

ETSia
Cartagena



DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN VEGETAL
Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica
UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE CARTAGENA

PROYECTO FINAL DE CARRERA
Ingeniería Agrónoma

**Cultivo de hortensia en maceta bajo agua
residual depurada salina: eficacia del lavado con
agua buena**

Raquel Valdés Illán

Cartagena, diciembre 2011



Universidad Politécnica de Cartagena
Departamento de Producción Vegetal
Área de Producción Vegetal

Sebastián del Pilar Bañón Arias, profesor del Departamento de Producción Vegetal de la Universidad Politécnica de Cartagena.

INFORMA:

Que el presente Proyecto Fin de Carrera, titulado «**Cultivo de hortensia en maceta bajo agua residual depurada salina: eficacia del lavado con agua buena**», presentado por Raquel Valdés Illán, ha sido realizado bajo mi dirección.

Y para que conste, a los efectos oportunos, firmo el presente escrito en Cartagena, a veinte de dos mil once.



Fdo: Sebastián del Pilar Bañón Arias

ÍNDICE

1.- ANTECEDENTES	9
1.1.- La reutilización agrícola de aguas residuales depuradas.....	9
1.1.1.- El agua	9
1.1.2.- Tipos de tratamiento de las aguas residuales	11
1.1.3.- Usos del agua residual depurada.....	11
1.1.4.- El riego con aguas residuales. Ventajas e inconvenientes	13
1.1.5.- Reutilización de aguas en la Región de Murcia.....	17
1.2.-La hortensia.....	19
1.2.1.-Origen	19
1.2.2.-Clasificación taxonómica.....	19
1.2.3.- Características morfológicas.....	20
1.2.4.-El cultivo en maceta.....	21
1.2.5.-Importancia y tendencia del cultivo de hortensia en maceta.....	25
1.3.- Referencias.....	27
2.-EXPERIMENTO	33
2.1.- INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS.....	33
2.2- MATERIAL Y MÉTODOS.....	36
2.2.1.-Material vegetal	36
2.2.2.-Condiciones de cultivo.....	36
2.2.3.-Calibración sondas ECH ₂ O EC-5	37
2.2.4.-Tratamientos	38
2.2.5.-Medidas de consumo de agua, drenaje y eficiencia en el uso del agua.....	38
2.2.6.-Medidas de evolución del número y tamaño de las inflorescencias	38
2.2.7.-Medida de color de las inflorescencias y de la clorofila foliar.....	38
2.2.8.-Medidas de crecimiento, desarrollo e índice de necrosis foliar	39
2.2.9.-Medidas evolutivas de los parámetros hídricos de la planta	40
2.2.10.-Media evolutiva del intercambio de gases y fluorimetría	40
2.2.11.-Determinación de iones minerales	41
2.2.12.-Determinación del contenido total de boro	42
2.2.13.-Medición de las capas celulares de la hoja en la sección transversal.....	42
2.2.14.- Descripción de síntomas visuales	42
2.2.15.- Diseño y análisis estadístico	42
2.3.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN	52
2.3.1.- Consumo de agua, drenaje y eficiencia en el uso del agua	52

2.3.2.- Crecimiento y desarrollo.....	53
2.3.3.- Color de las inflorescencias y SPAD en las hojas	57
2.3.4.- Intercambio de gases, fluorescencia cloroflica y relaciones hídricas	58
2.3.5.- Contenido de solutos inorgánicos	59
2.3.6.- Evolución de las relaciones hídricas de la planta.....	61
2.3.7.- Evolución del intercambio de gases y los parámetros fotoquímicos	62
2.3.8.- Evolución del número y tamaño de las inflorescencias de la planta.....	63
2.3.9.- Medición de las capas de celulares de la hoja en la sección transversal	64
2.3.10.- Descripción síntomas visuales	65
2.4.-CONCLUSIONES	89
2.5.- REFERENCIAS.....	91
6.- ANEXOS	96
6.1.- Programa CR1000.....	96

Índice de tablas

Tabla 1.1.- Características del agua residual depurada de la planta de depuración de Los Alcázares	18
Tabla 2.2.1.- Soluciones nutritivas utilizadas para el riego	44
Tabla 2.3.1.- Resultados y significación estadística del ANOVA bifactorial para los parámetros de consumo de agua, drenaje y eficiencia en el uso del agua	67
Tabla 2.3.2.- Efectos de la variedad y el riego en los parámetros de consumo de agua, drenaje y eficiencia en el uso del agua.	67
Tabla 2.3.3.- Significación estadística de la variedad y el riego y su interacción sobre los parámetros de crecimiento medidos el final del experimento.	68
Tabla 2.3.4.- Estudio de la interacción producida entre la variedad y el riego en los parámetros de crecimiento.	69
Tabla 2.3.5.- Significación estadística de la variedad y el riego y su interacción sobre los parámetros de color y SPAD medidos el final del experimento.	70
Tabla 2.3.6.- Estudio de la interacción producida entre la variedad y el riego en los parámetros de color y SPAD.	70
Tabla 2.3.7.- Significación estadística de la variedad y el riego y su interacción sobre el intercambio gaseosos, fluorescencia y las relaciones hídricas de las plantas.	71
Tabla 2.3.8.- Estudio de la interacción producida entre la variedad y el riego en el intercambio gaseoso, fluorescencia y las relaciones hídricas.	71
Tabla 2.3.9.- Resultados y significación estadística del ANOVA bifactorial para el contenido de iones en hojas y raíces.	72
Tabla 2.3.10.- Estudio de la interacción producida entre la variedad y el riego en el contenido de iones en hojas y raíces.	73
Tabla 2.3.11.- Resultados y significación estadística del ANOVA bifactorial para el grosor de las diferentes capas celulares, datos en μm	74
Tabla 2.3.12.- Estudio de la interacción producida entre la variedad y el riego en el grosor de las capas celulares, datos en μm	74

Índice de figuras

Figura 2.2.1.- Condiciones climáticas en el interior del invernadero durante el cultivo. Temperaturas medias, mínimas y máximas (A), déficit de presión de vapor medio, mínimo y máximo (B), PAR máximo e integral diaria de la luz (C). Los datos representados fueron medidas diarias	45
Figura 2.3.1.- Evolución del contenido volumétrico de agua en el sustrato a finales del cultivo, 15 días representativos en abril. Tratamiento control (A), tratamiento agua residual (B) y tratamiento agua residual con lavado (C). Los datos son la media de 4 sondas, para cada tratamiento.	75
Figura 2.3.2.- Evolución del contenido volumétrico de agua en el sustrato al inicio del cultivo 15 días. Tratamiento control (A), tratamiento agua residual (B) y tratamiento agua residual con lavado (C). Los datos son la media de 4 sondas, para cada tratamiento.	76
Figura 2.3.3.- La evolución de las relaciones hídricas de un día al final del experimento en <i>Hydrangea macrophylla</i> Thunb. ‘Leuchtfeuer’. Efectos de los tratamientos en el potencial hídrico (A), el potencial osmótico (B) y potencial de presión (C). Los datos son medias ($n = 5$) \pm ES (barras verticales).	77
Figura 2.3.4. La evolución de las relaciones hídricas de un día al final del experimento en <i>Hydrangea macrophylla</i> Thunb. ‘Wudo’. Efectos de los tratamientos en el potencial hídrico (A), el potencial osmótico (B) y potencial de presión (C). Los datos son medias ($n = 5$) \pm ES (barras verticales).	78
Figura 2.3.5. La evolución del intercambio gaseoso, y los parámetros fotoquímicos a lo largo de un día al final del experimento en <i>Hydrangea macrophylla</i> Thunb. ‘Leuchtfeuer’. Efectos de los tratamientos en la conductancia estomática (A), la fotosíntesis neta (B), Fv/Fm (C), temperatura diaria (D), NPQ (E), la relación de transporte de electrones tasa aparente / la fotosíntesis neta (H). Los datos son medias ($n = 5$) \pm ES (barras verticales).	79
Figura 2.3.6. La evolución del intercambio gaseoso, y los parámetros fotoquímicos a lo largo de un día al final del experimento en <i>Hydrangea macrophylla</i> Thunb. ‘Wudo’. Efectos de los tratamientos en la conductancia estomática (A), la fotosíntesis neta (B), Fv/Fm (C), temperatura diaria (D), NPQ (E), la relación de transporte de electrones tasa aparente / la fotosíntesis neta (H). Los datos son medias ($n = 5$) \pm ES (barras verticales).	80
Figura. 2.3.7. Evolución del numero de inflorescencias por planta (A) y del tamaño de inflorescencia (B) durante la floración en <i>Hydrangea macrophylla</i> Thunb. ‘Leuchtfeuer’. Los datos son medias ($n = 5$) \pm ES (barras verticales).	81
Figura 2.3.8. Evolución del numero de inflorescencias por planta (A) y del tamaño de inflorescencia (B) durante la floración en <i>Hydrangea macrophylla</i> Thunb. ‘Wudo’. Los datos son medias ($n = 5$) \pm ES (barras verticales).	82

Índice de fotografías

Foto 2.2.1.- Disposición del material vegetal al inicio del ensayo en el invernadero ..	46
Foto 2.2.2.- Invernadero en el que se llevó a cabo el ensayo.	46
Foto 2.2.3.- Caja estanca con datalogger CR1000, multiplexor, SMD-CD16D, batería y sondas ECH ₂ O EC-5.	47
Foto 2.2.4.- Colorímetro MINOLTA CR 10.	47
Foto 2.2.5.- Medidor de área foliar LI-3100C.	48
Foto 2.2.6.- Cámara de Scholander para la medida del potencial hídrico. El esquema está adaptado de Taiz y Zeiger; Plant Physiology, 4 th Edition online. Posición de la hoja antes de la medición.	48
Foto 2.2.7.- Osmómetro de presión de vapor Wescor 5520.	49
Foto 2.2.8.- Mediciones de conductancia estomática (g_s) y tasa de fotosíntesis neta (P_n) con CIRAS-2.	49
Foto 2.2.9.- Medición de la fluorescencia con un fluorímetro FMS-2.	50
De izquierda a derecha: Control, ARL y AR.	83
De izquierda a derecha: Control, ARL y AR.	83
Foto 2.3.3.- Comparación del diámetro de los sépalos entre una planta control y AR.	84
Foto 2.3.4.- Clorosis en hortensia blanca, la primera foto es una planta AR y la segunda una control el día 18 de marzo de 2011.	84
Foto 2.3.5.- Estado de las hortensias rosas el día 18 de marzo de 2011.	85
Foto 2.3.6.- Diferencia de inflorescencias al final del cultivo; Control, ARL y AR.	85
Foto 2.3.7.- Sección transversal de una hoja. Tratamiento AR.	86
Foto 2.3.8.- Diferencia de crecimiento entre el tratamiento control y AR el 28 de febrero de 2011.	86
Foto 2.3.9.- Clorosis en las hojas de la variedad blanca y necrosis apical en la variedad rosa.	87

Antecedentes

1.- ANTECEDENTES

1.1.- La reutilización agrícola de aguas residuales depuradas

1.1.1.- El agua

El agua es indiscutiblemente un recurso natural que condiciona el desarrollo económico de las ciudades y pueblos. Hasta hace muy poco tiempo el agua se consideraba como un recurso natural inagotable, pero el actual ritmo de crecimiento de las poblaciones y el desarrollo de la actividad industrial ha hecho que este recurso se haya visto mermado, principalmente en las zonas más áridas.

El agua es un bien escaso en la Región de Murcia, indispensable para la vida y para el desarrollo sostenible, así como para la mayoría de las actividades económicas y sociales. La Región de Murcia ha estado siempre ligada al uso del agua, existiendo desde tiempos del dominio árabe una amplia y compleja red de riego que se extendía por las vegas de los distintos cauces fluviales de la Región, y en especial, del Río Segura. El regadío en Murcia ha contribuido de forma inequívoca a su vertebración territorial, paisajística y económica, convirtiéndose el agua en el principal factor productivo que proporciona viabilidad y credibilidad al crecimiento y desarrollo económico de la Región. Para ello, el agricultor del regadío en Murcia ha aprendido a gestionar la escasez y a racionalizar el uso del agua; además es el que a mayor extremo ha llevado la incorporación paulatina de aplicaciones tecnológicas y agronómicas a sus explotaciones: técnicas y recursos de almacenaje y regulación, riego localizado, automatización de los cabezales de riego, reutilización y recanalización del agua, etc. Y esto ha provocado que la productividad del agua en la Región sea de las más altas de España.

A pesar de todas estas innovaciones y adaptaciones hidráulicas y culturales, en la actualidad la cuenca del Río Segura presenta una situación de *déficit hídrico estructural*. Este concepto se refiere a que la suma de la demanda de agua de los diferentes usos (urbano, agrícola, industrial y ambiental) supera la cantidad de recursos renovables disponibles. Diversos factores han ocasionado este problema, entre los que destacan la creación de nuevos regadíos y el crecimiento demográfico y urbanístico (López, 2007).

La generación de grandes cantidades de aguas residuales generadas por el gran desarrollo urbano en la región, supone a su vez un nuevo recurso de agua. El agua residual es un recurso muy valioso para paliar, en parte, el déficit hídrico, y para evitar la contaminación ambiental de estas aguas. Además, la ventaja del agua residual no sólo recae en aumentar la cantidad total de recursos hídricos, sino en la continuidad de su disponibilidad, además de ser una fuente de nutrientes.

La aplicación de las aguas residuales a terrenos agrícolas para riego, aprovechando su valor fertilizante, o para su eliminación, evitando la contaminación de ríos, es una práctica realizada desde la antigüedad por griegos y romanos y habitual en China, Inglaterra o Alemania durante los siglos XVI, XVII, XIX y principios del siglo XX. A lo largo de este siglo la reutilización para la aplicación en riego de las aguas residuales, ha adquirido un nuevo auge como sistema alternativo de depuración, como mecanismo eficaz para regular los recursos hídricos en zonas muy deficitarias y para crear barreras hidráulicas contra la intrusión marina (López, 2007).

Las aguas residuales depuradas han pasado de ser un desecho a ser un recurso con una rentabilidad asociada (y reconocida socialmente). Las técnicas y procesos de depuración han ido mejorando con el tiempo hasta conseguir un agua de gran calidad y con unas características que la hacen apta para usos antes inimaginables. En concreto, el agua residual depurada es un recurso muy valioso para su reutilización en la agricultura por varios motivos. El primero y más importante, es el hecho de disponer del recurso de forma continua e independientemente del régimen pluviométrico o de la disponibilidad de recursos en la cuenca. De este modo, la reutilización lleva asociado un beneficio ambiental intrínseco como es la propia reutilización de un residuo.

Sin embargo, una mala gestión en el riego con agua residual, puede ocasionar problemas de salinidad que afectan tanto a la planta como a la degradación de los suelos. Además el propio manejo de las aguas residuales conlleva un riesgo para la salud humana. Para controlar los riesgos derivados de la reutilización de aguas residuales depuradas en la agricultura la normativa española dispone de un Real Decreto 1620/2007, de 7 de Diciembre, por el que se establece el régimen jurídico de la reutilización de las aguas depuradas, y que define los criterios de calidad exigidos para la reutilización de las aguas depuradas cuya finalidad sea el uso agrícola.

1.1.2.- Tipos de tratamiento de las aguas residuales

Para que la reutilización sea segura desde el punto de vista sanitario y ambiental, es imprescindible que el agua residual se depure hasta que reúna las características de calidad apropiadas para su nuevo uso (Prats, 2001). Si se clasifican los diferentes procesos unitarios que se realizan sobre las aguas residuales en función de la fase en que se sitúan el proceso de depuración se pueden diferenciar (Ulloa, 1996):

- a) *Pretratamiento y tratamiento primario*: tienen por objetivo principal eliminar las materias en suspensión, flotantes y disueltas que pueden comprometer gravemente el funcionamiento del proceso de depuración. Paralelamente, se consiguen rendimientos de eliminación de materia orgánica del 30% y 40%. El pretratamiento y el tratamiento primario engloban procesos físicos como el desbaste de sólidos, las decantaciones primarias y la separación de grasas y arenas, entre otros, y también procesos químicos como la coagulación-floculación.
- b) *Tratamiento secundario*: su objetivo principal es la eliminación de la contaminación orgánica. Permite obtener rendimientos de eliminación de materia orgánica entre el 60 y el 90% y comprende procesos fundamentalmente biológicos, aunque suelen tener también una fase física de decantación secundaria. Existen diferentes procedimientos de tratamiento secundario como son los fangos activos, lechos bacterianos, biodiscos y lagunaje.
- c) *Tratamiento terciario*: se suele utilizar para eliminar la carga orgánica residual y los contaminantes no degradados en los tratamientos previos como el nitrógeno, el fósforo, y los microorganismos patógenos. El tratamiento terciario puede englobar procesos de desinfección, filtración, ultrafiltración, ósmosis inversa, absorción de carbón activo, nitrificación-desnitrificación, eliminación de fósforo o aplicación al terreno, en función del destino del agua.

1.1.3.- Usos del agua residual depurada

Según el anexo 1.A del Real Decreto 1620/2007, de 7 de Diciembre, por el que se establece el régimen jurídico de la reutilización de las aguas depuradas, los usos pueden ser los siguientes:

1.-Usos urbanos:

- Calidad 1.1: Residencial. Se pueden utilizar en riego de jardines privados y descarga de aparatos sanitarios.

- Calidad 1.2: Servicios. Se puede utilizar en riego de zonas verdes urbanas (parques, campos de deportivos y similares), baldeo de calles, sistemas contra incendios y lavado industrial de vehículos.

2.- Usos agrícolas:

- Calidad 2.1. Riego de cultivos con sistemas de aplicación del agua que permita el contacto directo del agua regenerada con las partes comestibles para alimentación humana en fresco.
- Calidad 2.2: Riego de productos para el consumo humano con sistema de aplicación de agua que no evita el contacto directo del agua regenerada con las partes comestibles, pero el consumo no es en fresco sino con un tratamiento industrial posterior. Riego de pastos para el consumo de animales productores de leche o carne. Acuicultura.
- Calidad 2.3: Riego localizado de cultivos leñosos que impida el contacto del agua regenerada con los frutos consumidos en la alimentación humana. Riego de cultivos de flores ornamentales, viveros, invernaderos sin contacto directo del agua regenerada con las producciones. Riego de cultivos industriales no alimentarios, viveros, forrajes ensilados, cereales y semillas oleaginosas.

3.- Usos industriales:

- Calidad 3.1: Aguas de proceso y limpieza excepto en la industria alimentaria y otros usos industriales. Aguas de proceso y limpieza para el uso en la industria alimentaria.
- Calidad 3.2: Torres de refrigeración y condensadores evaporativos.

4.- Usos recreativos:

- Calidad 4.1: Riego campos de golf.
- Calidad 4.2: Estanques, masas de agua y caudales circulares ornamentales, en los que está impedido el acceso del público al agua.

5.-Usos ambientales:

- Calidad 5.1: Recarga de acuíferos por percolación localizada a través del terreno.
- Calidad 5.2: Recarga de acuíferos por inyección directa.
- Calidad 5.3: Riego de bosques, zonas verdes y de tipo no accesible al público y silvicultura.
- Calidad 5.4: Otros usos ambientales (mantenimiento de humedales, caudales mínimos y similares).

1.1.4.- El riego con aguas residuales. Ventajas e inconvenientes

Los aspectos más relevantes que permite la reutilización agrícola de las aguas residuales son diversos. En primer lugar, el uso de aguas depuradas como agua de riego tiene que reducir la contaminación de las aguas superficiales y subterráneas al utilizar para la producción agraria el nitrógeno y el fósforo que contienen, evitando la eutrofización de las aguas receptoras y mejorando el estado de los espacios naturales (Asano, 1991; Sala y Mujeriego, 2001). Además el uso de aguas residuales supone una seguridad en el suministro puesto que su generación es independiente de los fenómenos meteorológicos como la sequía (Asano, 1991). Permite el aprovechamiento de los elementos nutritivos contenidos en el agua proporcionando una aportación de fertilizantes a las plantas. Si la aportación adicional sobrepasa las necesidades de la planta puede llegar a causar problemas relacionados con crecimientos vegetativos excesivos, maduración tardía o desigual de los frutos, o una calidad inferior de éstos (Mujeriego, 1990).

La utilización de aguas residuales en cultivos de plantas ornamentales en maceta supone una serie de inconvenientes como pueden ser los efectos de la salinidad en los cultivos, los efectos debidos al exceso de iones, los efectos debidos a los desequilibrios nutricionales, las posibles toxicidades de metales pesados, el riesgo sanitario y las obturaciones en los sistemas de riego.

Las sales presentes en las aguas residuales pueden causar daños en la planta por su gran concentración como por toxicidad específica de un ion en particular, además de originar problemas en la estructura del suelo (Asano y Pettygrove, 1987).

Un exceso de salinidad disminuye el rendimiento de los cultivos. Sin embargo no todas las etapas de desarrollo del cultivo se ven afectadas por igual, por lo que aplicando aguas de mayor calidad en las etapas más sensibles se pueden evitar estos problemas (Ayars *et al.*, 1993; Shalhevet, 1994). Los síntomas más comunes de la salinidad en la producción de plantas ornamentales son la reducción del crecimiento, la manifestación de clorosis y necrosis foliares, y la caída de las hojas. Algunos autores han estudiado si la reducción del crecimiento por la salinidad puede ser aplicada para obtener plantas más compactas y reducir las necesidades de la regulación química, pero los resultados obtenidos indican una baja eficacia (Vernieri *et al.* 2006).

Los síntomas por salinidad son consecuencia de los efectos fisiológicos y bioquímicos inducidos por factores osmóticos e iónicos de las sales (Hare and Cress 1997; Munns, 2002). El efecto osmótico provoca un estrés hídrico en la planta al disminuir el potencial osmótico del medio que restringe las disponibilidades de agua de la planta reduciendo el crecimiento aéreo (Neumann 1997) y radical (Wild, 1988). La deshidratación celular inducida produce daños sobre las membranas y proteínas (Crowe, 1998). Esta restricción de la disponibilidad hídrica produce una adecuación del potencial hídrico interno de la planta mediante la acumulación de iones salinos y la síntesis de solutos orgánicos (Alarcón et al., 1993). La primera actuación implica un riesgo de toxicidad y desequilibrio nutritivo, y la segunda un desgaste energético (Munns, 2002).

El efecto iónico de la salinidad radica en la absorción de iones salinos específicos hasta acumular de forma directa concentraciones tóxicas (toxicidad iónica específica), y de forma indirecta puede determinar desequilibrios nutricionales (efecto nutricional). Los iones que más problemas inducen son el cloruro (Cl^-) y el sodio (Na^+), aunque hay otros que también pueden ser tóxicos, como es el caso del boro. Algunas especies toleran el estrés salino evitando absorber estos iones o tolerando altas concentraciones en los tejidos mediante compartimentación en las vacuolas. La concentración de iones salinos reduce la capacidad fotosintética al dañar los cloroplastos (Soldatini y Gianini, 1985) y reducir la clorofila y la actividad enzimática. Como consecuencia la planta es incapaz de producir los carbohidratos que los órganos en crecimiento demandan, lo que implica una mayor reducción de su tasa de crecimiento (Munns y Tester, 2008).

La toxicidad por cloro se manifiesta por la aparición de color marrón ligera en el limbo y un amarilleamiento del ápice en las hojas que continua con su muerte y una clorosis general del limbo, mientras que la del sodio se inicia con una amarillez en el margen foliar que evoluciona necrosándose finalmente (Ferguson y Grattan, 2005). En el medio de cultivo, el Na^+ y el K^+ compiten con la entrada en el interior de las células radicales, y cuando las concentraciones de Na^+ exceden a las del K^+ se producen efectos negativos porque la planta no puede mantener la relación K^+/Na^+ en sus tejidos (Munns and Tester, 2008). Cuando la compartimentación de iones no es suficiente, la hoja los acumula en el citoplasma o en las paredes celulares, provocando inactivación de enzimas (Amtmann y Sanders 1999) o deshidratación (Flowers et al., 1991),

respectivamente. El Na^+ puede inhibir la actividad enzimática por desplazar al K^+ de los lugares de activación (Serrano, 1996). El Na^+ puede desplazar al Ca^{2+} de las posiciones de intercambio en las membranas celulares (Cramer et al., 1985). El Ca^{2+} tiene una importante función de estabilización de las membranas celulares (Cramer et al., 1985).

