

FERTILIZACIÓN PARA LA ÓPTIMA ADAPTACIÓN Y VIGOR DE PLÁNTULAS DE TOMATE (*Lycopersicon esculentum* Mill.) OBTENIDOS *IN VITRO*

FERTILIZATION FOR ACCLIMATIZATION OF TOMATO PLANTLETS (*Lycopersicon esculentum* Mill.) OBTAINED *IN VITRO*

José Raymundo Enríquez del Valle¹, Guillermo Carrillo Castañeda¹, Prometeo Sánchez García², María de las Nieves Rodríguez Mendoza² y María del Carmen Mendoza Castillo¹

RESUMEN

Para la producción comercial de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) es conocido que al fertilizar adecuadamente las plántulas se mejora, además de su establecimiento y posterior desarrollo en campo, la calidad y el rendimiento. El uso de vitroplántulas (plántulas obtenidos *in vitro*) en sistemas de producción de tomate, producidos en medios de cultivo y con alta humedad relativa, implica la adaptación simultánea a nuevas condiciones de nutrición, fotoperíodo natural y ambientes más secos; de esto depende el éxito del establecimiento del trasplante. En este trabajo se estudió el efecto de la fertilización de vitroplántulas de *Lycopersicon esculentum* Mill. var. Daniela en su desarrollo. Las vitroplántulas obtenidas mediante organogénesis en tejidos foliares, cuando tuvieron aproximadamente 3 cm de longitud de tallo fueron transferidas a macetas con una mezcla 1:1 perlita-suelo. Desde el trasplante y durante 25 días de aclimatación en el invernadero, éstas fueron irrigadas con la solución nutritiva de Steiner (1984) ajustada a los potenciales osmóticos: A) 0, B) -0.018, C) -0.036, D) -0.054 y E) -0.072 MPa. Al final del periodo de adaptación, todas las plántulas sobrevivieron, aún las irrigadas sin fertilizante (condición A); pero, las plántulas fertilizadas con la solución C alcanzaron 25 % más longitud de tallo; con las soluciones D y E se incrementó 7 % el diámetro del tallo. Con la solución E aumentó 175 % el área foliar y 66 % la biomasa de la parte aérea, 53 % la biomasa total y 14 % el contenido de clorofila en hojas; las plántulas irrigadas con las soluciones B, C y D acumularon 36, 45 y 36 % más azúcares solubles totales, respectivamente, en comparación con las no fertilizadas.

¹ Instituto de Recursos Genéticos y Productividad, Colegio de Postgraduados. 56230 Montecillo, México. Tel: 01 (595) 2-02-00 ext. 1500. Fax: 01(595) 20262.

² Instituto de Recursos Naturales. Colegio de Postgraduados., 56230 Montecillo, México. Tel: 01(595) 2-0200 Ext. 1262, Fax: 01(595) 2-0295

PALABRAS CLAVE ADICIONALES

(*Lycopersicon esculentum* Mill.), organogénesis, micropropagación, nutrición vegetal, adaptación.

SUMMARY

In commercial production systems of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) it has been observed that suitable transplant fertilization improves its establishment rate and further development in the field as well as the yield and fruit quality. In order to use vitroplantlets in tomato production systems, which grow in a nutritive medium and high relative humidity, it is necessary to adjust them simultaneously to new nutritive conditions, photoperiod and a drier environment because the success of the vitroplantlet establishment depends on these factors. The purpose of this work was to study the effect of the fertilization of *Lycopersicon esculentum* cv. Daniela plantlets, obtained through organogenesis from leaf tissues. The plantlets of 3 cm stem length were transferred to a greenhouse and set in pots of 110 cm³ containing a 1:1 perlite-soil mixture. Since transplanting and during 25 days of acclimation period, the vitroplantlets were irrigated with the Steiner (1984) nutritive solution adjusted to the osmotic potential: A= 0, B= -0.018, C= -0.036, D= -0.054 and E= -0.072 Mpa. At the end of the period, 100 % of the vitroplantlets survived, even those irrigated with tap water (A). Unfertilized plants reached a stem length of 62.7 mm and a stem diameter of 2.8 mm, 16.2 cm² of leaf area. 2.76 mg chlorophyll/ g leaf fresh weight, 200.3 mg shoot dry weight, 272.6 mg total dry weight and 12.9 mg of total soluble carbohydrates in shoots. The shoots of plantlets fertilized with solution C were 25 % taller; with solutions D and E the stem diameter increased 7 %; when the solution E was applied, the plantlets increased their leaf area (175 %), shoot dry weight (66 %), total dry weight (53 %) and chlorophyll

Fecha de recepción: 7 de Julio de 1999.

