Environment* 22: 567-582.

Long, S.P.; Ainsworth, E.A.; Rogers, A.; Ort, D.R. 2004. Rising atmospheric carbon dioxide: plants FACE the future- *Annual Review of Plant Physiology* 55: 591-628.

Lorenzo, P. 1996. Intercepción de luz, bioproductividad e intercambio gaseoso durante la ontogenia de un cultivo invernadero de *Cucumis sativus* L. en Almería. Edita: Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía. Monografías 17/96. Pg: 255.

Lorenzo, P. 2012. El cultivo en invernadero y su relación con el clima. En: J.C. López, R. García (Eds.). *Innovación en estructuras productivas y manejo de cultivos en agricultura protegida*. Cuadernos de estudios agroalimentarios nº 3. Almería. Fundación Cajamar. Pp: 23-43

Lorenzo P.; Sánchez-Guerrero M.C.; Medrano, E.; Alonso, F.J.; Pérez, J.; Baeza, E.; Gázquez, J.C.; López, J.C.; Montero, J.I. 2010. Manejo del clima en el invernadero mediterráneo. IFAPA. 127 pp.

Lorenzo, P.; Sánchez-González, M.J.; Sánchez-Guerrero, M.C.; Medrano, E.; Cabezas, M.J. 2013. Influencia del enriquecimiento carbónico y la salinidad sobre la producción de tomate cv. Delizia (híbrido RAF). *Actas del VII Congreso Ibérico de Agroingeniería y Ciencias Hortícolas*, Madrid (Spain). 756-761.

Lorenzo, P.; Sánchez-Guerrero, M.C.; Medrano, E.; Baeza, E.; López, J.C.; Mágán, J.J.; Fernández, M.D. y Pérez-Parra, J. 2016. Invernaderos, En: M.C. García-García, A.J. Céspedes López, J.J. Pérez

Parra y P. Lorenzo (Eds.). *El sistema de producción hortícola protegido de la provincia de Almería*. IFAPA.

Ludewig, F.; Sonnewald, U.; Kauder, F.; Heineke, D.; Geiger, M.; Stitt, M.; Müller-Röber B.T.; Gillissen, B; Kühn, C; Frommer; W.B. 1998. The role of transient starch in acclimation to elevated atmospheric CO₂. *Federation of European Biochemical Societies Letters* 429: 147-151.

Luo, Y.; Su, B.; Currie, W.S.; Dukes, J.; Finzi, A.; Hartwig, U.; Hungate B.; McMurtrie, R.; Parton, W.J.; Pataki, D.; Shaw, R.; Zak, D.R.; Field, C.B. 2004. Progressive nitrogen limitation of ecosystem response to rising atmospheric CO₂ concentration. *Bioscience*, 54: 731-139. doi: 10.1641/0006-3568(2004)054[0731:PNLOER]2.0.CO;2.

Magán, J.J. 2005. Respuesta a la salinidad del tomate larga vida en cultivo sin suelo recirculante en el sureste español. Tesis doctoral. Universidad de Almería. 171 pp.

Magán, J.J.; Casas, E.; Gallardo, M.; Thompson, R.B.; Lorenzo, P. 2003. Effects of increasing salinity on fruit development and growth of tomato grown in soilless culture. *Acta Horticulturae*. 609: 235-240.

Makino, A.; Mae, T. 1999. Photosynthesis and plant growth at elevated levels of CO₂. *Plant Cell Physiology*, 40: 999-1006.

Marcelis, L.F.M.; Heuvelink, E.; Baan Hofman-Eijer, L.R.; Den Bakker, J.; Xue, L.B. 2004. Flower and fruit abortion in sweet pepper in relation to source and sink strength. *Journal of Experimental Botany*. Vol. 55. Nº 406. Pp. 2261-2268.

Marschner, P. 2012. *Marschner's mineral nutrition of higher plants*. Third ed. Academic Press, UK London.

Mavrogianopoulos, G.; Spanakis, J.; Tsikalas, P. 1999. Effect of carbon dioxide enrichment and salinity on photosynthesis and yield in melon. *Scientia Horticulturae* 79 (1): 51-63.

McDonald, E.P.; Erickson, J.E.; Kruger, E.L. 2002. Can decreased transpiration limit plant nitrogen acquisition in elevated CO₂? *Funct. Plant. Biol.* 29:1119-1137.