El agua residual es una fuente de macro y micronutrientes, como el nitrógeno, fósforo, potasio, cobre, hierro, zinc, boro y azufre, los cuales se encuentran en exceso normalmente (Asano y Pettygrove, 1987). Al suponer la aplicación de aguas residuales una aportación complementaria de fertilizantes a los cultivos, se debe tener en cuenta que no se produzcan excesos que puedan originar crecimientos vegetativos excesivos, calidades inferiores en la producción y problemas de contaminación como lixiviación de nitratos hacia los acuíferos (Ulloa, 1996).

La concentración de nitrógeno en una agua residual, así como las formas en que éste se encuentra (nitrógeno amoniacal, nitratos y/ o nitrógeno orgánico), dependen del tipo y grado de tratamiento que ha sufrido esta agua. En un agua residual tratada las formas mayoritarias de nitrógeno son amoniacales y orgánicas. El nitrógeno contenido en una agua residual regenerada y que llega al cultivo es esencialmente idéntico al nitrógeno contenido en los fertilizantes agrícolas, aunque más difícil de controlar. Un problema adicional del aporte de nitrógeno a través del agua residual es que la demanda de nitrógeno y de agua puede no coincidir en el tiempo: en la mayoría de los cultivos la demanda de nitrógeno es baja en la fase inicial del cultivo, aumenta durante la fase de crecimiento y vuelve a ser baja en la fase final del cultivo, la demanda de agua aún puede ser alta en la fase en que la planta ha completado su desarrollo.

La fitotoxicidad por iones específicos se presenta cuando el ion es asimilado y acumulado en los tejidos de la planta hasta niveles que puedan ocasionar daños o reducir su productividad. El ión tóxico dependerá de la naturaleza del agua depurada. Así, en el área mediterránea de España y Canarias una toxicidad que cada vez está teniendo mayor incidencia es la debida al boro. Las fuentes más comunes de boro en las aguas residuales son los detergentes domésticos y los vertidos de instalaciones industriales, pero en estas zonas la incorporación del agua desalada al cauce municipal (rica en boro) está haciendo que también constituye una importante entrada de boro.

El índice de transpiración es un factor importante que influye en la capacidad de la planta para absorber boro y por tanto en su estado nutricional. En consecuencia, un

incremento de la temperatura y de la intensidad lumínica va a afectar de manera positiva a la absorción de boro, mientras que un incremento de la humedad relativa va a hacer que disminuya (Hu y Brown, 1997).

El síntoma visible más común en las plantas expuestas a un exceso de boro es la presencia de quemaduras, que aparecen como parches cloróticos y/o necróticos a menudo en los márgenes y en las puntas de las hojas maduras (Eaton, 1944; Benett, 1993). Por el contrario, no parecen desarrollarse señales visibles en las raíces, dónde la concentración de boro es relativamente inferior incluso a altos niveles de aplicación al medio de dicho micronutriente (Nable, 1988). Todo esto refleja la escasa movilidad de este elemento a través del floema y su distribución en la mayoría de las especies, dónde su acumulación se relaciona de forma estrecha con la intensidad en la tasa de transpiración. No obstante, la sintomatología habitual no aparece en aquellas especies en las que existe una importante retranslocación floemática de boro. En lugar de las típicas quemaduras en los márgenes y en las puntas de las hojas, diferentes especies del género *Prunus*, *Malus* o *Pyrus* presentan yemas apicales muertas, abscisión de brotes jóvenes y presencia de lesiones en forma de acorchamientos de color marrón junto a tallos y pecíolos (Brown y Shelp, 1997). De forma similar, en otras especies de plantas como el apio, el exceso de boro produce malformación de tallos y hojas jóvenes (Francois, 1988). Todo esto demuestra que la movilidad del B a través del floema puede influir en el diagnóstico de este desorden nutricional, siendo fundamental la selección del tejido que va a ser empleado para dicho diagnóstico. En definitiva, independientemente de la especie, el exceso de B va a producir un retraso del desarrollo y una reducción del crecimiento de la planta, así como del número, tamaño y peso de los frutos (Paull *et al.*, 1992; Nable *et al.*, 1997). Este fenómeno, que se traduce en una disminución del rendimiento de los cultivos, ocurre como consecuencia de la alteración que a nivel fisiológico o metabólico produce el exceso de B en las células vegetales.

Es evidente que la reutilización de agua residual comporta un riesgo sanitario, tanto para el público como para los trabajadores del sistema, ya que la exposición a microorganismos patógenos y a sustancias tóxicas es más elevada. Por este motivo, el objetivo es reducir al mínimo la exposición a estos agentes, manteniendo así los posibles peligros sanitarios dentro de un nivel aceptable. En general, la preocupación sanitaria que estas actividades suscitan está relacionada con el grado de contacto del agua residual depurada con las personas, el tipo y la calidad del agua residual depurada

y la fiabilidad de los procesos de tratamiento (López, 2007). En nuestro caso, la utilización de agua residual para riego en plantas ornamentales presenta la ventaja de que estas plantas no son comestibles y el agua utilizada puede ser de menor calidad microbiológica al agua utilizada en el riego de cultivos comestibles en fresco, aunque todo dependerá del uso.

La obturación es uno de los principales problemas del uso de aguas residuales en riego por goteo, estas son debidas a la formación de películas biológicas producidas por bacterias u otros microorganismos llegando a impedir el paso, de la misma manera que lo pueden hacer elevadas concentraciones de algas o de materia en suspensión. En general, un buen nivel de filtrado resuelven estos problemas. Se debe de tener en cuenta que las aguas residuales suelen tener más sólidos en suspensión que las aguas normales y la frecuencia de limpieza de filtros y laterales ha de ser mayor. La precipitación de carbonato cálcico y magnésico es uno de los problemas más frecuentes en la obturación de goteos por causas químicas. También pueden presentar problemas la precipitación de los óxidos de hierro y manganeso y los sulfuros de hierro y manganeso. Pero estos problemas de precipitación se solucionan bajando el pH a valores próximos a 7, mediante el uso de ácido clorhídrico o sulfúrico (Puig, 2003).

1.1.5.- Reutilización de aguas en la Región de Murcia

La población residente en la Región de Murcia se distribuye en 45 municipios, se asienta en 692 núcleos de población de muy diferente magnitud. Estos núcleos entre los que se incluyen, barriadas, pedanías, núcleos rurales, etc. se agrupan a los efectos de recogida y tratamiento de sus aguas residuales en Aglomeraciones Urbanas (A.U.), según el término acuñado por la Directiva Europea 91/271 CEE que recoge las directrices sobre depuración de aguas residuales. En de Diciembre 2010 existían en la Región de Murcia a estos efectos 265 aglomeraciones urbanas. En 2009, la Región de Murcia tenía 96 depuradoras de aguas residuales regenerando 103 Hm³/año (ESAMUR). Murcia destaca por destinar un 98,9% del agua regenerada en uso agrícola (Melgarejo, 2009)

En la Región de Murcia, la conductividad eléctrica de las aguas residuales oscila entre 2-12 dS/m, según la localización de las depuradoras. Las depuradoras situadas más cerca de la costa suelen tener agua con mayor salinidad que las situadas en el interior, y la salinidad suele ser más o menos constante a lo largo del año, a excepción de los

municipios muy turísticos que durante los meses veraniegos la reducen por dilución. La tendencia es que aumente la CE conforme pasan los años, debido a los nuevos hábitos de consumo (uso de sal en el lavavajillas, instalaciones domésticas de descalcificación de cloruro sódico), a la instalación de desaladoras en explotaciones agrícolas individuales, a la evacuación de agua de los sótanos de edificios y a la falta de estanqueidad de la red de alcantarillado que actúa como sumidero de aguas freáticas, etc. La incorporación en los últimos años en la zona del Levante de agua desalada al suministro de agua corriente está suponiendo un aumento de la concentración de boro en las aguas residuales depuradas. Las concentraciones de boro en el agua de riego inferior a 0,7 mg/l suelen ser beneficiosas para muchas plantas y, sin embargo, los valores comprendidos entre 1,0 y 4,0 mg/l producen necrosis celular siendo inadecuadas para el desarrollo vegetal.

El agua utilizada en el experimento objeto de este trabajo procedía de la EDAR de Los alcázares. Esta EDAR utiliza unas tecnologías de fangos activos, aireación prolongada, laminación, coagulación, floculación, filtros de arena y desinfección ultravioleta. El uso del agua es de riego con una producción de 2.300.540 m²/año. Las concentraciones de boro en los Alcázares están entre 1,5 y 2,2 mg/L, ya que se abastece de zonas en donde las aguas desaladas participan en el suministro domestico. Las características del agua residual se observan en la tabla 1.1.

Tabla 1.1.- Características del agua residual depurada de la planta de depuración de Los Alcázares

	SS	DQO	DB05	uds
Entrada	223	460	166	mg/l
Salida	4	20	2	mg/l
Rendimiento	98,20	95,70	98,8	%

Sólidos en suspensión (SS); Demanda química de oxígeno (DQO); demanda bioquímica de oxígeno (DB05)

1.2.-La hortensia

1.2.1.-Origen

La hortensia común, *Hydrangea Macrophylla* (Thunb.) Ser., es originaria del Pacífico central, especialmente la isla japonesa de Honshu. *Hydrangea* es un término que se deriva del griego y significa “vaso de agua”, en su alusión a las altas exigencias hídricas, aunque para algunos hace referencia a la forma de sus semillas, que podrían asemejarse a recipientes antiguos usados por los griegos para llevar agua. Desde China fue llevada a Inglaterra en 1789, convirtiéndose pronto en una de las plantas favoritas de los jardines ingleses y adquiriendo a partir de ahí popularidad en el resto del mundo (Arango, 2003).

1.2.2.-Clasificación taxonómica

Pertenece al orden botánico Saxifragales y a la familia Saxifragaceae. El género *Hydrangea* comprende unas 90 especies, muchas de ellas comerciales como flores cortadas, bien sea secas o frescas. La mayoría son arbustos pero presentan extraordinaria variabilidad en tamaño – desde formas enanas hasta enormes plantas de varios metros de altura. También incluye formas arborescentes como *H. japonica*, trepadoras siempreverdes como *H. petiolaris*, otras que destacan por la hoja *H. quercifolia*, otras de gran tamaño como *H. paniculata*, otras con enormes penachos de flores como *H. arborescens* y muchos híbridos de *H. macrophylla* que son las mejores para el cultivo en maceta (Arango, 2003).

La Hortensia trepadora (*H. Anomala* = *H. Petiolaris*) crece en los bosques de Japón, Corea y Taiwán. Es muy rústica, con vegetación densa, por lo que debe ir atándose a alguna estructura (normalmente para cubrir una pared) o bien dejarla que caiga por un muro. Es recomendada en zonas de sombra.

La Hortensia de hojas de roble (*H. Quercifolia*) presenta un porte redondeado (irregular) y unas hojas similares a las del roble. Es oriunda de la parte norte del continente americano. Las inflorescencias, que florecen en junio empiezan con un color blanco que va tomando tonos rosas o amarillos y después marrones, según va pasando el verano. El follaje también experimenta cambios de color según avanza el otoño. Aguanta perfectamente los lugares sombríos y prefiere los suelos más bien ácidos.

H. paniculata es una hortensia de gran tamaño (puede llegar a medir seis metros de altura) que proviene del este asiático. Su mayor peculiaridad es que tiene inflorescencias piramidales con panículas formadas por flores con y sin bráctea. Flores blancas con tonos rosáceos.

1.2.3.- Características morfológicas

Hydrangea macrophylla es un arbusto caducifolio, erguido, de 1-1,5 metro de altura. Posee hojas opuestas de 7-15 cm, pecioladas, de obovadas a elípticas o anchamente ovadas, gruesas, puntiagudas (acuminadas), de margen aserrado. Las flores se disponen en ramilletes terminales globosos o hemisféricos, de 15-25 cm o más de diámetro, mas raramente aplanados (cuando hay flores fértiles en la parte central), que suelen ser todas estériles, el color que varía del azul al rosa o purpúreo, más raramente blancas, con 4-5 sépalos petaloideos, muy grandes, 4-5 pétalos pequeños, de unos 2-3 mm, dispuestos en forma de valva en el capullo, de color muy similar al de los sépalos, 8-10 estambres, ovario semiínfero y 3-4 estilos cortos y gruesos; en las flores fértiles, que suelen faltar, el cáliz está reducido a 4-5 lóbulos cortos. El fruto normalmente no se forma, es una capsula ovoide, que se abre por la parte apical (López, 2004).

De la parte subterránea o rizoma de algunas hortensias, como por ejemplo de la hortensia arborescente, *Hydrangea arborescens* Gronov. ex L., se obtiene un heterosido, la hidrangina, que tiene propiedades diaforéticas y diuréticas; tiene también algunas saponinas. Por este ultimo motivo las hortensias son ligeramente toxicas, y pueden causar vértigos y opresión en el pecho, además de reacciones de sensibilidad en la piel (López, 2004).

Florece a partir de mayo y hasta finales de verano, a veces hasta octubre o noviembre, si el clima lo permite. Se cultiva como una planta ornamental en parques y jardines, y aparece raramente escapada de cultivo o incluso naturalizada en medios más o menos alterados, a escasa altitud, en algunas partes del norte y noreste: País Vasco, Galicia.

1.2.4.-El cultivo en maceta

1.2.4.1.-Multiplicación

La hortensia es una planta fácil de propagar por medios vegetativos, las estacas y esquejes enraízan y brotan fácilmente, siempre y cuando se encuentren con humedad, temperatura y luminosidad adecuadas como se describe más adelante.

La multiplicación se realiza a partir de esquejes de 8-10 cm de longitud, aunque si no se dispone de suficiente material vegetal pueden emplearse esquejes de menor tamaño, cogiendo 1 cm a cada lado de la hoja y dividiendo el tallo en dos partes de forma longitudinal; no obstante estos últimos tardan más tiempo en dar una planta vendible. Los esquejes se colocarán sobre sustrato de turba, turba y arena o arena sola, aunque a veces también se emplea la tierra de brezo, lo importante es que el sustrato este bien drenado. Con calor de fondo de 18-20 °C el trasplante podrá llevarse a cabo a los 30-40 días (Ballester *et al.* 1997). Puede aplicarse ácido indol-butírico (AIB) para favorecer el enraizamiento, y una vez que éste se produzca, se trasplanta a maceta de 10 cm. Para plantas plurifloras de dos años el esquejado se realiza de abril a junio, para las de un año, de enero a marzo y para las unifloras algo más tarde que en el caso anterior.

1.2.4.2.-Condiciones de cultivo

En condiciones adecuadas una hortensia puede vivir de 8 a 10 años cuando se cultiva en macetas. En cambio si se planta en plena tierra su vida es indefinida ya que las raíces tienen espacio ilimitado para extenderse y la planta no envejece.

La hortensia es una planta de temperaturas frescas, que crece óptimamente a temperaturas nocturnas de entre 11 y 15°C y diurnas entre 18 y 20°C. Bajo estas condiciones produce tallos largos, follaje vigoroso y grandes flores (Arango, 2003). Las hortensias soportan temperaturas muy bajas y sólo los fríos muy intensos pueden causar leves daños a las partes menos lignificadas de los tallos. Por el contrario, el calor muy intenso puede causar la interrupción brusca de la floración.

La temperatura para la formación de los botones florales es necesario que sea inferior a los 18 °C durante al menos 6 semanas. Posteriormente se requiere un período de seis semanas a 5°C para poder iniciar el forzado, manteniendo la planta sin hojas

(éstas retrasan la floración) y en la oscuridad. Dichas hojas se pueden eliminar de forma mecánica o con etileno, o bien con defoliantes para acelerar la entrada en reposo.

El forzado, que es la fase desarrollada en la parte experimental, de las flores consiste en mantener las plantas en estado de reposo vegetativo. Se realiza con temperaturas superiores a 15 °C y su duración es de aproximadamente 70-90 días. Si el forzado es demasiado brusco, puede disminuir la calidad de las flores. Al principio es importante que la humedad relativa sea elevada, por lo que será conveniente regar y pulverizar agua en el ambiente. Durante este período son especialmente necesarios los abonos nitrogenados.

La hortensia es una planta que prefiere una intensidad lumínica moderada, no le va bien vivir a pleno sol todo el año (salvo en las zonas costeras del norte); deberá disponer de una sombra sobre todo en las horas centrales del día, y a ser posible que sea parcial.

En cuanto a las necesidades hídricas decir que la planta necesita grandes aportaciones de agua y humedad constante en el terreno o sustrato, pero éste debe tener un buen drenaje para evitar encharcamiento y así enfermedades de tipo criptogámicas y asfixia radicular. Con frecuencia, el exceso de sol induce en estas plantas síntomas de marchitez que se confunden con deshidratación, pero que desaparecen cuando baja el sol. Las hortensias sometidas a estrés hídrico se recuperan rápidamente; sin embargo, es importante evitar esta condición que puede incidir más tarde en la longitud y calidad de las flores. De hecho, los productores de hortensia en maceta en países como Francia y Alemania que tienen restricciones al uso de reguladores de crecimiento, logran reducir el tamaño de estas plantas, restringiendo el suministro de agua.

El método corriente de producción en invernadero trata de imitar el proceso natural: propagación y sustitución del frío natural del invierno por un período controlado de 6-8 semanas, seguido de 12-14 semanas de forzado en el invernadero, consiguiéndose así plantas en floración. La temperatura más propicia para la formación de los botones florales (transformación de meristemo vegetativo en meristemo floral) para la mayoría de los cultivares de hortensia se sitúa entre 15 y 18°C. Ciertas variedades forman sus botones florales con mayor rapidez a una temperatura de 21°C mientras que para otros cultivares 12 a 15°C parece suficiente (Ballester *et al.* 1997).

El tiempo necesario para la transformación del meristemo vegetativo en meristemo generativo es del orden de 6 a 9 semanas dependiendo de los cultivares y las temperaturas. Aunque los valores medios de las temperaturas diurna y diaria son importantes para la iniciación floral, se ha comprobado que la temperatura nocturna influye de forma más decisiva, siendo el intervalo de valores nocturnos entre 11 y 18°C el más favorable para promover el proceso iniciador (Shanks y Link 1951).

Existe una interacción entre la temperatura y el fotoperiodo con la floración y el crecimiento de la hortensia. El crecimiento vegetativo de esta planta se potencia con los días largos, mientras que el régimen de días cortos (8-12 horas) promueve la floración. Con temperaturas de 13-18,5°C la iniciación floral de esta especie es independiente del fotoperíodo (Ballester *et al.* 1997).

Con un intervalo de temperatura nocturna de 18,5-21°C, si las condiciones son de día corto (8 horas de luz), se produce una iniciación floral rápida, mientras que con fotoperiodo de día largo (más de 14 horas de luz) se puede retrasar la iniciación y a una temperatura de 15°C, la longitud del día no influye en la inducción de la floración de la hortensia (Litlere y Strome 1975).

Con temperaturas más elevadas son necesarios días cortos para obtener una floración adecuada. Con temperaturas nocturnas de 21-26,5°C, si las condiciones son de día largo se produce un severo retraso en la floración, llegando a impedirse la floración durante más de 4 meses si se proporcionan 24 horas de luz. No obstante, si con el mencionado intervalo de temperaturas se aplica un fotoperiodo de días cortos (8 horas de luz), se induce rápidamente la floración (Ballester *et al.* 1997).

Si la temperatura excede 26,5°C se impide la iniciación floral mediante la inhibición de la diferenciación meristemática, independientemente del tratamiento fotoperiódico. Es por eso que en zonas cálidas las plantas se cultivan al aire libre para disminuir la temperatura del cultivo para que las temperaturas otoñales ayuden a promover la iniciación floral (Ballester *et al.* 1997).

La intensidad de luz también es un factor relevante en la iniciación floral de la hortensia, sobre todo si se desea obtener brotes vigorosos que den lugar a

inflorescencias de gran tamaño, para lo cual es preciso mantener más de 20.000 lux durante la fase de iniciación.

Con intensidades luminosas inferiores a la señalada se produce un retraso del proceso, aumentando la aparición de brotes no floríferos (Litlere y Strome 1975). Una buena intensidad luminosa durante días cortos favorece a una formación más rápida de los botones florales, mientras que una iluminación débil durante días cortos tendría el efecto contrario (Bailey 1989).

1.2.4.2.-Fertilización y coloración de las flores

La hortensia es una planta de requerimientos nutricionales intermedios, que además son específicos según el color de las flores que se desee producir. En la producción de hortensias es importante comprender los efectos de la fertilización sobre el cambio de color en las flores, de rosa a azul. Los sépalos de todas las hortensias excepto las blancas tienen un pigmento rojo que se torna a azul al reaccionar con el aluminio. Así, la disponibilidad relativa de este elemento es el principal factor determinante sobre el color de las flores, de manera que a menos que se tomen medidas para evitar la absorción de aluminio, las flores de color rosa eventualmente se tornarán azules. De la misma manera, a menos que exista suficiente aluminio para reaccionar completamente con la antocianina o pigmento, las flores tomarán un color morado azulado que no resulta atractivo en la mayoría de variedades (Arango, 2003).

La disponibilidad de aluminio es un factor determinante sobre el color de los sépalos excepto en las variedades blancas. La disponibilidad de aluminio está directamente relacionada con el pH de la solución del suelo: entre 5-5,5 es alta y los sépalos pueden ser azules; mientras que con rasgos de 6,0-6,5, éstos conservan un color rosa.

El fósforo también interfiere con la absorción de aluminio; los niveles altos de este elemento, así como los de nitrógeno promueven la presencia de sépalos de color rosa claro, mientras que los niveles bajos de ambos combinados con abundante potasio, promueven sépalos azules claros aunque exista suficiente aluminio disponible en el sustrato.

Por lo tanto, en el cultivo de hortensia en maceta sí se desea una coloración rosa se tiene que evitar el aluminio en el sustrato, para ello no se debe usar suelo mineral, ni perlita, ni fertilizantes con aluminio. Se aplicaran cantidades relativamente altas de fósforo y un abonado adecuado sería aplicar en el agua de riego 150 ppm N (20-10-20) alternado con 100 ppm N (11-53-00, fosfato monoamónico) cada tres veces. Mantener el pH entre 6-6.2, ya que una acidez más baja facilita la disponibilidad del aluminio y un pH más alto genera clorosis férrica; para bajar el pH lo mejor es usar ácido fosfórico. De lo contrario, si cultivamos hortensias con floración azul tenemos que aplicar riegos con aluminio a dosis > 100 ppm, mantener pH del agua de riego 5-5,2 usando ácido sulfúrico y un abonado que mantenga un moderado nivel de nitrógeno, alto de potasio y bajo de fósforo.

1.2.5.-Importancia y tendencia del cultivo de hortensia en maceta

Hortensia es una de las plantas que más se cultiva y se comercializa en la industria de viveros y floricultura (Bailey, 1992), siendo bien valorada por sus grandes flores de vivos colores. Constituyen un producto de vivero de gran interés comercial en días comprendidos desde Semana Santa hasta el Día de la Madre (Bailey 1989). Comúnmente se le conoce como planta de maceta, pero en las regiones húmedas de España es más conocida como arbusto de jardín ampliamente distribuido, sobre todo en la costa norte. En la Región de Murcia las plantas de maceta y plantas de jardín como Ficus, palmeras, flor de pascua, hortensia, cipreses, adelfas, hibiscos, buganvillas y van en aumento (Ochoa et al., 2008). De cualquier modo, la hortensia, teniendo unos mínimos de cuidados, se puede dar en cualquier parte de España, exceptuando las zonas del interior donde por el crudo frío invernal no se podrían obtener flores.

El cultivo de hortensia en maceta tiende a aumentar el número de variedades de tipo cima globular y racimosa. *Hydrangea macrophylla* «Innocence», es una nueva variedad registrada como marca comunitaria que supone una auténtica revolución única en el mercado, ya que florece varias veces de mayo a octubre y se caracteriza por ser muy resistente al frío, ser su flor mucho más dura que las otras y por su particularidad de ir aumentando de tamaño (Namesny, 2010).