Fecha de aprobación: 24 de Noviembre de 1999.

content in leaves (4 %); plantlets irrigated with the solutions B, C, and D had 36, 45, and an additional 36%, respectively, of total soluble carbohydrates in shoots relative to unfertilized plantlets.

ADDITIONAL INDEX WORDS

(*Lycopersicon esculentum* Mill., organogenesis, micro-propagation, plant nutrition, adaptation.

INTRODUCCIÓN

De acuerdo con Preece y Sutter (1991), las plantas obtenidas *in vitro* de la mayoría de las especies estudiadas, crecen vigorosamente cuando son fertilizadas regularmente, después de ser trasplantadas a macetas y cultivadas en condiciones de invernadero, por lo que se recomienda incorporar al sustrato un fertilizante de lenta liberación, o bien, irrigar con soluciones nutritivas. Sin embargo, en pocos trabajos se ha evaluado el efecto de la fertilización durante el periodo de aclimatación de las vitroplantas para definir la mejor dosis. Cuando Day *et al.* (1988) transfirieron plantas de *Acer rubrum* y *Betula nigra* propagadas *in vitro*, a macetas con sustrato y durante siete meses aplicaron diferentes dosis de fertilización en el riego, observaron diferencias en altura, ramificación y calidad de las plantas.

En el caso de vitroplántulas (plántulas obtenidas *in vitro*) de *L. esculentum* no se ha investigado la importancia de la aplicación de fertilizantes durante el periodo de adaptación y el efecto que pudieran tener éstos en el desarrollo posterior de la plántula y en el rendimiento de frutos. En algunos trabajos las vitroplántulas de tomate han sido transferidas del medio de cultivo a macetas con mezclas de sustratos orgánicos los cuales aportan nutrientes a las plántulas y materiales inertes. El uso de sustratos inertes permite aplicar con el riego soluciones nutritivas, pero no se evaluó el efecto de esta práctica (Gunay y Rao, 1980; Uddin *et al.*,

1988). La experiencia con plántulas de tomate originadas de semilla muestra que la condición nutrimental de éstas, principalmente los niveles de nitrógeno y fósforo en los tejidos del vástago, es un factor importante para el éxito de su establecimiento en campo y el buen rendimiento (Widders y Garton, 1992). Algunas características morfológicas de las plantas de tomate son indicadoras de su calidad: diámetro de tallo, número de hojas y área foliar. El contenido de materia seca es importante para el buen enraizado y para evitar estrés después del trasplante. Así mismo, el tamaño de los frutos depende del desarrollo y calidad de las plantas (Markovic *et al.*, 1997).

El objetivo de este trabajo consistió en definir la mejor concentración mineral de la solución nutritiva de Steiner que permitiera a las vitroplántulas de tomate desarrollarse favorablemente durante el periodo de aclimatación, como una condición para mejorar su vigor.

MATERIALES Y MÉTODOS

Brotos de *L. esculentum* var. Daniela fueron obtenidos a partir de tejido foliar, con base a la metodología de Enríquez *et al.* (1998), y transferidos al medio de cultivo sin reguladores de crecimiento cuando alcanzaron 3 cm de longitud, para inducir su enraizado. Después de 12 días en dicho medio, cada plántula obtenida fue establecida en una maceta de 110 ml de capacidad que contenía una mezcla humedecida de suelo-perlita 1:1 ; en cada recipiente (maceta) con una plántula se colocó una cubierta de polietileno transparente, para mantener alta humedad relativa alrededor de ésta. Las vitroplántulas fueron colocadas en un invernadero bajo 50 % de sombra. A partir de este momento y durante los 25 días siguientes de aclimatación, a 44 plántulas agrupadas en cuatro lotes, se les aplicó un riego diario con (A) agua de la llave, mientras que a otras cantidades similares en cada tratamiento se les aplicó la solución nutri-