Medrano, H.; Flexas, J. 2000. Fijación del dióxido de carbono y biosíntesis de fotoasimilados. En: *Fundamentos de Fisiología Vegetal*. J. Azcón-Bieto & M. Talón (Eds.) McGraw-Hill Interamericana. 173-185.

Micallef, B.J.; Haskings, K.A.; Vanderveer, P.J.; Roh, K.S.; Shewmaker, C.K.; Sharkey T.D. 1998. Altered photosynthesis, flowering, and fruiting in transgenic tomato plants that have an increases capacity for sucrose synthesis. *Planta* 196: 327-334.

Moore, B.D.; Cheng, S-H; Rice, J.; Seemann, J.R. 1998. Sucrose cycling, Rubisco expression, and prediction of photosynthetic acclimation to elevated atmospheric CO₂ *Plant, Cell and Environment* 21: 905-915.

- Moore, B.D.; Cheng, S-H; Sims, D.; Seemann, J.R. 1999. The biochemical and molecular basis for photosynthetic acclimation to elevated atmospheric CO₂. *Plant, Cell and Environment* 22: 567-582.
- Morison, J.I.L. 1998. Stomatal response to increased CO₂ concentration. *Journal of Experimental Botany*, 49: 443-452.
- Mortensen, L.M.; Ulsaker, R. 1985. Effect of CO₂ concentration and light levels on growth, flowering and photosynthesis of *Begonia hiemalis*. *Scientia Horticulturae*, 17: 133-141.
- Nakano, H.; Makino, A.; Mae, T. 1997. The effect of elevated partial pressures of CO₂ on the relationship between photosynthetic capacity and N content in rice leaves. *Plant Physiology* 155: 191-198.
- Navarro. J.M.; Flores, P.; Carvajal, M.; Martínez, V. 2005. Changes in quality and yield of tomato fruit with ammonium, bicarbonate and calcium fertilization under saline conditions. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 80: 351-357. doi: 10.1080/14620316.2005.11511943.
- Nederhoff. E.M.; Rijdsdijk, A.A.; de Graaf, R. 1992. Leaf conductance and rate of crop transpiration of greenhouses grown sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) as affected by carbon dioxide. *Scientia Horticulturae*, 268: 127-138.
- Nederhoff, E.M. 1994. Effects of CO₂ concentration on photosynthesis, transpiration and production of greenhouses fruit vegetable crops. PhD Thesis. Aula van de Landbouwwuniversiteit te Wageningen, The Netherlands 216 pp.
- Nilsen, S.; Hovland, C.; Dons, C.; Sletten, S.P. 1983. Effect of CO₂ enrichment on photosynthesis, growth and yield of tomato. *Scientia Horticulturae*, 20: 1-14.
- Norby, R.J.; Cotrufo, M.F.; Ineson, P.; O'Neill, E.G.; Canadell, J.G. 2001. Elevated CO₂, litter chemistry, and decomposition: a synthesis. *Oecologia*, 127: 153-165. doi: 10.1007/s004420000615.
- Oaks, A. 1994. Efficiency of nitrogen utilization in C₃ and C₄ cereals. *Plant Physiol.* 106: 407-414.
- Peet MM, Huber SC, Patterson DT (1986) Acclimation to high CO₂ in monoecious cucumbers. II: Carbon exchange ratio, enzyme activities, starch and nutrient concentrations. *Plant Physiol.* 80: 63-67.
- Peñuelas, J.; Biel, C.; Estiarte, M. 1995. Growth, biomass allocation and phenology responses of pepper to elevated CO₂ concentrations and different water and nitrogen supply. *Photosynthetica* 31(1): 91-99.
- Pérez-López, U.; Robredo, A.; Lacuesta, M.; Mena-Petite, A.; Muñoz-Rueda, A. 2009. The impact of salt stress on the water status of barely plants is partially mitigated by elevated CO₂. *Environmental and Experimental Botany* 66: 463-470.

