ENSAYO PARA LA MEJORA DE ESTRESES ABIÓTICOS Y BIÓTICOS CON TIERRA DE DIATOMEAS

Datos del Cliente

Nombre: ECOTIERRA DE DIATOMEAS
Localización: Granada
Persona Contacto: Jacob Fernández

Datos del Ensayo

Descripción: Evaluar la eficacia de la aplicación tierra de diatomeas sobre la fertilización, estrés biótico y abiótico
Tratamientos: 2 tratamientos
Planta de Cultivo: Tomate (variedad Mina) y Lechuga Romana
Condiciones de Crecimiento: Maceta individual - Invernadero

Responsable Estudio: InnoPlant (Eva Sánchez Rodríguez)

Fechas

Aplicación tratamientos: 27/03/20; 03/04/20
Muestreo o Recogida de Plantas: 17/04/20
Entrega de Informe: 20/05/2020

CONDICIONES DEL ENSAYO

INTRODUCCIÓN

La Tierra de Diatomeas (TD) es un mineral de origen vegetal constituido por algas unicelulares, cuyas funciones principales en la agricultura son nutrir el suelo y con ello las plantas debido a su elevada composición en minerales y micronutrientes vitales para el metabolismo de los tejidos vegetales y su papel como biocida, insecticida y fungicida vegetal. Tiene un origen vegetal, por lo que se trata de un producto seguro, natural e inocuo, resultando inofensivo para el medio ambiente ya que no presenta ningún tipo de toxicidad a diferencia de los pesticidas químicos tradicionales.

El principal componente de la tierra de diatomeas es el dióxido de silicio, un compuesto con actividad biocida. Este compuesto ejerce su acción de manera física, a través del tubo digestivo o por deshidratación. No genera resistencia en los microorganismos o insectos y es completamente biodegradable, son dos de sus características más llamativas, además de ser un buen fertilizante, ya que nutre las plantas debido a la elevada cantidad de minerales y macronutrientes que lo componen (Imagen 1).

Imagen 1. Eco Tierra de Diatomeas, producto con el que se ha realizado el ensayo.

Entre las funciones del **dióxido de silicio** en plantas destacan las siguientes:

- Induce la resistencia de diferentes cultivos.
- Protección contra diversos factores ambientales bióticos y abióticos.
- Resistencia a plagas (hongos e insectos) y enfermedades.
- Acumulación de compuestos fenólicos: lignina y fitoalexinas.
- Aumento de la síntesis de peroxidasa, polifenoloxidasa, glucanasa y quitinasas.
- Aumento en la producción de quinonas y ROS.
- Mayor lignificación de los tejidos.
- Disminución de la digestibilidad en los insectos.
- Incrementa la productividad y calidad de las cosechas agrícolas.
- Mejora la absorción del P e incrementa su eficiencia.
- Reduce la lixiviación de P, N y K y restaura áreas contaminadas por metales.
- Mejora la degradación del suelo e incrementa la fertilidad.

Por lo tanto, en este ensayo se pretenden testar sus usos como fertilizante natural, protector solar (estrés abiótico), control fúngico (estrés biótico), protector frente al

estrés hídrico (estrés abiótico), encamado de los cereales y el control de plagas (estrés biótico). En la siguiente imagen podemos observar un esquema de las principales aplicaciones y propiedades de la tierra de diatomeas (Imagen 2).

Imagen 2. Aplicaciones y propiedades de la tierra de diatomeas en la agricultura.

El mecanismo de acción puede tener lugar también desde dentro de la planta, ya que el silicio aplicado reacciona con el agua transformándose en ácido monosilícico (H_4SiO_4) que se mueve rápidamente a través del xilema. Cuando la planta transpira, pierde el agua absorbida por el silicio, formando una barrera protectora de resistencia mecánica frente al ataque de enfermedades fúngicas e insectos. El silicio se acumula debajo de la cutícula de las hojas, tallos y frutos aumentando los mecanismos de defensa por medio de las fitoalexinas (compuestos antimicrobianos). En la siguiente imagen podemos observar un esquema de las principales funciones del dióxido de sílice en las plantas, componente principal de la TD (Imagen 3).

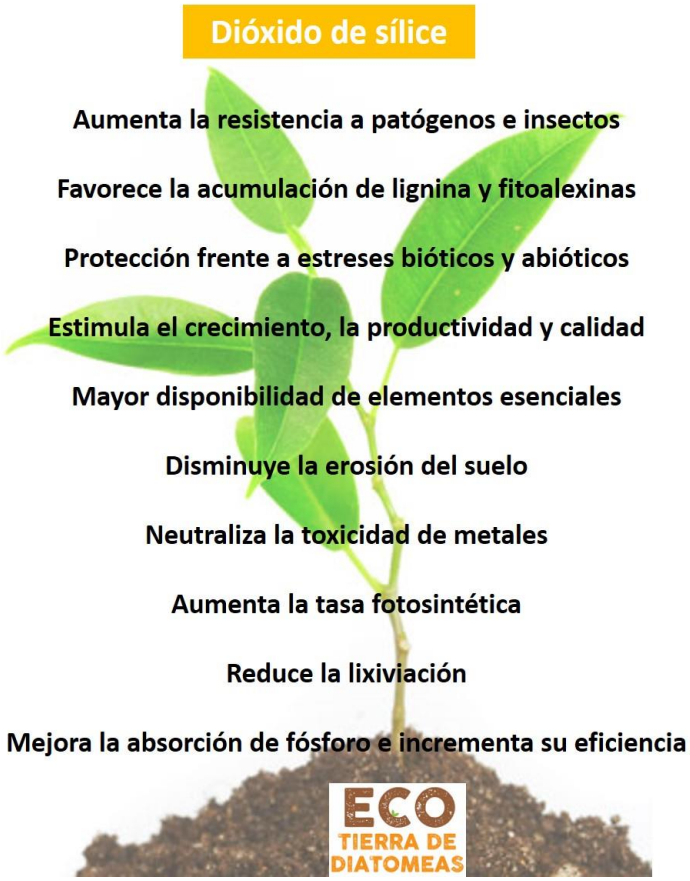


Imagen 3. Funciones del dióxido de sílice en las plantas.

La tierra de diatomeas es un **insecticida natural**, siendo efectivo con numerosas plagas como los pulgones, hormigas, chinches o cucarachas, entre otros. Diversas investigaciones indican el papel que juega el silicio en la rigidez estructural de las paredes celulares al reformar el tejido epidérmico y formar una doble capa cuticular protectora en las células epidérmicas de las hojas y raíces. Actúa como una barrera contra la invasión de parásitos y patógenos dificultando la penetración del micelio, además de aumentar la acumulación de fitolitos y la aparición de tricomas (Imagen 4). Por lo que realizaremos un ensayo para determinar su papel preventivo frente a pulgones en habas, aplicando diatomita micronizada foliar. Con respecto a los insectos, la tierra de diatomeas tiene una función abrasiva ya que rasga el exosqueleto y absorbe rodos sus fluidos hasta que mueren por deshidratación.

Análisis químico	% en peso
Dióxido de Silicio (SiO_2)	92.8
Óxido de Aluminio (AlO_3)	3.6
Óxido de Hierro (Fe_2O_3)	1.2
Óxido de Calcio (CaO)	1.2
Óxido de Sodio – Óxido de Potasio (Na_2O+K_2O)	0.6
Óxido de Magnesio (MgO)	0.4
Óxido de Titanio (TiO_2)	0.2
Pentaóxido de Difósforo (P_2O_5)	0.1

Imagen 4. Resistencia mecánica de la tierra de diatomeas para el control de plagas.

En el **control fúngico**, la diatomita presenta una incidencia favorable en cuanto a la reducción de la población de estos microorganismos. Como anteriormente se ha comentado, el silicio forma una doble capa en la cutícula impidiendo la penetración del micelio del hongo, generando una resistencia mecánica. Una de las enfermedades más comunes en la vegetación es la *Botrytis*, también conocida como podredumbre o moho gris. Esta enfermedad provocada por el hongo *Botrytis cinerea* ataca a diferentes especies, pero los cultivos hortícolas son los que se llevan la peor parte. Se caracteriza por causar necrosis en los tejidos que infecta, produciendo la muerte celular de la planta afectada, sobre todo en climas suaves con una humedad ambiental elevada.

Otro de los usos más comunes es como **fertilizante natural** para todos los tipos de cultivos, debido a su alto contenido en minerales de origen vegetal que favorece el desarrollo especialmente en fase de crecimiento. Destaca su elevado contenido en magnesio, esencial para la actividad de enzimas que participan en la síntesis de ADN, lo que se traduce en la estimulación de la división celular y crecimiento. Contiene más de 40 oligoelementos, entre los que se encuentran los 6 considerados como nutrientes principales y secundarios esenciales para la agricultura. Además, el silicio incrementa el contenido de iones, disminuye el contenido de aluminio y hierro actuando como regulador del pH del suelo por mecanismo electrostático bloqueando al Fe, Al y Mn, elementos responsables de la acidez en los suelos, permitiendo liberar al Ca, P, K, Mo, Zn, B, etc. De esta forma el sistema radical al tomar los elementos con mayor facilidad

logra aumentar la biomasa radicular de la planta, donde a mayor desarrollo del sistema radical, mayor absorción de nutrientes y por tanto mayor vitalidad y producción.

Los **estreses ambientales** como la sequía, salinidad, elevada iluminación o temperaturas extremas influyen sobre el crecimiento y la productividad de los cultivos, dañando procesos vitales como la fotosíntesis y síntesis de proteínas lo que resulta en una disminución del crecimiento y producción de biomasa entre otros. La aplicación foliar produce una capa blanca que protege a las plantas de los golpes de sol en las horas de mayor iluminación, al reflejar el espectro de los rayos infrarrojos y ultravioletas, evitando así quemaduras y daños que afectan al desarrollo de las plantas. Por lo que tiene un papel como **protector solar** en los cultivos aplicado de manera foliar.

Otra de las propiedades es la capacidad de retención de agua, por lo que reduce el **estrés hídrico**. El silicio (dióxido de silicio), el nutriente más abundante de este producto ha demostrado en diversos estudios que las plantas con deficiencias son más susceptibles de sufrir estrés hídrico. Mejora la retención del agua, manteniendo la humedad del suelo, lo que permite rentabilizar el agua de riego y aumentando la resistencia de la planta al estrés hídrico. También ayuda a retener nutrientes y permite una mejor oxigenación del sustrato.

Los cereales son herbáceos que comprenden especies como el trigo, cebada, maíz, arroz y avena entre otros, caracterizados por su morfología constituida por un tronco con estructura de caña, con espiga o panícula, que proporciona unos granos utilizados como aprovechamiento principal de la planta. En España se cultiva una media de 6 millones de hectáreas de cereales, se trata del sector con mayor superficie a lo largo de todo el territorio, además de que constituyen la base de la alimentación humana y animal.

El **encamado** de los cereales es una condición en la que la planta ha sido aplastada o dañada contra el suelo, de tal forma que no se mantiene erguida debido a las condiciones climáticas o a que el tallo no es lo suficientemente fuerte para sostenerla. El cultivo se ve privado de la fotosíntesis en todo su potencial y se vuelve más fácilmente susceptible a la acción de microorganismos patógenos. El silicio está relacionado directamente con el aporte de elasticidad a los cultivos, proporcionando una mayor resistencia al encamado, ya que fortalece la pared celular de las hojas y tallos, favoreciendo que las plantas estén erectas y con ello la una mayor exposición al sol. Esta reducción del encamado debida al silicio puede estar relacionada también con la mejora de las condiciones hídricas en las células promovida por el ajuste osmótico, resultando en células más túrgidas y con mayor resistencia mecánica.

OBJETIVO

Evaluar la eficiencia de la tierra de diatomeas o diatomita sobre estreses abióticos como el estrés hídrico y térmico, su utilidad como fertilizante y control de plagas. Se emplearán como plantas hortícolas la lechuga y el tomate bajo condiciones de crecimiento estresantes en invernadero. Además, también se testará su papel como corrector del encamado en trigo y arroz y como insecticida frente al pulgón en habas.

DESARROLLO DEL ENSAYO

Este ensayo pretende evaluar la eficacia de Eco Tierra de Diatomeas sobre el control de plagas, fertilización, protección solar e hídrica, empleando plantas de lechuga y tomate. La aplicación del tratamiento se realizará tanto vía riego como foliar, ejecutándose 2 aplicaciones durante la duración en ensayo. En la siguiente figura se pueden observar los tiempos de aplicación con más detalle.

Figura 1. Cronograma del ensayo de Eco Tierra de Diatomeas.

El cultivo se va a desarrollar bajo condiciones de invernadero, en macetas individuales, con un sustrato a base de turba y vermiculita. Las plantas se van a solicitar al semillero Saliplant. Para cada tratamiento a ensayar, se dispone de 3 repeticiones con 6 plantas por repetición de lechuga y de tomate (36 plantas por tratamiento). Se muestra a continuación el diseño experimental del ensayo (Imagen 5). Además, se pretende testar su eficacia frente al pulgón en habas y su eficacia sobre el encamado de arroz y trigo.

