



# UNIVERSIDAD DE LA RIOJA

## TESIS DOCTORAL

Título
<b>Análisis de limbo y pecíolo para el diagnóstico nutricional de la vid (<i>Vitis vinifera</i> L.), cv. Tempranillo</b>
Autor/es
<b>Izaskun Romero Laibarra</b>
Director/es
Enrique García-Escudero Domínguez y Ignacio Martín Rueda
Facultad
Facultad de Ciencias, Estudios Agroalimentarios e Informática
Titulación
Departamento
Agricultura y Alimentación
Curso Académico
2014-2015



**Análisis de limbo y pecíolo para el diagnóstico nutricional de la vid (*Vitis vinifera* L.), cv. Tempranillo**, tesis doctoral  
de Izaskun Romero Laibarra, dirigida por Enrique García-Escudero Domínguez y Ignacio Martín Rueda (publicada por la Universidad de La Rioja), se difunde bajo una Licencia Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 3.0 Unported. Permisos que vayan más allá de lo cubierto por esta licencia pueden solicitarse a los titulares del copyright.

© El autor  
© Universidad de La Rioja, Servicio de Publicaciones, 2015  
publicaciones.unirioja.es  
E-mail: publicaciones@unirioja.es



**Gobierno  
de La Rioja**



Instituto de  
Ciencias de la  
Vid y del Vino

**Tesis Doctoral**

**Análisis de limbo y pecíolo**

**para el diagnóstico nutricional de la vid**

**(*Vitis vinifera* L.), cv. Tempranillo**

Izaskun Romero Laibarra

Universidad de La Rioja, julio de 2015



Los abajo firmantes, Dr. Enrique García-Escudero Domínguez y Dr. Ignacio Martín Rueda, Investigadores del Servicio de Investigación y Desarrollo Tecnológico Agroalimentario del Gobierno de la Rioja y del Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino,

**HACEN CONSTAR:**

Que el trabajo titulado: “**Análisis de limbo y pecíolo para el diagnóstico nutricional de la vid (*Vitis vinifera* L.), cv. Tempranillo**”, que presenta **D<sup>a</sup> IZASKUN ROMERO LAIBARRA**, ha sido realizado en el Servicio de Investigación y Desarrollo Tecnológico y Agroalimentario del Gobierno de La Rioja, bajo nuestra dirección, y que reúne las condiciones exigidas para optar al grado de Doctora.

Para que conste a los efectos oportunos, expedimos el presente Certificado.

Logroño, a 27 de julio de 2015.

Dr. Enrique García-Escudero Domínguez

Dr. Ignacio Martín Rueda



Los trabajos recogidos en la presente tesis fueron financiados por los proyectos INIA SC 00-016: “Determinación de las necesidades de elementos minerales en la vid (*Vitis vinifera* L.). Influencia de los factores de la producción vitícola en el estado nutricional del viñedo”, así como por los proyectos Comunidad de La Rioja R-01-03, R-01-04, R-03-05: “Contribución al establecimiento y verificación de los niveles foliares de referencia en viñedos de la DOCa Rioja. Valoración de la incidencia de diferentes factores culturales en el nivel de nutrición”. Mi participación en dichos proyectos fue financiada mediante dos becas de la Consejería de Agricultura, Ganadería y Medioambiente del Gobierno de La Rioja: una Beca FPI sobre “Conducción del viñedo” (Orden 37/2002), y una Beca Predoctoral sobre “Evaluación del estado nutricional de *Vitis vinifera*, L. variedad Tempranillo, en el ámbito de la Denominación de Origen Calificada Rioja, y desarrollo de herramientas para el diagnóstico nutricional” (Orden 39/2008)



## **Agradecimientos**

*A los doctores Enrique García Escudero Domínguez e Ignacio Martín Rueda, que al poner en mis manos la escritura de esta tesis me hicieron un gran regalo, casi tan grande como la confianza que han mantenido en mí durante todo este tiempo.*

*A la red de colaboradores: asociaciones, viticultores, cooperativas, bodegas, empresas, entidades y sindicatos de agricultores que prestaron sus viñedos y su trabajo para este proyecto*

*A las personas a cuyo trabajo se debe esta tesis: Diego López, Olga Zaballa, Gemma González, Maite Villar, Cristina García, Sergio Ibáñez, Isabel Lorenzo, Ana Mangado, Natalia Domínguez, Ana Benito, Mikel Colina, Laura López, estudiantes en prácticas de la Universidad de La Rioja, así como al personal de la Sección de Viticultura y Enología del CIDA y al personal del Laboratorio Regional de la Comunidad Autónoma de La Rioja, en especial a M<sup>a</sup> Carmen Arroyo. A Fernando Pavón por el mapa, y a Ignacio, otra vez, por convencerme, con sus innumerables correcciones e infinitos ánimos, de que esta tesis se podía y debía terminar.*

*Ha pasado mucho tiempo desde que comencé a trabajar en lo que ha terminado siendo esta tesis. A lo largo de estos años, unos buenos y otros no tanto, muchas personas me han cuidado, me han querido y me han ayudado a seguir adelante. A todas ellas, a quienes quiero y me quieren, a mis amigas y amigos, a Romeros y Laibarras. Lo celebraremos, no lo duden.*

*Nere gurasoei, Mikel eta Inmari, eta etortzeko den ilobatxoari.*



## PUBLICACIONES

Los trabajos recogidos en la presente tesis han dado lugar a las siguientes publicaciones:

- Romero, I., García-Escudero, E., Martín, I. 2010. Effects of leaf position on blade and petiole mineral nutrient concentration of Tempranillo grapevine (*Vitis vinifera* L.). American Journal of Enology and Viticulture, 61: 544-550.
- Romero, I., García-Escudero, E., Martín, I. 2013. Leaf blade vs. petiole analysis for nutritional diagnosis of *Vitis vinifera* L. cv. Tempranillo. American Journal of Enology and Viticulture, 64: 50-64.
- García-Escudero, E., Romero, I., Benito, A., Domínguez, N., Martín, I. 2013. Reference levels for leaf nutrient diagnosis of cv. 'Tempranillo' grapevine (*Vitis vinifera* L.) in the Rioja appellation. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 44: 645-654.
- Romero, I., Benito, A., Domínguez, N., García-Escudero, E., Martín, I. 2014. Leaf blade and petiole nutritional diagnosis for *Vitis vinifera* L. by deviation from optimum percentage method. Spanish Journal of Agricultural Research, 12: 206-214.
- Martín, I., Benito, A., Romero, I., Domínguez, N., García-Escudero, E. 2013. Preliminary DRIS norms for leaf nutrient diagnosis of 'Tempranillo' grapevine (*Vitis vinifera* L.) in the Rioja Appellation. Communications in soil science and plant analysis, 44: 455-677.
- Martín, I., Romero, I., Domínguez, N., Benito, A., García-Escudero, E. 2015. Comparison of DOP and DRIS methods for leaf nutritional diagnosis of *Vitis vinifera* L., cv. 'Tempranillo'. Communications in soil science and plant analysis: Aceptado.



# INDICE

## **I. INTRODUCCIÓN ..... 1**

<b>I.1.- NUTRIENTES ESENCIALES Y SU PAPEL EN EL VIÑEDO .....</b>	<b>5</b>
I.1.1.- NITRÓGENO .....	6
I.1.2.- FÓSFORO .....	7
I.1.3.- POTASIO .....	8
I.1.4.- CALCIO.....	10
I.1.5.- MAGNESIO.....	10
I.1.6.- HIERRO.....	11
I.1.7.- MANGANESO .....	12
I.1.8.- COBRE .....	13
I.1.9.- ZINC .....	13
I.1.10.- BORO .....	14
<b>I.2.- MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO NUTRICIONAL .....</b>	<b>14</b>
I.2.1.- DIAGNÓSTICO VISUAL .....	14
I.2.2.- ANÁLISIS DE SUELO.....	15
I.2.3.- ANÁLISIS DE PLANTA.....	16

## **II. OBJETIVOS..... 19**

## **III. ESTRATEGIAS DE MUESTREO PARA EL DIAGNÓSTICO NUTRICIONAL DE LA VID ..... 23**

<b>III.1.- ANTECEDENTES .....</b>	<b>25</b>
III.1.1.- EVOLUCIÓN ESTACIONAL DE LA CONCENTRACIÓN DE NUTRIENTES EN LIMBO Y PECÍOLO DE VID .....	25
III.1.1.1.- Nitrógeno .....	25
III.1.1.2.- Fósforo .....	26
III.1.1.3.- Potasio.....	26
III.1.1.4.- Calcio .....	27
III.1.1.5.- Magnesio .....	28
III.1.1.6.- Hierro .....	28
III.1.1.7.- Manganeso .....	28
III.1.1.8.- Cobre.....	29
III.1.1.9.- Zinc .....	29
III.1.1.10.- Boro.....	29
III.1.2.- VARIACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE NUTRIENTES EN FUNCIÓN DE LA POSICIÓN DE LA HOJA EN EL PÁMPANO .....	30
III.1.3.- ELECCIÓN DE LA ESTRATEGIA DE MUESTREO .....	31
III.1.3.1.- Estrategias adoptadas a lo largo del tiempo .....	31
III.1.3.2.- Elección de tejido y estado fenológico.....	33

<b>III.2.- INCIDENCIA DE LA POSICIÓN DE LA HOJA EN EL PÁMPANO.....</b>	<b>35</b>
III.2.1.- MATERIALES Y MÉTODOS .....	37
III.2.1.1.- Descripción y manejo de los viñedos.....	37
III.2.1.2.- Descripción del ensayo .....	39
III.2.1.3.- Determinación de la concentración de nutrientes en limbo y pecíolo.....	41
III.2.1.4.- Tratamiento estadístico .....	41
III.2.2.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	42
III.2.2.1.- Evolución estacional de la concentración de nutrientes.....	42
III.2.2.2.- Influencia de la Posición del Limbo en su composición mineral.....	46
III.2.2.3.- Influencia de la posición del Pecíolo en su composición mineral.....	48
III.2.2.4.- Reproducibilidad de los resultados .....	51
<b>III.3.- PERÍODOS DE ESTABILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD DE RESULTADOS EN LIMBO Y PECÍOLO. 53</b>	<b>53</b>
III.3.1.- MATERIALES Y MÉTODOS .....	53
III.3.1.1.- Descripción y manejo del viñedo experimental .....	53
III.3.1.2.- Climatología y Fenología.....	55
III.3.1.3.- Descripción del ensayo .....	57
III.3.1.4.- Determinación de la concentración de nutrientes en limbo y pecíolo.....	59
III.3.1.5.- Tratamiento Estadístico.....	59
III.3.2.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	61
III.3.2.1.- Evolución estacional de la concentración de nutrientes.....	61
III.3.2.2.- Identificación de períodos de estabilidad.....	78
III.3.2.3.- Variabilidad de la concentración de nutrientes en limbo y pecíolo.....	87
<b>III.4.- CONCLUSIONES DEL CAPÍTULO .....</b>	<b>93</b>

**IV. NIVELES FOLIARES DE REFERENCIA PARA LA VID CV. TEMPRANILLO EN EL ÁMBITO DE LA DOCA RIOJA..... 95**

<b>IV.1.- ANTECEDENTES.....</b>	<b>97</b>
IV.1.1.- INTERPRETACIÓN DEL ANÁLISIS.....	97
IV.1.1.1.- Valor crítico .....	97
IV.1.1.2.- Rangos de Suficiencia .....	98
IV.1.1.3.- Desviación del Óptimo Porcentual (DOP) .....	99
IV.1.1.4.- Sistema Integrado de Diagnóstico y Recomendación (DRIS).....	100
IV.1.2.- ESTABLECIMIENTO DE VALORES O NORMAS DE REFERENCIA .....	103
IV.1.2.1.- Estado nutricional y contenido mineral en planta .....	104
IV.1.2.2.- Producción y contenido mineral en planta .....	105
IV.1.2.3.- Calidad de la uva y concentración de nutrientes en planta.....	106
<b>IV.2.- MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>108</b>
IV.2.1.- POBLACIÓN MUESTRAL.....	108
IV.2.1.1.- Características de cultivo de los viñedos.....	110
IV.2.1.2.- Suelo.....	110
IV.2.1.3.- Unidad de muestreo.....	110
IV.2.2.- PROCESADO DE LAS MUESTRAS .....	110
IV.2.3.- ANÁLISIS MINERAL .....	111
IV.2.4.- PROCEDIMIENTO ESTADÍSTICO .....	111
IV.2.4.1.- Selección de datos utilizados para determinación de niveles de referencia .....	111

IV.2.4.2.- Cálculo de Normas de Referencia .....	112
<b>IV.3.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>116</b>
IV.3.1.- RANGOS DE SUFICIENCIA .....	116
IV.3.1.1.- Obtención de las referencias.....	116
IV.3.1.2.- Discusión .....	118
IV.3.2.- DESVIACIÓN DEL ÓPTIMO PORCENTUAL - DOP .....	120
IV.3.2.1.- Obtención de las referencias.....	120
IV.3.2.2.- Discusión .....	121
IV.3.3.- SISTEMA INTEGRADO DE DIAGNÓSTICO Y RECOMENDACIÓN - DRIS .....	126
IV.3.3.1.- Obtención de Normas DRIS .....	126
IV.3.3.2.- Capacidad discriminante de las relaciones entre nutrientes .....	131
IV.3.4.- DOP vs. DRIS .....	134
IV.3.4.1.- $\sum  DOP_i $ vs. $NBI_{DRIS}$ .....	135
IV.3.4.2.- Relación entre los índices individuales DRIS y DOP .....	137
<b>IV.4.- CONCLUSIONES DEL CAPÍTULO.....</b>	<b>139</b>

**V. BIBLIOGRAFÍA..... 141**

**VI. ANEXOS..... I**

<b>VI.1.- MÉTODOS DE ANÁLISIS Y DETERMINACIÓN .....</b>	<b>III</b>
VI.1.1.- CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DEL SUELO .....	III
VI.1.2.- CALIDAD DEL MOSTO .....	V
<b>VI.2.- ENCUESTAS DE CARACTERIZACIÓN DE LOS VIÑEDOS ESTUDIADOS PARA LA DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES DE REFERENCIA. ....</b>	<b>VII</b>
VI.2.1.- ENCUESTA INICIAL.....	VII
VI.2.2.- ENCUESTA ANUAL .....	XIX



*En cuanto a la tierra seca, pedregosa y granada, predomina en ella el frío y la sequedad, y se adapta bien a la aplicación de estiércol maduro, así como recibe bien el agua. Se dan bien en ella los frutales como el alfónsigo, el nogal, el almendro; la higuera se da en ella, pero prefiere tierra montaraz; también prosperan en ella el rosal, los perales... **las vides, sobre todo.***

Ibn Bassál, s XI. Libro de Agricultura.



# **I. Introducción**

---



El viñedo de transformación en España ocupa una superficie de 954.020 ha (MAGRAMA, 2013), lo cual le otorga la condición de primer país del mundo en lo que a superficie vitícola se refiere. Según las estadísticas del consejo Regulador de la DOCa Rioja, la superficie de viñedo de vinificación registrada en esta Denominación de Origen Calificada era de 62.153 ha en ese mismo año. Para dar una idea de la importancia del sector, basta señalar que el vino y sus subproductos suponían en 2010 un tercio de la producción final agraria en la Comunidad Autónoma de La Rioja (Tabla 1).

**Tabla 1.-** Aportación de la industria vitivinícola a la producción final agraria (PFA) de la C.A. de La Rioja. Año 2010 (Gobierno de La Rioja, 2013).

C.A. La Rioja	Producción Total	Reemplazo en el sector	Aportación a PFA	
	miles de €	miles de €	miles de €	%
Total Subsector Agrícola	355.171	7.024	348.147	79,36%
<b>Vinos y Subproductos</b>	<b>150.312</b>	-	<b>150.312</b>	<b>34,26%</b>
Total Subsector Ganadero	98.751	11.538	87.213	19,88%
Total Subsector Forestal	3.692	371	3.321	0,76%
Producción Final Agraria	457.615	18.933	438.682	100%

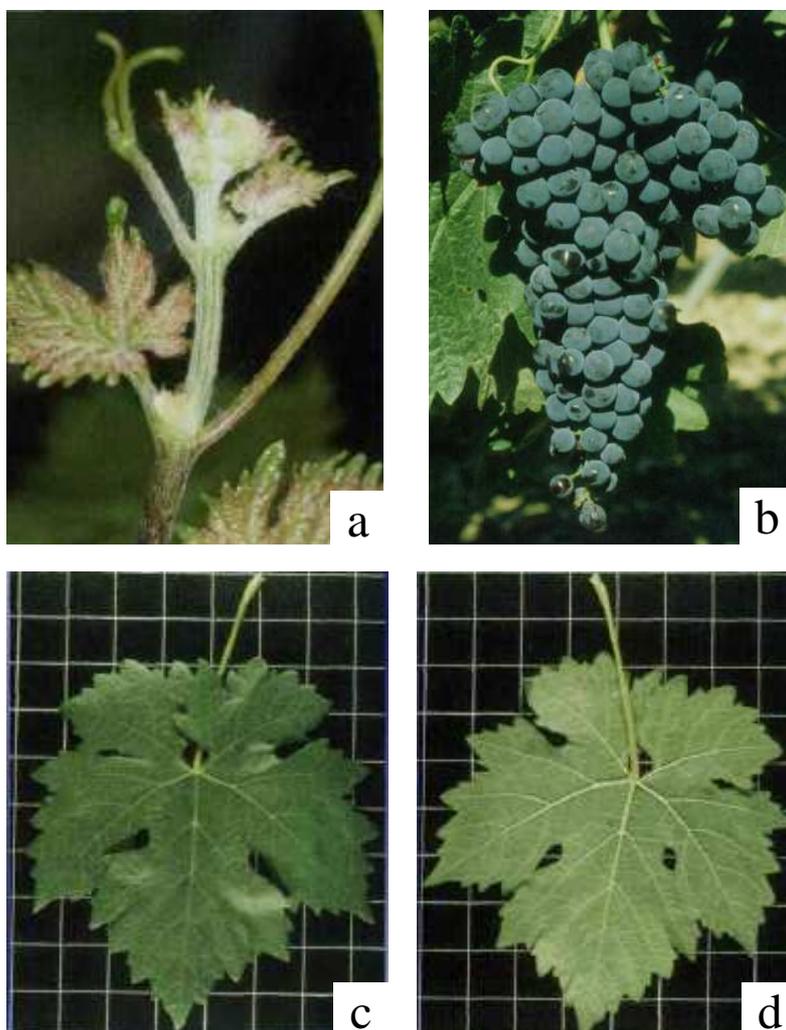
La vid es considerada un cultivo poco exigente en cuanto a sus requerimientos de nutrientes, y posee cierta capacidad para adaptarse a una amplia gama de suelos de diversa fertilidad. Sin embargo, los problemas que derivan de una fertilización desequilibrada pueden representar un alto coste en términos económicos, de producción, calidad del producto final y de respeto al medio ambiente. Como ejemplos, pueden citarse la caída de pH de los mostos asociada al exceso de fertilización potásica o la problemática asociada a la contaminación de acuíferos por nitratos.

En este contexto, la fertilización racional debería tener como objetivo básico proporcionar a la planta una nutrición mineral equilibrada, que garantice el crecimiento vegetativo y una producción de calidad, respetando el medio ambiente. Para ello, se debe asegurar el mantenimiento del estado nutricional del viñedo cercano a un nivel óptimo previamente definido.

En la definición de dicho nivel óptimo, debería tenerse en cuenta que la concentración de cada nutriente en un tejido depende de un amplio abanico de factores ambientales, culturales y genéticos, entre los que se cuentan la variedad, el portainjerto o el régimen hídrico.

Por esta razón, se considera adecuado el establecimiento de referencias nutricionales locales ajustándolas, en la medida de lo posible, a cada combinación de variedad y portainjerto, e incluso en función de las técnicas de cultivo y el producto a obtener.

El cv. Tempranillo es la variedad de vid con mayor implantación en la DOCa Rioja, con un 80,97% de la superficie total inscrita (CRDOCa Rioja, 2012), y ocupa el segundo lugar, tras ‘Airén’, entre las cultivadas en España. El portainjerto 110-R (*Vitis berlandieri* x *Vitis rupestris*) es uno de los más habitualmente empleados en la viticultura mediterránea, siendo el más difundido en la viticultura española y en la DOCa Rioja (Figura 1).



**Figura 1.-** Vid variedad Tempranillo. Sumidad (a), racimo (b), hoja: haz (c) y envés (d) (MAPA, 2003)

## **I.1.- NUTRIENTES ESENCIALES Y SU PAPEL EN EL VIÑEDO**

El término “elemento mineral esencial” o “nutriente mineral” fue propuesto por Arnon y Stout (1939). Estos autores concluyeron que para ser reconocido como nutriente, un elemento mineral debería cumplir tres requisitos (Jones, 1998):

- La ausencia del elemento debe provocar un crecimiento anómalo, imposibilidad de completar el ciclo vital, o la muerte prematura de la planta.
- La exigencia en el elemento ha de ser específica, no pudiendo ser reemplazado por otro nutriente en sus funciones metabólicas.
- Los elementos deben tener una influencia directa en el crecimiento o en el metabolismo, independientemente de efectos indirectos en la corrección de condiciones desfavorables del medio externo o antagonizar el efecto tóxico de otros elementos químicos.

Los elementos minerales esenciales, también llamados nutrientes esenciales o simplemente nutrientes - el término nutriente implica ya la esencialidad (Barker y Pilbeam, 2007) -, se clasifican de forma general en macronutrientes y micronutrientes, distinción hecha considerando simplemente las cantidades de los mismos extraídas y requeridas por la planta. Otra categoría a señalar sería la de los elementos beneficiosos: sodio, silicio, cobalto, vanadio, que son aquellos que pueden reemplazar a los nutrientes en alguna de sus funciones menos específicas pero que no han probado su esencialidad, a pesar de haber demostrado efectos agronómicos positivos o de haber probado su esencialidad tan sólo en el caso de algunas especies (Marschner, 1995).

Mientras carbono, oxígeno e hidrógeno son obtenidos por las plantas a partir del aire y del agua, el resto de nutrientes se encuentran en un estado de equilibrio dinámico en el suelo, siendo tomados por las raíces de la solución del suelo y transportados a la planta mediante el flujo de agua generado en la transpiración (Delas, 2000).

Fregoni (1980) señala para la vid (*Vitis vinifera* L.) una división entre macronutrientes primarios: nitrógeno, fósforo, potasio; y secundarios: magnesio, calcio, azufre. El criterio de división se basa en que el suelo posee normalmente una dotación suficiente de estos últimos para cubrir las necesidades de la planta y no suele ser necesario aportarlos en fertilización. Sin embargo, no todos los nutrientes denominados secundarios están siempre disponibles y así, en viñedos cultivados en suelos ácidos, se

han observado carencias de magnesio (Skinner y Matthews, 1991). Las formas iónicas más habituales en el suelo de macro y micronutrientes se muestran en la Tabla 2.

**Tabla 2.-** Macro y micronutrientes y sus principales formas iónicas en el suelo (Adaptada de White, 2009).

Macronutriente	Formas iónicas	Micronutriente	Formas iónicas
Carbono (C)	$\text{HCO}_3^-$ , $\text{CO}_3^{2-}$	Hierro (Fe)	$\text{Fe}^{3+}$
Hidrógeno (H)	$\text{H}^+$	Manganeso (Mn)	$\text{Mn}^{4+}$ , a veces $\text{Mn}^{2+}$
Oxígeno (O)	$\text{H}_2\text{O}$ e iones varios ( $\text{OH}^-$ , $\text{NO}_3^-$ , $\text{SO}_4^{2-}$ )	Zinc (Zn)	$\text{Zn}^{2+}$
Nitrógeno (N)	$\text{NH}_4^+$ , $\text{NO}_3^-$	Cobre (Cu)	$\text{Cu}^{2+}$
Fósforo (P)	$\text{H}_2\text{PO}_4^-$ , $\text{HPO}_4^{2-}$	Boro (B)	$\text{H}_3\text{BO}_3$ , $\text{B}(\text{OH})_4^-$
Potasio (K)	$\text{K}^+$	Molibdeno (Mo)	$\text{MoO}_4^{2-}$
Calcio (Ca)	$\text{Ca}^{2+}$	Cloro (Cl)	$\text{Cl}^-$
Magnesio (Mg)	$\text{Mg}^{2+}$		
Azufre (S)	$\text{SO}_4^{2-}$		

### I.1.1.- NITRÓGENO

Éste nutriente, probablemente el más requerido por la vid durante el período de crecimiento (Peacock y col., 1991), se absorbe en forma nítrica ( $\text{NO}_3^-$ ) o amoniacal ( $\text{NH}_4^+$ ). Es un componente estructural de las plantas, formando parte de aminoácidos y proteínas, coenzimas y ácidos nucleicos (Taiz y Zeiger, 2002), así como de la molécula de clorofila, entre otras. Se desplaza vía floema en forma preferentemente amoniacal, o como parte de distintos compuestos orgánicos (Marschner, 1995).

El nitrógeno estimula la síntesis proteica, favoreciendo tanto el aumento de la superficie foliar como la formación de clorofila, estimulando así la producción de fotosintatos. Por otra parte, el desarrollo vegetativo inducido por el nitrógeno alcanza también a los órganos de reserva – tronco, pámpanos y raíces - mejorando la capacidad de almacenamiento de nitrógeno y carbohidratos, que pueden ser removilizados. El desarrollo radicular propicia no sólo la absorción de nitrógeno, sino también la de agua y otros nutrientes (Bell y Henschke, 2005). Se trata por tanto de un nutriente cuya carencia se caracteriza por un vigor insuficiente mientras que un exceso favorece un desarrollo vegetativo y vigor excesivos (Champagnol, 1984).

Los síntomas de carencia de nitrógeno no son frecuentes en el viñedo de vinificación, cuyas necesidades pueden considerarse moderadas (Delas, 2000), y tampoco se manifiestan con

malformaciones específicas de órganos (Pearson y Goheen, 1996). Sin embargo, existen algunos fenómenos típicos, asociados a la reducción general del vigor de las plantas de vid. El desarrollo vegetativo y radicular disminuye, produciéndose un acortamiento de los entrenudos (Fregoni, 1985). Las hojas, de menor tamaño de lo normal, manifiestan habitualmente un color verde pálido, y tanto pecíolos como pámpanos pueden mostrar coloraciones rojizas (MAPA, 2003). Al tratarse de un nutriente fácilmente móvil vía floema, las hojas basales, más viejas, suelen mostrar los síntomas de carencia antes que las más jóvenes (Pearson y Goheen, 1996). También se ha descrito como síntoma el amarilleamiento uniforme de las hojas (White, 2009).

El aporte de nitrógeno puede resultar favorable o desfavorable para la calidad de la vendimia en función del equilibrio previo entre desarrollo vegetativo y productivo. Puede contribuir a una mejora de la calidad cuando hace posible un aumento de la relación entre superficie foliar expuesta (SFE) y peso de fruto (Smart y Robinson, 1991). Sin embargo, un aumento de vigor excesivo, que no vaya acompañado de cambios en sistema de conducción del viñedo, puede acarrear un aumento en el número de capas foliares, lo que a su vez inducirá una menor relación entre SFE e índice de área foliar (LAI) y un mayor sombreado de los racimos (Bell y Henschke, 2005), así como un retraso en la parada de crecimiento (Delas, 2000) y en la maduración (Spayd y col., 1993). Estos factores pueden ser, a su vez, causa del retraso en la acumulación de azúcares (Martín y col., 2004) y del descenso de la concentración de antocianos (Keller y col., 1999) y otros compuestos fenólicos (Delas, 2000), con la consiguiente pérdida de color en el mosto y vino.

### **I.1.2.- FÓSFORO**

El fósforo, absorbido preferentemente como  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ , es un componente estructural de los tejidos vegetales, formando parte de ácidos nucleicos y fosfolípidos de membrana, y representa un papel fundamental en el metabolismo energético al formar enlaces pirofosfato (P-O-P) de elevada energía, en moléculas tales como el ATP. Asimismo, puede encontrarse en forma de fosfato inorgánico (Pi), almacenado fundamentalmente en las vacuolas, que actúan como tampón de la concentración de Pi en el citoplasma. Se trata de un nutriente con alta movilidad en el floema (Marschner, 1995).

A pesar de sus múltiples funciones en la planta, las necesidades de la vid en este elemento son relativamente bajas y, normalmente, pueden ser abastecidas a partir de la dotación del suelo (Delas, 2000) ya que es difícil encontrar sustratos totalmente desprovistos de fósforo (Champagnol, 1984). En este sentido, cabe señalar el papel que pueden jugar las micorrizas en la absorción de fósforo, especialmente en suelos con baja disponibilidad en este nutriente (Schreiner, 2004).

Debido a esto, los síntomas de carencia, como el enrojecimiento de pecíolos (Delas, 2000), han sido descritos habitualmente en condiciones controladas. En tales casos, las hojas son pequeñas y de color verde oscuro (Pearson y Goheen, 1996) o bronceo (White, 2009). La carencia de este nutriente puede producirse en suelos de pH bajo (Grant y Matthews, 1996) o muy alcalino. En estos casos, se aprecia una mala lignificación de los sarmientos, que puede ser atribuida a una baja relación P/N en los brotes. Otro de los efectos de la carencia de este nutriente es el escaso desarrollo radicular (Fregoni, 1980). Las hojas toman un color oscuro al principio, después pálido, con la aparición de manchas circulares que terminan en necrosis, pudiendo llegar la planta a defoliarse (MAPA, 2003).

Los efectos correctores de la fertilización con fósforo sólo se hacen visibles en viñedos cultivados en condiciones de muy baja disponibilidad de este nutriente, provocando en ellos un aumento del desarrollo vegetativo (Champagnol, 1984). Un exceso de P puede inducir desequilibrios y dificultad de absorción o traslocación de otros elementos como, por ejemplo, Fe y Zn (Fregoni, 1980).

### **I.1.3.- POTASIO**

El potasio es un elemento esencial para todos los organismos vivos. El  $K^+$  es el catión más abundante en el citoplasma, y se caracteriza por una alta movilidad en la planta a todos los niveles: entre células, entre tejidos y en el transporte a larga distancia vía xilema y floema (Marschner, 1995). Las funciones fisiológicas y bioquímicas más importantes del potasio en las plantas son: la neutralización de aniones, esencial en el mantenimiento del potencial de membrana; el transporte y traslocación de asimilados a través de las membranas; la activación enzimática y la regulación del potencial osmótico, uno de los mecanismos más importantes para el control de las relaciones hídricas, el mantenimiento de la turgencia y el crecimiento de las plantas (Mpelasoka y col., 2003).

Los síntomas de carencia de potasio son relativamente frecuentes, especialmente en climas cálidos, y suelen manifestarse en torno al envero, cuando la hoja adquiere un aspecto brillante, llegando a hacerse coriácea, combándose hacia el haz (MAPA, 2003; White, 2009). Al principio se produce una decoloración, de color amarillento en las variedades blancas y rojizas en las tintas, que se inicia en los márgenes de la hoja para extenderse después a la zona internervial, especialmente en períodos de sequía (Figura 2).

Considerando la movilidad de este nutriente en la planta cabría suponer que los síntomas de carencia deberían aparecer en primer término sobre las hojas basales. Sin embargo, la literatura recoge que estos síntomas comienzan a manifestarse en las hojas jóvenes (Champagnol, 1984; Delas, 2000), facilitando tal característica la diferenciación de la carencia de magnesio, que suele iniciarse en hojas basales (MAPA, 2003).



**Figura 2.-** Sintomatología de carencia de potasio en vid variedad Tempranillo (Foto: S.I.D.T.A.)

El potasio se redistribuye desde las estructuras vegetativas de la cepa, principalmente desde las hojas hacia los racimos, a medida que el crecimiento estacional progresa (Conradie, 2005). La insuficiente nutrición potásica conlleva una reducción del rendimiento y de la calidad de la vendimia, ya que la concentración de azúcares en el mosto disminuye y su acidez aumenta en exceso. Por el contrario, el exceso de este nutriente conlleva en muchas ocasiones una pérdida de acidez en los mostos y vinos (Delas, 2000) ya que es el catión mayoritario en el mosto y, junto con los ácidos málico y tartárico, determina el equilibrio ácido-base del mismo y, por tanto, su pH (Boulton, 1980).

Esta pérdida de acidez es un problema que preocupa a viticultores y enólogos de muy diversas zonas vitícolas, como Francia (Soyer, 2005) o Australia (Mpelasoka y col., 2003). En nuestro entorno vitícola más inmediato, la DOCa Rioja, los niveles de pH en la variedad Tempranillo se han incrementado desde valores del orden de 3,4 en los años 70 del siglo XX, hasta valores de 3,7 a 3,8, bastante habituales en la actualidad (Hidalgo, 2005). Tal circunstancia suele obligar a ajustar el pH durante la vinificación, generalmente mediante la adición de ácido tartárico. Sin embargo, las elevadas concentraciones de potasio pueden llevar también a la precipitación del ácido tartárico añadido, dificultando y encareciendo el ajuste del pH del vino. Por tanto, asegurar un bajo nivel de potasio en las bayas contribuirá a reducir los costes de elaboración (Mpelasoka y col., 2003).

#### **I.1.4.- CALCIO**

El calcio se encuentra en los tejidos vegetales en forma de  $\text{Ca}^{2+}$  y, a diferencia de otros nutrientes, la mayor parte del mismo suele hallarse en el apoplasto, ligado a las estructuras de pared celular o a la parte externa de la membrana plasmática, estabilizando la pared y la permeabilidad de la membrana celular, actuando asimismo como cofactor enzimático. La mayoría del calcio libre se almacena en las vacuolas, mientras su concentración en el citosol es extremadamente baja. En los últimos años, se ha estudiado su papel como mensajero secundario en la respuesta de la planta a factores ambientales. Se trata de un elemento prácticamente inmóvil vía floema (Marschner, 1995).

Los síntomas de deficiencia de calcio son muy poco comunes en la vid, pero puede ocurrir en suelos fuertemente ácidos, con pH por debajo de 4,5. Estos síntomas suelen localizarse en hojas jóvenes o apicales, en las que se produce una clorosis marginal internervial, seguida de necrosis puntuales cerca del borde, que avanzaría hacia la zona de inserción peciolar. Las hojas se encorvan hacia el haz y los ápices vegetativos pueden desecarse. Por otro lado, pueden aparecer motas de color marrón oscuro de hasta 1 mm de diámetro en la corteza primaria del entrenudo, y los racimos en crecimiento podrían secarse con un aspecto similar a una necrosis severa del raquis (Pearson y Goheen, 1996; MAPA, 2003). También se ha descrito la desecación y caída de los ápices caulinares en crecimiento (White, 2009).

#### **I.1.5.- MAGNESIO**

El magnesio se encuentra como ión divalente  $\text{Mg}^{2+}$  en los tejidos vegetales. Forma parte de la clorofila y de las paredes celulares y juega un importante papel como activador enzimático. Al igual que el fósforo inorgánico o el calcio, es almacenado en las vacuolas para regular su nivel en el citoplasma (Marschner, 1995). Se trata de un elemento capaz de movilizarse en la planta en respuesta a deficiencias (Taiz y Zeiger, 2002).

Resulta elevada la frecuencia de aparición de síntomas de carencia en este nutriente asociada a su antagonismo con el potasio. Los síntomas de carencia de magnesio en vid suelen manifestarse en forma de clorosis, amarilla muy pálida en variedades blancas y roja violeta en las tintas, confinada en la zona internervial. Las deficiencias comienzan normalmente en las hojas basales poco antes de la floración, en forma de manchas próximas al borde del limbo y en el tejido internervial de las hojas jóvenes (Pearson y Goheen, 1996; MAPA, 2003). Si la carencia es severa, la necrosis puede extenderse desde los márgenes de la hoja hacia el interior de la misma (White, 2009).

### I.1.6.- HIERRO

Este nutriente se absorbe como  $\text{Fe}^{2+}$  o en formas queladas (Navarro y Navarro, 2003). La forma  $\text{Fe}^{3+}$ , más abundante en condiciones oxidantes, no es absorbida directamente por la planta, pero exudados de agentes quelantes por parte de las raíces, o procesos rédox en la zona radicular, le convierten en una fuente potencial de hierro asimilable. El hierro se encuentra en las plantas ligado o incorporado a estructuras que permitan reacciones rédox controladas, entre  $\text{Fe}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$ . Entre ellas, se encuentran las proteínas hemo y otras enzimas. Este elemento interviene en la síntesis de la molécula de clorofila, como constituyente de la molécula proteica del citocromo, lo que implica un papel fundamental en la fotosíntesis. El hierro es necesario para la síntesis proteica, especialmente en el cloroplasto. Las formas iónicas libres son inmóviles en planta, y el transporte vía xilema se realiza fundamentalmente en forma de complejos de  $\text{Fe}^{3+}$ , como quelatos de ácido cítrico (Marschner, 1995).

La deficiencia de este nutriente, denominada habitualmente clorosis férrica, se muestra desde el inicio de la brotación, y principalmente en hojas jóvenes, las cuales presentan un color amarillo pálido, en ocasiones casi blanco en la zona internervial (Figura 3). Esta sintomatología se observa principalmente en viñedos situados sobre suelos calcáreos, en los que el hierro se encuentra en condiciones de baja disponibilidad para la planta y que se ve agravada en períodos fríos, en los que la movilidad de este nutriente en el suelo se ve ralentizada (Pearson y Goheen, 1996; MAPA, 2003). Si la carencia es muy severa pueden aparecer manchas necróticas en la hoja (White, 2009).



**Figura 3.-** Síntomas de clorosis férrica en vid variedad Tempranillo (Foto: Felipe Yunta Mezquita)

La aptitud del portainjerto para la absorción y transporte del hierro, así como la sensibilidad varietal a la carencia de este nutriente, son otros de los factores que inciden en la aparición de clorosis férrica. Por otra parte, las vides vigorosas tienden a manifestar esta carencia con mayor frecuencia que las débiles, y resulta habitual, cuando la carencia no es grave, que los síntomas se muestren únicamente en las fases de crecimiento vegetativo más acelerado (Champagnol, 1984). A nivel metabólico, tanto la síntesis de carbohidratos como el cuajado de fruto pueden resultar afectados por la carencia de hierro (Pearson y Goheen, 1996; MAPA, 2003).

### **I.1.7.- MANGANESO**

El manganeso es absorbido habitualmente por las plantas como  $Mn^{2+}$ , si bien puede ser fácilmente oxidado a  $Mn^{3+}$  e incluso  $Mn^{4+}$  jugando, como el hierro, un papel importante en los procesos redox. Actúa asimismo como cofactor enzimático y juega un importante papel en la fotosíntesis. Es un elemento muy poco móvil que se transloca básicamente vía xilema y cuya movilidad vía floema es muy reducida (Marschner, 1995).

La carencia de manganeso se manifiesta en forma de clorosis marginal e internervial dispuesta en mosaico, que en estados avanzados alcanza todo el limbo. Los síntomas suelen aparecer en primer lugar en las hojas basales y, en general, son más severos en las orientadas a la radiación solar. Cuando la carencia es muy acusada, puede detener el crecimiento del meristemo apical y afectar al crecimiento de la baya, retrasando el envero y la maduración. La carencia de este nutriente es más habitual en suelos alcalinos y arenosos con alta concentración de materia orgánica, o en suelos calcáreos con escaso contenido en manganeso (Pearson y Goheen, 1996).

La sintomatología del estado carencial de manganeso parece manifestarse a concentraciones inferiores a  $30 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  de materia seca en la hoja, sin embargo, la aparición de la sintomatología está estrechamente vinculada al contenido en hierro (Levy, 1964). Sarosi (1965) sostenía, en efecto, que la deficiencia se produce cuando, en la hoja, la relación Fe/Mn es inferior a 1.

La toxicidad por este nutriente, asociada generalmente a suelos ácidos y condiciones de anaerobiosis, que favorecen el equilibrio hacia la forma activa  $Mn^{2+}$  frente al  $Mn^{3+}$ , afecta generalmente a cepas aisladas en las parcelas y, con menor frecuencia, a cepas agrupadas en rodales. Las hojas jóvenes se deforman y las adultas presentan necrosis internerviales de color marrón, a partir de las cuales el limbo se desgarran, dando lugar a una caída precoz de las hojas. La corteza de los sarmientos puede mostrar una pigmentación brillante de color negro, debida al óxido de manganeso, que no suele manifestarse hasta el agostamiento (Champagnol, 1984).

### **I.1.8.- COBRE**

Se trata de un elemento de transición y comparte con el hierro la capacidad de formar complejos estables y la facilidad de transferencia electrónica entre las formas  $\text{Cu}^{2+}$  y  $\text{Cu}^+$ . El cobre forma parte de enzimas, es activador de otras, fundamentalmente en procesos de oxidación y reducción (Salisbury y Ross, 1992), estando implicado en la fotosíntesis, en la lignificación, así como en la formación de polen y en la fecundación. Puede ser absorbido por las plantas en forma iónica o como quelato, si bien es en esta última forma en la que es transportado entre los distintos órganos de la planta (Marschner, 1995).

Las plantas con carencia de cobre pueden mostrar hojas oscuras y retorcidas (Salisbury y Ross, 1992). Se describe también un acortamiento de los entrenudos y la muerte de ápices caulinares, y la floración puede resultar también afectada (White, 2009). Sin embargo, la carencia de cobre es muy difícil de observar en viñedos comerciales, ya que las continuas aportaciones al viñedo, en forma de tratamientos anticriptogámicos por vía foliar, hacen que la dotación de este nutriente sea más que suficiente para cubrir las necesidades de la planta (MAPA, 2003).

Estos aportes, y en concreto el de sulfato de cobre (Marín y col., 2000), junto con la baja movilidad del cobre, pueden hacer que este elemento se acumule en las capas superficiales del suelo, pudiendo llegar a alcanzar niveles tóxicos para la planta. La toxicidad por cobre, que puede darse en suelos ácidos en los que este elemento se encuentra en forma soluble, parece producirse principalmente a nivel radicular, ya que existen mecanismos por los que el cobre absorbido en exceso puede quedar, en gran medida, secuestrado en las raíces para evitar su traslocación hacia la parte aérea. Esta toxicidad frena el crecimiento de las plantas jóvenes, pudiendo llegar a provocar la pérdida total en viñedos recién implantados (Champagnol, 1984).

### **I.1.9.- ZINC**

En los tejidos vegetales, el zinc se encuentra únicamente en forma de catión  $\text{Zn}^{2+}$  y no toma parte en procesos de oxidación y reducción en las células vegetales. Es constituyente de algunas enzimas y actúa como activador de otras (Marschner, 1995).

Los síntomas de carencia de zinc se manifiestan en forma de clorosis internervial en forma de mosaico, con bandas de color verde a lo largo del nervio. Las hojas ven reducido su tamaño y pueden aparecer deformaciones en las mismas, como dientes más agudos, crecimiento diferencial de las dos mitades del limbo o ensanchamiento de los lóbulos del seno peciolar (Pearson y Goheen, 1996; MAPA, 2003). Se han descrito problemas en el cuajado, con frutos de tamaño irregular, y clorosis internerviales con aspecto raquíptico de los brotes laterales o nietos (White, 2009).

### **I.1.10.- BORO**

El boro forma complejos con el manitol y otros componentes de la pared celular, y está implicado en la elongación celular y en el metabolismo de ácidos nucleicos (Taiz y Zeiger, 2002). La movilidad de este nutriente vía floema es variable en función de la especie, y parece asociada a la producción de polioles por la planta (Brown y Hu, 1996), sin que éste parezca el caso de la vid europea *Vitis vinifera* L. (Christensen y col., 2006).

En los casos de carencia, las hojas apicales presentan una coloración amarillenta en las variedades blancas y rojiza en las tintas, pudiendo llegar a necrosarse las zonas afectadas. Asimismo, los racimos en floración, así como los zarcillos cercanos al ápice, se oscurecen y necrosan. Durante la fase de crecimiento rápido, el ápice vegetativo puede desecarse. En el ciclo siguiente, las yemas dan lugar a pámpanos cortos y estériles y, a veces, en abanico (Pearson y Goheen, 1996; MAPA, 2003). La caída de flores o de bayas se refleja en racimos secos con pocos o ningún fruto. Las bayas pueden presentar manchas marrones debidas a la necrosis de la pulpa cercana al hollejo (Champagnol, 1984).

Los síntomas de toxicidad por boro afectan a la parte aérea de la planta. Las hojas más jóvenes pueden resultar severamente deformadas, con puntos necróticos en los dientes de las hojas que progresan hacia el tejido internervial. El crecimiento apical de los pámpanos principales se ve mermado en favor de los nietos, lo que da a la planta un aspecto débil y arbustivo (Pearson y Goheen, 1996).

## **I.2.- MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO NUTRICIONAL**

Los métodos habitualmente empleados para la evaluación del estado nutricional del viñedo son los análisis de suelo y planta (Kliewer, 1991), a los que debe añadirse la observación del cultivo (Champagnol, 1990; Robinson, 2005), incluyendo tanto los síntomas de carencias o toxicidades en hojas como su comportamiento agronómico.

### **I.2.1.- DIAGNÓSTICO VISUAL**

El diagnóstico visual de las hojas puede proporcionar evidencia directa del estado nutricional de las plantas (Barker y Pilbeam, 2007), ya que la deficiencia o exceso de cada nutriente puede provocar alteraciones en el color e incluso, en algunos casos, en la forma de las hojas (Robinson, 1995). En este sentido, la técnica cualitativa del diagnóstico visual trata de caracterizar, mediante el estudio de la sintomatología del cultivo, las posibles alteraciones nutricionales del mismo. Esta técnica ha avanzado en los últimos años, en el sentido de una mejora en su cuantificación mediante el uso de tablas de colores o escalas, así como la aparición de colecciones de fotos de deficiencias que pueden ayudar a la

interpretación (Cadañá, 2000). Asimismo, existen algunos métodos, como el índice de clorofila (Spring, 1999; Porro y col., 2001), que tratan de objetivar la percepción subjetiva del cambio de color con la ayuda de instrumentos adecuados.

Sin embargo, los síntomas de carencia o toxicidad de algunos elementos pueden confundirse con los de otros, especialmente en estados avanzados (Barker y Pilbeam, 2007), y puede complicarse aún más en aquellos casos en que coexistan deficiencias de varios nutrientes, o cuando se presentan simultáneamente síntomas de deficiencia de un nutriente y toxicidad de otro (Marschner, 1995).

Además de este inconveniente, su principal desventaja es que no permite el diagnóstico de desórdenes nutricionales que puedan estar interfiriendo en el desarrollo de la planta sin mostrar síntomas aparentes (Robinson, 2005). La explicación es que esta sintamología se pone de manifiesto cuando la deficiencia ya es aguda, de tal manera que el diagnóstico de un estado caracterizado por inhibir ligeramente el crecimiento, así como la producción, a menudo no muestra síntomas visuales específicos (Marschner, 1995; Cadañá, 2000). Como ejemplo, Christensen (1989) indica que la carencia de nitrógeno no es fácil de identificar visualmente en las hojas hasta que ésta alcanza niveles severos o críticos, situación muy poco frecuente.