- Pérez-López, U.; Miranda-Apodaca, J.; Mena-Petite, A.; Muñoz-Rueda, A. 2013. Barley growth and its underlying components are affected by elevated CO₂ and salt concentration. *J Plant Growth Regul*, 32: 732-744.
- Pérez-López, U.; Miranda-Apodaca, J.; Mena-Petite, A.; Muñoz-Rueda, A. 2014. Response of nutrient dynamics in barely seedlings to the interaction of salinity and carbon dioxide enrichment. *Environmental and Experimental Botany* 99: 86-99. doi: 10.1016/j.envexpbot.2013.11.004.
- Pierce, S.; Stirling, C.M.; Baxter, R. 2003. Pseudoviviparous reproduction of *Poa alpine* var. *vivipara* L. (Poaceae) during long-term exposure to elevated atmospheric CO₂. *Annals of Botany* 91: 63-622. doi: 10.1093/aob/meg067.
- Piñero, M.C.; Pazos, M.; Otálora, G.; Pérez Jiménez, M.; Marín, M.; del Amor, F.M. 2014. Relaciones hídricas y de intercambio gaseoso en plantas de pimiento bajo estrés salino. Respuesta diferencial de la fertilización NO₃⁻/NH₄⁺ y el enriquecimiento de CO₂. *Acta Horticulturae* 66: 90-96.
- Piñero, M.C.; Otálora, G.; Porras, M.E.; Sánchez-Guerrero, M.C.; Lorenzo, P.; Medrano, E.; Del Amor, F.M. 2017. The form in which nitrogen is supplied affects the polyamines, amino acids, and mineral composition of sweet pepper fruit under an elevated CO₂ concentration. *J. Agric Food Chem*, 65(4): 711-717. doi: 10.1021/acs.jafc.6b04118.
- Polley, H.W.; Johnson, H.B.; Tischler, C.R.; Torbert, H.A. 1999. Links between transpiration and plant nitrogen: variation with atmospheric CO₂ concentration and nitrogen availability. *Int. J. Plant Sci.* 160: 535-542.
- Poorter, H.; van Berjek, U.; Baxter, R.; din Hertog, J.; Dijkstra, P.; Gifford, R.M. 1997. The effect of elevated CO₂ on the chemical composition and construction costs of leaves of 27 C₃ species. *Plant Cell Environ.* 20: 472-482.
- Porter, M.A.; Grodzinski, B. 1984. Acclimation to high CO₂ in bean. Carbonic anhydrase and ribulose biphosphate carboxylase. *Plant Physiology* 74:413-416. doi:10.1104/pp.74.2.413
- Pritchard, S.G.; Peterson, C.M.; Prior, S.A.; Rogers, H.H. 1997. Elevated carbon dioxide differentially affects needle ultrastructure and floem anatomy in *Pinus palustris*: interactions with soil resource availability. *Plant Cell Environment* 20: 461-471.
- Qian, T.; Dieleman, J.A.; Elings, A., Marcelis, L.F.M. 2012. Leaf photosynthetic and morphological response to elevated CO₂ concentration and altered fruit number in the semi-closed greenhouse. *Scientia Horticulturae* 145: 1-9. doi: 10.1016/j.scientia.2012.07.015.
- Radoglou, K.M.; Aphalo, P.; Jarvis, P.G. 1992. Response of photosynthesis, stomatal conductance and water use efficiency to elevated CO₂ and nutrient supply in acclimated seedlings of *Phaseolus vulgaris* L. *Annals of Botany*, 70: 257-264.
- Ratnakumar, P.; Rajendrudu, G.; Swamy P.M. 2013. Photosynthesis and growth responses of peanut (*Arachis hypogaea* L.) to salinity at elevated CO₂. *Plant Soil Environ* 59:410-416.

Ray, D. K.; Gerber, J.S.; MacDonald, G. K.; West, P.C. 2015. Climate variation explains a third of global crop yield variability. *Nat. Commun.* 6: 5989. Doi: 10.1038/ncomms6989.

Reich, P.B.; Hungate, B.A.; Luo, Y.Q. 2006. Carbon-nitrogen interactions in terrestrial exosystems in response to rising atmospheric carbon dioxide. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 37: 611-636.

Roberts, M. J., Long, S. P., Tieszen, L. L., Beadle, C. L. 1985. Measurements of plant biomass and net primary production. En: *Techniques in Bioproductivity and Photosynthesis*. Coombs, J., Jall, D.O., Long, S. P. Scurlock, J. M. O. (eds.). Pergamon Press, Oxford, U. K. pp: 1-19.