Otras especies de hortensia se están haciendo cada vez mas hueco en nuestros mercados son *H. quercifolia* u hortensia de hoja de roble, impresionante arbusto

procedente de ciertas áreas de Norteamérica que además de panículas de flores color blanco roto nos regala la maravilla de un follaje original que permanece en intenso tono ladrillo desde mediado el otoño hasta casi el fin del invierno. Otra especie es *H. paniculata*, cuyo nombre específico es revelador del tipo de inflorescencia que emite, esta vez también en el mismo tono que la anterior pero con variedades en blanco puro muy hermosas. Sin olvidarnos de *H. serrata*, *H. arborescens* o *H. aspera* (Valdeón, 2008).

1.3.- Referencias

- Alarcón, J.J., Sánchez-Blanco, M.J., Bolarín, M.C., Torrecillas, A., 1993. Water relations and osmotic adjustment in *Lycopersicon esculentum* and *L. pennellii* during short-term salt exposure and recovery. *Physiol. Plant.* 89, 441-447.
- Amtmann, A., Sanders, D., 1999. Mechanisms of Na⁺ uptake by plant cells. *Adv. Bot. Res.* 29, 75-112.
- Arango, M. 2003. *Hydrangea hortensia*. Ed. Hortitecnia Ltda. p.7-8; 21-24.
- Asano, T., Pettygrove, G.S., 1987. Using reclaimed municipal wastewater for irrigation. *California Agriculture.* v.41 (3&4), p.15-18.
- Asano, T., 1991. Planning and implementation of water reuse projects. *Water Science and Technology.* 24, 9, 1-10.
- Ayars, J. E., Hutmacher, R. B., Schoneman, R. A., Vail, S. S., Pflaum, T., 1993. Long term use of saline water for irrigation. *Irrigation Science* 14, 27-34.
- Bailey, D.A., 1989. *Hydrangea Production*. 3er v. Timber Press, Inc. 30 p.
- Bailey, D.A., 1992. *Hydrangeas*, p. 365-383. In: R.A. Larson (ed.). *Introduction to Floriculture*, Second Edition. Academic Press. San Diego, California.
- Ballester, F.J, Sebastià, S.C., 1997. Forzado de Floración en Hortensia. *Horticultura.* 119, 13-18.
- Bennett, A., Rowe, R.I., Soch, N., Eckhert, C.D., 1993. Boron stimulates yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) growth. *The Journal of Nutrition.* 129, 2236-2238.
- Brown, P.H., Shelp, B.J., 1997. Boron mobility in plants. *Plant and Soil* 19, 85-101.
- Crowe, L. M., 1998. Lessons from nature: the role of sugars in anhydrobiosis. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* 131, 505-13.
- Cramer, G.R., Läuchli, A., Polito, V.S., 1985. Displacement of Ca⁺ by Na⁺ from the plasmalemma of root cells. A primary response to salt stress? *Plant Physiol.* 79, 207-211.

- Eaton, F.M., 1944. Deficiency, toxicity and accumulation of boron in plants. *Journal of Agricultural Research* 69, 237-277.
- Francois, L.E., 1988. Yield and quality responses of celery and crisphead lettuce to excess boron. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 113, 538-542.
- Feizi, M., 1993. Considering the effect of water quality and quantity on desalinization of Isfahan Roudasht Soils. Technical Research Report. Isfahan Agricultural and Natural Resources Research Center, Isfahan, Iran. 8, 16–34.
- Ferguson, L., Grattam, S.R., 2005. How salinity damages citrus: Osmotic effects and specific ion toxicities. *Hort. Tech.* 15, 95-99.
- Flowers, T. J., Flowers, S. A., Hajibagheri, M. A., Yeo, A. R., 1991. Ion accumulation in the cell walls of rice plants growing under saline condition: evidence for the Oertli hypothesis. *Plant Cell Environ.* 14, 319-325.
- Hare P.D., Cress, W.A., 1997. Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. *Plant Growth Regulation.* 21,79-102.
- Hu H, Brown PH., 1997. Absorption of boron by plant roots. *Plant and Soil* 193, 49-58.
- Litlere, B., Strome, E., 1975. The influence of temperature, daylength and light intensity on flowering in *hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser. Acta Hort. (ISHS) 51, 285-298.
- López, P., 2007. Aptitud agronómica de la aplicación de agua residual depurada en el cultivo de limonero. PFC. p 12-27.
- López, G., 2004. Los árboles y arbustos de la Península Ibérica e Islas Baleares: especies silvestres y las principales cultivadas. Ed Paraninfo, 648.
- Mujeriego, R., 1990. Manual Práctico de Riego con Agua Residual Municipal Regenerada. Universidad Politécnica de Cataluña, Barcelona.
- Munns, R., 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell Environ.* 28, 239-250.

- Munns, R., Tester, M., 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Ann. Rev. Plant Biol.* 59, 651-681.
- Nable, RO., 1988. Resistance to boron toxicity amongst several barley and wheat cultivars: a preliminary examination of the resistance mechanism. *Plant and Soil* 112, 45-52.
- Nable, RO., Bañuelos, GS., Paull JG., 1997. Boron toxicity. *Plant and Soil* 193,181-198.
- Namesny, A., 2010. Una hortensia para colorear el verano. <http://www.horticom.com/>
- Melgarejo, J., 2009. Efectos ambientales y económicos de la reutilización del agua en España. *Clim.Economía*, 15, 245-270.
- Neumann, P.M., 1997. Salinity resistance and plant growth revisited. *Plant Cell Environ.* 20, 1193-1198.
- Ochoa, J., López Marín, J., González, A., Bañón, S., Fernández, J.A., Franco, J.A., Martínez Sánchez, J.J. 2008. El estado actual de la horticultura ornamental en Murcia. *Horticultura* 204 XXVI(1), 24:27.
- Oron, G., De Malach, Y., Gillerman, L., David I., Lurie, S., 2002. Effect of water salinity and irrigation technology on yield and quality of pears. *Biosystems Engineering* 81, 237-247.
- Prats, D., 2001. *Conceptos generales sobre reutilización*. Calidad de agua y usos posibles. Conferencia Internacional: El Plan Hidrológico Nacional y la Gestión Sostenible del Agua. Zaragoza. Junio.
- Paull, JG., Nable, R.O., Rathjen, A.J., 1992. Physiological and genetic control of the tolerance of wheat to high concentrations of boron and implications for plant breeding. *Plant and Soil* 146, 251-260.
- Pedrero, F., Kalavrouziotis, I., Alarcón, J.J., Koukoulakis, P., Asanoc, T., 2010. Use of treated municipal wastewater in irrigated agriculture – review of some practices in Spain and Greece. *Agricultural Water Management* 97 (9), 1233-1241.

- Puig, J., 2003. Utilización de aguas residuales en los sistemas de riego localizado: embozamiento y filtración. Tesis doctoral. p 38.
- Sala, L., Mujeriego. R., 2001. Cultural eutrophication control through water reuse. *Water Science and Technology*, 43 (10), 109–116.
- Serrano, R., 1996. Salt tolerance in plants and microorganisms: toxicity targets and defense responses. *Int. Rev. Cytol.* 165, 1-52.
- Shalhevet, J., 1994. Using water of marginal quality for crop production: major issues. *Agric Water Manage.* 25, 233–269.
- Shanks, J.B., Link, C.B., 1951. Effects of temperature and photoperiod on growth and flower formation in hydrangeas. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 58, 357-366
- Soldatini, G. F., Giannini, A., 1985. Influenza dello stress idrico e salino sulla fissazione della CO₂ esul metabolism aminoacidito in plantule di *Zea mays* L. *Agrochimica.* 29, 74-88.
- Ulloa, J.J., 1996. El tratamiento de las aguas residuales. Necesidades, objetivos y sistemas. Curso sobre reutilización de aguas residuales y salinas en regadíos: aplicación de tecnologías avanzadas. Colegio Oficial de Ingenieros Agrónomos de Centro y Canarias. Madrid
- Valdeón, J., 2008. Hortensias, color y frescura estivales. QEJ. Bricojardinería & paisajismo: Revista profesional de distribución en horticultura ornamental y jardinería, ISSN 1132-3493, N° 166, págs. 24-25.
- Vernieri, P., Mugnai, S., Borghesi, E., Petrognani, L., Serra, G., 2006. Non- chemical growth control of potted *Callistemon laevis*. *Agricoltura Mediterranea*.
- Wu, L., Dodge, L., 2005. Landscape Plant Salt Tolerance Selection Guide for Recycled Water Irrigation. A Special Report for the Elvenia J. Slosson Endowment Fund, University of California, Davis; article, 40 p.
- Wu, L., Chen, J., Lin, H., Van Mantgem, P., Harivandi, M.A., Hardin, J.A., 2005. Effects of regenerant wastewater irrigation on *growth and ion uptake of landscape plants*. *J. Environ. Hort.* 13, 92-96.

Experimento

Introducción y objetivos

2.-EXPERIMENTO

2.1.- INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

La escasez de agua de buena calidad en varias regiones en el mundo hace hincapié en la necesidad de utilizar las aguas marginales, tales como agua salada o aguas residuales tratadas para hacer frente a la creciente demanda de agua. En el sureste de España las plantas de tratamiento de aguas residuales municipales situadas cerca de la costa tienden a producir aguas residuales con una mayor conductividad eléctrica que las del interior. De hecho, las tendencias de futuro pueden influir en un aumento de la CE, debido a los cambios en los hábitos de consumo (uso de la sal en el lavavajillas, sistema de descalcificación tratamientos con cloruro de sodio, etc.) y la instalación de plantas de desalinización en las fincas individuales. Históricamente, la calidad del agua de riego ha sido determinada por la cantidad y tipo de sal presente en estas fuentes de agua (Pedrero et al., 2010).

Los altos niveles de sal en el agua residual tratada pueden convertirse en un problema importante cuando se utiliza para el riego, especialmente en las plantas sensibles a la salinidad. Altos niveles de salinidad en el agua de riego puede afectar negativamente el crecimiento y a la aparición de síntomas por daños en plantas ornamentales, causando daños a las hojas, como quemaduras o clorosis, que conduce a disminuir la calidad. La salinidad también puede alterar las funciones fisiológicas, reduciendo el crecimiento.

Hortensia es una de las plantas que más se cultiva y se comercializa en la industria de viveros y floricultura (Bailey, 1992), siendo bien valorada por sus grandes flores de vivos colores y su porte vigoroso. La influencia del pH sobre el crecimiento de hortensias y el desarrollo ha sido ampliamente estudiado, mientras que la información disponible acerca de los efectos de la salinidad del agua sobre procesos fisiológicos y aspectos agronómicos es escasa. Wu et al. (1995) y Wu y Dodge (2005) consideran a las hortensias moderadamente resistentes a la salinidad (CE de 3,5 dS m⁻¹ en la solución nutritiva).

El reto es la gestión del agua de baja calidad dentro de un sistema de producción agrícola sostenible. Oron et al. (2002) comunicaron que el agua de alta salinidad tiene

un alto potencial agrícola si se realiza un manejo adecuado del riego-drenaje. Para lograr esto, los investigadores recomiendan métodos como el uso de agua dulce en la etapa inicial de crecimiento de las plantas, mezclar el agua de drenaje agrícola con agua de buena calidad de riego, y alternando agua de buena calidad con agua salina (Feizi, 2003). Este experimento se centró en el último aspecto.

Por lo general, el agua marginal se mezcla en tanques con agua dulce, ya que alternar dos calidades de agua de riego requiere de una instalación de riego más cara, Esto ha hecho que los trabajos que estudian los efectos de alternar agua de buena calidad con agua salina son escasos.

El presente trabajo tuvo dos objetivos: (1) conocer los efectos del riego con agua residual depurada salina en el comportamiento fotoquímico, relaciones hídricas, crecimiento, desarrollo y calidad ornamental de dos variedades de hortensias; y (2) evaluar la eficacia del lavado con agua de buena calidad para reducir los efectos negativos del uso de esta agua marginal.

Material y métodos

2.2- MATERIAL Y MÉTODOS

2.2.1.-Material vegetal

El material vegetal estudiado fue *Hydrangea macrophylla* Thunb. ‘Leuchtfeuer’ (inflorescencias rosas) y *Hydrangea macrophylla* Thunb. ‘Wudo’ (inflorescencias blancas). Las plantas fueron adquiridas en un vivero comercial (Viveros La Pacheca, Murcia), y llegaron en maceta de plástico de color terracota de 14 cm de diámetro, estando las plantas dormidas y defoliadas (foto 2.2.1).

2.2.2.-Condiciones de cultivo

El 21 de enero de 2011 se trasplantaron a macetas de PVC de color marrón de 3,5 L de volumen (19 cm diámetro superior) que contenían un sustrato compuesto de 70% turba rubia y 30% fibra de coco. El ensayo se llevó a cabo en un invernadero de 100 m² con cubierta de medio punto (12,5 m de largo x 8 m de ancho, 3,5 m de altura en el lado y 5,5 m en el centro), totalmente cubierto con láminas de policarbonato y ubicado en la finca experimental Tomás Ferro de la Universidad Politécnica de Cartagena (37° 35' N, 0° 59' W) (foto 2.2.2).

El control automatizado del riego se basa en la descripción de Nemali y van Iersel (2006), pero, en este caso se utilizó un CR1000 en lugar de un CR10X. El riego se basó en mediciones del contenido volumétrico de agua (θ) del sustrato mediante sensores de humedad del suelo ECH₂O EC-5 (Decagon Devices, Ltd., Pullman, WA). Los sensores EC-5 se conectaron a un datalogger CR1000 (Campbell Scientific, Ltd, Logan, UT) a través de un multiplexor (Campbell Scientific, Ltd, Logan, UT). El CR1000 se programó para recoger datos cada 10 minutos y para calcular el promedio y error estándar de las medidas del θ del sustrato por tratamiento. Para la programación del CR1000, la recolección de datos y su monitorización se utilizó el software Loggernet 3.4.1. (Campbell Scientific Inc., Logan, UT) (ver Anexo 1). El CR1000 y sus anexos, se introducen en una caja estanca, con un cargador y una batería de 12V para permitir el funcionamiento continuo del sistema en caso de corte eléctrico durante un día (foto 2.2.3).

El θ del sustrato se obtuvo de las lecturas de voltaje del sensor de la humedad del suelo usando nuestra propia calibración del sustrato ($\theta = 4,487 * \text{Voltage (mV)} - 0,4821$, $R^2 = 0,971$), determinada mediante el procedimiento de Nemali et al. (2007) (ver

apartado 2.2.3). El CR 1000 decidió el número de riegos, y cada riego tuvo lugar cuando el θ medio de cada tratamiento bajaba de $0,35 \text{ m}^3 \text{ m}^{-3}$ al inicio del ensayo y de $0,4 \text{ m}^3 \text{ m}^{-3}$ a partir del 23 de febrero. Para permitir que el CR1000 controlara el riego se necesitaron cuatro válvulas solenoides conectadas a un multiplicador de puertos multicontrol SMD-CD16D (Campbell Scientific, Ltd, Logan, UT), que accionaron los cuatro relés AZ8222-2C-5DME (Zettler Components Inc., Aliso Viejo, CA). Cada una de las válvulas solenoide y puerto de control de relé se asoció a un tanque de riego de 1000 l. El datalogger se instaló en el centro del invernadero y se colocaron 12 sensores de humedad ECH₂O EC-5, 4 sensores por tratamiento. Cada planta tenía dos emisores con un caudal de (2 L h^{-1}).

Se enviaron a analizar dos muestras de agua utilizadas en el ensayo, agua de buena calidad y agua residual depurada. El análisis se llevo a cabo por el laboratorio agrícola (KUDAM, S.L). La fertilización la llevamos a cabo nosotros mismos teniendo en cuenta los análisis de agua realizados y las necesidades del cultivo. Las soluciones de nutritivas se realizaron mediante la aplicación a ambos tipos de agua de nitrato amónico NH₄(NO₃) y nitrato potásico KNO₃; para neutralizar los bicarbonatos y mantener el pH entre 6-6,3 se utilizo ácido fosfórico (H₃PO₄) al 72% En la tabla 2.2.1 se presenta el contenido iónico de las dos soluciones de riego empleadas.

Las condiciones de luminosidad, temperatura y déficit de presión de vapor que se dieron en el interior del invernadero fueron registradas por el sensor LOG32 y están presentadas en la figura 2.2.1.

2.2.3.-Calibración sondas ECH₂O EC-5

Antes de realizar la calibración de las sondas EC-5 el sustrato (~25 litros) se extiende sobre bandejas al aire libre durante varios días hasta que queda prácticamente seco. Un vaso de precipitados de 1240 mL se rellena con el suelo hasta su volumen total y se compacta poco a poco dando golpecitos contra el suelo. Se enrasa y se pesa, para seguidamente colocar 4 sondas de forma vertical. Se toman los valores de las sondas. Se vacía el vaso y el sustrato se introduce en un sobre identificado y es colocado en una estufa de convección natural (modelo 2002471, JP Selecta, SA, Barcelona, España) a 60 °C hasta peso constante. Estos pasos se repiten once veces añadiendo en cada vez entre 200 y 500 ml de agua a todo el sustrato, homogeneizando la mezcla agua-sustrato para obtener los diferentes puntos de la recta de calibrado. Se realiza una regresión lineal con

las columnas de datos Y = contenido volumétrico de agua y X = valores medios de las sondas ($Y=aX+b$).

2.2.4.-Tratamientos

En cada variedad se estudiaron tres tratamientos: 1) riego con agua fertilizada de 2 dS/m drenando alrededor del 10% en todos los riegos (control); 2) riego con agua residual fertilizada de 6 dS/m drenando alrededor del 10% en todos los riegos (AR); 3) riego con agua residual fertilizada de 6 dS/m drenando alrededor del 10% y un lavado cada tres riegos con agua control (ARL). Los tratamientos se iniciaron la primera semana de febrero de 2011 y finalizaron la última semana de abril 2011 (fin del experimento).

2.2.5.-Medidas de consumo de agua, drenaje y eficiencia en el uso del agua

El consumo de agua (agua aplicada sobre la maceta) fue obtenido del programa de riego, y estuvo verificado periódicamente colocando tres goteros de la mesa sobre tres vasos graduados.

A partir del primer riego y durante todo el experimento se recogieron diariamente los drenajes de 4 plantas para cada tratamiento (plantas con sensores de humedad). El drenaje se recogió colocando una bandeja debajo de la maceta. Se midió el volumen de agua drenada, la CE y el pH mediante un equipo portátil ECTestr11 (Eutech Instruments Pte Ltd, Singapore, Singapore) y Oakton pHtestr 30 (Eutech Instruments Pte Ltd, Singapore, Singapore), respectivamente.

La eficiencia en el uso del agua (EUA) fue expresada como la relación entre el peso seco y el consumo de agua ($\text{gPS} \cdot \text{L}^{-1}$).

2.2.6.-Medidas de evolución del número y tamaño de las inflorescencias

Semanalmente, y desde el día 4 de marzo de 2011 se contaron el número de inflorescencias por planta y se midió el diámetro de las inflorescencias en cinco plantas por tratamiento hasta el final del experimento.

2.2.7.-Medida de color de las inflorescencias y de la clorofila foliar

El color se determinó mediante un colorímetro Minolta CR10 (Konica Minolta Sensing, Inc) (foto 2.2.4) que calculó las coordenadas de color (CIELAB): luminosidad

(L), ángulo hue (Hue) y croma (Cr). Las medidas del ángulo hue y croma son medidas de absorción selectiva de luz visible. El croma describe en qué grado esta absorción selectiva ocurre, lo que determina la mayor o menor viveza (saturación/palidez) del color, y el ángulo hue describe en que longitud de onda el color es absorbido (el tono), que puede ser amarillo, verde amarillento, azul verdoso, azul, etc. La luminosidad mide la capacidad de reflejar la luz de una superficie, es decir la mayor o menor claridad. Para ello, se realizaron 3 disparos en el centro del pétalo, midiendo 24 flores por tratamiento.

El SPAD representa el contenido relativo de clorofila, midiéndose en las hojas con un medidor de clorofila Minolta SPAD-502 (Konica Minolta Sensing, Inc., Osaka, Japón) y con 4 disparos por hoja. El SPAD se midió en hojas basales, intermedias y apicales y se realizó la media de todas las hojas. Se midió en cinco plantas por tratamiento.

2.2.8.-Medidas de crecimiento, desarrollo e índice de necrosis foliar

Al final del experimento se midió: altura de la planta, anchura de la planta, número de inflorescencias, número de inflorescencias maduras, diámetro de las inflorescencias, diámetro de los sépalos, peso seco de la hoja, peso seco del tallo, peso seco aéreo, área foliar, área del limbo, succulencia aérea (expresada como peso fresco aéreo/peso seco aéreo), número de hojas por planta, número de hojas débilmente dañadas, número de hojas medianamente dañadas y número de hojas fuertemente dañadas. Todos estos parámetros se midieron en cinco plantas por tratamiento.

Para calcular el peso seco, el material vegetal se introdujo en sobres identificados y colocados en una estufa de convección natural (modelo 2002471, JP Selecta, SA, Barcelona, España) a 60 °C hasta peso constante. Por último, el peso seco se determinó pesando con una balanza de precisión serie ST GRAM (sensibilidad de 10 mg y g hasta 1200, Gram Precisión, SL, Barcelona, España).

El área foliar se determinó con un medidor de área foliar (LI-3100C, Biociencias LI-COR, Lincoln, NE) (Foto 2.2.5).

El índice necrosis foliar (INF) se determinó según la siguiente fórmula: $INF = (n^{\circ} \text{ de hojas no dañadas} / n^{\circ} \text{ total de hojas}) \times 1 + (n^{\circ} \text{ de hojas débilmente dañadas} / n^{\circ} \text{ total de hojas}) \times 4 + (n^{\circ} \text{ de hojas medianamente dañadas} / n^{\circ} \text{ total de hojas}) \times 7 + (n^{\circ} \text{ de hojas}$

fuertemente dañadas/nº total de hojas)x10.

2.2.9.-Medidas evolutivas de los parámetros hídricos de la planta

El 14 y el 28 de abril de 2011 se realizaron medidas evolutivas de los parámetros hídricos de la planta en las variedades Leuchtfeuer y Wudo, respectivamente. Las mediciones se realizaron a las 7, 10, 13, 16 y 19 horas.

Se midieron el potencial hídrico foliar (Ψ_h), el potencial osmótico foliar (Ψ_o), potencial de presión (Ψ_p) y potencial osmótico a plena turgencia (Ψ_{os}). Se utilizaron 4 repeticiones en cada tratamiento. Para las medidas del potencial hídrico se utilizó una cámara de presión tipo Scholander-Hammel Soil Moisture, mod. 3000 (Soil Moisture Equipment Co, CA, USA) (foto 2.2.6). Según la técnica descrita por Scholander *et al.* (1965), las hojas se envolvieron en una bolsa de plástico y se colocaron rápidamente en la cámara (Turner, 1988). La presión se incrementó a razón de $0,02 \text{ MPa s}^{-1}$ utilizando gas nitrógeno.

El potencial osmótico fue medido con un osmómetro de presión de vapor Wescor 5520 - Wescor Inc., Logan, UT, U.S.A. (foto 2.2.7) previamente calibrado con soluciones de osmolaridad conocida. Las hojas recién cortadas eran envueltas en papel de aluminio, introducidas en nitrógeno líquido ($-196 \text{ }^\circ\text{C}$) y almacenadas a $-30 \text{ }^\circ\text{C}$ para romper las membranas celulares, con lo que el componente de turgencia se anula (Ψ_p) y el potencial hídrico resulta análogo al osmótico. El potencial de presión (Ψ_p) fue calculado como la diferencia entre el potencial hídrico y el potencial osmótico. Para el cálculo del potencial osmótico saturado (Ψ_{os}) las hojas fueron introducidas por el pecíolo en vasos de agua destilada a 4°C , en la oscuridad, para alcanzar la completa turgencia. Una vez alcanzada la máxima turgencia, unas 24 horas, las hojas se secaron con papel de filtro para eliminar el agua superficial, y se envolvieron en papel de aluminio e introdujeron en nitrógeno líquido, determinándose, posteriormente, el potencial osmótico a máxima saturación mediante el mismo procedimiento utilizado para el potencial osmótico actual.