Así pues, si bien la observación del cultivo es necesaria y el diagnóstico visual puede resultar de ayuda en determinados casos, este método no resulta adecuado, por sí solo, para su utilización como base de recomendaciones de abonado.

### **I.2.2.- ANÁLISIS DE SUELO**

El análisis de suelo tiene por objeto evaluar la disponibilidad potencial de nutrientes que las raíces podrían absorber, en condiciones favorables, para mantener el crecimiento de la planta y abastecer sus demás actividades metabólicas (Marschner, 1995), es decir, evalúa la capacidad nutricional del suelo o su disponibilidad potencial de nutrientes, independientemente de los diferentes mecanismos de absorción de las especies vegetales (Schaller y col., 2002).

Sin embargo, las cantidades de nutrientes extraídas mediante los distintos métodos de análisis de suelo a menudo no se corresponden con la disponibilidad real de dichos nutrientes y, por tanto, a menudo hay poca relación con las cantidades realmente absorbidas por la planta. Esta falta de concordancia puede explicarse en parte por la localización de las raíces (Elwali y Gascho, 1984). De hecho, una de las principales dificultades en el muestreo de suelos de plantaciones frutales en general, y de viñedo en particular, es conocer la profundidad y volumen de suelo explorado por las raíces, de forma que la muestra de suelo se corresponda con la zona de absorción (Brown, 1999).

### **I.2.3.- ANÁLISIS DE PLANTA**

El análisis de planta es ampliamente reconocido como el método más fiable para la determinación del estado nutricional del viñedo (Christensen, 1984; Kliewer, 1991). En sentido estricto, este análisis refleja únicamente el estado nutricional en un momento dado. Sin embargo, las fluctuaciones de la concentración de elementos minerales son menores en las plantas leñosas que en las especies anuales. Se considera, por tanto, que la concentración de nutrientes en hojas maduras de especies leñosas, además de reflejar el estado nutricional instantáneo, proporciona una buena estimación del estado nutricional general (Marschner, 1995; Schaller y col., 2002).

Las medidas realizadas sobre la planta integran la disponibilidad de nutrientes en el suelo, incluyendo toda una serie de factores edafoclimáticos que condicionan su equilibrio nutricional, con los diversos factores genéticos que determinarán la capacidad de absorción, traslocación y almacenamiento.

Se han propuesto diversas metodologías para la determinación de la concentración de nutrientes en plantas de vid, como el análisis de savia obtenida de pecíolo (Nagarajah, 1999; Nagarajah y col., 2001) la determinación del contenido de nitrógeno total en mosto (van Leeuwen y col., 2000), o el análisis del ápice terminal (Christensen, 1969), pero sin duda el análisis más habitual es el de hoja.

El diagnóstico foliar se basa en el hecho de que la hoja es el órgano metabólicamente más activo en la planta, por lo que las alteraciones nutricionales le afectan en mayor medida que a otros órganos (Cadahía, 2000), es decir, reflejará mejor el estado nutricional de la planta. Ésta es la razón por la que suele ser el órgano elegido para llevar a cabo el diagnóstico nutricional (Marschner, 1995).

La utilización del análisis de tejidos como indicador del estado nutricional del viñedo requiere tener en cuenta que, para una misma planta, la composición mineral puede variar en función del tejido analizado (Champagnol, 1990; Robinson, 2005), su posición en la planta (Walworth y Sumner, 1987; Delas, 2000), y el momento del ciclo, caracterizado por su estado fenológico (Parejo, 1991; Delas, 2000). Estos aspectos se abordarán en el capítulo III de esta memoria de tesis.

La concentración de cada nutriente y el equilibrio entre los mismos en un tejido, depende de un amplio rango de factores ambientales, culturales y genéticos (Failla y col., 1997; Bell y Henschke, 2005), entre los que se encuentran la variedad (Christensen, 1984; Parejo, 1991; Arroyo y col., 1997; Fallahi y col., 2005), el portainjerto (Tardáguila y col., 1995; Wolpert y col., 2005), o el régimen hídrico (García-Escudero y col., 1995; Sipiora y col., 2004). Por esta razón, se considera adecuado el establecimiento de referencias nutricionales locales (Champagnol, 1990; Failla y col., 1997; Fraguas y col., 2003), ajustándolas en su caso para cada combinación de variedad y portainjerto (Wolpert y col., 2005) e incluso estableciéndolas en función de las técnicas de cultivo y/o el objetivo de calidad o

rendimiento perseguido (Robinson, 2005). Al establecimiento de normas de referencia para la variedad Tempranillo en la DOCa Rioja, se dedica el capítulo IV de esta memoria de tesis.



## **II. Objetivos**

---



Este trabajo se plantea con dos objetivos generales que se abordan respectivamente en los capítulos III y IV de esta memoria de tesis.

Evaluación de tejidos y momentos fenológicos para el diagnóstico nutricional de la vid (*Vitis vinifera* L.) cv. Tempranillo en el ámbito de la DOCa Rioja, para lo cual se plantean los siguientes objetivos específicos:

- Estimar la variación de la concentración de nutrientes en limbo y pecíolo en función de la posición de la hoja en el pámpano.
- Caracterizar la evolución estacional e identificar períodos de estabilidad para la concentración de nutrientes en limbo y pecíolo.
- Evaluar la variabilidad de los resultados analíticos obtenidos a partir de cada uno de los dos tejidos.

Definición de niveles foliares de referencia para la vid (*Vitis vinifera* L.) cv. Tempranillo en el ámbito de la DOCa Rioja, según tres metodologías de diagnóstico foliar:

- Definir Rangos de Suficiencia para limbo y pecíolo.
- Definir los valores de referencia para el método de Desviación del Óptimo Porcentual (DOP).
- Seleccionar las relaciones de nutrientes a emplear en el diagnóstico foliar mediante el Sistema Integrado de Diagnóstico y Recomendación (DRIS).



### **III. Estrategias de muestreo para el diagnóstico nutricional de la vid**

---



### **III.1.- ANTECEDENTES**

El empleo del diagnóstico foliar como guía para la fertilización requiere conocer los cambios en la composición de cada tejido muestreado durante el ciclo, así como la distribución relativa de los nutrientes en los tejidos (Kliewer, 1991), aspectos que se abordarán en los siguientes apartados.

#### **III.1.1.- EVOLUCIÓN ESTACIONAL DE LA CONCENTRACIÓN DE NUTRIENTES EN LIMBO Y PECÍOLO DE VID**

Las variaciones estacionales en la concentración de nutrientes son el reflejo de los procesos simultáneos de importación y exportación de nutrientes que ocurren en un tejido. La estabilización de los contenidos netos de nutrientes móviles vía floema, sería consecuencia de un equilibrio entre los procesos de importación y exportación (Marschner, 1995). El nivel foliar de un nutriente, en un momento dado, supondría el resultado del balance de las reservas y la absorción frente a la traslocación a otros órganos (Navarro y Navarro, 2003). Diversos investigadores han abordado el estudio de la dinámica estacional de la concentración de nutrientes en limbo y pecíolo de vid. A continuación, se muestra una selección de los resultados referentes a los elementos minerales cuyo estudio se aborda en esta tesis.

##### **III.1.1.1.- NITRÓGENO**

En plantas de vid, la concentración de este elemento en limbo (Porro y col., 1995; García-Escudero y col., 2002b; Schreiner, 2005) y pecíolo disminuye al avanzar la campaña (Fregoni, 1980; Champagnol, 1984; Kliewer, 1991; Navarro y col., 2008), con un descenso más pronunciado desde floración hasta envero (Colugnati y col., 1992; Szóke y col., 1992; Failla y col., 1995), y una estabilización de la concentración durante la maduración y hasta el final del ciclo (Parejo y col., 1992). No obstante, Christensen (1984), analizando pecíolos de 24 cultivares de vid encontró, en general, un ligero repunte en envero.

En general, la concentración de nitrógeno en limbo de vid varía entre 4,0 y 6,0 g·100g<sup>-1</sup> m.s. cerca de brotación hasta mínimos de entre 1,25 y 1,90 g·100g<sup>-1</sup> m.s. en torno a la caída de la hoja (Christensen, 1984), coincidiendo estos rangos con los resultados obtenidos por otros investigadores en estudios de seguimiento (Colugnati y col., 1992; Szóke y col., 1992; García-Escudero y col., 2002b). Entre tanto, la concentración de este nutriente en pecíolo se encuentra alrededor de 1,0 g·100g<sup>-1</sup> m.s. en floración (Parejo, 1991; García-Escudero y col., 2002b), y entre 0,45 y 0,60 g·100g<sup>-1</sup> m.s. en envero (Parejo, 1991; García-Escudero y col., 2002b). Así pues, las concentraciones de nitrógeno en pecíolo suelen

encontrarse entre un tercio y un medio de las observados en limbo para un mismo estado fenológico (Kliewer, 1991).

### III.1.1.2.- FÓSFORO

La mayoría de los autores coinciden en que las concentraciones de fósforo disminuyen en las hojas de vid en el curso del ciclo vegetativo (Fregoni, 1980; Morard y col., 1989; Champagnol, 1984; Navarro y col., 2008), con un descenso más pronunciado hasta el cuajado (Szóke y col., 1992). Este descenso en la concentración de fósforo se ha descrito tanto en limbo (García-Escudero y col., 2002b; Schreiner, 2005), como en pecíolo (Parejo, 1991; García-Escudero y col., 2002b). Sin embargo, otros autores encontraron que las concentraciones apenas variaron entre floración y envero (Christensen, 1984), e incluso hasta vendimia (Porro y col., 1995).

Christensen (1984) observó que la concentración de fósforo era superior en pecíolo - entre 0,24 y 0,52 g·100g<sup>-1</sup> m.s. - que en limbo - 0,24 a 0,38 g·100g<sup>-1</sup> m.s.-, con un límite inferior muy similar. Sin embargo, Champagnol (1990) refiere un valor mínimo más alto para limbos que para pecíolos (0,16 g·100g<sup>-1</sup> m.s. para limbo frente a 0,12 g·100g<sup>-1</sup> m.s. en pecíolo). Esta aparente contradicción puede ser resuelta si se acepta que a bajos niveles de fósforo el limbo tiene mayor concentración que el pecíolo, mientras que con elevados niveles de este elemento es el pecíolo quien presenta una concentración mayor (Bravdo, 1992), y que el fósforo se acumula antes en limbo que en pecíolo (Christensen, 1984).

### III.1.1.3.- POTASIO

Algunos autores constatan en vid una disminución de la concentración foliar de potasio desde primavera hasta vendimia (García-Escudero y col., 2002b; Stevens, 2004; Navarro y col., 2008) e incluso hasta la caída de la hoja (Levy, 1967; Fregoni, 1980; Morard y col., 1989; Champagnol, 1984; Zaballa y col., 1997). Parejo (1991) observó un aumento de la concentración foliar de potasio hasta cuajado y una disminución posterior. Sin embargo, Etourneaud (1983) hace alusión a un incremento del nivel de potasio hasta el envero, y Parejo y col. (1992) observaron que la máxima concentración de potasio en pecíolo se producía entre el cuajado y el envero en dos de las tres campañas estudiadas. En el año restante no aparecieron diferencias significativas en función del estado fenológico, resultado que coincide con el obtenido por otros autores (Colugnati y col., 1992; Szóke y col., 1992; Porro y col., 1995; Schreiner, 2005).

Szóke y col. (1992) refieren una posible intervención de diversos factores, como variedad o climatología, en la aparición de una alta variabilidad para cada estado fenológico, que impide observar una tendencia clara en la evolución estacional de este elemento. Las cinéticas de absorción y de

reparto del potasio en la planta varían de una situación a otra. El nivel de nutrición y el clima son probablemente las causas de esta variabilidad, pero no las únicas (Champagnol, 1984). Christensen (1984) refiere una amplia variabilidad en la concentración de potasio en limbo y pecíolo de 26 cultivares de vid en función de la variedad y el año. Asimismo, se han observado diferencias entre portainjertos en cuanto al transporte de potasio vía floema y xilema (Kodur y col., 2011).

Los niveles de potasio en pecíolo son generalmente más elevados que en limbo, y muestran un mayor rango de variación que estos últimos si bien, cuando los contenidos son bajos, ambos tejidos se aproximan en su composición (Christensen, 1984; Klein y col., 2000). Estudiando 12 cultivares de vid para vinificación, Christensen (1984) obtuvo una concentración peciolar de potasio que osciló entre 0,72 y 2,10 g·100g<sup>-1</sup> m.s. en floración, y entre 0,34 y 1,36 g·100g<sup>-1</sup> m.s. en envero. La concentración en limbo se encontró entre 0,54 y 0,94 g·100g<sup>-1</sup> m.s. en floración, y entre 0,48 y 0,85 g·100g<sup>-1</sup> m.s. en envero. García-Escudero y col. (2002b) obtuvieron unos resultados comprendidos en este rango para el cv. Tempranillo, tanto en limbo como en pecíolo. Por otro lado, Schreiner (2005) observó, en limbos de ‘Pinot Noir’, una concentración cercana a 1,0 g·100g<sup>-1</sup> m.s. durante todo el ciclo, y Colugnati y col. (1992) observaron concentraciones en floración de hasta 1,5 g·100g<sup>-1</sup> m.s.

#### III.1.1.4.- CALCIO

La concentración de calcio en hojas de vid aumenta a lo largo del ciclo vegetativo, como han observado numerosos autores (Fregoni, 1980; Champagnol, 1984; Porro y col., 1995), tanto en pecíolo (Parejo y col., 1992; García-Escudero y col., 2002b) como en limbo (Colugnati y col., 1992; García-Escudero y col., 2002b; Stevens, 2004; Schreiner, 2005; Navarro y col., 2008). Sin embargo, Szóke y col. (1992) refieren una disminución en la concentración de este nutriente a partir del inicio de envero.

Champagnol (1990) afirmaba que las concentraciones de calcio en limbo y pecíolo difieren poco entre sí. Varios estudios parecen sostener tal afirmación. Así, en la bibliografía se describen concentraciones peciolares que varían durante el ciclo desde 1,5 a 3,5 g·100g<sup>-1</sup> m.s. en el cv. Chardonnay (Parejo y col., 1992), o entre 2,1 y 3,8 g·100g<sup>-1</sup> m.s. para ‘Cabernet Sauvignon’ (Parejo, 1991), mientras la concentración en limbos varía entre 1,2 y 3,7 g·100g<sup>-1</sup> m.s. (Colugnati y col., 1992; Szóke y col., 1992; Schreiner, 2005).

Sin embargo, en las ocasiones en que se ha analizado limbo y pecíolo en un mismo ensayo, el limbo ha mostrado concentraciones superiores a las del pecíolo. En este sentido, Walker y col. (2004), analizando pecíolo y limbo de vid cv. Sultana, sobre seis portainjertos en tres condiciones diferentes de riego con agua salina, encontraron sin excepción que los contenidos en limbo casi doblaron los de

pecíolo en floración. Resultado similar fue obtenido por García-Escudero y col. (2002b) analizando limbos y pecíolos de vid cv. Tempranillo en tres momentos del ciclo.

#### III.1.1.5.- MAGNESIO

Varios autores refieren una evolución ascendente de la concentración de magnesio en hojas de vid a lo largo del ciclo (Fregoni, 1980; Champagnol, 1984; Porro y col., 1995; Schreiner, 2005), con una acumulación más lenta en torno a floración y un período de fuerte crecimiento al inicio de maduración (Parejo y col., 1992; Szóke y col., 1992). Sin embargo, Stevens (2004) observó el mayor aumento entre los muestreos anterior y posterior a floración. Esta tendencia ascendente de la concentración de magnesio se ha observado tanto en limbos (García-Escudero y col., 2002b; Schreiner, 2005) como en pecíolos (Parejo y col., 1992; García-Escudero y col., 2002b). Sin embargo, Porro y col. (1995) no encontraron una tendencia estacional en la evolución de la concentración de este nutriente.

La concentración de magnesio en pecíolo es, en general, superior a la del limbo (Walker y col., 2004). En pecíolo, se han observado concentraciones de este elemento desde 0,80 g·100g<sup>-1</sup> m.s. en floración a 2,4 g·100g<sup>-1</sup> m.s. al final del ciclo (Parejo y col., 1992), mientras la concentración de magnesio en limbos osciló entre 0,19 y 0,30 g·100g<sup>-1</sup> m.s. en torno a la floración, llegando hasta un máximo de 0,35–0,50 g·100g<sup>-1</sup> m.s. a partir del envero (Colugnati y col., 1992; Szóke y col., 1992; Schreiner, 2005). García-Escudero y col. (2002b) observaron para el cv. Tempranillo concentraciones en pecíolo que variaron entre 0,56 y 1,02 g·100g<sup>-1</sup> m.s., mientras la concentración en limbo se encontraba entre 0,31 y 0,39 g·100g<sup>-1</sup> m.s.

#### III.1.1.6.- HIERRO

La concentración de hierro en limbos de hojas de vid cv. Pinot Noir se vio incrementada desde la floración - 75 mg·kg<sup>-1</sup> m.s. - hasta la vendimia, momento en que la concentración de este nutriente alcanzó los 200 mg·kg<sup>-1</sup> m.s. (Schreiner, 2005). Un aumento desde floración a envero fue asimismo puesto de manifiesto por Failla y col. (1997), quienes consideran normales valores de 50-100 mg·kg<sup>-1</sup> m.s. en análisis de hoja entera. Por su parte, Botelho y col. (2005) observaron concentraciones de este elemento en floración, comprendidas entre 90 y 480 mg·kg<sup>-1</sup> m.s. en limbo, mientras que las de pecíolo se encontraban entre 30 y 98 mg·kg<sup>-1</sup> m.s.

#### III.1.1.7.- MANGANESO

Para el cv. Pinot Noir, la concentración de manganeso en limbos aumentó a partir de floración desde 100 mg·kg<sup>-1</sup> m.s. hasta alcanzar los 150 mg·kg<sup>-1</sup> m.s. en la caída de hoja (Schreiner, 2005). Parejo

(1991) observó concentraciones peciolares en torno a  $75 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  m.s. en floración, con un brusco ascenso hasta  $250 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  m.s. en envero. Botelho y col. (2005) refieren en su trabajo concentraciones de este elemento en floración comprendidas entre 90 y  $900 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  m.s. en limbo y entre 30 y  $466 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  m.s. en pecíolo. Esta gran dispersión en los datos, junto con la aparición de valores anormalmente elevados, que Champagnol (1984) califica incluso como tóxicos para la vid, puede ser explicada por posibles contaminaciones por tratamientos fungicidas (Failla y col., 1997).

#### III.1.1.8.- COBRE

Schreiner (2005) observó que la concentración de cobre en limbos de vid *cv.* Pinot Noir seguía una curva descendente a lo largo del ciclo, mientras que Parejo (1991) encontró una tendencia ascendente en pecíolo. Los valores en limbo de 'Pinot Noir' (Schreiner, 2005) oscilaron entre 5 y  $15 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  m.s. mientras los de pecíolo variaron entre 26 y  $33 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  m.s. para el *cv.* Cabernet Sauvignon (Parejo, 1991). Es frecuente que la contaminación por fungicidas de base cúprica altere los valores obtenidos para este elemento (Fregoni, 1980; Failla y col., 1995), como parece ocurrir en el ensayo realizado por Botelho y col. (2005), en el que se llegaron a encontrar valores en floración de hasta  $594 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  m.s. en limbo y  $116 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  m.s. en pecíolo.

#### III.1.1.9.- ZINC

Los niveles de este elemento resultaron más elevados en pecíolo en la mayor parte de variedades estudiadas por Christensen (1984), especialmente en envero. En floración, los datos mostrados por Botelho y col. (2005) parecen indicar una mayor concentración en limbo respecto a pecíolo para la variedad Centennial Seedless.

La concentración de zinc aumentó desde floración a envero, con contenidos en floración de entre 14 y  $41 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  m.s. en pecíolo y entre 18 y  $26 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  m.s. para limbo, mientras la concentración peciolar en envero osciló entre 16 y  $46 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  m.s. y la de limbo entre 13 y  $27 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  m.s. (Christensen, 1984). Sin embargo, Schreiner (2005) no encontró una tendencia estacional en la concentración de zinc en limbos de la variedad Pinot Noir, con niveles que fluctuaron entre los 20 y  $30 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  m.s. También en este caso, es relativamente frecuente que este elemento presente niveles excesivos debido a contaminaciones con fungicidas (Failla y col., 1997).

#### III.1.1.10.- BORO

Las concentraciones de boro en floración para 26 cultivares de vid resultaron comprendidas entre 28 y  $60 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  m.s. en limbo y entre 30 y  $47 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  m.s. en pecíolo, mientras en envero, la concentración

observada en limbo estuvo entre 44 y 88 mg·kg<sup>-1</sup> m.s. frente a los 32-52 mg·kg<sup>-1</sup> m.s. del pecíolo (Christensen, 1984).

Este elemento no parece presentar una tendencia clara en su dinámica estacional en tejidos de vid (Colugnati y col., 1992; Szóke y col., 1992; Schreiner, 2005). En este sentido, mientras Christensen (1984) constató un incremento en la concentración desde floración hasta enero, tanto en limbo como en pecíolo, Parejo (1991) observó una disminución en la concentración peciolar al avanzar la campaña.

### **III.1.2.- VARIACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE NUTRIENTES EN FUNCIÓN DE LA POSICIÓN DE LA HOJA EN EL PÁMPANO**

La concentración de nutrientes en un tejido determinado varía con la exposición – hoja expuesta o sombreada - del mismo (Williams, 2005), que puede inducir procesos de dilución o concentración de los nutrientes (Lucena, 1997). Otras fuentes de variación pueden ser la posición relativa respecto a fuentes y sumideros, especialmente frutos, o la edad del tejido (García y col., 2001). Sin embargo, la presencia o ausencia de fruto no influyó en la concentración de nitrógeno de hojas de vid ‘Sangiovese’ (Poni y col., 1994).

En el caso de la vid, diversos autores han detectado cambios en la concentración de nutrientes en función de la posición de la hoja en el sarmiento (Christensen, 1969; Schaller, 2006). Lelakis (1958), citado por Parejo (1991), observó que las concentraciones de nutrientes de las dos hojas basales eran distintas a las de las hojas situadas a nivel del cuarto o quinto nudo del sarmiento, si bien ambas concentraciones se correlacionaban de forma positiva.

Al analizar pecíolos de la variedad Thompson Seedless, se observó que apenas existían diferencias en la concentración de fósforo y de nitrógeno nítrico entre las hojas comprendidas entre el rango 4 y las hojas, completamente extendidas, más jóvenes (Christensen, 1969). Sin embargo, Poni y col. (1994), observaron que la concentración de nitrógeno total (método Kjeldhal) fue superior en las hojas apicales que en las basales durante todo el ciclo de cultivo.

En el caso del potasio, su concentración fue inferior en pecíolos cercanos a la base del pámpano, incrementándose gradualmente hacia el ápice, al contrario de lo observado para calcio y magnesio, los cuales presentaron concentraciones superiores en las hojas basales, que disminuyeron progresivamente con el rango de inserción del pecíolo en el pámpano (Christensen, 1969). Schaller y col. (2002), utilizando la técnica de componentes de la varianza, y teniendo en cuenta los componentes año, momento de muestreo, posición del pámpano en la cepa y posición de la hoja en el pámpano, observó

que tan sólo para el nitrógeno, magnesio y calcio la posición de la hoja mostró alguna influencia en la concentración de nutrientes.

En cuanto a los micronutrientes, la posición de la hoja en el pámpano no influyó significativamente en la concentración de manganeso (Christensen, 1969). Los pecíolos basales mostraron concentraciones de hierro y boro ligeramente superiores a los observados en las hojas más jóvenes al inicio del ciclo, mientras las concentraciones de zinc fueron superiores en las hojas más alejadas de la base del pámpano a partir de mitad del verano (Christensen, 1969).

### **III.1.3.- ELECCIÓN DE LA ESTRATEGIA DE MUESTREO**

En muchas especies vegetales, el contenido de nutrientes respecto a materia seca puede variar considerablemente entre limbo y pecíolo (Marschner, 1995). En el caso de la vid, dichos contenidos difieren sustancialmente, aunque a menudo limbo y pecíolo ofrecen resultados analíticos correlacionados en el caso de algunos elementos, como fósforo, potasio y magnesio (Bertoni y Morard, 1982; Christensen, 1984). Por otro lado, diversos investigadores han demostrado la clara dependencia de los contenidos de nutrientes en ambos tejidos respecto al estado fenológico.

Esta variación en los contenidos minerales entre tejidos y a lo largo del tiempo obliga a asumir un compromiso en cuanto al tejido y al momento del ciclo seleccionados para el diagnóstico foliar (Robinson, 1995).

#### **III.1.3.1.- ESTRATEGIAS ADOPTADAS A LO LARGO DEL TIEMPO**

A lo largo del tiempo, se han adoptado diferentes estrategias para llevar a cabo el análisis foliar en vid, tanto en lo que se refiere al tejido analizado y su posición en el pámpano como respecto al momento del ciclo en que se realiza la toma de muestras.

La determinación de los contenidos minerales en hoja para la evaluación del estado nutricional del viñedo, fue propuesta por primera vez por Lagatu y Maume (1934) en Francia. Estos autores aconsejaban tomar las dos primeras hojas basales (eliminando el pecíolo) de brotes fructíferos, ya que presentarían la ventaja de mantener una composición relativamente constante a lo largo del ciclo vegetativo. Posteriormente, hacia 1965, se modificó el criterio de la toma de muestra, proponiéndose el muestreo de hojas completas, incluyendo limbo y pecíolo, opuestas al racimo inferior (Levy, 1967), más fáciles de reconocer, y que según este autor, no presentan en la época de madurez los problemas de senescencia de las hojas basales y el vaciado de elementos minerales por migración a los órganos no renovables. En esta época, el muestreo se realizaba en cuatro estados fenológicos: comienzo y final

de la floración, envero y madurez, para posteriormente mantener únicamente los muestreos de floración y envero (Champagnol, 1990). En ambos casos, se obtenía el promedio de la concentración observada en todos los muestreos como indicador del estado nutricional. Este método – media de la concentración en limbos en floración y envero – fue el empleado por Fregoni (1980) en los estudios llevados a cabo en Italia por el método de Carta Nutricional. Sin embargo, este grupo de investigación adoptó finalmente el análisis de limbo en los momentos de cuajado de fruto y envero (Bavaresco y col., 2010).

En Israel, tras un trabajo de encuesta nutricional llevado a cabo por Samish y col. (1960), se adoptó como método de rutina el muestreo de limbos en posición opuesta a un racimo, sin especificar su rango, en época cercana a la vendimia (Klein y col., 2000). Por otro lado, el análisis de limbo en envero es referido por Bravdo (1992) como método sudafricano, atribuyendo su puesta a punto a Bayers (1962). Asimismo, Fraguas y col. (2003), empleando el análisis de limbo en envero, lo definen como análisis de hoja completa en ese momento.

En California, se estableció como método de rutina el análisis de pecíolos en floración (Cook y Kishaba, 1956), aunque se recomendaba el empleo del análisis de limbos en envero para el análisis de micronutrientes (Bravdo, 1992). Sin embargo, Conradie (1981), también en Sudáfrica, sugería como el mejor momento para realizar un muestreo con finalidad de diagnóstico nutricional, aproximadamente un mes tras el cuajado, eligiendo el pecíolo como tejido a analizar.

En 1995 la OIV, en su resolución Viti 4/95 (OIV, 1996), estableció un método armonizado para el diagnóstico foliar, en el que recomendaba la toma de muestras de limbos opuestos al primer racimo en cuajado y/o envero, y el muestreo de pecíolos en posición opuesta a un racimo únicamente en envero. En Francia, este análisis de pecíolo en envero es la metodología habitualmente empleada (Delas, 2000; Rodríguez-Lovelle, 2003), aunque en el Midi Francés se recomienda el análisis de limbo (García y col., 2001; ITV-Midi, 2002).

Sin embargo, los métodos habituales de diagnóstico nutricional en zonas vitícolas como Australia o California pasan por el análisis de pecíolos opuestos a los racimos en floración (Cook y Kishaba, 1956; Phiola, 2005; Robinson, 2005; CRCV, 2006; Wolf, 2007). Como complemento a este análisis, algunos protocolos de toma de muestras (Wolf, 2007) incluyen el análisis de pecíolo al inicio de envero, método al que Fraguas y col. (2003) se refieren como método de Michigan. En ocasiones, las muestras tomadas en envero o en momentos posteriores del ciclo pueden estar compuestas por las hojas más jóvenes totalmente expandidas (Wolpert y Anderson, 2007).

Aunque es cuestionado, en Israel se emplea el análisis de limbo en época cercana a vendimia (Klein y col., 2000). El análisis de hoja completa es el empleado en Suiza (Spring y col., 2003), mientras en Italia es frecuente la utilización del limbo (Failla y col., 1997; Strangari y col., 1997; Bavaresco y col., 2010).



**Figura 4.-** Limbos y pecíolos de vid *cv.* Tempranillo, lavados para su secado en estufa (centro) y procesados para su análisis.

En España tampoco hay unanimidad respecto a las prácticas de muestreo. Así, en diversos estudios, García y col. (2001) y Navarro y col. (2008) analizan limbo en enero, Gutiérrez y Darias (1998) y García-Escudero y col. (2001) eligen los estados de floración y de enero y analizan en ambos limbo y pecíolo por separado. Dal Bó (1993) opta por pecíolos en enero y González-Andrés y Berberana (2002) analizan pecíolos en floración y hoja completa en enero.

### III.1.3.2.- ELECCIÓN DE TEJIDO Y ESTADO FENOLÓGICO

La elección de un tejido para el diagnóstico nutricional debe seguir una serie de premisas recomendables: el tejido ha de ser fácil de identificar y muestrear, ofrecer resultados reproducibles y ser muestreado en un momento en que su composición química sea lo más estable posible (Robinson,

1995). Otros criterios para la elección de tejido se basan bien en su mejor correlación con los parámetros de suelo o fertilización, bien en la capacidad de predicción del rendimiento o de la calidad de la vendimia.

Uno de los ensayos más citados en la bibliografía es aquel que Robinson y col. (1978) llevaron a cabo comparando el método francés - hoja completa en floración y envero -, el sudafricano - limbo en envero - y el californiano - pecíolo en floración - en un ensayo de encuesta nutricional. Para ello, se llevó a cabo en viñedos australianos la toma de muestras foliares según las tres estrategias, comparando los resultados obtenidos en los análisis de limbo y pecíolo con referencias previamente obtenidas en Francia, Sudáfrica y California. Los autores consideraron finalmente que el método californiano era el que mejor reflejaba las condiciones nutricionales del viñedo estudiado. Cabe señalar que esa elección se realizó utilizando como base referencias obtenidas en otras zonas vitícolas y que diversos investigadores, incluyendo al mismo Robinson (1995, 2005) han señalado la necesidad de establecer referencias adecuadas a las diferencias entre variedades, portainjertos y técnicas de cultivo.

Entre los argumentos a favor del análisis de pecíolo frente a limbo, suele destacar su mayor respuesta a las variaciones en el estado nutricional (Delas, 1990; Robinson, 2005) y a las dosis de fertilizantes aplicadas (Bravdo y Hepner, 1987; Conradie y Saayman, 1989). Sin embargo, algunos investigadores han observado que la concentración de nitrógeno total en limbo y pecíolo resulta igualmente sensible al aporte de nitrógeno, tanto en floración como en envero (Holzapfel y Treeby, 2007).

Respecto al fósforo, Klein y col. (2000) observaron que tanto el limbo como el pecíolo respondían a los aportes de fertilización fosfórica, si bien el limbo lo hacía en mayor medida a bajas concentraciones y el pecíolo reflejaba mejor los aportes crecientes. Skinner y Matthews (1991) observaron que el limbo mostraba una respuesta más rápida y recogía mejor las diferencias entre tratamientos para el magnesio y el fosfato extraíble (Skinner y col., 1987). En lo que se refiere al potasio, Poni y col. (2003) encontraron que la concentración de potasio en limbo reflejaba los aportes de este nutriente en fertilización, y variaba entre plantas despuntadas y las que no lo eran.

Los intervalos de variación son mucho más elevados en pecíolo que en limbo para nutrientes como fósforo, potasio y magnesio (Bertoni y Morard, 1982; Christensen, 1984; Champagnol, 1990). Según algunos autores, la mayor variación del contenido de nutrientes en pecíolo parece verse acompañada de un rango de fluctuación más elevado, incluso entre plantas de un mismo viñedo (Fraguas y col., 2003; Wolpert y Anderson, 2007), de forma que la significación de un resultado obtenido a partir de uno u otro de estos tejidos sería idéntica (Champagnol, 1990). Bertoni y Morard (1982), sin embargo,

recomendaban mantener el análisis de limbo y de pecíolo, ya que aunque el último ofrece una mayor sensibilidad, resulta menos fiable que el limbo. En este sentido, Wolpert y Anderson (2007) concluyeron que los datos obtenidos a partir del limbo son más reproducibles que los de pecíolo.

En cuanto a la relación de la concentración de nutrientes en ambos tejidos con los parámetros vegeto-productivos y de calidad, la opinión más extendida es que el análisis peciolar muestra una mejor relación con ellos. Sin embargo, Davenport y col. (2003) no encontraron relación entre la producción y la concentración de nitrógeno en pecíolo, mientras la concentración de este elemento en limbo, muestreado en el momento en que se alcanzó una Integral Térmica de 667 grados·día<sup>-1</sup>, se mostró correlacionado con la producción. También se han encontrado correlaciones entre la concentración de nitrógeno en limbos en envero y la concentración de nitrógeno asimilable en mostos, así como con el rendimiento, mientras que los contenidos en pecíolo no resultaron relacionados con ellos (Holzapfel y Treeby, 2007).

En lo que se refiere a la facilidad de muestreo, el método de California requiere que la recolección de muestras se haga tan cerca de plena floración - 70% de capuchones caídos - como sea posible (Robinson, 1995). Sin embargo, este momento es difícil de determinar, ya que la proporción de capuchones caídos es fácilmente sobrestimable por la prominencia de las flores abiertas (May, 2004).

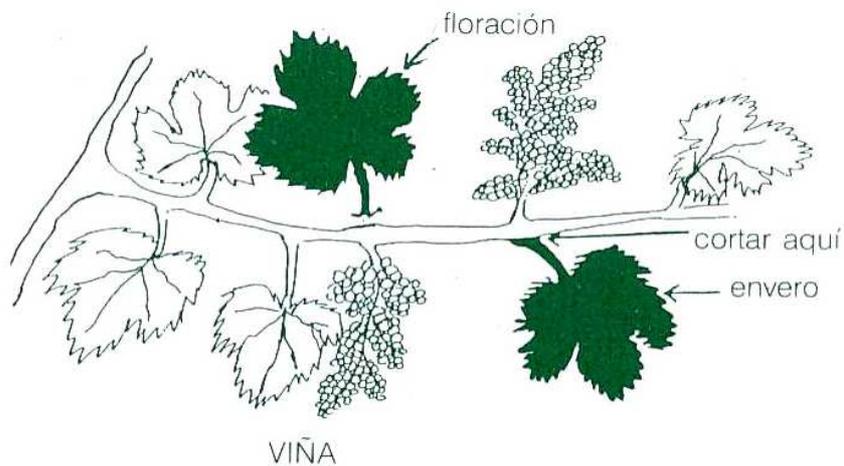
En resumen, todavía existe cierto desacuerdo sobre el tipo de tejido y el momento más adecuado para llevar a cabo el análisis foliar en vid (Klein y col., 2000). La bibliografía disponible no hace sino constatar esta falta de acuerdo.

Tratando de dar respuesta a estas cuestiones, se plantearon una serie de ensayos, recogidos en el presente capítulo, que pretenden contribuir a mejorar el conocimiento sobre estos factores de variación.

### **III.2.- INCIDENCIA DE LA POSICIÓN DE LA HOJA EN EL PÁMPANO**

Como ya se ha comentado en el apartado III.1.2., son numerosos los factores que introducen variabilidad en la concentración de nutrientes en los tejidos vegetales debido a la edad o posición relativa del material a muestrear. Esta variabilidad debe ser evaluada y considerada si se pretende recomendar un procedimiento de muestreo que no incremente las fuentes de variación en la concentración de nutrientes y, finalmente, perjudiquen los objetivos de diagnóstico.

En ocasiones, bajo determinadas condiciones de cultivo, en momentos fenológicos avanzados del ciclo e incluso para ciertas variedades tempranas, las hojas habitualmente recomendadas para el muestreo, como lo son las opuestas a los racimos de rango inferior (Figura 5), se pueden encontrar dañadas. En esta circunstancia, las muestras a menudo pueden presentar un sesgo por posición, al tener que incluir limbos o pecíolos de rangos superiores.



**Figura 5.-** Pámpano con dos racimos, posición de limbo y pecíolo, racimo basal y distal.

En este sentido, la variedad Tempranillo es una variedad sensible al estrés hídrico y, por tanto, propensa a una pronta senescencia foliar (Gómez del Campo y col., 2000). Esta senescencia precoz puede hacer complicado encontrar hojas completas y sanas en posición opuesta al racimo basal a medida que avanza la campaña.

Por esta razón, se llevó a cabo un estudio con el objetivo principal de evaluar las diferencias en la concentración de nutrientes en limbos y pecíolos situados en tres posiciones del pámpano:

[R1]: Hojas opuestas al racimo basal.

[R2]: Hojas opuestas al racimo distal.

[R3]: Hojas situadas 4 nudos por encima del racimo distal, a menudo en el tercio medio del pámpano.

### **III.2.1.- MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **III.2.1.1.- DESCRIPCIÓN Y MANEJO DE LOS VIÑEDOS**

Se llevaron a cabo dos ensayos durante 2001 y 2002, en sendas parcelas experimentales de vid de la variedad Tempranillo, cuyas características se recogen a continuación.

#### **Parcela Valdegón, Agoncillo**

El viñedo se ubica en la finca Valdegón (Agoncillo; La Rioja), propiedad del Gobierno de La Rioja (UTM 30T X: 558.130; Y: 4.701.965; altitud: 345 m), situado sobre una terraza de nivel I del río Ebro, de relieve plano. El suelo se clasifica como *Haplocambids* típico (SSS, 2006).

Se trata de un viñedo establecido en 1989 con *Vitis vinifera* L., variedad Tempranillo sobre Richter 110, con un ancho de calle de 2,50 m, una distancia entre cepas de 1,25 m (3.200 cepas·ha<sup>-1</sup>) y una orientación de las filas este-oeste. Las plantas estaban conducidas en espaldera, con sistema de poda cordón Royat doble y con una carga aproximada de 10-12 yemas·planta<sup>-1</sup>, distribuidas en pulgares de dos yemas. El viñedo disponía de riego por goteo, si bien se realizaron riegos de apoyo en determinados momentos del ciclo.

El mantenimiento del suelo se llevó a cabo mediante herbicida en la línea y laboreo de la calle. El programa de tratamientos fitosanitarios siguió una estrategia convencional. En cuanto a las operaciones en verde, el viñedo fue espergurado y despuntado cuando así se estimó necesario, y no se realizó deshojado ni aclareo de racimos. El análisis físico-químico del suelo se recoge en la Tabla 3. La descripción de los métodos de análisis se puede encontrar en el Anexo I.

El suelo del viñedo presenta una textura franco-arenosa, con escaso contenido en arcilla y materia orgánica, lo que propicia una baja capacidad de intercambio catiónico (CIC). Se trata de un suelo de reacción básica, si bien el nivel de caliza activa no resulta elevado. Los valores de conductividad eléctrica en superficie y profundidad no hacen temer problemas de salinidad (Tabla 3).

**Tabla 3.-** Análisis físico-químico de la fracción fina del suelo a dos profundidades. Viñedo Valdegón. Año 2000.

	0- 30 cm	30-60 cm	Unidades	Método
Arena	55,35	60,97	g·100g <sup>-1</sup> m.s.	Pipeta Robinson
Limo	30,01	26,82	g·100g <sup>-1</sup> m.s.	Pipeta Robinson
Arcilla	14,64	12,21	g·100g <sup>-1</sup> m.s.	Pipeta Robinson
Clasificación textural	Franco Arenoso	Franco Arenoso	---	USDA
Carbonatos	17,40	16,21	g·100g <sup>-1</sup> m.s.	Calcímetro Bernard
Caliza Activa	5,62	5,51	g·100g <sup>-1</sup> m.s.	Droineau
Materia Orgánica	0,72	0,60	g·100g <sup>-1</sup> m.s.	Walkley- Black
pH	8,07	8,39		En agua (1:2,5)
Conductividad Eléctrica	0,14	0,17	mmhos·cm <sup>-1</sup>	A 25 °C (1:5)
Fósforo	16	9	mg·kg <sup>-1</sup> m.s.	Olsen-Watanabe
CIC	7,88	7,48	mmol <sub>c</sub> ·100g <sup>-1</sup> m.s.	NaAc., NH <sub>4</sub> Ac., A.A.
K <sup>+</sup> asimilable	0,50	0,35	mmol <sub>c</sub> ·100g <sup>-1</sup> m.s.	NH <sub>4</sub> Ac. y A.A.
Ca <sup>2+</sup> asimilable	9,31	8,95	mmol <sub>c</sub> ·100g <sup>-1</sup> m.s.	NH <sub>4</sub> Ac. y A.A.
Mg <sup>2+</sup> asimilable	0,75	0,91	mmol <sub>c</sub> ·100g <sup>-1</sup> m.s.	NaAc. y A.A.
Na <sup>+</sup> asimilable	0,39	0,29	mmol <sub>c</sub> ·100g <sup>-1</sup> m.s.	NH <sub>4</sub> Ac. y A.A.

NaAc.: acetato sódico; NH<sub>4</sub>Ac.: acetato amónico; A.A.: absorción atómica.

### Parcela La Grajera, Logroño

El viñedo se ubica en la finca La Grajera (Logroño; La Rioja), propiedad del Gobierno de La Rioja (UTM 30T X: 540.000; Y: 4.699.600; altitud: 455 m), con una pendiente aproximada del 10%, orientada al sudeste.

El viñedo, establecido en 1989, se plantó con el clon RJ-78 de 'Tempranillo', injertado sobre Richter 110. El marco de plantación presenta un ancho de calle de 2,80 m y una distancia entre cepas de 1,15 m (3.106 cepas·ha<sup>-1</sup>), con orientación de las filas Nordeste-Suroeste. El sistema de conducción responde a un vaso libre, con una carga aproximada de entre 10 y 12 yemas·planta<sup>-1</sup>, distribuidas en pulgares de dos yemas. El régimen hídrico se planteó en secano desde su implantación.

El mantenimiento del suelo se realizó mediante aplicación de herbicida en la línea y laboreo de la calle. El programa de tratamientos fitosanitarios siguió una estrategia convencional. El viñedo fue espergurado y despuntado cuando fue necesario, y no se realizó deshojado ni aclareo de racimos. El análisis físico-químico del suelo se recoge en la Tabla 4.

El suelo donde se ubica la parcela de ensayo es un *Haploxerepts* típico (SSS, 2006). Se trata de un suelo bastante similar al de la parcela Valdegón, con textura franco-arenosa, tanto en superficie como en profundidad, y con escaso contenido en materia orgánica, lo que contribuye a una baja CIC. Se trata de un suelo de reacción básica y, si bien el nivel de caliza activa no puede considerarse excesivo en superficie, los niveles aumentan en la profundidad comprendida entre 30-60 cm. Los valores de conductividad eléctrica no son preocupantes (Tabla 4).

**Tabla 4.-** Análisis físico-químico de la fracción fina del suelo a dos profundidades. Viñedo La Grajera. Año 2001.

	0- 30 cm	30-60 cm	Unidades	Método
Arena	60,67	58,11	g·100g <sup>-1</sup> m.s.	Pipeta Robinson
Limo	23,16	24,41	g·100g <sup>-1</sup> m.s.	Pipeta Robinson
Arcilla	16,16	17,48	g·100g <sup>-1</sup> m.s.	Pipeta Robinson
Clasificación textural	Franco Arenoso	Franco Arenoso	---	USDA
Carbonatos	14,34	16,62	g·100g <sup>-1</sup> m.s.	Calcímetro Bernard
Caliza Activa	6,48	9,25	g·100g <sup>-1</sup> m.s.	Droineau
Materia Orgánica	0,70	0,47	g·100g <sup>-1</sup> m.s.	Walkley- Black
pH	8,23	8,10		En agua (1:2,5)
Conductividad Eléctrica	0,11	0,15	mmhos·cm <sup>-1</sup>	A 25 °C (1:5)
Fósforo	30	8	mg·kg <sup>-1</sup> m.s.	Olsen-Watanabe
CIC	7,76	8,18	mmol <sub>c</sub> ·100g <sup>-1</sup> m.s.	NaAc., NH <sub>4</sub> Ac., A.A.
K <sup>+</sup> asimilable	0,43	0,29	mmol <sub>c</sub> ·100g <sup>-1</sup> m.s.	NH <sub>4</sub> Ac. y A.A.
Ca <sup>2+</sup> asimilable	9,78	9,14	mmol <sub>c</sub> ·100g <sup>-1</sup> m.s.	NaAc. y A.A.
Mg <sup>2+</sup> asimilable	0,46	0,54	mmol <sub>c</sub> ·100g <sup>-1</sup> m.s.	NaAc. y A.A.
Na <sup>+</sup> asimilable	0,19	0,20	mmol <sub>c</sub> ·100g <sup>-1</sup> m.s.	NH <sub>4</sub> Ac. y A.A.

NaAc.: acetato sódico; NH<sub>4</sub>Ac.: acetato amónico; A.A.: absorción atómica.

### III.2.1.2.- DESCRIPCIÓN DEL ENSAYO

#### Calendario de muestreo

El primero de los experimentos fue llevado a cabo durante el año 2001 en el viñedo Valdegón (Agoncillo). En dicho viñedo, se delimitaron tres bloques de 35 plantas cada uno, a modo de repeticiones, en los cuales se recogieron muestras foliares en cinco momentos del ciclo, correspondiendo los dos primeros muestreos a floración y el resto a muestreos llevados a cabo en distintas fases del invierno (Tabla 5).

El segundo ensayo se condujo durante 2002, sobre el viñedo La Grajera (Logroño). En esta parcela se delimitaron tres bloques a modo de repeticiones, constando de 100 plantas cada uno, de los cuales fueron obtenidas las muestras de limbo y pecíolo en seis momentos del ciclo, desde final de floración hasta vendimia (Tabla 5).

La Tabla 5 muestra la Integral Térmica Eficaz (desde el 1 de abril) y los estados fenológicos según Baggiolini (1952) y Eichorn y Lorenz (1977), modificados por Coombe y Dry (1995), para cada uno de los momentos de muestreo. La estimación del porcentaje de capuchones florales caídos en el estado fenológico de floración, así como la estimación de la proporción de bayas coloreadas en envero, se realizó de forma visual.

**Tabla 5.-** Momentos de muestreo para la determinación de diferencias en la concentración de nutrientes, donde I: floración; J: cuajado; M: envero; N: maduración.