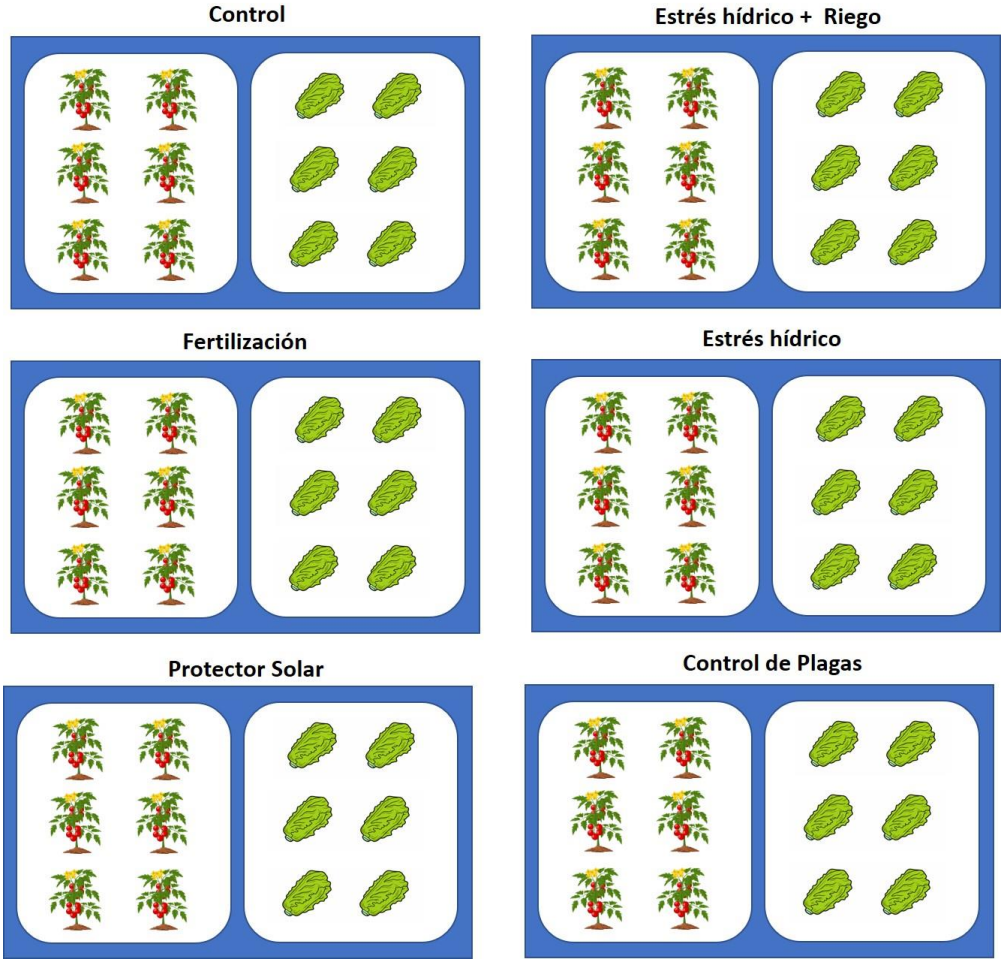


Imagen 5. Diseño experimental del ensayo.

Tratamientos:

El producto para realizar el ensayo ha sido proporcionado por la empresa Eco Tierra de Diatomeas, aplicándose vía riego o foliar, dependiendo de tratamiento para comprobar su eficacia frente a distintos tipos de estreses abióticos y bióticos.

A) TD como fertilizante → la aplicación ha sido radicular.
B) TD como protector solar → aplicación foliar, tomándose la temperatura foliar para determinar si en las plantas tratadas es inferior.
C) TD para control fúngico → aplicación foliar y radicular, posterior a la infección con el hongo *Botrytis* a través de heridas realizadas a las plantas, con un inóculo en suspensión.
D) TD frente al estrés hídrico → aplicación foliar y radicular, este estrés se realizó con riegos al 50% de la capacidad de campo.
E) TD como insecticida → aplicación foliar frente a una plaga de pulgones en habas.
F) TD para reducir el encamado → aplicación foliar radicular y foliar

La siguiente imagen muestra como se ha realizado la aplicación del tratamiento vía foliar y cuál era el aspecto del cultivo con el pulgón antes de su aplicación.

Imagen 6. Izquierda: aplicación del tratamiento vía riego. Derecha: plantas de habas con pulgón antes de la aplicación del tratamiento foliar.

Se han realizado 2 aplicaciones de los tratamientos, con un tiempo medio entre cada aplicación de 7 días. Durante todo el ensayo, las plantas recibirán una solución nutritiva (SN) adecuada a su crecimiento.

En la siguiente tabla se pueden observar los tratamientos que se han aplicado con sus dosis respectivas (Tabla 1).

Tratamiento	Aplicación	Dosis (g/L)
Control	-	-
Fertilizante	Radicular	40
Protector Solar	Foliar	40
Control Fúngico	Foliar y Radicular	40
Estrés Hídrico	Foliar y Radicular	40
Insecticida	Foliar	40
Encamado	Foliar y Radicular	40

Tabla 1. Tratamientos utilizados para el ensayo con sus dosis correspondientes.

Las fechas de la siembra, aplicaciones y muestreos se muestran a continuación en el calendario.

InnoPlant
Tecnología e investigación agrícola

Marzo 2020

Lunes	Martes	Miércoles	Jueves	Viernes	Sábado	Domingo
						1
2	3	4	5	6	7	8
9	10	11	12	13	14	15
16	17	18	19	20	21	22
23 Siembra + SN	24	25	26	27 1º Tratamiento TD	28	29
30	31					

iCalendario.net

Abril 2020

Lunes	Martes	Miércoles	Jueves	Viernes	Sábado	Domingo
		1	2	3 2º Tratamiento TD	4	5
6 ESTRÉS	7	8	9	10 Riego SN	11	12
13	14	15	16	17 Muestreo	18	19
20	21	22	23	24	25	26
27	28	29	30			

iCalendario.net

Se han analizado los siguientes parámetros:

- Crecimiento
  - → Biomasa Aérea
- Parámetros Fisiológicos y de Respuesta
  - → Pigmentos Fotosintéticos (Chl a, Chl b, carotenoides)
  - → Proteínas
  - → Malondialdehido (MDA) (Indicador de estrés)
- Temperatura foliar (tratamiento como protector solar)

El ensayo se ha llevado a cabo bajo condiciones controladas en un invernadero de Innoplant localizado en Huétor Santillán. El ensayo se inició el día 23 de Marzo con la siembra de los cultivos, realizándose la primera aplicación el día 27 de Marzo. Posteriormente se realizó una aplicación más y finalmente se muestrearán analizándose los parámetros anteriormente mencionados. Se dispusieron 6 plantas de tomate y 6 de lechuga por tratamiento y 3 repeticiones por tratamiento (36 plantas por tratamiento). Cada repetición se distribuyó de forma aleatoria dentro del invernadero. En la siguiente imagen se puede observar donde se ha realizado el ensayo (Imagen 7).

Imagen 7. Localización del invernadero donde se ha desarrollado el ensayo y analizado los resultados.

RESULTADOS

- **Evaluación de la Actividad Fertilizante**

Análisis de la Biomasa

A continuación, se muestran los resultados obtenidos tras la aplicación de TD sobre cultivos de lechuga y tomate como fertilizante. En los resultados visuales, encontramos el control a la izquierda y el tratamiento a la derecha. Además, se muestran las gráficas de los parámetros analizados, como la biomasa aérea, el contenido en MDA, contenido en pigmentos fotosintéticos y proteínas, de un numero representativo de muestras. Los resultados serán comentados detrás de cada gráfica.

Imagen 8. Izquierda: Detalle de la planta de lechuga control durante el muestreo. Derecha: Detalle de la planta de lechuga tratada con TD durante el muestreo.

Los resultados visuales dejan ver a simple vista, que aquellas plantas tratadas con TD presentan un mayor tamaño, algo que tendremos que corroborar con los datos de biomasa que se mostrarán más adelante.

Imagen 9. Izquierda: Detalle de la planta de tomate control durante el muestreo. Derecha: Detalle de la planta de tomate tratada con TD durante el muestreo.

En el caso de las plantas de tomate las diferencias son más notorias, apreciándose una diferencia de tamaño bastante considerable entre las dos plantas.

Abajo, se muestran las gráficas con los datos obtenidos de la biomasa aérea de un número representativo de muestran de lechuga y tomate (**Figura 2**).

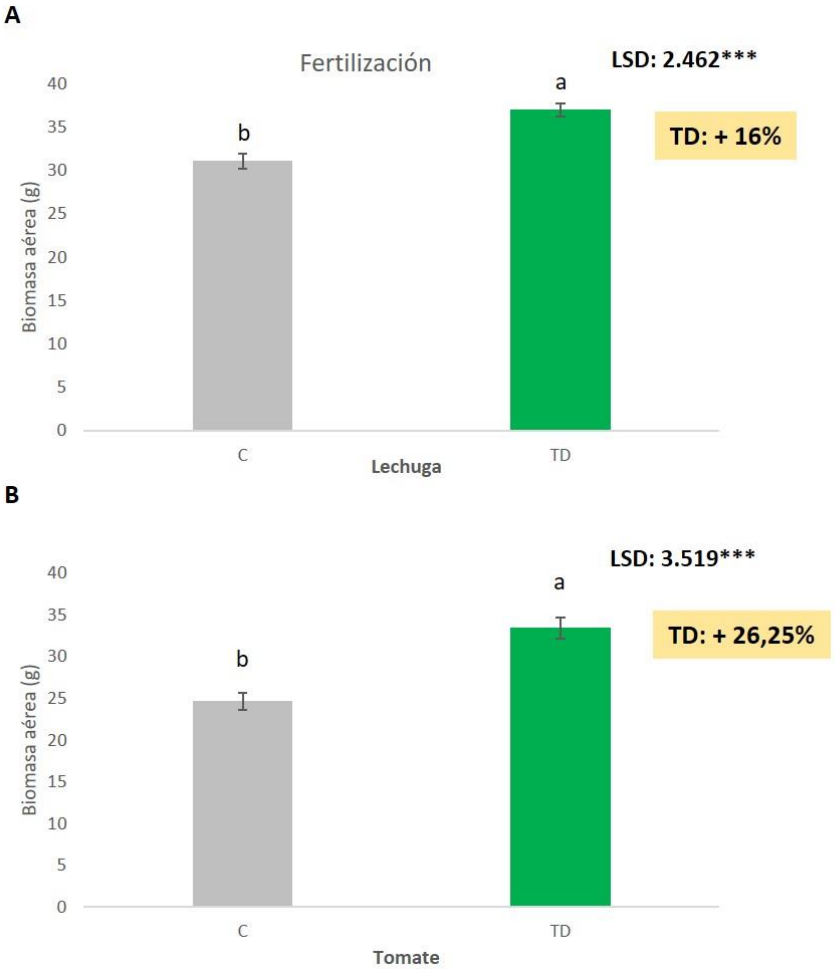


Figura 2. Biomasa aérea (g) del tratamiento como fertilizante. En gris, plantas no tratadas (Control, C); en verde, plantas tratadas (Tierra de Diatomeas, TD). A) Biomasa del cultivo de lechuga. B) Biomasa del cultivo de tomate. Al lado de la columna se representa el % de aumento del T respecto a C. Las columnas encabezadas por la misma letra pertenecen al mismo rango estadístico. Nivel se significación: p-valor >0.05 = ns; p-valor 0.05-0.01 = *; p-valor 0.01-0.001 = **; p-valor <0.001 = ***.

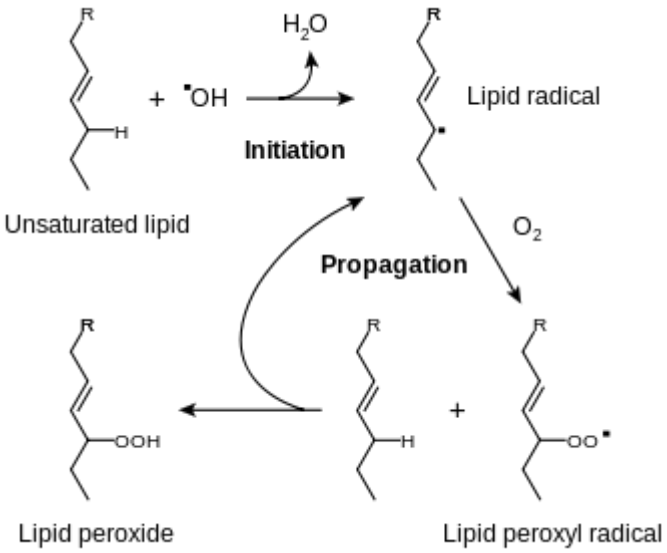
En ambos cultivos, hay diferencias significativas de las plantas tratadas respecto al control, siendo la biomasa aérea superior en las plantas tratadas con TD. Los resultados obtenidos para la **lechuga** muestran un aumento de la biomasa aérea del **16% respecto al control**, mientras que para las plantas de **tomate** fue del **26%.**

Estos resultados exponen el papel de la TD como fertilizante natural para distintos cultivos, debido a elevado contenido en minerales vegetales que favorecen el desarrollo especialmente en fase de crecimiento.

Análisis del contenido en malondialdehído (MDA)

Las plantas pueden sufrir muchos tipos diferentes de estrés (hídrico, osmótico, térmico, biótico…) que se expresan de distintas maneras en la planta, pero hay un elemento en común a ambos: la acumulación de especies reactivas del oxígeno (ROS; iones de oxígeno, radicales libres y peróxidos). Éstas son necesarias para activar las defensas de la planta y son tóxicos contra agentes externos, pero pueden acabar causando daños en la célula vegetal.