2.2.10.-Media evolutiva del intercambio de gases y fluorimetría

El 14 y el 28 de abril de 2011 se realizaron medidas evolutivas de intercambio de gases y fluorimetría de la planta en las variedades Leuchtfeuer y Wudo, respectivamente. Las mediciones se realizaron a las 7, 10, 13, 16 y 19 horas.

La conductancia estomática (g_s) y la tasa de fotosíntesis neta (P_n) se midieron con un CIRAS-2 (PP Systems, Amesbury, MA) (foto 2.2.8). El caudal de la cámara fue de 200 ml min^{-1} con 350 ppm de CO_2 , el 100% de humedad relativa y $1500 \text{ mmol m}^2 \text{ s}^{-1}$ del flujo de fotones fotosintéticos. La fluorescencia de clorofila se midió utilizando un pulso modulado fluorímetro FMS-2 (Gomensoro Instrumentación Científica, SA, Madrid, España) (foto 2.2.9). Las mediciones se realizaron en cuatro plantas por tratamiento. El método utilizado y los parámetros determinados fueron los mismos descritos por Sheng et al. (2008).

2.2.11.-Determinación de iones minerales

El contenido de solutos inorgánicos (Na^+ , Cl^- , K^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+}) se determinaron en la raíz y en hojas. Las hojas escogidas fueron el segundo par de hojas contando desde la inflorescencia hacia la parte basal de la planta, se siguió este criterio en todos los tratamientos.

El muestreo se realizó cogiendo una maceta para cada repetición, tomando 3 repeticiones por tratamiento. Las muestras se metieron en sobres de papel y se determinó el peso seco. Una vez secas se molieron hasta conseguir un tamaño de partícula capaz de atravesar un tamiz de 0,5 mm de diámetro de malla. A continuación, se tomaron 0,2 g de peso seco y se le añadió 50 ml de agua destilada. Seguidamente se agitó la disolución durante 30 minutos a 117 rpm y 27°C en un agitador Orbital Shater, modelo 481. Finalmente, los extractos fueron filtrados con ayuda de embudos que tenían filtros DP 145 110. Se tomaron 10 ml de este filtrado y fueron enviados para analizar en el laboratorio de la Universidad Politécnica de Cartagena, SAIT, con un Cromatógrafo Iónico (Modelo 861, Metrohm AG, Herisau, Switzerland) equipado con detección de conductividad y un inyector automático (Metrohm 838 Advanced Sample Processor), que consiste en una columna de aniones Metrosep A Supp 5-250 ($250\text{mm} \times 4.0 \text{ mm}$, tamaño de partícula $5 \mu\text{m}$) con una pre-columna (Metrosep A Supp 4/5 Guard $5 \text{ mm} \times 4 \text{ mm}$), y un separador de columna de cationes Metrosep C 2-250 ($250 \text{ mm} \times 4.0 \text{ mm}$, tamaño de partícula $7 \mu\text{m}$), con una pre-columna (Metrosep C 2, $5 \text{ mm} \times 4 \text{ mm}$). Los supresores utilizados fueron MSM II (Metrohm Suppressor Module) para los aniones.

2.2.12.-Determinación del contenido total de boro

Para calcular el contenido total de boro, se utilizaron las mismas muestras trituradas empleadas en el análisis de solutos inorgánicos. Se calcinaron en la mufla obersal (HD 230) 0,25g de triturado a 480°C durante 5 horas. Se añadieron cinco ml de HCl 1 M a la ceniza y se filtró la solución después de 15 minutos. Las muestras filtradas fueron enviados para analizar en el laboratorio de la Universidad Politécnica de Cartagena, SAIT, por espectrometría de plasma inductivamente acoplado de masas (Agilent 7500ce ICP-MS, Agilent Technologies, Santa Clara, CA).

2.2.13.-Medición de las capas celulares de la hoja en la sección transversal

El espesor de la capas de células se determinó en cuatro hojas diferentes de cada tratamiento y variedad durante la primera semana de mayo de 2011. Las hojas seleccionadas fueron del segundo par de hojas contando desde la inflorescencia hacia la parte basal de la planta. Las hojas fueron recogidas inmediatamente antes de la medida para evitar la deshidratación, dando así el espesor de las capas celulares en condiciones turgentes. Se evaluaron las diferentes capas; la cutícula superior, la epidermis superior, parénquima en empalizada, parénquima esponjoso, la epidermis inferior y cutícula inferior. Los cortes transversales de las hojas se obtuvieron utilizando una cuchilla de microtomo manual con una precisión de 10 micras (Shibuya, SH-551, Microciencia SA, Barcelona, España). Posteriormente, la muestra se coloca en un portaobjetos con agua y se cubre con una cubierta de vidrio antes de la observación con un microscopio óptico Olympus modelo fases BX41TF (Olympus Corporation, Tokio, Japón) con un aumento de 200. Los espesores fueron medidos utilizando el micrómetro de la lente.

2.2.14.- Descripción de síntomas visuales

Durante el ensayo se fotografiaron diferentes plantas y se identificaron posibles daños causados por el exceso de sales en el agua residual. La descripción de síntomas se realizo en cuatro fechas diferentes; 28 de febrero, 18 de marzo, 6 de abril y al final del experimento.

2.2.15.- Diseño y análisis estadístico

Cada tratamiento estuvo compuesto de 20 macetas para cada una de las dos variedades. Los experimentos se analizaron mediante un análisis de varianza bifactorial usando el programa Statgraphics Plus 5.1, en donde los factores estudiados fueron la

variedad (blanca y rosa) y el tipo de riego (control, AR y ARL). Las medias de los tratamientos fueron separadas con la Prueba de Rango Múltiple de LSD ($P < 0,05$).

Tabla 2.2.1.-Soluciones nutritivas utilizadas para el riego

	<u>Agua buena</u>	<u>Agua residual</u>
	meq/l	meq/l
Sodio	4,22	31,12
Potasio	1,75	1,75
Calcio	5,09	10,50
Magnesio	5,68	15,11
Cloruros	4,38	35,49
Sulfatos	5,95	18,38
Bicarbonatos	1	1
Nitratos	4,14	4,14
Nitrógeno amoniacal	1,50	1,50
Fosfatos	2,29	4,39
Boro (mg/l)	1,39	2,14
Manganeso (µg/l)	<20	26,07
Hierro (µg/l)	<40	69,13
Cinc (µg/l)	<40	<40
Cobre (µg/l)	<40	<40
pH	6-6.3	6-6.3
CE (dS/m)	1,85	6

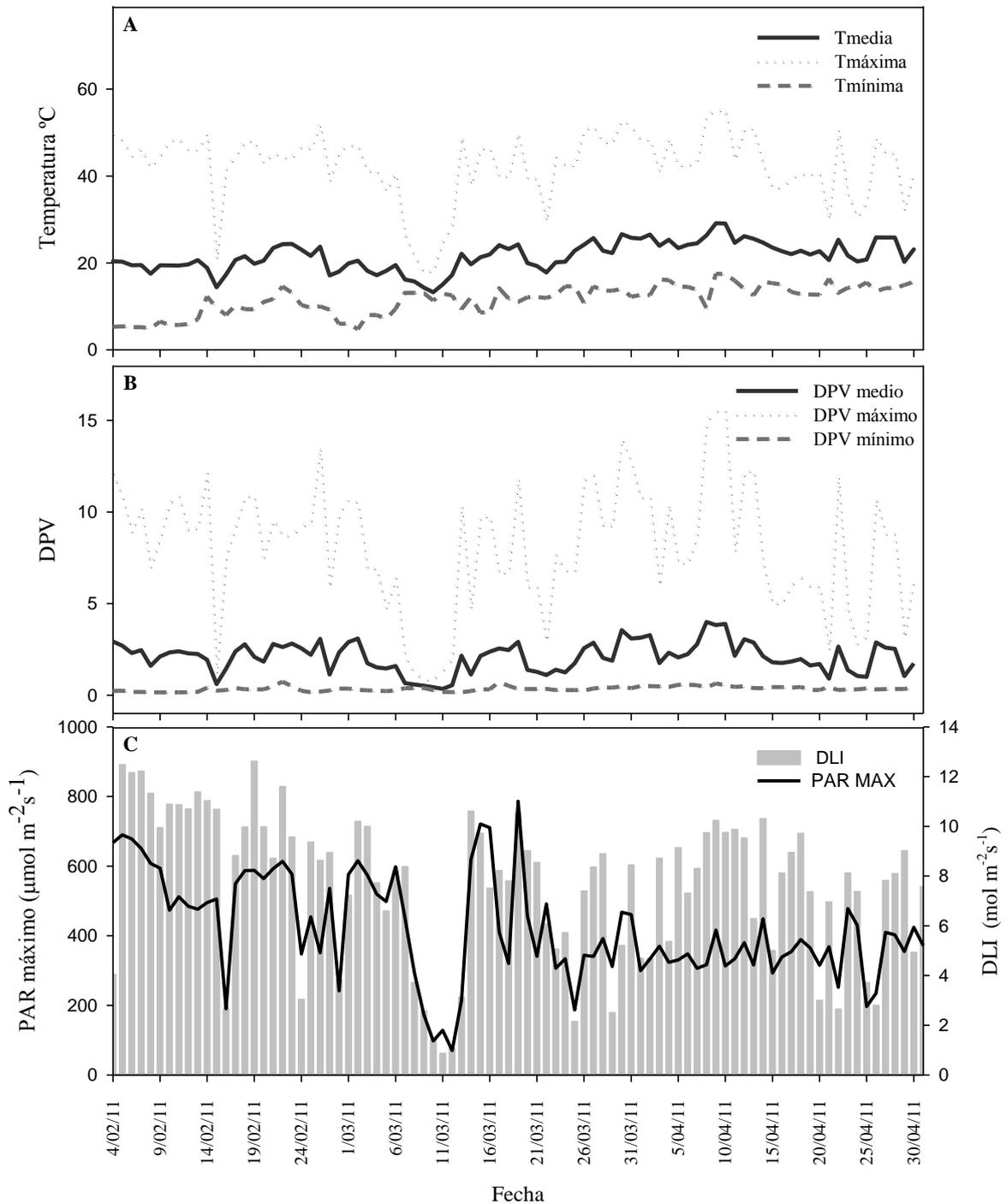


Figura 2.2.1.- Condiciones climáticas en el interior del invernadero durante el cultivo. Temperaturas medias, mínimas y máximas (A), déficit de presión de vapor medio, mínimo y máximo (B), PAR máximo e integral diaria de la luz (C). Los datos representados fueron medidas diarias. La DLI en mol m² d



Foto 2.2.1.- Disposición del material vegetal al inicio del ensayo en el invernadero



Foto 2.2.2.- Invernadero en el que se llevó a cabo el ensayo.



Foto 2.2.3.- Caja estanca con datalogger CR1000, multiplexor, SMD-CD16D, batería y sondas ECH₂O EC-5.



Foto 2.2.4.- Colorímetro MINOLTA CR 10.



Foto 2.2.5.-Medidor de área foliar LI-3100C.

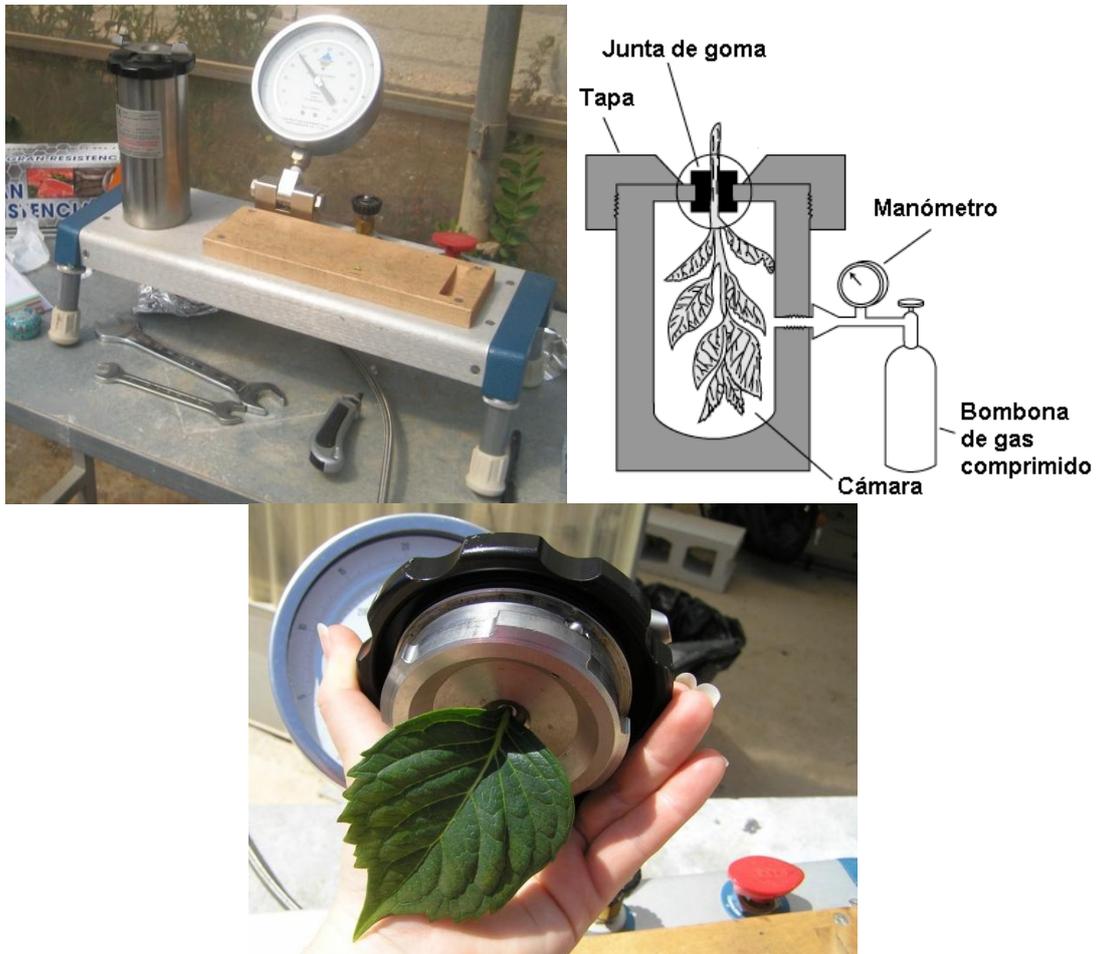


Foto 2.2.6.- Cámara de Scholander para la medida del potencial hídrico. El esquema está adaptado de Taiz y Zeiger; Plant Physiology, 4th Edition online. Posición de la hoja antes de la medición.



Foto 2.2.7.- Osmómetro de presión de vapor Wescor 5520.



Foto 2.2.8.- Mediciones de conductancia estomática (g_s) y tasa de fotosíntesis neta (P_n) con CIRAS-2.

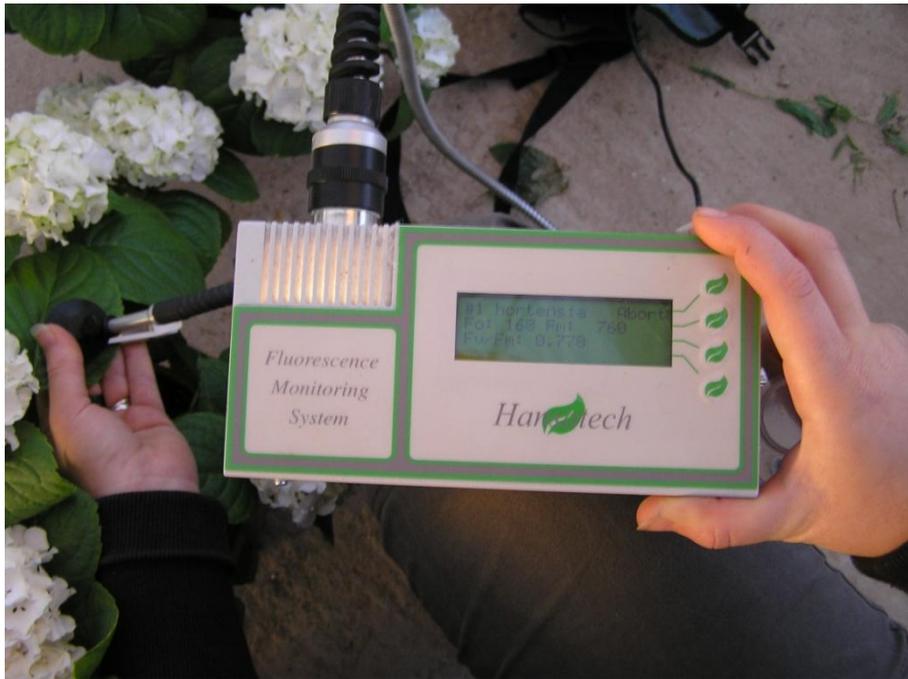


Foto 2.2.9.- Medición de la fluorescencia con un fluorímetro FMS-2.

Resultados y discusión

2.3.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.3.1.- Consumo de agua, drenaje y eficiencia en el uso del agua

El consumo total de agua fue de 17,76 litros por maceta en las dos variedades debido a que las sondas de humedad solamente estaban situadas en la variedad rosa y ambas variedades fueron regadas cuando el contenido volumétrico de agua era inferior a $0,35-0,40 \text{ m}^3/\text{m}^3$. Se observaron diferencias significativas en el consumo total de agua entre los diferentes tratamientos de riego (tabla 2.3.1). Las plantas control consumieron 29,46 L/maceta, las plantas regadas con agua residual (AR) 9,38 L (reducción del 68% del control) y las plantas regadas con agua residual y lavado (ARL) 14,44 L (reducción del 50% respecto al control). La reducción del riego bajo salinidad fue porque este estrés redujo drásticamente el área foliar (tabla 2.3.3). En la tabla 2.3.1 se presenta el consumo de agua buena y agua residual en cada uno de los tratamientos, existiendo diferencias significativas en el factor riego. Esta diferencia de consumo entre tratamientos se ven reflejados en las figuras 2.3.1 y 2.3.2, en las que se expone la evolución el contenido volumétrico de agua del sustrato a lo largo del cultivo, durante 15 días representativos, al inicio y a finales del ensayo, respectivamente. Durante los 15 días representados en la figura 2.3.1, los tres tratamientos consumían prácticamente la misma cantidad de agua (mismo número de riegos), pero a partir esta fecha se observaron como en los tratamientos AR y ARL comenzaron a consumir menos agua (datos no mostrados), probablemente las plantas comenzaron a dañarse aunque no mostraron daños visuales hasta más tarde. En la figura 2.3.2 (15 días representativos en abril) observamos esta diferencia de consumo entre los tratamientos AR y ARL respecto al control: el contenido volumétrico de agua en estos tratamientos desciende más lentamente que el control lo que implica un menor número de riegos. El número de riegos totales al final del ensayo fue de 103, 40 y 32 en los tratamientos control, ARL y AR respectivamente. El menor número de riegos en los tratamientos salinos suponen una tendencia a mantener más humedad en el sustrato que el control. Este resultado coincide con el obtenido por Navarro et al. (2007) en plántulas *Arbutus unedo* tratadas durante seis meses, con $5,45$ y $9,45 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$.

En el porcentaje de drenaje mostró interacción entre los dos factores. En general, la variedad blanca drenó más que la rosa (consume menos agua que la rosa) en los 3

tratamientos (tabla 2.3.2) y, como era de esperar, el tratamiento ARL mostró mayor drenaje medio (hubo riegos de lavado).

En el pH del drenaje no se dieron diferencias significativas, quizá porque se controló el pH de las soluciones riego todas las semanas. En el estudio de la conductividad eléctrica del drenaje vemos que no existe interacción, pero si se dieron diferencias significativas en el factor riego. Los datos obtenidos fueron 3,08, 10,05 y 6,11 dS m⁻¹, en las plantas control, AR y ARL respectivamente. Se puede observar como los lavados con agua buena disminuyen la conductividad eléctrica del drenaje en un 40% en ARL respecto AR.

La eficiencia en el uso del agua (gPS·L⁻¹) indica la relación existente entre la biomasa presente en un determinado momento en un cultivo por unidad de agua utilizada por éste. En la eficiencia en el uso del agua existen diferencias significativas en la variedad y en el riego, e interacción de ambos factores. En la tabla 2.3.2 podemos observar que en la variedad rosa el tratamiento más eficiente es el control 3,50 g PS L⁻¹, reduciendo la eficiencia en un 15% con el uso de aguas residuales. Karlberg et al. (2006) sugiere que EUA es más baja en condiciones de salinidad debido a que la planta destina los productos de la fotosíntesis a contrarrestar los efectos negativos de la salinidad debido a la toxicidad de iones. Por lo tanto, menos asimilados quedan para el crecimiento vegetal en comparación con las plantas sin estrés. Por otro lado, este autor también informó de que EUA puede permanecer sin cambios o aumentar en suelos de alta la salinidad si la planta sólo responde como si estuviera bajo estrés hídrico debido al alto potencial osmótico del suelo, lo que lleva al cierre de los estomas. Esto último ocurrió en la variedad blanca, ya que el tratamiento de riego más eficiente fue AR con un valor de 3,39 (un 26% menos que los tratamientos control y ARL). Los valores de conductancia estomática y potencial hídrico al final del ensayo (figs. 2.3.4 y 2.3.6) indican un cierre de estomas a mediodía y un potencial hídrico más negativo en el tratamiento AR, datos que nos sugieren que la variedad blanca respondió al estrés salino mediando un estrés hídrico. Las dos variedades presentaron comportamientos diferentes en uso eficiente del agua.

2.3.2.- Crecimiento y desarrollo

En la tabla 2.3.3 se representan los resultados de los parámetros de crecimiento y desarrollo. Las dos variedades presentan un porte diferente, por lo tanto en los

diferentes parámetros asociados con el crecimiento y desarrollo tendremos diferencias significativas.

La altura y anchura de la planta presentan interacción para los factores variedad y riego, anunciando respuestas diferentes de las dos variedades a los tratamientos de riego. En la tabla 2.3.4 se puede observar que la variedad rosa es más alta que la blanca en todos los tratamientos. En la variedad blanca existen diferencias significativas en la altura entre el control que mide 34,5 cm y los tratamientos AR y ARL, que disminuyen en un 23% aproximadamente su tamaño. Sin embargo, la variedad rosa no siguió el mismo comportamiento que la blanca, las plantas control tuvieron una altura de 47,5 cm, el agua residual redujo la altura 17 cm, y con la aplicación de los lavados solamente se redujo 11,25 cm. La disminución del crecimiento de plantas se debió a la alta salinidad del agua residual siendo los iones cloruros salinos más importantes (en tabla 2.3.9 se observan las altas concentraciones de Cl^-), porque los cultivos son más sensibles al cloruro de que a otros iones (Grattan y Grieve, 1999).

La anchura sigue el mismo comportamiento que la altura en las dos variedades. En la variedad blanca se reduce 27% la anchura de la planta en los tratamientos AR y ARL respecto al control. En la variedad rosa, el tratamiento AR redujo un 40% y el tratamiento ARL un 28% respecto al control que tuvo un valor de 65,25 cm (fotos 2.3.1 y 2.3.2). La salinidad reduce la capacidad de las plantas para absorber agua (estrés osmóticos) ocasionando una reducción en el crecimiento (Munns, 2002). Otros trabajos con riego con agua reutilizada en arbustos ornamentales, demostraron una respuesta específica en función de la especie (Chaiprapat y Sdoodee, 2007; Gori et al, 2008).

El número de inflorescencias por plantas fue aproximadamente 10 y no se observaron diferencias entre las dos variedades, ni en los distintos tratamientos de riego, lo que sugiere que la calidad del agua no afecta al número de inflorescencias, aunque más adelante comprobaremos que sí afecta a la calidad y precocidad de las mismas. El porcentaje de inflorescencias maduras o comerciales al final del cultivo fue 63,71 y 55,23 en la variedad rosa y blanca, respectivamente, no existiendo diferencias significativas entre las dos variedades. Sin embargo, el agua residual influye negativamente en la precocidad de las flores, retrasando la maduración de las inflorescencias. El porcentaje de inflorescencias maduras en las plantas regadas con agua residual fue 24,31, mientras que la aplicación de los riegos de lavado lo aumentó a

73,62, no existiendo diferencias significativas entre el tratamiento control y ARL. En la tabla 2.3.3 observamos que existen diferencias significativas en diámetro de la inflorescencia para los dos factores, y que la variedad rosa tiene inflorescencias de mayor tamaño que la blanca. Las inflorescencias del tratamiento control tuvieron un diámetro de 17,10 cm y las plantas bajo ARL y AR disminuyeron el tamaño un 32 y 56%, respectivamente.