Valdegón (2001)					La Grajera (2002)				
Baggiolini	E-L <sup>a</sup>	Fecha	DOY <sup>b</sup>	I.T. <sup>c</sup>	Baggiolini	E-L <sup>a</sup>	Fecha	DOY <sup>b</sup>	I.T. <sup>c</sup>
I 10%	20	01-jun	152	256					
I 100%	26	08-jun	159	488	I 100%	26	13-jun	164	362
					J	27	24-jun	175	488
M 10%	35	27-jul	208	859	M 10%	35	31-jul	212	917
M 50%	35	03-ago	215	962					
M 100%	35	13-ago	225	1.077	M 100%	35	12-ago	224	1.065
					N 50%	37	05-sep	248	1.348
					Vendimia	38	26-sep	269	1.487

<sup>a</sup> E-L: Estado fenológico según Eichorn y Lorenz.

<sup>b</sup> DOY: Día desde el 1 de enero.

<sup>c</sup> I.T.: Integral Térmica Eficaz Acumulada desde el 1 de abril ( $T > 10^{\circ}\text{C}$ ).

### Tratamientos o posiciones comparadas en el pámpano

En cada momento de muestreo, se seleccionaron 30 pámpanos por bloque o repetición, a razón de uno por planta, tomándose de cada uno de ellos tres hojas, correspondientes a las siguientes posiciones en el pámpano:

- [R1]: Hojas opuestas al racimo basal.
- [R2]: Hojas opuestas al racimo distal.
- [R3]: Hojas situadas 4 nudos por encima del racimo distal, habitualmente en el tercio medio del pámpano.

### III.2.1.3.- DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE NUTRIENTES EN LIMBO Y PECÍOLO

#### **Procesado de las muestras**

En el laboratorio se separaron limbos y pecíolos, que fueron lavados con agua corriente y seguidamente con agua destilada.

Tras un presecado con centrífuga manual, las muestras, colocadas en bandejas de papel secante debidamente identificadas, se secaron en estufa de aire forzado (J.P. Selecta DRYBIG) a 70 °C, durante 48 h.

Finalmente, las muestras fueron picadas, molidas con molino ultracentrífugo (Retsch ZM1) y tamizadas por tamiz de 0,5 mm.

#### **Análisis mineral**

Los análisis de limbo y pecíolo fueron realizados en el Laboratorio Regional de La Grajera. Se determinó la concentración de nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio, hierro, manganeso, zinc, cobre y boro. Para ello, a partir de la muestra seca y molida, se tomaron dos alícuotas de 0,2 g que fueron objeto de dos digestiones diferentes.

La concentración de nitrógeno (N orgánico + N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) se determinó por el método Kjeldahl (Jones y col., 1991). Tras digestión a 370°C con ácido sulfúrico [H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 95%] y 0,2 g de mezcla catalizadora (71% K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + 27% CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O + 2% Se), se destiló el N-NH<sub>3</sub>, para ser recogido en una solución de H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> (2%) y valorado con HCl (0,025M).

El resto de nutrientes fueron determinados mediante ICP-AES (Optima 3000DV; Perkin Elmer) tras digestión húmeda con ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 95%) y agua oxigenada (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30%) (Hoenig y col., 1998). Los resultados se expresaron en g·100g<sup>-1</sup> y mg·kg<sup>-1</sup> de materia seca para macronutrientes y micronutrientes, respectivamente. Se empleó agua desionizada (Milli-Q Millipore 18,2 MΩ·cm<sup>-1</sup>).

### III.2.1.4.- TRATAMIENTO ESTADÍSTICO

La incidencia de la posición de la hoja sobre la concentración de nutrientes fue determinada de forma separada para cada uno de los viñedos y, dentro de ellos, para cada tejido y momento de muestreo. Se llevó a cabo un análisis monofactorial de la varianza (ANOVA), seguido de un test post-hoc de separación de medias Tukey (p ≤ 0,05).

Para el estudio de la reproducibilidad de los resultados, se calculó el Coeficiente de Variación Porcentual de la concentración de nutrientes para cada combinación de tejido, posición en el pámpano y momento de muestreo, en cada uno de los dos viñedos.

### **III.2.2.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En general, en las dos parcelas de ensayo, el cultivo mantuvo un desarrollo normal, sin síntomas visuales de problemas nutricionales. Asimismo, las concentraciones de nutrientes en limbo y pecíolo se encontraron dentro de los rangos habituales en la DOCa Rioja (García-Escudero y col., 2006).

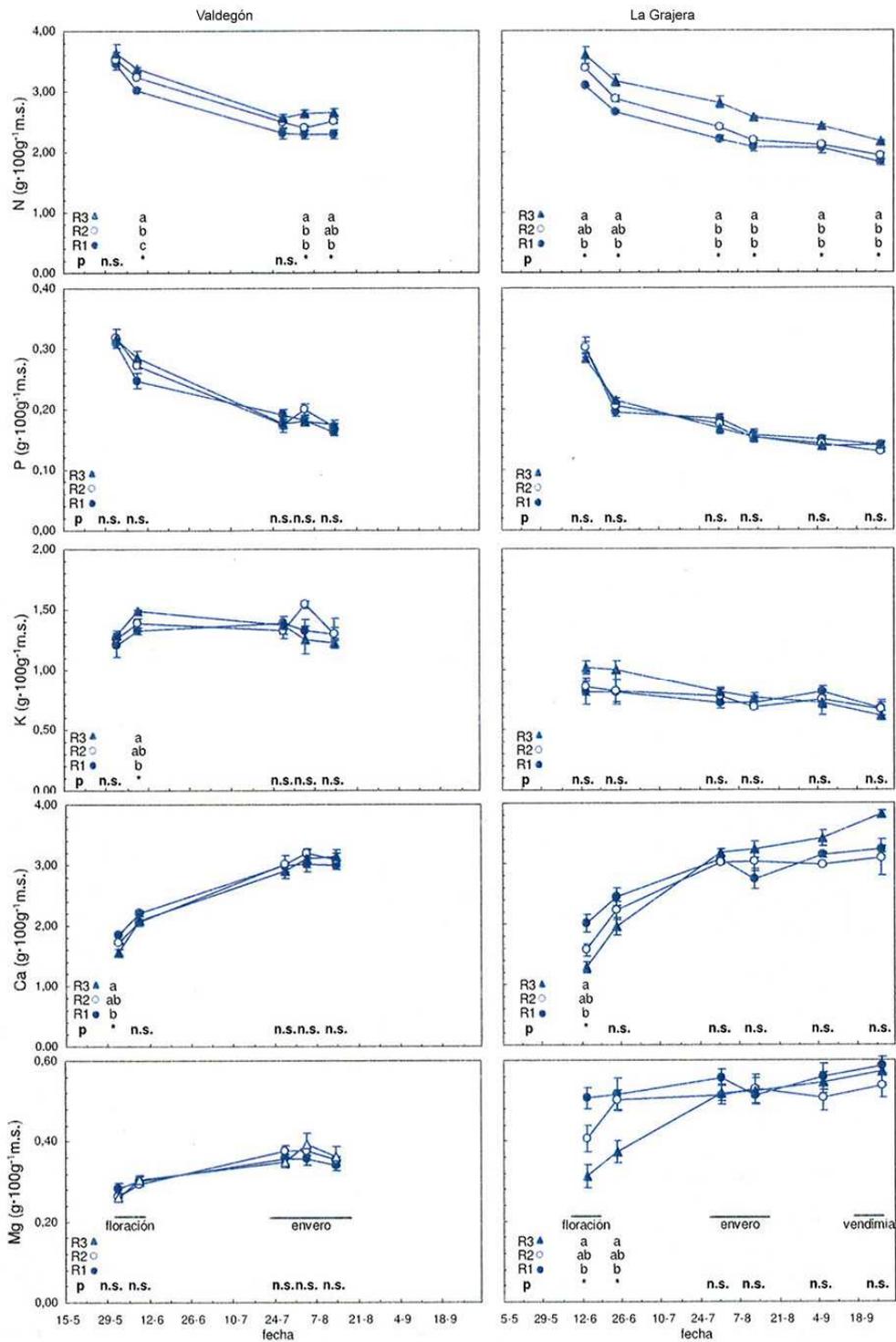
#### **III.2.2.1.- EVOLUCIÓN ESTACIONAL DE LA CONCENTRACIÓN DE NUTRIENTES**

Las Figuras 6 y 7 muestran la evolución de la concentración de macronutrientes en limbo y pecíolo a lo largo del ciclo en las dos parcelas estudiadas. En ambos viñedos, la tendencia estacional para los macronutrientes fue similar para las tres posiciones de hoja estudiadas. Dichas tendencias son consistentes con resultados previamente descritos para otras variedades de vid, como ‘Pinot Noir’ (Schreiner, 2005), ‘Thompson Seedless’ (Christensen, 1969) o ‘Chardonnay’ (Parejo y col., 1992).

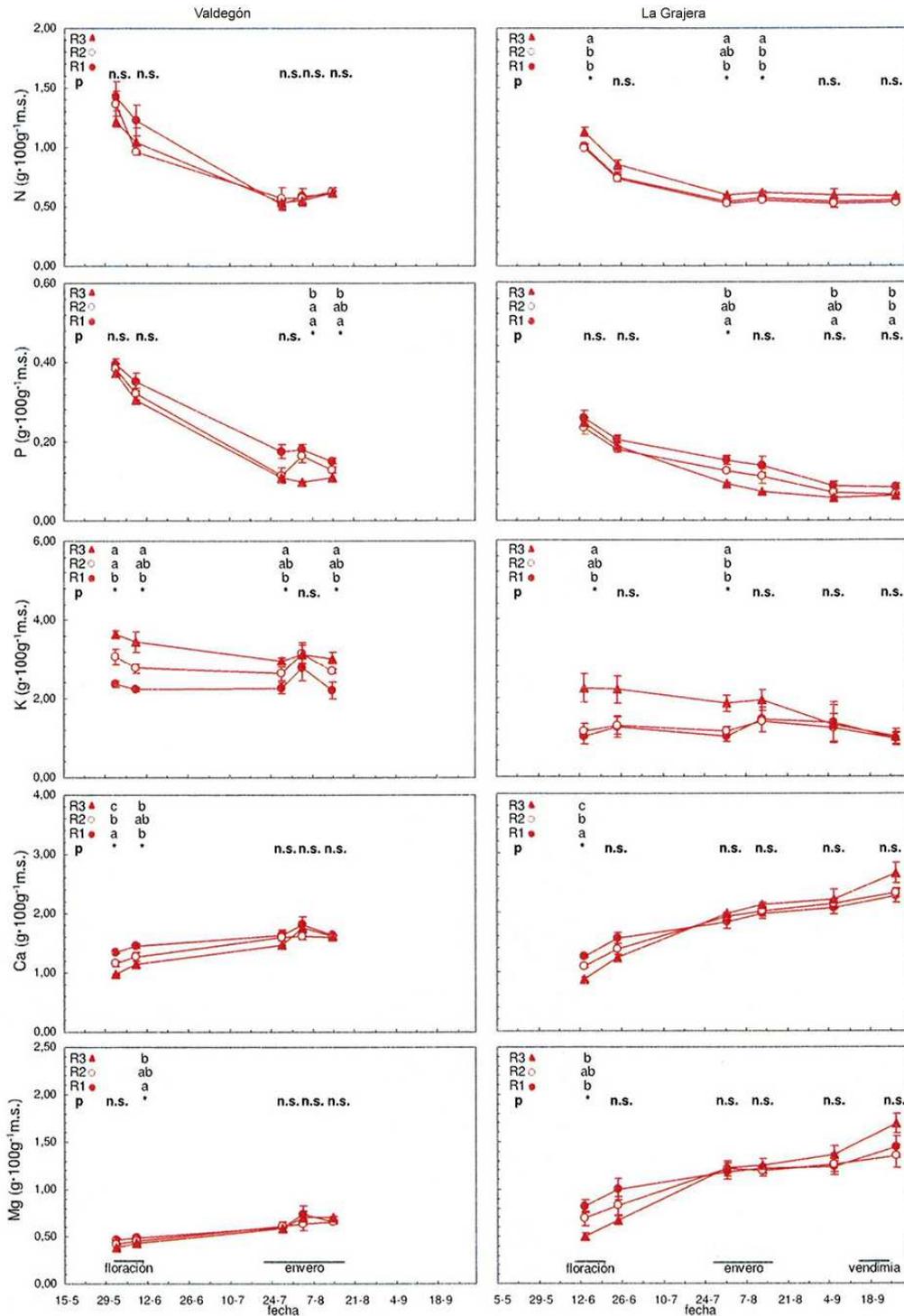
La concentración de nitrógeno y fósforo descendió durante el ciclo de cultivo tanto en limbo (Figura 6) como en pecíolo (Figura 7), en ambos viñedos y para las tres posiciones de la hoja estudiadas. La movilización de nitrógeno desde hojas maduras hacia meristemos, hojas jóvenes y frutos, lleva a un descenso en la concentración de nitrógeno en las hojas basales de cualquier especie vegetal (Barker y Pilbeam, 2007). Asimismo, se ha ofrecido como explicación del brusco descenso en la concentración de N después de floración, la traslocación de este nutriente a tejidos de reserva (Vivin y col., 2003). Por su parte, el potasio parece mostrar un descenso muy suave desde el final de la floración, lo que coincide con resultados anteriores obtenidos para la variedad Tempranillo (García-Escudero y col., 2002b).

Por otro lado, se observó un incremento de la concentración en Ca y Mg a lo largo del ciclo en las tres posiciones estudiadas, lo que concuerda ampliamente con la bibliografía (Fregoni, 1980; Champagnol, 1984; Porro y col., 1995), tanto en lo que se refiere a los limbos (Colugnati y col., 1992; Stevens, 2004; Schreiner, 2005; Navarro y col., 2008) como a los pecíolos (Parejo y col., 1992). Estos resultados indican que la dinámica estacional de la concentración de nutrientes se ajustó a lo habitual en material foliar de vid. La evolución nutricional a lo largo del ciclo se abordará, para ambos tejidos, de forma más amplia en el siguiente capítulo.

Asimismo, se puede comentar que la concordancia evolutiva en limbos y pecíolos se establece a pesar de las diferencias relativas a la concentración neta en cada uno de los dos tejidos estudiados (Figuras 6 y 7). Estas diferencias, así como la correlación entre ambos tejidos, están ampliamente reflejadas en la bibliografía, razón por la que en la actualidad se recomienda mayoritariamente el análisis separado de limbo y pecíolo, tal y como se puede constatar en la introducción (III.1.3). En todo caso, las diferencias entre ambos tejidos serán tratadas con más detalle en el apartado III.3 de esta memoria.



**Figura 6.-** Evolución estacional de la concentración de macronutrientes en limbo ( $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$  m.s.) en función de su posición en el pámpano a lo largo del ciclo de cultivo. R1: hojas opuestas al racimo basal; R2: hojas opuestas al racimo distal; R3: hojas del cuarto nudo desde el racimo distal, en el tercio medio del pámpano. Las barras de error indican el error estándar de la media ( $n=3$ ). Letras diferentes para un mismo momento de muestreo indican diferencias significativas (Tukey,  $p \leq 0,05$ ); n.s.: no significativo.



**Figura 7.-** Evolución estacional de la concentración de macronutrientes en pecíolo ( $\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  m.s.) en función de su posición en el pámpano a lo largo del ciclo de cultivo. R1: hojas opuestas al racimo basal; R2: hojas opuestas al racimo distal; R3: hojas del cuarto nudo desde el racimo distal, en el tercio medio del pámpano. Las barras de error indican el error estándar de la media ( $n=3$ ). Letras diferentes para un mismo momento de muestreo indican diferencias significativas (Tukey,  $p\leq 0,05$ ); n.s.: no significativo.

## III.2.2.2.- INFLUENCIA DE LA POSICIÓN DEL LIMBO EN SU COMPOSICIÓN MINERAL

En lo que se refiere a la concentración de macronutrientes en el limbo, el N fue el único macronutriente que mostró diferencias consistentes entre las posiciones muestreadas en el pámpano a lo largo del ciclo de cultivo, tanto en la parcela Valdegón (Tabla 6) como en La Grajera (Tabla 7). Los limbos de hojas maduras, en posición opuesta al racimo basal [R1], mostraron concentraciones inferiores a los de hojas situadas por encima de los racimos [R3]. Sin embargo, no se observaron diferencias entre limbos [R1] y [R2], exceptuando el muestreo de final de floración en el viñedo de Valdegón (Tabla 6).

**Tabla 6.-** Concentración de macronutrientes en limbo ( $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$  m.s.) en función de su posición en el pámpano a lo largo del ciclo de cultivo. Parcela Valdegón. R1: hojas opuestas al racimo basal; R2: hojas opuestas al racimo distal; R3: hojas del cuarto nudo desde el racimo distal, en el tercio medio del pámpano.

		Valdegón (2001)				
		I 10%	I 100%	M 10%	M 50%	M 100%
N	R1	3,46 ± 0,15	3,02 ± 0,03 c	2,30 ± 0,05	2,29 ± 0,04 b	2,29 ± 0,06 b
	R2	3,53 ± 0,12	3,24 ± 0,03 b	2,49 ± 0,08	2,39 ± 0,05 b	2,51 ± 0,04 ab
	R3	3,64 ± 0,09	3,38 ± 0,03 a	2,57 ± 0,08	2,64 ± 0,06 a	2,65 ± 0,07 a
		n.s.	*	n.s.	*	*
P	R1	0,31 ± 0,01	0,25 ± 0,01	0,19 ± 0,01	0,18 ± 0,01	0,16 ± 0,01
	R2	0,32 ± 0,01	0,27 ± 0,01	0,17 ± 0,01	0,20 ± 0,01	0,17 ± 0,01
	R3	0,32 ± 0,00	0,29 ± 0,01	0,18 ± 0,01	0,18 ± 0,01	0,17 ± 0,01
		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
K	R1	1,21 ± 0,10	1,33 ± 0,03 b	1,39 ± 0,06	1,33 ± 0,09	1,30 ± 0,12
	R2	1,26 ± 0,04	1,39 ± 0,03 ab	1,33 ± 0,06	1,54 ± 0,03	1,30 ± 0,05
	R3	1,30 ± 0,03	1,49 ± 0,01 a	1,38 ± 0,07	1,25 ± 0,12	1,23 ± 0,04
		n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.
Ca	R1	1,85 ± 0,07 a	2,22 ± 0,02	2,99 ± 0,06	3,03 ± 0,13	3,00 ± 0,07
	R2	1,72 ± 0,01 ab	2,06 ± 0,02	3,02 ± 0,14	3,21 ± 0,07	3,09 ± 0,11
	R3	1,56 ± 0,05 b	2,09 ± 0,08	2,91 ± 0,12	3,11 ± 0,15	3,14 ± 0,11
		*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Mg	R1	0,28 ± 0,01	0,30 ± 0,01	0,36 ± 0,01	0,36 ± 0,02	0,34 ± 0,01
	R2	0,27 ± 0,00	0,30 ± 0,00	0,38 ± 0,01	0,38 ± 0,00	0,36 ± 0,01
	R3	0,26 ± 0,01	0,30 ± 0,01	0,35 ± 0,01	0,39 ± 0,03	0,36 ± 0,02
		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

<sup>a</sup> Los datos representan la media ( $n=3$ ) ± Error estándar.

<sup>b</sup> Letras diferentes para un mismo momento de muestreo y nutriente difieren significativamente (Tukey,  $p \leq 0,05$ ); n.s.: no significativo.

En la parcela La Grajera (Tabla 7), las concentraciones de Ca y Mg fueron superiores en los limbos de hojas opuestas al racimo basal [R1] respecto al de las hojas situadas en el tercio medio del pámpano [R3] en el estado fenológico de floración, aunque este comportamiento no pudo constatarse en la

parcela Valdegón (Tabla 6). En lo que se refiere a la concentración de K en limbo, las diferencias entre las posiciones [R3] y [R1] aparecieron únicamente en el muestreo de plena floración en el viñedo de Valdegón (Tablas 6 y 7). Ninguno de estos cationes mostró, por tanto, diferencias en su concentración entre los limbos opuestos al racimo basal [R1] y aquellos situados en posición opuesta al segundo racimo [R2].

La concentración de P en limbo no se vio afectada por la posición de la hoja sobre el pámpano en ningún momento del ciclo de cultivo y en ninguno de los dos viñedos (Tablas 6 y 7).

**Tabla 7.-** Concentración de macronutrientes en limbo ( $\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  m.s.) en función de su posición en el pámpano a lo largo del ciclo de cultivo. Parcela La Grajera. R1: hojas opuestas al racimo basal; R2: hojas opuestas al racimo distal; R3: hojas del cuarto nudo desde el racimo distal, en el tercio medio del pámpano.

La Grajera (2002)							
		I 100%	J	M 10%	M 100%	N 50%	Vendimia
N	R1	3,09 ± 0,01 b	2,65 ± 0,02 b	2,21 ± 0,04 b	2,08 ± 0,07 b	2,05 ± 0,08 b	1,81 ± 0,05 b
	R2	3,38 ± 0,02 ab	2,87 ± 0,06 ab	2,40 ± 0,04 b	2,17 ± 0,05 b	2,11 ± 0,03 b	1,92 ± 0,05 b
	R3	3,60 ± 0,14 a	3,17 ± 0,10 a	2,81 ± 0,09 a	2,56 ± 0,03 a	2,42 ± 0,02 a	2,16 ± 0,01 a
		*	*	*	*	*	*
P	R1	0,30 ± 0,02	0,19 ± 0,01	0,18 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,14 ± 0,00
	R2	0,30 ± 0,01	0,21 ± 0,00	0,17 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,14 ± 0,01	0,13 ± 0,00
	R3	0,28 ± 0,01	0,21 ± 0,00	0,17 ± 0,01	0,15 ± 0,00	0,14 ± 0,00	0,14 ± 0,00
		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
K	R1	0,81 ± 0,09	0,81 ± 0,10	0,72 ± 0,05	0,72 ± 0,06	0,81 ± 0,04	0,67 ± 0,07
	R2	0,85 ± 0,08	0,82 ± 0,09	0,77 ± 0,06	0,68 ± 0,01	0,75 ± 0,07	0,66 ± 0,06
	R3	1,02 ± 0,05	1,00 ± 0,08	0,81 ± 0,04	0,76 ± 0,04	0,72 ± 0,10	0,61 ± 0,04
		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Ca	R1	2,01 ± 0,15 a	2,45 ± 0,14	3,06 ± 0,07	2,74 ± 0,16	3,14 ± 0,05	3,24 ± 0,05
	R2	1,57 ± 0,10 ab	2,23 ± 0,15	3,02 ± 0,04	3,04 ± 0,17	2,99 ± 0,01	3,10 ± 0,31
	R3	1,30 ± 0,09 b	1,97 ± 0,14	3,18 ± 0,07	3,23 ± 0,13	3,42 ± 0,13	3,81 ± 0,06
		*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Mg	R1	0,51 ± 0,02 a	0,52 ± 0,04 a	0,56 ± 0,02	0,51 ± 0,02	0,56 ± 0,03	0,59 ± 0,04
	R2	0,41 ± 0,03 ab	0,50 ± 0,02 ab	0,51 ± 0,02	0,53 ± 0,04	0,51 ± 0,03	0,54 ± 0,03
	R3	0,31 ± 0,03 b	0,37 ± 0,03 b	0,52 ± 0,02	0,52 ± 0,03	0,54 ± 0,03	0,57 ± 0,04
		*	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

<sup>a</sup> Los datos representan la media ( $n=3$ ) ± Error estándar.

<sup>b</sup> Letras diferentes para un mismo momento de muestreo y nutriente difieren significativamente (Tukey,  $p \leq 0,05$ ); n.s.: no significativo.

En cuanto a los micronutrientes (Tabla 8), la concentración de Fe en limbo disminuyó a medida que aumentaba la distancia de la hoja respecto a la base del pámpano. Las diferencias en la concentración de este nutriente resultaron significativas entre [R1] y [R3] en la mayoría de muestreos – en el viñedo

de La Grajera lo fueron durante todo el ciclo -, mientras [R1] y [R2] tan sólo mostraron diferencias en la época de floración.

La concentración del resto de micronutrientes apenas se vio afectada por la posición del limbo en el pámpano, y las diferencias entre las tres posiciones consideradas aparecieron, tan sólo, de forma ocasional (Tabla 8).

**Tabla 8.-** Concentración de micronutrientes en limbo ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\text{m.s.}$ ) en función de su posición en el pámpano a lo largo del ciclo de cultivo. Parcelas Valdegón y La Grajera. R1: hojas opuestas al racimo basal; R2: hojas opuestas al racimo distal; R3: hojas del cuarto nudo desde el racimo distal, en el tercio medio del pámpano.

		Valdegón (2001)					La Grajera (2002)					
		I 10%	I 100%	M 10%	M 50%	M 100%	I 100%	J	M 10%	M 100%	N 50%	Vendimia
<b>Fe</b>	<b>R1</b>	92±1a	103±7	172±7a	194±6a	148±3	235±26a	295±16a	288±22a	250±29a	353±28a	372±45a
	<b>R2</b>	86±1b	88±3	136±3b	191±11ab	155±3	166±5b	230±6a	259±21a	242±21a	280±48ab	288±27ab
	<b>R3</b>	77±2c	90±2	136±4b	159±5b	148±6	88±7c	126±8b	143±7b	137±7b	166±15b	197±22b
		*	n.s.	*	*	n.s.	*	*	*	*	*	*
<b>Mn</b>	<b>R1</b>	51±4	63±7	90±7	77±5	75±4	129±7a	106±7	145±19	121±24	136±20	128±23
	<b>R2</b>	51±2	47±3	80±7	90±13	82±4	91±9ab	98±3	137±12	115±22	119±9	122±15
	<b>R3</b>	42±3	52±1	76±1	80±6	82±1	59±10b	83±10	160±14	130±21	128±22	133±13
		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
<b>Cu</b>	<b>R1</b>	10±1b	10±0	124±14	90±8	70±4b	76±27	84±26	149±2ab	104±12	108±27	70±5ab
	<b>R2</b>	14±0a	11±0	116±20	116±10	106±12a	47±27	66±21	165±12a	95±10	87±13	56±3a
	<b>R3</b>	13±1a	12±1	137±16	93±22	91±5ab	20±8	15±2	96±21b	69±5	52±10	35±3b
		*	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.	*
<b>Zn</b>	<b>R1</b>	18±1	19±2	22±2	20±1ab	22±0a	22±2	19±1a	20±1a	17±2	22±3	17±2a
	<b>R2</b>	18±1	16±1	19±1	22±1a	19±1ab	17±1	16±1ab	17±0ab	16±1	16±1	14±1ab
	<b>R3</b>	18±1	17±0	17±1	18±1b	18±1b	15±1	15±1b	15±1b	13±1	14±1	12±0b
		n.s.	n.s.	n.s.	*	*	n.s.	*	*	n.s.	n.s.	*
<b>B</b>	<b>R1</b>	103±10	97±6	49±3a	50±4	38±3	54±4	54±3	41±1	37±5	36±4	32±3
	<b>R2</b>	103±4	97±4	40±2b	50±6	37±2	48±4	57±2	42±2	34±1	35±4	28±3
	<b>R3</b>	92±6	82±2	38±1b	36±3	34±2	38±4	53±1	36±3	30±2	31±0	26±1
		n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

<sup>a</sup> Los datos representan la media ( $n=3$ )  $\pm$  Error estándar.

<sup>b</sup> Letras diferentes para un mismo momento de muestreo y nutriente difieren significativamente (Tukey,  $p \leq 0,05$ ); n.s.: no significativo.

### III.2.2.3.- INFLUENCIA DE LA POSICIÓN DEL PECÍOLO EN SU COMPOSICIÓN MINERAL

La concentración de nitrógeno en pecíolo parece ser menos dependiente de la posición de la hoja en el pámpano que la del limbo, ya que no se observaron diferencias entre las tres posiciones de la hoja en ningún momento del ciclo en la parcela Valdegón (Tabla 9). Sin embargo, en el viñedo de La Grajera,

los pecíolos [R3], del tercio medio del pámpano, mostraron una concentración de nitrógeno superior a la de los pecíolos situados en posición opuesta al racimo basal [R1] hasta el envero (Tabla 10).

La concentración de fósforo varió ligeramente entre los pecíolos opuestos al racimo basal [R1] y los del tercio medio del pámpano [R3] a partir del envero en ambos viñedos (Tablas 9 y 10), sin que se detectaran diferencias entre pecíolos situados en posición opuesta al racimo basal [R1] y aquellos situados en posición opuesta al racimo distal [R2], salvo en el muestreo correspondiente a vendimia en el viñedo de La Grajera (Tabla 10).

**Tabla 9.-** Concentración de macronutrientes en pecíolo ( $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$  m.s.) en función de su posición en el pámpano a lo largo del ciclo de cultivo. Parcela Valdegón. R1: hojas opuestas al racimo basal; R2: hojas opuestas al racimo distal; R3: hojas del cuarto nudo desde el racimo distal, en el tercio medio del pámpano.

		Valdegón (2001)				
		I 10%	I 100%	M 10%	M 50%	M 100%
N	R1	1,43 ± 0,12	1,23 ± 0,13	0,52 ± 0,04	0,59 ± 0,06	0,61 ± 0,02
	R2	1,37 ± 0,11	0,96 ± 0,00	0,57 ± 0,09	0,57 ± 0,01	0,63 ± 0,04
	R3	1,22 ± 0,05	1,05 ± 0,11	0,53 ± 0,03	0,55 ± 0,04	0,62 ± 0,04
		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
P	R1	0,40 ± 0,01	0,35 ± 0,02	0,18 ± 0,02	0,18 ± 0,01 a	0,15 ± 0,01 a
	R2	0,38 ± 0,01	0,32 ± 0,02	0,11 ± 0,02	0,16 ± 0,02 a	0,13 ± 0,01 ab
	R3	0,37 ± 0,01	0,31 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,10 ± 0,00 b	0,11 ± 0,01 b
		n.s.	n.s.	n.s.	*	*
K	R1	2,37 ± 0,08 b	2,23 ± 0,05 b	2,26 ± 0,14 b	2,78 ± 0,33	2,2 ± 0,22 b
	R2	3,07 ± 0,21 a	2,77 ± 0,13 ab	2,63 ± 0,17 ab	3,18 ± 0,27	2,7 ± 0,06 ab
	R3	3,65 ± 0,09 a	3,45 ± 0,25 a	2,97 ± 0,08 a	3,14 ± 0,25	3,04 ± 0,14 a
		*	*	*	n.s.	*
Ca	R1	1,35 ± 0,02 a	1,45 ± 0,03 a	1,64 ± 0,05	1,82 ± 0,13	1,63 ± 0,02
	R2	1,16 ± 0,05 b	1,27 ± 0,07 ab	1,60 ± 0,13	1,62 ± 0,05	1,59 ± 0,05
	R3	0,98 ± 0,01 c	1,15 ± 0,06 b	1,47 ± 0,07	1,76 ± 0,08	1,61 ± 0,03
		*	*	n,s,	n,s,	n,s,
Mg	R1	0,46 ± 0,03	0,49 ± 0,01 a	0,60 ± 0,00	0,74 ± 0,09	0,66 ± 0,03
	R2	0,42 ± 0,02	0,45 ± 0,00 ab	0,61 ± 0,04	0,64 ± 0,05	0,66 ± 0,02
	R3	0,39 ± 0,02	0,43 ± 0,01 b	0,59 ± 0,03	0,70 ± 0,07	0,70 ± 0,02
		n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.

<sup>a</sup> Los datos representan la media ( $n=3$ ) ± Error estándar.

<sup>b</sup> Letras diferentes para un mismo momento de muestreo y nutriente difieren significativamente (Tukey,  $p \leq 0,05$ ); n.s.: no significativo.

En lo que se refiere al potasio, los pecíolos de hojas más jóvenes, situadas en el tercio medio del pámpano [R3], mostraron concentraciones superiores hasta el envero respecto a las opuestas a racimos basales [R1] (Tablas 9 y 10), y ocasionalmente respecto a las opuestas al segundo racimo [R2] en La

Grajera (Tabla 10), mientras que no se observaron, en general, estas diferencias entre los pecíolos opuestos a cualquier racimo [R1] y [R2] ni en maduración ni en vendimia (Tablas 9 y 10).

El comportamiento de la concentración peciolar de Ca y Mg fue muy similar al del limbo, con concentraciones superiores en las hojas opuestas al racimo basal [R1] respecto a aquellas situadas por encima de los racimos en los primeros muestreos del ciclo, en [R3], sin que estas diferencias aparecieran durante el resto de la campaña. Cabe señalar que en el caso del Ca, se observaron diferencias entre las hojas opuestas al racimo basal [R1] y las opuestas al segundo racimo [R2] en la época de floración para ambas parcelas experimentales (Tablas 9 y 10).

**Tabla 10.-** Concentración de macronutrientes en pecíolo ( $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$  m.s.) en función de su posición en el pámpano a lo largo del ciclo de cultivo. Parcela La Grajera. R1: hojas opuestas al racimo basal; R2: hojas opuestas al racimo distal; R3: hojas del cuarto nudo desde el racimo distal, en el tercio medio del pámpano.

		La Grajera (2002)					
		I 100%	J	M 10%	M 100%	N 50%	Vendimia
N	R1	1,01 ± 0,02 b	0,75 ± 0,04	0,55 ± 0,01 ab	0,58 ± 0,01 b	0,55 ± 0,02	0,56 ± 0,02
	R2	0,99 ± 0,01 b	0,74 ± 0,03	0,53 ± 0,02 b	0,55 ± 0,01 b	0,53 ± 0,03	0,53 ± 0,00
	R3	1,12 ± 0,04 a	0,85 ± 0,04	0,60 ± 0,01 a	0,62 ± 0,01 a	0,60 ± 0,05	0,59 ± 0,01
		*	n.s.	*	*	n.s.	n.s.
P	R1	0,26 ± 0,02	0,20 ± 0,01	0,15 ± 0,01 a	0,14 ± 0,02	0,09 ± 0,01 a	0,09 ± 0,01 a
	R2	0,23 ± 0,02	0,18 ± 0,01	0,13 ± 0,00 ab	0,11 ± 0,02	0,07 ± 0,00 ab	0,07 ± 0,00 b
	R3	0,25 ± 0,01	0,19 ± 0,01	0,09 ± 0,00 b	0,07 ± 0,00	0,06 ± 0,00 b	0,06 ± 0,00 b
		n.s.	n.s.	*	n.s.	*	*
K	R1	1,01 ± 0,19 b	1,24 ± 0,25	1,00 ± 0,14 b	1,43 ± 0,31	1,38 ± 0,50	0,95 ± 0,16
	R2	1,16 ± 0,19 ab	1,28 ± 0,23	1,15 ± 0,11 b	1,39 ± 0,26	1,22 ± 0,36	0,95 ± 0,15
	R3	2,24 ± 0,35 a	2,20 ± 0,35	1,85 ± 0,20 a	1,92 ± 0,27	1,32 ± 0,47	1,01 ± 0,18
		*	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.
Ca	R1	1,26 ± 0,03 a	1,57 ± 0,09	1,84 ± 0,12	1,98 ± 0,10	2,07 ± 0,10	2,27 ± 0,11
	R2	1,10 ± 0,03 b	1,39 ± 0,09	1,93 ± 0,06	2,03 ± 0,10	2,14 ± 0,08	2,32 ± 0,08
	R3	0,88 ± 0,03 c	1,23 ± 0,06	1,98 ± 0,02	2,13 ± 0,04	2,22 ± 0,16	2,66 ± 0,18
		*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Mg	R1	0,81 ± 0,07 a	1,00 ± 0,11	1,18 ± 0,09	1,21 ± 0,05	1,24 ± 0,06	1,44 ± 0,11
	R2	0,69 ± 0,08 ab	0,82 ± 0,10	1,21 ± 0,08	1,19 ± 0,05	1,26 ± 0,11	1,35 ± 0,12
	R3	0,50 ± 0,03 b	0,67 ± 0,04	1,23 ± 0,05	1,25 ± 0,07	1,36 ± 0,10	1,69 ± 0,10
		*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

<sup>a</sup> Los datos representan la media ( $n=3$ ) ± Error estándar.

<sup>b</sup> Letras diferentes para un mismo momento de muestreo y nutriente difieren significativamente (Tukey,  $p \leq 0,05$ ); n.s.: no significativo.

En lo que hace referencia a los micronutrientes, la concentración peciolar de Fe fue, en general, inferior en las hojas más jóvenes [R3] en el viñedo de La Grajera, mientras que no se detectaron diferencias entre las distintas posiciones del pámpano en la parcela de Valdegón (Tabla 11).

El Cu mostró algunas diferencias entre R1 y R3, sin que éstas resultaran consistentes ni a lo largo del ciclo de cultivo ni entre viñedos. El resto de micronutrientes no vieron afectados sus niveles por la posición del pecíolo en el pámpano en ninguno de los momentos de muestreo (Tabla 11).

**Tabla 11.-** Concentración de micronutrientes en pecíolo ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  m.s.) en función de su posición en el pámpano, a lo largo del ciclo de cultivo. Parcelas Valdegón y La Grajera. R1: hojas opuestas al racimo basal; R2: hojas opuestas al racimo distal; R3: hojas del cuarto nudo desde el racimo distal, en el tercio medio del pámpano.

		Valdegón (2001)					La Grajera (2002)					
		I 10%	I 100%	M 10%	M 50%	M 100%	I 100%	J	M 10%	M 100%	N 50%	Vendimia
<b>Fe</b>	<b>R1</b>	15 ± 1	21 ± 1	27 ± 1	24 ± 0a	23 ± 0	32 ± 1a	33 ± 2a	37 ± 4	41 ± 2a	46 ± 5a	46 ± 4a
	<b>R2</b>	17 ± 0	18 ± 1	26 ± 5	22 ± 1a	20 ± 2	29 ± 3ab	30 ± 0a	32 ± 2	30 ± 1b	45 ± 5a	33 ± 2ab
	<b>R3</b>	17 ± 1	22 ± 2	25 ± 3	20 ± 0b	18 ± 1	22 ± 2b	24 ± 1b	27 ± 1	21 ± 1c	25 ± 1b	24 ± 3b
		n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	*	*	n.s.	*	*	*
<b>Cu</b>	<b>R1</b>	8 ± 0	6 ± 0	13 ± 2	11 ± 1	10 ± 1	11 ± 2	9 ± 1	14 ± 0ab	12 ± 1	11 ± 1	9 ± 0a
	<b>R2</b>	8 ± 0	6 ± 0	13 ± 1	13 ± 2	10 ± 1	10 ± 2	9 ± 1	16 ± 1a	11 ± 1	11 ± 2	8 ± 0ab
	<b>R3</b>	8 ± 0	6 ± 0	14 ± 1	10 ± 1	10 ± 1	9 ± 1	6 ± 0	11 ± 0b	10 ± 0	7 ± 1	7 ± 1b
		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.	*
<b>Mn</b>	<b>R1</b>	15 ± 2	17 ± 1	40 ± 2	41 ± 5	53 ± 8	29 ± 1	55 ± 10	100 ± 11	83 ± 28	65 ± 20	70 ± 11
	<b>R2</b>	15 ± 1	18 ± 0	39 ± 3	44 ± 4	56 ± 4	26 ± 1	50 ± 9	109 ± 14	85 ± 31	67 ± 24	71 ± 13
	<b>R3</b>	15 ± 0	20 ± 1	41 ± 2	55 ± 8	63 ± 1	23 ± 2	48 ± 6	116 ± 19	98 ± 38	72 ± 22	77 ± 15
		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
<b>Zn</b>	<b>R1</b>	13 ± 1	12 ± 0	19 ± 0	23 ± 1	23 ± 2	17 ± 2	17 ± 2	26 ± 2	26 ± 1	28 ± 3	26 ± 3
	<b>R2</b>	13 ± 1	11 ± 1	19 ± 1	24 ± 1	25 ± 1	14 ± 2	11 ± 1	24 ± 1	22 ± 2	24 ± 3	21 ± 2
	<b>R3</b>	13 ± 1	12 ± 1	25 ± 3	27 ± 3	31 ± 2	14 ± 2	13 ± 1	28 ± 1	25 ± 1	26 ± 2	26 ± 1
		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
<b>B</b>	<b>R1</b>	41 ± 1	46 ± 1	35 ± 1	37 ± 1	33 ± 1	38 ± 1	43 ± 1	42 ± 3	47 ± 4	44 ± 4	41 ± 2
	<b>R2</b>	42 ± 1	47 ± 1	36 ± 1	37 ± 1	35 ± 0	36 ± 2	42 ± 0	43 ± 2	46 ± 3	43 ± 3	42 ± 2
	<b>R3</b>	44 ± 1	49 ± 1	37 ± 1	35 ± 0	36 ± 1	37 ± 0	44 ± 1	50 ± 1	51 ± 4	47 ± 5	45 ± 2
		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

<sup>a</sup> Los datos representan la media ( $n=3$ ) ± Error estándar.

<sup>b</sup> Letras diferentes para un mismo momento de muestreo y nutriente difieren significativamente (Tukey,  $p \leq 0,05$ ); n.s.: no significativo.

#### III.2.2.4.- REPRODUCIBILIDAD DE LOS RESULTADOS

La reproducibilidad de los resultados obtenidos mediante el análisis de limbos o pecíolos se evaluó mediante el Coeficiente de Variación Porcentual (CV%) para cada una de las tres posiciones (Tabla

12). No se observaron diferencias consistentes entre las tres posiciones estudiadas, tanto en lo que se refiere al limbo como al pecíolo.

Estos resultados sugieren que los tres tipos de hojas estudiados podrían ser empleados en el diagnóstico nutricional con similar fiabilidad en los análisis, siempre que se dispusiera de sus correspondientes niveles de referencia.

En cuanto a la evaluación de diferencias entre ambos tejidos, los resultados parecen sugerir que, en general, el limbo presenta menores CV% para elementos como N, P, K, Mg, Mn y Zn. En cuanto a los macronutrientes, los valores más bajos de CV% se observaron para el nitrógeno en limbo, mientras la concentración de K en pecíolo mostró los valores más elevados, alcanzando niveles superiores al 30% en el viñedo de La Grajera. El pecíolo, por su parte, parece presentar menores CV% para el B y el Cu (Tabla 12).

Sin embargo, la reproducibilidad o variabilidad de los resultados para ambos tejidos será objeto de un estudio más riguroso en el siguiente capítulo.

**Tabla 12.-** Coeficientes de variación (%) para la concentración de macro y micronutrientes en hojas situadas en distintas posiciones del pámpano. Parcelas Valdegón y La Grajera. R1: hojas opuestas al racimo basal; R2: hojas opuestas al racimo distal; R3: hojas del cuarto nudo desde el racimo distal, en el tercio medio del pámpano.

Macronutrientes						Micronutrientes					
		Valdegón		La Grajera				Valdegón		La Grajera	
		Limbo	Pecíolo	Limbo	Pecíolo			Limbo	Pecíolo	Limbo	Pecíolo
N	R1	4%	14%	4%	6%	Fe	R1	6%	6%	16%	13%
	R2	4%	11%	3%	5%		R2	5%	13%	14%	11%
	R3	4%	12%	4%	6%		R3	5%	12%	13%	11%
P	R1	7%	11%	8%	15%	Mn	R1	13%	16%	22%	33%
	R2	7%	15%	7%	12%		R2	13%	10%	18%	36%
	R3	5%	8%	4%	7%		R3	6%	9%	23%	36%
K	R1	11%	12%	15%	37%	Zn	R1	10%	10%	16%	19%
	R2	6%	10%	14%	31%		R2	9%	10%	10%	17%
	R3	7%	9%	12%	32%		R3	7%	18%	10%	12%
Ca	R1	5%	5%	7%	8%	Cu	R1	11%	12%	32%	17%
	R2	4%	8%	9%	7%		R2	15%	16%	37%	19%
	R3	7%	6%	7%	7%		R3	18%	12%	33%	10%
Mg	R1	7%	9%	10%	13%	B	R1	13%	5%	13%	11%
	R2	3%	8%	10%	15%		R2	10%	4%	12%	8%
	R3	8%	8%	11%	10%		R3	9%	4%	9%	8%

### **III.3.- PERÍODOS DE ESTABILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD DE RESULTADOS EN LIMBO Y PECÍOLO.**

La fiabilidad del diagnóstico nutricional de las plantas depende de varios factores, entre los que se encuentran el análisis de un tejido vegetal representativo de dicho estado nutricional y el hecho de que la comparación con unas referencias adecuadas sea lo más fiable posible.

Dentro de la representatividad o idoneidad de un tejido para el diagnóstico estaría comprendida la capacidad de dicho tejido para garantizar una alta reproducibilidad en los resultados de los análisis, lo que reduciría la incertidumbre a la hora de realizar diagnósticos rutinarios con un limitado número de muestras. Ésta es una práctica muy habitual en la agricultura, donde a menudo el diagnóstico nutricional sólo se realiza en situaciones en las que ya se ha declarado algún síntoma de incidencia nutricional, limitando en lo posible el número de muestras con objeto de reducir los costes en análisis.

Asimismo, la comparación con unas referencias requiere una elevada similitud entre las condiciones con las que se realiza el muestreo con respecto a las condiciones en las que se obtuvieron dichas referencias, ya que la desviación temporal respecto al momento de muestreo de la referencia puede producir grandes errores de interpretación. Conocer la evolución de la concentración de nutrientes a lo largo del ciclo, y más concretamente alrededor de las fechas recomendadas por las referencias para el muestreo, permitirá determinar el período de vigencia de las referencias, sugiriendo un rango de tiempo dentro del cual el resultado de un muestreo sería comparable con la referencia disponible.

Debido a esto, se llevó a cabo un estudio en una parcela experimental para determinar, a partir de la concentración de nutrientes en limbos y pecíolos a lo largo de dos ciclos de cultivo, los siguientes factores que inciden en la validez del diagnóstico nutricional en la variedad Tempranillo:

- Evolución estacional de la concentración de nutrientes en limbo y pecíolo.
- Períodos de estabilidad nutricional a lo largo del ciclo de cultivo.
- Reproducibilidad de los análisis a partir de limbo y pecíolo.

#### **III.3.1.- MATERIALES Y MÉTODOS**

##### **III.3.1.1.- DESCRIPCIÓN Y MANEJO DEL VIÑEDO EXPERIMENTAL**

Se llevaron a cabo dos estudios anuales, durante 2000 y 2001, en un viñedo experimental plantado con la variedad Tempranillo sobre Richter 110, cuyas características se recogen a continuación.

El citado viñedo se encuentra en la finca Valdegón (Logroño), perteneciente a la Comunidad Autónoma de La Rioja (UTM 30T X: 558.010; Y: 4.701.790; altitud 345 m), sobre una terraza de nivel I, de relieve plano, en la margen izquierda del Ebro.

El suelo se clasifica como *Haplocambids* típico (SSS, 2006), con textura arcillo-limosa en superficie (0-30 cm) y franca en profundidad (30-60 cm) (Martínez y col., 2006). El suelo presenta un pH básico, que se explica por la elevada proporción de carbonatos y caliza activa en ambos horizontes. El contenido de materia orgánica es bajo, si bien se encuentra dentro del rango habitual de un suelo de viñedo mediterráneo. La conductividad eléctrica es ligeramente elevada en superficie, aumentando en profundidad. El análisis del suelo al inicio del ensayo se recoge en la Tabla 13, en la que puede observarse que el suelo ofrece niveles considerados adecuados de calcio, magnesio, potasio y fósforo, al menos en el nivel superficial.