tiva de Steiner (1984), ajustada a los potenciales osmóticos de (B) -0.018, (C) -0.036, (D) -0.054 y (E) -0.072 MPa. Al final de esta etapa, en ocho vitroplántulas de cada condición experimental, se determinó la longitud del tallo, el número de hojas, diámetro del tallo en su base, área foliar, biomasa aérea y de raíces. Se hizo lecturas con un medidor de clorofila SPAD-502 y la cantidad de clorofila extraíble con acetona se calculó mediante el modelo de regresión establecido por Rodríguez (1997). Para la determinación de azúcares solubles totales se usó 200 mg de muestra de tallos y hojas seca (70 °C durante 24 horas), molida y tamizada y se siguió el método de Morris (1948). En la determinación de nitrógeno total, se usó 100 mg de muestra, que se analizó mediante el método micro Kjeldhal. Para cada variable se hizo el análisis de varianza mediante un diseño experimental completamente al azar. La comparación de medias fue por la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con la aplicación de las soluciones nutritivas durante la aclimatación de las vitroplántulas de tomate, se logró aumentar el crecimiento de órganos que las constituyen, así como los con-

tenidos de clorofila en hojas, de azúcares solubles y nitrógeno en la parte aérea.

Altura de plántula. Cuando se efectuó la transferencia de las vitroplántulas a las macetas, éstas alcanzaron en promedio 32 mm en altura. Al finalizar la aclimatación, se observó las diferencias mostradas en la Figura 1. Las plántulas a las que se aplicó la solución nutritiva C alcanzaron en promedio la mayor altura (79 mm), dato 25 % mayor y significativamente diferente ($\alpha=0.05$) al de las plántulas no fertilizadas que midieron en promedio 63 mm, pero no significativamente diferente a los 70 a 77 mm de altura de las plantas irrigadas con las soluciones B, D y E.

Diámetro de tallo. Al iniciar el periodo de aclimatación, el diámetro promedio de las plántulas fue de 2.5 mm y al término de éste se observó la tendencia de que conforme la solución nutritiva era más concentrada, las plántulas presentaban mayor diámetro. Los tallos de plántulas desarrolladas sin fertilizante tuvieron en promedio 2.8 mm, mientras que el diámetro de las fertilizadas osciló entre 2.9 y 3.0 mm; sin embargo, estas diferencias no son estadísticamente significativas ($\alpha=0.05$).

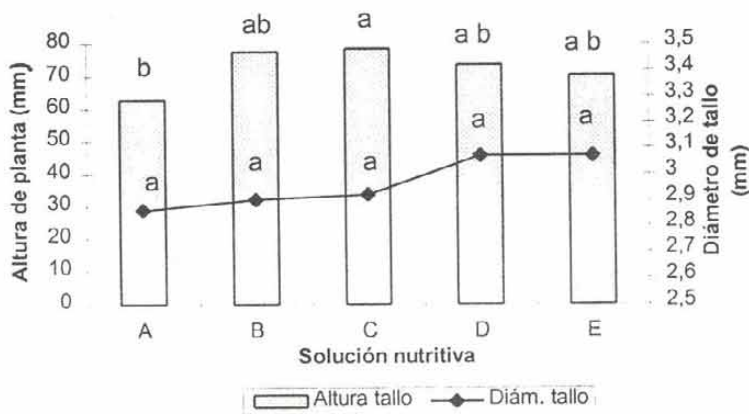


Figura 1. Altura y diámetro de tallo de las vitroplántulas desarrolladas con diferentes dosis de fertilización, A= 0, B= -0.018, C= -0.036, D= -0.054 y E= -0.072 MPa de potencial osmótico, después de 25 días de aclimatación. En cada variable, medias con la misma letra (a, b) no son estadísticamente diferentes ($\alpha=0.05$).

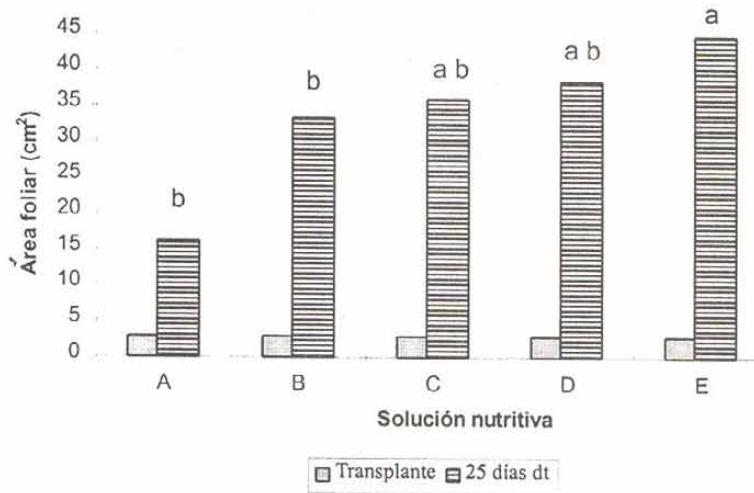


Figura 2. Área foliar de vitropántulas de tomate desarrolladas con diferentes soluciones nutritivas: A= 0, B= -0.018, C= -0.036, D= -0.054 y E= -0.072 MPa de potencial osmótico, durante 25 días de aclimatación en invernadero. Medias con la misma letra no son estadísticamente diferentes, ($\alpha = 0.05$).