Entre los efectos citotóxicos, se encuentra la peroxidación de lípidos. Esta peroxidación hace referencia a la degradación oxidativa de los lípidos. Esta peroxidación se da cuando la cantidad de especies reactivas del oxígeno es alta, y éstas comienzan a capturar electrones de los lípidos de membrana. Uno de los productos de esta peroxidación lipídica es un dialdehído llamado Malondiadehído (MDA), y conocer su concentración nos permite saber el grado de estrés de las células.



Esquema de la peroxidación lipídica.

Con esta información se puede conocer si se están acumulando los ROS, y si esta acumulación está causando daños en las células. En la **Figura 3** se muestran los niveles de MDA cuantificados para los cultivos.

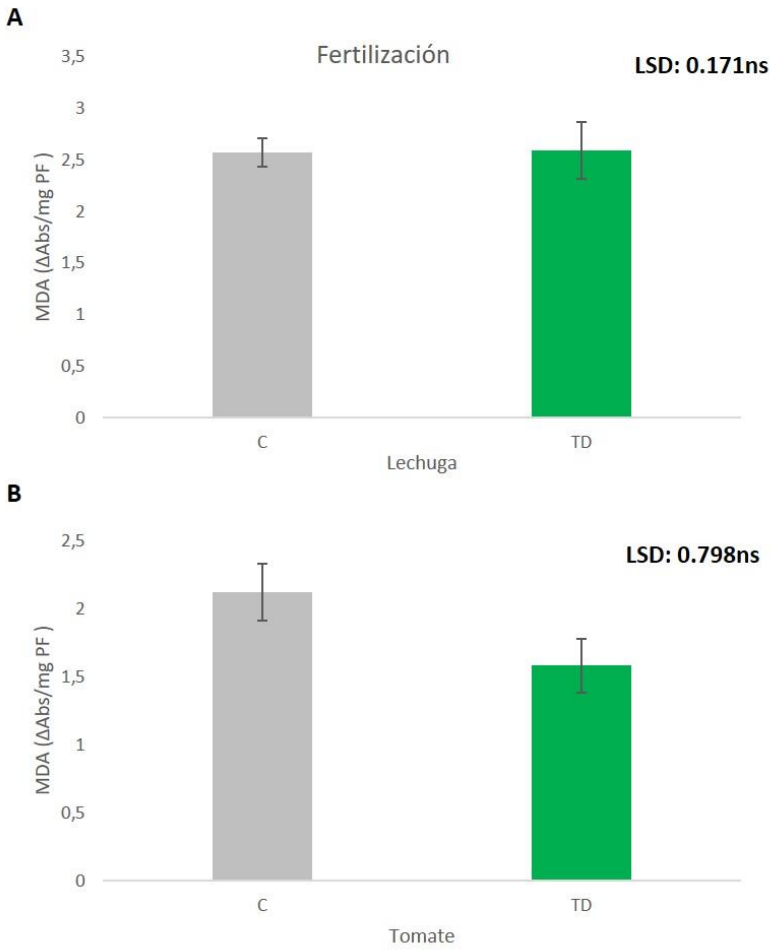


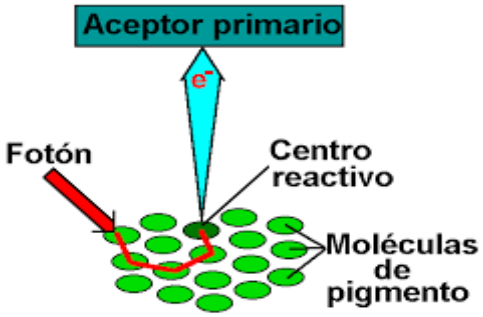
Figura 3. Análisis del Malondialdehído (ΔAbs/mg Peso Fresco) del tratamiento como fertilizante. En gris, plantas no tratadas (Control, C); en verde, plantas tratadas (Tierra de Diatomeas, TD). A) Cultivo de lechuga. B) Cultivo de tomate. Las columnas encabezadas por la misma letra pertenecen al mismo rango estadístico. Nivel se significación: p-valor >0.05 = ns; p-valor 0.05-0.01 = *; p-valor 0.01-0.001 = **; p-valor <0.001 = ***.

El contenido en MDA nos proporciona información acerca del grado de estrés de las células, debido a los distintos estreses a los que están expuestas. La gráfica anterior muestra que ambos cultivos tratados con TD presentan unos niveles de MDA inferiores, aunque no haya diferencias significativas.

Análisis del contenido en Pigmentos Fotosintéticos

Se realiza un análisis de los pigmentos foliares, encargados de la fotosíntesis de la planta. La fotosíntesis es el proceso por el cual la planta consigue generar, a partir de energía lumínica, energía química (ATP, NADH, NADPH…), que utilizará para transformar el carbono inorgánico (CO_2) disponible, a carbono orgánico, en forma de hidratos de carbono. Dicha energía lumínica es captada por los mencionados

pigmentos foliares, concretamente la clorofila a y la clorofila b, llamados pigmentos antena, que colectan dicha energía y la transportan a través de una cadena proteica, generando un potencial intracloroplástico que resulta en la formación de metabolitos capaces de almacenar energía química. Se cuantifican también los carotenoides, pigmentos liposolubles presentes en la hoja que actúan como fotoprotectores: ante un exceso de luz, nocivo para la planta, estos pigmentos recogen dicho exceso y alivian parcialmente el estrés sufrido por la planta.



Esquema de la del complejo de antenas.

El análisis de dichos pigmentos nos dará valiosa información del estado fisiológico de la planta, ya que el proceso de la fotosíntesis es vital para el correcto desarrollo de la planta, y un aumento o reducción de los pigmentos en los distintos tratamientos nos informa de que algo beneficioso, o perjudicial, le está sucediendo a la planta.

El análisis de los pigmentos nos dará valiosa información del estado fisiológico de la planta, ya que el proceso de la fotosíntesis es vital para el correcto desarrollo, y un aumento o reducción de los pigmentos en los distintos tratamientos nos proporciona información sobre su. Los datos del análisis se pueden observar en las **Figuras 4 y 5**.

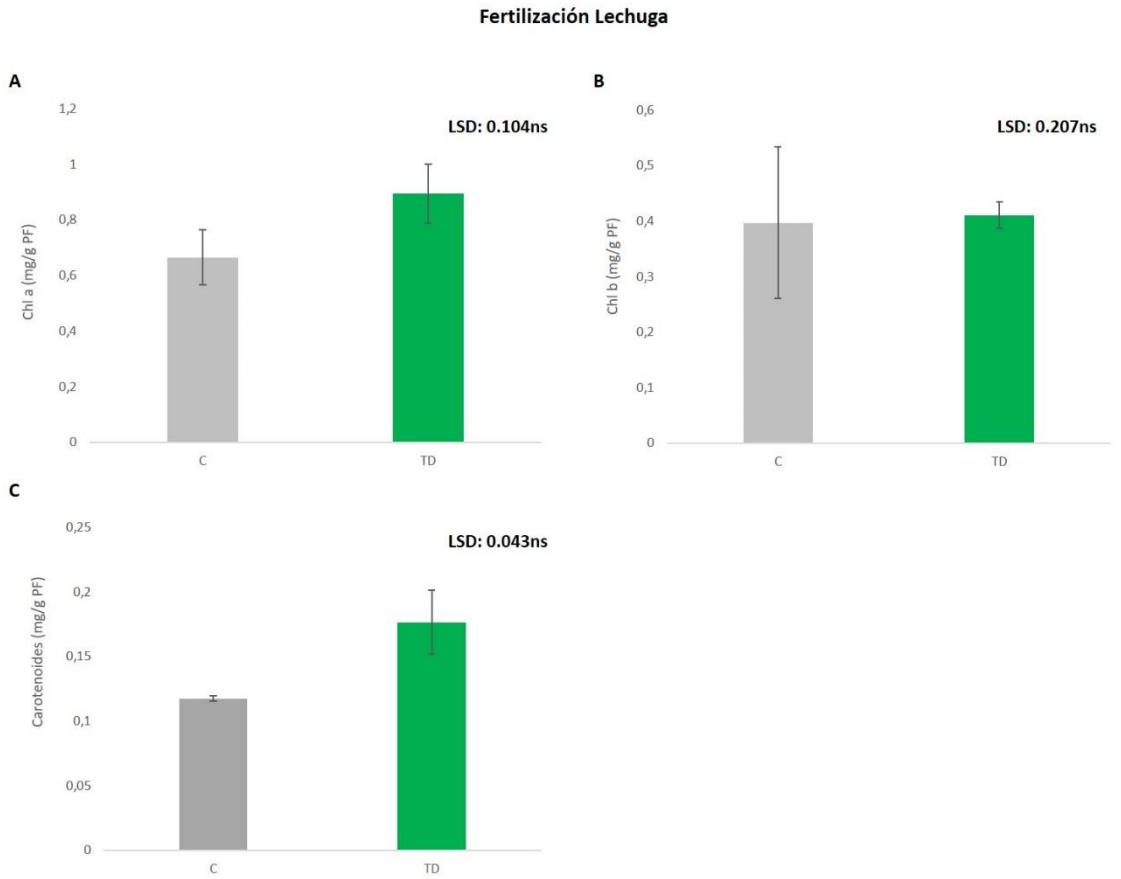


Figura 4. Análisis de los Pigmentos Fotosintéticos del Tratamiento Fertilización en Lechuga. A) Análisis de clorofila a (mg/g Peso Fresco); B) Análisis de clorofila b (mg/g Peso Fresco); C) Análisis de carotenoides (mg/g Peso Fresco). Las columnas encabezadas por la misma letra pertenecen al mismo rango estadístico. Nivel se significación: p-valor >0.05 = ns; p-valor 0.05-0.01 = *; p-valor 0.01-0.001 = **; p-valor <0.001 = ***.

Del anterior análisis, se puede apreciar un aumento en las plantas tratadas con TD del contenido en clorofila a y carotenoides, aunque no hay diferencias significativas. Lo que podemos traducir como un efecto potenciador de la fotosíntesis en las plantas tratadas, debido a mayores niveles de clorofila a. Respecto al contenido superior en carotenoides, se trata de un aumento en la actividad fotoprotectora frente a posibles estreses.

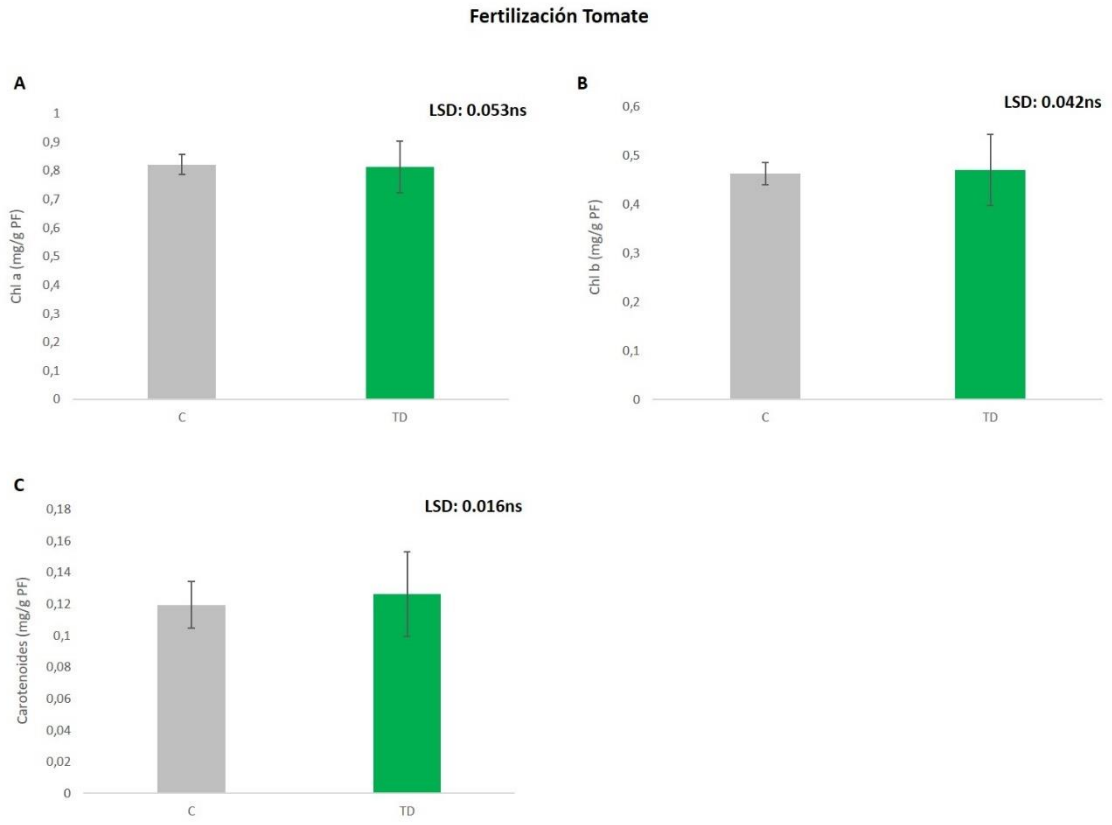


Figura 5. Análisis de los Pigmentos Fotosintéticos del Tratamiento Fertilización en Tomate. A) Análisis de clorofila a (mg/g Peso Fresco); B) Análisis de clorofila b (mg/g Peso Fresco); C) Análisis de carotenoides (mg/g Peso Fresco). Las columnas encabezadas por la misma letra pertenecen al mismo rango estadístico. Nivel se significación: p-valor >0.05 = ns; p-valor 0.05-0.01 = *; p-valor 0.01-0.001 = **; p-valor <0.001 = ***.