**Tabla 13.-** Análisis físico-químico de la fracción fina del suelo a dos profundidades. Viñedo Valdegón. Año 2000.

	0- 30 cm	30-60 cm	Unidades	Método
Arena	6,1	32,0	g·100g <sup>-1</sup> m.s.	Pipeta Robinson
Limo	51,6	40,4	g·100g <sup>-1</sup> m.s.	Pipeta Robinson
Arcilla	42,3	27,6	g·100g <sup>-1</sup> m.s.	Pipeta Robinson
Clasificación Textural	Arcillo Limoso	Franco	---	U.S.D.A.
Carbonatos	32,1	26,1	g·100g <sup>-1</sup> m.s.	Calcímetro Bernard
Caliza Activa	11,7	10,4	g·100g <sup>-1</sup> m.s.	Droineau
Materia Orgánica	1,47	0,60	g·100g <sup>-1</sup> m.s.	Walkley- Black
pH	7,8	8,0		En agua 1:2,5
Conductividad Eléctrica	0,49	0,70	mmhos·cm <sup>-1</sup>	A 25 °C (1:5)
Fósforo	17,6	12,2	mg·kg <sup>-1</sup> m.s.	Olsen-Watanabe
C.T.C.	24,3	6,0	mmol <sub>c</sub> ·100g <sup>-1</sup> m.s.	NaOAc, NH <sub>4</sub> OAc y A.A.
K <sup>+</sup> asimilable	0,46	0,59	mmol <sub>c</sub> ·100g <sup>-1</sup> m.s.	NH <sub>4</sub> OAc y A.A.
Ca <sup>2+</sup> asimilable	16,8	12,6	mmol <sub>c</sub> ·100g <sup>-1</sup> m.s.	NaOAc y A.A.
Mg <sup>2+</sup> asimilable	2,60	2,56	mmol <sub>c</sub> ·100g <sup>-1</sup> m.s.	NaOAc y A.A.
Na <sup>+</sup> asimilable	0,26	1,04	mmol <sub>c</sub> ·100g <sup>-1</sup> m.s.	NH <sub>4</sub> OAc y A.A.

NaOAc: acetato sódico; NH<sub>4</sub>OAc: acetato amónico; A.A.: absorción atómica.

El viñedo fue plantado en 1987, con un ancho de calle de 3,00 m y una distancia entre cepas de 1,20 m (2.778 cepas·ha<sup>-1</sup>), y orientación de las filas este-oeste. Las plantas fueron conducidas en vaso libre, con una carga aproximada de 12 yemas·planta<sup>-1</sup>, distribuidas en pulgares de dos yemas. El régimen hídrico fue de secano desde su implantación.

El mantenimiento del suelo se realizó mediante herbicida en la línea y laboreo de la calle. El programa de tratamientos fitosanitarios siguió una estrategia convencional, siendo frecuentes las aplicaciones de cobre como fungicida. El viñedo fue espergurado y despuntado cuando fue necesario, y no se realizó deshojado ni aclareo de racimos. El abonado se aportó en marzo del primer año, consistiendo en la aportación de 500 kg·ha<sup>-1</sup> de un fertilizante complejo 5-10-20. Asimismo, se aplicó una mezcla comercial de micronutrientes y aminoácidos, en dosis recomendada por el fabricante, para garantizar que no se produjesen deficiencias que alterasen la normal evolución nutricional durante los dos años de ensayo.

Tras la vendimia los rendimientos obtenidos se encontraron dentro de los valores habituales de la zona, y los mostos obtenidos mostraron una problemática asociada a la falta de acidez imputable a los elevados contenidos en potasio del mosto, tal y como se recoge en la Tabla 14.

**Tabla 14.-** Análisis de mosto. Viñedo Valdegón. Años 2000 y 2001.

Año	2000	2001	Método
Fecha Vendimia	3/10	2/10	
Grado probable % (v/v)	14,15	14,56	Refractometría <sup>1</sup>
pH	3,88	3,94	Potenciometría <sup>1</sup>
Acidez total (g·L <sup>-1</sup> )	4,50	4,05	Valoración <sup>1</sup>
Ácido tartárico (g·L <sup>-1</sup> )	4,70	5,99	Rebelein <sup>2</sup>
Ácido málico (g·L <sup>-1</sup> )	2,90	2,23	Enzimático <sup>1</sup>
Potasio (mg·L <sup>-1</sup> )	2.135	1.993	Espectrofotometría de Emisión

<sup>1</sup> Método oficial (U.E., 1990)

<sup>2</sup> Lipka y Tanner (1974).

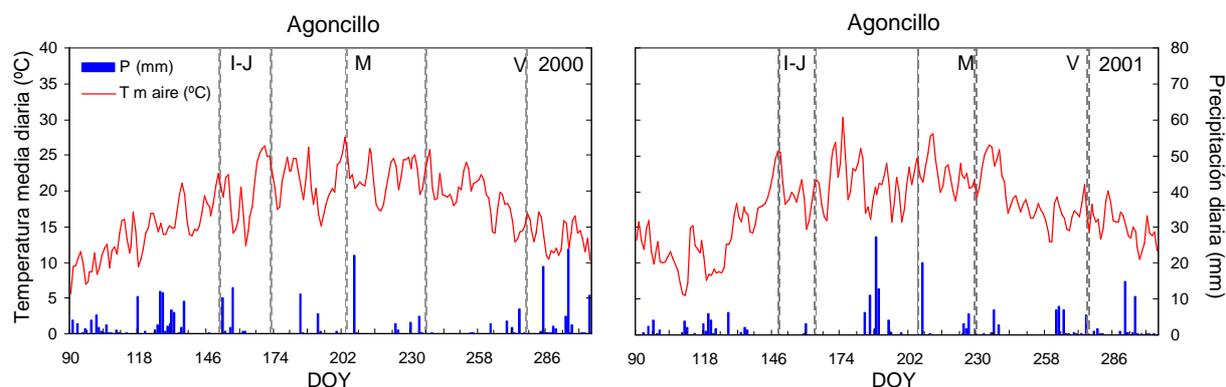
### III.3.1.2.- CLIMATOLOGÍA Y FENOLOGÍA

La clasificación agroclimática de esta zona según Papadakis (1966) es: tipo de invierno avena (av), tipo de verano Oryza (O), régimen térmico es mediterráneo templado (TE1) y régimen de humedad Mediterráneo seco (Me), con un tipo de clima Mediterráneo templado (Martínez Abaigar y col., 1994).

La temperatura media anual es de 13,5°C, siendo la media de las máximas de 18,9°C y la media de las mínimas de 8,2°C. Las temperaturas medias máximas no superan los 30°C en verano, mientras que las medias mensuales de mínimas invernales permanecen por encima de los 0°C. La precipitación media anual es de 397 mm. El mes más lluvioso es mayo, con una precipitación media de 43,2 mm, y agosto es el más seco con 23 mm (Martínez y col., 2006).

A partir de los datos medios de los últimos 35 años (Martínez y col., 2006), se calculó el índice bioclimático de Winkler (Amerine y Winkler, 1944) propuesto para la clasificación de zonas vitícolas, y que mide la integral térmica por encima de 10°C desde el 1 de abril al 31 de octubre. En nuestro caso, ofrece un valor de 1.629°, lo que permite clasificar la zona de ensayo como región III: Templado – Cálida.

Los datos climáticos durante los dos años de ensayo provienen de la estación agroclimática de Agoncillo (UTM 30T X: 558.332; Y: 4.702.004; altitud 342 m) perteneciente a la red del Servicio de Información Agroclimática de La Rioja (SIAR), que está situada en la misma finca Valdegón. Durante los dos años del ensayo, 2000 y 2001, las precipitaciones fueron las habituales en la zona, alcanzado unos valores anuales respectivos de 402 y 390 mm, de los cuales 184 y 181 mm se registraron en el período comprendido entre brotación y vendimia. La integral térmica de abril a octubre fue de 1.671° en 2001, y 1.678° en 2002. Las condiciones climáticas durante el ciclo de cultivo (1 de abril al 31 de octubre) de los dos años de ensayo, así como las fechas de floración, envero y vendimia, se recogen en la Figura 8.



**Figura 8.-** Temperatura media y precipitación diarias en la parcela Valdegón (Agoncillo). Años 2000 (izquierda) y 2001 (derecha). Los recuadros en gris indican los períodos de I: floración-cuajado; M: envero; V: vendimia.

En el año 2000, la floración dio comienzo el 31 de mayo, extendiéndose durante más de dos semanas, hasta el día 17 de junio, debido probablemente a las adversas condiciones climáticas, principalmente la ocurrencia de precipitaciones en dicho período. En la campaña 2001, el período de floración transcurrió entre el 28 de mayo al 6 de junio. El estado fenológico correspondiente a cuajado se registró el 21 de junio en 2000, mientras en 2001 correspondió al 12 de junio. Las primeras bayas coloreadas (inicio del envero) se observaron en torno al 24 de julio durante los dos años de estudio, para finalizar prácticamente un mes después en 2000 y unas tres semanas después en 2001. En ambas campañas se registraron precipitaciones acumuladas cercanas a los 20 mm desde el inicio del envero

hasta el final de la época de maduración. La vendimia se realizó el 4 de octubre en 2000, mientras que en 2001 ésta se llevó a cabo el día 2 de octubre.

### III.3.1.3.- DESCRIPCIÓN DEL ENSAYO

#### **Calendario de muestreo**

En el viñedo elegido se delimitaron tres bloques de 150 plantas, los cuales fueron utilizados como repeticiones. Durante los años 2000 y 2001, se recogieron muestras de limbo y pecíolo en posición opuesta a un racimo, con periodicidad semanal (o inferior) en cada uno de estos bloques, desde momentos fenológicos anteriores a la floración hasta tres semanas después de vendimia, completando un total de 28 muestreos en 2000 y de 41 en 2001.

El calendario de toma de muestras se recoge en la Tabla 15, en la que se detalla el estado fenológico de la vid, según las escalas de Baggiolini (1952) y Eichhorn y Lorenz (1977), modificado por Coombe y Dry (1995), así como la Integral Térmica Eficaz (desde el 1 de abril), para cada uno de los momentos de muestreo. La estimación del porcentaje de capuchones florales caídos en el estado fenológico de floración, así como la estimación de la proporción de bayas coloreadas en envero, se realizó de forma visual.

En cada momento de muestreo, se seleccionaron 30 pámpanos por bloque, a razón de uno por planta. En cada uno de los brotes se tomó una hoja, correspondiente a las siguientes posiciones en el pámpano:

[R1]: Hoja opuesta al racimo basal en el período comprendido entre brotación e inicio de envero.

[R2]: Hoja opuesta al racimo distal en el período comprendido entre inicio de envero y post-vendimia.

El cambio de hoja muestreada responde a la intención de asegurar la edad fisiológica de la misma, en un momento en que las hojas de rango 1, opuestas al primer racimo, comenzarían a tener problemas de senescencia.

**Tabla 15.-** Fecha, Estado Fenológico e Integral Térmica Acumulada para los muestreos de limbo y peciolo en el viñedo Valdegón (2000 y 2001).

Nº	Período	E-	Baggiolini	2000			2001		
				Fecha	DOY <sup>b</sup>	I.T. <sup>c</sup>	Fech	DOY	I.T. <sup>c</sup>
1	Prefloración	18		17-5	137	140			
2		19	H	26-5	146	192	23-5	143	124
3		20	10% I	31-5	151	238	28-5	148	186
4	Floración	21		3-6	154	269			
5		23	50% I	7-6	158	297	30-5	150	212
6		25		14-6	165	345	1-6	152	229
7		26	100 % I	17-6	168	382	6-6	157	276
8		27					8-6	159	297
9	Cuajado		J	21-6	172	444	12-6	163	326
10		28					15-6	166	357
11		29		28-6	179	521	20-6	171	410
12		30					22-6	173	439
13		31	K				26-6	177	488
14	Cuajado a Envero			5-7	186	608	29-6	180	533
15							3-7	184	584
16		32	L	13-7	194	683	9-7	190	638
17		33					13-7	194	686
18		34		19-7	200	744	18-7	199	728
19							20-7	201	746
20			5% M				24-7	205	798
21		35		27-7	208	852	27-7	208	835
22				3-8	215	940			
23			50% M	5-8	217	956	31-7	212	900
24	Envero			9-8	221		3-8	215	936
25				12-8	224		7-8	219	986
26				15-8	227	1.072	10-8	222	1.015
27				19-8	231	1.129	13-8	225	1.053
28			100% M	24-8	236	1.189	17-8	229	1.098
29				26-8	238	1.219	22-8	234	1.162
30				30-8	242	1.260	24-8	236	1.195
31							28-8	240	1.251
32		36		6-9	249	1.323	31-8	243	1.278
33							5-9	248	1.320
34	Maduración			12-9	255	1.393	7-9	250	1.337
35							12-9	255	1.373
36			37				14-9	257	1.388
37					21-9	264	1.480	18-9	261
38							20-9	263	1.421
39				27-9	270	1.527	25-9	268	1.452
40							28-9	271	1.472
41	Vendimia	38	N	4-10	277	1.561	2-10	275	1.505
42		41					5-10	278	1.524
43	Post- vendimia	42					11-10	284	1.563
44		43		21-10	294	1.623	19-10	292	1.612

<sup>a</sup> E-L: Estado Fenológico según Eichhorn-Lorenz.

<sup>b</sup> DOY: día desde el 1 de enero.

<sup>c</sup> I.T.: Integral Térmica Eficaz Acumulada desde el 1 de abril (T > 10°C).

### III.3.1.4.- DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE NUTRIENTES EN LIMBO Y PECÍOLO

#### **Procesado de las muestras**

En el laboratorio se separaron limbos y pecíolos, que fueron lavados con agua corriente y seguidamente con agua destilada. Tras un presecado con centrífuga manual, las muestras, colocadas en bandejas de papel secante, se secaron en estufa de aire forzado (J.P. Selecta DRYBIG) a 70 °C durante 48 h. Las muestras fueron picadas, molidas con molino ultracentrífugo (Retsch ZM1) y tamizadas por tamiz de 0,5 mm.

#### **Análisis mineral**

Los análisis de limbo y pecíolo fueron realizados en el Laboratorio Regional de La Grajera. Se determinó la concentración de nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio, hierro, manganeso, zinc, cobre y boro. A partir de la muestra seca y molida, se tomaron dos alícuotas de 0,2 g que fueron objeto de dos digestiones diferentes.

La concentración de nitrógeno (N orgánico + N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) se determinó por el método Kjeldahl (Jones y col., 1991), según el procedimiento ya comentado en el mismo apartado del ensayo anterior.

El resto de nutrientes fueron determinados por ICP-AES (Optima 3000DV; Perkin Elmer) tras digestión húmeda con ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 95%) y agua oxigenada (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30%) (Hoenig y col., 1998). Se empleó agua desionizada (Milli-Q Millipore 18,2 MΩ·cm<sup>-1</sup>). Todas las concentraciones se expresan en relación a la materia seca de las muestras.

### III.3.1.5.- TRATAMIENTO ESTADÍSTICO.

Para el estudio de evolución nutricional a lo largo de la campaña, se calculó un ciclo fenológico medio a partir de los dos años de estudio. Para ello, se partió de las fechas medias de inicio y final de floración, inicio y final de envero, y vendimia. El resto de muestreos fueron distribuidos en proporción al tiempo transcurrido entre cada una de estas fechas clave. Todas las figuras han sido representadas sobre este eje temporal común.

Los resultados obtenidos para cada año y tejido fueron analizados estadísticamente de forma independiente. El contenido mineral de limbo y pecíolo en cada momento fenológico queda caracterizado por la media ± error estándar de la media (n=3).

La relación entre el contenido de cada nutriente en los dos tejidos estudiados se llevó a cabo mediante el cálculo del coeficiente de correlación de Pearson, calculado para cada año de estudio por separado.

Asimismo, las diferencias en el contenido de cada nutriente entre limbo y pecíolo, para cada momento de muestreo, se llevó a cabo mediante la prueba paramétrica t de Student para comparación de medias.

Para la determinación de períodos de estabilidad en la composición mineral, se consideraron únicamente los momentos de muestreo comunes a los dos años para evitar dar un mayor peso a la evolución nutricional de uno de los años respecto al otro.

Con los datos correspondientes a cada tejido, primeramente se realizó un análisis de componentes de la varianza de dos vías (factorial doble) para la concentración de cada nutriente en limbo y pecíolo por separado, con el año y el momento de muestreo como factores aleatorios. Como la interacción fue significativa para la mayoría de los nutrientes, la determinación de períodos de estabilidad se realizó para cada año de estudio por separado.

Para ello, al conjunto de los datos de cada año y tejido se le aplicó un análisis de varianza de un factor (estado fenológico) y un test de separación de medias (Tukey HSD, 95%) para la determinación de períodos de estabilidad a lo largo del ciclo del cultivo.

En los casos en que no se verificaron los requisitos para un análisis paramétrico, normalidad e igualdad de varianzas, el procedimiento ANOVA y posterior test de separación de medias fueron sustituidos por pruebas no paramétricas: test de Kruskal–Wallis y separación de medianas, utilizando para ello un gráfico de cajas con medianas recortadas al 95%. Tanto para el análisis de varianza como para las pruebas no paramétricas se utilizó el programa Statgraphics 5.1.

### III.3.2.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### III.3.2.1.- EVOLUCIÓN ESTACIONAL DE LA CONCENTRACIÓN DE NUTRIENTES

##### RELACIÓN Y DIFERENCIAS EN EL CONTENIDO MINERAL DE LIMBOS Y PECÍOLOS

La evolución a lo largo de la campaña se comportó de forma similar en ambos tejidos, como muestra la alta correlación obtenida para muchos de los elementos estudiados (Tabla 16).

**Tabla 16.-** Coeficiente de correlación de Pearson (r) por la relación entre las concentraciones de nutrientes de limbo y pecíolo (Años 2000 y 2001).

	2000			2001		
	n	r de Pearson	<sup>a</sup> Significación	n	r de Pearson	<sup>a</sup> Significación
N	84	0,689	* * *	123	0,873	* * *
P	84	0,953	* * *	123	0,959	* * *
K	84	0,725	* * *	123	0,782	* * *
Ca	84	0,898	* * *	123	0,914	* * *
Mg	84	0,755	* * *	123	0,884	* * *
Fe	84	0,341	* *	123	0,397	* * *
Mn	84	0,275	* *	123	0,402	* * *
Zn	84	0,697	* * *	123	0,305	* * *
Cu	84	0,763	* * *	123	0,904	* * *
B	84	0,807	* * *	123	0,834	* * *

<sup>a</sup> Nivel de significación para la correlación de Pearson: \*\*:  $p \leq 0.01$ ; \*\*\*:  $p \leq 0.001$ .

En general, las correlaciones fueron consistentes en los dos años de ensayo. El fósforo, el potasio, el calcio, el magnesio, el cobre y el boro alcanzaron correlaciones superiores a 0,700 en las dos campañas, mientras que el zinc en 2000 y el nitrógeno en 2001 también superaron ese valor de correlación, alcanzando el nitrógeno un valor ligeramente más bajo en el año 2000 (Tabla 16). Por otro lado, las correlaciones más bajas se observaron para el hierro y el manganeso en ambas campañas, así como para el Zn en el año 2001, las cuales apenas llegaron a 0,400 en el mejor de los casos (Tabla 16).

Asimismo, las diferencias entre limbo y pecíolo se mostraron claras, para la mayoría de los nutrientes, a lo largo de los dos ciclos de cultivo estudiados (Tablas 17 y 18). En general, los macronutrientes mostraron diferencias en la mayoría de los muestreos, con la excepción del potasio, principalmente a partir del envero, y del fósforo, sobre todo antes del envero de la campaña de 2001 (Tabla 17). Los micronutrientes, por su parte, también mostraron diferencias entre los dos tejidos. Hierro y manganeso las mostraron para la mayoría de los muestreos, mientras las diferencias en las concentraciones de cobre, zinc y boro se observaron principalmente a partir del envero (Tabla 18).

**Tabla 17.-** Nivel de significación para el Test t-Student para las diferencias entre limbo y pecíolo respecto a su contenido en macronutrientes en cada momento de muestreo (Años 2000 y 2001).

Momento Fenológico	2000						2001				
	<sup>a</sup> DDB	N	P	K	Ca	Mg	N	P	K	Ca	Mg
Pre-floración	51	0,000	0,012	0,005	0,001	n.s.					
	60	0,003	n.s.	0,010	0,022	0,012	0,002	n.s.	0,023	0,011	0,005
Floración	65	0,002	n.s.	0,004	0,009	0,010	0,004	n.s.	0,022	0,001	0,001
	70	0,002	n.s.	0,002	0,007	0,003					
	73	0,003	n.s.	0,004	0,014	0,005	0,004	n.s.	0,038	0,008	0,005
	77	0,001	0,025	0,001	0,004	n.s.	0,016	n.s.	n.s.	0,002	0,002
	80	0,002	n.s.	0,025	0,034	0,015	0,007	n.s.	0,008	0,004	0,002
	82						0,002	n.s.	0,020	0,002	0,001
De cuajado de fruto a envero	86	0,004	0,038	0,004	0,002	0,005	0,001	n.s.	n.s.	0,003	0,022
	88						0,001	n.s.	n.s.	0,045	0,007
	93	0,001	0,036	0,015	0,022	0,011	0,001	n.s.	n.s.	0,016	0,003
	94						0,005	n.s.	0,029	0,000	0,030
	98						0,004	n.s.	0,031	0,002	0,023
	100	0,004	n.s.	0,002	0,002	0,011	0,004	n.s.	0,031	0,000	0,001
	104						0,005	n.s.	n.s.	0,003	0,003
	109	0,000	0,046	0,006	0,002	0,002	0,003	n.s.	0,012	0,005	0,011
	113						0,001	n.s.	n.s.	0,005	0,016
	117	0,009	n.s.	n.s.	0,017	0,018	0,001	n.s.	n.s.	0,001	0,000
	119						0,002	n.s.	n.s.	0,002	0,005
	122						0,001	0,031	0,032	0,003	0,002
Envero	125	0,014	n.s.	n.s.	0,004	0,019	0,001	0,021	n.s.	0,008	0,006
	131	0,020	n.s.	n.s.	0,010	0,023					
	134	0,039	n.s.	n.s.	0,006	0,034	0,003	0,048	0,047	0,001	0,010
	138	0,006	n.s.	n.s.	0,021	0,049	0,005	0,033	0,029	0,002	0,008
	141	0,011	0,009	n.s.	0,014	0,015	0,004	0,042	n.s.	0,002	0,004
	144	0,007	0,008	n.s.	0,031	0,036	0,001	0,015	n.s.	0,001	0,012
	147	0,013	0,036	n.s.	0,001	0,012	0,001	0,027	n.s.	0,018	0,013
	150	0,046	n.s.	n.s.	0,009	0,043	0,005	0,006	n.s.	0,006	0,016
Maduración	154	0,002	n.s.	n.s.	0,007	0,020	0,009	0,001	n.s.	0,008	0,003
	156	0,017	0,041	n.s.	0,013	0,005	0,002	0,002	n.s.	0,009	0,016
	160						0,004	0,006	n.s.	0,000	0,019
	162	0,008	0,001	n.s.	0,008	0,012	0,001	0,015	0,036	0,013	0,021
	167						0,000	0,001	n.s.	0,005	0,008
	168	0,002	0,007	n.s.	0,001	0,017	0,003	0,001	0,049	0,012	0,007
	172						0,003	0,005	n.s.	0,007	0,009
	174						0,001	0,001	n.s.	0,010	0,015
	178	0,030	0,001	n.s.	0,000	0,037	0,001	0,005	n.s.	0,018	0,002
	180						0,000	0,000	n.s.	0,017	0,012
	184	0,000	0,010	n.s.	0,028	0,011	0,001	0,000	n.s.	0,003	0,033
187						0,000	0,002	n.s.	0,033	0,032	
Vendimia	190	0,022	0,001	n.s.	0,004	0,009	0,000	0,001	n.s.	0,001	0,045
Post-vendimia	193						0,001	0,010	n.s.	n.s.	n.s.
	199						0,003	0,001	n.s.	0,003	0,022
	207	0,002	0,002	n.s.	0,006	0,006	0,001	0,006	0,048	0,001	0,027
Global		0,000	n.s.	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

<sup>a</sup> DDB: día desde brotación (valor medio de 2000 y 2001).

<sup>b</sup> n.s.: no significativo.

**Tabla 18.-** Nivel de significación para el Test t-Student para las diferencias entre limbo y pecíolo respecto a su contenido en micronutrientes en cada momento de muestreo (Años 2000 y 2001).

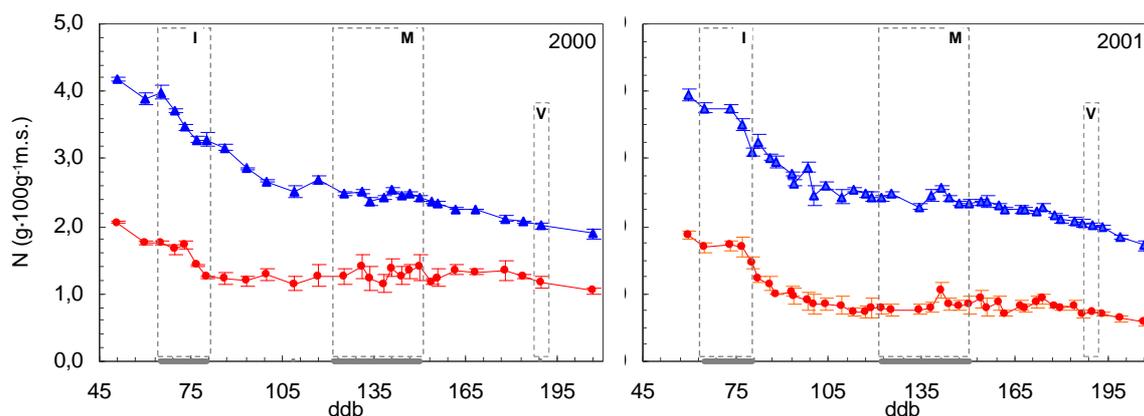
Momento Fenológico	2000						2001				
	<sup>a</sup> DDB	Fe	Mn	Cu	Zn	B	Fe	Mn	Cu	Zn	B
Pre-floración	51	0,007	0,017	n.s.	n.s.	0,003					
	60	n.s.	0,005	n.s.	n.s.	0,048	0,005	0,001	n.s.	n.s.	n.s.
Floración	65	n.s.	0,016	n.s.	n.s.	0,015	0,007	0,008	n.s.	n.s.	0,038
	70	n.s.	0,018	n.s.	n.s.	n.s.					
	73	0,014	0,001	n.s.	n.s.	n.s.	0,007	0,015	0,023	n.s.	0,039
	77	0,023	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,041	0,001	0,013	n.s.	0,044
	80	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,003	0,009	n.s.	n.s.	0,010
	82						0,033	0,033	0,003	n.s.	0,005
De cuajado de fruto a envero	86	0,006	0,010	n.s.	n.s.	n.s.	0,016	0,014	0,040	n.s.	n.s.
	88						0,016	0,032	n.s.	n.s.	0,018
	93	0,008	0,005	n.s.	n.s.	n.s.	0,003	0,017	n.s.	n.s.	n.s.
	94						0,032	0,036	n.s.	n.s.	n.s.
	98						0,022	0,013	n.s.	0,012	n.s.
	100	0,005	0,003	0,009	0,037	n.s.	0,018	0,020	n.s.	n.s.	n.s.
	104						0,001	0,016	n.s.	n.s.	n.s.
	109	0,006	0,011	n.s.	n.s.	0,034	0,006	0,012	0,043	n.s.	n.s.
	113						0,002	0,006	n.s.	n.s.	n.s.
	117	0,009	0,020	0,008	n.s.	0,046	0,002	0,019	0,022	n.s.	n.s.
	119						0,019	0,020	0,004	n.s.	n.s.
	122						0,022	0,005	0,005	n.s.	0,006
Envero	125	0,020	0,001	0,000	n.s.	0,006	0,001	n.s.	0,014	n.s.	0,028
	131	0,001	0,006	0,002	n.s.	0,020					
	134	0,003	0,043	0,006	0,002	0,021	n.s.	0,010	0,014	n.s.	n.s.
	138	0,004	0,021	0,040	n.s.	0,025	n.s.	0,001	0,005	n.s.	0,009
	141	0,032	0,008	0,022	n.s.	0,005	0,004	0,010	0,011	n.s.	n.s.
	144	0,016	0,011	0,021	n.s.	0,038	0,004	n.s.	0,001	n.s.	0,038
	147	0,003	0,009	n.s.	0,013	0,016	0,005	0,023	0,019	n.s.	0,032
	150	0,001	0,019	0,048	0,028	0,014	0,004	0,046	n.s.	0,046	0,002
Maduración	154	0,012	0,005	0,041	n.s.	0,021	0,006	0,014	0,013	n.s.	0,007
	156	0,004	0,012	n.s.	n.s.	0,025	0,013	0,022	0,020	0,028	0,048
	160						0,004	n.s.	n.s.	0,020	0,005
	162	0,008	0,010	0,020	0,004	0,013	0,011	0,010	0,022	n.s.	0,007
	167						0,019	0,018	0,029	0,008	0,003
	168	0,004	0,007	n.s.	0,037	0,006	0,004	0,026	0,025	n.s.	0,000
	172						0,009	0,004	0,049	n.s.	0,001
	174						0,010	0,028	0,015	0,021	0,006
	178	0,010	0,010	n.s.	0,015	0,003	0,005	0,040	0,008	n.s.	0,010
	180						0,024	0,018	0,023	n.s.	0,039
Vendimia	184	0,018	0,007	0,043	0,020	0,013	0,030	0,022	n.s.	0,013	0,016
	187						0,018	0,014	n.s.	0,049	0,016
	190	0,004	0,002	n.s.	0,009	0,001	0,028	0,006	n.s.	0,050	0,002
	193						0,003	0,039	0,016	n.s.	0,039
	199						0,035	0,003	0,007	0,016	0,002
	207	0,003	0,003	0,042	n.s.	0,006	0,001	0,006	0,001	n.s.	0,026
	Global	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

<sup>a</sup> DDB: día desde brotación (valor medio de 2000 y 2001).<sup>b</sup> n.s.: no significativo.

## NITRÓGENO

Las diferencias entre limbo y pecíolo fueron claras a lo largo de todo el ciclo de cultivo en los dos años estudiados (Figura 9), con una concentración de nitrógeno en limbo que llega a duplicar a la del pecíolo en algunos momentos del ciclo.

La concentración de nitrógeno mostró una tendencia descendente a lo largo del ciclo en ambos tejidos y durante las dos campañas (Figura 9). Este descenso parece más pronunciado en la primera parte del ciclo, aproximadamente hasta el cierre del racimo. En este período del ciclo, la concentración de nitrógeno en limbo descendió de más de  $4,0 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1} \text{ m.s.}$  hasta aproximadamente  $2,5 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1} \text{ m.s.}$ , estabilizándose en torno a este valor hasta final de enero, para continuar descendiendo, de forma más lenta, incluso después de la vendimia. Así, el nitrógeno en limbo varió en la campaña 2000 entre  $4,18$  y  $1,88 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1} \text{ m.s.}$ , mientras los valores obtenidos en 2001 se encontraron entre  $3,94$  y  $1,72 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1} \text{ m.s.}$



**Figura 9.-** Evolución estacional de la concentración de nitrógeno ( $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1} \text{ m.s.}$ ) en limbo  $\blacktriangle$  y pecíolo  $\bullet$ . Años 2000 y 2001. Las barras de error representan el error estándar de la media ( $n=3$ ). Los recuadros grises en línea discontinua indican los periodos de: I: floración; M: invierno; V: vendimia. ddb: días desde brotación.

El pecíolo mostró concentraciones decrecientes de nitrógeno desde los primeros muestreos hasta final de floración en 2000, y hasta prácticamente el inicio de invierno en 2001. A partir de este momento, la concentración se estabiliza hasta cerca de vendimia, momento en que se produjo un nuevo descenso sostenido, hasta el último muestreo, 17 días después de vendimia. Los contenidos observados en pecíolo descendieron desde  $2,05$  a  $1,04 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1} \text{ m.s.}$  en 2000, y desde  $1,88$  a  $0,58 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1} \text{ m.s.}$  en 2001.

A pesar de las diferencias observadas en la concentración de N en limbo y pecíolo (Tabla 17) se constata la relación entre ambos tejidos, como muestra la evolución estacional similar, con una correlación positiva y significativa entre ambos, con  $r$  de Pearson de 0,689 en 2000 y de 0,873 en 2001 (Tabla 16).

## **Discusión**

Las diferencias en la concentración de nitrógeno entre limbo y pecíolo resultaron consistentes a lo largo de las campañas estudiadas siendo, asimismo, coincidentes con lo recogido en la bibliografía (Kliewer, 1991). Estas diferencias pueden ser explicadas por una mayor presencia de nitrógeno en forma orgánica, en especial proteica, en el limbo (Christensen, 1984).

La evolución estacional de la concentración de nitrógeno resultó seguir, en ambos tejidos, un patrón descendente, que concuerda con lo observado en diversas variedades de vid de mesa, como ‘Thompson Seedless’ (Christensen, 1969) y de vinificación, como ‘Pinot Noir’ (Schreiner, 2005), o ‘Négrette’ (García y col., 2001), tanto en lo que se refiere a limbo (Schreiner, 2005; Navarro y col., 2008) como a pecíolo (Parejo y col., 1992; García-Escudero y col., 2002b).

Esta tendencia descendente se explica por la movilidad del nitrógeno en el floema, que permite su exportación a meristemas, hojas jóvenes o frutos en crecimiento (Barker y Pilbeam, 2007), o bien por un efecto de dilución (Skinner y col., 1987). También se ha mencionado como posible causa del brusco descenso de la concentración de N tras la floración, la traslocación de este nutriente a órganos leñosos permanentes (Vivin y col., 2003).

En todo caso, el descenso más acusado en la concentración de nitrógeno se produjo en la primera parte del ciclo, como ha sido referido por diversos autores (Colugnati y col., 1992; Szóke y col., 1992; Failla y col., 1995). Christensen (1984) señalaba un repunte en la concentración de este nutriente en enero. En el caso de ‘Tempranillo’, dicho repunte no se ha detectado en ninguna de las campañas estudiadas.

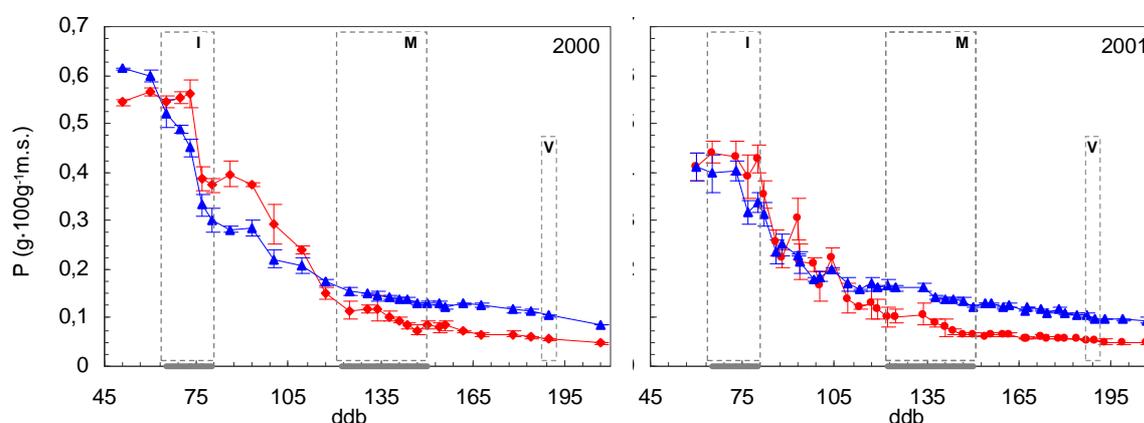
## **FÓSFORO**

Los contenidos de fósforo presentaron una tendencia claramente descendente a lo largo del ciclo, si bien ésta resultó más marcada en la primera mitad del mismo (Figura 10).

Así, entre los primeros muestreos y el inicio de enero, la concentración de fósforo en limbo osciló desde valores cercanos a  $0,60 \text{ g}\cdot 100\text{g}^{-1} \text{ m.s.}$  (año 2000) o  $0,40 \text{ g}\cdot 100\text{g}^{-1} \text{ m.s.}$  (año 2001) hasta concentraciones de en torno a  $0,17 \text{ g}\cdot 100\text{g}^{-1} \text{ m.s.}$ , lo que supone una tasa de variación respecto al tiempo de  $-0,17 \text{ g}\cdot 100\text{g}^{-1} \text{ m.s.}\cdot \text{mes}^{-1}$  en 2000 y de  $-0,12 \text{ g}\cdot 100\text{g}^{-1} \text{ m.s.}\cdot \text{mes}^{-1}$  en 2001. Frente a estos

valores, la tasa de variación durante las dos campañas entre el inicio del envero y la vendimia en limbos fue de  $-0,02 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1} \text{ m.s.} \cdot \text{mes}^{-1}$ .

En cuanto al pecíolo, tras un período de relativa estabilidad en torno a la floración, se observó un comportamiento similar al del limbo (Figura 10), con tasas de variación respecto al tiempo más elevadas entre floración e inicio de envero ( $-0,26 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1} \text{ m.s.} \cdot \text{mes}^{-1}$  en 2000, y  $-0,23 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1} \text{ m.s.} \cdot \text{mes}^{-1}$  en 2001) respecto a la última parte del ciclo ( $-0,03$  y  $-0,02 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1} \text{ m.s.} \cdot \text{mes}^{-1}$  en 2000 y 2001, respectivamente).



**Figura 10.-** Evolución estacional de la concentración de fósforo ( $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1} \text{ m.s.}$ ) en limbo  $\blacktriangle$  y pecíolo  $\bullet$ . Años 2000 y 2001. Las barras de error representan el error estándar de la media ( $n=3$ ). Los recuadros grises en línea discontinua indican los períodos de: I: floración-cuajado; M: envero; V: vendimia. ddb: días desde brotación.

El limbo y el pecíolo apenas difirieron en su concentración de fósforo, principalmente en el período previo al envero (Tabla 17). Asimismo, y dado que la evolución estacional fue similar en ambos tejidos, este nutriente presentó las mayores correlaciones entre los contenidos de limbo y pecíolo (Tabla 16), con valores para la  $r$  de Pearson de 0,953 en 2000 y de 0,959 en 2001, respectivamente.

Si bien es cierto que las diferencias entre ambos tejidos, en valor absoluto, se hacen menores cuando los contenidos son bajos (Christensen, 1984; Bravdo, 1992), cuando estas diferencias se expresaron como porcentaje resultaron de una magnitud apreciable. Así, los niveles de fósforo en limbo fueron significativamente superiores a los de pecíolo en la última parte del ciclo (Tabla 17), suponiendo la diferencia alrededor de un 50% de la concentración observada en limbo de este nutriente. En la fase inicial del ciclo, no aparecieron diferencias entre tejidos en 2001, mientras que sí lo hicieron en 2000 en algunos muestreos entre final de floración y tamaño guisante, mostrando el pecíolo diferencias hasta un 30% superiores a los valores observados en limbo para esos mismos muestreos (Figura 10 y Tabla 17).

## **Discusión**

El limbo y el pecíolo apenas difirieron en su concentración de fósforo (Figura 10). Se trata del nutriente que presentó una mejor correlación entre los contenidos de limbo y pecíolo. Las diferencias en valor absoluto en la concentración de este nutriente entre ambos tejidos fueron menores cuando los valores de concentración eran mínimos, lo que ya ha sido puesto de manifiesto por otros autores (Christensen, 1984; Bravdo, 1992).

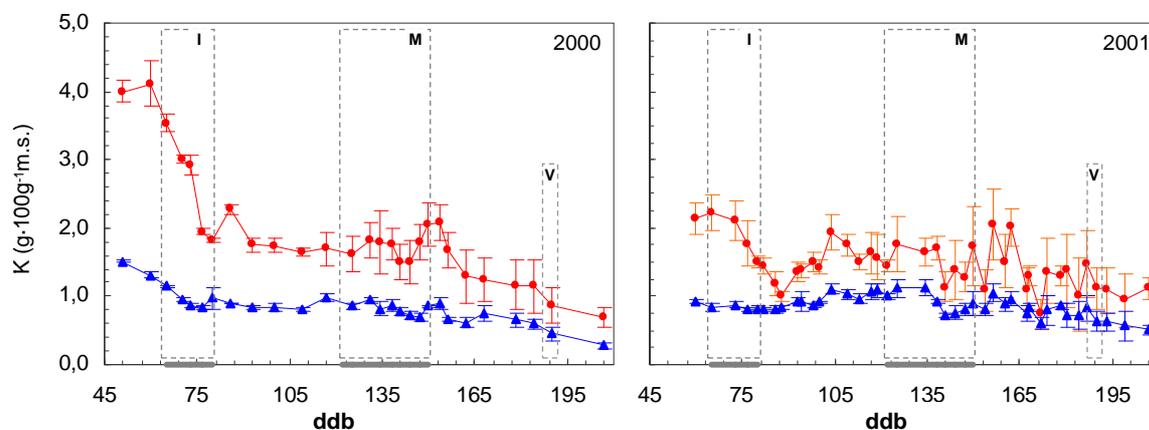
La tendencia descendente en la concentración de fósforo observada en estos ensayos es plenamente consistente con la observada por otros autores, que coinciden en que las concentraciones de fósforo se reducen en las hojas de vid en el curso del ciclo vegetativo (Champagnol, 1984; Navarro y col., 2008). Este mismo comportamiento ha sido observado en diversas variedades como ‘Pinot noir’ (Schreiner, 2005), ‘Thompson Seedless’ (Christensen, 1969), ‘Chardonnay’ (Parejo y col., 1992) o ‘Colombard’ (Stevens, 2004). El empobrecimiento de ambos tejidos en P podría explicarse por varios motivos, bien sea por un efecto de dilución a medida que avanza el ciclo de cultivo o bien por una traslocación de estos elementos a otras partes de la planta (Skinner y col., 1987).

Szóke y col. (1992) refirieron un período de descenso más acelerado de la concentración de P hasta el cuajado, comportamiento que en nuestros ensayos con ‘Tempranillo’ se prolongó hasta el cierre del racimo. Sin embargo, los resultados observados por otros investigadores, que refieren variaciones mínimas entre floración y envero (Christensen, 1984), estarían en contradicción con lo encontrado en nuestros ensayos para dicho período previo al envero. Finalmente, la estabilización de la concentración de P hasta el momento de la vendimia, descrita por Porro y col. (1995), es corroborada en los dos años de ensayo (Figura 10).

## **POTASIO**

En la primera campaña y desde los primeros muestreos hasta el final de floración, la concentración de potasio en limbo y pecíolo mostró una tendencia descendente (Figura 11).

A continuación, la concentración de K se estabilizó - los niveles de potasio fluctuaron sin definir una tendencia clara - circunstancia que se prolongó hasta el final del envero. A partir de este momento, se observó un ligero repunte, para finalizar con un nuevo descenso en las concentraciones hasta el final del ciclo. Sin embargo, en 2001, la concentración inicial de potasio en limbo no fue tan elevada como en 2000, y la tendencia descendente en esta primera fase del ciclo no resultó tan manifiesta (Figura 11).



**Figura 11.-** Evolución estacional de la concentración de potasio ( $\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  m.s.) en limbo  $\blacktriangle$  y pecíolo  $\bullet$ . Años 2000 y 2001. Las barras de error representan el error estándar de la media ( $n=3$ ). Los recuadros grises en línea discontinua indican los periodos de: I: floración-cuajado; M: envero; V: vendimia. ddb: días desde brotación.

La concentración de K resultó superior en pecíolo, llegando a duplicar a la del limbo en algunos momentos del ciclo (Figura 11 y Tabla 17). Así, la concentración de potasio en limbo varió entre  $0,28$  y  $1,51 \text{ g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  m.s., mientras que la de pecíolo osciló entre  $0,70$  y  $4,12 \text{ g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  m.s., todos ellos valores observados en 2000, correspondiendo los valores máximos al inicio de floración y los mínimos al período posterior a la vendimia.

No obstante, y probablemente debido a la elevada variabilidad de la concentración de K en ambos tejidos, no fue posible encontrar diferencias en un número importante de muestreos, especialmente a partir del inicio del envero en el ensayo de 2001 (Figura 11 y Tabla 17). Sin embargo, a pesar de dicha variabilidad observada para el potasio durante el estudio, la correlación entre limbos y pecíolos alcanzó valores de  $r$  de Pearson superiores a  $0,725$  en las dos campañas (Tabla 16).

## Discusión

Las diferencias observadas entre limbo y pecíolo respecto a la concentración de potasio han sido puestas de manifiesto por distintos investigadores (Klein y col., 2000; Garcia-Escudero y col., 2002b), aunque la alta variabilidad en el contenido de K en estos tejidos impide obtener diferencias para un número importante de muestreos posteriores al envero en el año 2001. Tal circunstancia se puede atribuir a que, en dicho período, las concentraciones de potasio eran más bajas y los límites inferiores para la concentración de potasio en limbo y pecíolo se aproximaban, de forma similar a otros resultados de la bibliografía (Christensen, 1984).

Como se ha descrito, el patrón estacional observado para el potasio fue descendente en 2000, sin que en 2001 esta tendencia descendente pudiera observarse de forma clara, al menos para la primera parte del ciclo (Figura 11). Estos resultados son concordantes con los obtenidos por otros autores, ya que se han constatado diversas tendencias estacionales para la concentración de este nutriente a lo largo del ciclo. La más habitual es una tendencia descendente similar a la observada durante el año 2000 (Levy, 1967; Fregoni, 1980; Zaballa y col., 1997; García-Escudero y col., 2002b; Stevens, 2004; Navarro y col., 2008).

Sin embargo, no deja de ser frecuente encontrar estudios en los que no se ha podido poner de manifiesto diferencias significativas en función del estado fenológico (Colugnati y col., 1992; Szóke y col., 1992; Porro y col., 1995; Schreiner, 2005). Esta ausencia de diferencias ha sido en ocasiones atribuida a una alta variabilidad de la concentración en cada estado fenológico que, entre otras variables, ha sido relacionada con los cambios meteorológicos (Szóke y col., 1992).

