



Interreg
España - Portugal

Fondo Europeo de Desarrollo Regional
Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional



UNIÓN EUROPEA
UNIÃO EUROPEIA

Innoace



INVESTIGACIÓN · INNOVACIÓN · TECNOLOGÍA · EMPRENDIMIENTO
INVESTIGAÇÃO · INOVAÇÃO · TECNOLOGIA · EMPREENDEDORISMO

MANUAL PRÁCTICO SOBRE LA CARACTERIZACIÓN DEL ESTADO NUTRICIONAL EN CIRUELO JAPONÉS



Valme González¹; M^a Henar Prieto¹; Julia Castellano¹; Emilio Asencio¹; M^a José Moñino¹; Antonio Vivas¹; Sofia Ramôa² y Pedro Oliveira e Silva²

¹Instituto de Investigaciones Agrarias Finca “La Orden-Valdesequera”. Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura (CICYTEX), España.

²Departamento de Biociências - Instituto Politécnico de Beja, Beja, Portugal.

En este manual se presenta de forma sencilla diferentes técnicas disponibles para caracterizar el estado nutricional de una de las especies cultivadas con gran interés, el ciruelo japonés, considerando los macroelementos, nitrógeno, fósforo y potasio, aunque estas mismas técnicas pueden ser de utilidad para caracterizar el estado nutricional en relación con los microelementos.

La zona Extremadura-Alentejo cuenta con unas condiciones climáticas, edafológicas y de disponibilidad de suelo de regadío favorable para el desarrollo de la agricultura. La producción de fruta extremeña ocupa un lugar muy destacado dentro de la fruticultura española y en especial el cultivo del ciruelo japonés (*Prunus salicina* Lindl.) siendo Extremadura la principal productora a nivel nacional de este cultivo con una producción regional de 74.150 t de las 152.984 t nacionales (MAPA, 2019).

El mercado cada vez se hace más competitivo y a la vez se instauran normas desde la Unión Europea en las que se exige un aumento de la productividad con el mínimo impacto medioambiental. En este sentido, la UE estableció en el año 1991 la Directiva 91/676/CEE con un objetivo principal, reducir el contenido de nitratos de origen agrario en las aguas subterráneas, considerando como Zona Vulnerable aquella zona que presenta en el agua de riego una concentración igual o superior a 50 mg/l. En Extremadura mediante la publicación de la Orden 7 de marzo de 2003, se declararon las Zonas Vulnerables a la contaminación por nitratos de origen agrario y recientemente en la Orden 4 de marzo de 2019 se han declarado nuevas Zonas Vulnerables.

Se considera que la fertilización después del riego, es el segundo factor limitante de la productividad, el objetivo general de esta práctica es incrementar la fertilidad del suelo para obtener un aumento del rendimiento de las cosechas. La aportación mediante la fertilización de un elemento que se encuentre en el suelo por debajo de los niveles críticos en un cultivo determinado tiene como consecuencia un aumento en la producción. Para mantener una alta productividad en los cultivos es importante garantizar la disponibilidad de una serie de nutrientes minerales y una adecuada proporción de los mismos. En caso contrario, se provocan desequilibrios en el estado nutricional de los árboles y, se traducen en un menor crecimiento y una disminución de la producción. Los requerimientos nutricionales de una especie varían según la variedad y el estado fenológico del mismo, por lo que es crucial conocer el estado nutricional en distintos estados fenológicos del cultivo para evitar desórdenes nutricionales evitando por tanto comprometer el rendimiento en la campaña.

Investigadores del Grupo de Riego y Nutrición pertenecientes al Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura (CICYTEX) ha realizado numerosos ensayos de investigación en diferentes especies sobre la influencia de

distintas dosis de fertilización en la productividad y parámetros de calidad en frutos. En estos trabajos se testea de forma continua el estado nutricional de los cultivos a través de distintas herramientas de diagnóstico nutricional que pueden ser destructivas o no, y que junto con el análisis de suelo y agua de riego, permiten adaptar el plan de fertilización a las necesidades del cultivo.

A continuación se hace una descripción de las determinaciones necesarias para el diagnóstico nutricional en ciruelo japonés.