En el caso de las plantas de tomate, la concentración de pigmentos fotosintéticos se mantiene, siendo los resultados muy similares en ambos casos.

Análisis del contenido en Proteínas Solubles

Si el tejido vegetal ha sufrido un desarrollo muy alto en poco tiempo, puede no haber desarrollado completamente su perfil proteico en el tejido nuevo, y por lo tanto ser más débil ante la aparición de nuevos estreses. Se ha analizado el contenido en proteínas en ambos cultivos para comprobar que no hay grandes diferencias. Los resultados se muestran en la **Figura 6.**

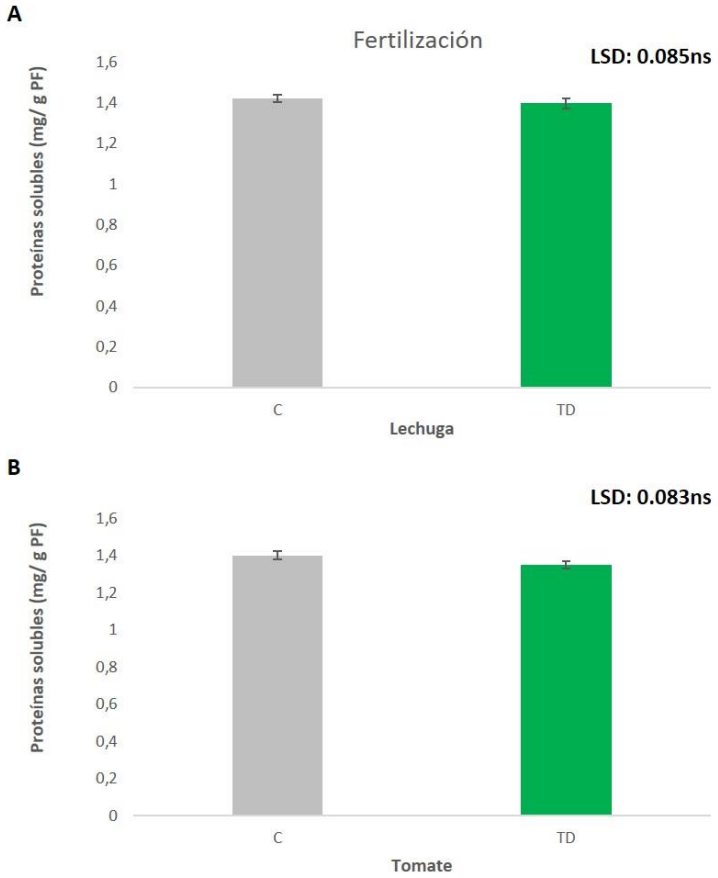


Figura 6. Análisis del contenido en proteínas solubles (mg/g Peso Fresco) del tratamiento como fertilizante. A) Cultivo de lechuga. B) Cultivo de tomate. Las columnas encabezadas por la misma letra pertenecen al mismo rango estadístico. Nivel se significación: p-valor >0.05 = ns; p-valor 0.05-0.01 = *; p-valor 0.01-0.001 = **; p-valor <0.001 = ***.

La figura anterior muestra que el contenido de proteínas solubles para las plantas analizadas de lechuga (A) y tomate (B) son muy similares entre el control y el tratamiento.

CONCLUSIÓN: la aplicación de ECOTIERRA DE DIATOMEAS vía radicular como complemento nutricional mejora el crecimiento de las plantas hortícolas, mejorando su biomasa radicular entre un 15-25%.

- **Evaluación de la Actividad como Protector Solar**

La evapotranspiración, permite el enfriamiento de la planta en condiciones de elevada temperatura. Existe una correlación entre las tasas de fotosíntesis y la temperatura foliar, ya que la exposición a temperaturas foliares elevadas afecta negativamente la funcionalidad de los fotosistemas. Para determinar el papel de la TD en la protección solar de los cultivos, esta se aplicó de manera foliar, tomándose la temperatura foliar para ver si existía una reducción de dicha temperatura en los cultivos tratados (Imagen 10). Se puede apreciar cómo se realizaron estas medidas en la siguiente imagen, y los datos obtenidos en la tabla 2.

Imagen 10. Toma de temperatura en los cultivos durante el ensayo de TD como protector solar.

Temperatura Foliar

Los datos de temperatura foliar obtenidos se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 2. Temperatura foliar en los diferentes tratamientos ensayados

	Tratamiento	Temperatura Foliar (ºC)
Lechuga	Control	29.8±0.9
	Ecotierra Foliar	24.5±0.8
Tomate	Control	28.4±0.9
	Ecotierra Foliar	23.9±0.7

Los datos nos muestran cómo la aplicación foliar de la ecotierra de diatomeas disminuye la temperatura foliar de la hoja, actuando como un protector térmico frente a altas temperaturas e incidencia solar.

Análisis de la Biomasa

Los datos de biomasa obtenidos se representan en la **Figura 10**.

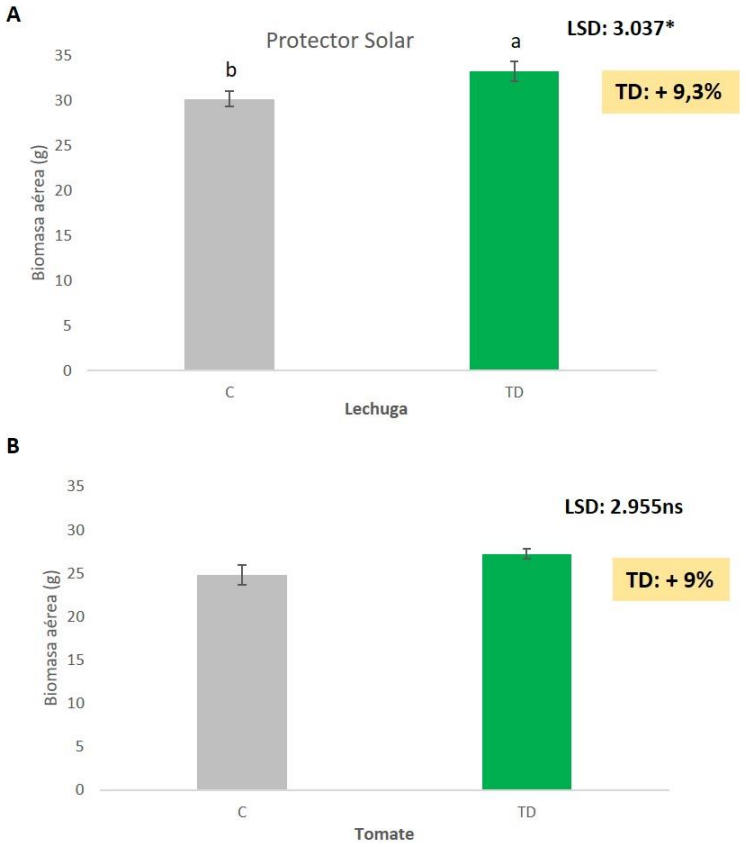


Figura 7. Biomasa aérea (g) del tratamiento como Protector Solar. En gris, plantas no tratadas (Control, C); en verde, plantas tratadas (Tierra de Diatomeas, TD). A) Biomasa del cultivo de lechuga. B) Biomasa del cultivo de tomate. Al lado de la columna se representa el % de aumento del T respecto a C. Las columnas encabezadas por la misma letra pertenecen al mismo rango estadístico. Nivel se significación: p-valor >0.05 = ns; p-valor 0.05-0.01 = *; p-valor 0.01-0.001 = **; p-valor <0.001 = ***.

Los resultados de biomasa aérea muestran un aumento también de aquellos cultivos tratados, en el caso del cultivo de **lechuga** con un aumento del **9,3%** y para el de **tomate del 9%.**

Análisis del contenido en malondialdehído (MDA)

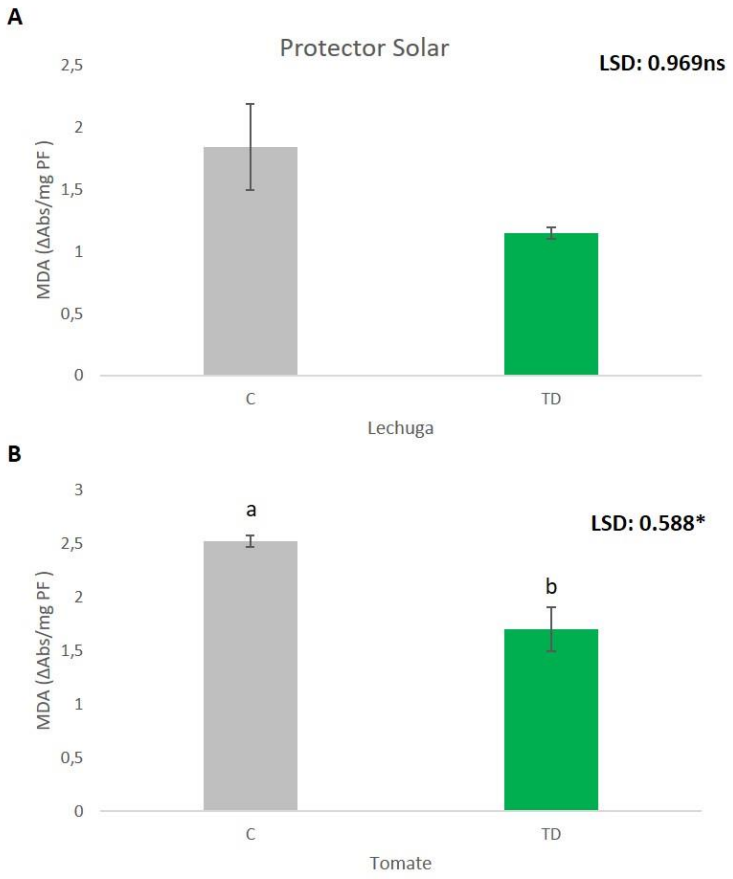


Figura 8. Análisis del Malondialdehído (ΔAbs/mg Peso Fresco) del tratamiento como Protector Solar. En gris, plantas no tratadas (Control, C); en verde, plantas tratadas (Tierra de Diatomeas, TD). A) Cultivo de lechuga. B) Cultivo de tomate. Las columnas encabezadas por la misma letra pertenecen al mismo rango estadístico. Nivel se significación: p-valor >0.05 = ns; p-valor 0.05-0.01 = *; p-valor 0.01-0.001 = **; p-valor <0.001 = ***.

Los resultados obtenidos para el MDA muestran diferencias significativas, siendo el nivel de MDA muy inferior para ambos cultivos tratados con TD. Estos resultados muestran el papel de la TD en la reducción de los daños oxidativos como la exposición a radiaciones solares. Los cultivos tratados están menos estresados que el control.

Análisis del contenido en Pigmentos Fotosintéticos

Los datos obtenidos del análisis de pigmentos fotosintéticos para determinar la actividad fotosintética de los cultivos tratados queda reflejada en las **Figura 9 y 10**.

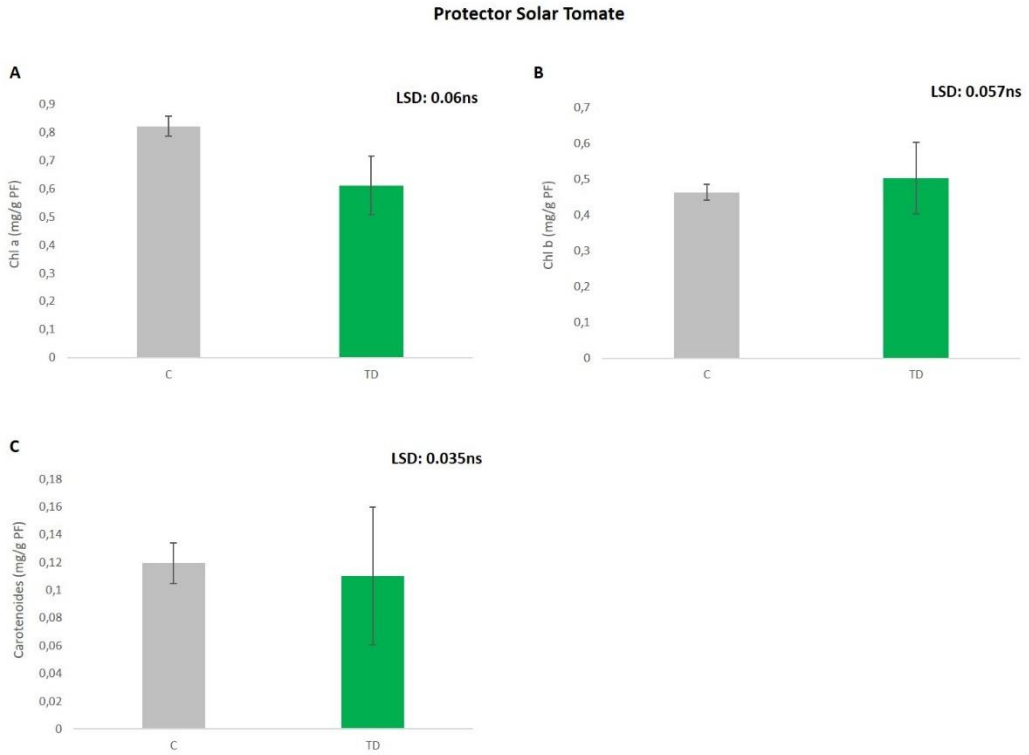


Figura 9. Análisis de los Pigmentos Fotosintéticos del Tratamiento como Protector Solar en Tomate. A) Análisis de clorofila a (mg/g Peso Fresco); B) Análisis de clorofila b (mg/g Peso Fresco); C) Análisis de carotenoides (mg/g Peso Fresco). Las columnas encabezadas por la misma letra pertenecen al mismo rango estadístico. Rango de p-valor: >0.05: ns; 0.05-0.01: *; 0.01-0.001: **; <0.001: ** Nivel se significación: p-valor >0.05 = ns; p-valor 0.05-0.01 = *; p-valor 0.01-0.001 = **; p-valor <0.001 = ***.*.