El diámetro de los sépalos presenta interacción entre los dos factores estudiados. En la tabla 2.3.4 podemos observar que las dos variedades se comportan de manera similar en los diferentes tratamientos de riego, el mayor diámetro se dio en las plantas control, seguidas de ARL y AR. La variedad rosa control tiene un diámetro de sépalos de 4,80 cm, el agua residual redujo un 51% el tamaño, con la aplicación los riegos de lavado se amortiguó este efecto reduciendo el tamaño un 30% respecto al control. Lo mismo ocurrió en la variedad blanca aunque el porcentaje de reducción de tamaño fue menor, ARL redujo el tamaño un 26% y AR un 37% (foto 2.3.3). Las plantas control de la variedad blanca tienen los sépalos más pequeños que la variedad rosa, existiendo diferencias significativas.

El número total de hojas no presentó interacción, pero presentaron diferencias significativas las dos variedades teniendo 144 y 103,42 hojas la rosa y la blanca, respectivamente.

El peso seco de las hojas, el peso seco de tallo y el peso seco aéreo presentaron interacción (tabla 2.3.3). En la tabla 2.3.4 podemos observar que en las dos variedades los pesos secos de hoja fueron mayores en los tratamientos control, y los tratamientos AR y ARL menores que el control, no presentando diferencias entre ellos. El peso seco de tallo fue siempre mayor en todos los tratamientos de riego en la variedad rosa que en la blanca, observándose diferencias significativas entre ambas. Del mismo modo presentaron diferencias significativas entre los 3 tratamientos de riego, mostrando valores intermedios ARL. El peso seco tallo en la variedad rosa se redujo un 77% y 63% en AR y ARL respectivamente, en comparación al control. El peso seco tallo en la variedad blanca se redujo un 77% y 58% en AR y ARL respectivamente, en comparación al control. El peso seco aéreo es la suma del peso seco de las hojas y del tallo, este parámetro presentó interacción. Se observaron diferencias significativas entre los tratamientos control de las dos variedades, teniendo un mayor peso seco aéreo la

variedad rosa con 103,20 g y 75,63 g la blanca. El peso seco aéreo en la variedad blanca se redujo un 58% y 50% en AR y ARL respectivamente, en comparación al control y en la variedad rosa se redujo un 73% y 60% en AR y ARL respectivamente, en comparación al control. Estos porcentajes fueron superiores al 50% observado en geranios y coleos cuando se regaron con aguas con un nivel de salinidad parecida (Zurayk et al., 1993; Ibrahim et al., 1991). La disminución del crecimiento está relacionado con el componente osmótico de la salinidad que limita el agua extraída del suelo (Rodríguez et al., 1997).

El riego con agua residual no desarrolló la succulencia aérea (peso fresco aéreo/peso seco aéreo) (tabla 2.3.3), siendo esta una estrategia osmótica para resistir la salinidad (Zekri, 1991) y que puede ser promovida por el NaCl (Batanoumy, 1996).

En cuando al área foliar de la planta hubo interacción entre los dos factores. En la tabla 2.3.4 se observa que no se dieron diferencias significativas entre los tratamientos de riego para la variedad blanca. Sin embargo, en la variedad rosa los tratamientos regados con agua residual si disminuyeron la superficie aérea respecto al control, reduciéndose un 68% y 54% en AR y ARL respectivamente. Miralles et al., (2011) observaron la reducción del área del foliar debido a un bajo contenido volumétrico de agua en el sustrato. Esta reducción de área foliar es una respuesta a la sequía conocida para reducir la superficie de transpiración en muchas especies, por ejemplo, la adelfa (*Nerium oleander*) (Bañón et al., 2005) y *Gaura lindheimeri* (Burnett y van Iersel, 2008).

El área del limbo fue mayor en la variedad blanca que en la rosa, produciendo diferencias significativas y midiendo 48,92 cm² y 27,89 cm², respectivamente. Estos resultados de observaron desde el inicio del ensayo. Los diferentes tratamientos de riego no presentaron diferencias significativas en el área del limbo.

El índice de necrosis en las hojas aumentó fuertemente con los dos tratamientos de riego con aguas residuales. Este hecho dañó seriamente el valor estético de las plantas que es de gran preocupación ya que en las plantas ornamentales. La calidad visual es más importante que el crecimiento máximo (Niu et al., 2008).

2.3.3.- Color de las inflorescencias y SPAD en las hojas

En la tabla 2.3.5 se presentan los datos obtenidos del color de las inflorescencias y del contenido relativo de clorofila foliar (SPAD) para los diferentes tratamientos.

Las tres coordenadas de color presentan diferencias significativas en el factor variedad, lo cual era de esperar ya que cada variedad tiene un color de floración diferente. Sin embargo, en los diferentes tratamientos de riego no se producen diferencias significativas.

El parámetro luminosidad no presentó interacción, indicando que el efecto de los tratamientos de riego estuvo en similar proporción en las dos variedades. La blanca tuvo valores de 77,41 siendo más luminosa que la rosa que obtuvo un valor de 39,11.

El croma presentó interacción, en la variedad blanca el tratamiento AR tuvo un croma de 21,57, este valor fue mayor que el control y ARL, aspecto que indica que las plantas AR tuvieron flores más vivas. En la variedad rosa las plantas control presentaron un croma de 54,29, los tratamientos AR y ARL disminuyeron este valor 23% y un 6% respectivamente, en este caso las flores control presentaron un color más vivo que las AR y ARL (tabla 2.3.6).

El ángulo hue mostró interacción. La variedad blanca presentó diferencias significativas entre los tres tratamientos de riego (tabla 2.3.6), siendo el menor valor el control seguido de ARL y AR, mostrando valores de 69,27, 75,12 y 87,07, respectivamente. Los valores de la plantas control se encuentran en el tono naranja amarillento con elevada luminosidad, posiblemente por estas circunstancias el ojo perciba el color blanco. Las flores de las plantas AR tenían un color verdoso, porque la aplicación de agua residual retrasó la coloración de las inflorescencias además de la maduración.

El SPAD presentó interacción entre los dos factores estudiados. En la tabla 2.3.6 observamos que en las dos especies los valores mayores se dan en las plantas control, presentando diferencias significativas en comparación con los tratamientos AR y ARL, que redujeron el SPAD. Todos los tratamientos de riego presentan diferencias significativas entre las dos variedades, teniendo un mayor contenido de clorofila la variedad rosa. La aplicación de agua residual redujo el SPAD en un 33% respecto al control en la variedad blanca y un 8,5% en la rosa. Estos datos coinciden con el aspecto

visual de las plantas de variedad blanca, ya que las que fueron regadas con agua residual presentaron hojas con una clorosis severa (foto 2.3.4). Sin embargo, la variedad rosa no presentó clorosis a simple vista (foto 2.3.5).

2.3.4.- Intercambio de gases, fluorescencia clorofílica y relaciones hídricas

Analizamos los resultados finales obtenidos para los parámetros en estudio de la tabla 2.3.7. El riego con agua residual redujo la g_s y, consecuencia de ello también se produjo una importante caída de la P_n . Los valores de conductancia estomática (g_s) de los diferentes tratamientos de riego presentaron diferencias significativas. Estos valores reflejan el estrés osmótico producido por las sales (Azza Mazher et al., 2007) con una reducción importante en los tratamientos que reciben agua con mayores CE (agua residual).

El parámetro ETR/P_n fue mayor en la variedad blanca que en la rosa, lo que sugiere una mayor derivación de electrones excitados a otros procesos que consumen energía, alternativos al CO_2 .

El ratio F_v/F_m fue menor también en la variedad blanca respecto a la rosa, sugiriendo daños intrínsecos en el PSII (Maxwell and Johnson 2000). Igualmente, este ratio fue reducido por AR y ARL, especialmente por el primer tratamiento porque presentó un valor inferior al segundo. Esto sugiere que las plantas bajo AR estaban peor fotoquímicamente hablando que las plantas bajo ARL, y ambas que las controles. Esto puede ser consecuencia de fenómenos oxidativos sobre las clorofilas, como confirma la caída de SPAD en la variedad blanca.

La cantidad de energía que se disipa en forma de calor NPQ presentó interacción entre los dos factores estudiados. En la tabla 2.3.8 se observa que en la variedad blanca no se dieron diferencias significativas; sin embargo, la variedad rosa disipa menos calor que el control cuando fueron regadas con agua residual. Esto significa que el mecanismo de disipación de calor se dañó en la variedad rosa. Miralles et al. (2011) fundado de que el descenso de NPQ estaba estrechamente relacionada con la congelación de la adelfa. Por lo tanto, creemos que una disminución en NPQ con respecto al control confirma plantas dañadas fotoquímicamente. El riego con agua residual afectó en mayor medida a las plantas de la variedad rosa que a las blancas en términos fotoquímicos.

El potencial hídrico foliar no presentó interacción en los dos factores estudiados. La aplicación de agua residual influyó en el estado hídrico de las plantas porque produjo valores más negativos cuando no hubo lavado. También se observaron valores más negativos de potencial osmótico en los dos tratamientos regados con agua residual, durante el proceso de ajuste se produce la acumulación de solutos orgánicos e inorgánicos que reducen el potencial osmótico celular (Wyn Jones y Gorham, 1983). Los resultados de Ψ_o nos pueden dar lugar a pensar que las plantas AR y ARL podían haber realizado ajuste osmótico, y los registros de Ψ_{os} lo confirman. Este ajuste osmótico parece el responsable, en parte, de la subida del Ψ_p observado en las plantas salinizadas (tabla 2.3.7). Torrecillas et al. (2003) también encontró que los parámetros de intercambio de gases se redujo en las plantas tratadas con sal (riego con 70 y 140 mM de NaCl) en comparación con las plantas de control de *Cistus albidus* y *C. monspeliensis*, así como la planta realiza el ajuste osmótico para mantener una mayor Ψ_p .

2.3.5.- Contenido de solutos inorgánicos

El riego con agua residual produjo una significativa acumulación de Na^+ y Cl^- en las hojas, acumulando 2,5 veces más que el control. La interacción ocurrida entre los dos factores respecto al nivel de Cl^- en hoja y raíz se puede observar en la tabla 2.3.10. El Cl^- en hoja presentó diferencias significativas entre las dos variedades acumulando más cantidad de Cl^- las plantas con floración blanca, pasando de 44,41 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ·PS en las plantas control a 124,79 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ·PS en AR. Sin embargo, el nivel de Cl^- de la raíz en la variedad rosa no mostró diferencias significativas entre tratamientos de riego; al contrario ocurrió en la variedad blanca ya que los tratamientos AR y ARL aumentaron el contenido de este ion, aunque las raíces acumularon menos que las hojas. Esto indica que la blanca tiene más capacidad de absorber y transportar cloruros en las hojas que la rosa, aumentando el riesgo tóxico en las hojas. Aunque en la rosa esta capacidad es menor, sus raíces no son capaces de retener cloruros bajo condiciones de alta concentración en la solución.

La blanca acumuló también más sodio en las hojas que la rosa. El Na^+ en raíz presentó interacción, esta se puede observar en la tabla 2.3.10. Los valores en la variedad rosa no mostraron diferencias entre los tres tratamientos, sin embargo, la variedad blanca aumentó su contenido más del doble en las plantas regadas con agua

residual. Se ha sugerido que el Na^+ es un ion que tiende a ser secuestrado en las raíces y tejidos maduros (Ferguson and Grattan, 2005), mientras que el Cl^- está continuamente transportándose a las hojas (Munns and Tester, 2008). En nuestro caso, Cl^- y Na^+ presentaron mayor concentración en las hojas que en las raíces.

Las concentraciones de los diferentes iones estudiados fueron mayores en la variedad blanca que en la rosa, especialmente el Cl^- y Na^+ , esto puede justificar que las hojas de las los tratamientos AR y ARL (variedad blanca) presentaran claros síntomas por daños salinos (clorosis y pequeñas quemaduras foliares), aunque al final del cultivo también se observaron daños en la variedad rosa.

La presencia de síntomas de daños salinos en las hojas provocan un mayor índice de necrosis foliar (tabla 2.3.3), lo que sugiere que la calidad de la planta en este caso está vinculada a los efectos de la salinidad (Qian et al., 2005). Sin embargo, el índice de necrosis foliar fue similar en ambas variedades.

Las concentraciones de K^+ en las hojas y raíces presentaron diferencias significativas entre los tres tratamientos de riego. En las hojas la concentración de K^+ fue mayor en AR y ARL que en el tratamiento control, pero no hubo diferencias varietales. El aumento de los iones salinos en la solución nutritiva puede producir desequilibrios nutricionales al interactuar con los nutrientes (Grattan and Grieve, 1999). Se suelen establecer competencias entre el Na^+ y el resto de cationes, destacando su competencia con la entrada de K^+ (Schroeder et al., 1994), que se produce porque tienen similares tamaño iónico y propiedades químicas (Harry and Benton, 1996). La interacción entre el contenido de Na^+ y K^+ se ha considerado un factor clave para determinar la tolerancia a la salinidad de las plantas (Willadino and Camara, 2005). Cuanto más competencia tiene el Na^+ y el Cl^- con el resto de iones, mayor sensibilidad a la salinidad (Nieman and Clark, 1976; Slama, 1986). En este estudio, el ratio K^+/Na^+ en hojas y raíz presentó interacción entre los dos factores estudiados. En la tabla 2.3.10 se observa que el estrés salino afectó a las dos variedades reduciendo el ratio K^+/Na^+ en hoja en AR y ARL. El ratio K^+/Na^+ en la raíz fue diferente al de la hoja, mostrando que la variedad blanca tuvo más problemas para mantenerlo que la rosa bajo condiciones salinas.

Los iones Ca^{+2} y Mg^{+2} en hoja presentaron las mayores concentraciones en las plantas regadas con agua residual. Sin embargo, las concentraciones de Ca^{+2} y Mg^{+2} en la raíz no presentaron diferencias significativas entre tratamientos.

La concentración de boro en las hojas fue mayor en la variedad blanca con un valor de 398,08 ppm y 204,23 ppm en la rosa, presentando el mismo comportamiento en las raíces aunque con menores concentraciones, 137,23 ppm en la blanca y 97,93 ppm en la rosa. Es decir, la blanca absorbe más boro que la rosa en las tres condiciones de riego estudiadas. Los diferentes tratamientos de riego no afectaron a la absorción de boro, lo que indica que los niveles de boro en las aguas de riego utilizadas no son tóxicos para esta especie.

Las plantas se dañan por salinidad, principalmente a través del efecto osmótico, el efecto de la toxicidad de iones específicos y, posteriormente, a través de estrés por desequilibrio nutricional (Song et al., 2009).

2.3.6.- Evolución de las relaciones hídricas de la planta

En la figura 2.3.3 se puede observar la evolución diaria de las relaciones hídricas de la variedad rosa en un día al final del experimento. La evolución del estado hídrico de la planta a lo largo del día muestra una turgencia máxima en la madrugada y la pérdida del mismo a lo largo del día (fig. 2.3.3A). En las plantas control se dieron síntomas de marchitamiento como se reflejan los registros negativos de Ψ_p (fig. 2.3.3C). El Ψ_o inferior de AR y ARL a lo largo del día justifican el mejor estado hídrico de las hojas, aunque al atardecer Ψ_o fue similar en todos los tratamientos y el Ψ_h y el Ψ_p fueron menores en el control en comparación con AR. El tratamiento ARL no fue estadísticamente diferente a los otros tratamientos aunque mostró una tendencia de estar entre AR y el control.

La evolución diaria del potencial hídrico y conductancia estomática (g_s) (Fig. 2.3.5A) muestra como a partir de las 10 h se produce una caída importante de los valores de Ψ_h , que coincide con la apertura máxima de los estomas. A partir de ese momento los niveles de g_s van disminuyendo en todos los tratamientos. Estaríamos ante un mecanismo de evitación para limitar las pérdidas de agua vía transpiración y optimizar el uso del agua en momentos de mayor demanda evaporativa (Tenhunen et

al., 1990). La temperatura en el interior del invernadero fue máxima a las entre 10-11h (Fig. 2.3.5D).

En la figura 2.3.4 se puede observar la evolución de las relaciones hídricas de la variedad blanca en un día al final del experimento. La evolución del estado hídrico de la planta a lo largo del día muestra una turgencia máxima en la madrugada y la pérdida del mismo a lo largo del día (fig. 2.3.4A), presentando el mismo comportamiento que la variedad rosa. Las plantas control disminuyeron el Ψ_p con el transcurso del día, no llegando a presentar potenciales negativos como en la variedad rosa (fig. 2.3.4C). El Ψ_o inferior de AR y ARL a lo largo del día justifican el mejor estado hídrico de las hojas. El tratamiento ARL no fue estadísticamente diferente a AR. Los datos observados sugieren que las plantas salinizadas realizaron ajuste osmótico.

2.3.7.- Evolución del intercambio de gases y los parámetros fotoquímicos

En la figura 2.3.5 se observa la evolución del intercambio gaseoso y los parámetros fotoquímicos a lo largo de un día al final del experimento en la variedad rosa. Los parámetros de intercambio de gases a lo largo del día mostraron el máximo valor antes del mediodía en las plantas control, sin embargo, después de mediodía se redujeron fuertemente (Figs. 2.3.5 A y B). El tratamiento AR tuvo tasas de intercambio gaseoso similares a lo largo del día, presentando las menores diferencias al amanecer y al atardecer donde se registraron las tasas más bajas. Las plantas ARL también tuvieron tasas de intercambio gaseoso máximas antes de mediodía, presentando el resto del día pocos cambios en comparación con las plantas control. Esto indica que las plantas salinizadas estaban sometidas a estrés osmótico, especialmente las del tratamiento AR. Este comportamiento estomático se reflejó en la evolución de la fotosíntesis. El estudio refleja que la eficiencia fotoquímica del fotosistema II (F_v/F_m) y el NPQ no cambiaron a lo largo del día. F_v/F_m fue mayor en las plantas control seguido de ARL y AR al final del día, mientras que NPQ fue mayor en el control, y los tratamientos AR y ARL mostraron valores similares (figs. 2.3.5 C y E). Esto indica que el aparato fotoquímico estaba trabajando mejor en las plantas control y la presencia de daños fotoquímicos en los otros dos tratamientos (AR y ARL). Los valores de NPQ indican que las plantas control pueden disipar el exceso de energía en forma de calor de una manera eficiente (Maxwell y Johnson, 2000), mientras que en las salinizadas este mecanismo se vio mermado. Percival (2005) informó que la creciente salinidad reducía los valores F_v/F_m

en treinta plantas perennes leñosas sometidas a la salinidad. La relación tasa aparente de electrones/fotosíntesis neta (ETR/P_n) mostraron que al mediodía hay un buen balance de energía en todos los tratamientos, pero al atardecer los tratamientos AR y ARL tienen valores muy altos debido a su P_n ya que fueron cercanas a cero (Fig 2.3.5 F). En la madrugada las plantas control están totalmente recuperadas sin diferencias con ARL, pero AR comienza con una tasa mayor. Estos datos indican que las plantas regadas con agua residual sufrieron daños fotooxidativos y fotorespiración al atardecer (Arena et al., 2008), el riego de lavado en ARL ayudaron a mejorar el estado fotoquímico en la madrugada.

En la figura 2.3.6 se observa la evolución del intercambio gaseoso y los parámetros fotoquímicos a lo largo de un día al final del experimento en la variedad blanca. Los parámetros de intercambio de gases a lo largo del día en las plantas control mostraron el máximo valor antes del mediodía mantenido los valores hasta mediodía, sin embargo, durante la tarde se redujeron estos valores (fig 2.3.6 A y B). El tratamiento AR tuvo tasas de intercambio gaseoso similares a lo largo del día. Las plantas ARL presentaron una mayor tasa de intercambio gaseoso al amanecer que a lo largo del día, probablemente cerraron los estomas para evitar la pérdida de agua. Al atardecer los todos los tratamientos presentaron tasas de intercambio gaseoso similares.

El estudio refleja que la eficiencia fotoquímica del fotosistema II (F_v/F_m) no ha cambiado a lo largo del día, sin embargo, se produjo un aumento de la cantidad de energía que se disipa en forma de calor (NPQ) desde el amanecer hasta las 10 h, no produciéndose grandes cambios a lo largo del día, probablemente al amanecer el fotosistema II no estaba activo, ya que los valores de EPSII son muy bajos. La relación ETR/P_n (fig. 2.3.6 F) en la variedad blanca no presentó diferencias significativas entre tratamientos.

2.3.8.- Evolución del número y tamaño de las inflorescencias de la planta

En la figura 2.3.7 y 2.3.8 se puede observar la evolución del número inflorescencias por planta y el diámetro de la inflorescencia, en las dos variedades. Estos datos nos aportan información sobre la precocidad o retraso de la floración de los diferentes tratamientos en comparación con las plantas control.

En la variedad rosa el tratamiento control alcanzó el número máximo de inflorescencias el 21 de marzo de 2011, manteniéndose hasta el final del cultivo, esta tendencia también se produjo en AR aunque el número de inflorescencias fue menor, sin embargo, las barras de error indican que no se dieron diferencias significativas entre los tres tratamientos. ARL presentó valores intermedios entre el control y AR, en cuando al número de inflorescencias (fig. 2.3.7 A). Sin embargo, el riego con agua residual produjo inflorescencias de menor tamaño, existiendo diferencias significativas respecto al control. El 21 de marzo de 2011 parece la fecha clave en la cual comienzan a notarse las diferencias de crecimiento de las inflorescencias entre las plantas control y las de los otros tratamientos. Fornes et al. (2007) comprobaron como plantas de *Calceolaria hybrida* regadas con 12,5 dS/m experimentaron una fuerte reducción del crecimiento y un retraso en la floración, sin mostrar síntomas de toxicidad o mortalidad.

En la figura 2.3.8A observamos como aumenta de manera progresiva el número de inflorescencias por planta en la variedad blanca, no existiendo diferencias significativas entre los tres tratamientos, al igual que ocurrió con la variedad rosa. El diámetro de la inflorescencia fue diferente en los tres tratamientos, mostrando diferencias significativas a partir del 21 de marzo. ARL obtuvo valores intermedios entre las plantas control y AR.

Observamos como los riegos de lavado favorecen el crecimiento de la inflorescencia y la precocidad en las dos variedades estudiadas, aunque no llegamos a obtener flores de la misma calidad que las plantas control (tabla 2.3.3 y foto 2.3.6).

2.3.9.- Medición de las capas de celulares de la hoja en la sección transversal

Tanto la cutícula (superior e inferior) como la epidermis (superior e inferior) no se vieron afectadas por la salinidad. Boughalleb et al. (2009) obtuvieron resultados similares en la cutícula y la epidermis de *N. retusa* y tallos *A. halimus*.

Los tejidos del parénquima fueron las capas más gruesas, especialmente el parénquima esponjoso que representa aproximadamente la mitad de grosor de la hoja en el tratamiento control, no comportándose de la misma manera las plantas AR y ARL. El riego con agua residual promovió el crecimiento del parénquima en empalizada aumentando el grosor de 10,56 a 28 μm . Boughalleb et al. (2009) comprobaron el aumento de los parámetros anatómicos la hoja en *M. arborea* bajo condiciones salinas

(por ejemplo, aumento de espesor de la epidermis superior e inferior, el parénquima en empalizada y el parénquima esponjoso). El grosor del parénquima esponjoso es mayor en la variedad rosa que en la blanca, este parámetro que no se vio modificado por la aplicación de los diferentes tratamientos de riego.