Determinación en muestras de suelo y agua de riego

1. Análisis de suelo

Se recomienda previo al establecimiento del cultivo realizar una caracterización físico-química del suelo, que permitirá determinar la concentración de nutrientes disponibles para las plantas, así como la textura del suelo, parámetro estrechamente relacionado con la capacidad de retención de agua y nutrientes. Además, hay tener en cuenta el aporte de nutrientes derivado de la mineralización de la materia orgánica del cultivo anterior, ya que según el cultivo, pueden aportar al suelo hasta 30 kg de nitrógeno por hectárea de cultivo.

2. Análisis de agua de riego

Otro aspecto fundamental es conocer la composición química del agua de riego, ya que ésta no es constante a lo largo de toda la campaña de riego, principalmente cuando el agua procede de aguas subterráneas, por lo que se recomienda determinar la concentración de nutrientes en distintos momentos del ciclo de cultivo.

Determinaciones en plantas

Entre las medidas que se pueden realizar en plantas hay que destacar dos grandes grupos:

1. Métodos destructivos: Son los métodos que requieren de la destrucción de la muestra, por lo que no se puede hacer una medida continua sobre la misma muestra. Entre ellos destacan:

1.1.-Análisis foliar: Representa una herramienta muy útil y probablemente de las más utilizadas para racionalizar la fertilización de los cultivos. Es el método más frecuente para caracterizar el estado nutricional de los cultivos y detectar desequilibrios nutricionales. Para que sea una buena herramienta de diagnóstico es importante ser cuidadoso en la forma de realizar el muestreo y procesado de las muestras hasta su



Interreg
España - Portugal

Fondo Europeo de Desarrollo Regional
Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional



UNIÓN EUROPEA
UNIÃO EUROPEIA

Innoace



INVESTIGACIÓN · INNOVACIÓN · TECNOLOGÍA · EMPRENDIMIENTO
INVESTIGAÇÃO · INOVAÇÃO · TECNOLOGIA · EMPREENDEDORISMO

determinación química en el laboratorio. Las muestras de hojas deben recogerse del tercio medio de los brotes del año, a la altura de los ojos y, guardadas en bolsas de papel, refrigerándolas en una nevera portátil hasta su procesamiento posterior. Para acondicionar las hojas para las determinaciones analíticas, debe seguirse un protocolo de lavado primero en agua con jabón sin fosfatos, después ser aclaradas en agua del grifo y posteriormente en agua desionizada (Jomaa, 2002). Posteriormente las hojas se secan a 65°C en estufa de ventilación forzada hasta peso constante, se realiza la molienda y finalmente se realizan las determinaciones químicas de nutrientes en el laboratorio.



Figura 1. Lavado de hojas (foto izquierda) y molienda de hojas (foto derecha) para determinación química de nutrientes.

Una desventaja de este método es el periodo de tiempo necesario desde que se recoge la muestra hasta que se obtiene el resultado, ya que la determinación analítica se hace en un laboratorio, por lo que las medidas a adoptar tendrían que esperar hasta la obtención de los resultados.

Ejemplo:

Se representa la evolución del contenido de nitrógeno en hojas desde los 30 hasta los 120 días después de plena floración de una parcela experimental de ciruelo japonés en las Vegas del Guadiana, sujeto a dos tratamientos de fertilización, uno sin fertilización de N, P y K y otro con una fertilización en base a las unidades de fertilización máximas permitidas recogidas en la Orden de 9 de marzo de 2009 publicada por la Junta de Extremadura, al que denominamos como control.



Interreg
España - Portugal

Fondo Europeo de Desarrollo Regional
Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional



UNIÓN EUROPEA
UNIÃO EUROPEIA

Innoace

INVESTIGACIÓN · INOVAÇÃO · TECNOLOGÍA · EMPREENDIMENTO
INVESTIGAÇÃO · INOVAÇÃO · TECNOLOGIA · EMPREENDEDORISMO

Ciruelo japonés

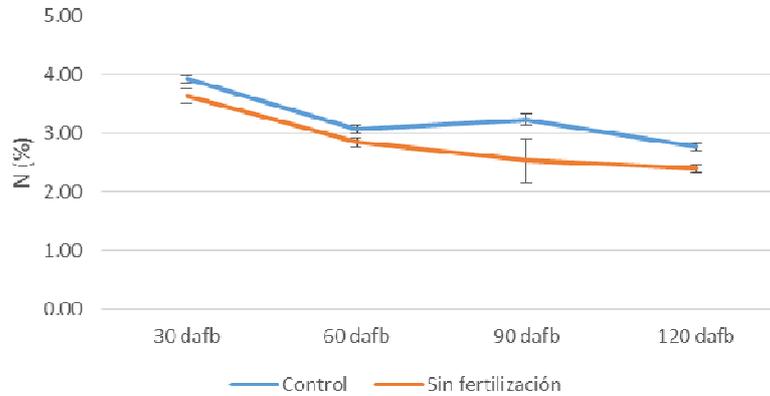


Figura 2. Evolución del contenido de nitrógeno foliar, N%, desde los 30 hasta los 120 días después de plena floración en ciruelo japonés bajo dos estrategias de fertilización.

Ciruelo japonés

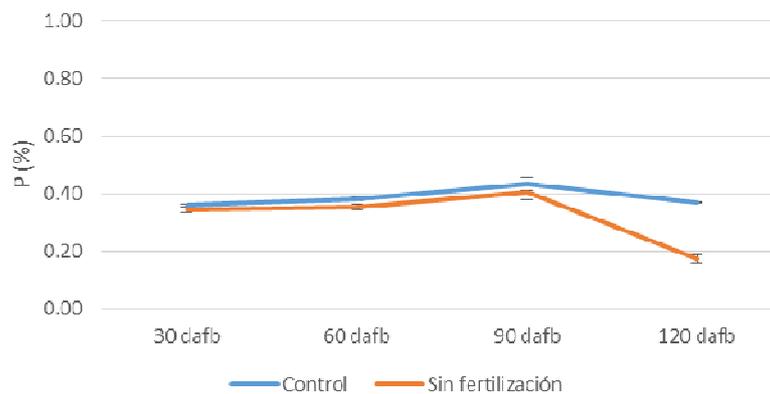


Figura 3. Evolución del contenido de fósforo foliar, P%, desde los 30 hasta los 120 días después de plena floración en ciruelo japonés bajo dos estrategias de fertilización.



Interreg
España - Portugal

Fondo Europeo de Desarrollo Regional
Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional



UNIÃO EUROPEIA

Innoace



INVESTIGACIÓN · INNOVACIÓN · TECNOLOGÍA · EMPRENDIMIENTO
INVESTIGAÇÃO · INOVAÇÃO · TECNOLOGIA · EMPREENDEDORISMO

Ciruelo japonés

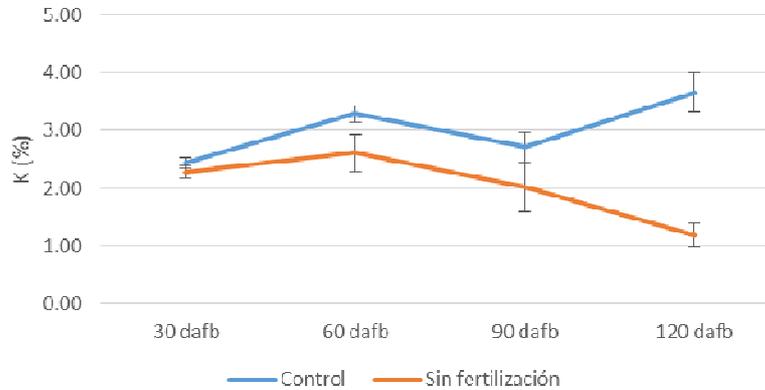


Figura 4. Evolución del contenido de potasio foliar, K %, desde los 30 hasta los 120 días después de plena floración en ciruelo japonés bajo dos estrategias de fertilización.

En las figuras 2, 3 y 4 se observa diferencias en el contenido de N (%), P (%) y K (%) en todos los muestreos realizados entre ambos tratamientos. Por tanto, este método resulta eficaz para detectar diferencias en el contenido de nutrientes.