El contenido en pigmentos fotosintéticos en Chl b y carotenoides se mantiene, siendo ligeramente inferior el de Chla a para el tratamiento con TD. El tratamiento foliar no parece afectar al contenido de clorofilas en hoja.

CONCLUSIÓN: La aplicación de Ecotierra de Diatomeas foliar durante periodos de alta incidencia solar y altas temperaturas provoca un efecto protector en los cultivos, actuando como un protector térmico. Esto se ve reflejado en una disminución de la temperatura foliar, así como un incremento de crecimiento significativo.

- **Evaluación de la Actividad frente Control Fúngico**

Las plantas se infectaron con *Botrytis* a través de una herida en la superficie foliar, para posteriormente estudiar el efecto de la TD en el control de hongos. Como ya sabemos, la TD ofrece una resistencia mecánica debido a la formación en la cutícula de una doble capa de silicio, impidiendo la entrada del micelio. Los resultados visuales (Imagen 11-12) muestran la diferencia en la biomasa entre ambos, además de la afectación en las hojas para ambos cultivos.

Imagen 11. Detalle de las plantas de lechuga en el tratamiento como control fúngico. A) Biomasa aérea, a la derecha el control y en la izquierda el tratamiento. B) Control, donde se aprecia la afectación de las hojas por el hongo *Botrytis*. C) Tratamiento con TD, donde se observa que las plantas no están tan afectadas por el hongo.

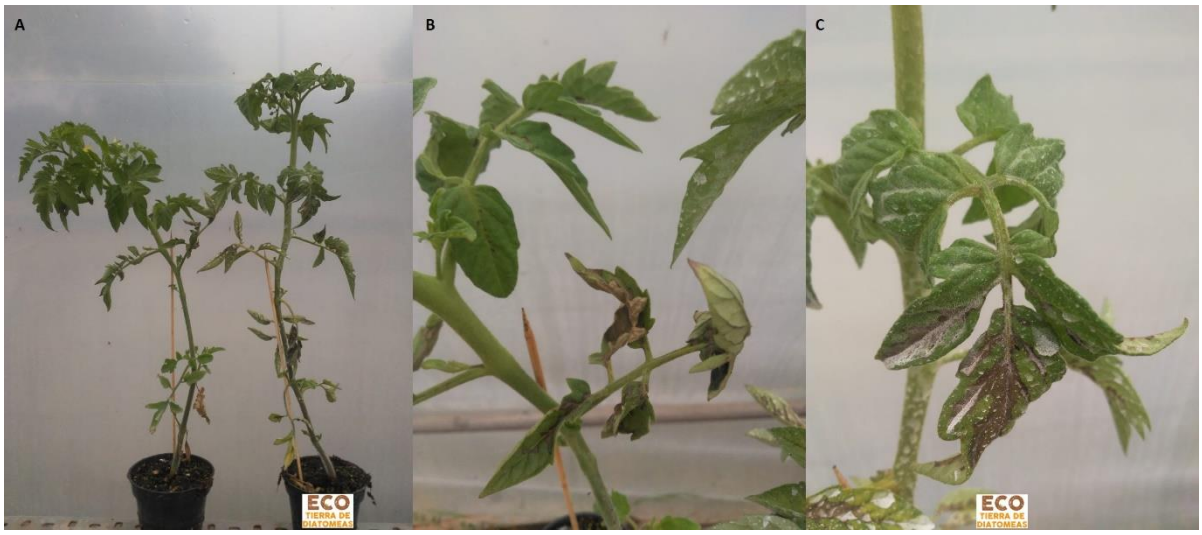


Imagen 12. Detalle de las plantas de tomate con el tratamiento de TD para de control fúngico. A) Biomasa aérea, a la izquierda el control y a la derecha el tratamiento B) Detalle del control, donde se aprecia la afectación de las hojas por el hongo *Botrytis*. C) Detalle del tratamiento con TD, donde se observa que las plantas no están tan afectadas por el hongo.

En las imágenes anteriores, tanto en lechuga como en tomate, podemos observar que existe un aumento de la biomasa en las plantas tratadas (Imagen 11A y 12A), además de que las hojas tratadas con TD son menos susceptibles a la infección por el hongo *Botrytis*. Aunque los datos de las analíticas deben corroborar los datos visuales, a priori podemos afirmar que la diatomita presenta un efecto favorable en cuanto a la reducción del desarrollo de hongos debido a la resistencia mecánica consecuencia de la doble capa de silicio en la cutícula de las hojas.

Si analizamos los datos de incidencia, observamos que en el caso de la lechuga, la aplicación de ecotierra de diatomeas disminuye la incidencia del hongo en más de un 40%, con sólo un 21% de las plantas infectadas. Muestra por tanto un buen efecto protector frente al ataque de las hifas del hongo. En el caso del tomate, la incidencia disminuye un 25%.

Incidencia Botrytis (Nº de plantas afectadas por infección fúngica)		
	Control	Ecotierra de Diatomeas
Lechuga	91.6 %	49.8%
Tomate	94.3 %	68.1%

Análisis de la Biomasa

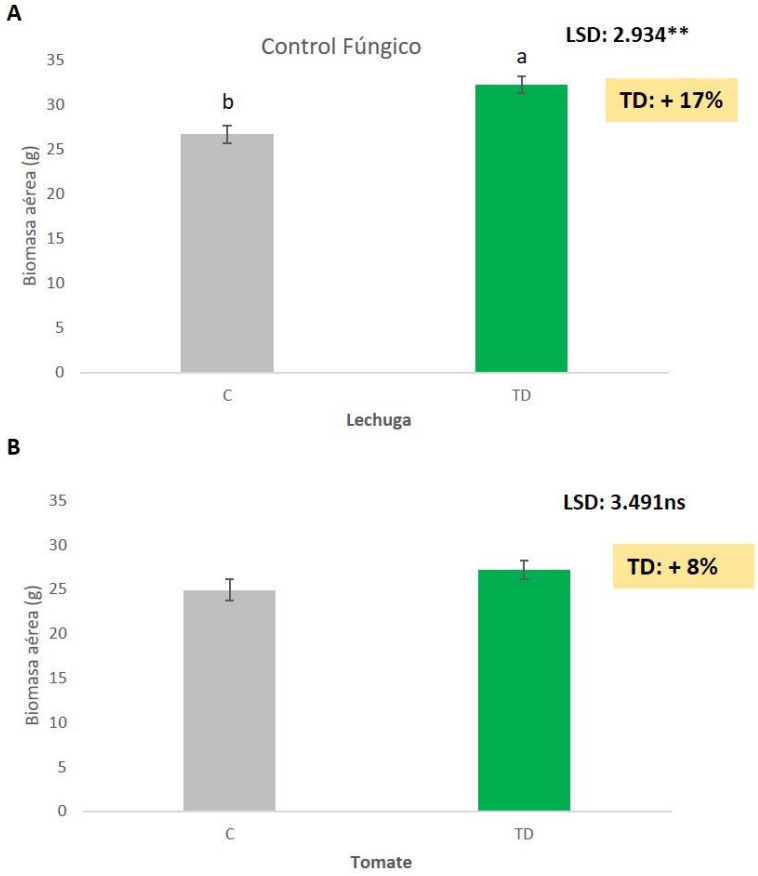


Figura 11. Biomasa aérea (g) del tratamiento para el Control Fúngico. En gris, plantas no tratadas (Control, C); en verde, plantas tratadas (Tierra de Diatomeas, TD). A) Biomasa del cultivo de lechuga. B) Biomasa del cultivo de tomate. Al lado de la columna se representa el % de aumento del T respecto a C. Las columnas encabezadas por la misma letra pertenecen al mismo rango estadístico. Nivel se significación: p-valor >0.05 = ns; p-valor 0.05-0.01 = *; p-valor 0.01-0.001 = **; p-valor <0.001 = ***.

La biomasa aérea tanto en lechuga como en tomate fue superior en las plantas tratadas, mostrando los resultados un aumento del **17% en lechuga y del 8% en tomate.**

Análisis del contenido en malondialdehído (MDA)

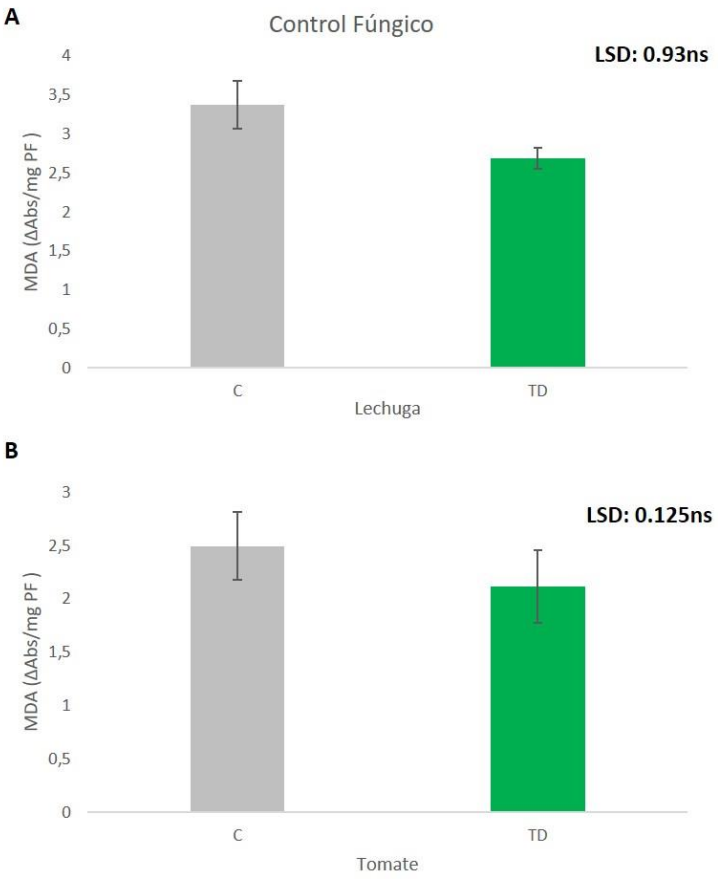


Figura 12. Análisis del Malondialdehído (ΔAbs/mg Peso Fresco) del tratamiento para el Control Fúngico. En gris, plantas no tratadas (Control, C); en verde, plantas tratadas (Tierra de Diatomeas, TD). A) Cultivo de lechuga. B) Cultivo de tomate. Las columnas encabezadas por la misma letra pertenecen al mismo rango estadístico. Nivel se significación: p-valor >0.05 = ns; p-valor 0.05-0.01 = *; p-valor 0.01-0.001 = **; p-valor <0.001 = ***.

Las plantas tratadas de ambos cultivos con TD muestran una menor peroxidación lo que se traduce en un menor grado de estrés por parte del hongo *Botrytis*, ya que los niveles de MDA son inferiores en ambos casos. Estos resultados corroboran que la sílice, es capaz de generar una barrera mecánica impidiendo la entrada del micelio no afectando al crecimiento de las plantas y siendo el nivel de estrés inferior.