El grosor total de la hoja fue estadísticamente significativo para los dos factores y para la interacción entre ellos (tabla 2.3.12). En las dos variedades el grosor aumentó con la aplicación de agua residual, lo que suele ser un típico síntoma del riego salino. Así, Longstreth et al. (1984) observaron que el aumento de la concentración de NaCl de 0 a 400 mM resultó en aproximadamente el doble de grosor del mesófilo de la hoja en *Alternanthera philoxeroides*. Las hortensias rosas presentaron mayor grosor de hoja que las blancas, pero sólo cuando fueron regadas con el tratamiento más estresante, el AR (foto 2.3.7). Esto sugiere una mayor sensibilidad a la salinidad de la variedad rosa frente a la blanca.

2.3.10.- Descripción síntomas visuales

A lo largo del ensayo pudimos observar como las plantas comenzaron a manifestar síntomas de estrés salino y también observamos la evolución de los daños. Antes de pasar a la descripción, indicar que las dos variedades mostraron algunos síntomas diferentes. Zollinger et al. (2007) sugiere que las especies varían en su calidad visual y las respuestas de la biomasa a la salinidad, por lo que algunas especies mantienen su calidad a medida que disminuye la biomasa, mientras que, otras especies no lo hacen.

El día 28 de febrero empezaron a manifestarse diferentes síntomas de estrés salino en las dos variedades. Las plantas AR de la variedad rosa presentaban un menor crecimiento que las plantas control (foto 2.3.8), también se observaron algunas quemaduras en los ápices y una leve decoloración de las hojas. En la variedad blanca las plantas AR presentaron hojas más amarillas y al medio día se observaba una pérdida de turgencia en las hojas, aunque por la tarde las plantas se recuperaban. En las dos variedades las plantas ARL, no presentaron síntomas en esta fecha.

El 18 de marzo los daños anteriores fueron avanzando, la variedad rosa-AR mostró los ápices de las hojas quemados y enrollados hacia el haz, también comenzaron unas pequeñas quemaduras en los bordes aserrados de las hojas. En esta fecha se

empezaron a notar las diferencias en el crecimiento del ARL y el control, la variedad rosa mostró un menor crecimiento que la blanca y se observó en las hojas viejas un mayor grosor. Estos resultados fueron los que nos condicionaron para medir las capas de celulares de la hoja en la sección transversal, pretendimos comprobar la posible existencia de diferencias significativas en el grosor de la hoja entre los diferentes tratamientos (apartado 2.3.9). En la variedad blanca las plantas AR eran más bajas y compactas (menor distancia entre los entrenudos) que las control, las hojas se doblaban hacia el envés siendo la forma natural un poco curvadas hacia al haz. Sin embargo, la blanca no presentan quemaduras foliares como la variedad rosa, en este caso se observa un amarilleamiento en toda la planta, la decoloración en las hojas se produjo entre los nervios secundarios, manteniendo el verde más intenso cerca de los nervios (foto 2.3.9), los bordes de la hoja también presentaron un verde más amarillento. En las plantas ARL-blancas comienzan a producirse algunas decoloraciones en las hojas tiernas.

Al final del ensayo todos los síntomas descritos anteriormente se acentuaron y fueron evolucionando, en general las plantas de variedad rosa regadas con agua residual redujeron la altura de la planta, presentaron quemaduras en las hojas llegando a secarse algunas de ellas en su totalidad y perdieron calidad en la floración (inflorescencias más pequeñas y tardías), los lavados con agua buena redujeron los daños causados por la salinidad, aunque en menor medida también se vieron afectas. Bañón et al. (2011) observaron que plantas de lantana regadas con agua mezclada (aguas residuales regeneradas diluidas al 50% con agua del canal) mostraron una menor clorosis y defoliación que las plantas regadas con agua reutilizada. La variedad blanca no presentó tantas quemaduras como la rosa, pero sí que mostró una mayor clorosis, acentuándose la curvatura de las hojas hacia el envés al final del ensayo, los lavados en esta variedad también beneficiaron a las plantas al reducir los daños, pero no lo suficiente (foto 2.3.10).

Tabla 2.3.1.- Resultados y significación estadística del ANOVA bifactorial para los parámetros de consumo de agua, drenaje y eficiencia en el uso del agua

PARÁMETROS	Variedad		Riego			Estadística		
	Rosa	Blanca	C	AR	ARL	V	R	VxR
Consumo total (L)	17,76	17,76	29,46c	9,38a	14,44b	ns	***	ns
Consumo agua buena (L)	11,66	11,66	29,46c	0,00a	5,46b	ns	**	ns
Consumo agua residual (L)	6,12	6,12	0,00a	9,38c	8,98b	ns	**	ns
% drenaje	10,91	14,07	9,43a	8,95a	19,10b	**	**	*
pH drenaje	5,77	5,76	5,44a	5,98a	5,88a	ns	ns	ns
CE drenaje (dS m ⁻¹)	6,65	6,17	3,08a	10,05c	6,11b	ns	***	ns
EUA (gPS L ⁻¹)	3,14	2,86	3,04b	3,19b	2,76a	**	**	*

Los asteriscos indican diferencias significativas entre las medias o interacción a *P<0.05, **<0.01, ***<0.001; ns = no significativo.

Tabla 2.3.2.-Efectos de la variedad y el riego en los parámetros de consumo de agua, drenaje y eficiencia en el uso del agua.

Parámetros	Variedad	Riego		
		Control	AR	ARL
% drenaje	Blanca	9,90a	11,39a	20,93b
	Rosa	*8,96a	*6,51a	*17,27b
EUA (gPS L ⁻¹)	Blanca	2,57a	3,39b	2,62a
	Rosa	*3,50c	*3,00a	*2,91a

Los valores dentro de cada fila que no tienen ninguna letra en común son significativamente diferentes según el test de LSD a un nivel de probabilidad del 95%. La presencia de un asterisco indica diferencias significativas entre las variedades, para cada parámetro.

Tabla 2.3.3.- Significación estadística de la variedad y el riego y su interacción sobre los parámetros de crecimiento medidos el final del experimento.

Parámetros medidos	Variedad		Riego			Estadística		
	Rosa	Blanca	Control	AR	ARL	V	R	VxR
Altura planta (cm)	38,08	28,79	41,0c	27,62a	31,69b	***	***	**
Anchura planta (cm)	50,13	45,50	60,25c	30,00a	45,19b	*	***	*
Nº inflorescencias	10,75	9,08	10,88a	10,69a	8,25a	ns	ns	ns
% inflorescencias maduras	63,71	55,23	80,47b	24,31a	73,62b	ns	***	ns
Ø inflorescencia (cm)	13,37	10,74	17,10c	7,46a	11,61b	***	***	ns
Ø sépalos (cm)	3,51	3,14	4,36c	2,41a	3,20b	***	***	***
Nº hojas totales	144,00	103,42	138,00a	118,25a	114,88a	**	ns	ns
PS hoja (g)	19,85	19,82	28,10b	14,69a	16,63a	ns	***	**
PS tallo (g)	37,94	28,06	61,32c	14,05a	23,63b	***	***	***
PS aéreo (g)	57,79	48,39	89,41c	29,95a	39,91b	***	***	***
Suculencia aérea	10,75	8,36	12,24a	7,95a	8,46a	ns	ns	ns
Área foliar (dm ²)	41,79	47,08	64,46b	33,45a	35,40a	ns	***	*
Área limbo (cm ²)	27,89	48,92	49,28c	32,49a	33,44ab	**	ns	ns
Índice necrosis foliar (1-10)	3,18	3,00	1,00a	4,71c	3,57b	ns	***	ns

Nivel de significación de ANOVA bifactorial para determinar los efectos de la variedad, el tipo de riego y la interacción de V x R en los parámetros estudiados, ns: no significativo, * Significativo con P <0,05. ** Significativo con P <0,01. *** Significativo con P <0,001.

Tabla 2.3.4.- Estudio de la interacción producida entre la variedad y el riego en los parámetros de crecimiento.

Parámetros	Variedad	Riego		
		Control	AR	ARL
Altura planta (cm)	Blanca	34,5b	24,75a	27,12a
	Rosa	*47,5c	*30,5a	*36,25b
Anchura planta (cm)	Blanca	55,25b	37,38a	43,88a
	Rosa	*65,25c	38,63a	46,5b
Ø sépalos (cm)	Blanca	3,93c	2,48a	3,00b
	Rosa	*4,80c	2,35a	*3,40b
PS hoja (g)	Blanca	24,48b	*17,83a	17,18a
	Rosa	31,73b	11,76a	16,09a
PS tallo (g)	Blanca	51,16c	11,71a	21,29b
	Rosa	*71,47c	*16,38a	*25,96b
PS aéreo (g)	Blanca	75,63b	31,77a	37,77a
	Rosa	*103,20c	28,14a	42,05b
Área foliar (dm ²)	Blanca	58,22a	*44,18a	38,85a
	Rosa	70,69b	22,72a	31,95a

Los valores dentro de cada fila que no tienen ninguna letra en común son significativamente diferentes según el test de LSD a un nivel de probabilidad del 95%. La presencia de un asterisco indica diferencias significativas entre las variedades, para cada parámetro.

Tabla 2.3.5.- Significación estadística de la variedad y el riego y su interacción sobre los parámetros de color y SPAD medidos el final del experimento.

Parámetros medidos	Variedad		Riego			Estadística		
	Rosa	Blanca	Control	AR	ARL	V	R	VxR
Luminosidad sépalos	39,11	77,41	54,08a	54,88a	65,80a	***	ns	ns
Croma sépalos	49,13	13,44	31,23a	31,78a	30,83a	***	ns	***
Ángulo Hue sépalos	5,46	77,82	40,05ab	46,55b	38,33a	***	ns	**
SPAD	52,65	40,11	53,92b	42,91a	42,3a	***	***	***

Nivel de significación de ANOVA bifactorial para determinar los efectos de la variedad, el tipo de riego y la interacción de V x R en los parámetros estudiados, ns: no significativo, * Significativo con P <0,05. ** Significativo con P <0,01. *** Significativo con P <0,001.

Tabla 2.3.6.- Estudio de la interacción producida entre la variedad y el riego en los parámetros de color y SPAD.

Parámetros	Variedad	Riego		
		Control	AR	ARL
Croma sépalos	Blanca	8,17a	21,57b	10,58a
	Rosa	*54,29c	*41,99a	*51,09b
Ángulo Hue sépalos	Blanca	*69,27a	*87,07c	*75,12b
	Rosa	10,82a	4,03a	1,54a
SPAD	Blanca	52,07b	35,75a	33,02a
	Rosa	*55,78b	*50,59a	*51,60a

Los valores dentro de cada fila que no tienen ninguna letra en común son significativamente diferentes según el test de LSD a un nivel de probabilidad del 95%. La presencia de un asterisco indica diferencias significativas entre las variedades, para cada parámetro.

Tabla 2.3.7.- Significación estadística de la variedad y el riego y su interacción sobre el intercambio gaseoso, fluorescencia y las relaciones hídricas de las plantas.

Parámetros medidos	Variedad		Riego			Estadística		
	Rosa	Blanca	Control	AR	ARL	V	R	VxR
P_n ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	4,90	3,60	6,18b	3,31a	3,28a	ns	**	ns
g_s ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	43,5	39,42	58,25b	35,50a	30,63a	ns	**	ns
Fv/Fm	0,814	0,783	0,822c	0,774a	0,806b	**	***	ns
EPSII	0,178	0,148	0,215a	0,138b	0,137b	*	***	ns
NPQ	1,64	2,88	2,44b	2,10a	2,26ab	***	ns	**
ETR/Pn	7,05	14,24	6,03a	9,44ab	16,48b	*	ns	ns
Ψ_h (MPa)	-1,15	-1,10	-0,98b	-1,32a	-1,07b	ns	*	ns
Ψ_o (MPa)	-1,28	-1,73	-1,11c	-1,82a	-1,59b	***	***	ns
Ψ_p (MPa)	0,13	0,64	0,13a	0,50b	0,52b	***	**	ns
Ψ_{osat} (MPa)	-1,15	-1,32	-0,93c	-1,50a	-1,28b	**	***	ns

Nivel de significación de ANOVA bifactorial para determinar los efectos de la variedad, el tipo de riego y la interacción de V x R en los parámetros estudiados, ns: no significativo, * Significativo con $P < 0,05$. ** Significativo con $P < 0,01$. *** Significativo con $P < 0,001$.

Tabla 2.3.8.- Estudio de la interacción producida entre la variedad y el riego en el intercambio gaseoso, fluorescencia y las relaciones hídricas.

Parámetros	Variedad	Riego		
		Control	AR	ARL
NPQ	Blanca	*2,82a	*2,94a	*2,89a
	Rosa	2,06b	1,25a	1,62a

Los valores dentro de cada fila que no tienen ninguna letra en común son significativamente diferentes según el test de LSD a un nivel de probabilidad del 95%. La presencia de un asterisco indica diferencias significativas entre las variedades, para cada parámetro.

Tabla 2.3.9.- Resultados y significación estadística del ANOVA bifactorial para el contenido de iones en hojas y raíces.

Parámetros medidos	Variedad		Riego			Estadística		
	Rosa	Blanca	Control	AR	ARL	V	R	VxR
Cl ⁻ hoja (mg·g ⁻¹ PS)	73,32	99,24	43,05a	106,81b	108,99b	***	***	*
Na ⁺ hoja (mg·g ⁻¹ PS)	15,34	21,50	8,53a	26,80c	19,93b	*	***	ns
K ⁺ hoja (mg·g ⁻¹ PS)	28,88	23,39	17,81a	29,97b	30,63b	ns	**	ns
Ca ²⁺ hoja (mg·g ⁻¹ PS)	9,96	10,47	8,32a	11,08b	10,85b	ns	*	ns
Mg ²⁺ hoja (mg·g ⁻¹ PS)	6,25	6,82	5,51a	7,01b	7,09b	ns	*	*
Ratio K ⁺ / Na ⁺ hoja	2,31	1,23	2,51b	1,20a	1,60b	***	***	**
Boro hoja (ppm)	204,23	398,08	334,35a	289,32a	279,81a	***	ns	ns
Cl ⁻ raíz (mg·g ⁻¹ PS)	9,79	16,94	10,28	13,79	16,02	**	ns	*
Na ⁺ raíz (mg·g ⁻¹ PS)	8,30	11,81	7,72	10,57	11,89	*	ns	*
K ⁺ raíz (mg·g ⁻¹ PS)	3,66	9,69	8,12b	7,41b	4,48a	***	*	ns
Ca ²⁺ raíz (mg·g ⁻¹ PS)	2,16	2,43	2,32a	2,18a	2,38a	ns	ns	**
Mg ²⁺ raíz (mg·g ⁻¹ PS)	1,48	2,20	1,69a	1,84a	1,20a	*	ns	ns
Ratio K ⁺ / Na ⁺ raíz	2,38	4,68	4,63b	3,77b	2,19a	***	***	**
Boro raíz (ppm)	97,93	137,22	116,17a	120,40a	116,5a	**	ns	ns

Nivel de significación de ANOVA bifactorial para determinar los efectos de la variedad, el tipo de riego y la interacción de V x R en los parámetros estudiados, ns: no significativo, * Significativo con P <0,05. ** Significativo con P <0,01. *** Significativo con P <0,001.

Tabla 2.3.10.- Estudio de la interacción producida entre la variedad y el riego en el contenido de iones en hojas y raíces.

Parámetros	Variedad	Riego		
		Control	AR	ARL
Cl ⁻ hoja (mg·g ⁻¹ PS)	Blanca	44,41a	124,79b	128,54b
	Rosa	*41,69a	88,84b	*89,44b
Mg ²⁺ hoja (mg·g ⁻¹ PS)	Blanca	6,80a	7,04a	6,62a
	Rosa	4,21a	6,97b	7,57b
Cl ⁻ raíz (mg·g ⁻¹ PS)	Blanca	9,43a	*16,62b	*22,76b
	Rosa	11,13a	8,96a	9,28a
Ratio K ⁺ / Na ⁺ hoja	Blanca	1,56c	0,85a	1,27ab
	Rosa	*3,45b	1,55a	*1,92a
Na ⁺ raíz (mg·g ⁻¹ PS)	Blanca	6,22a	13,87b	15,35b
	Rosa	9,22a	7,27a	8,43a
Ca ²⁺ raíz (mg·g ⁻¹ PS)	Blanca	2,07a	2,37ab	*2,84b
	Rosa	5,58b	2,00b	1,91b
Ratio K ⁺ / Na ⁺ raíz	Blanca	6,60b	4,90b	2,55a
	Rosa	*2,67a	*2,66a	1,82a

Los valores dentro de cada fila que no tienen ninguna letra en común son significativamente diferentes según el test de LSD a un nivel de probabilidad del 95%. La presencia de un asterisco indica diferencias significativas entre las variedades, para cada parámetro.

Tabla 2.3.11.- Resultados y significación estadística del ANOVA bifactorial para el grosor de las diferentes capas celulares, datos en μm .

Parámetros medidos	Variedad		Riego			Estadística		
	Rosa	Blanca	Control	AR	ARL	V	R	VxR
Cutícula superior	0,50	0,50	0,50a	0,50a	0,50a	ns	ns	ns
Epidermis superior	1,54	1,54	1,56a	1,56a	1,50a	ns	ns	ns
Parénquima en empalizada	22,5	22,00	10,56a	28,19b	28,00b	ns	***	ns
Parénquima esponjosos	26,5	22,63	23,50a	25,31a	24,88a	**	ns	ns
Epidermis inferior	1,33	1,45	1,50a	1,31a	1,38a	ns	ns	ns
Grosor total	52,88	48,63	38,13a	57,31b	56,81b	*	***	*
Cutícula inferior	0,50	0,50	0,50a	0,50a	0,50a	ns	ns	ns

Nivel de significación de ANOVA bifactorial para determinar los efectos de la variedad, el tipo de riego y la interacción de V x R en los parámetros estudiados, ns: no significativo, * Significativo con $P < 0,05$. ** Significativo con $P < 0,01$. *** Significativo con $P < 0,001$.

Tabla 2.3.12.- Estudio de la interacción producida entre la variedad y el riego en el grosor de las capas celulares, datos en μm .

Parámetros	Variedad	Riego		
		Control	AR	ARL
Grosor total	Blanca	37,38a	51,37b	57,13b
	Rosa	38,88a	*63,25b	56,5b

Los valores dentro de cada fila que no tienen ninguna letra en común son significativamente diferentes según el test de LSD a un nivel de probabilidad del 95%. La presencia de un asterisco indica diferencias significativas entre las variedades, para cada parámetro.

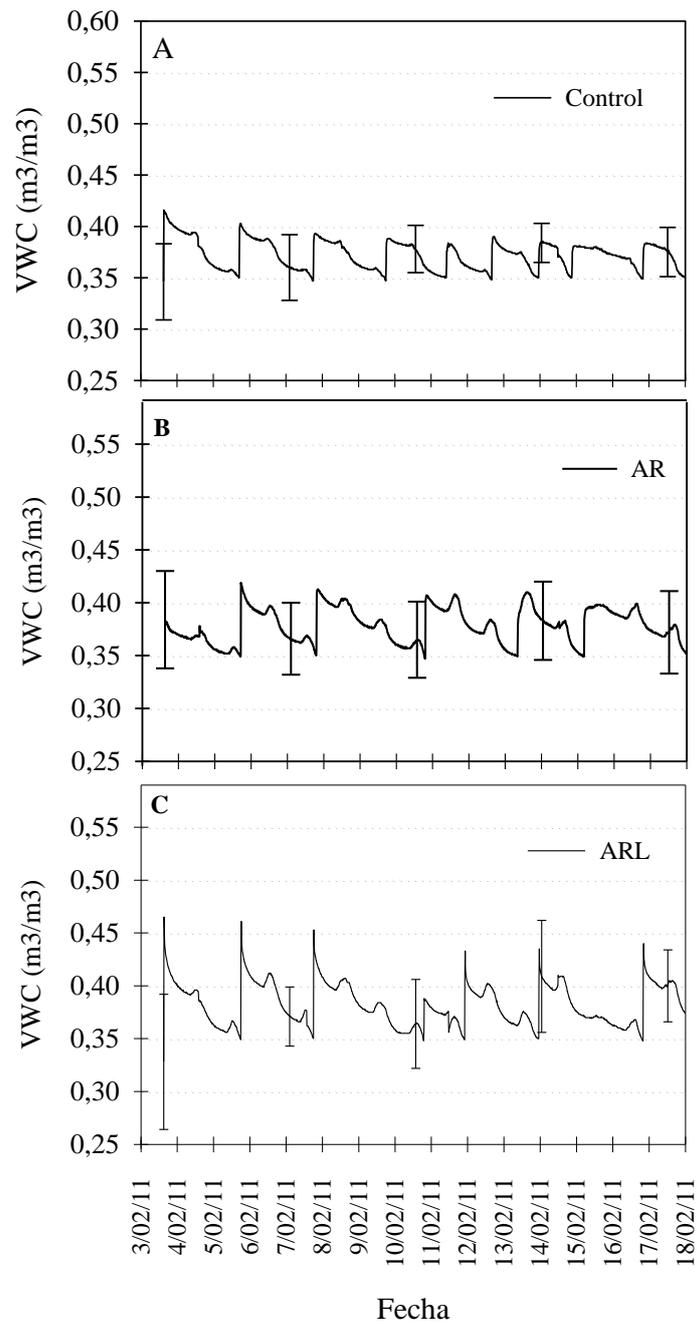


Figura 2.3.1.- Evolución del contenido volumétrico de agua en el sustrato al inicio del cultivo. 15 días de febrero. Tratamiento control (A), tratamiento agua residual (B) y tratamiento agua residual con lavado (C). Los datos son la media de 4 sondas, para cada tratamiento.

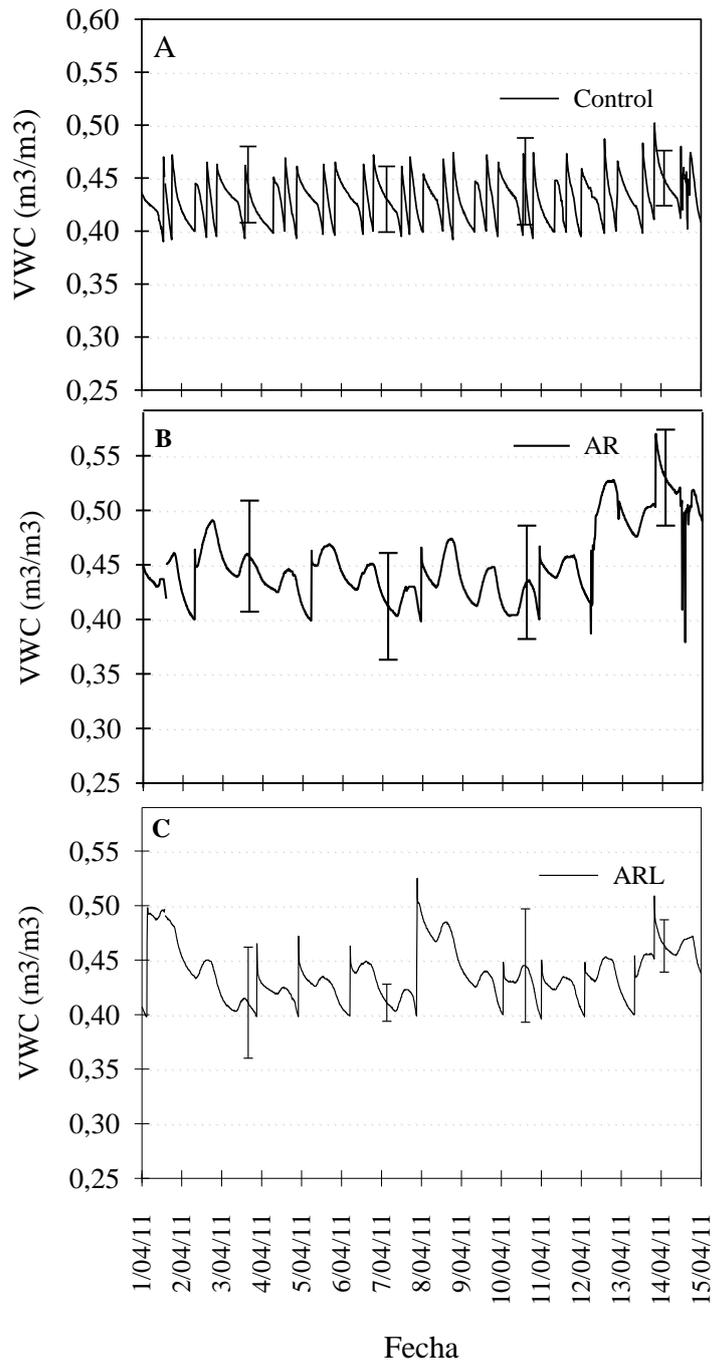


Figura 2.3.2.- Evolución del contenido volumétrico de agua en el sustrato a finales del cultivo, 15 días representativos en abril. Tratamiento control (A), tratamiento agua residual (B) y tratamiento agua residual con lavado (C). Los datos son la media de 4 sondas, para cada tratamiento.