Rogers, G.S.; Milham, P.J.; Gillings, M., Conroy J.P. 1996. Sink strength may be the key to growth and nitrogen responses in N-deficient wheat at elevated CO₂. *Aust J Plant Physiol* 23:253-264.

Rolland, F.; Moore, B; Sheen, J. 2002. Sugar sensing and signaling in plants. *J. Plant Cell* 14: 185.

Rook, F.; Bevan, M. 2003. Genetic approaches to understanding sugar-response pathways. *J. Exp. Bot.* 54: 495-501.

Sage, R.F.; Sharkey, T.D.; Seemann, J.R. 1989. Acclimation of photosynthesis to CO₂ in five C₃ species. *Plant Physiol* 89: 590-596.

Sánchez, J.A.; Reza, J.; Martínez, J. 2015. Irrigation water management in a Mediterranean greenhouse district: irrigation adequacy assessment. *Irrigation and Drainage* 64: 299-313.

Sánchez-González, M.J., Sánchez-Guerrero, M.C., Medrano, E, Porras, M.E., Baeza, E.J., García, M.L. y Lorenzo, P. 2014. Efecto de la salinidad y el enriquecimiento carbónico en invernadero sobre la bioproductividad y el contenido en nutrientes en un cultivo de tomate híbrido Raf (cv. Delizia). *Acta de Horticultura*, 66: 78-84.

Sánchez-González, M.J.; Sánchez-Guerrero, M.C.; Medrano, E.; Porras, M.E.; Baeza, E.; Lorenzo, P. 2016. Carbon dioxide enrichment: a technique to mitigate the negative effects of salinity on the productivity of high value tomatoes. *Spanish Journal of Agricultural Research* 14(2): 1-13.

Sánchez-Guerrero, M.C.; Portero, F.; Medrano, E.; Lorenzo, P. 1998. Efecto del enriquecimiento carbónico sobre la producción y eficiencia hídrica en cultivo de pepino. *Actas de Horticultura* 21: 83-90.

Sánchez-Guerrero, M.C. 1999. Enriquecimiento carbónico en cultivos hortícolas bajo invernadero de polietileno. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia. 266 pp.

Sánchez-Guerrero, M.C.; Lorenzo, P.; Medrano, E.; Castilla, N.; Soriano, T.; Baille, A. 2005. Effect of variable CO₂ enrichment on greenhouse production in mild winter climates. *Agricultural and Forest Meteorology*. 132. Pp. 244-252.

Sánchez-Guerrero, M.C., Lorenzo, P., Medrano, E., Baille, A. and Castilla, N. 2009. Effects of EC based irrigation scheduling and CO₂ enrichment on water use efficiency of a greenhouse cucumber crop. *Agric Water Manage*, 96: 429-436.

Sánchez-Guerrero, M.C.; Alonso, F.; Lorenzo, P.; Medrano, E. 2010. Enriquecimiento carbónico del aire. En: Sánchez-Guerrero, M.C.; Alonso, F.; Lorenzo, P.; Medrano, E. (eds). Manejo del clima en el invernadero mediterráneo. IFAPA. Consejería de Agricultura y Pesca, Almería (Spain). Pp 83-94.

Sandoval-Villa, M.; Wood, C.W.; Guertal, E.A. 1999. Effects of nitrogen form, night time nutrient solution strength, and cultivar on greenhouse tomato production. *Journal of Plant Nutrition*, 22: 1931-1945. doi: 10.1080/01904169909365764.

Sanz-Sáez, A.; Erice, G.; Aranjuelo, I.; Nogués, S.; Irigoyen, J.J.; Sánchez-Díaz, M. 2010. Photosynthetic down-regulation under elevated CO₂ exposure can be prevented by nitrogen supply in nodulated alfalfa. *Journal of Plant Physiology* 167: 1558-1565. doi: 10.1016/j.jplph.2010.06.015.

Sasek, T.W.; DeLucia E.H.; Strain, B.R. 1985. Reversibility of photosynthetic inhibition in cotton after long-term exposure to elevated CO₂ concentrations. *Plant Physiol* 78: 619-622.

Segura ML, Parra JF, Lorenzo P, Sánchez-Guerrero MC, Medrano E (2001) The effects of CO₂ enrichment on cucumber growth under greenhouse conditions. *Acta Horticulturae* 559: 217-222.