Análisis del contenido en Pigmentos Fotosintéticos

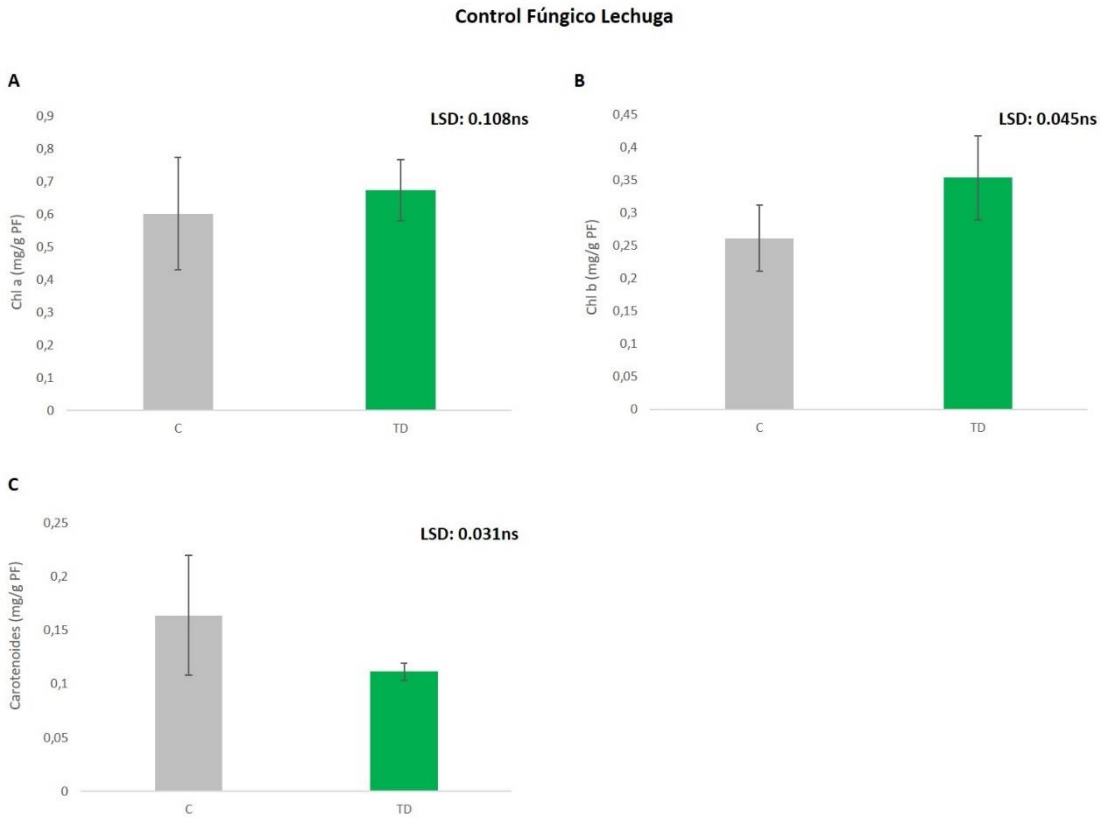


Figura 13. Análisis de los Pigmentos Fotosintéticos del Tratamiento como Protector Solar en Lechuga. A) Análisis de clorofila a (mg/g Peso Fresco); B) Análisis de clorofila b (mg/g Peso Fresco); C) Análisis de carotenoides (mg/g Peso Fresco). Las columnas encabezadas por la misma letra pertenecen al mismo rango estadístico. Nivel se significación: p-valor >0.05 = ns; p-valor 0.05-0.01 = *; p-valor 0.01-0.001 = **; p-valor <0.001 = ***.

Al igual que ocurría en los anteriores ensayos, la aplicación de Ecotierra de Diatomeas no parece tener efecto en el contenido en clorofilas.

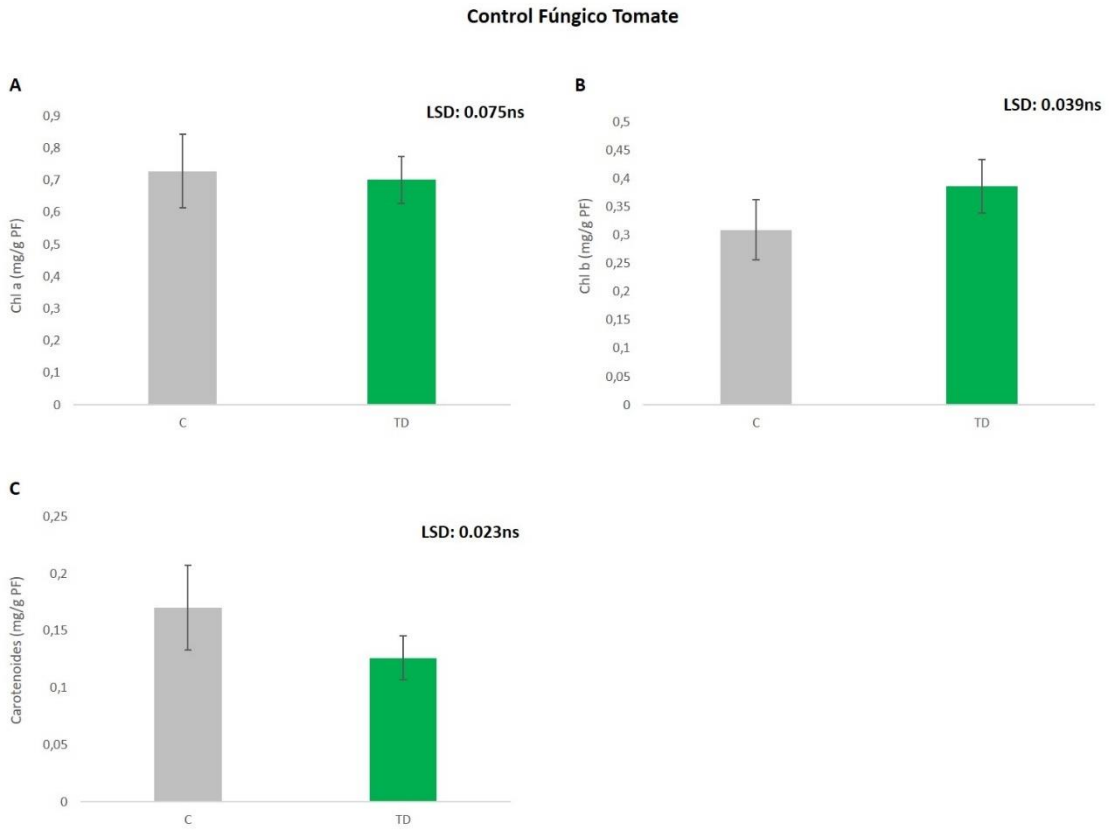


Figura 14. Análisis de los Pigmentos Fotosintéticos del Tratamiento como Protector Solar en Tomate. A) Análisis de clorofila a (mg/g Peso Fresco); B) Análisis de clorofila b (mg/g Peso Fresco); C) Análisis de carotenoides (mg/g Peso Fresco). Las columnas encabezadas por la misma letra pertenecen al mismo rango estadístico. Nivel se significación: p-valor >0.05 = ns; p-valor 0.05-0.01 = *; p-valor 0.01-0.001 = **; p-valor <0.001 = ***.

En tomate los resultados son similares a los obtenidos en lechuga. Presenta concentraciones similares de clorofila a, y superiores en clorofila b, además de una reducción del contenido de carotenoides.

Análisis del contenido en Proteínas Solubles

La **Figura 15** muestra los datos obtenidos en proteínas solubles.

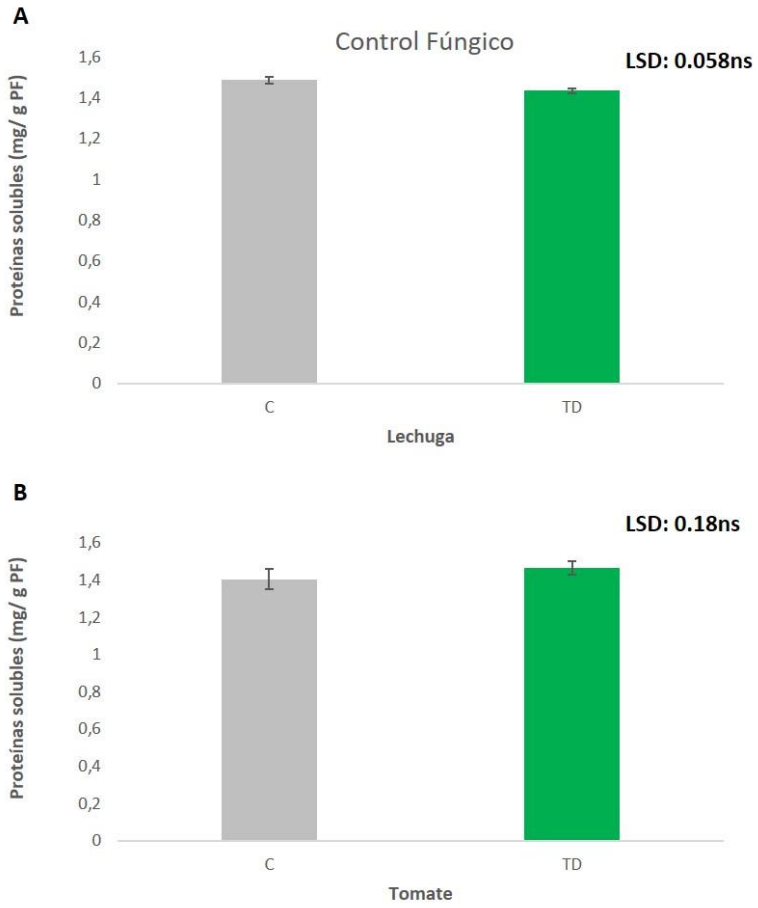


Figura 15. Análisis del contenido en proteínas solubles (mg/g Peso Fresco) del tratamiento para el control fúngico. A) Cultivo de lechuga. B) Cultivo de tomate. Las columnas encabezadas por la misma letra pertenecen al mismo rango estadístico. Nivel se significación: p-valor >0.05 = ns; p-valor 0.05-0.01 = *; p-valor 0.01-0.001 = **; p-valor <0.001 = ***.

El contenido de proteínas solubles para lechuga (A) y tomate (B) es similar.

CONCLUSIÓN: La aplicación de ecotierra de diatomeas constituye un mecanismo de defensa física frente a la infección de hongos fitopatógenos. El mecanismo de protección de basa en crear una capa protectora de sílice sobre la hoja y tallo de la planta, dificultando la entrada de las hifas del hongo. Esto se traduce en una menor incidencia de enfermedad y menor estrés en plantas afectadas.

- **Evaluación de la Actividad frente al Estrés Hídrico**

Para generar este estrés en los cultivos, las plantas fueron regadas al 50% de la capacidad de campo, para determinar la capacidad de retención de agua por parte de la TD. Las plantas tratadas presentan una mejora en la retención del agua y con ello de la humedad del suelo, reduciéndose el estrés hídrico producido por episodios de sequía.

Imagen 13. Izquierda: Detalle de la planta de lechuga control. Derecha: Detalle de la planta de lechuga tratada con TD.

Imagen 14. Izquierda: Detalle de la planta de tomate control. Derecha: Detalle de la planta de tomate tratada con TD.

Análisis de la Biomasa

Los resultados visuales muestran una mayor biomasa para ambos cultivos tratados con TD, mostrándose los datos de biomasa aérea en la Figura 16.

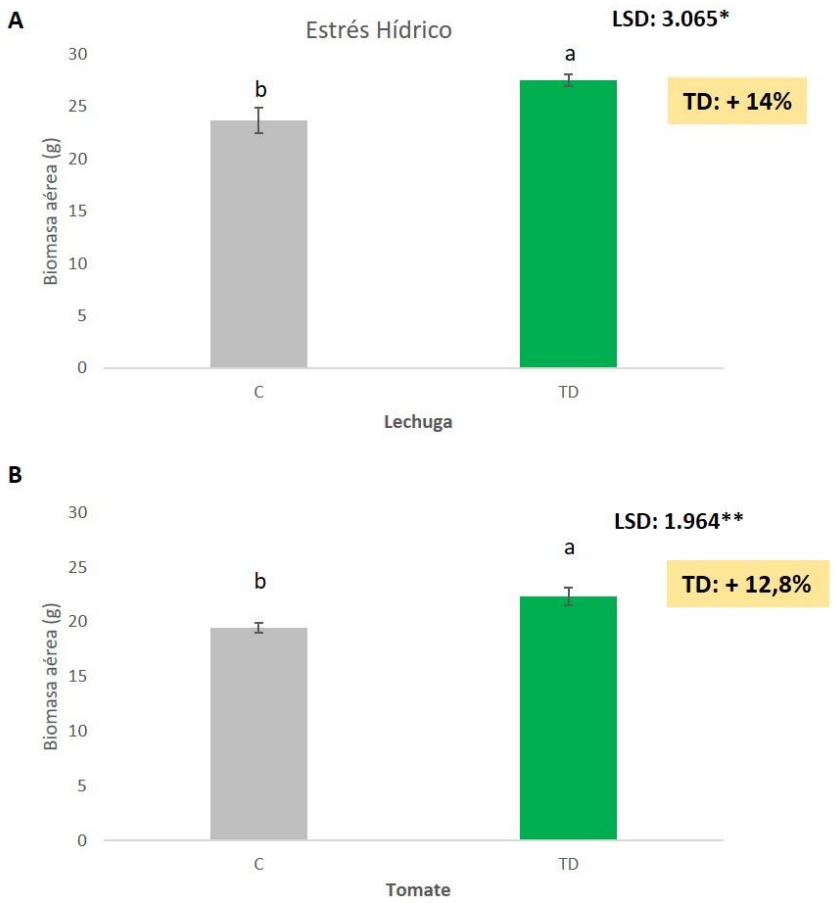


Figura 16. Biomasa aérea (g) del tratamiento frente al Estrés Hídrico. En gris, plantas no tratadas (Control, C); en verde, plantas tratadas (Tierra de Diatomeas, TD). A) Biomasa del cultivo de lechuga. B) Biomasa del cultivo de tomate. Al lado de la columna se representa el % de aumento del T respecto a C. Las columnas encabezadas por la misma letra pertenecen al mismo rango estadístico. Nivel se significación: p-valor >0.05 = ns; p-valor 0.05-0.01 = *; p-valor 0.01-0.001 = **; p-valor <0.001 = ***.