1.2.-Análisis de savia: No sólo las hojas pueden ser órganos de diagnóstico. El análisis de savia es una herramienta adecuada para determinar lo que la planta está tomando en el momento del muestreo a diferencia del análisis foliar que muestra los elementos presentes en las hojas. La composición de la savia puede variar por un gran número de factores, por lo que su análisis debe usarse fundamentalmente para determinar problemas nutricionales puntuales, para comprobar la evolución de las reservas a lo largo del ciclo de cultivo o para comprobar la incidencia de una aplicación de fertilizante. Hasta la fecha, su uso está más extendido en cultivos anuales herbáceos. El Grupo de Riego y Nutrición cuenta con dos equipos rápidos y de manejo sencillo que permiten medir el contenido de nitrato en savia en campo, RQFlex y el Electrodo LAQUAtwin aunque en el mercado existe una amplia gama de medidores rápidos para la determinación de distintos parámetros químicos.



Interreg
España - Portugal

Fondo Europeo de Desarrollo Regional
Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional



UNIÓN EUROPEA
UNIÃO EUROPEIA

Innoace



INVESTIGACIÓN · INNOVACIÓN · TECNOLOGÍA · EMPRENDIMIENTO
INVESTIGAÇÃO · INOVAÇÃO · TECNOLOGIA · EMPREENDEDORISMO



Figura 5. Muestra de savia (foto izquierda) y electrodo LAQUAtwin (foto derecha) para la medida de nitratos en muestras de savia.

2.-Métodos no destructivos: No requiere la destrucción de la muestra, por lo que permite una medida continua sobre la misma muestra y entre ellos destacan:

2.1.-Medida de la clorofila: La concentración de clorofila presente en la hoja, puede ser usada como herramienta para determinar el estado nutricional de los nutrientes relacionados con el aparato fotosintético, jugando un papel fundamental el contenido de nitrógeno e hierro. Dentro de los medidores de clorofila que existen en el mercado y que nuestro grupo de trabajo dispone son el SPAD Minolta 502 y el Apogee MC-100. Ambos equipos miden la absorbancia entre dos longitudes de onda, entre el rojo, que es intensamente absorbido por la clorofila y las zonas cercanas al infrarrojo correspondiente al rojo lejano, que es utilizado como una longitud de onda de referencia (Markwell et. al, 1995), sin embargo ambos medidores de clorofilas aunque presentan similitudes en los fundamentos de uso, difieren en los anchos de banda utilizados. Es así como el SPAD 502 utiliza dos longitudes de onda central de 650 nm (rojo) y 940 nm (infrarrojo) y el Apogee MC-100 con longitudes de 665 (rojo) y 940 nm (infrarrojo), respectivamente.

A partir de estas longitudes de onda los equipos calculan un índice que es proporcional al contenido, de nitrógeno y hierro en hojas. Numerosos trabajos recomiendan la utilización de estos medidores para la evaluación del estado nutricional de una planta con relación al nitrógeno pudiéndose utilizar como evaluación rápida del estado nutricional de nitrógeno en los cultivos.



Interreg
España - Portugal

Fondo Europeo de Desarrollo Regional
Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional



UNIÓN EUROPEA
UNIÃO EUROPEIA

Innoace



INVESTIGACIÓN · INNOVACIÓN · TECNOLOGÍA · EMPRENDIMIENTO
INVESTIGAÇÃO · INOVAÇÃO · TECNOLOGIA · EMPREENDEDORISMO



Figura 6. Medidor de clorofila Spad Minolta 502 (foto izquierda) y ejemplo de medida en ciruelo japonés (foto derecha).



Figura 7. Medidor de clorofila Apogee MC-100 (foto izquierda) y ejemplo de medida (foto derecha).

2.2.-Medidor de la reflectancia: La reflectancia es la fracción de luz incidente específica que una superficie refleja. Los medidores de reflectancia se emplean a nivel de cubierta vegetal o en hojas individuales. La reflectancia de las hojas a la luz en cierta longitud de onda puede ser una adecuada alternativa para estimar la concentración de nitrógeno en la planta, debido a la relación que existe relación entre el contenido de clorofila en las hojas y la cantidad de nitrógeno en el tejido foliar. Dependiendo de las longitudes que se midan se pueden obtener distintos índices de vegetación, siendo los más comúnmente usados para la determinación del estado nutricional de los cultivos, NVDI (Normal Difference Vegetation Index), NVDI-G (Normalized difference vegetation index-Green). El NVDI se emplea para estimar la biomasa verde, el índice de área foliar y la fracción de radiación fotosintéticamente absorbida a partir de los valores de reflectancia de las longitudes de onda del infrarrojo cercano y del rojo. El NVDI-G es una