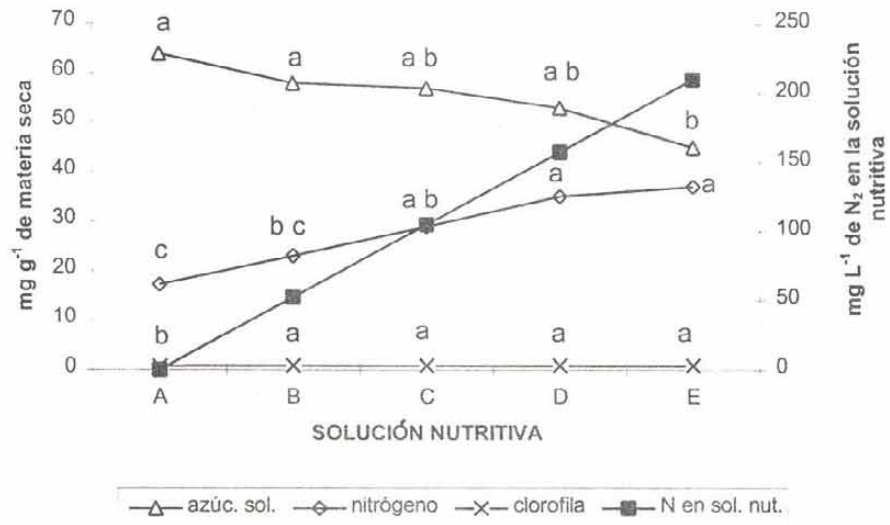
Número de hojas y área foliar. Al inicio del periodo de aclimatación, las plántulas tenían en promedio 2.5 hojas y 2.9 cm² de área foliar. Después de 25 días, las plántulas no fertilizadas tuvieron 6.3 hojas en promedio, mientras en los tratamientos B, C, D y E, las plántulas tuvieron 7.3, 6.7, 6.5 y 6.8 hojas en promedio, respectivamente, que no fueron significativamente diferentes. Sin embargo, en área foliar se observaron efectos significativos entre tratamientos y conforme a las plántulas se les proporcionaban soluciones nutritivas con potencial osmótico más negativo, éstas desarrollaron más área foliar (Figura 2). Las plántulas a las que se aplicó la solución nutritiva E acumularon en promedio 44.7 cm² de área foliar, que fue significativamente ($\alpha=0.05$) mayor a los 16.2 y 33.1 cm² de las plántulas no fertilizadas y a las que se aplicó la solución nutritiva B, respectivamente. Las plántulas regadas con la solución nutritiva E, desarrollaron 175 % más área foliar que las no fertilizadas. Tesarová y Nátr (1986) al estudiar la nutrición de plantas de cebada, encontraron que la consecuencia más notable de deficiencia

en nitrógeno fue la reducción en el área y acumulación de materia seca en las hojas.

Contenido de clorofila en hojas. Las plántulas a las que se aplicó las soluciones nutritivas B, C, D y E, no mostraron diferencias significativas ($\alpha = 0.05$) en cantidad de clorofila acumulada (3.06 a 3.16 mg g⁻¹ de materia fresca), siendo en promedio 12 % superior y significativamente diferentes a las plántulas no fertilizadas (Figura 3a).

Contenido de azúcares solubles. Ho y Shaw (1977) observaron que en plantas de tomate originadas de semilla, el nivel de carbohidratos en las hojas decreció durante la etapa de crecimiento acelerado, ya que cuando los folíolos en una hoja alcanzaron el 10 por ciento de su tamaño final, una alta proporción del carbono fijado se encontró como proteína insoluble y celulosa, mientras que en hojas maduras que casi alcanzaron su tamaño final, la mayor proporción del carbono fijado se encontró en forma de azúcares solubles, principalmente sacarosa y con menores cantidades de glucosa y fructosa.

a)



b)