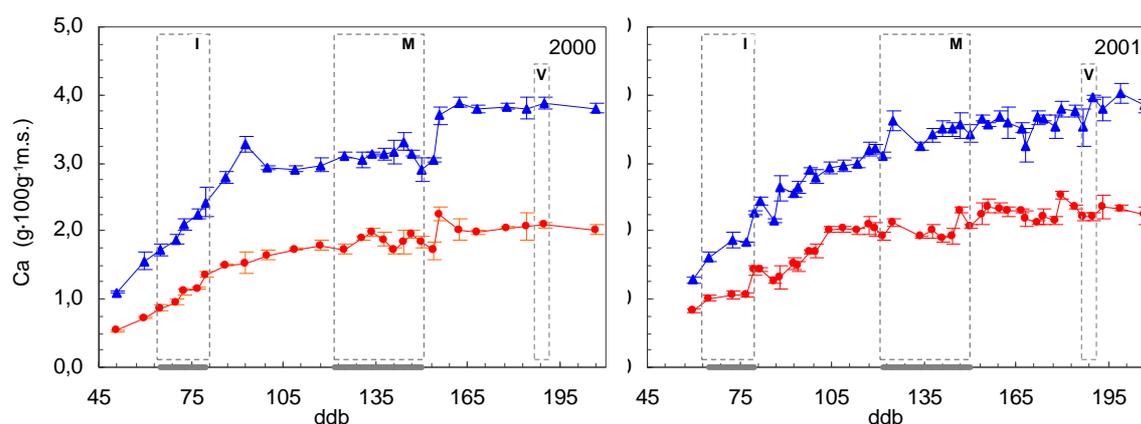
En efecto, la disponibilidad y absorción de K pueden verse reducidas en condiciones de limitada disponibilidad hídrica en el suelo (Dundon y Smart, 1984). Así, al aumentar el riego, la disponibilidad de agua para las raíces puede elevar la concentración de K en los tejidos de la vid, al verse favorecida la absorción de este catión cuando se encuentra disponible, debido a su elevada solubilidad, tanto en limbo (Zaballa y col., 1997; Klein y col., 2000) como en pecíolo (Klein y col., 2000). De igual forma, una desigual disponibilidad hídrica, relacionada con el régimen de precipitaciones, podría ser el factor causante de las variaciones observadas para la tendencia estacional de este nutriente. En nuestros ensayos, y aunque esta relación con el régimen de precipitaciones no ha podido ser puesta de manifiesto, se ha constatado que la tendencia descendente para la concentración de este nutriente apareció de forma más clara cuando las concentraciones iniciales fueron más elevadas al comienzo del ciclo, como es el caso de la campaña de 2000 (Figura 11).

## **CALCIO**

Las concentraciones de calcio en limbo y pecíolo mostraron un comportamiento similar, con un aumento de concentración a lo largo del ciclo, que resulta más acusado en la primera parte del mismo (Figura 12). En 2000, este aumento en la concentración se vio ralentizado a partir del cuajado, mientras que en 2001 el ritmo de crecimiento se mantuvo prácticamente hasta el inicio de enero.

Los valores en limbo variaron desde un mínimo de  $1,10 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$  m.s. en prefloración – 50 ddb, año 2000 – hasta  $4,03 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$  m.s. tras la vendimia – 200 ddb, año 2001 –, mientras las concentraciones en pecíolo oscilaron entre  $0,54$  y  $2,24 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$  m.s, si bien en este caso los valores máximos se encontraron poco después del final del enero - ddb 157, año 2001 -.

Los contenidos en pecíolo resultaron alrededor de un 40% inferiores a los de limbo durante el ciclo, con diferencias significativas para la comparación entre tejidos en cada uno de los momentos fenológicos de muestreo en 2000, así como para todos los muestreos, salvo para uno, en 2001 (Figura 12 y Tabla 18). Asimismo, al mantener ambos tejidos la misma dinámica a lo largo del ciclo, permite obtener elevados coeficientes de correlación entre los contenidos de este elemento en limbo y pecíolo, con valores de  $r$  de Pearson de 0,898 y 0,914 en 2000 y 2001, respectivamente (Tabla 16).



**Figura 12.-** Evolución estacional de la concentración de calcio ( $\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  m.s.) en limbo  $\blacktriangle$  y pecíolo  $\bullet$ . Años 2000 y 2001. Las barras de error representan el error estándar de la media ( $n=3$ ). Los recuadros grises en línea discontinua indican los períodos de: I: floración-cuajado; M: envero; V: vendimia. ddb: días desde brotación.

## Discusión

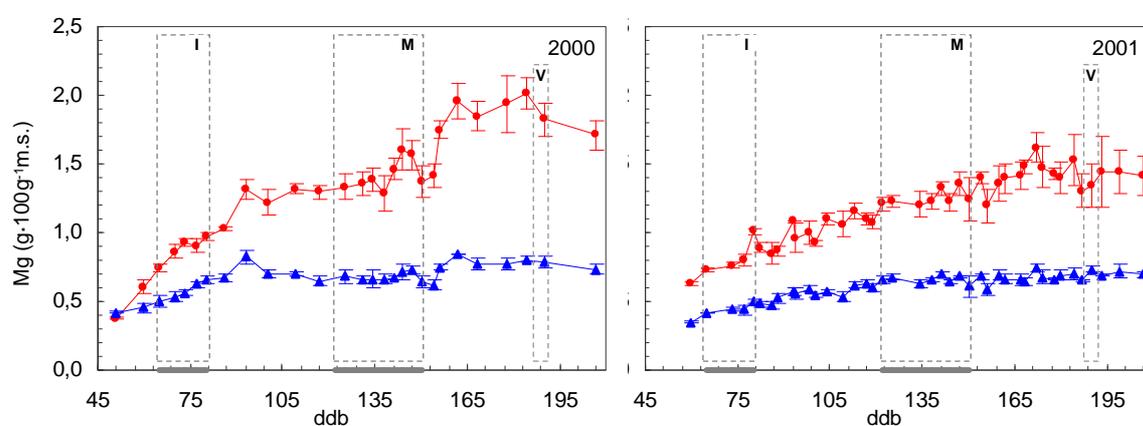
La tendencia ascendente observada en este ensayo para la concentración de calcio en ambos tejidos concuerda plenamente con lo observado por otros investigadores para viñedos cultivado en una gran variedad de condiciones (Fregoni, 1980; Champagnol, 1984; Porro y col., 1995), tanto en pecíolo (Parejo, 1991; García-Escudero y col., 2002b) como en limbo (Colugnati y col., 1992; Stevens, 2004; Schreiner, 2005). Esta tendencia ascendente de la concentración de Ca en limbo y pecíolo es plenamente consistente con el hecho de que se trata de un elemento inmóvil vía floema (Barker y Pilbeam, 2007) y, por tanto, tiende a acumularse en los tejidos a medida que su edad fisiológica aumenta, dada su importante función estructural.

## MAGNESIO

El magnesio, al igual que el calcio, mostró una tendencia ascendente a lo largo del ciclo en los dos tejidos estudiados. En 2000, pudo observarse un aumento más acusado de la concentración en ambos

tejidos hasta aproximadamente el cierre del racimo, mientras que en 2001 el crecimiento resultó más sostenido (Figura 13).

La concentración de magnesio en pecíolo aumentó desde  $0,38 \text{ g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  m.s. en prefloración hasta un máximo de  $2,01 \text{ g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  m.s. poco antes de la vendimia, valores ambos obtenidos en la campaña 2000. En limbo, la menor concentración observada fue de  $0,35 \text{ g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  m.s. en prefloración de la campaña 2001, mientras que su máximo fue de  $0,75 \text{ g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  m.s. en el período de maduración del año 2000.



**Figura 13.-** Evolución estacional de la concentración de magnesio ( $\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$  m.s.) en limbo  $\blacktriangle$  y pecíolo  $\bullet$ . Años 2000 y 2001. Las barras de error representan el error estándar de la media ( $n=3$ ). Los recuadros grises en línea discontinua indican los períodos de: I: floración-cuajado; M: envero; V: vendimia. ddb: días desde brotación.

Respecto a las diferencias entre tejidos, la concentración de magnesio en pecíolo resultó significativamente superior a la de limbo en prácticamente todos los muestreos (Figura 13 y Tabla 17). Al ser considerados globalmente los resultados de cada año, el pecíolo mostró una concentración que aproximadamente dobló a la del limbo. Asimismo, de forma similar a lo observado en el calcio, al mantener ambos tejidos una dinámica bastante pareja a lo largo del ciclo, los coeficientes de correlación entre los contenidos de este elemento en limbo y pecíolo alcanzaron valores de  $r$  de Pearson de 0,755 y 0,884 en 2000 y 2001, respectivamente (Tabla 16).

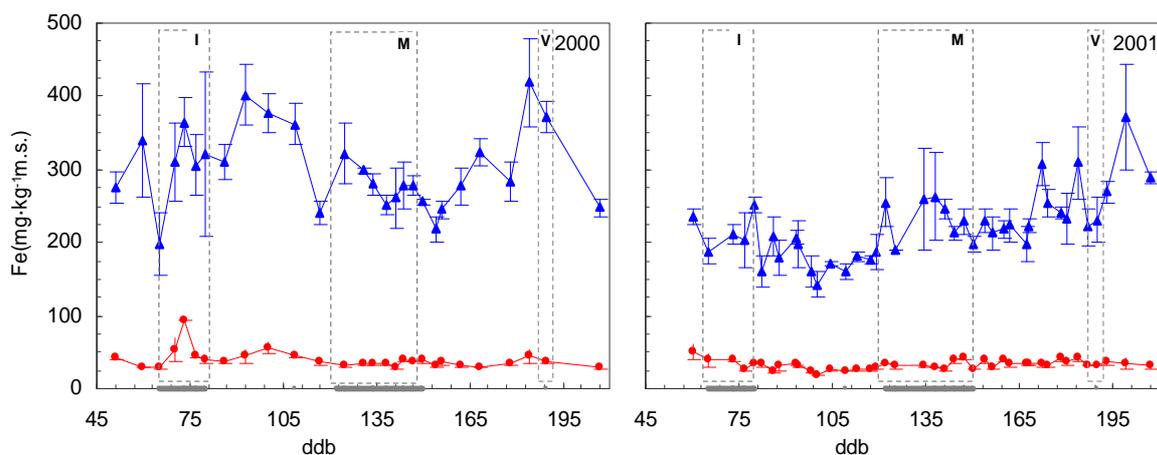
## Discusión

El magnesio es habitualmente considerado un elemento móvil vía floema (Barker y Pilbeam, 2007), por lo que sería de esperar, en principio, una traslocación desde los tejidos de mayor edad a aquellos que se encuentran en crecimiento activo. Sin embargo, es habitual que las concentraciones de este nutriente aumenten a medida que lo hace la edad fisiológica del tejido vegetal (Marschner, 1995). En

el caso de la vid, la evolución ascendente de la concentración de magnesio ha sido previamente puesta de manifiesto por diversos autores (Fregoni, 1980; Champagnol, 1984; Schreiner, 2005), aunque Porro y col. (1995) no encontraron una tendencia estacional para este nutriente. En este ensayo, la tasa de acumulación resultó bastante sostenida durante la campaña 2001, mientras que en 2000 se observaron dos períodos de fuerte crecimiento, principalmente en pecíolo, uno correspondiente a la floración, resultado concordante por el observado por Stevens (2004), y el otro al inicio de la maduración, similar al comportamiento observado por diversos autores (Parejo y col., 1992; Szóke y col., 1992). Asimismo, las diferencias entre tejidos coinciden con los resultados mostrados en otros estudios disponibles en la bibliografía (García-Escudero y col., 2002b; Walker y col., 2004).

## HIERRO

La Figura 14 muestra la evolución estacional de la concentración de hierro en el viñedo Valdegón. La concentración de Fe en limbo fue, en promedio, unas ocho veces superior a la del pecíolo, con diferencias significativas en la mayor parte de los muestreos (Figura 14 y Tabla 18).



**Figura 14.-** Evolución estacional de la concentración de hierro ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  m.s.) en limbo  $\blacktriangle$  y pecíolo  $\bullet$ . Años 2000 y 2001. Las barras de error representan el error estándar de la media ( $n=3$ ). Los recuadros grises en línea discontinua indican los períodos de: I: floración-cujado; M: invierno; V: vendimia. ddb: días desde brotación.

Respecto a los niveles alcanzados, el limbo mostró una concentración mínima de  $142 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  m.s. en 2001 y una máxima de  $418 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  m.s. en 2000, mientras que la concentración peciolar de Fe estuvo comprendida entre  $18$  y  $94 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  m.s., sin que se constatasen tendencias estacionales claras.

La variabilidad observada para el hierro, principalmente en el limbo, dificultó encontrar una mayor correlación entre limbo y pecíolo, cuyos coeficientes de correlación  $r$  de Pearson no llegaron a 0,400 (Tabla 16).

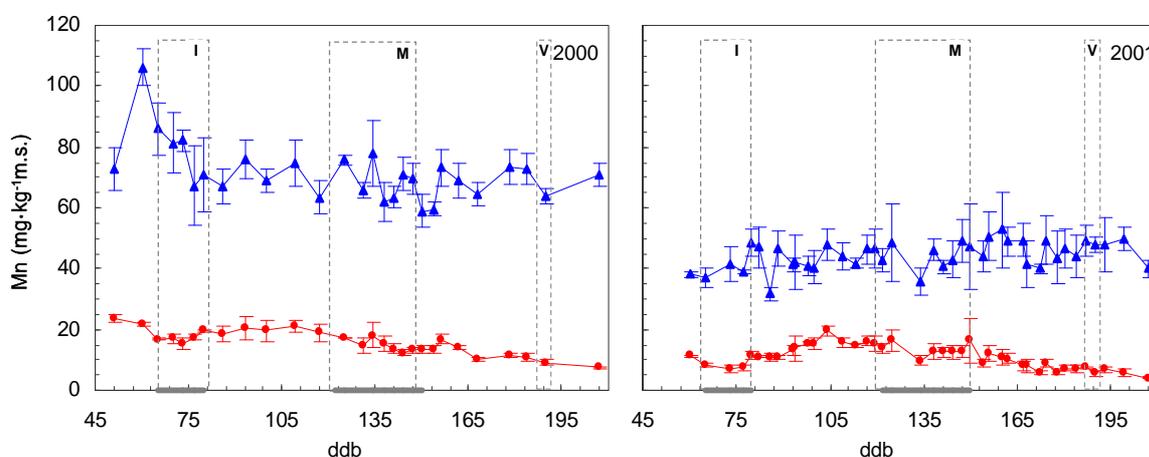
## Discusión

Las concentraciones de Fe en limbo fueron en general similares a las halladas por Schreiner (2005) para la variedad Pinot noir, si bien se observaron algunos valores anormalmente elevados.

En lo que se refiere a la tendencia estacional, y aunque durante el año 2001 se observó un aumento en la concentración de Fe en limbo entre la floración y la vendimia, circunstancia puesta de manifiesto en otros estudios (Failla y col., 1997; Schreiner, 2005), dicha tendencia no se observó durante la campaña 2000.

## MANGANESO

En lo que se refiere al manganeso, no pudieron observarse tendencias estacionales claras (Figura 15). La concentración de Mn en limbo osciló entre 58 y 106  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  m.s. en 2000, siendo inferiores en el año 2001, con concentraciones que oscilaron entre 32 y 53  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  m.s. La concentración peciolar de Mn mostró valores inferiores a los de limbo que, en promedio, estuvieron comprendidos entre una cuarta y una quinta parte de los de limbo (Tabla 19), oscilando entre mínimos de 5-7  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  m.s. y máximos de 23-25  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  m.s.



**Figura 15.-** Evolución estacional de la concentración de manganeso ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  m.s.) en limbo  $\blacktriangle$  y peciolo  $\bullet$ . Años 2000 y 2001. Las barras de error representan el error estándar de la media ( $n=3$ ). Los recuadros grises en línea discontinua indican los períodos de: I: floración-cuajado; M: envero; V: vendimia. ddb: días desde brotación.

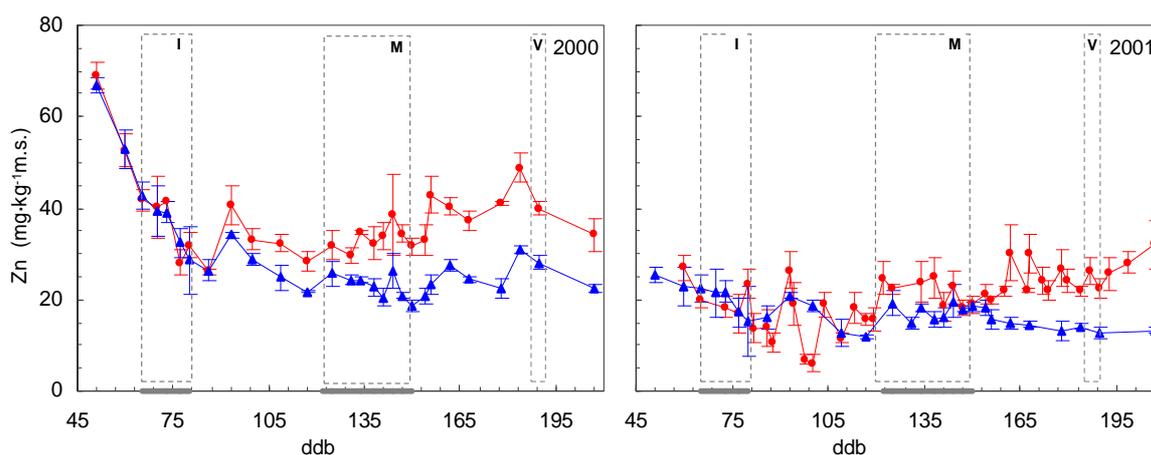
Asimismo, de forma similar a lo observado en el hierro, los coeficientes de correlación entre los contenidos de este elemento en limbo y peciolo alcanzaron valores bajos de  $r$  de Pearson, de 0,275 para 2000 y de 0,402 para 2001 (Tabla 16), debido a la variabilidad mostrada por el limbo a lo largo de las dos campañas.

## Discusión

Las fuertes diferencias observadas en este elemento en los dos años de estudio son comunes en la bibliografía. Schreiner (2005) observó para el cv. Pinot Noir que la concentración en manganeso en limbos aumentó a partir de floración desde  $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  hasta alcanzar los  $150 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  m.s. en la caída de hoja. Parejo (1991), constató concentraciones peciolares en torno a  $75 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  m.s. en floración, con un brusco ascenso hasta  $250 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  m.s. en enero. Botelho y col. (2005) refieren en su trabajo concentraciones de este elemento en floración comprendidas entre 90 y  $900 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  m.s. en limbo y entre 30 y  $466 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  m.s. en pecíolo. Esta gran dispersión en los datos, junto con la aparición de valores anormalmente elevados, que Champagnol (1984) califica incluso como tóxicos para la vid, puede ser explicada por posibles contaminaciones con productos que incluyan Mn en su formulación, ya sean fungicidas o fertilizantes foliares (Failla y col., 1997). Se debe resaltar que la planta no mostró síntomas de toxicidad por ningún nutriente, por lo que el Mn se debe encontrar adsorbido en la superficie de las hojas tras los tratamientos, soportando el lavado previo a los análisis.

## ZINC

El zinc mostró una tendencia descendente hasta poco después de final de floración en el año 2000, mientras esta tendencia apenas pudo observarse en 2001. Las concentraciones de zinc fueron semejantes en limbo y pecíolo durante la primera parte del ciclo, si bien a partir de enero el pecíolo mostró concentraciones ligeramente más elevadas (Tabla 18).



**Figura 16.-** Evolución estacional de la concentración de zinc ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  m.s.) en limbo  $\blacktriangle$  y pecíolo  $\bullet$ . Años 2000 y 2001. Las barras de error representan el error estándar de la media ( $n=3$ ). Los recuadros grises en línea discontinua indican los periodos de: I: floración-cuajado; M: enero; V: vendimia. ddb: días desde brotación.

Los valores resultaron superiores en ambos tejidos en el año 2000, con máximos de 67 y 69 mg·kg<sup>-1</sup> m.s. en limbo y pecíolo respectivamente, registrados en floración. Los valores mínimos se alcanzaron en 2001, siendo de 12 mg·kg<sup>-1</sup> m.s. en limbo y de 6 mg·kg<sup>-1</sup> m.s. en pecíolo (Figura 16).

La relación entre limbo y pecíolo dependió del año de estudio. En 2000, ambos tejidos siguieron una evolución similar durante todo el ciclo (Figura 16) reflejada en una elevada correlación entre ambos tejidos, con un coeficiente r de Pearson de 0,697. Sin embargo, la diferente evolución observada a partir del envero en 2001 se reflejó en un valor de r de Pearson de 0,305 (Tabla 16).

### **Discusión**

La tendencia observada en ‘Tempranillo’ a lo largo del ciclo de cultivo coincide con la observada en la bibliografía, donde la concentración de Zn en pecíolo aumentó desde floración a envero en un estudio con distintas variedades (Christensen, 1984). Sin embargo, Schreiner (2005) no encontró una tendencia estacional para la concentración de zinc en limbos de la variedad Pinot Noir. Los niveles observados para ‘Tempranillo’ se encontrarían entre los descritos por estos autores.

Las diferencias observadas entre limbo y pecíolo coinciden, en general, con lo observado en la bibliografía. Christensen (1984) observó que los niveles de Zn en pecíolo eran superiores a los del limbo en la mayor parte de variedades estudiadas, especialmente en envero. Sin embargo, Botelho y col. (2005) observaron en floración una mayor concentración en limbo respecto a pecíolo para la variedad Centennial Seedless.

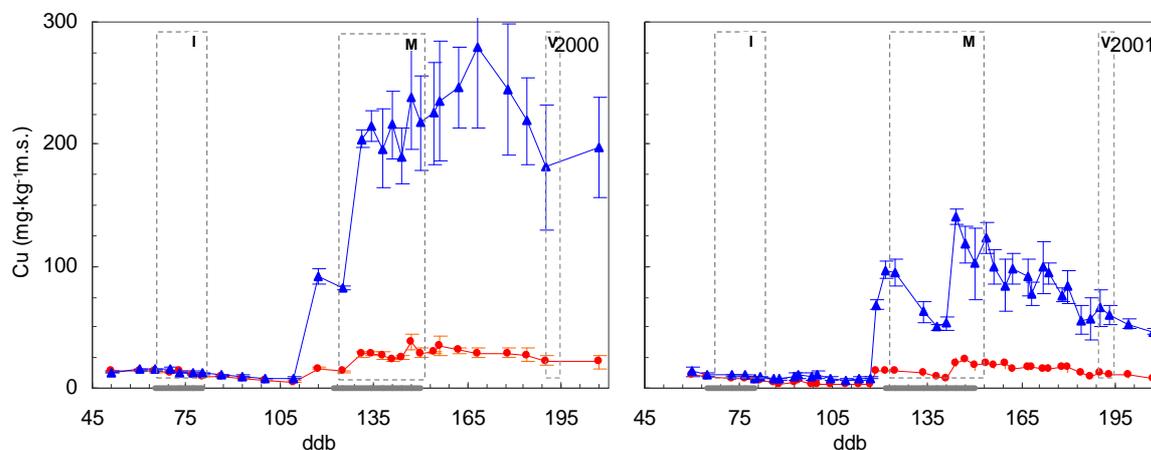
### **COBRE**

La concentración de cobre en limbo y pecíolo mostró valores inferiores a los 25 mg·kg<sup>-1</sup> m.s. al inicio del ciclo (Figura 17). Sin embargo, la aplicación de fungicidas de base cúprica hizo que el contenido en este elemento mostrase bruscos aumentos, llegando la concentración de Cu en limbo a superar los 250 mg·kg<sup>-1</sup> m.s. durante el año 2000.

### **Discusión**

Los resultados parecen indicar que no hay grandes diferencias entre limbo y pecíolo respecto a la concentración de Cu, al menos hasta el momento en que la aplicación de fungicidas está generalizada (Figura 17 y Tabla 19). En este sentido, la bibliografía muestra cómo es frecuente que la contaminación por fungicidas de base cúprica altere los valores obtenidos para este elemento (Fregoni, 1980; Failla y col., 1995; Botelho y col., 2005), apoyada por el hecho de que Marín y col. (2000) citan

como causa más directa de la acumulación de cobre en suelos de viñedo de la DOCa Rioja la intensidad de la aplicación del sulfato de cobre.



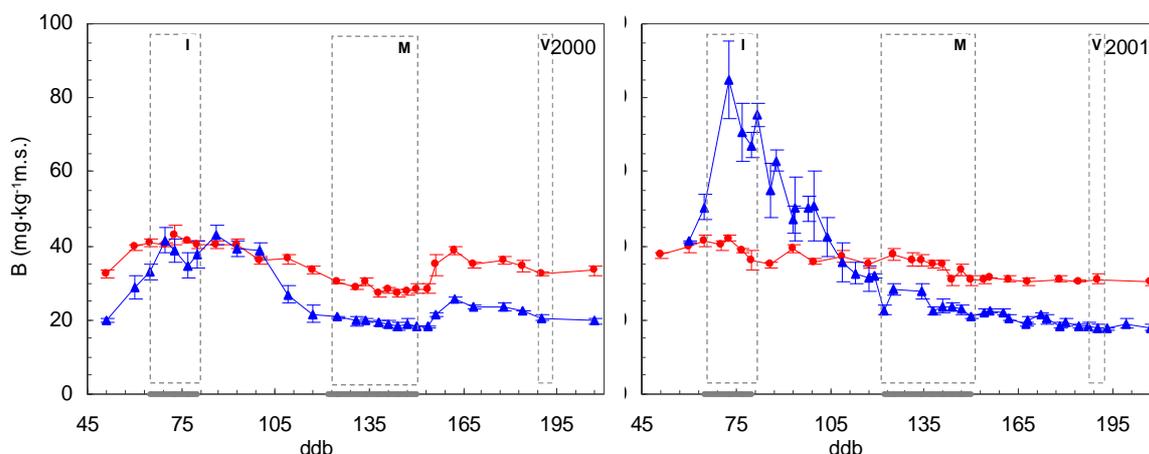
**Figura 17.-** Evolución estacional de la concentración de cobre ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  m.s.) en limbo  $\blacktriangle$  y pecíolo  $\bullet$ . Años 2000 y 2001. Las barras de error representan el error estándar de la media ( $n=3$ ). Los recuadros grises en línea discontinua indican los periodos de: I: floración-cuajado; M: invierno; V: vendimia. ddb: días desde brotación.

Los valores observados para ‘Tempranillo’ parecen ser algo más bajos en limbo que los observados para ‘Pinot Noir’ (Schreiner, 2005), mientras que los de pecíolo podrían ser ligeramente más bajos que los observados para el cv. Cabernet Sauvignon (Parejo, 1991). Schreiner (2005) observó que la concentración de cobre en limbos de cv. Pinot noir seguía una curva descendente a lo largo del ciclo, resultado que concuerda con los obtenidos en nuestros ensayos hasta el momento en que la contaminación con productos fitosanitarios hace imposible un adecuado seguimiento (Figura 17).

## BORO

En el viñedo estudiado (Figura 18), se alcanzó un máximo de concentración en torno a la floración, más acusado en limbo durante la campaña 2001. Los valores alcanzados por el limbo en dicho momento fueron de  $42 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  m.s. – año 2000 - y  $84 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  m.s. – año 2001 -, mientras que los de pecíolo fueron de 42 y  $43 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  m.s. respectivamente. Los valores mínimos para este elemento se situaron en  $17 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  m.s. para el limbo y  $27 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  m.s. para el pecíolo, similares para los dos años. A partir del cierre del racimo, los niveles en limbo fueron, en general, menores que los de pecíolo (Figura 18 y Tabla 18).

Ambos tejidos siguieron una evolución similar durante todo el ciclo (Figura 18), que permitió alcanzar una buena correlación entre ambos tejidos, con un  $r$  de Pearson mayor de 0,800 en las dos campañas (Tabla 16).



**Figura 18.-** Evolución estacional de la concentración de boro ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  m.s.) en limbo  $\blacktriangle$  y pecíolo  $\bullet$ . Años 2000 y 2001. Las barras de error representan el error estándar de la media ( $n=3$ ). Los recuadros grises en línea discontinua indican los periodos de: I: floración-cuajado; M: envero; V: vendimia. ddb: días desde brotación.

## Discusión

Las concentraciones de boro en pecíolo resultaron ligeramente superiores a las de limbo a partir de la mitad del período de crecimiento de la baya, previo al envero (Figura 18 y Tabla 18). Los altos niveles observados para limbo en la época de floración llegan a superar los valores máximos referidos por Christensen (1984) para 26 cultivares de vid. Sin embargo, durante el envero los valores obtenidos se encontraron por debajo de los establecidos por este autor, tanto en pecíolo como en limbo.

El aumento de concentración, hasta alcanzar su máximo en el período de floración (Figura 18), no ha sido previamente descrito por otros autores, los cuales han obtenido resultados contradictorios al analizar la dinámica estacional de este nutriente. La bibliografía recoge resultados que van desde aquellos casos en que este elemento no presenta una tendencia clara (Colugnati y col., 1992; Szóke y col., 1992; Schreiner, 2005) hasta otros en que se percibe una acumulación (Christensen, 1984) o un descenso (Parejo, 1991) a lo largo del ciclo.

A modo de **resumen** de este apartado, correspondiente a evolución estacional, puede señalarse que tanto limbo como pecíolo muestran concentraciones crecientes en calcio y magnesio, y decrecientes en nitrógeno, fósforo y, de forma no tan clara, en potasio. Estos resultados encajan con la afirmación de que resulta habitual que los tejidos más jóvenes – muestreos correspondientes al inicio del ciclo - muestren una mayor concentración en N, P y K, y menor en Ca y Mg (Mengel y Kirkby, 2001) y la movilidad hacia tejidos más jóvenes marca la evolución de todos ellos. En el caso de los micronutrientes, apenas han podido ponerse de manifiesto tendencias estacionales claras, debido a la gran variabilidad de los valores obtenidos y, en el caso del cobre, a la contaminación por fungicidas de

base cúprica (Failla y col., 1997) y, posiblemente, en algún momento puntual de la primera campaña, por productos con manganeso en su formulación.

Por otra parte, cabe reseñar que el limbo y el pecíolo difieren claramente en su composición mineral, como ya ha sido puesto de manifiesto por numerosos investigadores (Christensen, 1984; Delas, 1990; García-Escudero y col., 2002b). Estas diferencias en la composición de limbo y pecíolo se observaron tanto al considerar todos los muestreos en conjunto (Romero y col., 2013), como en una gran mayoría de los momentos de muestreo considerados de forma individual. Esta variación en la composición mineral de limbo y pecíolo ha sido constatada no solamente en vid, sino en diversas especies vegetales (Marschner, 1995).

### III.3.2.2.- IDENTIFICACIÓN DE PERÍODOS DE ESTABILIDAD

Tal y como ya se recoge en el apartado III.1.3, es recomendable que el muestreo de un tejido vegetal, con intención de realizar un diagnóstico nutricional, sea llevado a cabo en un momento en que su composición química se mantenga lo más estable posible (Robinson, 1995).

La comparación con unas referencias requiere que las condiciones de muestreo de muestras y referencias sean similares, para evitar que la desviación temporal entre muestras y referencias produzca grandes errores de interpretación. Conocer el período de vigencia de las referencias, alrededor de las fechas habitualmente recomendadas para llevar a cabo el diagnóstico nutricional, sugerirá un rango de tiempo dentro del cual un muestreo sería comparable estadísticamente con su referencia disponible.

Para la identificación de períodos de estabilidad en limbo y pecíolo, se emplearon los datos obtenidos a partir de los muestreos coincidentes en los dos años de estudio en la parcela experimental. Así, en el viñedo estudiado, se tuvieron en cuenta un total de 25 momentos de muestreo, desde cinco días antes del inicio de floración hasta diecisiete días después de vendimia.

La evaluación de períodos de estabilidad no se realizó para el cobre, puesto que se consideró que no puede realizarse el diagnóstico foliar de este elemento a partir del momento en que comienzan los tratamientos fungicidas con compuestos cúpricos. Asimismo, para la determinación de períodos de estabilidad se estudiaron únicamente los nutrientes que mostraron diferencias significativas entre muestreos. El criterio para la identificación de períodos de estabilidad fue la existencia de seis o más muestreos consecutivos que no presentaran diferencias significativas entre ellos salvo en el período de floración, en el que se consideró suficiente, dada la rápida evolución del contenido mineral, la existencia de tres muestreos consecutivos sin mostrar diferencias significativas. No se consideraron

aquellos períodos que quedaron englobados en otros de mayor duración y se prestó especial atención a los períodos que incluían los momentos fenológicos de floración y envero.

Respecto al estudio estadístico, los resultados del análisis de la varianza para dos factores, usando los datos combinados de los años 2000 y 2001, mostraron que el momento de muestreo tenía un efecto significativo sobre la concentración de nutrientes ( $p \leq 0,01$ ), tanto en limbo como en pecíolo, excepto para el manganeso en limbo ( $p = 0,345$ ) (Tabla 19). Como la interacción de año y momento de muestreo también fue significativa en la mayoría de los casos, se llevó a cabo el análisis de la varianza para cada año por separado (Tabla 20).

**Tabla 19.-** Nivel de significación para el análisis de la varianza (ANOVA). Efectos del momento de muestreo, año y de la interacción entre ambos en la concentración de nutrientes de limbo y pecíolo (Datos de 2000 y 2001).

Factor	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu	B
<b>Limbo</b>										
Muestreo	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,007	0,345	0,000	0,000	0,000
Año	0,026	0,000	0,003	0,410	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Interacción	0,002	0,000	0,001	0,000	0,000	0,004	0,015	0,000	0,000	0,000
<b>Pecíolo</b>										
Muestreo	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Año	0,000	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001
Interacción	0,000	0,000	0,003	0,009	0,011	0,000	0,119	0,004	0,001	0,000

<sup>a</sup> Diferencias significativas a  $p \leq 0,01$ .

**Tabla 20.-** Nivel de significación para el análisis de la varianza (ANOVA) para los años 2000 y 2001 por separado. Efecto del momento de muestreo en la concentración de nutrientes de limbo y pecíolo.

Nutriente	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu	B
<b>Año</b>										
<b>Limbo</b>										
2000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,010	0,006	0,000	0,000	0,000
2001	0,002	0,000	0,006	0,000	0,000	0,020	0,912	0,000	0,000	0,000
<b>Pecíolo</b>										
2000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2001	0,000	0,000	0,109	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000

<sup>a</sup> Diferencias significativas a  $p \leq 0,05$ . n.s.: no significativo a  $p \leq 0,05$ .

El efecto del momento de muestreo fue significativo para todos los elementos excepto para Mn y K en limbo en la campaña de 2000. Cuando las pruebas post-hoc se llevaron a cabo, la variabilidad en la concentración de nutrientes mostró diferencias erráticas, o ausencia de ellas, entre muestreos para Fe,

Zn y Mn en ambos tejidos. Por otro lado, el cobre mostró una tendencia similar en las dos campañas, asociado a la aplicación de productos fitosanitarios (Tabla 17).

## LIMBO

Los períodos de estabilidad más interesantes, de aquellos identificados para la concentración de nutrientes en limbo, se recogen en la Figura 19. Para el nitrógeno, no se observó ningún período de estabilidad, en la época de floración – cuajado, con una duración de más de tres muestreos consecutivos.

Además, estos períodos no coincidieron en los dos años de estudio: en 2000 se extendió de 80% de floración hasta cuajado, mientras que en 2001 comenzó en 100% de floración y terminó una semana después del cuajado. Por tanto, una referencia establecida al 50% de floración no sería válida para la floración al completo, mientras que una referencia obtenida al 100% de floración sería válida hasta el cuajado. Por otro lado, se identificó para las dos campañas un único período de estabilidad que incluyó el envero por completo y se extendería hasta doce días después de éste (Figura 19). Por tanto, una referencia de N obtenida en cualquier momento del envero sería válida, al menos, para dicho período al completo.

El período de estabilidad más largo para el fósforo coincide con el envero, que abarcaría desde una semana antes de envero hasta justo antes de la vendimia, considerando las dos campañas. En torno a floración, se obtuvieron para este nutriente dos períodos de estabilidad, sin que ninguno de ellos la abarcara en su totalidad (Figura 19). Teniendo en cuenta los dos años de estudio, el período de estabilidad quedaría limitado a un corto período que abarcaría desde 80% a 100% de floración.

En el caso del potasio, de igual modo que ocurría con el P, se obtuvieron dos períodos de estabilidad, sin que ninguno de ellos abarcara en su totalidad la floración (Figura 19). Considerando los dos años, el período de estabilidad para el K quedaría limitado y abarcaría desde 80% a 100% de capuchones caídos. Respecto al envero, la elevada variabilidad en sus contenidos hace que apenas se presenten diferencias significativas entre muestreos, observándose un subconjunto homogéneo que abarca desde una semana antes del inicio del envero hasta seis días antes de vendimia (Figura 19).

El calcio, tras comparar los dos años estudiados, muestra un período de estabilidad que abarca todo el envero y el muestreo anterior y posterior, así como un período de tres muestreos consecutivos que transcurre desde el 80% de floración hasta seis días después de finalizada ésta (Figura 19).

El magnesio, por su parte, es el único macronutriente que presenta un período de estabilidad en limbo que se prolonga durante toda la floración, e incluso en el siguiente muestreo (cuajado de fruto). Este nutriente muestra además otros períodos de estabilidad, uno de los cuales, en 2000, comienza a mitad del cierre de racimos (25 días antes de envero) y se extiende seis días después de finalizado el envero (Figura 19).

Respecto al boro, y aunque en 2000 se encuentran períodos que abarcarían la floración al completo, cuando se consideraron los dos años en común se puede acotar únicamente un período de estabilidad que abarcaría desde 50% de floración hasta cuajado. Asimismo, otro período que abarcaría desde el cierre del racimo (L) hasta vendimia, incluiría el envero en su totalidad (Figura 19).

### **PECÍOLO**

En lo que se refiere al pecíolo, cuyos resultados se recogen en la Figura 20, el período de estabilidad más largo para el nitrógeno comprende desde dos semanas tras el final de floración hasta el último muestreo, 17 días tras la vendimia. En floración, existe un período que abarcaría toda la floración y el muestreo anterior.

Para el fósforo, no se encontraron diferencias en la floración del año 2001. Sin embargo, en 2000 se observan dos períodos de estabilidad en torno a floración: uno que comienza en prefloración y se extiende hasta la mitad de la misma, y otro que comenzando en el 80% de floración, llega hasta 13 días después de finalizada ésta. El período de estabilidad para este nutriente en envero comienza una semana antes de envero y se extiende hasta 12 días después de que éste finalice (Figura 20).

Para el potasio, la alta variabilidad en el contenido de este nutriente hace que no se observen diferencias entre muestreos en el año 2001. Respecto al año 2000, existe un período de estabilidad que comienza a mitad floración y se prolonga hasta vendimia. Además, se pueden observar otros dos períodos de estabilidad que abarcan la floración, prologándose uno de ellos hasta mitad de envero (Figura 20).

	ddb	Floración					Cierre de racimo					Envero						Maduración						Vendimia		Valor medio	
		10%	50%	80%	100%		86	93	100	109	117	125	134	138	141	144	147	150	154	156	162	168	178	184	190		207
N 2000	60	3,88	3,98	3,47	3,29	3,29	3,17	2,85	2,67	2,53	2,69	2,48	2,37	2,43	2,55	2,45	2,48	2,41	2,37	2,33	2,26	2,25	2,11	2,07	2,01	1,89	3,98
g-100g <sup>-1</sup> m.s.	a	a	b	b	b	c	c		e	e	e	f	f	f	f	f	f	f	f	f	f	j	j	j	j	k	3,35
N 2001	60	3,95	3,75	3,75	3,51	3,10	3,02	2,77	2,46	2,43	2,47	2,48	2,29	2,45	2,57	2,42	2,35	2,35	2,38	2,37	2,26	2,24	2,17	2,07	2,02	1,72	3,25
g-100g <sup>-1</sup> m.s.	a	a	a	b		c	c	c	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	i	i	2,52
P 2000	60	0,60	0,52	0,45	0,33	0,30	0,28	0,28	0,22	0,21	0,17	0,16	0,15	0,14	0,14	0,14	0,13	0,13	0,13	0,12	0,13	0,13	0,12	0,11	0,10	0,09	0,60
g-100g <sup>-1</sup> m.s.	a	b	c	d	d	d	d	e	e	e	f	f	g	g	g	g	g	g	h	h	h	h	h	h	h	i	0,52
P 2001	60	0,41	0,40	0,40	0,32	0,34	0,24	0,23	0,18	0,17	0,17	0,16	0,16	0,14	0,14	0,14	0,13	0,12	0,13	0,13	0,13	0,12	0,12	0,11	0,10	0,10	0,39
g-100g <sup>-1</sup> d.w.	a	a	a	b	b	c	c	c	c	c	c	c	c	d	d	d	d	d	d	d	d	d	d	d	d	e	0,35
K 2000	60	0,60	0,52	0,45	0,33	0,30	0,28	0,28	0,22	0,21	0,17	0,16	0,15	0,14	0,14	0,14	0,13	0,13	0,13	0,12	0,13	0,13	0,12	0,11	0,10	0,09	0,45
g-100g <sup>-1</sup> m.s.	a	b	c	d	d	d	d	e	e	e	f	f	g	g	g	g	g	g	h	h	h	h	h	h	h	i	0,3
K 2001	60	0,41	0,40	0,40	0,32	0,34	0,24	0,23	0,18	0,17	0,17	0,16	0,16	0,14	0,14	0,14	0,13	0,12	0,13	0,13	0,13	0,12	0,12	0,11	0,10	0,10	0,26
g-100g <sup>-1</sup> m.s.	a	a	a	b	b	c	c	c	c	c	c	c	c	d	d	d	d	d	d	d	d	d	d	d	d	e	0,19
Ca 2000	60	1,56	1,72	2,11	2,25	2,42	2,78	3,27	2,94	2,91	2,97	3,11	3,13	3,13	3,17	3,31	3,14	2,91	3,06	3,70	3,89	3,80	3,83	3,81	3,87	3,80	3,81
g-100g <sup>-1</sup> m.s.	j	i	g	g	h	g	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	a	3,06
Ca 2001	60	1,29	1,61	1,86	1,85	2,26	2,15	2,55	2,80	2,95	3,20	3,62	3,25	3,41	3,51	3,5	3,55	3,42	3,66	3,55	3,60	3,26	3,54	3,77	3,96	3,84	3,49
g-100g <sup>-1</sup> m.s.	k	k	i	i	i	h	f	e	e	e	e	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	3,14
Mg 2000	60	0,45	0,49	0,56	0,62	0,65	0,67	0,82	0,70	0,70	0,65	0,68	0,66	0,66	0,68	0,71	0,73	0,64	0,62	0,74	0,84	0,77	0,77	0,80	0,79	0,73	0,72
g-100g <sup>-1</sup> m.s.	f	d	c	c	c	c	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	0,70
Mg 2001	60	0,35	0,41	0,44	0,44	0,50	0,47	0,57	0,54	0,53	0,63	0,68	0,63	0,66	0,70	0,64	0,68	0,61	0,69	0,59	0,66	0,64	0,66	0,70	0,73	0,69	0,66
g-100g <sup>-1</sup> m.s.	h	g	g	g	g	g	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	a	a	0,63
B 2000	60	29	33	39	35	38	43	39	39	27	22	21	20	19	19	18	19	18	18	21	26	24	24	23	21	20	39
mg·kg <sup>-1</sup> m.s.	c	c	a	a	a	a	a	a	a	a	a	f	f	f	f	f	f	f	f	f	f	f	f	f	f	f	35
B 2001	60	41	50	85	71	67	55	47	51	36	31	28	28	22	24	24	23	21	22	23	21	20	18	18	18	18	74
mg·kg <sup>-1</sup> m.s.	d	b	a	a	a	b	b	c	c	c	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	54
	e	c	d	d	e	d	d	d	e	e	i	i	i	i	i	i	i	i	i	i	i	i	i	i	i	i	43
		e																									47
																											23

Figura 19.- Períodos de estabilidad para la concentración de nutrientes en limbo. Años 2000-2001. Letras iguales en horizontal indican subconjuntos homogéneos. En gris, períodos de estabilidad. <sup>a</sup>ddb: días desde brotación (eje no escalar). <sup>b</sup>Concentración media para el momento de muestreo. Valores expresados en g·100g<sup>-1</sup> m.s. para los macronutrientes y en mg·kg<sup>-1</sup> m.s. para los micronutrientes.

ddb	Floración					Cierre del racimo					Envero						Maduración						Vendimia		valor medio		
	10%	50%	80%	100%		86	93	100	109	117	125	134	138	141	144	147	150	154	156	162	168	178	184	190		207	
N 2000 g-100g <sup>-1</sup> m.s.	1,76 a	1,75 a	1,73 a	1,42 a	1,24 a	1,23 a	1,19 a	1,29 a	1,15 a	1,27 a	1,26 a	1,23 a	1,15 a	1,38 a	1,27 a	1,34 a	1,39 a	1,17 a	1,24 a	1,36 a	1,32 a	1,34 a	1,25 a	1,18 b	1,04 c	1,35 1,31 1,26	
N 2001 g-100g <sup>-1</sup> m.s.	1,88 a	1,68 a	1,71 a	1,70 a	1,46 a	1,15 b	1,04 c	0,85 c	0,83 c	0,73 c	0,76 c	0,77 c	0,80 c	1,04 b	0,85 c	0,83 c	0,84 c	0,92 c	0,80 c	0,72 c	0,79 c	0,81 c	0,83 c	0,74 c	0,57 d	1,64 1,17 0,85 0,82	
P 2000 g-100g <sup>-1</sup> m.s.	0,57 a	0,55 a	0,56 a	0,39 b	0,37 c	0,40 b	0,37 b	0,29 c	0,24 c	0,15 d	0,12 e	0,12 e	0,10 e	0,10 e	0,08 e	0,07 e	0,09 e	0,08 e	0,08 e	0,07 e	0,06 e	0,07 e	0,06 e	0,06 e	0,05 e	0,05 e	0,56 0,38 0,35 0,27 0,09 0,08
P 2001 g-100g <sup>-1</sup> m.s.	0,41 a	0,44 a	0,43 a	0,39 a	0,43 a	0,26 c	0,30 b	0,17 d	0,14 d	0,13 e	0,10 e	0,11 e	0,09 e	0,08 e	0,07 e	0,07 e	0,06 e	0,06 e	0,07 e	0,06 e	0,06 e	0,06 e	0,06 e	0,05 e	0,05 e	0,42 0,37 0,28 0,19 0,08	
K 2000 g-100g <sup>-1</sup> m.s.	4,12 a	3,53 a	2,93 a	1,94 b	1,81 b	2,27 b	1,75 c	1,75 c	1,65 c	1,70 c	1,62 c	1,80 c	1,76 c	1,50 d	1,50 d	1,78 c	2,05 c	2,08 c	1,68 c	1,29 d	1,25 d	1,16 d	1,15 d	0,86 d	0,70 e	3,53 2,91 1,91 1,64 1,56	
K 2001 g-100g <sup>-1</sup> m.s.	2,14 a	2,22 a	2,11 a	1,78 a	1,50 a	1,18 a	1,36 a	1,43 a	1,75 a	1,64 a	1,77 a	1,64 a	1,70 a	1,14 a	1,39 a	1,28 a	1,74 a	1,09 a	2,05 a	2,01 a	1,31 a	1,30 a	1,02 a	1,12 a	1,12 a	1,55	
Ca 2000 g-100g <sup>-1</sup> m.s.	0,72 h	0,87 g	1,11 g	1,15 g	1,36 g	1,50 e	1,54 e	1,65 e	1,73 e	1,79 e	1,73 e	1,99 e	1,87 e	1,72 e	1,84 e	1,95 e	1,84 e	1,72 e	2,25 e	2,02 e	1,98 e	2,05 e	2,06 e	2,09 e	2,02 e	1,98 1,89 1,83 1,77 1,67 1,33 1,12 0,96	
Ca 2001 g-100g <sup>-1</sup> m.s.	0,83 h	1,02 g	1,07 g	1,05 g	1,43 g	1,27 f	1,51 f	1,71 f	2,03 f	2,10 f	2,12 f	1,91 f	2,00 f	1,89 f	1,92 f	2,31 f	2,06 f	2,25 f	2,36 f	2,29 f	2,18 f	2,16 f	2,35 f	2,21 f	2,23 f	2,19 2,16 2,11 1,97 1,79 1,48 1,17 0,99	
Mg 2000 g-100g <sup>-1</sup> m.s.	0,60 k	0,75 k	0,93 k	0,90 k	0,97 k	1,03 e	1,31 f	1,22 f	1,32 f	1,29 f	1,33 d	1,39 d	1,28 d	1,46 d	1,60 d	1,57 d	1,37 d	1,41 d	1,75 d	1,96 d	1,85 d	1,94 d	2,01 d	1,82 e	1,71 e	1,80 1,74 1,68 1,57 1,50 1,45 1,41 1,28 1,21 0,97 0,86	
Mg 2001 g-100g <sup>-1</sup> m.s.	0,63 g	0,73 g	0,76 g	0,80 g	1,01 g	0,85 a	1,08 a	0,92 a	1,06 a	1,10 a	1,23 a	1,21 a	1,23 a	1,32 a	1,22 a	1,36 a	1,24 a	1,40 a	1,20 a	1,40 a	1,48 a	1,43 a	1,53 a	1,35 b	1,41 b	1,29 1,26 1,18 1,09 1,05 0,95 0,89	
B 2000 mg-kg <sup>-1</sup> m.s.	40 a	41 a	43 a	41 a	40 a	40 a	41 a	36 b	36 b	33 c	30 c	30 c	27 d	28 d	27 d	28 d	28 d	28 d	35 e	39 e	35 e	36 e	35 e	32 f	33 f	40 38 37 36 35 34 32 30	
B 2001 mg-kg <sup>-1</sup> m.s.	38 a	40 a	41 a	40 a	42 a	36 a	39 a	35 b	36 b	35 b	34 c	31 c	31 c	31 c	31 c	30 d	31 d	31 d	31 d	29 e	30 e	29 e	27 f	26 f	39 38 37 34 32 32 31 30 30		

Figura 20.- Períodos de estabilidad para la concentración de nutrientes en peciolo. Años 2000-2001. Letras iguales en horizontal indican subconjuntos homogéneos. En gris, períodos de estabilidad. <sup>a</sup>ddb: días desde brotación (eje no escalar). <sup>b</sup>Concentración media para el momento de muestreo. Valores expresados en g-100g<sup>-1</sup> m.s. para macronutrientes y en mg.kg<sup>-1</sup> m.s. para micronutrientes.