Segura; M.L., Contreras, J.I.; Salinas, R.; Lao, M.T. 2009. Influence of salinity and fertilization level on the nutrient distribution in tomato plants under a polyethylene greenhouse in the Mediterranean area. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 40: 498-513.

Sicher, R.C.; Bunce, J.A. 1997. Relationship of photosynthetic acclimation to changes of Rubisco activity in field-grown winter wheat and barley during growth in elevated carbon dioxide. *Photosynthesis Research* 52: 27-38.

Sharkey, T.D. 1988. Estimating the rate of photorespiration in leaves. *Physiol. Plant* 73: 147-152.

Sholtis, J.D.; Gunderson, C.A.; Norby, R.J. Tissue, D.T. 2004. Persistent stimulation of photosynthesis by elevated CO₂ in a sweetgum (*Liquidambar styraciflua*) forest stand. *New Phytol* 162: 343-354.

Socias, F.X.; Moderano, H.; Sharkey, T.D. 1993. Feedback limitation of photosynthesis of *Phaseolus vulgaris* L. grown in elevated CO₂. *Plant, Cell and Environment*, 16: 81-86.

Sonneveld, C. 2000. Effects of salinity on substrate grown vegetables and ornamentals in greenhouse horticulture. PhD dissertation. Wageningen Agricultural University. 149 pp.

Stitt, M. 1991. Rising CO₂ levels and their potential significance for carbon flow in photosynthetic cells. *Plant, Cell and Environment* 14: 741-762.

Stitt, M.; Krapp, A. 1999. The interaction between elevated carbon dioxide and nitrogen nutrition: the physiological and molecular background. *Plant Cell Environ.* 22: 583-621.

Stitt, M.; Müller, C.; Matt, P.; Gibon, Y.; Carrillo P.; Morcuende, R.; Scheible, W-R.; Krapp, A. 2002. Steps towards an integrated view of nitrogen metabolism. *J. Exp. Bot.* 53: 959-970.

Sun, J.; Gibson, K.M.; Kiirats, O.; Okita, T.W.; Edwards, G.E. 2002. Interactions of nitrate and CO₂ enrichment on growth, carbohydrates, and rubisco in *Arabidopsis* starch mutants. Significance of starch and hexose. *Plant physiology* 130 (3): 1573-1583

Sun, J.; Yang, L.; Wang, Y.; Donald, R.O. 2009. FACE-ing the global change: Opportunities for improvement in photosynthetic radiation use efficiency and crop yield. *Plant Science* 177: 511-522.

Taiz, L.; Zeiger, E. 1991. Phloem Translocation. In *Plant Physiology*. Eds. E. Berçard-Brady. L. Donohoe and J. Funston. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., Redwood City, California, pp 145-175.

Taiz, L.; Zeiger, E. 2002. *Plant Physiology (Third Edition)*. Sinauer Associates, Inc., Publishers, Sunderland, 67-86.

Taub, D.R.; Wang, X. 2008. Why are Nitrogen concentration in plant tissues lower under elevated CO₂? A critical examination of the hypotheses. *Journal of Integrative Plant Biology*, 50 (11): 1365-1374.

Thomas, RB., Strain BR. 1991. Root restriction as a factor in photosynthetic acclimation of cotton seedlings grown in elevated CO₂. *Plant Physiol* 96:627-634.

Thompson, R.B.; Martínez-Gaitán, C., Gallardo, M.; Giménez, C.; Fernández, M.D. 2007. Identificación of irrigation and N management practices that contribute to nitrate leaching loss from an intensive vegetable production system by use of a comprehensive survey. *Agricultural Water Management* 89(3): 261-274.

Urban, L. 1997. *Introduction à la production sous serre. Tome 1: La gestión du climat*. Lavoisier Tec&Doc. Paris.

Usuda, H. 2006. Effects of elevated CO₂ on the capacity for photosynthesis of single leaf and a whole plant, and on growth in a radish. *Plant Cell Physiol.* 47: 262-269.

Valera D.L.; Marín, P.; Camacho, F.; Belmonte, L.J.; Molina-Aiz, F.D.; López, A. 2016. El agua desalada en los invernaderos de Almería: tecnología de regadío y efecto sobre el rendimiento y calidad del cultivo de tomate. II Simposio Nacional de Ingeniería Hortícola. Automatización y TICs en agricultura. 321-324.