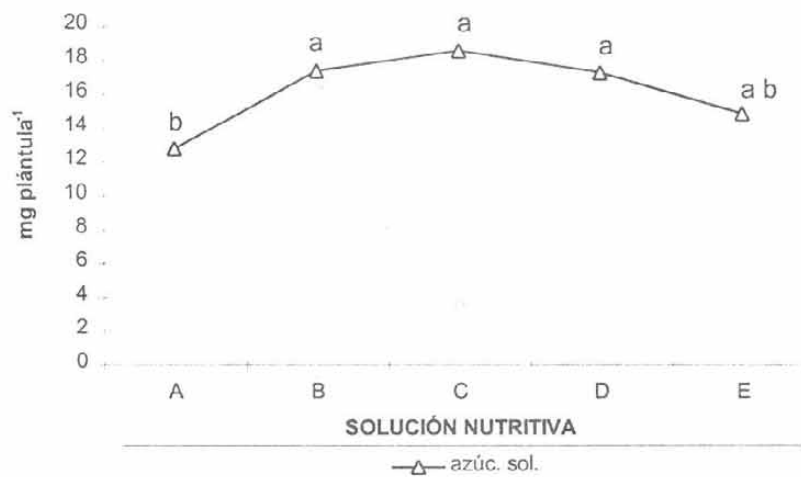


Figura 3. Concentración (a) y contenido absoluto (b) de azúcares solubles, clorofila y nitrógeno, en la parte aérea de plántulas de tomate irrigadas durante 25 días con soluciones nutritivas: A= 0, B= -0.018, C= -0.036, D= -0.054 y E= -0.072 MPa de potencial osmótico y contenido de nitrógeno en las soluciones nutritivas. En cada variable, medias con la misma letra (a, b) no son estadísticamente diferentes, ($\alpha = 0.05$).

Las concentraciones (mg g⁻¹ de materia seca) de azúcares solubles en la parte aérea de las plántulas obtenidas *in vitro* tendieron a disminuir conforme éstas se expusieron a mayores dosis de fertilización, así que las plántulas que no fueron fertilizadas tuvieron 65 mg g⁻¹ de materia seca de azúcares solubles, mientras que las plántulas a las que se aplicó la solución nutritiva E, tuvieron 46 mg g⁻¹ (Figura 3a). La disminución de estos azúcares pudo deberse a que son usados rápidamente para la síntesis de

compuestos estructurales y metabólicos debido al aumento en las tasas de formación y crecimiento de los diversos órganos de las plántulas. Giaquinta (1978) en remolacha azucarera observó que en las hojas jóvenes, la sacarosa fue utilizada rápidamente como precursor de aminoácidos libres, proteínas, pared celular y almidón, mientras que en hojas maduras la demanda por sacarosa disminuyó y se tuvo más sacarosa disponible para la exportación.

Con los datos de biomasa y de concentración de azúcares solubles en la parte aérea, se obtuvo las cantidades totales de azúcares solubles y se observó que en los tratamientos con soluciones nutritivas se acumuló mayor cantidad total de azúcares solubles (Figura 3b); sin embargo, la mayor acumulación fue observada en las plántulas fertilizadas con la solución C. Las plántulas irrigadas con las soluciones D y E tuvieron menor cantidad de azúcares solubles, aún cuando desarrollaron mayor área foliar y presentaron mayor contenido de nitrógeno que las plántulas irrigadas con la solución C. Lo anterior parece no estar de acuerdo con que una alta concentración de nitrógeno en las hojas está asociada con mayor concentración de proteínas, de las cuales gran parte es RuBP carboxilasa, la enzima de carboxilación del ciclo de Calvin (Moorby y Besford, 1983) y por lo tanto debería ocurrir una mayor actividad fotosintética.

Bajo las condiciones de aclimatación manejadas en este trabajo, la irradiación al interior del invernadero fue de 124 W m^{-2} RFA y la malla sombra redujo 50 % la irradiación sobre las plántulas, por lo que éstas solo recibieron 62 W m^{-2} . Con este flujo fotosintético las plántulas no alcanzan el punto de fotosaturación, ya que Sánchez (1997) menciona que plantas C_3 alcanzan su máxima tasa de fotosíntesis con aproximadamente 100 a 150 W m^{-2} de RFA. Además, las plántulas se encontraron en alta densidad de población (138 plántulas m^{-2}) y pudo ocurrir que las hojas inferiores de las plántulas con más área foliar estuvieran excesivamente sombreadas, por lo que tuvieron una tasa fotosintética. De acuerdo con Donald (1968) hojas muy sombreadas pueden perder más materia seca mediante la respiración que la que ganan en fotosíntesis. De esta manera, las plántulas irrigadas con soluciones D y E, no lograron acumular más materia seca que las irrigadas con la solución C.