Poniendo en común los dos años estudiados, los resultados para Ca y Mg son muy similares, con un período de estabilidad que incluiría la floración al completo, y otro período que empezaría dos semanas antes de envero y finalizaría una semana tras su conclusión (Figura 20). El período más largo para el Mg estaría comprendido entre inicio de envero y post vendimia, si bien existen otros dos períodos que abarcan el envero, y uno que se prolonga desde final de floración hasta mediado el envero (Figura 20).

En cuanto a los micronutrientes en pecíolo, el boro mostró un período de estabilidad que incluye la floración al completo, que se extendería hasta trece días tras la floración. Asimismo, el período que incluiría el envero para el B se extendería también a los muestreos inmediatamente anterior y posterior a este momento fenológico (Figura 20).

## **Discusión**

La toma de muestras para el análisis foliar debe realizarse en un momento en el que la composición nutricional del tejido elegido sea lo más estable posible (Robinson, 1995; Cadahía, 2000). La determinación de períodos de estabilidad facilita la elección de momentos en los que puedan establecerse referencias nutricionales útiles, así como para determinar el período de validez de las referencias ya establecidas, es decir, conocer en qué medida los resultados de un análisis concreto es comparable a las mismas. Considerando todo esto, se debe recordar que las épocas habitualmente elegidas para el establecimiento de referencias son la floración y el envero (Champagnol, 1990; OIV, 1996; Robinson, 2005).

Asimismo, se debe considerar las posibles causas por las que aparecen estadísticamente períodos de estabilidad en la concentración de los nutrientes y no se diferencian en función del momento fenológico. La aparición de un período de estabilidad puede ser debido a dos causas principalmente: a que la composición de los tejidos en determinado nutriente se mantenga estable a lo largo de un determinado período del ciclo, o a que la variabilidad de la concentración de estos nutrientes intra-muestreo (entre las repeticiones del mismo muestreo) sea muy elevada en el tejido estudiado, e impida detectar diferencias entre muestreos consecutivos. En este último caso, una alta variabilidad en la composición mineral se traduciría, estadísticamente, en un período de estabilidad. Este aspecto se abordará en la sección III.3.2.3.

En nuestro estudio y en relación con lo que se acaba de comentar, el Fe, el Mn y el Zn, tanto en limbos como en pecíolos, no mostraron diferencias en su concentración en función del estado fenológico (Tabla 20). En esta situación, sería factible proponer una referencia única, independiente del momento

fenológico o, al menos, válida para gran parte del ciclo. Sin embargo, para evitar la incertidumbre debida a la variabilidad por diferencias debidas al momento fenológico, siempre será recomendable disponer de referencias lo más próximas en el tiempo al muestreo realizado.

## **LIMBO**

Respecto a la vigencia de unas referencias para el resto de nutrientes en limbo, es decir, N, P, K, Ca, Mg y B, éstos presentaron períodos de estabilidad separados para envero y floración, lo que confirma la necesidad de establecer, al menos para estos elementos, referencias nutricionales diferentes para estos dos momentos del ciclo. En los limbos, los períodos de estabilidad más largos se produjeron en torno al envero para todos estos nutrientes (Figura 19).

En floración (I), la concentración de N no resultó estable durante más de tres muestreos consecutivos, y tampoco para la concentración de fósforo, potasio y calcio se observaron períodos que abarcaran la floración en su totalidad (Figura 19). Por tanto, según los resultados obtenidos para la variedad Tempranillo y considerando únicamente los macronutrientes N, P, K, Ca y Mg, ya que los micronutrientes no resultaron limitantes en cuanto a la duración de períodos de estabilidad en floración, se puede establecer unas referencias para limbo que permitiesen el diagnóstico de los cinco macronutrientes. Por tanto, el mejor momento dentro del período de floración, sería el que corresponde a un 100% de capuchones caídos (Figura 19), ya que unas referencias obtenidas en dicho momento (100% I) resultarían válidas, en general, hasta el cuajado de fruto, unos seis días tras el final de floración.

Sin embargo, cabe señalar que tanto para el N como para el P y K en limbo se han observado diferencias entre los muestreos de 50% y 100% de floración en alguno o en ambos de los años ensayados (Figura 19), por lo que unas referencias obtenidas para el 50% I no serían comparables para N, P y K con muestreos posteriores al 100% I. También se debe considerar la gran dificultad que se encuentra para establecer una estimación eficiente del porcentaje de flores abiertas ya que, a menudo, se sobrestima el número de inflorescencias (May, 2004).

Todas estas consideraciones indican la necesidad de un gran rigor a la hora de garantizar un buen ajuste entre el estado fenológico de los muestreos realizados y el momento en que se establecen las referencias, especialmente si se pretende hacer un diagnóstico fiable y simultáneo del mayor número de nutrientes posible. Tal circunstancia evitará añadir a la incertidumbre debida a la variabilidad intra-muestreo procedente de las repeticiones, la variabilidad achacable a diferencias en el estado fenológico.

Respecto al envero (M), sin embargo, el limbo mostró, para todos los macronutrientes, períodos de estabilidad que lo abarcaron en su totalidad (Figura 19). Si considerásemos un diagnóstico conjunto, referencias establecidas en cualquier momento durante el envero, el 50% M para minimizar diferencias temporales, serían válidas durante toda la duración del mismo, período que se prolongó durante 25 días en promedio. Asimismo, la validez de las referencias comenzaría una semana antes del inicio del envero y se prolongaría durante casi una semana más, ya en el período de maduración, hasta los 36 días (Figura 19).

### **PECÍOLO**

Respecto al pecíolo, la vigencia de unas referencias para N, P, K, Ca, Mg y B, los nutrientes que mostraron diferencias estadísticas según el momento fenológico, también presentaron períodos de estabilidad separados para floración y envero. Por tanto, también en el pecíolo se confirmaría la necesidad de establecer referencias nutricionales diferentes para estos dos momentos del ciclo. Los períodos de estabilidad más largos se produjeron en torno al envero para estos nutrientes (Figura 20).

Considerando la duración de los períodos de estabilidad encontrados para los elementos estudiados, se podría acotar un único período para el diagnóstico simultáneo de todos ellos. Un período abarcaría, en general, la floración al completo, mientras que otro abarcaría el envero al completo, iniciándolo una semana antes del envero y terminando una semana después.

El método californiano de análisis de pecíolo en floración suele referirse a un 70% de capuchones caídos (Robinson, 1995). En nuestro estudio con el cv. Tempranillo, el muestreo más cercano es el realizado en 80% floración. Referencias obtenidas entre el 50 y el 80% de floración (4 días en promedio) no mostrarían diferencias significativas, salvo para el fósforo, con el resto de muestreos comprendidos entre cinco días antes de floración y seis días después de ésta, período que se prolongó durante 26 días de promedio en nuestros estudios durante el año 2000 (Figura 20). Hay que tener en cuenta que el inicio de la floración fue anormalmente largo en el año 2000, probablemente debido a las bajas temperaturas y las precipitaciones registradas en ese momento fenológico (Figura 8). En un año medio, la duración de este período estaría probablemente más cerca de los 20 días, tal como ocurrió en 2001.

Sin embargo, si se opta por proponer un momento fenológico de muestreo fácilmente identificable para llevar a cabo el diagnóstico común de los nutrientes estudiados, como sería el 100% de capuchones caídos (100% I), se deberá tener presente que las referencias dadas serían válidas para la floración al completo, con la excepción del fósforo y potasio, y hasta el cuajado de fruto (J) (Figura 20). Para el caso del P y K, el rápido descenso observado en la floración de 2000 sugiere que unas

referencias establecidas en 100% I no serían válidas para muestreos anteriores al 50% I, al menos en determinados años climáticos.

En cuanto al análisis de pecíolo en envero, si las referencias para macronutrientes fuesen establecidas precisamente en 50% de envero, cualquier muestreo realizado desde una semana antes de envero y hasta seis días después del mismo - 37 días en promedio - sería comparable con las mismas (Figura 20).

### III.3.2.3.- VARIABILIDAD DE LA CONCENTRACIÓN DE NUTRIENTES EN LIMBO Y PECÍOLO

Como se ha recogido en apartados anteriores, la representatividad de un tejido para el diagnóstico nutricional incluye la capacidad de dicho tejido para garantizar una alta reproducibilidad en los resultados de los análisis, lo que reduciría la incertidumbre a la hora de realizar un diagnóstico mediante la comparación con referencias, y más si cabe cuando se trata de procedimientos agrícolas rutinarios donde es habitual llevarlo a cabo a partir de un limitado número de muestras.

La alta variabilidad intra-muestreo, entre las repeticiones, en la concentración de un nutriente a lo largo del ciclo también genera incertidumbre en los estudios de evolución de nutrientes, dificultando determinar los períodos de estabilidad e impidiendo establecer el tiempo de vigencia de una referencia dada para un nutriente y momento fenológico determinado. Tal como se comentó en el apartado anterior (III.3.2.2), una alta variabilidad intra-muestreo se traduciría en una gran dificultad para detectar diferencias entre muestreos, confundiendo la alta variabilidad en el contenido nutricional con períodos de estabilidad, lo que llevaría a utilizar referencias fuera de su período real de vigencia y, finalmente, a errores de diagnóstico.

Para determinar la variabilidad intra-muestreo, podemos aplicar diferentes técnicas estadísticas. Si bien los intervalos de confianza para la media pueden dar una idea de la variabilidad de la concentración de un nutriente a lo largo del ciclo, resulta más apropiado el empleo del coeficiente de variación porcentual, que relaciona la variabilidad dentro de una muestra con su valor medio en tanto por ciento.

Los coeficientes de variación de los macronutrientes para cada muestreo de limbo y pecíolo se representan frente al momento de muestreo en la Figura 21, mientras los de los micronutrientes se recogen en la Figura 22.

El nitrógeno presentó unos coeficientes de variación en limbo que alcanzaron un valor máximo de 10,25% en 2001, mientras que el coeficiente de variación del pecíolo llegó a superar el 30% ese

mismo año. En el año 2000, los coeficientes de variación fueron algo inferiores en los dos tejidos, con un máximo de 6,40% para limbo y de 23,99% para pecíolo. Los únicos momentos en que el limbo mostró un coeficiente de variación superior al del pecíolo fueron los muestreos anterior y posterior a floración en 2000, y en el segundo muestreo tras floración en 2001. Sin embargo, la diferencia es pequeña en comparación con las observadas a favor del pecíolo durante el resto de la campaña (Figura 21).

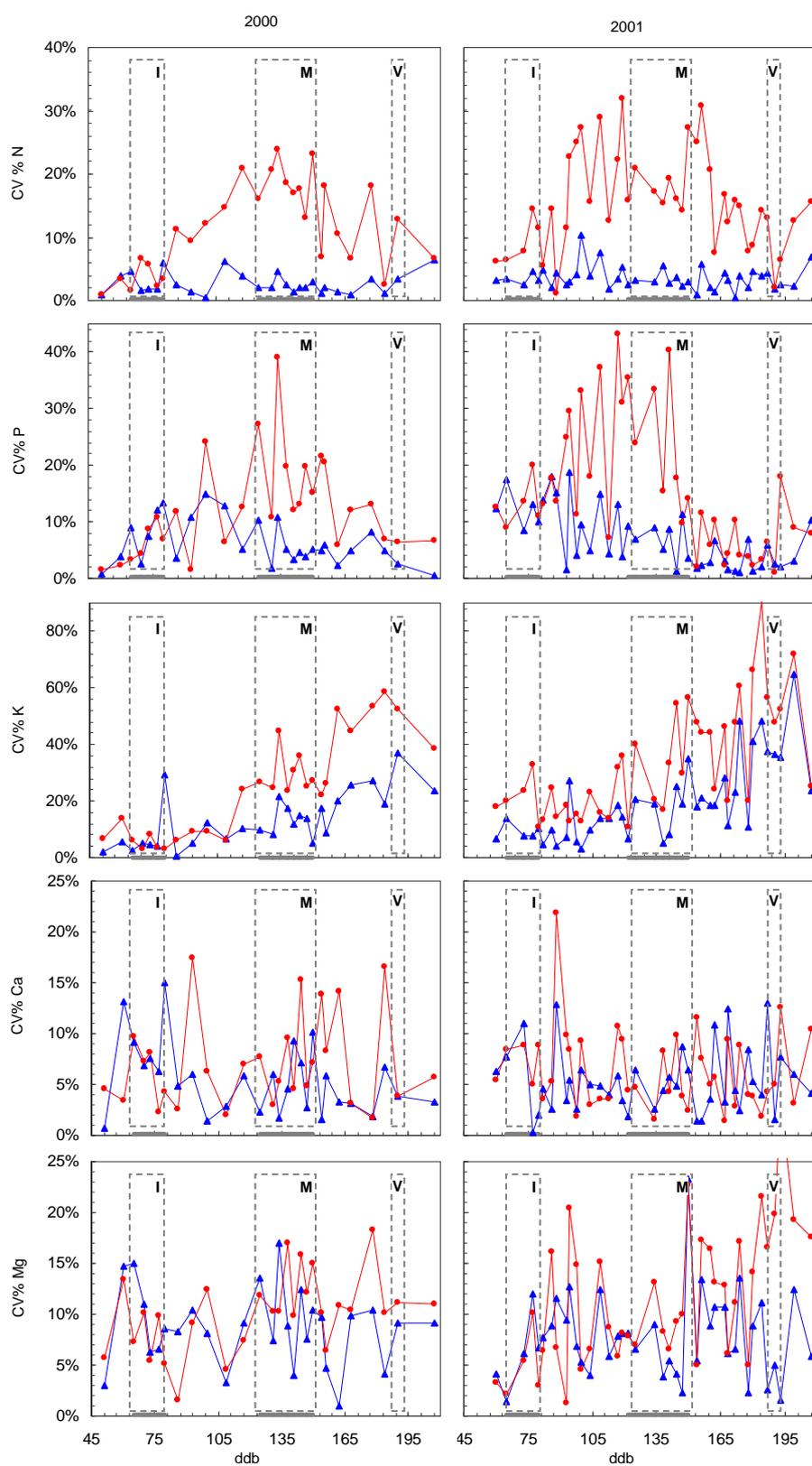
En el caso del fósforo, la variabilidad resultó similar en limbo y pecíolo durante la floración en ambos años, así como en el período de maduración del año 2001. Durante el resto del ciclo, el pecíolo mostró coeficientes de variación notablemente más elevados que el limbo, con valores para este parámetro incluso superiores al 40% en algunos momentos (Figura 21).

Para el potasio, salvo el último muestreo de floración en 2000 y un único muestreo en torno a tamaño guisante en 2001, durante todo el ciclo los coeficientes de variación fueron superiores en pecíolo que en limbo. Los coeficientes de variación en ambos tejidos fueron más elevados en 2001, llegando a alcanzar un valor del 90% en pecíolo (Figura 21).

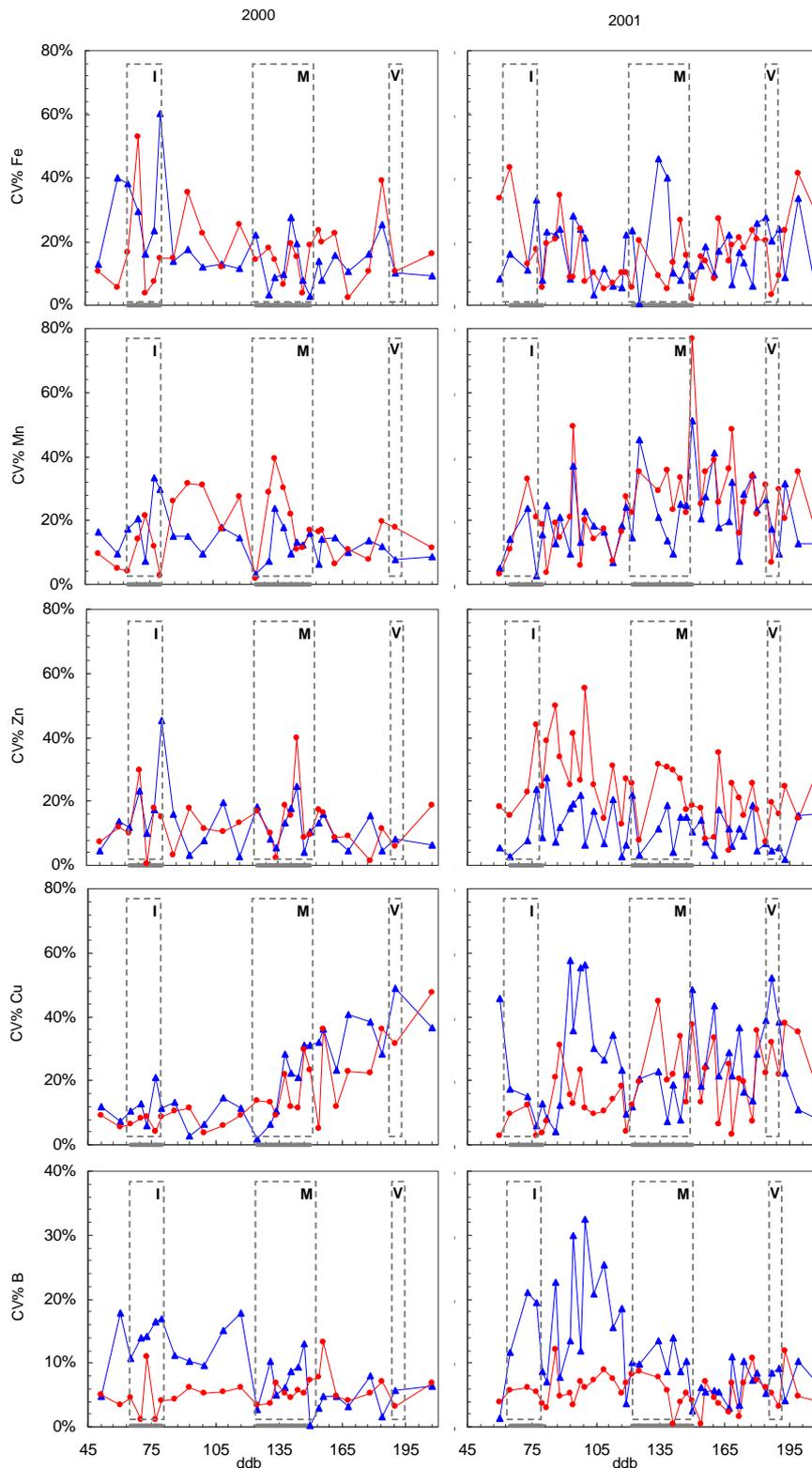
En el caso del calcio, los coeficientes de variación no superaron el 20% en ninguno de los dos tejidos, y no puede afirmarse que uno de ellos muestre mayor variabilidad. Para el magnesio, si bien el comportamiento de ambos tejidos es similar en gran parte del ciclo, a partir de enero el pecíolo mostró, por lo general, coeficientes de variación más elevados (Figura 21).

Como pauta general, los micronutrientes mostraron coeficientes de variación elevados en limbo y pecíolo. Así, los coeficientes de variación para el hierro y el manganeso oscilaron entre un 5 y un 60%, sin que pudieran observarse patrones estacionales ni diferencias entre ambos tejidos. Tampoco para el zinc se observan patrones estacionales y, si bien en 2001 el pecíolo mostró coeficientes de variación más elevados durante prácticamente todo el ciclo, alcanzando hasta un 50%, no ocurrió así en 2000, campaña en que ambos tejidos mostraron similares coeficientes de variación. En el caso del cobre, los coeficientes de variación máximos (60%) se observaron en el limbo (Figura 22).

El boro mostró coeficientes de variación inferiores a los del resto de micronutrientes, con valores máximos del 30% para limbos en el período de cuajado de 2001. El pecíolo, en general, mostraría una mayor reproducibilidad en su composición mineral respecto al limbo, con CV% cercanos al 10%.



**Figura 21.-** Coeficiente de variación porcentual intra-muestreo de la concentración de macronutrientes en limbo  $\blacktriangle$  y pecíolo  $\bullet$  a lo largo del ciclo de cultivo. Años 2000 (izquierda) y 2001 (derecha). Los recuadros grises en línea discontinua indican los períodos de: I: floración-cujado; M: invierno; V: vendimia. ddb: días desde brotación.



**Figura 22.-** Coeficiente de variación porcentual intra-muestreo de la concentración de micronutrientes en limbo  $\blacktriangle$  y pecíolo  $\bullet$  a lo largo del ciclo de cultivo. Años 2000 (izquierda) y 2001 (derecha). Los recuadros grises en línea discontinua indican los períodos de: I: floración-cuajado; M: invierno; V: vendimia. ddb: días desde brotación.

## Discusión

El tejido elegido para el diagnóstico nutricional debe cumplir, entre otros requisitos, el de ofrecer resultados reproducibles (Robinson, 2005; Wolpert y Anderson, 2007).

En este estudio, se ha puesto de manifiesto que el pecíolo muestra una mayor variabilidad que el limbo para los macronutrientes nitrógeno, fósforo y potasio (Figura 21), probablemente los tres nutrientes cuyo análisis resultaría de mayor interés en el diagnóstico nutricional dirigido a racionalizar la fertilización. Para el calcio y el magnesio, sin embargo, no se han observado diferencias claras entre ambos tejidos (Figura 21).

Con respecto a los micronutrientes, la variabilidad en la composición mineral se puede considerar similar a la encontrada en los macronutrientes (Figuras 21 y 22). El limbo ha puesto de manifiesto una mayor variabilidad que el pecíolo en la concentración de boro, mientras que el pecíolo mostró una mayor variabilidad en el caso del manganeso. Por su parte, el hierro no mostró diferencias claras entre tejidos por lo que, en principio, sería igual de fiable realizar su diagnóstico en limbo o pecíolo a partir de un análisis mineral, considerando estrictamente un criterio relativo a la variabilidad intra-muestreo (Figura 22).

Es un hecho conocido que los intervalos de variación en pecíolo para nutrientes como el potasio, el fósforo y el magnesio son más amplios que los de limbo (Bertoni y Morard, 1982; Christensen, 1984; Champagnol, 1990), y esta razón lo ha hecho preferible en el ámbito de la investigación cuando se trata de determinar diferencias en la composición nutricional debidas a la influencia de diversos factores, como el portainjerto (Wolpert y col., 2005), la variedad (Christensen, 1984), o la respuesta a la fertilización (Bravdo y Hepner, 1987).

Sin embargo, en este caso lo que se constata es una mayor variabilidad entre plantas con un nivel de nutrición supuestamente homogéneo dentro de un mismo viñedo, hecho que ha sido puesto de manifiesto por otros investigadores como Delas (1990) y, más recientemente, Fraguas y col. (2003) y Wolpert y Anderson (2007). Esta mayor variabilidad lo convierte en un instrumento menos preciso para su empleo en el diagnóstico nutricional a nivel comercial, en el que habitualmente no se dispone de la posibilidad de realizar muestreos repetidos.

Asimismo, y en general para casi la totalidad del ciclo, la mayor variabilidad intra-muestreo en la concentración de N, P, K y Mn en pecíolo y de B en limbo, aumenta la posibilidad de error en tanto nos alejamos del momento de diagnóstico recomendado por la referencia disponible para el tejido en cuestión.

Finalmente, el limbo ha resultado más sensible a la contaminación por aplicaciones foliares de cobre, hecho que puede hacerse extensivo a cualquier otro micronutriente que podría estar contenido bien en tratamientos fitosanitarios, bien en abonos foliares, como podría ocurrir con Mn o Zn (Figura 22).

### III.4.- CONCLUSIONES DEL CAPÍTULO

1. Aunque las correlaciones entre la concentración de nutrientes en los limbos y pecíolos eran altas, y sus tendencias estacionales fueron muy similares, el tejido fue la principal fuente de variación en la concentración de nutrientes minerales.
2. La composición mineral de limbos y pecíolos difiere claramente en la variedad Tempranillo, con mayores concentraciones de K, Mg, y Zn en pecíolos y de N, P, Ca, Mg, Fe, Mn, Cu y B en limbos.
3. Por lo general no se observaron diferencias entre la composición mineral de las hojas – limbos y pecíolos – opuestas al racimo basal y al distal, especialmente a medida que avanza el ciclo de cultivo. Ello permite sustituir el muestreo de la hoja opuesta al racimo basal por la opuesta al racimo distal cuando, a medida que avanza el ciclo, la senescencia o la incidencia de diferentes factores la descarten como representativa para llevar a cabo el diagnóstico nutricional.
4. La evolución nutricional de los nutrientes estudiados coincide con lo ya establecido para otras variedades, con descenso de concentración para N, P y K, e incremento para Ca y Mg a lo largo del ciclo de cultivo. En el caso de los micronutrientes, apenas han podido ponerse de manifiesto tendencias estacionales claras, debido a la gran variabilidad de los valores obtenidos.
5. Los cambios estacionales en la concentración de nutrientes a lo largo del ciclo, confirman que es necesario establecer niveles de referencia separados para cada tejido y estado fenológico.
6. La evolución nutricional indica que unas referencias dadas en floración tendrán, para todos los nutrientes estudiados, una vigencia muy corta en comparación a lo observado para el momento fenológico del envero.
7. Un muestreo llevado a cabo en cualquier momento del envero, sería comparable con unas referencias obtenidas para cualquier momento de dicho momento fenológico.

8. Aunque las referencias individuales tendrían una vigencia variable según el nutriente, para llevar a cabo un diagnóstico conjunto de todos ellos sería posible con unas referencias obtenidas para el momento fenológico de 100% de floración, las cuales se mantendrían vigentes únicamente hasta el cuajado de fruto pero no serían válidas para el diagnóstico de muestras recogidas antes del 50% de floración.
9. Los cambios nutricionales y la alta variabilidad intra-muestreo observada en algunos momentos del ciclo para los nutrientes estudiados, especialmente en pecíolo, hacen recomendable ajustar lo máximo posible los muestreos a la recomendación dada por la referencia.
10. Cuando se realiza un análisis foliar, la reproducibilidad intra-muestreo puede contribuir a mejorar la exactitud del diagnóstico. De acuerdo con este criterio:
  - El análisis de limbo sería preferible para el diagnóstico de N y K en floración y envero, así como para P y Mn en envero.
  - El análisis de pecíolo sería preferible para el diagnóstico nutricional del B tanto en floración como en envero.
  - Para Ca y Mg, así como para Fe, tanto limbo como pecíolo serían igualmente válidos para llevar a cabo un diagnóstico nutricional en floración y envero.
  - Para P y Mn, tanto limbo como pecíolo serían igualmente válidos para llevar a cabo un diagnóstico nutricional en floración.
  - El análisis de Zn en limbo parece preferible tanto en floración como en envero, pero este hecho no ha podido confirmarse en los dos años de estudio.
11. En general, parece preferible el análisis de limbo en envero como tejido y momento más adecuados para el diagnóstico rutinario del viñedo respecto a los nutrientes estudiados, al presentar la menor variabilidad intra-muestreo para la mayoría de dichos nutrientes.

**IV. Niveles foliares de referencia para la  
vid *cv.* Tempranillo en el ámbito de la  
DOCa Rioja**

---



## **IV.1.- ANTECEDENTES**

### **IV.1.1.- INTERPRETACIÓN DEL ANÁLISIS**

Se han propuesto y empleado diversos métodos de interpretación del análisis mineral de tejidos vegetales, algunos univariantes, como el método de Valores Críticos (Bouma, 1983; Marschner, 1995), el de Rango de Suficiencia (Marschner, 1995) o el método de Desviación del Óptimo Porcentual – DOP – (Montañés y col., 1993), y otros multivariantes como el Sistema Integrado de Diagnóstico y Recomendación – DRIS – (Beaufils, 1973).

Las interacciones entre nutrientes, tanto en el medio de cultivo como en la planta, en ocasiones llevan a la aparición de desequilibrios nutricionales que pueden obstaculizar tanto el crecimiento y desarrollo vegetativo como el rendimiento del cultivo (Kochian, 2000). La importancia de estas interacciones ha hecho que se desarrollen métodos de interpretación en los que las relaciones entre nutrientes sirven como base para la determinación del estado nutricional del cultivo y, mediante los cuales, visualizar qué nutrientes se encuentran en situación de desequilibrio (Cadahía, 2000). En este apartado se describirán algunos de ellos.

#### **IV.1.1.1.- VALOR CRÍTICO**

El valor crítico, o concentración crítica de un nutriente (Figura 23), se define como aquel por debajo del cual la producción resulta deprimida, normalmente en un 5% o un 10% (Bouma, 1983; Marschner, 1995). La determinación de este punto es compleja, puesto que requiere que la planta se encuentre en condiciones óptimas para el resto de nutrientes, lo que en la práctica solo resulta posible en condiciones de cultivo hidropónico. La cantidad de trabajo requerida, especialmente en especies leñosas, y la dificultad en la extrapolación de los resultados a condiciones distintas de aquellas en las que se obtuvieron los valores críticos, hace que su determinación no sea habitual (Barker y Pilbeam, 2007).

El diagnóstico mediante este sistema exige que la composición del tejido vegetal a diagnosticar sea comparada con un valor crítico obtenido en el mismo estado fenológico. Esto no siempre resulta posible, por lo que se han propuesto diversas alternativas. Entre ellas, se encuentra la determinación de los valores críticos correspondientes a cada uno de los estados fenológicos y el seguimiento de la acumulación de materia seca durante el ciclo, con el fin de corregir las concentraciones de nutrientes en función de la materia seca producida (Sumner, 1978). Otra de las formas de superar estas dificultades son los rangos de suficiencia, descritos en el siguiente apartado.

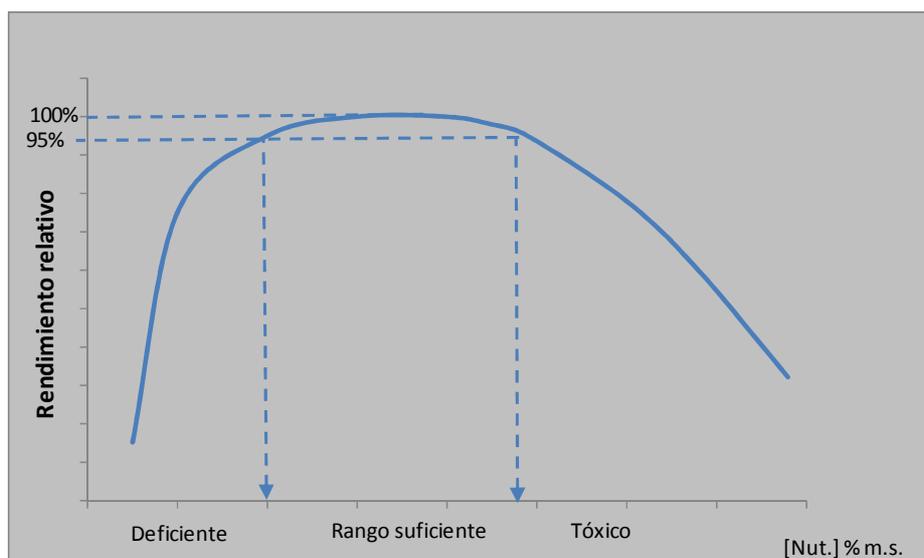


Figura 23.- Valores críticos y rangos de suficiencia (Modificado de Marschner, 1995).

#### IV.1.1.2.- RANGOS DE SUFICIENCIA

El método de rangos de suficiencia es aún hoy una de las metodologías más utilizadas para la determinación del estado nutricional del viñedo. Este método compara individualmente, para un determinado tejido y estado fenológico, la concentración de cada nutriente con respecto a su norma o referencia.

Los rangos de suficiencia para un nutriente son valores de concentración entre los cuales la planta vejeta y produce con normalidad. Cuando el valor crítico para un nutriente ha sido determinado, éste suele constituir el límite inferior del rango de suficiencia (Barker y Pilbeam, 2007), mientras que el límite superior se sitúa en un valor correspondiente a un valor inusualmente alto o incluso tóxico (Sumner, 1978). A pesar de que estos rangos de suficiencia se idearon para flexibilizar el diagnóstico, se les achaca una menor precisión porque sus límites son, con frecuencia, demasiado amplios (Sumner, 1978).

Estos rangos de suficiencia pueden obtenerse mediante estudios de encuesta nutricional, catalogando las concentraciones de nutrientes en al menos tres categorías, correspondiendo el intervalo central al rango de concentración de nutrientes que se obtendría a partir de una población de viñedos con un rendimiento adecuado.

#### IV.1.1.3.- DESVIACIÓN DEL ÓPTIMO PORCENTUAL (DOP)

El método de cálculo de la Desviación del Óptimo Porcentual (DOP) fue propuesto en 1991 por la Estación Experimental Aula Dei de Zaragoza, como un método sencillo de estimación del estado nutricional del melocotonero (*Prunus persica* L.), y por ende de otros cultivos (Montañés y col., 1993). De igual modo que el método de los rangos de suficiencia, el método DOP compara individualmente la concentración de cada nutriente con respecto a su referencia.

El índice DOP para cada nutriente se calcula aplicando la fórmula siguiente:

$$DOP = [(C - C_{ref}) \cdot C_{ref}^{-1}] \cdot 100$$

donde C es la concentración de un nutriente dado en un tejido vegetal y  $C_{ref}$  es la concentración de referencia, u óptima, para dicho nutriente en el mismo tejido. Asimismo, es recomendable que las referencias hayan sido obtenidas en unas condiciones lo más similares posible a las de la población cuyo diagnóstico nutricional se pretende abordar.

Tal y como se puede deducir de la fórmula mostrada, el índice DOP refleja la desviación porcentual respecto a la concentración de referencia. El índice DOP puede ser positivo o negativo, dependiendo del sentido de la diferencia respecto a la referencia. En general, los índices con altos valores negativos indicarían la necesidad de practicar un abonado. Una de las ventajas de este método es que, además de cuantificar la deficiencia o exceso de cada nutriente, permitiría obtener de forma rápida un “orden de limitación” de los nutrientes cuyo diagnóstico se pretende realizar (Montañés y col., 1993).

Asimismo, la metodología DOP permite calcular otro índice más global, representativo del estado nutricional general del cultivo. La suma de los valores absolutos de los índices individuales obtenidos para cada nutriente, ( $\sum |DOP_i|$ ), se considera un índice general que representa el equilibrio nutricional de la planta. Este sumatorio tendrá un valor cercano a cero cuando la muestra corresponda a un cultivo que se encuentre próximo a un adecuado estado nutricional.

Siendo un método más sencillo, la metodología DOP cuenta entre sus ventajas la de obtener similar información que la que se obtiene mediante la metodología DRIS. Además, al tratarse los índices DOP de una medida directa de la desviación frente al óptimo, es fácil cuantificar o extrapolar dichas desviaciones a necesidades fertilizantes, que permitan modificar el estado nutricional del cultivo (Montañés y col., 1993; Mongue y col., 1995). Otra de las ventajas que se atribuye al método DOP es la de evitar algunos de los problemas detectados en la metodología DRIS, como lo es la tendencia de

esta última metodología a sobrestimar las necesidades de los nutrientes que se encuentran en situación óptima cuando se constata la presencia de otros nutrientes en niveles excesivos.

Estas ventajas son las que hacen del método DOP el método de rutina elegido para muchos cultivos (Monge y col., 1995; Lucena, 1997; Sanz, 1999).

#### IV.1.1.4.- SISTEMA INTEGRADO DE DIAGNÓSTICO Y RECOMENDACIÓN (DRIS)

El método DRIS, siglas de Diagnosis and Recommendation Integrated System, fue propuesto por Beaufils (1973), y posteriormente adaptado y desarrollado por Sumner (1977, 1978). Beaufils (1973) y otros autores anteriores sugirieron que, debido a la interacción entre nutrientes y su influencia en la fisiología de la planta, las relaciones entre nutrientes serían mejores indicadores del estado nutricional que las concentraciones de los nutrientes consideradas individualmente. Aunque este método se propuso originalmente como modelo para identificar factores limitantes de productividad, se demostró más adecuado como método de interpretación del análisis de material vegetal que como modelo de productividad agrícola (Sumner, 1978).

Una de las ventajas que se le atribuye, frente a los criterios estáticos de diagnóstico, es su menor sensibilidad a la edad del tejido analizado (Sumner, 1977; Walworth y Sumner, 1987; Hallmark y Beverly, 1991; Mourao Filho, 2004). Sin embargo, numerosos estudios consideran adecuado establecer referencias DRIS para diferentes momentos del ciclo de cultivo (Hallmark y Beverly, 1991; Eymar y col., 2001; Mourao Filho, 2004; Martín y col., 2007). Schaller y col. (2002), trabajando con la variedad Riesling, obtuvieron índices DRIS que mostraban una dependencia clara respecto al estado fenológico.

Desde que se propuso la metodología DRIS, se han propuesto referencias para diferentes cultivos herbáceos y leñosos (Beverly, 1987; Walworth y Sumner, 1987), entre los que se cuenta la vid (Schaller, 2007). Como ya se ha comentado, la metodología DRIS utiliza las relaciones de elementos para llevar a cabo el diagnóstico y, como todo método de diagnóstico, compara las relaciones obtenidas en la muestra con respecto a unas referencias obtenidas en condiciones favorables o desfavorables de reproducir. Esta comparación se lleva a cabo calculando unos índices individuales para cada nutriente, que miden el grado de deficiencia o suficiencia relativa de un nutriente respecto a los demás y que permite, finalmente, obtener un orden de limitación de los nutrientes diagnosticados.

Sin embargo, en la metodología DRIS el cálculo de los índices individuales para cada nutriente no es tan sencillo como lo mostrado para la metodología DOP. El cálculo de los índices DRIS se realiza

utilizando todas aquellas relaciones de nutrientes que contienen cada nutriente. Para ello se utilizan las expresiones mostradas por Walworth y Sumner (1987) y que se recogen en este apartado.

El primer paso consistiría en calcular unas “Funciones”, particulares para cada relación de nutrientes, que miden de forma ponderada la desviación de cada relación de nutrientes respecto a su referencia (Walworth y Sumner, 1987; Hallmark y Beverly, 1991).

Cada función se calcula de la siguiente manera:

$$F(A/B) = 100 \cdot [(A/B/a/b) - 1] \cdot (10/CV\%) \quad \text{si } A/B > a/b$$

$$F(A/B) = 100 \cdot [1 - (a/b/A/B)] \cdot (10/CV\%) \quad \text{si } A/B < a/b$$

donde:

A/B es la relación de nutrientes en hoja de la muestra a evaluar.

a/b es el valor de referencia para dicha relación de nutrientes.

CV% es el coeficiente de variación de a/b (de la población de referencia) expresado como porcentaje.

100 se utiliza para deshacer la expresión del CV% como porcentaje.

10 es un factor utilizado para que las unidades de las funciones sean más manejables.

La razón por la que se condiciona el cálculo de las Funciones a que la muestra sea mayor o menor que la referencia, es para asegurar la concordancia del signo de la Función obtenida con el hecho de que los valores de la muestra sean inferiores o superiores a la referencia.

Asimismo, el cálculo incluye el CV% porcentual para dar mayor peso, en el cálculo de los índices DRIS, a aquellas relaciones que tengan menor CV%. Esto es debido a que se considera que un bajo CV% para una relación demuestra que dicha relación, en la población a partir de la que se calculó la referencia, está altamente relacionada, desde un punto de vista fisiológico, con el criterio o criterios utilizados para definir la población de referencia.

Una vez que se calculan las “Funciones” para cada relación de nutrientes, el índice DRIS para un elemento concreto se calcula mediante el promedio de todas las Funciones que contienen a dicho elemento (Walworth y Sumner, 1987; Hockman y col., 1989). En definitiva, es el promedio de las

desviaciones de las relaciones de nutrientes que contienen al elemento respecto a sus referencias, y se calcula según la fórmula siguiente:

$$I_x = [\sum(F_{x/z})_i - \sum(F_{z/x})_i] \cdot n^\circ \text{ de Funciones}^{-1}$$

Siendo x el elemento del que se quiere averiguar el índice DRIS.

Siendo z cualquier otro nutriente incluido en el diagnóstico.

Como se puede deducir de todo este proceso de cálculo, cada Función interviene en el cálculo de dos índices, y esa es la razón por la que en la fórmula las Funciones que tienen un elemento en el denominador se cambian de signo. Este procedimiento evita que una misma Función aparezca con el mismo signo en el cálculo de los índices de los dos nutrientes a los que representa la Función.

El valor del índice para cada elemento representa una medida de su suficiencia considerando su relación con los elementos restantes. Los índices representan numéricamente, en una escala continua, la influencia de cada nutriente en el equilibrio nutricional de la planta. Los valores negativos indicarían deficiencia del nutriente con relación a los demás, mientras los valores positivos indicarían exceso. Cuanto más próximos a cero estuviesen los índices, más próxima estará la planta a tener un nivel adecuado en dicho elemento (Walworth y Sumner, 1987; Hallmark y Beverly, 1991).

Asimismo, al igual que ocurría en la metodología DOP, existe otro índice general denominado “Índice de Producción”, también llamado “Índice de balance nutricional” (NBI), que se calcula mediante el sumatorio de todos los índices DRIS individuales en valor absoluto. El rendimiento del cultivo está relacionado inversamente con el sumatorio, por lo que este sumatorio se considera un Índice de la Producción y es representativo del balance global de todos los nutrientes implicados en la nutrición de la planta (Cadahía, 2000). Este índice también se interpreta valorando la cercanía al cero, ya que cuanto más cercano a cero se encuentre más equilibrada ha sido la nutrición.

$$\text{NBI o Índice de Producción} = \sum |I_x|$$

Sin embargo, la metodología DRIS presenta algunas desventajas que limitan su uso. La principal es la ausencia de referencias disponibles, que a menudo están limitadas en cuanto al número de nutrientes que se puede diagnosticar (Lucena, 1997). Además, el proceso de cálculo se complica cuando dicho número de nutrientes se eleva. Sin embargo, actualmente esta limitación se ve reducida en gran medida con la utilización de distintos programas informáticos que permiten realizar todos los cálculos de forma rápida.

Otra de las desventajas que se atribuye a la metodología DRIS es que sus índices únicamente dan un diagnóstico relativo con respecto a los demás elementos diagnosticados, en forma de orden de limitación (Walworth y Sumner, 1987; Hallmark y Beverly, 1991). Debido a esto, los índices no se pueden considerar una medida absoluta de la desviación del nutriente frente a una referencia única, dado que es un valor promedio de desviaciones ponderadas. Por tanto, los índices DRIS no son tan fácilmente extrapolables a necesidades nutricionales y, finalmente, necesidades fertilizantes.

Las referencias utilizadas en la metodología DRIS derivan de poblaciones favorables del mismo cultivo para el que se va a llevar a cabo el diagnóstico, habitualmente de poblaciones de rendimientos óptimos, que representarán condiciones ideales de crecimiento del cultivo. Distintos investigadores que han desarrollado normas DRIS sugieren que la población de referencia debe compilarse en amplias bases de datos (Jones y col., 1991; Lucena, 1997).

No es sencillo encontrar normas DRIS para el cultivo de vid. La bibliografía muestra normas DRIS para limbos en floración de viñedos de la variedad Riesling en la zona de Rheingau (Alemania), utilizando un criterio de alto rendimiento (rendimiento mayor de 88 hl·ha<sup>-1</sup>) (Schaller y col., 1995). Los mismos autores desarrollaron nuevas normas DRIS con un criterio mixto, eligiendo como población de referencia viñedos con un rendimiento “moderado” (menor de 88 hl·ha<sup>-1</sup>), e introduciendo la concentración de azúcar en mosto como criterio de calidad (grado de alcohol probable superior a 80° Oe) (Schaller y col., 2002). Se han desarrollado, asimismo, normas DRIS preliminares en India para la variedad Thompson Seedless, seleccionando como población de referencia aquella con rendimientos superiores a 22.000 kg·ha<sup>-1</sup> (Chelvan y col., 1984). De igual modo, en España también se han abordado trabajos comparativos de referencias DRIS en el cv. Tempranillo, obtenidas bajo diferentes criterios, ya sea de producción moderada - entre 4.000 y 8.500 kg·ha<sup>-1</sup> -, con un criterio mixto de producción y calidad del mosto - 4.000 y 8.500 kg·ha<sup>-1</sup> y grado probable entre 12 y 14 -, o con un criterio exclusivamente de calidad del mosto - grado probable entre 12 y 14, pH entre 3,0 y 3,6; acidez total superior a 3,8 g·L<sup>-1</sup> en ácido tartárico y contenido en potasio inferior a 1.700 mg·L<sup>-1</sup> - (Martín y col., 2007).