Interreg
España - Portugal

Fondo Europeo de Desarrollo Regional
Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional



UNIÓN EUROPEA
UNIÃO EUROPEIA

inoace



INVESTIGACIÓN · INNOVACIÓN · TECNOLOGÍA · EMPRENDIMIENTO
INVESTIGAÇÃO · INOVAÇÃO · TECNOLOGIA · EMPREENDEDORISMO

variación del índice anterior en la que en vez de utilizar los valores de longitudes de onda del rojo se utilizan los del verde y aunque su utilización es menor en que el NVDI, la banda del verde es sensible a un rango más amplio de concentraciones de clorofilas que la del rojo, por lo que es posible que este índice permita discernir mejor estados de deficiencias en las plantas. Para medir la reflectancia, El Grupo de Riego y Nutrición dispone de un equipo portátil que es el Crop Circle ACS 470.



Figura 8. Medidor de reflectancia Crop Circle ACS470 (foto izquierda) y su utilización sobre el cultivo del ciruelo japonés (foto derecha).

2.3.-Medida de carotenoides, antocianos y clorofilas: El equipo portátil Dualex® Scientific ForceA (Orsay, Francia) proporciona una estimación de los índices de clorofilas, flavonoides y antocianos de la epidermis de las hojas, sin necesitar una preparación previa de la muestra. El contenido de clorofilas se estima por medio de la relación de transmitancia en la hoja de dos longitudes de onda en las bandas roja e infrarroja del espectro. El contenido de polifenoles, se estima a través de la relación de fluorescencia de la clorofila en el infrarrojo, excitada en la banda roja y ultravioleta del espectro (Goulas et al., 2004). Dualex proporciona un índice NBI definido como la relación entre el contenido de clorofila y flavonoides. Este índice introduce el contenido en flavonoides como un factor de estrés y por lo tanto amplifica las posibles deficiencias nutricionales de la planta, por lo que es un buen indicador para detectar desórdenes nutricionales.



Figura 9. Medidor de carotenoides, antocianos y clorofilas (foto izquierda) y su utilización sobre el cultivo.



Interreg
España - Portugal

Fondo Europeo de Desarrollo Regional
Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional



UNIÓN EUROPEA
UNIÃO EUROPEIA

inoace

INVESTIGACIÓN · INOVAÇÃO · TECNOLOGÍA · EMPREENDIMENTO
INVESTIGAÇÃO · INOVAÇÃO · TECNOLOGIA · EMPREENDEDORISMO

2.4.-Porcentaje de suelo sombreado: El seguimiento de este parámetro se hace en base a la metodología descrita en tomate de industria por investigadores del Grupo de Riego y Nutrición, Carlos Campillo, et al., (2008) a través del uso de fotografía digitales y el programa informático GIMP 2.8 que calcula un índice de cobertura que es el porcentaje de suelo sombreado. Existe una estrecha relación entre el porcentaje de suelo sombreado y el estado nutricional del cultivo, ya que cuanto mayor sea éste el desarrollo de la cubierta será mayor y por tanto, mayor porcentaje de suelo sombreado.



Figura 10. Fotografía del cultivo (foto izquierda) y programa para el cálculo del índice de cobertura.

El conocimiento de los nutrientes presentes en el suelo y en el agua de riego junto con la información proporcionada por los equipos rápidos de diagnóstico nutricional permitirán establecer un plan de fertilización adaptado a las características de una zona de cultivo en concreto sin comprometer la producción y siendo respetuosos con el medio ambiente.

Interpretación de resultados

Para la interpretación de los resultados obtenidos de las muestras de suelo, agua de riego y de las medidas realizadas en plantas, se requiere de unos valores de referencia que permitan conocer el estado nutricional del cultivo y adoptar las medidas de corrección referidas a necesidades de nutrientes. Estos valores de referencia deben estar ajustados a las condiciones edafoclimáticas de la zona, cultivar y estado fenológico del cultivo. En este sentido, en CICYTEX tenemos una línea de trabajo cuya finalidad es por un lado, establecer valores de referencia de los cultivos más representativos de la región y, proporcionar herramientas de diagnóstico nutricional que permitan adecuar los programas de fertilización a las condiciones edafoclimáticas de la región, cultivar y estado fenológico del cultivo.