La parte aérea de las plántulas irrigadas con la solución nutritiva E y con agua de la llave (A), tuvieron similares contenidos de azúcares solubles totales (15 y 13 mg , respectivamente). Sin embargo, las plántulas en la condición E acumularon 53 % más materia seca total que las no fertilizadas, por lo que la similitud en contenidos de azúcares solubles puede deberse a que las primeras tuvieron mayor actividad fotosintética, pero hicieron uso más intenso de los azúcares.

Contenido de nitrógeno en tejidos y acumulación de materia seca. La Figura 3a, muestra que el contenido promedio de nitrógeno acumulado en la parte aérea de las plántulas aumentó, en respuesta a la aplicación de mayores dosis de fertilización. Sin embargo, de acuerdo con la comparación de medias (Tukey $\alpha=0.05$) la acumulación de nitrógeno en las plántulas irrigadas con las soluciones C, D y E fue similar (2.9 a 3.7%), pero significativamente mayores al 1.7% de nitrógeno acumulado en las plántulas no fertilizadas.

Lo anterior tiene relación con la acumulación de materia seca en la parte aérea, raíz y total. Jones (1983) menciona que la producción de materia seca, particularmente durante la fase vegetativa de crecimiento, es una función lineal de la cantidad de radiación interceptada, y que factores como la nutrición y la condición hídrica de la planta tienen gran efecto sobre el rendimiento al alterar el índice de área foliar y en consecuencia la interceptación de luz. La Figura 4 muestra que en general la acumulación de materia seca en la parte aérea representó del 73.4 al 79.6 % del total de las plántulas, con la tendencia a aumentar en relación directa a la concentración de las soluciones nutritivas con las que fueron irrigadas. Las plántulas irrigadas con las soluciones nutritivas B, C, D y E acumularon 49, 62, 63 y 66%, respectivamente, más materia seca en la parte aérea, significativamente diferentes ($\alpha=0.05$) que las no fertili-

zadas. En el caso de raíz, no hubo diferencias significativas en la acumulación de materia seca entre las plántulas de los diversos tratamientos.

En la materia seca total, las plántulas que fueron irrigadas con la solución C, acumularon 419 mg de materia seca total, que fue 54 % superior a la acumulada en las plántulas no fertilizadas. Por lo que se puede considerar que la aplicación de soluciones nutritivas en el intervalo de dosis entre C y D, se obtiene el crecimiento óptimo de las plántulas según Epstein (1972) y al aplicar la dosis más alta de nutrimentos (E), continuó aumentando el contenido de nitrógeno en los tejidos de la parte aérea (Figura 3a) pero que es descrito como “consumo en exceso”, en donde todavía ocurre absorción del elemento cuando se proporciona a la planta mayor dosis de fertilización, pero sin que incremente la acumulación de materia seca.

De acuerdo con Widders y Garton (1992) el estado de nutrición de plántulas es un factor importante que tiene influencia en el éxito del

establecimiento en campo y la productividad del cultivo. Los contenidos promedio de nitrógeno, 2.9, 3.5 y 3.7 %, acumulados en la parte aérea de vitroplántulas irrigadas con las soluciones C, D y E, respectivamente, son similares al 3.3 % de nitrógeno acumulado a los 42 días de la siembra, en la parte aérea de plántulas de tomate originadas de semillas que presentaron el mejor desarrollo (Liptay y Sikkema, 1998). El dato de 3.96 % que reportan Widders y Garton (1992) fue obtenido al irrigar las plántulas con una solución nutritiva que contenía 150 N- 64 P- 124 K mg L⁻¹. Piggott (1986) al analizar la parte aérea de plántulas de tomate en la etapa de 13 hojas, considera los intervalos de concentraciones de nitrógeno: < 3.0 % de la materia seca de la plántula, como deficiencia de N; entre 3.0 y 4.0 % como marginal y de 4.0 a 6.0 % como adecuada; sin embargo, Lara (1998) encuentra de 2.7 a 3.1 % de nitrógeno en sus plántulas mejor desarrolladas a los 40 días.