Los datos de biomasa analizados muestras indican un aumento significativo de la biomasa para ambos. En el caso de las plantas de **lechuga**, el aumento de dicha biomasa fue del **14%** mientras que para el **tomate** fue del **12,8%.**

Análisis del contenido en malondialdehído (MDA)

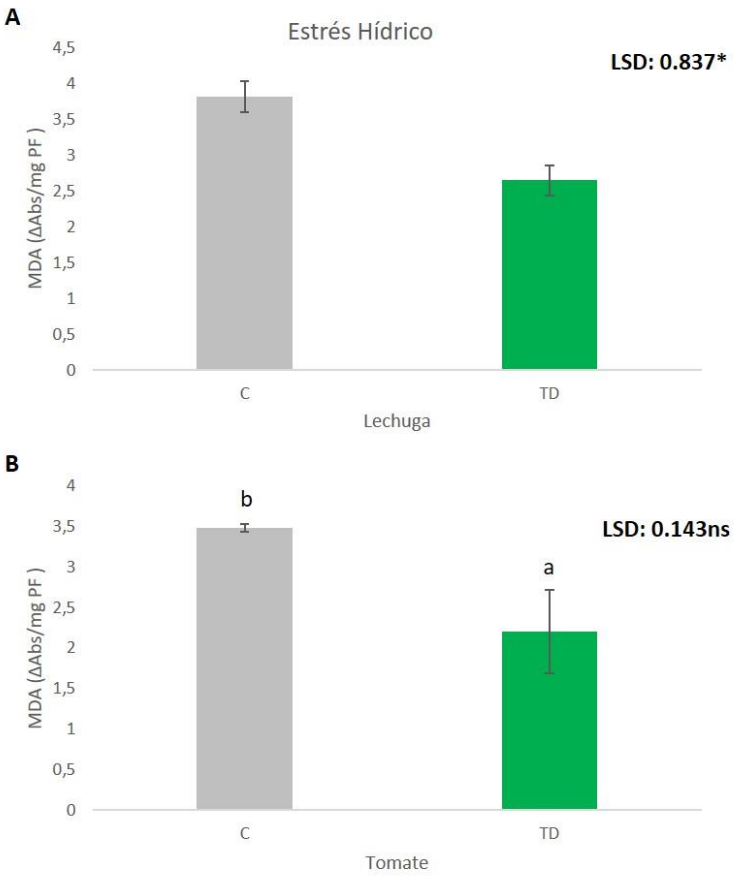


Figura 17. Análisis del Malondialdehído (ΔAbs/mg Peso Fresco) del tratamiento frente al Estrés Hídrico. En gris, plantas no tratadas (Control, C); en verde, plantas tratadas (Tierra de Diatomeas, TD). A) Cultivo de lechuga. B) Cultivo de tomate. Las columnas encabezadas por la misma letra pertenecen al mismo rango estadístico. Nivel se significación: p-valor >0.05 = ns; p-valor 0.05-0.01 = *; p-valor 0.01-0.001 = **; p-valor <0.001 = ***.

En contenido de MDA en las plantas tratadas de ambos cultivos con TD muestran un menor grado de estrés hídrico en este caso. Por lo que la TD tiene un efecto muy positivo reduciendo el estrés producido en las plantas por la deficiencia hídrica.

Análisis del contenido en Pigmentos Fotosintéticos

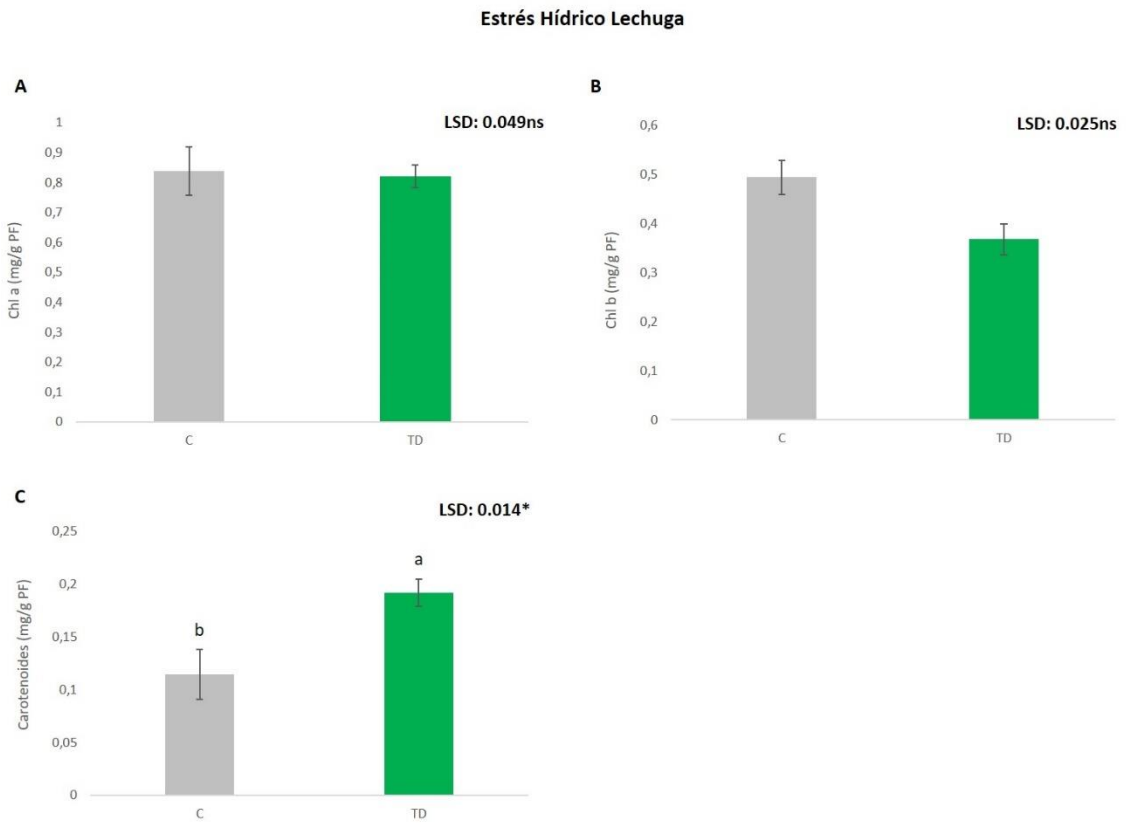


Figura 18. Análisis de los Pigmentos Fotosintéticos del Tratamiento frente al Estrés Hídrico en lechuga. A) Análisis de clorofila a (mg/g Peso Fresco); B) Análisis de clorofila b (mg/g Peso Fresco); C) Análisis de carotenoides (mg/g Peso Fresco). Las columnas encabezadas por la misma letra pertenecen al mismo rango estadístico. Nivel se significación: p-valor >0.05 = ns; p-valor 0.05-0.01 = *; p-valor 0.01-0.001 = **; p-valor <0.001 = ***.

En la **Figura 18** observamos el contenido de pigmentos foliares para lechuga y no existe ninguna diferencia en la concentración de clorofila a, siendo inferior el de clorofila b para las plantas tratadas. Los carotenoides presentan un aumento en los cultivos tratados.

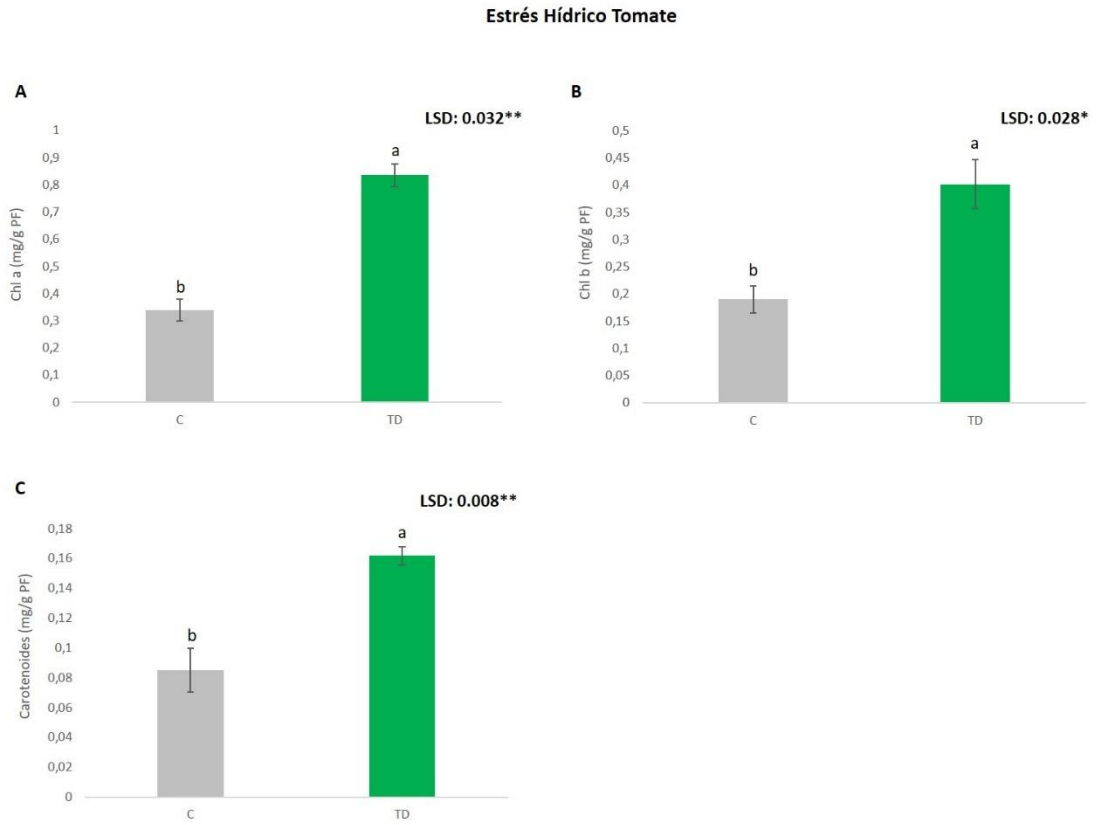


Figura 19. Análisis de los Pigmentos Fotosintéticos del Tratamiento frente al Estrés Hídrico en tomate. A) Análisis de clorofila a (mg/g Peso Fresco); B) Análisis de clorofila b (mg/g Peso Fresco); C) Análisis de carotenoides (mg/g Peso Fresco). Las columnas encabezadas por la misma letra pertenecen al mismo rango estadístico. Nivel se significación: p-valor >0.05 = ns; p-valor 0.05-0.01 = *; p-valor 0.01-0.001 = **; p-valor <0.001 = ***.

Los cultivos de tomate tratados muestran un aumento en la concentración de clorofila a y b, por lo que la TD presenta en este caso un aumento de la actividad fotosintética. Los carotenoides aumentan en las plantas tratadas.

Análisis del contenido en Proteínas Solubles

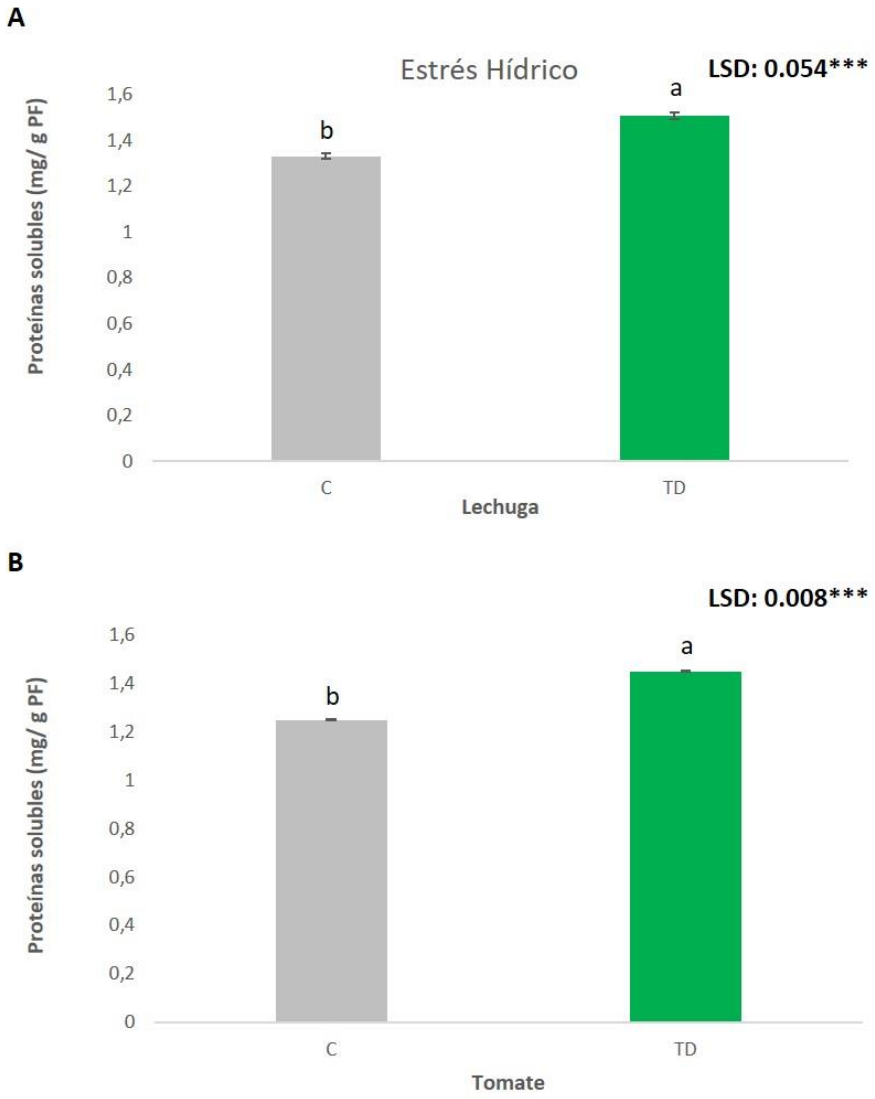


Figura 20. Análisis del contenido en proteínas solubles (mg/g Peso Fresco) del tratamiento frente al estrés hídrico. A) Cultivo de lechuga. B) Cultivo de tomate. Las columnas encabezadas por la misma letra pertenecen al mismo rango estadístico. Rango de p-valor: >0.05: ns; 0.05-0.01: *; 0.01-0.001: **; <0.001: ***.