Van Oosten, J.J.; Besford, R.T. 1994. Some relationships between the gas Exchange, biochemistry and molecular biology of photosynthesis during leaf development of tomato plants after transfer to different carbon dioxide concentrations. *Plant, Cell and Environment* 18: 1253-1266.

Vaughn, M.W.; Harrington, G.N.; Bush, D.R. 2002. Sucrose-mediated transcriptional regulation of sucrose symporter activity in the phloem. *Proc. Natl. Acad. Sci. Usa* 99: 10876-10880.

Vega-Mas, I.; Marino, D.; Sánchez-Zabala, J.; González-Murua, C.; Estavillo, J.M.; González-Moro, M.B. 2015. CO₂ enrichment modulates ammonium nutrition in tomato adjusting carbon and nitrogen metabolism to stomatal conductance. *Plant Science* 241: 32-44.

Vu, J.C.V. 2005. Acclimation of peanut (*Arachis hypogaea* L.) leaf photosynthesis to elevated growth CO₂ and temperature. *Environ Exp Bot* 53: 85-95.

Walker, D.J., Romero, P., De Hoyos, A., Correal, E., 2008. Seasonal changes in cold tolerance, water relations and accumulation of cations and compatible solutes in *Atriplex halimus* L. *Environ. Exp. Bot.* 64, 217-224.

Wang, Z.; Pan, Q.; Quebedaux, B. 1999. Carbon partitioning into sorbitol sucrose, and starch in source and sink apple leaves as affected by elevated CO₂. *Environmental and Experimental Botany*, 41: 39-46. doi: 10.1016/S0098-8472(98)00054-9.

Watson, R.T.; Rodhe, H.; Oescheger, H. and Siegenthaler, U. 1990. Climate. *In* The IPCC scientific assessment. (J.T. Houghton, G.J. Jenkins, J.J. Ephraums Eds.) Cambridge University, Cambridge. Pp: 1-40.

Wittwer, S.H. 1990. Implications of the greenhouse effect on crop productivity. *Hortscience*, Vol 25 (2): 1560-1567.

Wolfe, D.W.; Gifford, R.M.; Hilbert, D.; Luo, Y. 1998. Integration of photosynthetic acclimation to CO₂ at whole-plant level. *Global Change Biology*, 4: 879-893. doi: 10.1046/j.1365-2486.1998.00183.x.

Xu, G.H.; Wolf, S.; Kafkai, U. 2002. Mother plant nutrition and growing condition affect amino and fatty acid composition of hybrid sweet pepper seeds. *Journal of Plant Nutrition*, 25 (4): 719-734. doi: 10.1081/PLN-120002954.

Yasour, H.; Ben-Gal, A.; Yermiyahu, U.; Beit-Yannai, E.; Cohen, S. 2013. Nitrogen management of greenhouses pepper production: Agronomic, nutritional and environmental implications. *Hortisciencie* 48: 1241-1249.

Yelle, S.; Beeson, R.C.; Trudel, M.J.; Gosselin, A. 1989. Acclimation of two tomato species to high atmospheric CO₂. I. Sugar and starch concentrations. *Plant Physiology*, 90: 1465-1472.

Yelle, S.; Beeson, R.C.; Trudel, M.J.; Gosselin, A. 1990. Duration of CO₂ enrichment influences growth, yield and gas exchange of two tomato species. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 115: 52-57.

Yin, X. 2002. Responses of leaf nitrogen concentration and specific leaf area to atmospheric CO₂ enrichment: a retrospective synthesis across 62 species. *Global Change Biology*, 8: 631-642. doi:

10.1046/j.1365-2486.2002.00497.x.

Paginas web consultadas:

(última visita: 5/5/2021)

<https://www.juntadeandalucia.es/agriculturaypesca/observatorio/servlet/FrontController?ec=default> (última visita: 5/5/2021)

<http://izana.aemet.es0> (última visita: 5/5/2021)



INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN
Y FORMACIÓN AGRARIA Y PESQUERA
Consejería de Agricultura, Ganadería,
Pesca y Desarrollo Sostenible



UNIVERSIDAD DE ALMERÍA