#### **IV.1.2.- ESTABLECIMIENTO DE VALORES O NORMAS DE REFERENCIA**

Cualquiera que sea el criterio empleado en la interpretación del análisis de tejidos, éste requiere una calibración previa (Marschner, 1995), de manera que se establezca experimentalmente que la composición química de los tejidos refleja bien las variaciones en la nutrición, que condicionan a su vez el normal desarrollo del cultivo y su producción (Levy, 1968). Por tanto, debe establecerse una

relación entre algún aspecto del comportamiento de la planta y la concentración de uno o más nutrientes en un tejido determinado (Champagnol, 1990 ; Robinson, 2005).

Numerosos autores han tratado de poner de manifiesto estas relaciones, que Champagnol (1990) define como:

- Relación entre estado nutricional y concentración de nutrientes en planta.
- Relación entre concentración de nutrientes en planta y rendimiento del viñedo.
- Relación entre concentración de nutrientes en planta y calidad de la vendimia.

#### IV.1.2.1.- ESTADO NUTRICIONAL Y CONTENIDO MINERAL EN PLANTA

Existen diversos métodos para obtener valores de referencia para interpretar el estado nutricional del cultivo. La relación entre el estado nutricional y la concentración de nutrientes en planta puede establecerse básicamente a través de dos métodos: ensayos de fertilización y encuestas nutricionales (Walworth y Sumner, 1987).

Los ensayos de fertilización dirigidos a la obtención de niveles de referencia han dado buenos resultados en plantas anuales. En vid, han permitido poner de manifiesto relaciones entre el contenido de nutrientes en suelo y en planta (Rodríguez-Lovelle y col., 1999; Tandonnet y col., 2008), o modificaciones en la concentración de nutrientes en planta, en función del aporte de fertilizantes (Poni y col., 2003). Sin embargo, su interpretación y extrapolación resulta de gran dificultad debido a la elevada diversidad de cultivares, portainjertos y estilos de vino producidos en un gran número de zonas vitícolas (Robinson, 2005).

Otro método ampliamente utilizado es la “Carta Nutricional”, el cual permite obtener referencias provisionales para la interpretación de los análisis foliares (Sumner, 1977; Lucena, 1997). Las encuestas nutricionales representan un método intermedio entre el simple diagnóstico analítico y la experimentación, ya que las muestras proceden de parcelas elegidas en función del protocolo de la encuesta, y los resultados dan lugar a una interpretación global (Loué, 1990).

Esta metodología representa el estudio completo de una zona vitícola, dividiéndola en subzonas homogéneas por condiciones agronómicas análogas y tomando como base la relación planta-suelo. Requiere de la recopilación de una gran base de datos a lo largo de un período de tiempo lo

suficientemente amplio, que permita acumular información de todas las fuentes de variación que caracterizan a una zona vitícola determinada. Esta metodología de obtención de referencias implica un procedimiento estadístico que distribuye la concentración de nutrientes en función de la distribución de la población de datos y de su variabilidad, para finalmente dar unos rangos dentro de los cuales calificar los análisis vegetales (Sumner, 1978).

Sin embargo, la metodología de Encuesta o “Carta Nutricional” tiene sus limitaciones. Es cierto que este método de encuesta permite trabajar a escala regional con un gran número de variables, así como superar la limitación de los ensayos de campo respecto a su representatividad, al recoger un mayor rango de fuentes de variación en una base de datos amplia. Sin embargo, esa misma riqueza hace que sea muy difícil controlar los factores que inciden en la concentración de nutrientes. Por tanto, se debe tener presente que la gran cantidad de fuentes de variación aumenta la variabilidad de los datos, por lo que los rangos de normalidad que se obtienen como referencias pueden ser, a menudo, demasiado anchos y ver reducida su exactitud (Sumner, 1978). Sin embargo, si las bases de datos son tratadas correctamente, se pueden establecer referencias fiables con gran economía de tiempo y dinero, frente a referencias establecidas enteramente mediante ensayos de campo (Failla y col., 1993; 1997).

Este fue el método elegido para establecer niveles de referencia nutricionales en viñedos de Israel (Samish y col., 1960), Australia (Robinson y col., 1978), varias zonas vitícolas de Italia (Fregoni, 1980; Failla y col., 1995; Ciesielska y col., 2002), así como en la zona vitícola brasileña de “Serra Gauchá” (Fraguas y col., 2003). También fue empleado por Etourneaud (1983) para determinar relaciones entre la concentración de potasio y magnesio peciolares y la concentración de potasio en suelo.

En cuanto al cv. Tempranillo, objeto de este estudio, se ha empleado el método de encuesta para el establecimiento de referencias nutricionales en varias Denominaciones de Origen: Cigales (González Andrés y Berberana, 2002), Utiel–Requena (Giner y col., 2004), así como para obtener referencias preliminares para la DOCa Rioja (García-Escudero y col., 2006).

#### **IV.1.2.2.- PRODUCCIÓN Y CONTENIDO MINERAL EN PLANTA**

Conocer el estado nutricional de cualquier cultivo se hace imprescindible desde el momento en que queda constatada la relación entre el contenido mineral y los objetivos de producción. Delas (1990), señalaba que la relación entre la producción de la vid y la composición de las hojas, base de la utilización del análisis foliar como herramienta para fijar criterios de abonado, no se encontraba claramente establecida, y que el análisis foliar no parecía una herramienta adecuada para predecir el

rendimiento de un cultivo leñoso, con tejidos de reserva que tamponan la respuesta al abonado. La nutrición de la vid a partir de sus reservas ha sido puesta de manifiesto por diversos investigadores, como Conradie (1980, 1981) o, más recientemente, Schreiner y Scagel (2006), los cuales observaron cómo plantas de vid cv. Pinot Noir, cultivadas en condiciones de secano, satisfacían hasta un 50% de las necesidades de N y P requeridas por su vegetación en desarrollo a partir de las reservas localizadas en tronco y raíces.

A pesar de las dificultades, diversos autores reconocen la validez del análisis de tejidos como herramienta para la mejora del rendimiento mediante una adecuada planificación del abonado (Delas, 1990; Barker y Pilbeam, 2007).

El nutriente que más frecuentemente se relaciona con la producción es el nitrógeno. Son diversos los ensayos en los que se ha observado un aumento de rendimiento en respuesta a la fertilización nitrogenada (Keller y col., 1998; Conradie, 2001; Bell y Henschke, 2005), al aumentar la tasa de cuajado (Keller y Hrazdina, 1998) o el tamaño de la baya. Sin embargo, los estudios que han pretendido correlacionar la concentración foliar en este nutriente con el rendimiento han obtenido resultados desiguales. Así, Holzapfel y Treeby (2007) no encontraron correlaciones significativas, mientras Fraguas y col. (2003) pusieron de manifiesto algunas correlaciones, si bien éstas no se mantuvieron para los distintos cultivares y campañas estudiadas. Sin embargo, Spayd y col. (1993) encontraron una correlación entre la concentración de  $N-NO_3^-$  en pecíolo y la producción, hasta alcanzar un punto en que la concentración continúa aumentando sin que se observe ya un incremento de rendimiento.

#### IV.1.2.3.- CALIDAD DE LA UVA Y CONCENTRACIÓN DE NUTRIENTES EN PLANTA

En el caso de la viticultura actual, resulta obvio, y así lo ponen de manifiesto diversos autores (Champagnol, 1990; Failla y col., 1997; Schaller y col., 2002; Robinson, 2005), que el máximo beneficio está profundamente ligado a la calidad de la vendimia y que los altos rendimientos son menos importantes que los parámetros de calidad. Parece lógico, por tanto, tratar de establecer los valores nutricionales de referencia de acuerdo con criterios de calidad de la vendimia. Sin embargo, este objetivo no resulta tarea fácil. Así, Champagnol (1990) ya señalaba que las relaciones entre nivel nutricional y calidad no se encontraban más que vagamente establecidas.

Aquellas líneas de trabajo dirigidas al estudio del efecto del nitrógeno en los parámetros de calidad, han obtenido resultados contradictorios y no muy concluyentes; un buen resumen de dichos resultados puede encontrarse en Bell y Henschke (2005). Otra de las líneas de trabajo se ha centrado en la

nutrición potásica y su relación con los parámetros de acidez de mostos y vinos. Mpelasoka y col. (2003), en su revisión sobre el papel del potasio en la vid, refieren cómo se han obtenido resultados desiguales al tratar de establecer correlaciones entre contenidos foliares de potasio y su concentración en el mosto. Sin embargo, otros autores sí que han conseguido poner de manifiesto estas relaciones (Hepner y Bravdo, 1985; Champagnol, 1990).

En los últimos años, se pueden encontrar trabajos de encuesta nutricional que, aprovechando las tecnologías informáticas actualmente disponibles, explotan amplias bases de datos. En este sentido, se han establecido Rangos de Suficiencia preliminares para el cv. Tempranillo en la DOCa Rioja en función de algunos criterios de calidad, como son el grado probable y los parámetros de acidez (García-Escudero y col., 2006). Asimismo, también se está estudiando la viabilidad de proponer referencias DRIS que incluyan, entre los criterios de selección de la población de referencia, algunos parámetros de calidad del mosto, como el grado probable (Schaller, 2007), el contenido en potasio y los parámetros de acidez (Martín y col., 2007).

La evaluación de otros parámetros de calidad del mosto, cuyo análisis resulta más complejo, queda aún reservada a ensayos llevados a cabo en parcelas experimentales, con la dificultad que ello implica para su extrapolación a otras condiciones. A modo de ejemplo, y en variedades tintas, pueden citarse los estudios sobre el efecto de la fertilización nitrogenada (Treeby y col., 2000; Hilbert y col., 2003) o potásica (Delgado y col., 2004) sobre la acumulación de azúcares en la baya y el contenido en polifenoles del hollejo, con especial incidencia en la materia colorante. En el caso de variedades blancas, se ha observado el efecto de la fertilización nitrogenada sobre el contenido en nitrógeno fácilmente asimilable (NFA) del mosto (Jireji y col., 2007) y su potencial aromático (Choné y col., 2006; Liesenmeier y col., 2006).

Así las cosas, en la actualidad se utilizan diversos métodos de interpretación de los análisis de tejidos vegetales, principalmente material foliar, con el objetivo de realizar un diagnóstico nutricional que permita tomar decisiones agronómicas en el ámbito de la fertilización, y así garantizar una producción adecuada, tanto en términos cuantitativos como en términos cualitativos.

Por esta razón, el presente estudio llevó a cabo un trabajo de encuesta nutricional en el ámbito de la DOCa Rioja, con el objetivo principal de recopilar toda la información necesaria para obtener referencias para el diagnóstico nutricional de *Vitis vinifera* L. cv. Tempranillo, y su aplicación a los análisis de limbo y pecíolo, en los momentos fenológicos de floración y envero, según los siguientes métodos de diagnóstico:

- Método univariante: Rangos de Suficiencia.
- Método mixto: Desviación del Óptimo Porcentual (DOP).
- Método multivariante: Sistema Integrado de Diagnóstico y Recomendación (DRIS).

## **IV.2.- MATERIALES Y MÉTODOS**

### **IV.2.1.- POBLACIÓN MUESTRAL**

Una gran parte de los viñedos utilizados en este estudio se corresponden con un trabajo de encuesta nutricional que se llevó a cabo entre los años 2000 y 2002, siguiendo el método de carta nutricional propuesto por Fregoni (1980). El resto de parcelas provienen de la continuación de este proyecto inicial (INIA-SC00-016), mediante financiación del Gobierno de La Rioja (proyectos PR-01-03, PR-01-04, y PR-03-05, entre otros), con un número más reducido de parcelas. Asimismo, en la base de datos se incluyeron datos correspondientes a parcelas experimentales que cumplieran los requisitos considerados para entrar en la base de datos, correspondientes al período 2000 – 2010. En total, 166 viñedos fueron monitorizados en algún momento de dicho período.

La red de viñedos fue seleccionada por el personal investigador del Servicio de Investigación y Desarrollo Tecnológico Agroalimentario del Gobierno de La Rioja, con la colaboración de una amplia red de viticultores, personal técnico y bodegas. En la selección de las parcelas, se procuró que los viñedos elegidos respondieran al perfil medio de cultivo de la vid en el ámbito de la DOCa Rioja.

Como ya se ha indicado, el método de Carta Nutricional se basa en el estudio de las diversas condiciones edafo-climáticas de una zona vitícola. Para ello, se subdividió la DOCa Rioja en 5 subzonas: Rioja Alta, Rioja Media, Rioja Baja, Rioja Alavesa y la comarca del Najerilla. Las parcelas se georreferenciaron a partir de los datos catastrales de polígono y parcela (Figura 24). Para cada una de estas parcelas, se recopilaron los datos recogidos en la Encuesta inicial (Anexo II).

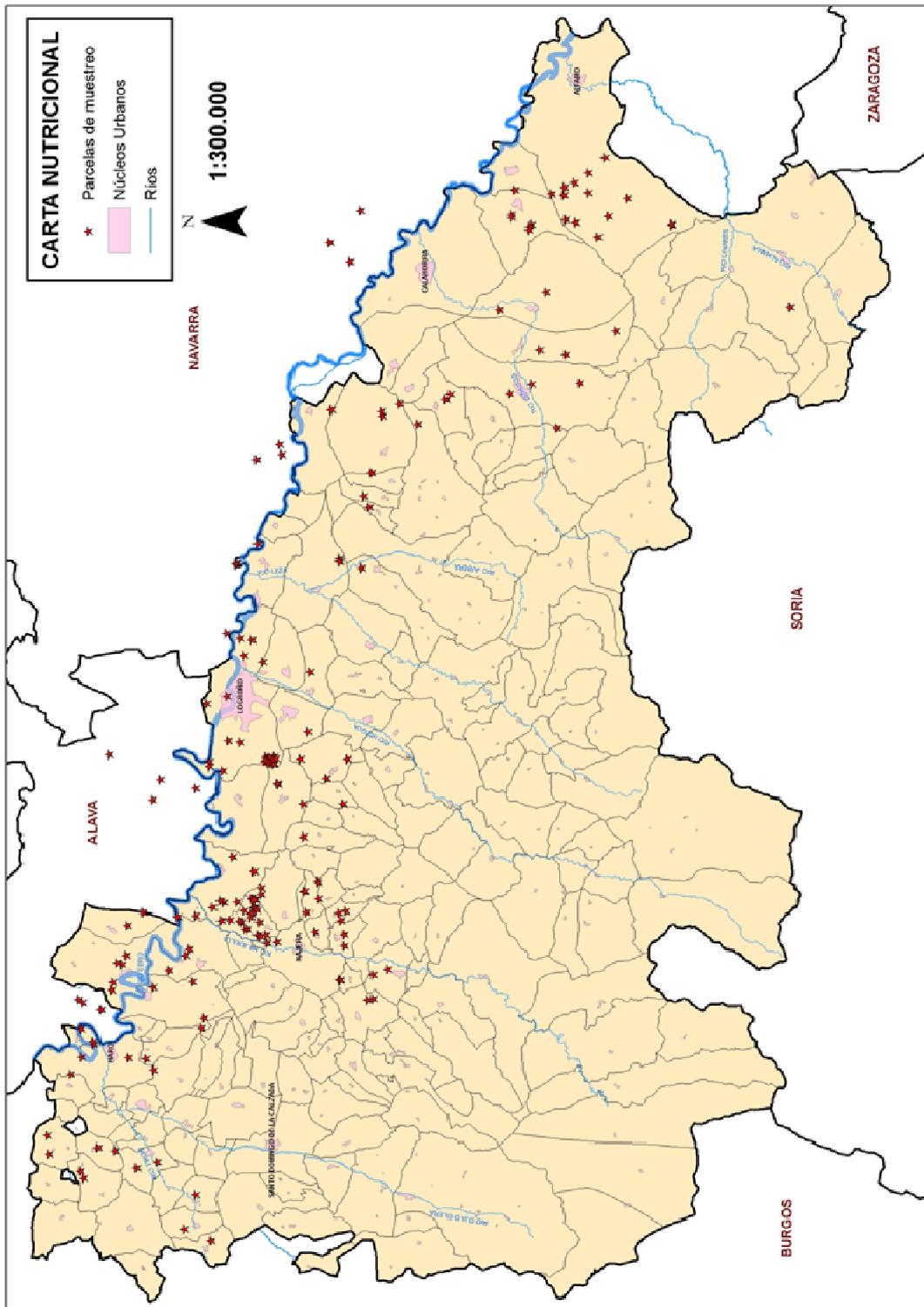


Figura 24.- Localización de las parcelas incluidas en la Carta Nutricional de la DOCa Rioja.

#### **IV.2.1.1.- CARACTERÍSTICAS DE CULTIVO DE LOS VIÑEDOS**

El estudio se centra en la variedad Tempranillo (*Vitis vinifera* L.) injertada sobre Richter 110. La densidad de plantación se situó entre 2.222 y 4.310 cepas·ha<sup>-1</sup>. Los viñedos se cultivaron de acuerdo con las prácticas habituales de la viticultura de la región y los sistemas de conducción fueron los más habitualmente empleados en la DOCa Rioja: vaso, cordón Royat y Guyot. La mayor parte de los viñedos se cultivaban en un régimen hídrico de secano, teniendo el resto disponibilidad de agua para riego en momentos puntuales del ciclo.

#### **IV.2.1.2.- SUELO**

La textura de suelo, en la base datos recopilada, varía de limosa a arcillo-limosa. Las propiedades físico-químicas de los suelos incluidos respondían al siguiente perfil: porcentaje de materia orgánica menor del 2%, pH entre 6,8 y 8,5, carbonatos totales entre 0,0 y 54,7%, Caliza activa (CaCO<sub>3</sub>) entre 0 y 14,6%, conductividad eléctrica < 2,2 mS·cm<sup>-1</sup>, y C.I.C. entre 36 y 177 mmol<sub>c</sub>·kg<sup>-1</sup>. Los métodos de análisis utilizados se describen en el Anexo I.

#### **IV.2.1.3.- UNIDAD DE MUESTREO**

En cada viñedo, se seleccionó una unidad de muestreo de 500 cepas aproximadamente, en las que se tomaron muestras de limbo y pecíolo en floración-cuajado y envero. Se tomaron hojas adultas en plantas de vigor medio, representativas de la parcela, de pámpanos fructíferos, en posición opuesta al racimo más próximo a la base en floración y opuesta al segundo racimo (habitualmente racimo distal) en envero (Romero y col., 2010).

#### **IV.2.2.- PROCESADO DE LAS MUESTRAS**

En el laboratorio se separaron limbos y pecíolos, que fueron lavados con agua corriente y seguidamente con agua destilada.

Tras un presecado con centrífuga manual las muestras, colocadas en bandejas de papel secante de un solo uso, se secaron en estufa de aire forzado (J.P. Selecta DRYBIG) a 70°C, durante 48 h. Posteriormente, las muestras fueron picadas, molidas con molino ultracentrífugo (Retsch ZM1) y tamizadas por tamiz de 0,5 mm.

### **IV.2.3.- ANÁLISIS MINERAL**

Los análisis minerales de limbo y pecíolo fueron realizados por el Laboratorio Regional de La Grajera. Se determinó la concentración de nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio, hierro, manganeso, zinc, cobre y boro.

A partir de la muestra seca y molida, se tomaron dos alícuotas de 0,2 g que fueron objeto de dos digestiones diferentes. La concentración de nitrógeno (N orgánico + N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) se determinó por el método Kjeldahl (Jones y col., 1991). Tras digestión a 370°C con ácido sulfúrico [H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 95%] y 0,2 g de mezcla catalizadora (71% K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + 27% CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O + 2% Se), se destiló el N-NH<sub>3</sub> para ser recogido en una solución de H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> (2%) y valorado con HCl (0,025M).

El resto de nutrientes se determinaron por ICP-AES (Optima 3000DV; Perkin Elmer) tras digestión vía húmeda con ácido sulfúrico [H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 95%] y agua oxigenada [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30%] (Hoenig y col., 1998). Los resultados se expresaron en g·100g<sup>-1</sup> y mg·kg<sup>-1</sup> de materia seca para macronutrientes y micronutrientes, respectivamente. Se empleó agua desionizada (Milli-Q Millipore 18,2 MΩ·cm<sup>-1</sup>) en todas las diluciones.

### **IV.2.4.- PROCEDIMIENTO ESTADÍSTICO**

#### **IV.2.4.1.- SELECCIÓN DE DATOS UTILIZADOS PARA DETERMINACIÓN DE NIVELES DE REFERENCIA**

Como se ha recogido en apartados anteriores, la metodología de Encuesta o Carta Nutricional debe asumir numerosas fuentes de variación al recopilar datos de un gran número de viñedos. Sin embargo, se puede limitar dicha variabilidad en los datos limitando las fuentes de variación según los objetivos buscados.

De este modo, la base de datos se acotó para limitar la variabilidad atribuible a la variedad, el portainjerto, el régimen hídrico, el estado sanitario, las alteraciones climáticas y a la juventud del viñedo. Así, se eliminaron los datos de viñedos menores de 6 años en el momento de muestreo, al considerarse que podrían no presentar características de un viñedo en plena producción, así como aquellos para los que en la encuesta anual (Anexo II) se había constatado la concurrencia de alteraciones en la floración-cuajado, problemas fitosanitarios o accidentes climáticos. Finalmente, como paso previo al cálculo de los distintos índices de referencia, las poblaciones de datos fueron estudiadas para detectar valores anómalos.

Sin embargo, dado que el objetivo es obtener referencias que puedan ser utilizadas en el diagnóstico de la mayoría de los viñedos de ‘Tempranillo’ amparados por la DOCa Rioja, la variabilidad debida a factores como sistema de conducción, prácticas culturales, manejo del suelo o marco de plantación ha sido asumida. Debido a ello, los criterios para crear la base de datos inicial, a partir de la cual calcular las referencias para la variedad Tempranillo, fueron los siguientes (García-Escudero y col., 2002a):

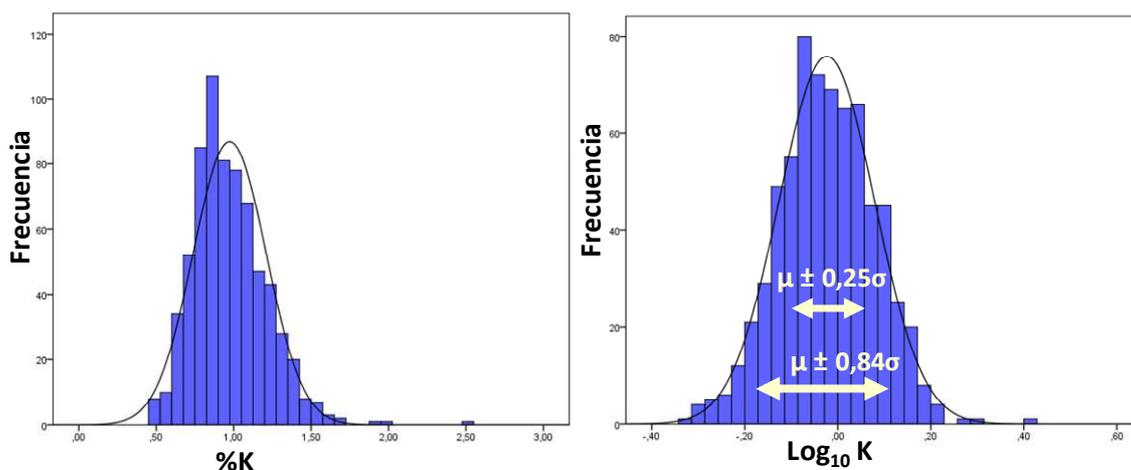
- Variedad: Tempranillo.
- Portainjerto: 110-R.
- Edad del viñedo en el momento del estudio: > 5 años.
- Sistema de conducción: vaso, cordón Royat y Guyot.
- Densidad de plantación: 2.200 – 4.310 cepas·ha<sup>-1</sup>.
- Régimen hídrico: seco.
- Abonado: en superficie, cuando se practica.
- Manejo del suelo: Mayoritariamente laboreo de la calle y, ocasionalmente, cubiertas vegetales.
- Viñedo uniforme, sin problemas generalizados, de rendimiento medio, representativo de la explotación colaboradora y amparado por la DOCa Rioja.
- En general, la mayoría de los viñedos incluidos en la base de datos alcanzaron producciones aceptables, mayores de 3.000 kg·ha<sup>-1</sup>, con parámetros de calidad de la uva situados dentro de valores habituales para la DOCa Rioja.

#### IV.2.4.2.- CÁLCULO DE NORMAS DE REFERENCIA

##### RANGOS DE SUFICIENCIA

Para cada nutriente, se verificó la distribución normal de los datos mediante el test no paramétrico de Kolmogorov-Smirnov. En el caso de distribuciones no normales, se realizaron transformaciones matemáticas a log<sub>10</sub> para conseguir distribuciones normales, antes de realizar el estudio de distribución.

A modo de ejemplo, se presentan los histogramas para la concentración de K en limbo durante el envero antes y después de ser transformados (Figura 25).



**Figura 25.-** Histogramas para K en limbo en floración antes y después de ser transformados.

Se decidió dividir la población de datos en cinco clases, considerando el 20% y el 60% centrales para definir el rango óptimo y los rangos normales, por encima y debajo del óptimo, para cada nutriente en limbo y pecíolo en los estados fenológicos de floración y invierno (modificado de Stringari y col., 1997; García-Escudero y col., 2013).

El rango de valores que caracteriza a un determinado porcentaje de la población se delimita mediante:  $\mu \pm k \cdot \sigma$ , donde  $k$  se calcula para cada porcentaje en distribuciones normales de media 0 y varianza 1.

Para el caso de nutrientes cuya distribución, transformada o no, se ajustaba a la normalidad, el 20% y 60% centrales se determinaron a partir de la media y la desviación estándar de la población, considerando los siguientes valores:

- Población óptima: aquella comprendida entre  $\mu \pm 0,25\sigma$
- Población normal: aquella comprendida entre  $\mu \pm 0,84\sigma$

Finalmente, en los casos en que la distribución normal no pudo garantizarse, se recurrió al cálculo de percentiles para delimitar los porcentajes de población que definan los rangos que caractericen la población de dicho nutriente.

En el cálculo de Rangos de Referencia, ni el rendimiento ni la calidad de la vendimia fueron considerados como factores discriminantes para incluir o excluir un viñedo de la población muestral, ya que al tratarse la metodología de un estudio de distribución poblacional, deberían estar representados en la población.

### **DESVIACIÓN DEL ÓPTIMO PORCENTUAL (DOP)**

Como ya se ha comentado, el índice DOP se define como la desviación porcentual de la concentración de un nutriente con respecto a la concentración óptima y se calcula aplicando la siguiente fórmula general:

$$\text{DOP} = [(C - C_{\text{ref}}) \cdot C_{\text{ref}}^{-1}] \cdot 100$$

donde C es la concentración de un nutriente y  $C_{\text{ref}}$  es la concentración óptima, o de referencia.

Por tanto, la referencia será una concentración aceptada como óptima para el tejido particular analizado, en una etapa fenológica específica (Montañés y col., 1993; Lucena, 1997).

Para obtener dicha referencia, mediante la metodología que estamos utilizando de Encuesta o Carta nutricional,  $C_{\text{ref}}$  se equipara al valor medio de la población seleccionada, cuando la población de datos se distribuye en forma de distribución normal. Por tanto, para cada nutriente se utilizó el mismo estudio estadístico llevado a cabo para obtener los Rangos de Suficiencia, en el que se verificó la distribución normal de los datos mediante el test no paramétrico de Kolmogorov-Smirnov.

En los casos de distribuciones no normales, en los que se realizaron transformaciones matemáticas efectivas a  $\log_{10}$  para conseguir distribuciones normales, se consideró  $C_{\text{ref}}$  el resultado de aplicar el antilogaritmo al valor medio de la distribución  $\text{Log}_{10}$ .

Finalmente, en los casos de nutrientes cuya normalidad no pudo garantizarse, se recurrió al cálculo del percentil  $P_{50}$  para determinar el valor de referencia  $C_{\text{ref}}$  de dicho nutriente.

### **SISTEMA INTEGRADO DE DIAGNÓSTICO Y RECOMENDACIÓN (DRIS)**

Las referencias utilizadas en la metodología DRIS derivan, como en toda referencia, de poblaciones favorables del mismo cultivo compiladas en amplias bases de datos (Jones y col., 1991; Lucena, 1997).

El procedimiento para obtener referencias para la metodología DRIS requiere, una vez que se tiene una base de datos suficientemente amplia, que se adopte un criterio objetivo que divida la población total de datos en dos sub-poblaciones, una sub-población de referencia (habitualmente el criterio elegido ha sido el de cumplir con un valor deseable de alta producción) y otra sub-población que no cumple la condición de la población de referencia. Comparando ambas sub-poblaciones se podrá seleccionar las relaciones de nutrientes más adecuadas para el cálculo de índices DRIS (Walworth y Sumner, 1987; Eymar y col., 2001).

Se debe tener presente que existen tres posibles relaciones para cada par de nutrientes: A/B, B/A y A·B (Walworth y Sumner, 1987; Eymar y col., 2001). La elección de la relación más adecuada sigue el criterio de comparar las varianzas de las tres relaciones para las sub-poblaciones de Referencia ( $S_M$ ) y de No referencia ( $S_N$ ), de modo que la relación de nutrientes que presente una relación  $S_N/S_M$  más elevada será la más adecuada para el cálculo de funciones e índices DRIS (Walworth y Sumner, 1987).

Al maximizar dicha relación, este criterio valora la baja varianza en la sub-población de referencia con una alta varianza en la que no cumple con la condición impuesta, lo que significa que dicha relación de nutrientes es la que diferencia en mayor medida entre ambas sub-poblaciones.

Por tanto, la misma base de datos empleada para el cálculo de los rangos de suficiencia y los estándares para el método de Desviación del Óptimo Porcentual, se dividió en dos sub-poblaciones:

- Población de calidad o de rendimiento moderado: aquellos viñedos con rendimientos comprendidos entre 3.800 y 10.000 kg·ha<sup>-1</sup>. En adelante nos referiremos a ella como  $P_M$ .
- Resto de la población, que no cumple el criterio de rendimiento seleccionado. En adelante nos referiremos a ella como  $P_N$ .

El límite inferior del criterio de selección fue elegido al considerarse que rendimientos inferiores no son normales para viñedos de las características acotadas en este estudio. Finalmente, las normas DRIS se calcularon siguiendo las expresiones y consideraciones descritas en Walworth y Sumner (1987) y Hallmark y Beverly (1991).

Se utilizó el test no paramétrico Kolmogorov-Smirnov como prueba de normalidad y el test de Levene para la prueba de igualdad de varianzas, como paso previo al estudio comparativo de igualdad de medias entre sub-poblaciones de rendimiento moderado  $P_M$  y el resto de la población  $P_N$ .

La comparación entre las dos sub-poblaciones de concentraciones de un nutriente dado,  $P_M$  y  $P_N$ , en un tejido y estado fenológico determinado, se llevó a cabo utilizando la prueba paramétrica t-Student en el caso de distribuciones normales con igualdad de varianzas, o mediante la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney en el resto de los casos.

Finalmente, la significación de las ecuaciones de regresión entre índices DRIS e índices DOP, así como entre el Índice de Balance Nutricional y su equivalente en el método DOP ( $\sum |DOP_i|$ ), se determinó mediante el modelo de probabilidad t-Student a  $p \leq 0,05$ .

El procedimiento estadístico utilizado para el cálculo de las referencias de las distintas metodologías, incluyendo estudios de normalidad, igualdad de varianzas, diferencias entre sub-poblaciones, cálculo de regresiones y su significación, se ha llevado a cabo con el programa SPSS 15.0. (SPSS Inc.).

### **IV.3.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### **IV.3.1.- RANGOS DE SUFICIENCIA**

##### **IV.3.1.1.- OBTENCIÓN DE LAS REFERENCIAS**

Como se ha señalado, el método de Rangos de Suficiencia asigna el estado nutricional de cada muestra en función de su inclusión dentro de unos rangos de concentración que representan los distintos estados nutricionales. Como ya se ha comentado anteriormente, dichos rangos se obtienen de estudiar estadísticamente la población de la base de datos de análisis.

Así, para el caso de nutrientes cuya distribución se ajustaba a la normalidad, el 20% y 60% centrales se determinaron a partir de la media y la desviación estándar de la población, considerando los siguientes valores:

- Población normal u óptima: aquella comprendida entre  $\mu \pm 0,25\sigma$  (20% central de la población).
- Población inferior o superior a la óptima: aquella comprendida entre  $\mu \pm 0,84\sigma$  (60% central de la población).
- Población alta o baja: aquella situada más allá de  $\mu \pm 0,84\sigma$ .

El estudio estadístico observó una distribución normal únicamente para los datos de N en limbo en la floración, Ca en limbo en el envero, y P en pecíolos en floración. Los nutrientes que no demostraron una distribución normal fueron objeto de transformación logarítmica, y los valores medios e intervalos se calcularon a partir de la variable transformada. La transformación logarítmica condujo a una distribución normal de la población de datos en los casos de: K y Ca en limbos floración, N en limbos en envero, del Ca y Mg en el pecíolo en floración, y del Mg en el pecíolo en envero. Finalmente, para el resto de casos, el 20% y 60% centrales de la población se determinaron mediante los percentiles  $P_{20}$ ,  $P_{40}$ ,  $P_{60}$ ,  $P_{80}$ .

Las Tablas 21, 22, 23 y 24 muestran los rangos de suficiencia para limbo y pecíolo, en floración y envero, para el diagnóstico nutricional de la vid cv. Tempranillo sobre R-110.

**Tabla 21.-** Rangos de suficiencia para *Vitis vinifera* L. cv. Tempranillo. Limbos en floración.

Nutriente	Bajo	Inferior al óptimo	Óptimo	Superior al óptimo	Alto
N (g·100g <sup>-1</sup> m.s.)	< 2,96	2,96 – 3,13	3,13 – 3,28	3,28 – 3,46	> 3,46
P (g·100g <sup>-1</sup> m.s.)	< 0,243	0,243 – 0,275	0,275 – 0,309	0,309 – 0,361	> 0,361
K (g·100g <sup>-1</sup> m.s.)	< 0,779	0,779 – 0,893	0,893 – 1,00	1,00 – 1,15	> 1,15
Ca (g·100g <sup>-1</sup> m.s.)	< 1,90	1,90 – 2,10	2,10 – 2,29	2,29 – 2,53	> 2,53
Mg (g·100g <sup>-1</sup> m.s.)	< 0,281	0,281 – 0,316	0,316 – 0,357	0,357 – 0,415	> 0,415
Fe (mg·kg <sup>-1</sup> m.s.)	< 87	87 – 105	105 – 131	131 – 180	> 180
Mn (mg·kg <sup>-1</sup> m.s.)	< 54	54 – 68	68 – 87	87 – 111	> 111
Zn (mg·kg <sup>-1</sup> m.s.)	< 15	15 – 18	18 – 20	20 – 25	> 25
<sup>b</sup> Cu (mg·kg <sup>-1</sup> m.s.)	< 9,0	9,0 – 12	12 – 17	17 – 82	> 82
B (mg·kg <sup>-1</sup> m.s.)	< 48	48 – 58	58 – 67	67 – 80	> 80

<sup>a</sup> Normal u Óptimo:  $\mu \pm 0,25\sigma$ ; Bajo:  $< \mu - 0,84\sigma$ ; Alto:  $> \mu + 0,84\sigma$ .

<sup>b</sup> No se puede determinar un rango de concentración fiable debido a la contaminación con fungicidas de base cúprica.

**Tabla 22.-** Rangos de suficiencia para *Vitis vinifera* L. cv. Tempranillo. Limbos en enero.

Nutriente	Bajo	Inferior al óptimo	Óptimo	Superior al óptimo	Alto
N (g·100g <sup>-1</sup> m.s.)	< 2,08	2,08 – 2,19	2,19 – 2,29	2,29 – 2,42	> 2,42
P (g·100g <sup>-1</sup> m.s.)	< 0,134	0,134 – 0,148	0,148 – 0,163	0,163 – 0,183	> 0,183
K (g·100g <sup>-1</sup> m.s.)	< 0,630	0,630 – 0,767	0,767 – 0,907	0,907 – 1,13	> 1,13
Ca (g·100g <sup>-1</sup> m.s.)	< 2,82	2,82 – 3,10	3,10 – 3,34	3,34 – 3,62	> 3,62
Mg (g·100g <sup>-1</sup> m.s.)	< 0,315	0,315 – 0,384	0,384 – 0,455	0,455 – 0,558	> 0,558
Fe (mg·kg <sup>-1</sup> m.s.)	< 99	99 – 134	134 – 164	164 – 205	> 205
Mn (mg·kg <sup>-1</sup> m.s.)	< 77	77 – 99	99 – 124	124 – 156	> 156
Zn (mg·kg <sup>-1</sup> m.s.)	< 14	14 – 16	16 – 19	19 – 23	> 23
<sup>b</sup> Cu (mg·kg <sup>-1</sup> m.s.)	< 59	59 – 117	117 – 221	221 – 350	> 350
B (mg·kg <sup>-1</sup> m.s.)	< 30	30 – 34	34 – 40	40 – 48	> 48

<sup>a</sup> Normal u Óptimo:  $\mu \pm 0,25\sigma$ ; Bajo:  $< \mu - 0,84\sigma$ ; Alto:  $> \mu + 0,84\sigma$ .

<sup>b</sup> No se puede determinar un rango de concentración fiable debido a la contaminación con fungicidas de base cúprica.

**Tabla 23.-** Rangos de suficiencia para *Vitis vinifera* L. cv. Tempranillo. Pecíolos en floración.

Nutriente	Bajo	Inferior al óptimo	Óptimo	Superior al óptimo	Alto
N (g·100g <sup>-1</sup> m.s.)	< 0,763	0,763 – 0,942	0,942 – 1,10	1,10 – 1,27	> 1,27
P (g·100g <sup>-1</sup> m.s.)	< 0,245	0,245 – 0,296	0,296 – 0,340	0,340 – 0,391	> 0,391
K (g·100g <sup>-1</sup> m.s.)	< 0,967	0,967 – 1,32	1,32 – 1,75	1,75 – 2,36	> 2,36
Ca (g·100g <sup>-1</sup> m.s.)	< 1,28	1,28 – 1,42	1,42 – 1,55	1,55 – 1,72	> 1,72
Mg (g·100g <sup>-1</sup> m.s.)	< 0,473	0,473 – 0,565	0,565 – 0,656	0,656 – 0,783	> 0,783
Fe (mg·kg <sup>-1</sup> m.s.)	< 18	18 – 22	22 – 25	25 – 31	> 31
Mn (mg·kg <sup>-1</sup> m.s.)	< 17	17 – 23	23 – 29	29 – 38	> 38
Zn (mg·kg <sup>-1</sup> m.s.)	< 10	10 – 14	14 – 17	17 – 23	> 23
<sup>b</sup> Cu (mg·kg <sup>-1</sup> m.s.)	< 6,7	6,7 – 8,3	8,3 – 10	10 – 15	> 15
B (mg·kg <sup>-1</sup> m.s.)	< 36	36 – 40	40 – 42	42 – 46	> 46

<sup>a</sup> Normal u Óptimo:  $\mu \pm 0,25\sigma$ ; Bajo:  $< \mu - 0,84\sigma$ ; Alto:  $> \mu + 0,84\sigma$ .

<sup>b</sup> No se puede determinar un rango de concentración fiable debido a la contaminación con fungicidas de base cúprica.

**Tabla 24.-** Rangos de suficiencia para *Vitis vinifera* L. cv. Tempranillo. Pecíolos en enero.

Nutriente	Bajo	Inferior al óptimo	Óptimo	Superior al óptimo	Alto
N (g·100g <sup>-1</sup> m.s.)	< 0,431	0,431 – 0,472	0,472 – 0,512	0,512 – 0,563	> 0,563
P (g·100g <sup>-1</sup> m.s.)	< 0,067	0,067 – 0,096	0,096 – 0,132	0,132 – 0,182	> 0,182
K (g·100g <sup>-1</sup> m.s.)	< 0,707	0,707 – 1,14	1,14 – 1,68	1,68 – 2,36	> 2,36
Ca (g·100g <sup>-1</sup> m.s.)	< 1,66	1,66 – 1,86	1,86 – 2,09	2,09 – 2,36	> 2,36
Mg (g·100g <sup>-1</sup> m.s.)	< 0,611	0,611 – 0,778	0,778 – 0,953	0,953 – 1,21	> 1,21
Fe (mg·kg <sup>-1</sup> m.s.)	< 19	19 – 23	23 – 27	27 – 33	> 33
Mn (mg·kg <sup>-1</sup> m.s.)	< 24	24 – 44	44 – 74	74 – 140	> 140
Zn (mg·kg <sup>-1</sup> m.s.)	< 15	15 – 19	19 – 24	24 – 30	> 30
<sup>b</sup> Cu (mg·kg <sup>-1</sup> m.s.)	< 8,9	8,9 – 16	16 – 26	26 – 46	> 46
B (mg·kg <sup>-1</sup> m.s.)	< 32	32 – 35	35 – 38	38 – 44	> 44

<sup>a</sup>Normal u Óptimo:  $\mu \pm 0,25\sigma$ ; Bajo:  $< \mu - 0,84\sigma$ ; Alto:  $> \mu + 0,84\sigma$ .

<sup>b</sup>No se puede determinar un rango de concentración fiable debido a la contaminación con funguicidas de base cúprica.

#### IV.3.1.2.- DISCUSIÓN

Las referencias para la metodología de Rangos de Suficiencia obtenidas para la variedad Tempranillo en la DOCa Rioja, injertado sobre 110-R, se dividieron proporcionalmente desde la posición poblacional central en cinco subgrupos que clasifican la concentración de nutrientes como baja, inferior a la óptima, normal u óptima, superior a la óptima, o alta (Tablas 21 a 24). Por lo tanto, este método no cuantifica estrictamente las diferencias o la desviación con respecto a un valor óptimo.

En general, las normas de ‘Tempranillo’ mostraron rangos más estrechos que las referencias internacionales consultadas, para ambos tejidos y estados fenológicos (Loué, 1990; Failla y col., 1993; Ciesielska y col., 2002; Fraguas y col., 2003; Robinson, 2005).

Los limbos en floración mostraron valores menores de N, K, Zn y B con respecto a las referencias de Australia (Robinson, 2005). Las variedades Barberá y Nebbiolo mostraron referencias con menores niveles de N y P, así como mayores valores de Mn y B (Ciesielska y col., 2002). Además, los límites superiores para micronutrientes fueron de 5 a 10 veces menores que las referencias italianas mostradas por Failla y col. (1993).

Las referencias para limbo en el enero obtenidas para ‘Tempranillo’ mostraron menor concentración de P, K y Zn, así como mayor de N y de valores iniciales de Mn que las referencias obtenidas para Australia (Robinson, 2005). Por otro lado, las referencias publicadas para la zona de Burdeos (Loué, 1990) mostraron menores concentraciones de P, Ca y Mg, y superiores de N y K que los rangos de suficiencia obtenidos para ‘Tempranillo’ en la DOCa Rioja. Con respecto a los micronutrientes, los

límites superiores también alcanzaron grandes diferencias con respecto a los límites superiores propuestos para ‘Tempranillo’ (Failla y col., 1993).

Con respecto a las referencias de pecíolo en floración, las referencias propuestas para ‘Cabernet Sauvignon’ mostraron mayores valores que los propuestos para ‘Tempranillo’, y especialmente elevados con respecto a los límites máximos para los micronutrientes (Fraguas y col., 2003). Las referencias australianas manifestaron un comportamiento similar (Robinson, 2005), si bien sus límites superiores de micronutrientes no son tan altos como los de las normas obtenidas para ‘Cabernet Sauvignon’ (Fraguas y col., 2003). Las referencias nutricionales de la zona vitícola de Burdeos (Loué, 1990), mostraron valores inferiores de P y superiores de Mg con respecto a las normas para la DOCa Rioja.

Por otra parte, el pecíolo en envero mostró un comportamiento similar. En general, para ‘Tempranillo’ los rangos fueron más estrechos que las referencias propuestas para la zona vitícola de Burdeos, así como para la variedad Cabernet Sauvignon (Loué, 1990; Fraguas y col., 2003). Debido a esto, el rango de concentración de Mg propuesto como referencia para ‘Tempranillo’ mostró un límite inferior más alto al mismo tiempo que el límite superior era la mitad respecto al valor propuesto para la variedad ‘Cabernet Sauvignon’.

Es necesario tener en cuenta que el rango o anchura de las referencias se ve afectado por el procedimiento de cálculo de las mismas, el cual a menudo asume un alto porcentaje de los datos centrales para proponer el rango óptimo o normal, haciendo que dicho rango sea demasiado ancho como para ser discriminante en la mayoría de los casos de diagnóstico y, por tanto, perdiendo sensibilidad.

Finalmente, se debe destacar las grandes diferencias observadas respecto a las referencias propuestas para otras zonas vitícolas y otras variedades, que refuerza la importancia de obtener referencias adaptadas a las variedades cultivadas en cada región vitícola. Por tanto, las referencias propuestas para ‘Tempranillo’ serán menos eficaces cuando las condiciones del viñedo a diagnosticar sean marcadamente diferentes a las correspondientes a aquellas en las que fueron obtenidas, las de la DOCa Rioja, y más si cabe si se pretende diagnosticar variedades de comportamiento marcadamente diferente al cv. Tempranillo.

### IV.3.2.- DESVIACIÓN DEL ÓPTIMO PORCENTUAL - DOP

#### IV.3.2.1.- OBTENCIÓN DE LAS REFERENCIAS

Como se ha descrito, el método DOP evalúa el estado nutricional comparando con una concentración que se considera óptima. Dicha concentración de referencia se obtiene de estudiar estadísticamente la población de la base de datos de análisis y obtener el valor medio.

Este valor medio se determinó directamente sobre los datos de aquellos nutrientes en los que la distribución de su población se ajustaba a una curva normal. En el estudio de las poblaciones de nutrientes para obtener Rangos de Suficiencia, los elementos que presentaron una distribución normal fueron: N en limbo en floración, Ca en limbo en envero, y P en pecíolo durante la floración.

Los datos que necesitaron de una transformación previa mediante logaritmo en base 10, para obtener una distribución normal a partir de la cual calcular el valor medio, fueron K y Ca en limbo en floración; N en limbo en envero, Ca y Mg en pecíolo en floración, y Mg en pecíolo en envero.

Y finalmente, el resto de los casos, que no pudieron ser transformados a una distribución normal, su valor de  $C_{ref}$  fue obtenido mediante el cálculo de la mediana, o percentil  $P_{50}$ .

La Tabla 25 muestra los valores de referencia DOP de macro y micronutrientes para limbo y pecíolo en floración y envero.

**Tabla 25.-** Índices DOP para macro y micronutrientes en limbo y pecíolo. Estados fenológicos de floración y envero. *Vitis vinifera* L. cv. Tempranillo, ámbito DOCa Rioja.