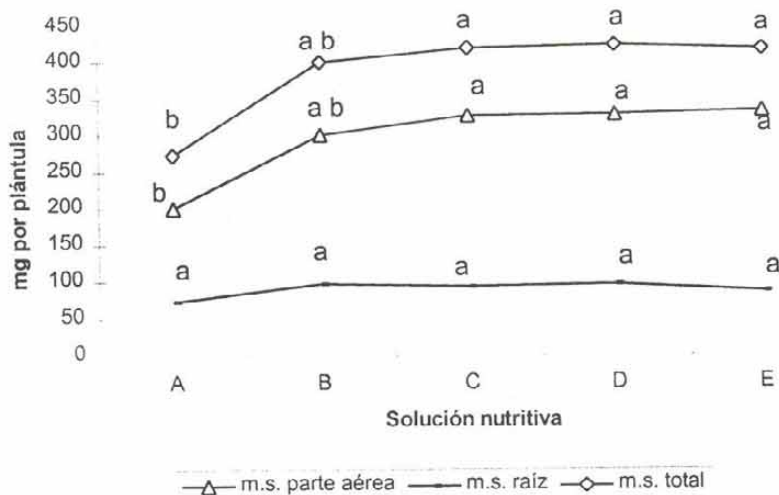


Figura 4. Acumulación de biomasa en plántulas de tomate irrigadas con soluciones nutritivas A= 0, B= -0.018, C= -0.036, D= -0.054 y E= -0.072 MPa de potencial osmótico, durante 25 días de aclimatación en invernadero. En cada variable, medias con la misma letra (a, b) no son estadísticamente diferentes ($\alpha = 0.05$).

En el presente trabajo, las plántulas obtenidas *in vitro* que no fueron fertilizadas durante su aclimatación en invernadero, tuvieron menor vigor, basado en criterios de altura y diámetro del tallo, número de hojas, área foliar y acumulación de materia seca. Las hojas presentaron color verde pálido al contener menor cantidad de clorofila y las hojas inferiores formadas durante su desarrollo *in vitro*, mostraban síntomas de senescencia. Según Debergh y Maene (1981) y Torres (1989) las plántulas obtenidas *in vitro* comúnmente muestran un retraso en su crecimiento durante los primeros días de aclimatación, ya que éstas usan gran cantidad de energía para adaptarse al nuevo ambiente, encontrando que la fijación de CO₂ en la fotosíntesis es poco eficiente. Sin embargo, los resultados aquí obtenidos muestran que con la nutrición adecuada de las vitroplántulas es posible lograr que éstas mantengan su desarrollo, y que al término de la etapa de aclimatación muestren ciertas características de desarrollo vegetativo que ha sido relacionado (Navarrete *et al.* 1997) con el vigor, que las capacita para un mejor crecimiento y rendimiento de frutos cuando son establecidas en campo.

En plantas micropropagadas de *Brassica oleracea* (Wardle *et al.*, 1979) y *Chrysanthemum morifolium* (Wardle *et al.*, 1983), al ser transferidas a suelo, se observó que las hojas formadas *in vitro* crecieron poco y murieron rápidamente debido a un funcionamiento anómalo. Lo anterior indica que las hojas formadas durante el cultivo *in vitro* fueron sólo una forma de transición y actuaron como órganos de almacenamiento, y que durante la aclimatación fueron producidas las hojas con características normales.

Los resultados obtenidos muestran que signos marcados de senescencia (pérdida de la pigmentación verde) y abscisión de las hojas formadas *in vitro*, se presentó durante la ac-

limatación en invernadero sólo en las vitroplántulas regadas con agua (tratamiento A). Los resultados preliminares indican que los síntomas tempranos de la senescencia de hojas descrita en vitroplántulas de otras especies y principalmente el retraso del desarrollo de las plántulas (Torres, 1989) puede deberse a deficiencias de nutrición durante la etapa de aclimatación, como pasó en (A), que se comprueba con los datos de acumulación de materia seca.

CONCLUSIÓN

Con la solución nutritiva C (-0.036 MPa de potencial osmótico) se obtuvo plántulas de mayor altura, de mayor contenido total de azúcares solubles y acumulación de materia seca.

BIBLIOGRAFÍA

- Day, J. W., W. T. Witte, and H. L. Dickerson. 1988. Acclimation of micropropagated tree liners: the response of *Acer rubrum* cvs. and *Betula nigra* 'Heritage' to fertilizer rate and light regime. HortScience 23: 820.
- Debergh, P. C. and L. J. Maene. 1981. A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. Scientia Horticulturae 14: 335-345.
- Donald, C. M. 1968. The breeding of crop ideotypes. Euphytica 17: 385-403.
- Enríquez V., J. R., G. Carrillo C. y J. Velázquez M. 1998. Producción de vitroplántulas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) y determinación de la producción de fruto. Biotecnología Aplicada 15: 77-82.
- Epstein, E. 1972. Mineral Nutrition of Plants: Principles and Perspectives. John Wiley and Sons, Inc. New York. 412 p.
- Giaquinta, R. 1978. Source and sink leaf metabolism in relation to phloem translocation. Plant Physiol. 61: 380-385.