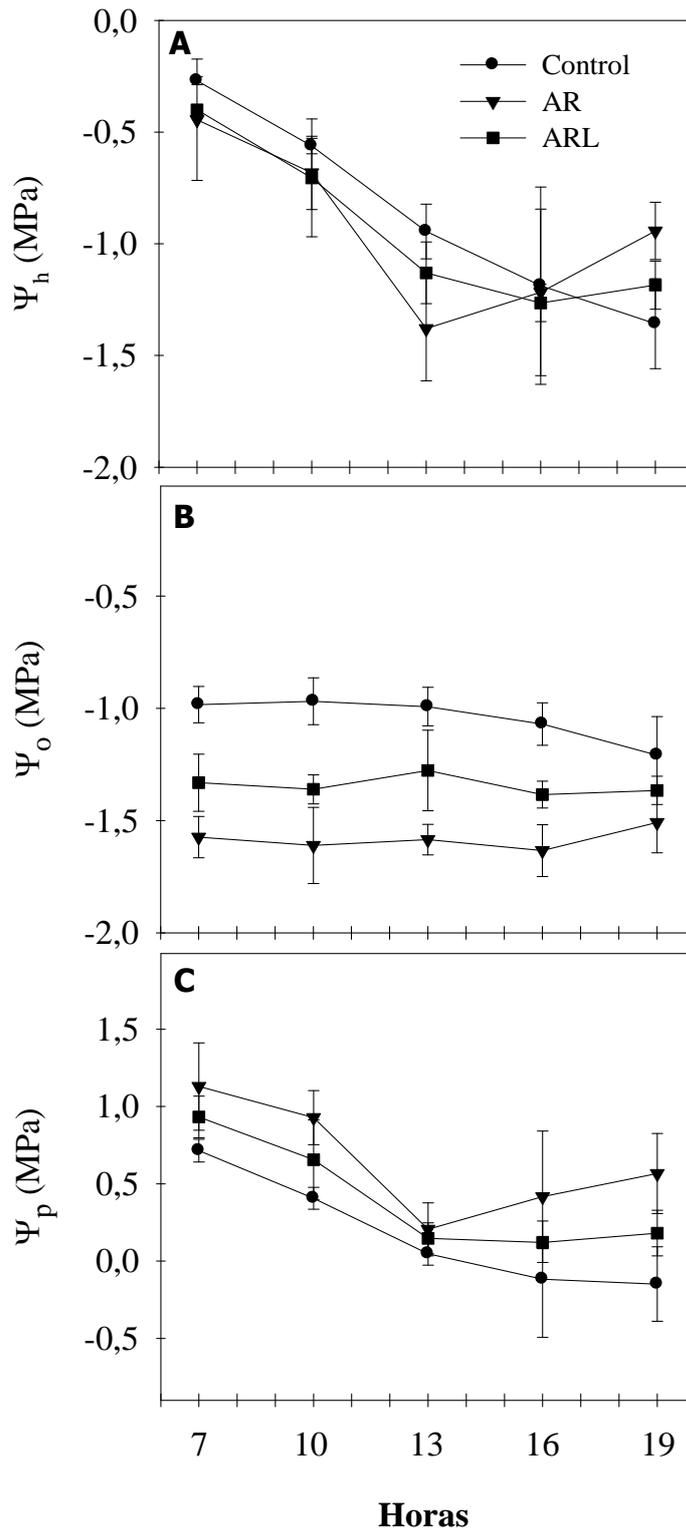


Figura 2.3.3.- La evolución de las relaciones hídricas de un día al final del experimento en *Hydrangea macrophylla* Thunb. 'Leuchtfleur'. Efectos de los tratamientos en el potencial hídrico (A), el potencial osmótico (B) y potencial de presión (C). Los datos son medias ($n = 5$) \pm ES (barras verticales).

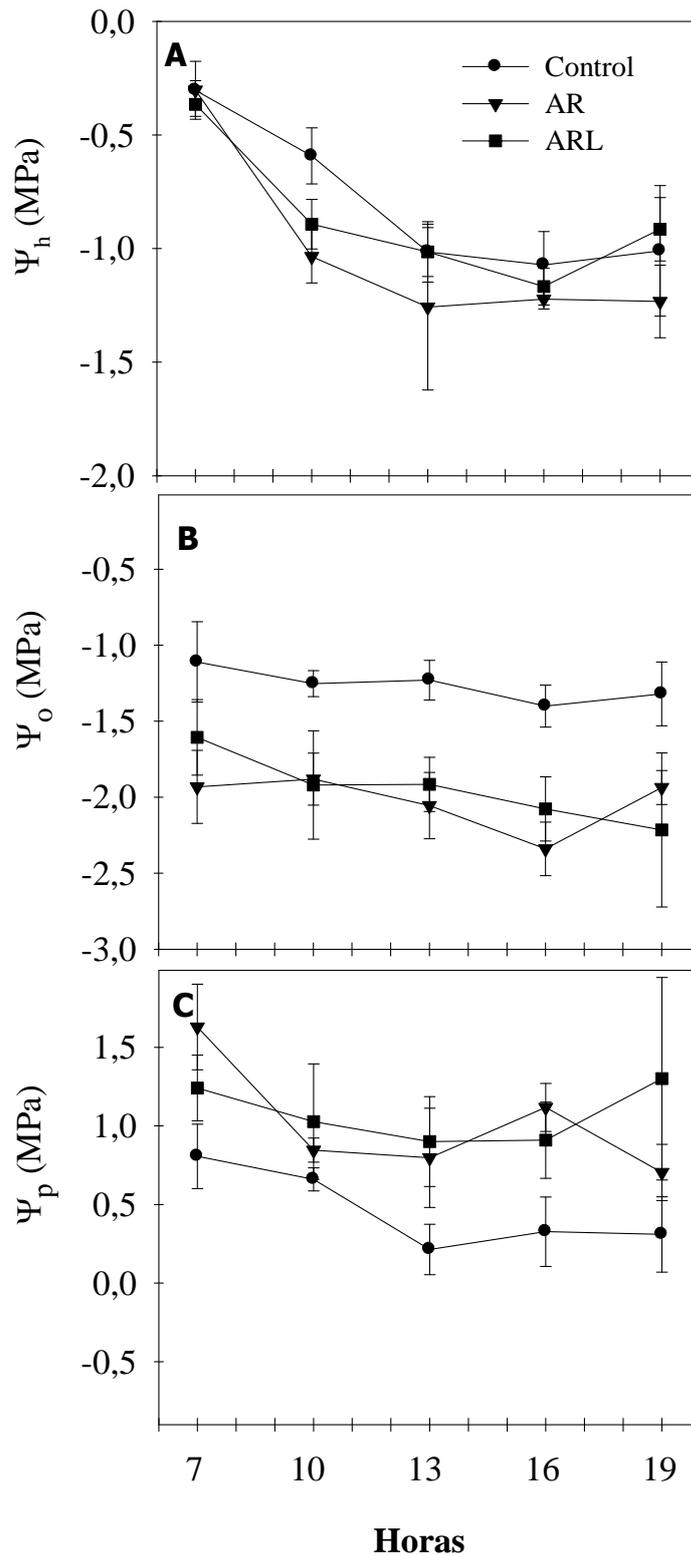


Figura 2.3.4.- La evolución de las relaciones hídricas de un día al final del experimento en *Hydrangea macrophylla* Thunb. 'Wudo'. Efectos de los tratamientos en el potencial hídrico (A), el potencial osmótico (B) y potencial de presión (C). Los datos son medias ($n = 5$) \pm ES (barras verticales).

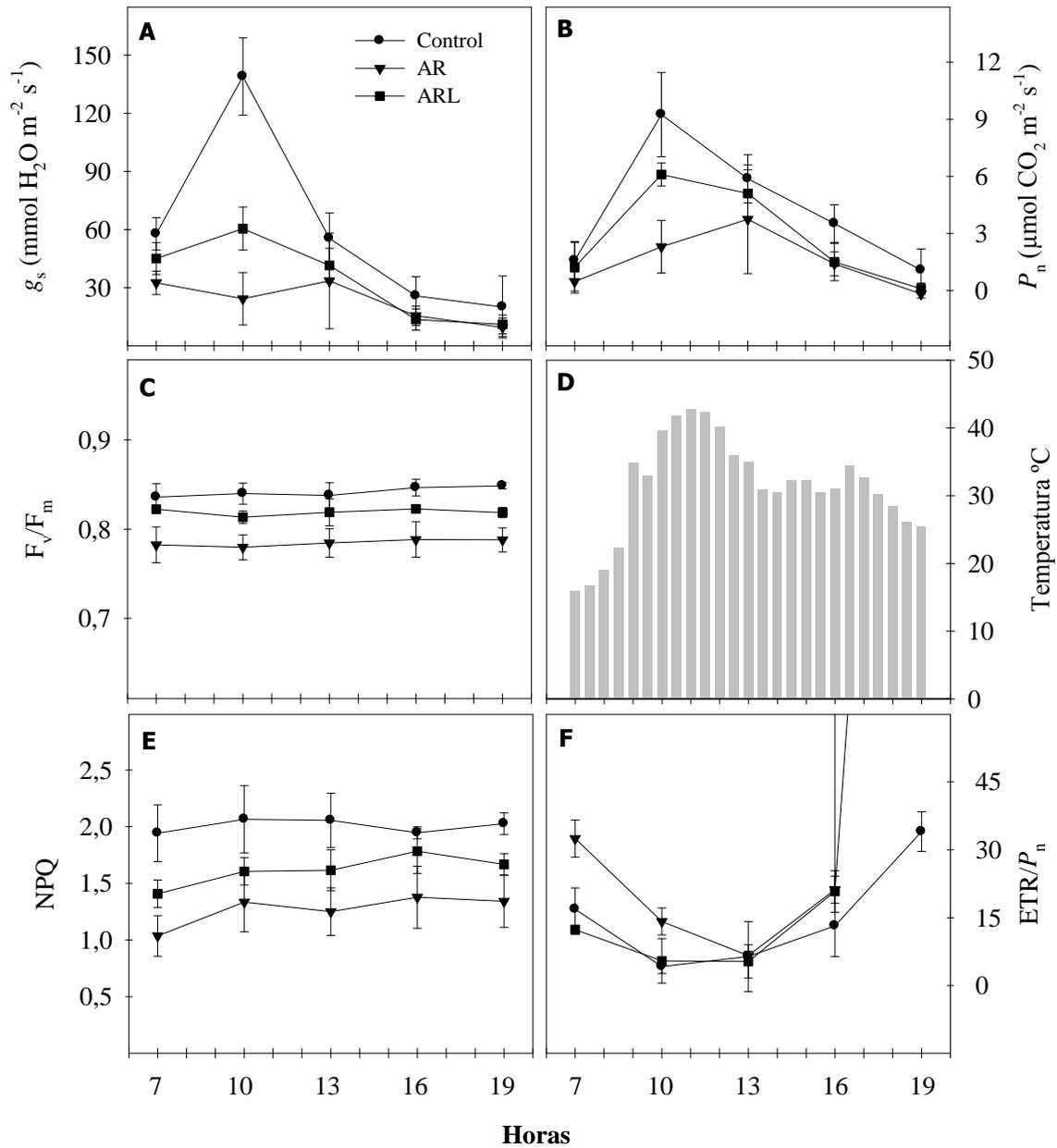


Figura 2.3.5.- La evolución del intercambio gaseoso, y los parámetros fotoquímicos a lo largo de un día al final del experimento en *Hydrangea macrophylla* Thunb. 'Leuchtfeuer'. Efectos de los tratamientos en la conductancia estomática (A), la fotosíntesis neta (B), F_v/F_m (C), temperatura diaria (D), NPQ (E), la relación de transporte de electrones tasa aparente / la fotosíntesis neta (H). Los datos son medias ($n = 5$) \pm ES (barras verticales).

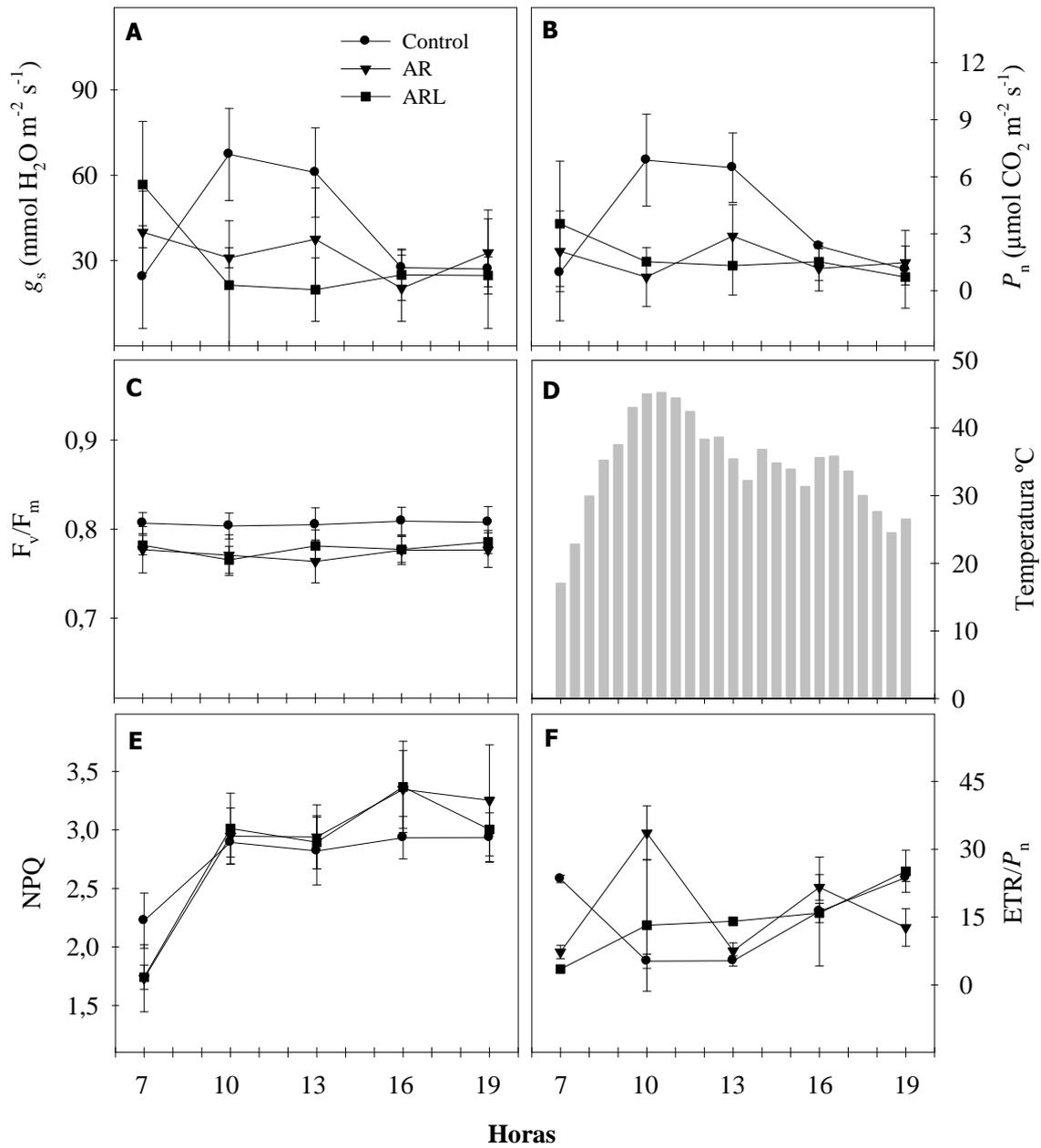


Figura 2.3.6.- La evolución del intercambio gaseoso, y los parámetros fotoquímicos a lo largo de un día al final del experimento en *Hydrangea macrophylla* Thunb. 'Wudo'. Efectos de los tratamientos en la conductancia estomática (A), la fotosíntesis neta (B), F_v/F_m (C), temperatura diaria (D), NPQ (E), la relación de transporte de electrones tasa aparente / la fotosíntesis neta (H). Los datos son medias ($n = 5$) \pm ES (barras verticales).

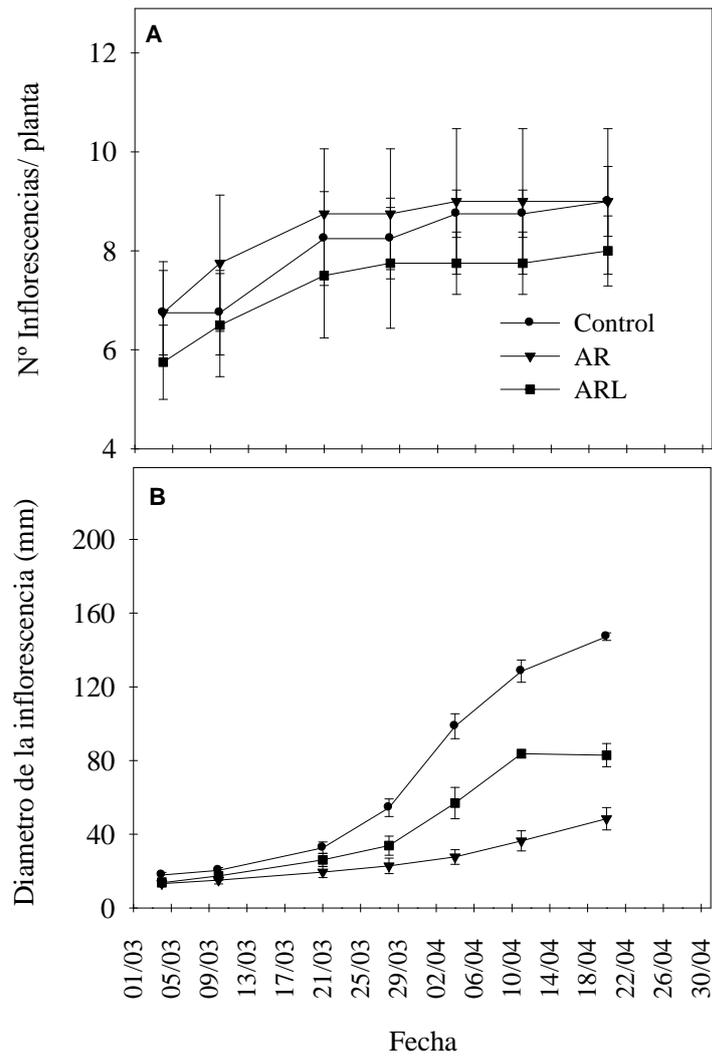


Figura. 2.3.7.- Evolución del número de inflorescencias por planta (A) y del tamaño de inflorescencia (B) durante la floración en *Hydrangea macrophylla* Thunb. 'Leuchtfeuer'. Los datos son medias ($n = 5$) \pm ES (barras verticales).

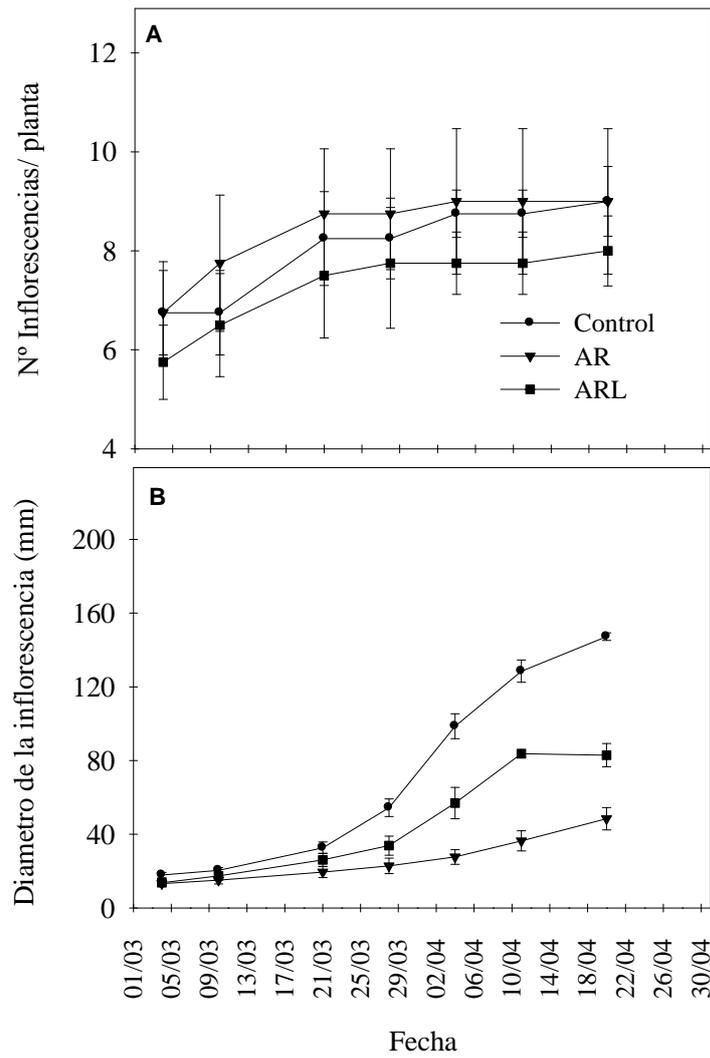


Figura 2.3.8.- Evolución del numero de inflorescencias por planta (A) y del tamaño de inflorescencia (B) durante la floración en *Hydrangea macrophylla* Thunb. 'Wudo'. Los datos son medias ($n = 5$) \pm ES (barras verticales).



Foto 2.3.1.- Reducción del crecimiento al final del ensayo en variedad rosa.
De izquierda a derecha: Control, ARL y AR.



Foto 2.3.2.- Reducción del crecimiento al final del ensayo, variedad blanca.
De izquierda a derecha: Control, ARL y AR.



Foto 2.3.3- Comparación del diámetro de los sépalos entre una planta control y AR.



Foto 2.3.4- Clorosis en hortensia blanca, la foto de la izquierda es una planta AR y la otra una control el día 18 de marzo de 2011.



Foto 2.3.5.- Estado de las hortensias rosas el día 18 de marzo de 2011.



Foto 2.3.6.- Diferencia de inflorescencias al final del cultivo; Control, ARL y AR.

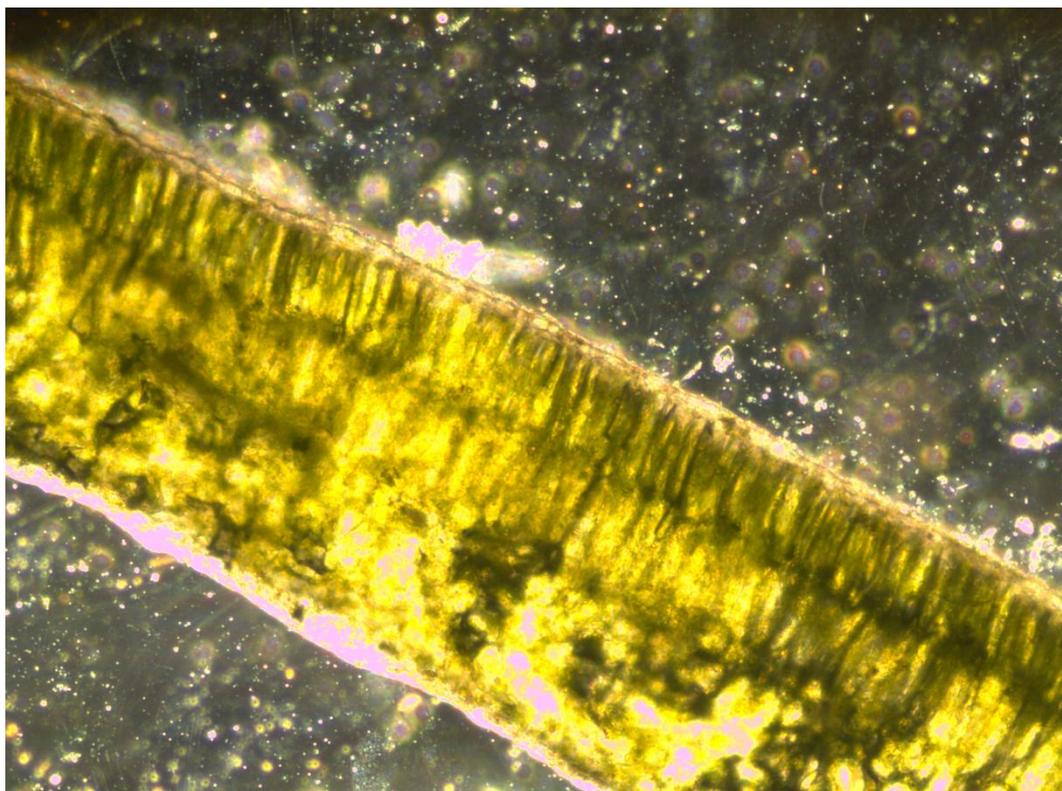


Foto 2.3.7.-Sección transversal de una hoja. Tratamiento AR.