Interreg
España - Portugal

Fondo Europeo de Desarrollo Regional
Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional



UNIÓN EUROPEA
UNIÃO EUROPEIA

innoace



INVESTIGACIÓN · INNOVACIÓN · TECNOLOGÍA · EMPRENDIMIENTO
INVESTIGAÇÃO · INOVAÇÃO · TECNOLOGIA · EMPREENDEDORISMO

Ventajas e inconvenientes

Como cuadro resumen de las principales ventajas e inconvenientes de las distintas herramientas de diagnóstico nutricional que se han descrito en el manual, podemos destacar:

| Medidas | Ventajas | Inconvenientes |
|----------------------------------|---|---|
| Análisis de suelo | Facilidad toma de muestra | Laboratorio analítico |
| Análisis de agua de riego | Facilidad toma de muestra | Laboratorio analítico |
| Análisis foliar | Facilidad toma de muestra | Laboratorio analítico Método destructivo |
| Análisis de savia | Resultado inmediato y preciso Medida en peciolo | Método destructivo Requiere equipo |
| SPAD Minolta 502 | Resultado inmediato y preciso Medida en hoja | Requiere equipo |
| Crop Circle ACS 470 | Resultado inmediato y preciso Medida en cubierta | Requiere equipo |
| Dualox Scientific ForceA | Resultado inmediato y preciso Medida en hoja | Requiere equipo |
| Suelo sombreado | Facilidad toma de muestra Software libre | Conocimiento procesado fotos |

Cuadro 1. Ventajas e inconvenientes de distintas herramientas de diagnóstico nutricional.

Agradecimientos

Este trabajo forma parte de las tareas desarrolladas dentro del PROYECTO 0049_INNOACE_4_E “Innovación abierta e inteligente en la EUROACE T2.1.6. “Gestión eficiente de la fertilización en plantaciones frutales de regadío”. Cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) a través del Programa Interreg V-A España-Portugal (POCTEP) 2014-2020 y dentro del proyecto CCESAGROS, cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER).

Bibliografía

Campillo, C.; Prieto, M.H.; Daza, C.; Moñino, M.J.; García, M.I. 2008. Using digital images to characterize canopy coverage and light interception in a processing tomato crop. HortScience, 43(6): 1780-1786.

Directiva 91/676/CEE. Directiva del Consejo de 12 de diciembre de 1991, relativa a la protección de las aguas contra la contaminación producida por nitratos utilizados en la agricultura.

Jomaa, A.B. 2002. Clorosis férrica: Respuesta de las plantas y métodos de corrección. Tesis Doctoral. Zaragoza.

Goulas, Y.; Cerovic, Z.G.; Cartelat, A.; Moya, I. 2004. Dualex: a new instrument for field measurements of epidermal ultraviolet absorbance by chlorophyll fluorescence. APPLIED OPTICS . 43 (23), 4488-4496.

Markwell, J.; Osterman, J.C.; Mithell, J.L. 1995. Calibration of the Minolta SPAD-502 leaf chlorophyll meter. Photosynthesis Research (46) 467–472.

Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. MAPA. Anuario de estadística 2019. <https://www.mapa.gob.es/es/estadistica/temas/publicaciones/anuario-de-estadistica/2019/default.aspx?parte=3&capitulo=07&grupo=9&seccion=11>

Orden 7 de marzo de 2003, por la que se declaran zonas vulnerables a la contaminación por nitratos de origen agrario en la Comunidad Autónoma de Extremadura.

ORDEN de 9 de marzo de 2009 por la que se aprueba el Programa de Actuación aplicable en las zonas vulnerables a contaminación por nitratos procedentes de fuentes agrarias en Extremadura.

Orden de 4 de marzo de 2019 por la que se declaran las zonas vulnerables a la contaminación por nitratos de origen agrario en la Comunidad Autónoma de Extremadura.