- Gunay, A. L., and P. S. Rao. 1980. *In vitro* propagation of hybrid tomato plants (*Lycopersicon esculentum* L.) using hypocotyl and cotyledon explants. *Ann. Bot.* 45: 205-207.
- Ho, L. C. and A. F. Shaw. 1977. Carbon economy and translocation of ^{14}C in leaflets of the seventh leaf of tomato during leaf expansion. *Ann. Bot.* 41: 833-848.
- Jones, H. G. 1983. *Plants and Microclimate: A Quantitative Approach to Environmental Plant Physiology*. Cambridge University Press. London. 323 p.
- Lara H., A. 1998. Soluciones nutritivas para cuatro etapas fenológicas del jitomate. Tesis de Doctor en Ciencias. Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. 137 p.
- Liptay, A. and P. Sikkema. 1998. Varying fertigation volume modifies growth of processing tomato transplants produced in the greenhouse and affects leaching from plug trays. *HortTechnology* 8: 378-380.
- Markovik, V., M. Djurovka, and Z. Ilin. 1997. The effect of seedling quality on tomato yield, plant and fruit characteristics. *Acta Horticulturae* 462: 163-169.
- Moorby, J., and R. T. Besford. 1983. Mineral Nutrition and Growth. *In: Encyclopedia of Plant Physiology*, vol. 15 B, Inorganic Plant Nutrition. A. Läuchli and R. L. Bielecki (editors). Springer-Verlag, Berlin. pp. 481-527.
- Morris, D. L. 1948. Quantitative determination of carbohydrates with Dreywood's anthrone reagent. *Science* 107: 254-255.
- Navarrete, M.O., B. Jeannequin, and M. Sebillotte. 1997. Vigour of greenhouse tomato plants (*Lycopersicon esculentum* Mill.): Analysis of the criteria used by growers and search for objective criteria. *Journal of Horticultural Science* 72: 821-829.
- Piggot, T. J. 1986. Vegetable crops. *In: Plant analysis: An Interpretation Manual*. D. J. Reuter and J. B. Robinson (ed.). Inkata Press. Melbourne. pp. 148-187.
- Preece, J. E. and E.G. Sutter. 1991. Acclimatization of micropropagated plants to the greenhouse and field. *In: Micropropagation, Technology and Application*. P.C. Debergh and R.H. Zimmerman (eds.). Dordrecht, Kluwer Academic Publishers. pp 71-93.
- Rodríguez M., M. N. 1997. Fertilización foliar en el cultivo del tomate en condiciones de invernadero. Tesis de Doctor en Ciencias, Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. 148 p.
- Sánchez del Castillo., F. 1997. Valoración de características para la formación de un arquetipo de jitomate apto para un ambiente no restrictivo. Tesis de Doctor en Ciencias, Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 189 p.
- Steiner, A. A. 1984. The universal nutrient solution. *ISOSC Proceedings. Sixth International Congress on Soilless Culture*. Lunteren Wageningen The Netherlands: 633-650.
- Tesarová, J. and L. Nátr. 1986. Effect of nitrogen deficiency on growth and chloroplast number in spring barley. *Photosynthetica* 20: 371-376.
- Torres, K. C. 1989. *Tissue culture techniques for horticultural crops*. Van Nostrand Reinhold. New York. 285 p.
- Uddin, M. R., S. Z. Berry, and A. D. Bisges. 1988. An improved shoot regeneration system for somaclone production in tomatoes. *HortScience* 23 (6): 1062-1064.
- Wardle, K., A. Quinlan, and I. Simpkins. 1979. Abscisic acid and the regulation of water loss in plantlets of *Brassica oleracea* L var. *botrytis*, regenerated through apical meristem culture. *Ann. Bot.* 45: 745-752.
- Wardle, K., V. Dalsou, I. Simpkins, and K. C. Short. 1983. Redistribution of rubidium in plants of *Chrysanthemum morifolium* Ram. Cv. Snowdon derived from tissue cultures and transferred to soil. *Ann. Bot.* 51: 261-264.
- Widders, I. E. and R. W. Garton. 1992. Effects of pretransplant nutrient conditioning on elemental accumulation in tomato seedlings. *Scientia Horticulturae* 52: 9-17.