Foto 2.3.8.- Diferencia de crecimiento entre el tratamiento control (izquierda) y AR el 28 de febrero de 2011.



Foto 2.3.9.- Clorosis en las hojas de la variedad blanca (izquierda) y necrosis apical en la variedad rosa.



Foto 2.3.10.- Curvatura de las hojas en la variedad blanca.

Conclusiones

2.4.-CONCLUSIONES

A la vista de nuestros resultados podemos concluir que las plantas de hortensias fueron bastante sensibles al agua residual depurada de 6 dS m^{-1} , reduciendo fuertemente su valor comercial.

La salinidad redujo el crecimiento de las plantas, dando lugar a plantas más pequeñas con quemaduras en hojas y/o clorosis.

Bajo un punto de vista fisiológico, el agua residual salina afectó negativamente a los parámetros de intercambio gaseoso, causando daños en el aparato fotosintético, y el lavado (ARL) permite a las plantas mejorar estos aspectos.

Respecto al consumo de agua, los tratamientos de aguas residuales produjeron un menor consumo total, mientras que la EUA fue menor en la variedad rosa debido a que el crecimiento de la planta se vio fuertemente afectado, y en la blanca mayor.

Las dos variedades presentaron daños salinos diferentes: la variedad rosa tiende a tener zonas necróticas o quemadas, mientras que la blanca expresa más una clorosis foliar y curvamiento del limbo. La rosa tiene un mayor crecimiento y precocidad de floración que la blanca.

La variedad blanca presentó una mayor capacidad de acumular iones salinos en sus tejidos foliares que la rosa.

El tratamiento ARL mejoró algunos de estos aspectos, pero no lo suficiente para recuperar el valor comercial de las plantas. El lavado fue más efectivo en la variedad rosa que en la blanca.

Posiblemente, con una fracción de lavado mayor (más de volumen y/o más frecuencia) o una calidad de las aguas residuales algo menos severa (menor CE) o mucho mejor la combinación de ambos aspectos, harían posible la producción de hortensias de calidad bajo agua residual salina.

Referencias

2.5.- REFERENCIAS

- Arena, C., Vitale, L., Virzo De Santo, A., 2008. Photosynthesis and photoprotective strategies in *Laurus nobilis* L. and *Quercus ilex* L. under summer drought and winter cold. *Plant Biosyst.* 142, 472-479.
- Azza Mazher, AM., Fatma EL-Quensi E.M, Farahat, M.M., 2007. Responses of ornamental plants and woody trees to salinity. *World J.Agric. Sci.* 3, 386-395.
- Bañón, S., Ochoa, J., Franco, J.A., Alarcón, J.J., Sánchez-Blanco, M.J., 2005. Hardening of oleander seedlings by deficit irrigation and low air humidity. *Environ. Expt. Bot.* 56, 36-43.
- Bañón, S., Miralles, J., Ochoa, j., Franco, J.A., Sánchez-Blanco, M.J., 2011. Effects of diluted and undiluted treated wastewater on the growth, physiological aspects and visual quality of potted lantana and polygala plants. *Scientia Horticulturae* 129, 869–876.
- Batanoumy, K.H., 1996. Ecophysiology of halophytes and their traditional use in the Arab world. *Halophytes and Biosaline Agriculture* 31-53.
- Boughalleb, F., Denden, M., Tiba, B., 2009. Anatomical changes induced by increasing NaCl salinity in three fodder shrubs, *Nitraria retusa*, *Atriplex halimus* and *Medicago arborea*. *Physiologiae Plantarum* 31, 947-960.
- Burnett, S.E., van Iersel, M.W., 2008. Morphology and irrigation efficiency of *Gaura lindheimeri* grown with capacitance sensor-controlled irrigation. *HortScience* 43, 1555-1560.
- Chaiprapat, S., Sdoodee, S., 2007. Effects of wastewater recycling from natural rubber smoked sheet production on economic crops in southern Thailand. *Resources, Conservation and Recycling* 51, 577–590.
- Ferguson, L., Grattam, S.R., 2005. How salinity damages citrus: Osmotic effects and specific ion toxicities. *Hort Tech* 15, 95-99.

- Fornes, F., Belda, R., Carrión, C., Noguera, V., García-Agustín, P., Abad, M., 2007. Pre-conditioning ornamental plants to drought by means of saline water irrigation as related to salinity tolerance. *J. Hort. Sci.* 113, 52-59.
- Grattan, S.R., Grieve, C.M., 1999. Salinity-mineral nutrient relations in horticultural crops. *Scientia Horticulturae* 78, 127–157.
- Gori, R., Lubello, C., Ferrini, F., Nicese, F.P., Coppini, E., 2008. Reuse of industrial wastewater for the irrigation of ornamental plants. *Water Science and Technology* 57 , 883-889.
- Harry. A., Benton, J.Jr., 1996. *Plant Analysis Handbook II*. Micro Macro Publishing Inc. Georgia, USA.
- Ibrahim, K.M., Collins, J.C., Collin, H.A., 1991. Effects of salinity on growth and ionic composition of *Coleus blumei* and *Salvia splendens*. *J. Hort. Sci.* 66, 215-222.
- Karlberg, L., Ben-Gal, A., Jansson, P.-E., Shani, U., 2006. Modelling transpiration and growth in salinity-stressed tomato under different climatic conditions. *Ecol. Model.* 190, 15-40.
- Longstreth, D.J., Bolanos, J.A., Smith, J.E., 1984. Salinity effects on photosynthesis and growth in *Alternanthera philoxeroides*. *Plant Physiol.*, 75 1044–1047.
- Maxwell, K. Johnson, G.N., 2000. Chlorophyll fluorescence a practical guide. *J. Exp. Bot.* 51, 659-668.
- Miralles, J., van Iersel, M.W., 2011. A calibrated TDT soil moisture sensor can be used for precise automated irrigation of container-grown Plants. *HortScience* 46, 889-894.
- Munns, R., 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell Environ.* 25, 239-250.
- Munns, R., Tester, M., 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Ann. Rev. Plant Biol.* 59, 651-681.

- Navarro, A., Bañon, S., Olmos, E., Sánchez-Blanco, M.J., 2007. Effects of sodium chloride on water potential components, hydraulic conductivity, gas Exchange and leaf ultrastructure of *Arbutus unedo* plants. *Plant Sci.* 172, 473-480.
- Nemali, K.S., van Iersel, M.W., 2006. An automated system for controlling drought stress and irrigation in potted plants. *Sci. Hort.* 110, 292-297.
- Nemali, K.S., Montesano, F., Dove, S.K., van Iersel, M.W., 2007. Calibration and performance of moisture sensors in soilless substrates: ECH2O and Theta probes. *Sci. Hort.* 112, 227-234.
- Nieman R.H., Clark, R.A., 1976. Interactive effects of salinity and phosphorus nutrition on the concentrations of phosphate and phosphate esters in mature photosynthesizing corn leaves. *Plant Physiol.* 57, 157-161.
- Niu, G., Rodriguez, D.S., Aguiniga, L., 2008. Effect of saline water irrigation on growth and physiological responses of three rose rootstocks. *Hortscience* 43, 1479-1484.
- Percival, G.C., 2005. Identification of foliar salt tolerance of woody perennials using chlorophyll fluorescence. *Hortscience* 40, 1892-1897.
- Qian, Y.L., Fu, J.M., Klett, J., Newman, S.E., 2005. Effects of long-term recycled wastewater irrigation on visual quality and ion concentrations of ponderosa pine. *Journal of Environmental Horticulture* 23, 185–189.
- Sheng, M., Tang, M., Chen, H., Yang, B., Zhang, F., Huang, Y., 2008. Influence of arbuscular mycorrhizae on photosynthesis and water status of maize plants under salt stress. *Mycorrhiza* 18, 287–296.
- Scholander, P.F., Hammel, H.T., Bradstreet, E.D., Hemingsen, E.A., 1965. Sap pressure in vascular plants. *Science* 148, 339–346.
- Schroeder, J.I., Ward, J.M., Grassman, W., 1994. Perspectives on the physiology and structure of inward-rectifying K⁺ channels in higher plants: biophysical implications for K⁺ uptake. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 23, 441-471.

- Slama, F., 1986. Intervention des racine dans la sensibilité ou la tolerance à NaCl de plantes cultivées. *Agronomie*. 6, 651-658.
- Song, J., Chen, M., Feng, G., Jia, Y., Wang, B., Zhang, F., 2009. Effect of salinity on growth, ion accumulation and the roles of ions in osmotic adjustment of two populations of *Suaeda salsa*. *J. Plant Soil*. 314, 133-141.
- Tenhunen, J.D., Sala Serra, A., Harley, P.C., Dougherty, R.L., Reynolds, J.F., 1990. Factors influencing carbon fixation and water used by mediterranean sclerophyll shrubs during summer drought. *Oecologia* 82, 381-393.
- Torrecillas, A., Rodríguez, P., Sánchez-Blanco, M.J., 2003. Comparison of growth, leaf water relations and gas Exchange of *Cistus albidus* and *C. monspeliensis* plants irrigated with water of different NaCl salinity levels. *Scientia Hort.* 97, 353-368.
- Turner, N.C., 1988. Measurement of plant water status by the pressure chamber technique. *Irrig. Sci.* 9, 289-308.
- Willadino, L.G., Câmara, T.R., 2005. Aspectos fisiológicos do estresse salino em plantas. In: Nogueira, R.J.M.C., Araújo, E.L., Willadino, L.G., Cavalcante, U.M.T. (Eds.), *Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas*. UFRPE, Imprensa Universitária, Recife, pp. 118-126.
- Wyn jones, R.G., Gorham, J., 1983. Osmoregulation. En: *Encyclopedia of Plant Physiology*, vol. 12C. *Physiological Plant Ecology III* (O.L. Lange, P.S. Nobel, C.B. Osmond, H. Ziegler, eds) Springer-Verlag, Berlin, p. 35-58.
- Zekri, M., 1991. Effects of NaCl on growth and physiology of sour orange and Cleopatra mandarin seedlings. *Science Hortic.* 47, 305-315.
- Zollinger, N., Koenig, R., Cerny-Koenig, T., Kjelgren, R., 2007. Relative salinity tolerance of intermountain western United States native herbaceous perennials. *Hortscience* 42, 529–534.
- Zurayk, R., Tabbarah, D., Banbukian, L., 1993. Preliminary studies on the salt tolerance and sodium relations of common ornamental plants. *J. Plant Nutr.* 16, 1309-1316.

Anexos

6.- ANEXOS

6.1.- Programa CR1000

```
'CR1000
'Program name: hortensia.CR1
'Date written: 14/04/2011
'Author: Raquel Valdes
'*****
***
'General description:
'This program is being use for the monitoring and irrigation control of a ten solenoid
valv
'The treatment will be irrigated the same amount of time for all.
'The set point To be irrigated will be 0.40 m3m-3 of VWC.
'There are five treatments:
'T1: Treatment with waste water and 15% of leaching with a washing irrigation of 50% of
le
'T2: Treatment with waste water and 15% of leaching with a washing irrigation of 50% of
le
'T3: Treatment with waste water and 15% of leaching with a washing irrigation of 50% of
le
'T4: A control with leaching of 15% and waste water
'T5: A control with leaching of 15% and good water
'*****
***
'Wiring and sensors:
' SDMDC16d 1 CR1000, , 20 EC-5 H20 soil moisture se
' EC-5 H20 (example four pr
' H1 Red wire (prob
' L1 Red wire (prob
' ground-lll Bare wire (the f
' 2H Red wire (probe
' L2 Red wire (prob
' VEX1 white wire (the fo
' ground-G ground-G
' ground-G ground-G
' 12V 12V
' C1 C1
' C2 C2
' C3 C3
'*****
***
'Error sequences are provided.
'There are three LEDs which have a single flashing every 10 seconds if everything is
right.
'LED 1 have a 4 seconds extra light if an sensor fails and this is automatically solved
whe
'LED 2 have a 5 seconds extra light if LED 1 register a problem. So you should verify
the d
' everything works. After verifying you can reset it wifh flag(1)=0 in the screen
'Declare Public variables
Public Batt_Volt
Public VWC(20)
Public VWCS1
Public VWCS2
Public VWCS3
Public VWCS4
Public VWCS5
Public STVWCS1
Public STVWCS2
Public STVWCS3
Public STVWCS4
Public STVWCS5
Public irricount(5)
Public Flag(1)
Public frec(3)
Public lavcount(3)
Public soplante(2)
Public PAR
Public DLI
Public arreglo
Public tomadato
```

```

Public metedato
'Declare Dim variables
Dim i,j,l,m,s,t
Dim nowerror(2)
Dim preverror
Dim LED(20)
Dim lavado(3)
Dim residual(5)
Dim sdm16 (16)
'Declare constants
Const lavado1=9
Const lavado2=6
Const lavado3=3
'Declare units
Units Batt_Volt=V
Units VWC(20)=m3m-3
Units VWCS1=m3m-3
Units VWCS2=m3m-3
Units VWCS3=m3m-3
Units VWCS4=m3m-3
Units VWCS5=m3m-3
Units PAR=umolm-2s-1
Units DLI=molm-2s-1
'Data tables
'Store evolution of VWC and Temp every 10 minutes and determine average per treatment
and s
DataTable(raw,true,-1)
DataInterval(0,10,Min,10)
Sample(20,VWC(1),FP2)
Sample(1,VWCS1,FP2)
Sample(1,STVWCS1,FP2)
Sample(1,VWCS2,FP2)
Sample(1,STVWCS2,FP2)
Sample(1,VWCS3,FP2)
Sample(1,STVWCS3,FP2)
Sample(1,VWCS4,FP2)
Sample(1,STVWCS4,FP2)
Sample(1,VWCS5,FP2)
Sample(1,STVWCS5,FP2)
EndTable
'Store the number of irrigation events
DataTable(daily,true,-1)
DataInterval(0,24,Hr,10)
Sample(5,irricount(),FP2)
Sample(3,frec(),FP2)
Sample(3,lavcount(),FP2)
Average(1,VWCS1,FP2,False)
Average(1,VWCS2,FP2,False)
Average(1,VWCS3,FP2,False)
Average(1,VWCS4,FP2,False)
Average(1,VWCS5,FP2,False)
Minimum(1,VWCS1,FP2,False,False)
Minimum(1,VWCS2,FP2,False,False)
Minimum(1,VWCS3,FP2,False,False)
Minimum(1,VWCS4,FP2,False,False)
Minimum(1,VWCS5,FP2,False,False)
Maximum(1,VWCS1,FP2,False,False)
Maximum(1,VWCS2,FP2,False,False)
Maximum(1,VWCS3,FP2,False,False)
Maximum(1,VWCS4,FP2,False,False)
Maximum(1,VWCS5,FP2,False,False)
Maximum(1,PAR,FP2,False,False)
Totalize(1,DLI,FP2,False)
EndTable
DataTable(puntual,true,-1)
DataInterval(0,10,Sec,10)
Sample(5,irricount(),FP2)
Sample(3,frec(),FP2)
Sample(3,lavcount(),FP2)
EndTable
'//////////////////// SUBROUTINES //////////////////////////////////////
'no subroutines in this program
'//////////////////// PROGRAM //////////////////////////////////////
BeginProg
'Do the program every 10 minutes
Scan(10,Min,0,0)
'Show the battery voltage

```

```

Battery(Batt_Volt)
'measure with a half bridge instruction.
'turn on multiplexer (Res)(Control port 4 high)already set at 4x16 mode
PortSet(4, 1)
'make a 150 miliseconds delay
Delay(0,150,MSEC)
'make a loop for sensor 1 to 18, use a step of 3 so, each step measures 3 sensors at th
'consecutive measurements, so step 1 will store VWC(1 to 3), step 2 which i=4 will stor
For i = 1 To 18 Step 3
'Pulse control port 5 (clck)
PulsePort(5,10000)
'make a 10 miliseconds delay
Delay(0,10,MSEC)
'measure with a half bridge instruction.
BrHalf(VWC(i), 3, mV2500, 1, VX1, 3, 2500, False, 10000,_50Hz, 4.487,-0.482)
Next i
'Measure the last two sensors with a final pulse, in case the number were a multiplier
'be necessary
PulsePort(5,10000)
Delay(0,10,MSEC)
BrHalf(VWC(19), 2, mV2500, 1, VX1, 2, 2500, False, 10000,_50Hz,4.487,-0.482)
'Turn off multiplexer
PortSet(4, 0)
'Do a 150 miliseconds delay
Delay(0,150,MSEC)
'Calculate the average of VWC of the treatment
AvgSpa(VWCS1,4,VWC(1))
AvgSpa(VWCS2,4,VWC(5))
AvgSpa(VWCS3,4,VWC(9))
AvgSpa(VWCS4,4,VWC(13))
AvgSpa(VWCS5,4,VWC(17))
StdDevSpa(STVWCS1,4,VWC(1))
StdDevSpa(STVWCS2,4,VWC(5))
StdDevSpa(STVWCS3,4,VWC(9))
StdDevSpa(STVWCS4,4,VWC(13))
StdDevSpa(STVWCS5,4,VWC(17))
'active error in case of fail!for VWC
For l=1 To 20
If VWC(l)<-0.5 OR VWC(l)>1.10 OR VWC(l)=NAN Then LED (l)=1 Else LED(l)=0
Next l
'Calculate the spatial maximum, so if there is any error in the any probe it will activ
MaxSpa(nowerror(),20,LED(1))
'Use these error in case something happened and later was solved. You can reset it puti
'the flag(1)low in the screen
If flag(1)=0 Then preverror=nowerror
If nowerror(1)=1 Then flag(1)=1
VoltDiff (PAR,1,mV2500,3,True ,0,_50Hz,5,0)
DLI=PAR*60*10*0.001*0.001
CallTable (raw)
CallTable (daily)
NextScan
SlowSequence
Scan(10,sec,0,0)
If arreglo=1 Then
PortSet(4, 1)
'make a 150 miliseconds delay
Delay(0,150,MSEC)
'make a loop for sensor 1 to 18, use a step of 3 so, each step measures 3 sensors at
'consecutive measurements, so step 1 will store VWC(1 to 3), step 2 which i=4 will st
For i = 1 To 18 Step 3
'Pulse control port 5 (clck)
PulsePort(5,10000)
'make a 10 miliseconds delay
Delay(0,10,MSEC)
'measure with a half bridge instruction.
BrHalf(VWC(i), 3, mV2500, 1, VX1, 3, 2500, False, 10000,_50Hz, 4.487,-0.482)
Next i
'Measure the last two sensors with a final pulse, in case the number were a multiplie
'be necessary
PulsePort(5,10000)
Delay(0,10,MSEC)
BrHalf(VWC(19), 2, mV2500, 1, VX1, 2, 2500, False, 10000,_50Hz,4.487,-0.482)
'Turn off multiplexer
PortSet(4, 0)
'Do a 150 miliseconds delay
Delay(0,150,MSEC)
EndIf

```

```

If tomadato=1 Then
CallTable(puntual)
tomadato=0
EndIf
'Turn on irrigation when VWC is below 30% T1
If TimeIntoInterval (0,3600,sec) Then
If VWCS1 < 0.40 Then
If frec(1)=lavado1 Then
lavado(1)=1
frec(1)=0
Else
residual(1)=1
EndIf
EndIf
irricount(1)=residual(1)+lavado(1)+irricount(1)
frec(1)=frec(1)+residual(1)
lavcount(1)=lavado(1)+lavcount(1)
EndIf
If TimeIntoInterval(530,3600,sec) Then residual(1)=0
If TimeIntoInterval(1700,3600,sec) Then lavado(1)=0
' T2
If TimeIntoInterval (0,3600,sec) Then
If VWCS2 < 0.40 Then
If frec(2)=lavado2 Then
lavado(2)=1
frec(2)=0
Else
residual(2)=1
EndIf
EndIf
irricount(2)=residual(2)+lavado(2)+irricount(2)
frec(2)=frec(2)+residual(2)
lavcount(2)=lavado(2)+lavcount(2)
EndIf
If TimeIntoInterval(530,3600,sec) Then residual(2)=0
If TimeIntoInterval(1700,3600,sec) Then lavado(2)=0
' T3
If TimeIntoInterval (0,3600,sec) Then
If VWCS3 < 0.40 Then
If frec(3)=lavado3 Then
lavado(3)=1
frec(3)=0
Else
residual(3)=1
EndIf
EndIf
irricount(3)=residual(3)+lavado(3)+irricount(3)
frec(3)=frec(3)+residual(3)
lavcount(3)=lavado(3)+lavcount(3)
EndIf
If TimeIntoInterval(530,3600,sec) Then residual(3)=0
If TimeIntoInterval(1700,3600,sec) Then lavado(3)=0
' T4
If TimeIntoInterval (0,3600,sec) Then
If VWCS4 < 0.40 Then
residual(4)=1
irricount(4)=residual(4)+irricount(4)
EndIf
EndIf
If TimeIntoInterval(530,3600,sec) Then residual(4)=0
' T5
If TimeIntoInterval (0,3600,sec) Then
If VWCS5 < 0.40 Then
residual(5)=1
irricount(5)=residual(5)+irricount(5)
EndIf
EndIf
If TimeIntoInterval(530,3600,sec) Then residual(5)=0
'create variables to control de SDMCD16D
sdml6(1)=residual(1)
sdml6(2)= lavado(1)
sdml6(3)=residual (2)
sdml6(4)= lavado(2)
sdml6(5)=residual(3)
sdml6(6)= lavado(3)
sdml6(7)=residual(4)
sdml6(8)= 0

```

```

sdm16(9)=residual(5) 'agua buena
sdm16(10)= 0
MaxSpa(soplante(),10,sdm16(1))
If soplante(1)=1 Then
sdm16(11)=1
Else
sdm16(11)=0
EndIf
If metedato=1 Then
For s=1 To 5
irricount(s)=puntual.irricount(s,1)
Next
For t=1 To 3
frec(t)=puntual.frec(t,1)
lavcount(t)=puntual.lavcount(t,1)
Next
EndIf
NextScan
'This comand allows to do a sequence independently from previous, but has to be a
multipl
SlowSequence
'This scan every 10 seconds for the fashing LEDs
Scan(1,Sec, 0, 0)
'if no errors, one two seconds flashing every ten seconds
If TimeIntoInterval(0,10,sec) Then
sdm16(12)=1
sdm16(13)=1
EndIf
If TimeIntoInterval(2,10,sec) Then
sdm16(12)=0
sdm16(13)=0
EndIf
'if errors, after the two seconds flashing, the light is kept for 4, 5 and 6 seconds
If nowerror(1)= 1 Then
If TimeIntoInterval(6,10,sec) Then sdm16(12)=1
If TimeIntoInterval(9,10,sec) Then sdm16(12)=0
EndIf
If preverror=1 Then
If TimeIntoInterval(5,10,sec) Then sdm16(13)=1
If TimeIntoInterval(9,10,sec) Then sdm16(13)=0
EndIf
SDMCD16AC(sdm16(),1,0)
NextScan
EndProg

```