El contenido en proteínas solubles para ambos cultivos es superior en aquellos tratados, existiendo diferencias significativas en este caso. Esto nos indica que cuando las plantas son tratadas con ecotierra de diatomeas bajo condiciones de estrés hídrico, mejora su contenido en proteínas y por tanto su crecimiento.

Las siguientes imágenes son los resultados obtenidos durante las analíticas llevadas a cabo para el análisis de los pigmentos foliares y proteínas de las plantas de lechuga y tomate (Imágenes 15-18).

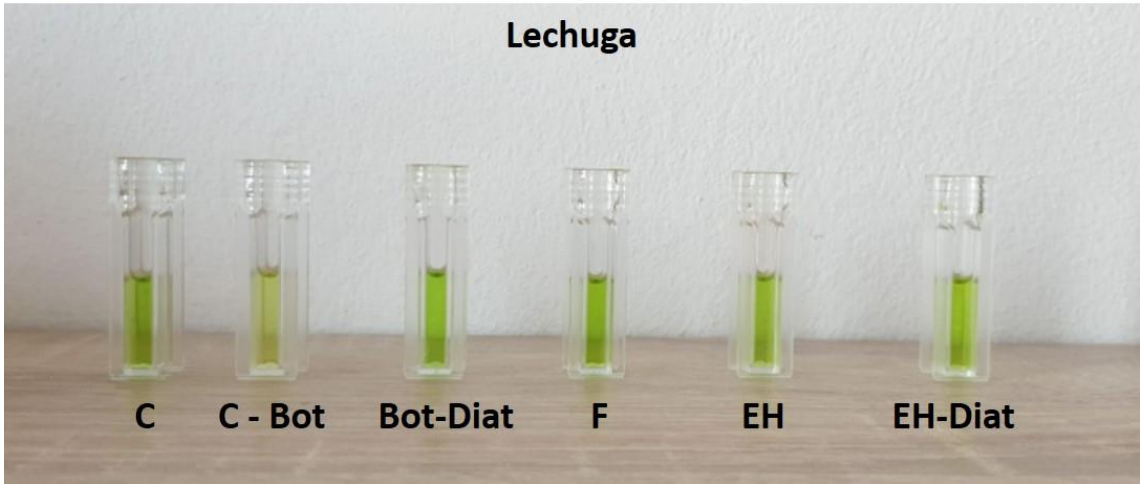


Imagen 15. Detalle del análisis de pigmentos fotosintéticos de las muestras de lechuga.

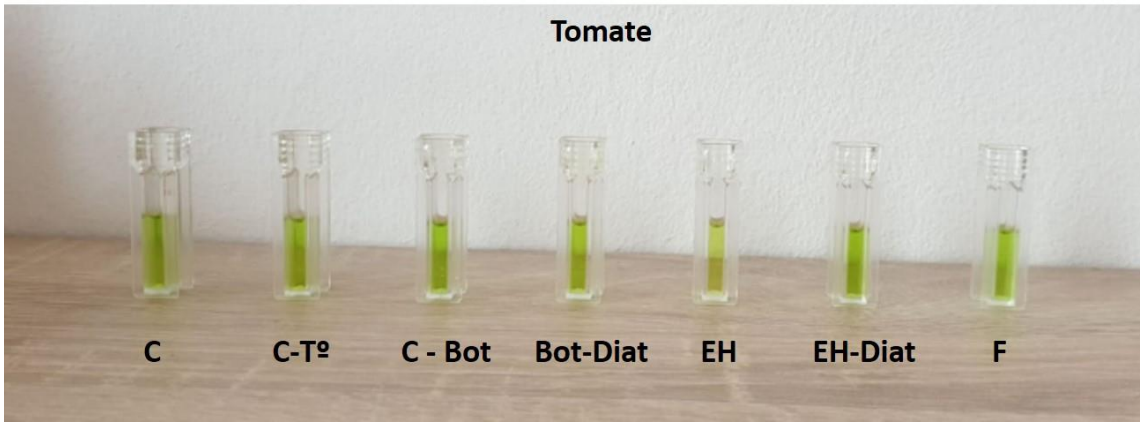


Imagen 16. Detalle del análisis de pigmentos fotosintéticos de las muestras de tomate.

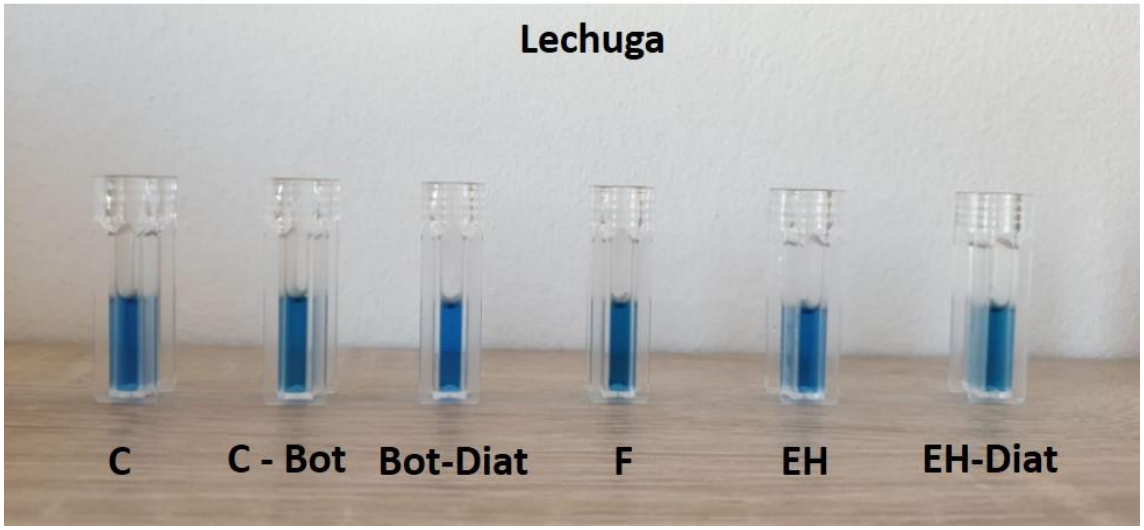


Imagen 17. Detalle del análisis de proteínas solubles de las muestras de lechuga.

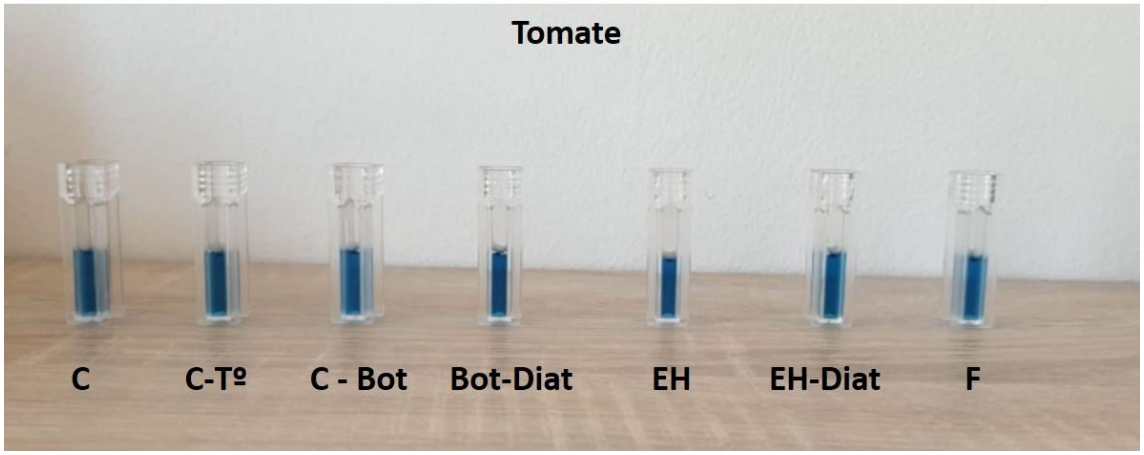


Imagen 18. Detalle del análisis de proteínas solubles de las muestras de tomate.

- **<u>Evaluación de la Actividad en el Encamado de Cereales</u>**

El encamado de los cereales es un problema para este sector, ya que la superficie destinada a estos cultivos es muy elevada y son la base de la alimentación. El silicio tiene un papel clave la elasticidad de los cultivos y resistencia al encamado, ya que fortalece la pared celular de hojas y tallos. Por ello, se ha testado en este ensayo el efecto de la TD con un elevado contenido en silicio, en el encamado de plantas de arroz y trigo.

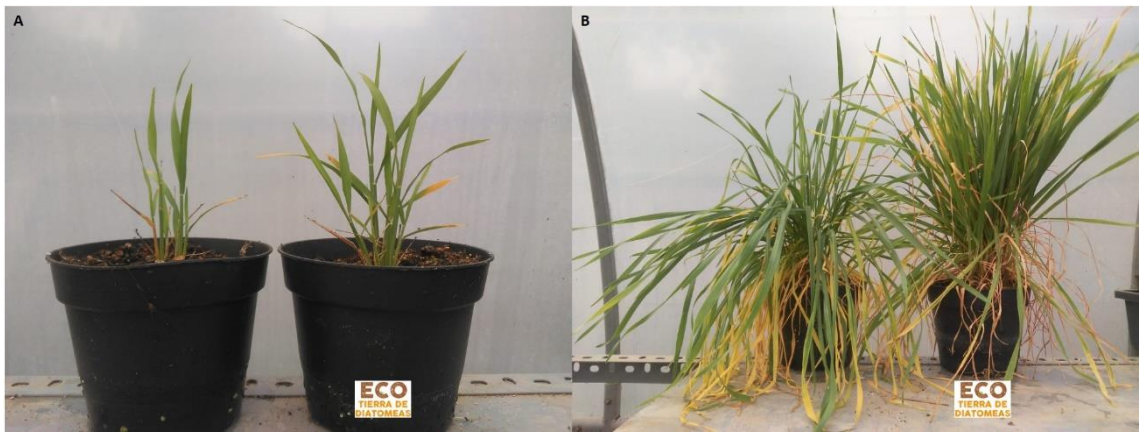


Imagen 19. A) Detalle del arroz, a la izquierda el control y a la derecha el tratamiento con TD. B) Detalle de las plantas de trigo, control a la izquierda y tratamiento a la derecha.

Los resultados visuales de la Imagen 19A como las plantas de arroz tratadas con TD presentan por un lado una mayor biomasa, además de estar erguidas. Esto mismo se aprecia mucho mejor en las plantas de trigo (Imagen 19B), donde a la derecha el control presenta signos de encamado, mientras que las plantas tratadas aparecen más firmes y con una mayor biomasa.

- **Evaluación de la Actividad como Insecticida**

Según la bibliografía, la TD es un potente insecticida natural frente a numerosas plagas debido al papel del silicio. Este proporciona a la planta rigidez estructural de las pareces celulares debido a la formación de una capa protectora en la cutícula otorgando a los cultivos una barrera frente a la invasión de parásitos, además de favorecer la acumulación de fitolitos y aparición de tricomas. Debido a la capacidad para retener agua, la TD absorbe los fluidos corporales de los insectos provocándoles la muerte por deshidratación.

Por ello se aplicó TD en cultivos de habas afectados por pulgones.

Imagen 20. Detalle de los cultivos tratados con TD frente a la plaga de pulgón tras 25 días de la aplicación del tratamiento.

Tras las dos aplicaciones con TD, el aspecto de las habas a los 25 días se muestra en la imagen 20, donde se observa una gran disminución en la presencia de pulgones.

CONCLUSIÓN

En este ensayo se ha comprobado la función de la TD como fertilizante natural, protector solar, estrés fúngico e hídrico, encamado de cereales e insecticida en plantas de tomate y lechuga. Los resultados obtenidos nos permiten concluir:

- Como fertilizante, la TD aumentó un 16% la biomasa aérea en lechuga y un 26% en tomate. El contenido en MDA fue inferior también en los cultivos tratados.

- Como protector solar, en el caso del cultivo de lechuga el aumento fue del 9,3%, y en tomate del 9%, además de estar menos estresadas según los resultados del MDA, inferiores al control.

- En el tratamiento frente a *Botrytis* (control fúngico), la biomasa aérea aumentó en lechuga un 17% y en tomate un 8%. También se obtuvieron niveles más bajos para el MDA en los cultivos tratados con TD, mostrando una disminución de estrés en estas plantas.

- Bajo estrés hídrico, las plantas tratadas de lechuga mostraron un aumento del 14% de la biomasa siendo en el caso de las de tomate de un 12,8%, junto con una disminución del contenido de MDA en ambos, mostrando un efecto muy positivo en la reducción del estrés en estas plantas.

- Los cereales como el trigo y el arroz tratados presentan un aspecto más erguido junto con una biomasa bastante superior.

- En el tratamiento frente a los pulgones en habas, tras dos aplicaciones y 25 días, estos desaparecieron de las plantas tratadas.

Responsable elaboración informe:

Dra. Eva Sánchez Rodríguez
Directora Gerente de InnoPlant