	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	<sup>a</sup> Cu	B
	g · 100 g <sup>-1</sup> m.s.					mg · kg <sup>-1</sup> m.s.				
<b>Floración</b>										
Limbo (N = 674)	3,21	0,293	0,946	2,19	0,337	116	76,9	18,9	12,7	62,9
CV%	9,29	28,4	22,9	17,4	23,8	61,2	107	39,2	579	31,8
Pecíolo (N = 678)	1,01	0,318	1,55	1,49	0,609	23,6	25,5	15,8	8,9	40,7
CV%	28,9	27,2	52,3	17,8	30,3	64,6	193	52,2	96,8	16,0
<b>Envero</b>										
Limbo (N = 797)	2,24	0,156	0,834	3,22	0,419	149	112	17,3	160	37,1
CV%	9,11	28,3	33,8	14,8	32,4	46,0	78,6	36,6	119	30,5
Pecíolo (N = 791)	0,492	0,112	1,40	1,97	0,861	24,6	56,8	21,7	20,1	36,7
CV%	18,2	65,8	66,0	21,5	40,3	73,9	190	86,3	115	20,3

<sup>a</sup> No se puede determinar una concentración media fiable debido a la contaminación con fungicidas de base cúprica.  
CV%: Coeficiente de variación porcentual o coeficiente de variación porcentual de la mediana.

#### IV.3.2.2.- DISCUSIÓN

De igual forma que se ha observado en las referencias de Rangos de Suficiencia, se encuentran claras diferencias entre las referencias DOP para el cv. Tempranillo y las referencias disponibles en la bibliografía (valores medios o valores medios calculados a partir de los rangos propuestos) relativas a otras variedades o zonas vitícolas.

Con respecto a referencias australianas, las referencias DOP para ‘Tempranillo’ para limbo en floración mostraron valores más bajos para todos los nutrientes estudiados, con la excepción del Ca (Robinson, 2005). Las variedades Barbera y Nebbiolo mostraron referencias con menores concentraciones para N, P y B, y mayores para Ca, Fe, Mn y Zn (Ciesielska y col., 2002). Asimismo, las referencias DOP para ‘Tempranillo’ mostraron mayores concentraciones de P, Ca y Mg, y menores de N y K, con respecto a los valores sugeridos para la zona vitícola de Burdeos (Loué, 1990). Sin embargo, cuando se compararon con referencias italianas, las normas para ‘Tempranillo’ mostraron menores concentraciones para todos los nutrientes excepto para N, P, Mg y B (Failla y col., 1993).

Las referencias DOP para limbo de ‘Tempranillo’ en el envero alcanzaron menor concentración de N, P, K, Zn y B, así como mayor de Ca que las referencias mostradas para Australia (Robinson, 2005). Sin embargo, las referencias publicadas para la zona de Burdeos (Loué, 1990) evidenciaron menores concentraciones de N, Ca y Mg, y superiores de P y K que las referencias DOP obtenidas para ‘Tempranillo’ en la DOCa Rioja. Un resultado similar se encontró con respecto a referencias italianas, las cuales también sugieren niveles superiores en envero para Fe, Mn, Zn y Cu, así como menores concentraciones para el B (Failla y col., 1993).

Con respecto a las referencias DOP de pecíolo en floración y envero, las referencias propuestas para la zona vitícola de Burdeos (Loué, 1990) y para la variedad Cabernet Sauvignon (Fraguas y col., 2003) alcanzaron mayores valores que los propuestos para ‘Tempranillo’, con la excepción del Mg. Asimismo, las referencias australianas para pecíolo en floración (Robinson, 2005) mostraron un comportamiento similar que las referencias DOP propuestas para ‘Tempranillo’.

Nuevamente, y de igual modo a lo comentado en el apartado de Rangos de Suficiencia, estas comparaciones establecen la importancia de establecer referencias para cada combinación variedad-portainjerto, teniendo en cuenta la influencia de las condiciones locales, tales como el suelo, el clima y el manejo del viñedo.

## DOP VS. RANGOS DE SUFICIENCIA

Respecto a la interpretación de los índices DOP, desde el momento que las referencias son un único valor representativo para cada nutriente, se debe tener en cuenta que cualquier valor inferior a la referencia generará un índice DOP negativo, interpretable como deficiencia, mientras que aquellos valores superiores darán lugar a índices DOP positivos. Sin embargo, la interpretación debe hacerse con precaución y no se debe asumir que todo índice negativo requiera una inmediata intervención de abonado.

Esto se puede ver más fácilmente en las Tabla 26, donde se muestran los índices DOP, calculados usando como  $C_{ref}$  los valores mostrados en la Tabla 26, para los correspondientes Rangos de Suficiencia óptimo o normal (20% central de la población), y los rangos inferior y superior al rango normal (entre 20% y 60% central de la población) de limbo en floración y envero (mostrados en la Tablas 21 y 22).

**Tabla 26.-** Rango de índices DOP, calculados para los Rangos de Suficiencia de macro y micronutrientes en limbo de *Vitis vinifera* L. cv. Tempranillo, en los estados fenológicos de floración y envero.

Limbo	Floración			Envero		
	Bajo	Normal	Alto	Bajo	Normal	Alto
Macronutrientes						
N	< -7,8	-2,3 - 2,3	> 7,8	< -7,4	-2,3 - 2,3	> 8,0
P	< -17,0	-6,0 - 5,6	> 23,3	< -14,1	-5,1 - 4,3	> 17,4
K	< -17,6	-5,6 - 5,9	> 21,4	< -24,5	-8,1 - 8,8	> 35,6
Ca	< -13,5	-4,2 - 4,4	> 15,5	< -12,5	-3,7 - 3,7	> 12,5
Mg	< -16,9	-6,4 - 5,8	> 23,1	< -25	-8,4 - 8,5	> 33,0
$\sum DOP_i$		-24,4 - 24,0			-27,6 - 27,6	
Micronutrientes						
Fe	< -24,8	-9,9 - 12,6	> 54,3	< -33,2	-10,2 - 10,2	> 38,1
Mn	< -30,1	-11,3 - 13,2	> 44,7	< -31,9	-11,8 - 10,3	> 39,2
Zn	< -19,9	-7,5 - 7,4	> 30,1	< -19,4	-5,8 - 7,0	> 30,1
<sup>a</sup> Cu	< -29,2	-8,7 - 30,2	> 544	< -63,1	-27,0 - 38,2	> 119
B	< -23,2	-8,0 - 6,5	> 27,8	< -20,1	-7,7 - 7,6	> 29,2
<sup>b</sup> $\sum DOP_i$		-36,7 - 39,7			-35,5 - 35,1	

<sup>a</sup> No se puede determinar un índice fiable debido a la contaminación con funguicidas de base cúprica.

<sup>b</sup>  $\sum DOP_i$  se calcula sin tener en cuenta el Cu.

De igual forma, la Tabla 27 muestra los rangos de índices DOP correspondientes a los Rangos de Suficiencia para pecíolo en los dos mismos momentos fenológicos (Tablas 23 y 24).

**Tabla 27.-** Rango de índices DOP, calculados para los Rangos de Suficiencia de macro y micronutrientes en pecíolo de *Vitis vinifera* L. cv. Tempranillo, en los estados fenológicos de floración y envero.

Pecíolo	Floración			Envero		
	Bajo	Normal	Alto	Bajo	Normal	Alto
Macronutrientes						
N	< -24,7	-7,1 - 8,2	> 25,2	< -12,3	-4,2 - 4,0	> 14,4
P	< -22,9	-6,8 - 6,8	> 22,9	< -40,2	-14,6 - 17,4	> 61,6
K	< -37,6	-15,1 - 13,2	> 52,2	< -49,7	-19,1 - 19,6	> 68,0
Ca	< -13,6	-4,3 - 4,4	> 15,8	< -15,8	-6,0 - 5,6	> 19,8
Mg	< -22,3	-7,2 - 7,8	> 28,7	< -29,0	-9,7 - 10,7	> 40,8
$\sum DOP_i$		-40,5 - 40,4			-53,6 - 57,3	
Micronutrientes						
Fe	< -24,6	-8,3 - 7,3	> 30,4	< -21,1	-7,4 - 9,8	> 33,3
Mn	< -32,1	-10,0 - 13,0	> 49,3	< -58,1	-21,9 - 30,8	> 146
Zn	< -34,1	-10,6 - 10,6	> 45,9	< -31,2	-10,3 - 10,2	> 38,7
<sup>a</sup> Cu	< -24,9	-6,5 - 15,0	> 73,5	< -55,6	-22,6 - 29,2	> 128
B	< -10,9	-2,9 - 3,6	> 13,3	< -13,6	-3,7 - 4,8	> 19,6
<sup>b</sup> $\sum DOP_i$		-31,8 - 34,5			-43,3 - 55,6	

<sup>a</sup> No se puede determinar un índice fiable debido a la contaminación con funguicidas de base cúprica.

<sup>b</sup>  $\sum |DOP_i|$  se calcula sin tener en cuenta el Cu.

Los índices DOP para limbo en floración y envero oscilaron, para el rango óptimo o normal, entre  $\pm 2$  para N,  $\pm 4$  para Ca,  $\pm 6$  para P,  $\pm 8$  para K, Mg, Zn y B, y  $\pm 13$  para Fe y Mn (Tabla 26).

Por otro lado, los índices DOP para pecíolos oscilaron entre  $\pm 8$  para N,  $\pm 19$  K,  $\pm 6$  para Ca,  $\pm 10$  para el Mg, Fe y Zn, y alrededor de  $\pm 5$  para B (Tabla 27).

Además, se encontraron diferencias entre la floración y el envero, que van desde  $\pm 7$  en la floración y  $\pm 17$  en envero para P, y de  $\pm 13$  en la floración y  $\pm 30$  en envero en el caso de Mn (Tabla 27). Los rangos de índices DOP para el Cu llegaron a valores de 30 debido a la elevada variabilidad vinculada a las habituales aplicaciones fitosanitarias con productos a base de Cu (Tablas 26 y 27).

Lo primero que se debe destacar de estos resultados es que los Rangos de Suficiencia y los índices DOP coincidirían en el diagnóstico en la mayor parte de los casos. Sin embargo, el único punto discordante entre ambas metodologías se encontraría dentro del Rango de Suficiencia considerado como óptimo o Normal. Los rangos de índices DOP equivalentes a los rangos óptimos de la metodología de Rangos de Suficiencia implica un rango con el límite inferior con valores negativos y, por tanto, evaluados como deficientes por la metodología DOP, a pesar de mostrar valores muy próximos al cero.

Estos rangos de índices DOP podrían ser considerados una medida de la sensibilidad del método DOP. Por una parte, el método DOP, además de facilitar un orden de limitación nutricional de los elementos diagnosticados, sería capaz de diagnosticar las pequeñas diferencias que se dan dentro del rango de concentraciones propuesto como óptimo por la metodología de Rangos de Suficiencia, dado que muestra valores con signo positivo o negativo, a pesar de estar cercanos a cero (Tablas 26 y 27). Sin embargo, los rangos de valores DOP calculados para el rango óptimo de cada nutriente podrían estar mostrando, para cada uno de esos nutrientes, el rango DOP dentro del cual sería irrelevante considerar una deficiencia, al estar muy próximo al óptimo. En estos casos, sería más lógico plantear un seguimiento del cultivo o un abonado de mantenimiento, más que plantear fuertes enmiendas correctoras.

### **LIMBO VS. PECÍOLO**

El coeficiente de variación mostrado en la Tabla 25, aporta una idea de la variabilidad observada en la población de datos obtenida para cada tejido y momento fenológico y de la sensibilidad de las referencias para realizar un diagnóstico. Según dichos CV%, se podría afirmar que el pecíolo presenta mayor variabilidad que el limbo para N, K, Mg, Mn y Zn en floración y envero, así como para P, Ca y Fe en envero. Sin embargo, estos tres elementos, P, Ca y Fe, no mostraron diferencias en floración entre limbo y pecíolo respecto al CV%. Finalmente, el B fue el único elemento que claramente mostró un menor CV% y, por tanto, menor variabilidad intra-poblacional en pecíolo en ambos momentos fenológicos.

Por otra parte, además de la información que aporta el CV% para mostrar la variabilidad observada en las poblaciones de datos para limbo y pecíolo en la DOCa Rioja, se puede establecer la comparación entre tejidos y momentos fenológicos a partir de la extrapolación a índices DOP de los límites de los Rangos de Suficiencia (Tablas 26 y 27).

Una primera aproximación sería comparar el índice general de nutrición para limbo y pecíolo, en floración y envero, obtenido al sumar los índices individuales ( $\sum |DOP_i|$ ), calculados para los rangos óptimos de los macronutrientes (N, P, K, Ca, y Mg) y micronutrientes (Fe, Mn, Zn, y B) por separado (Tablas 26 y 27).

Se puede observar que el sumatorio para los macronutrientes tiene un rango alrededor de  $\pm 24$  en floración y de  $\pm 28$  en envero para los limbos (Tabla 26), mientras que para pecíolo los rangos obtenidos serían más elevados, mostrando valores alrededor de  $\pm 40$  en floración y entre  $-54$  y  $+57$  en envero (Tabla 27). Por tanto, estos rangos indicarían que para el diagnóstico de macronutrientes con referencias obtenidas de la base de datos disponible, sujeta a su propia variabilidad poblacional para

cada tejido, los pecíolos tendrían una menor sensibilidad para detectar anomalías en el estado general de nutrición de la variedad Tempranillo, dado que  $\sum DOP_i$  para pecíolo prácticamente duplica los valores obtenidos para el limbo. Por tanto, el limbo sería una mejor opción para llevar a cabo un diagnóstico nutricional utilizando las referencias de Rangos de Suficiencia o DOP para el cv. Tempranillo (Tablas 26 y 27).

Un resultado parecido se puede observar con respecto a los micronutrientes en envero, donde el índice general  $\sum DOP_i$ , calculado exclusivamente para los micronutrientes excluyendo el Cu, se situó alrededor de  $\pm 35$  para limbo, mientras que para pecíolo se situó entre -43 y +56 (Tablas 26 y 27). En floración, sin embargo, ambos tejidos mostraron un rango similar, oscilando entre -37 y +40 en limbo y entre -32 y +35 para pecíolo.

Sin embargo, para una evaluación más exacta del estado nutricional de la planta sería conveniente evaluar cada nutriente individualmente, utilizando para ello el tejido más representativo en cada caso. Los rangos DOP individuales para cada uno de los nutrientes estudiados confirman, en general, que todos los macronutrientes analizados en limbo mostraron menores rangos de índices DOP respecto a los observados en pecíolo, tanto en floración como en envero (Tablas 26 y 27). Este comportamiento se explica por el hecho de presentar el pecíolo unos rangos óptimos para los nutrientes relativamente más amplios que los encontrados para limbo (Tablas 21 a 24). Por tanto, los rangos DOP individuales también sugieren que el pecíolo podría tener menor sensibilidad para detectar deficiencias o excesos nutricionales en alguno de los macronutrientes estudiados.

Estos resultados, inferidos del cálculo de los rangos DOP equivalentes a los Rangos de Suficiencia, son similares a los encontrados para los macronutrientes en los estudios nutricionales específicos, mostrados en el apartado III.3.2.3 de esta memoria de tesis. Únicamente el P y el Mg difirieron al mostrar similar variabilidad en limbo y pecíolo en floración (Figura 21). Asimismo, los valores de CV% comentados anteriormente muestran, por lo general, resultados similares a los inferidos del cálculo de los rangos DOP (Tabla 25).

Respecto a otros trabajos, Benito y col. (2013) en un estudio de cuatro años con la variedad Garnacha tinta, encontró resultados similares a los obtenidos en 'Tempranillo' para N, P, Ca y K, mientras que difirió respecto al Mg, mostrando menor variabilidad para pecíolo a lo largo del ciclo.

Los resultados muestran, por tanto, que la variabilidad en la concentración de un nutriente, para un tejido dado, puede ser elevada incluso dentro de un mismo viñedo (Benito y col., 2013), viéndose dicha variabilidad transferida y reflejada en una base de datos elaborada para establecer referencias

nutricionales mediante el sistema de Encuesta o Carta Nutricional. Esto repercutiría en el establecimiento de referencias con rangos de normalidad excesivamente amplios que, en definitiva, dificultarían la exactitud en la diagnosis nutricional. Tal circunstancia está en concordancia con los resultados obtenidos tanto en los estudios de seguimiento nutricional específicos como por los resultados inferidos del ensayo de encuesta.

Con respecto a los micronutrientes, el  $\sum DOP_i$  mostró rangos similares para limbo y pecíolo en floración, mientras que el pecíolo mostró un rango más amplio que el limbo en envero (Tablas 26 y 27). Este resultado sugiere, de igual forma que se observó para los macronutrientes, que el pecíolo tendría menor sensibilidad que el limbo para detectar deficiencias o excesos de los micronutrientes en el momento fenológico de envero.

Respecto a los rangos de índices DOP para los micronutrientes individualmente, los resultados indican que Fe y B mostraron rangos más estrechos en pecíolo tanto en floración como en envero, mientras que para el Zn en ambos momentos fenológicos y para el Mn en envero, fue el limbo el que mostró un rango más estrecho (Tablas 26 y 27). Por tanto, el pecíolo sería un tejido más adecuado para diagnosticar el Fe y el B, según los rangos de índices DOP, mientras que el limbo lo sería para diagnosticar el Zn y el Mn durante el envero.

Coincidiendo en general con estos resultados, las referencias DOP para Mn y Zn en limbo, y las de B en pecíolo, también mostraron un menor CV% en ambos momentos fenológicos (Tabla 25), lo que coincidiría con la interpretación inferida de los rangos de índices DOP (Tablas 26 a 27), así como, en general, con los resultados observados para Zn y B en ambos momentos fenológicos y para Mn en floración, en el ensayo de seguimiento nutricional en ‘Tempranillo’ mostrado en el apartado III.3.2.3 (Figura 22). Sin embargo, en este ensayo de seguimiento nutricional, el Mn en envero y el Fe en ambos momentos fenológicos mostraron similar variabilidad en limbo y pecíolo (Figura 22).

Finalmente, respecto a los estudios de Benito y col. (2013) con la variedad Garnacha tinta, los resultados fueron similares a los obtenidos con los rangos DOP para ‘Tempranillo’, con la excepción del Mn en floración.

### **IV.3.3.- SISTEMA INTEGRADO DE DIAGNÓSTICO Y RECOMENDACIÓN - DRIS**

#### **IV.3.3.1.- OBTENCIÓN DE NORMAS DRIS**

Como ya se ha comentado en el apartado de procedimiento estadístico, el paso previo para obtener referencias para la metodología DRIS requiere dividir la población de datos en dos sub-poblaciones en

base a un criterio de calidad, eligiéndose para la variedad Tempranillo sobre R-110 el criterio de Producción Moderada ( $P_M$ ). Comparando la sub-población que cumple con este criterio (producción entre 3.800 y 10.000  $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) con la sub-población que no lo cumple ( $P_N$ ), se podrá elegir las relaciones de nutrientes más representativas para distinguir ambas sub-poblaciones (Walworth y Sumner, 1987; Martín y col., 2007).

En la elección de las relaciones de nutrientes más adecuadas para calcular los índices DRIS, se selecciona para cada par de nutrientes la relación que presenta una mayor diferencia entre las varianzas de la población de producción moderada ( $P_M$ ) y el resto de la población ( $P_N$ ), teniendo en cuenta que el mayor interés está centrado en varianzas bajas en la sub-población de calidad y varianzas altas en la sub-población de baja calidad. Maximizar dichas diferencias indicaría una alta influencia de la relación de nutrientes sobre el criterio de calidad dentro de la sub-población de referencia, y una baja influencia en la sub-población que no cumple el criterio impuesto (Walworth y Sumner, 1987). Para maximizar esta diferencia de varianzas, se utiliza la relación entre ambas varianzas  $S_N/S_M$ , de modo que la relación de nutrientes que presente una relación  $S_N/S_M$  más elevada será la más adecuada para el cálculo de funciones e índices DRIS (Walworth y Sumner, 1987; Martín y col., 2007).

En la Tabla 28 se pueden observar todas las posibles relaciones entre los cinco macronutrientes estudiados: N, P, K, Ca y Mg, así como las relaciones de varianzas obtenidas de la comparación de ambas sub-poblaciones en limbo y pecíolo, para los momentos fenológicos de floración y envero. Esta misma tabla muestra en negrita las relaciones más adecuadas para diferenciar la población de producción moderada de la que no lo es y, por tanto, para ser empleadas en el diagnóstico mediante la metodología DRIS.

En floración, las relaciones con mayor relación de varianzas fueron las mismas para limbo y pecíolo, con excepción de la relación entre N y P, que fue P/N para limbos y N·P para pecíolos. El resto de índices DRIS seleccionados para la floración son, tanto en limbo como en pecíolo: N/K, Ca/N, Mg/N, P/K, P/Ca, P/Mg, Ca/K, Mg/K y Ca·Mg (Tabla 28).

Sin embargo, para el estado fenológico de envero, siete relaciones se mostraron diferentes para limbo y pecíolo. En concreto, las que relacionan N y Ca, N y Mg, P y K, P y Mg, P y Ca, K y Mg, y Ca y Mg (Tabla 28). Estos resultados indican que tanto limbo como pecíolo tienen distinta evolución nutricional a lo largo del ciclo ya que, partiendo de una situación inicial muy similar, los equilibrios nutricionales van diferenciándose a medida que transcurre la campaña. Esta diferenciación entre tejidos a medida que avanza el ciclo está de acuerdo con lo descrito en la bibliografía (Walworth y Sumner, 1987; Eymar y col., 2001; Martín y col., 2007).

**Tabla 28.-** Relaciones de varianzas entre las poblaciones de no-moderado ( $P_N$ ) y de moderado rendimiento ( $P_M$ ) para las posibles relaciones de cada par de macronutrientes. Se muestran en negrita las relaciones seleccionadas.

	Floración		Envero	
	Limbo	Pecíolo	Limbo	Pecíolo
	$S_N/S_M$	$S_N/S_M$	$S_N/S_M$	$S_N/S_M$
N/P	1,128	0,349	1,833	1,069
P/N	<b>1,570</b>	0,815	<b>5,629</b>	<b>2,546</b>
N·P	1,491	<b>1,003</b>	3,207	1,762
N/K	<b>0,929</b>	<b>0,873</b>	<b>1,122</b>	<b>1,555</b>
K/N	0,910	0,830	0,898	1,043
N·K	0,661	0,583	0,991	0,644
N/Ca	0,905	1,140	0,057	<b>0,988</b>
Ca/N	<b>1,334</b>	<b>1,514</b>	0,860	0,617
N·Ca	0,969	0,743	<b>0,939</b>	0,782
N/Mg	1,203	1,074	0,946	<b>1,082</b>
Mg/N	<b>1,794</b>	<b>1,700</b>	<b>1,236</b>	0,683
N·Mg	0,995	0,943	0,970	0,734
P/K	<b>1,304</b>	<b>0,973</b>	<b>1,876</b>	0,990
K/P	0,967	0,614	1,266	0,869
P·K	0,996	0,573	1,870	<b>1,488</b>
P/Ca	<b>1,468</b>	<b>1,151</b>	1,100	<b>2,262</b>
Ca/P	0,942	0,829	1,018	0,680
P·Ca	1,427	0,805	<b>2,082</b>	1,901
P/Mg	<b>2,569</b>	<b>1,719</b>	2,097	<b>3,395</b>
Mg/P	1,173	0,724	1,967	0,805
P·Mg	0,935	0,769	<b>4,241</b>	0,507
K/Ca	0,966	0,731	0,070	0,875
Ca/K	<b>1,847</b>	<b>1,736</b>	<b>1,235</b>	<b>1,195</b>
K·Ca	0,530	0,579	1,024	0,792
K/Mg	0,860	0,610	0,685	0,740
Mg/K	<b>1,581</b>	<b>2,059</b>	1,220	<b>1,360</b>
K·Mg	0,679	0,716	<b>1,839</b>	0,900
Ca/Mg	0,958	1,097	1,221	<b>0,956</b>
Mg/Ca	0,842	0,859	<b>1,916</b>	0,615
Ca·Mg	<b>1,553</b>	<b>1,144</b>	0,957	0,828

Para cada nutriente, los índices DRIS se calculan a partir de todas las funciones que incluyen a un nutriente determinado (Walworth y Sumner, 1987; Mourao Filho, 2004). En las Tablas 29 a 32 se muestran las normas para las 10 relaciones bivariantes necesarias para el diagnóstico, mediante la metodología DRIS, de los cinco macronutrientes considerados, en limbo y pecíolo en los momentos de floración y envero.

**Tabla 29.-** Limbos en floración. Relaciones de nutrientes para utilizar en la metodología DRIS. Diferencias entre la población de calidad (P<sub>M</sub>) y el resto de la población (P<sub>N</sub>).

Relación	P/N	N/K	Ca/N	Mg/N	P/K	P/Ca	P/Mg	Ca/K	Mg/K	Ca·Mg
<b>P<sub>M</sub> (n = 299)</b>										
Media	0,091	3,511	0,694	0,113	0,317	0,136	0,850	2,413	0,402	0,807
<b><sup>a</sup>Media ajustada</b>	<b>0,089</b>	<b>3,404</b>	<b>0,680</b>	<b>0,110</b>	<b>0,302</b>	<b>0,130</b>	<b>0,809</b>	<b>2,315</b>	<b>0,373</b>	<b>0,765</b>
CV%	22,76	24,71	19,86	23,10	31,75	27,92	31,42	28,53	38,47	33,26
<b>P<sub>N</sub> (n = 293)</b>										
Media	0,099	3,471	0,697	0,108	0,343	0,148	1,004	2,434	0,385	0,780
Media ajustada	0,096	3,371	0,681	0,104	0,325	0,142	0,927	2,296	0,351	0,726
CV%	26,04	24,08	22,84	32,12	33,48	30,94	42,62	38,43	50,51	42,86
Diferencia (%)	-8,04	0,99	-0,12	5,33	-7,13	-7,93	-12,69	0,86	6,37	5,32
<b><sup>b</sup>Significación</b>	<b>0,000***</b>	0,570	0,369	<b>0,014*</b>	<b>0,003**</b>	<b>0,000***</b>	<b>0,000***</b>	0,737	0,061	<b>0,005**</b>

<sup>a</sup> Corrección del efecto curtosis mediante anti-logaritmo de la media de logaritmos para cada relación.

<sup>b</sup> Comparación de medias mediante el Test paramétrico t-Student o el No paramétrico U de Mann-Whitney.

**Tabla 30.-** Pecíolos en floración. Relaciones de nutrientes para utilizar en la metodología DRIS. Diferencias entre la población de producción moderada (P<sub>M</sub>) y el resto de la población (P<sub>N</sub>).

Relación	N·P	N/K	Ca/N	Mg/N	P/K	P/Ca	P/Mg	Ca/K	Mg/K	Ca·Mg
<b>P<sub>M</sub> (n = 302)</b>										
Media	0,335	0,758	1,556	0,694	0,236	0,210	0,502	1,165	0,557	1,024
<b><sup>a</sup>Media ajustada</b>	<b>0,299</b>	<b>0,679</b>	<b>1,477</b>	<b>0,634</b>	<b>0,198</b>	<b>0,197</b>	<b>0,460</b>	<b>1,003</b>	<b>0,430</b>	<b>0,959</b>
CV%	51,45	48,96	32,52	44,66	63,19	33,01	40,63	57,18	77,02	36,02
<b>P<sub>N</sub> (n = 295)</b>										
Media	0,347	0,757	1,608	0,678	0,259	0,230	0,603	1,226	0,559	0,907
Media ajustada	0,303	0,686	1,503	0,600	0,224	0,217	0,544	1,031	0,412	0,837
CV%	49,75	45,81	38,71	59,57	56,99	32,34	44,34	71,59	110,1	43,52
Diferencia (%)	-1,42	-1,05	-1,71	5,58	-11,66	-9,17	-15,44	-2,73	4,47	14,59
<b><sup>b</sup>Significación</b>	0,737	0,780	0,543	0,135	<b>0,008**</b>	<b>0,001***</b>	<b>0,000***</b>	0,540	0,454	<b>0,000***</b>

<sup>a</sup> Corrección del efecto curtosis mediante anti-logaritmo de la media de logaritmos para cada relación.

<sup>b</sup> Comparación de medias mediante el Test paramétrico t-Student o el No paramétrico U de Mann-Whitney.

**Tabla 31.-** Limbos en enero. Relaciones de nutrientes para utilizar en la metodología DRIS. Diferencias entre la población de producción moderada ( $P_M$ ) y el resto de la población ( $P_N$ ).

Relación	P/N	N/K	N·Ca	Mg/N	P/K	P·Ca	P·Mg	Ca/K	K·Mg	Mg/Ca
$P_M$ (n = 334)										
Media	0,068	2,935	7,274	0,209	0,196	0,491	0,071	4,347	0,373	0,146
<b><sup>a</sup>Media ajustada</b>	<b>0,067</b>	<b>2,785</b>	<b>7,129</b>	<b>0,199</b>	<b>0,186</b>	<b>0,476</b>	<b>0,067</b>	<b>3,950</b>	<b>0,359</b>	<b>0,140</b>
CV%	17,09	32,24	17,21	30,75	34,79	23,13	33,63	41,06	26,97	30,93
$P_N$ (n = 363)										
Media	0,076	2,748	7,158	0,188	0,206	0,540	0,071	4,013	0,362	0,134
Media ajustada	0,074	2,599	7,046	0,177	0,191	0,518	0,066	3,625	0,344	0,127
CV%	35,89	36,48	16,95	38,03	45,29	30,29	69,30	49,44	37,68	46,80
Diferencia (%)	-9,22	7,14	1,18	12,47	-2,73	-8,15	1,58	8,96	4,44	10,60
<b><sup>b</sup>Significación</b>	<b>0,000***</b>	<b>0,005**</b>	0,213	<b>0,000***</b>	0,667	<b>0,000***</b>	0,541	<b>0,013*</b>	0,053	<b>0,000***</b>

<sup>a</sup> Corrección del efecto curtosis mediante anti-logaritmo de la media de logaritmos para cada relación.

<sup>b</sup> Comparación de medias mediante el Test paramétrico t-Student o el No paramétrico U de Mann-Whitney.

**Tabla 32.-** Pecíolos en enero. Relaciones de nutrientes para utilizar en la metodología DRIS. Diferencias entre la población de producción moderada ( $P_M$ ) y el resto de la población ( $P_N$ ).

Relación	P/N	N/K	N/Ca	N/Mg	P·K	P/Ca	P/Mg	Ca/K	Mg/K	Ca/Mg
$P_M$ (n = 335)										
Media	0,224	0,513	0,255	0,580	0,178	0,058	0,135	2,255	1,287	2,311
<b><sup>a</sup>Media ajustada</b>	<b>0,201</b>	<b>0,395</b>	<b>0,244</b>	<b>0,519</b>	<b>0,123</b>	<b>0,049</b>	<b>0,105</b>	<b>1,619</b>	<b>0,761</b>	<b>2,127</b>
CV%	50,48	85,73	30,22	50,86	82,85	56,92	79,43	96,12	124,1	41,65
$P_N$ (n = 374)										
Media	0,295	0,529	0,272	0,703	0,233	0,080	0,227	2,119	1,111	2,597
Media ajustada	0,252	0,329	0,264	0,642	0,162	0,066	0,162	1,487	0,61	2,436
CV%	61,06	103,67	28,15	43,64	77,2	62,03	86,93	111,8	167,6	36,25
Diferencia (%)	-20,15	0,89	-7,84	-19,12	-23,79	-26,00	-35,41	8,88	24,74	-12,71
<b><sup>b</sup>Significación</b>	<b>0,000***</b>	0,814	<b>0,000***</b>	<b>0,000***</b>	<b>0,000***</b>	<b>0,000***</b>	<b>0,000***</b>	0,099	<b>0,000***</b>	<b>0,000***</b>

<sup>a</sup> Corrección del efecto curtosis mediante anti-logaritmo de la media de logaritmos para cada relación.

<sup>b</sup> Comparación de medias mediante el Test paramétrico t-Student o el No paramétrico U de Mann-Whitney.

Hallmark y Beverly (1991) pusieron de manifiesto que las normas DRIS contienen errores inherentes debidos a la asimetría en la distribución del cociente. Este error implica que, para un determinado conjunto de datos, el valor medio ( $A/B$ ) es mayor que el inverso ( $1/(B/A)$ ) calculado a partir del valor medio poblacional de la relación  $B/A$ . Para evitar este sesgo, estos autores sugirieron recalcular la

norma DRIS, para cada relación de nutrientes, a partir del anti-logaritmo del valor medio poblacional del logaritmo de cada relación. En las Tablas 29 a 32, se pueden encontrar los valores recalculados para cada relación mediante este método, pudiéndose observar las pequeñas diferencias respecto a la media poblacional calculada directamente.

Asimismo, estos mismos autores alertan de la posible inconveniencia de utilizar el CV% en el cálculo de índices DRIS, debido a que el CV% de la relación A/B no suele ser igual que el de la relación B/A, y que a menudo, la relación con mayor relación de varianzas  $S_N/S_M$  presenta un CV% más elevado, lo que perjudicaría el peso de dicha relación en el cálculo de los índices DRIS, sugiriendo también una peor relación entre el criterio de calidad y la relación de nutrientes elegida (Hallmark y Beverly, 1991). Sin embargo, en nuestro estudio, la mayoría de las relaciones elegidas mostraron el menor CV% de las tres relaciones de nutrientes posibles para cada par de elementos y, cuando no fue así, las diferencias en el CV% fueron inferiores al 1%.

#### IV.3.3.2.- CAPACIDAD DISCRIMINANTE DE LAS RELACIONES ENTRE NUTRIENTES

Si una relación de nutrientes en particular es un buen indicador del estado nutricional de la vid, la población de “alta calidad”, en nuestro caso de moderada producción, debería mostrar diferencias respecto a la de “baja calidad” (Schaller y col., 1995; Schaller y col., 2002). Las Tablas 29 a 32 muestran las diferencias estadísticas observadas en las comparaciones entre las dos sub-poblaciones, para cada tejido y momento fenológico.

En general, durante la floración los resultados indicaban que las relaciones entre K y Ca, entre Mg y N, y entre N y Ca no mostraban diferencias entre ambas sub-poblaciones (Tablas 29 y 30). Sin embargo, en enero, la capacidad discriminante de las relaciones entre nutrientes dependió del tejido analizado (Tablas 31 y 32).

#### **LIMBO**

Fósforo y Mg fueron los nutrientes que más diferenciaron entre las dos sub-poblaciones al analizar limbos en floración (Tabla 29), mientras que N y Ca lo fueron en enero (Tabla 31), ya que estos nutrientes presentaron el mayor número de relaciones que mostraron diferencias significativas entre las dos sub-poblaciones.

Seis de las diez relaciones de nutrientes fueron estadísticamente diferentes entre las dos sub-poblaciones para limbos en floración (Tabla 29), lo que indica que estas seis relaciones son características del criterio elegido para la división de la población original (Schaller y col., 1995;

Schaller y col., 2002). La relación P/Mg fue un 12,69% menor en  $P_N$  que en  $P_M$ , para las medias corregidas, lo que relativamente la convierte en la relación con mayor capacidad de diferenciación.

En cuanto a limbos en envero, también seis de las diez relaciones de nutrientes difirieron estadísticamente entre ambas sub-poblaciones (Tabla 31), con excepciones de N·Ca, P/K, P·Mg y K·Mg. Los resultados sugieren que el diagnóstico en limbo mantiene su validez para diferenciar ambas sub-poblaciones en envero. La relación Mg/N fue la más discriminante en el caso de limbos en envero, con una relación un 12,47% mayor para la sub-población de moderado rendimiento  $P_M$ .

### **PECÍOLO**

Respecto al pecíolo, el P fue el elemento más relevante para diferenciar entre las dos sub-poblaciones, si bien en envero también el Mg contribuyó a la diferenciación (Tablas 30 y 32).

En el análisis de pecíolo, sólo cuatro de las diez relaciones fueron estadísticamente diferentes en la floración: P/K, P/Ca, P/Mg y Ca·Mg (Tabla 30). Esto indicaría que en floración el análisis de limbo permite una mejor discriminación entre ambas sub-poblaciones, dado que el limbo diferenciaba seis relaciones de las diez. La relación P/Mg fue el indicador más eficaz durante la floración, siendo un 15,44% menor para la sub-población de moderado rendimiento (medias corregidas). Sin embargo, en el estado fenológico de envero, ocho de las diez relaciones de nutrientes elegidas fueron significativamente distintas entre ambas sub-poblaciones, mostrando seis de ellas diferencias superiores al 19% (medias corregidas) (Tabla 32). Por tanto, este resultado, al contrario que lo observado en floración, sugiere que el pecíolo sería el tejido más apropiado en envero para diferenciar, utilizando la metodología DRIS, entre las dos sub-poblaciones comparadas.

La diferencia en la capacidad del pecíolo para diferenciar entre sub-poblaciones en ambas etapas fenológicas parece ser contradictoria, aunque la bibliografía podría ayudar a explicar este comportamiento. Algunos autores han mostrado que la concentración de nutrientes en el pecíolo muestra una mayor variabilidad que en el limbo, lo que unido a la fuerte variabilidad evolutiva que acontece durante la floración en la concentración de muchos de los nutrientes (Christensen, 1984; Champagnol, 1990; Romero y col., 2010, 2013; Benito y col., 2013), incrementaría en gran medida la variabilidad de las relaciones de nutrientes en este momento fenológico y, por tanto, dificultaría encontrar diferencias entre las dos sub-poblaciones.

Por otro lado, la concentración de nutrientes en ambos tejidos foliares se estabiliza a medida que avanza el ciclo, como ya hemos visto en el capítulo III (Romero y col., 2010, 2013), disminuyendo la contribución de las variaciones estacionales a la variabilidad total en el contenido de nutrientes.

Además, varios autores sugieren que el pecíolo tiene una mayor respuesta que el limbo a las variaciones del estado nutricional de la vid (Bravdo y Hepner, 1987; Delas, 1990; Robinson, 2005), capacidad que podría estar detectándose en el envero, al reducirse la variabilidad atribuible a la evolución estacional en este momento del ciclo.

Con respecto a las relaciones discriminantes que se han obtenido, la bibliografía resalta la importancia de los equilibrios entre nutrientes y su utilidad para el diagnóstico. Así, distintos autores han calculado rangos de suficiencia para el diagnóstico nutricional a partir de diversas relaciones, como N/K, P/K, P/N, K/Mg, K/Ca o Ca/Mg, en general considerando adecuadas para el diagnóstico aquellas con una alta correlación con la producción (Levy, 1964; Delas y Molot, 1967; Delas, 1968,1976; Lachica y González, 1976; Fregoni, 1980; Loué y col., 1987; Sanz y col., 1991).

Otros autores relacionan una baja relación P/N en los brotes con una reducción del aparato radicular, bajo crecimiento, sensibilidad a las heladas y mala lignificación de los sarmientos (Fregoni, 1980). En este sentido, es de destacar que dicha relación es una de las relaciones relevantes para distinguir entre poblaciones para limbo en floración y envero, y para pecíolo en envero.

Asimismo, la relación N/K, relación presente para ‘Tempranillo’ en ambos tejidos y momentos fenológicos, tiene gran importancia en el transporte rápido de  $N-NO_3^-$  hacia la parte aérea de la planta (Ruffy y col., 1981; Förster y Jeschke, 1993). Respecto a las relaciones entre cationes, los equilibrios Ca/K y Mg/K están relacionados con resistencia a ciertas enfermedades fúngicas y bacterianas (Berry y col., 1988). Sin embargo, otros autores indican que las relaciones K/Mg  $<2$  producen retardos en la maduración, mientras que relaciones  $>10$  generan problemas de adelanto del reposo invernal, descenso de acidez del mosto y retraso en la reanudación del siguiente ciclo (Levy, 1969; Fregoni, 1980).

Los resultados indican que es posible llevar a cabo un diagnóstico nutricional de *Vitis vinifera* L. cv. Tempranillo, injertado sobre Richter-110, mediante la metodología DRIS, tanto en limbo como en pecíolo, y tanto en floración como en envero. Para ello, se deberán usar como referencias las relaciones de nutrientes sugeridas en las Tablas 30 a 33, con sus correspondientes CV%. Además, el limbo, que es capaz de diferenciar eficientemente entre ambas sub-poblaciones tanto en floración como en envero, no presenta la sensibilidad del pecíolo en envero para el diagnóstico nutricional mediante la metodología DRIS.

No obstante, es recomendable aumentar la base de datos de análisis para revisar y mejorar las normas DRIS. Además, sería necesario obtener normas DRIS que sean capaces de diferenciar sub-poblaciones

seleccionadas en base a criterios de calidad de la uva, criterios mucho más interesantes desde un punto de vista enológico.

#### IV.3.4.- DOP vs. DRIS

Una vez que se han obtenido las normas o referencias DRIS, se puede llevar a cabo una comparación con la metodología DOP. Para ello, se han comparado los resultados de llevar a cabo el diagnóstico, aplicando ambos métodos, sobre la base de datos inicial de ‘Tempranillo’ sobre R-110. Dado que únicamente se han propuesto referencias DRIS para cinco macronutrientes, son éstos los elementos considerados en el estudio comparativo.

La Tabla 33 muestra las coincidencias y discrepancias entre ambos métodos para limbo y pecíolo, en los momentos de floración y envero.

Los resultados para el diagnóstico de limbos mostraron que únicamente coinciden ambos métodos en el signo de los índices y orden de limitación para el 23% de los datos en floración y para un 4% en envero (Tabla 33). Si se considera que el orden de limitación no afecta en gran medida al diagnóstico, y limitamos la comparación al signo de los índices, el porcentaje de coincidencias entre DRIS y DOP alcanzaría el 44% en floración y el 40% en envero. Por su parte, el porcentaje de la base de datos que presentaría distinto orden y signo sería del 30% y 53% para floración y envero, respectivamente (Tabla 33).

**Tabla 33.-** Diferencias entre el diagnóstico DRIS y DOP, para limbo y pecíolo en floración y envero, aplicada a la base de datos utilizada para obtener las referencias de *Vitis vinifera* L. cv. Tempranillo.

	Floración (n = 684)		Envero (n = 801)	
	Limbo	Pecíolo	Limbo	Pecíolo
	% datos		% datos	
Igual signo y orden	23,2	12,7	4,0	14,7
Diferente orden, igual signo	20,5	28,8	36,4	26,5
<b>Sub-total</b>	43,7	41,5	40,4	41,2
Diferente signo, igual orden	25,9	18,4	6,4	20,2
Diferente signo y orden	30,4	40,1	53,2	38,6
<b>Sub-total</b>	56,3	58,5	59,6	58,8

Con respecto al diagnóstico en pecíolo, los resultados mostraron que únicamente coincidieron ambos métodos en signo y orden de limitación para el 13% de los datos en floración y para un 15% en envero (Tabla 33). Asimismo, cuando se limitó las coincidencias al signo de los índices, el porcentaje de

coincidencias entre DRIS y DOP alcanzó el 42% en floración y el 41% en enero. Finalmente, el porcentaje de la base de datos que presentaría distinto orden y signo sería del 40% y 39% para floración y enero, respectivamente (Tabla 33).

Estos resultados contrastan con lo observado por otros autores en diferentes cultivos, los cuales sugieren que el orden de limitación suele ser similar cuando se diagnostica mediante la metodología DRIS o DOP (Montañés y col., 1993; Monge y col., 1995; Lucena, 1997; Sanz, 1999). Sin embargo, se debe tener en cuenta que es más fácil que se observen diferencias respecto al orden de limitación de nutrientes y al signo cuando la población de datos se encuentra más cerca del óptimo, dado que en dicha situación los índices DRIS estarán más cerca de cero. En este sentido, se debe recordar que la base de datos ha sido compilada a partir de viñedos que, en principio, presentaban un aceptable estado nutricional, rendimiento y calidad de uva en vendimias.

Los resultados sugieren que sería necesario evaluar ambos métodos mediante estudios específicos, donde se establezcan distintos niveles de nutrición, dosis de fertilizantes, disponibilidad de nutrientes, ya sea mediante fertirrigación o hidroponía, e incluso fijando los tratamientos óptimos a partir de parámetros de calidad de la uva establecidos en dichos tratamientos.

#### IV.3.4.1.- $\sum |DOP_i|$ vs. $NBI_{DRIS}$

En trabajos con otros cultivos, algunos autores estiman que existe una elevada correlación entre el Índice de balance nutricional ( $NBI_{DRIS}$ ) y su homólogo de método DOP, el sumatorio del valor absoluto de los índices DOP ( $\sum |DOP_i|$ ), presentando a menudo coeficientes de determinación ( $R^2$ ) superiores a 0,90 (Montañés y col., 1993; Monge y col., 1995).

El estudio comparativo de los dos métodos, aplicado a la base de datos de ‘Tempranillo’, nos permite evaluar la relación entre ambos índices. En las Tablas 34 y 35 se recogen las ecuaciones de regresión entre  $\sum |DOP_i|$  y  $NBI_{DRIS}$  para limbo y pecíolo, en floración y enero.

Los resultados con la variedad Tempranillo, sin embargo, indican que el coeficiente de determinación para la regresión en limbo se sitúa en torno a 0,68, tanto en floración como en enero (Tabla 34), mientras que en pecíolo no superó el 0,53 en ninguno de los dos momentos fenológicos (Tabla 35). Este resultado sugiere que las diferencias encontradas al comparar los índices individuales, afectan también a la valoración general del estado nutricional y, por consiguiente, a la regresión calculada.

**Tabla 34.-** Relación entre los índices DOP y DRIS, así como entre (NBIDRIS y  $\sum |DOP_i|$ ), en floración y envero, para limbos de *Vitis vinifera* L. cv. Tempranillo.

Floración (n = 684)			Envero (n = 801)		
	Relación	R <sup>2</sup>		Relación	R <sup>2</sup>
N	$DOP_N = 0,616 + 0,781 \cdot DRIS_N$	0,320***		$DOP_N = 0,900 + 0,484 \cdot DRIS_N$	0,170***
P	$DOP_P = -0,141 + 2,201 \cdot DRIS_P$	0,873***		$DOP_P = 0,665 + 1,944 \cdot DRIS_P$	0,775***
K	$DOP_K = 3,199 + 1,897 \cdot DRIS_K$	0,810***		$DOP_K = 5,339 + 2,378 \cdot DRIS_K$	0,792***
Ca	$DOP_{Ca} = 2,334 + 1,318 \cdot DRIS_{Ca}$	0,719***		$DOP_{Ca} = -1,242 + 1,183 \cdot DRIS_{Ca}$	0,600***
Mg	$DOP_{Mg} = 6,824 + 1,751 \cdot DRIS_{Mg}$	0,864***		$DOP_{Mg} = 8,499 + 2,281 \cdot DRIS_{Mg}$	0,708***
$\Sigma$	$\sum  DOP  = 32,332 + 1,144 \cdot NBI_{DRIS}$	0,671***		$\sum  DOP  = 44,701 + 1,227 \cdot NBI_{DRIS}$	0,680***

<sup>a</sup> Regresión lineal simple: Nivel de confianza al 95% (\*\*p ≤ 0,001).

**Tabla 35.-** Relación entre los índices DOP y DRIS, así como entre (NBIDRIS y  $\sum |DOP_i|$ ), en floración y envero, para pecíolos de *Vitis vinifera* L. cv. Tempranillo.

Floración (n = 684)			Envero (n = 801)		
	Relación	R <sup>2</sup>		Relación	R <sup>2</sup>
N	$DOP_N = 3,173 + 2,403 \cdot DRIS_N$	0,717***		$DOP_N = 2,313 + 1,872 \cdot DRIS_N$	0,375***
P	$DOP_P = -1,976 + 1,977 \cdot DRIS_P$	0,802***		$DOP_P = 3,219 + 3,165 \cdot DRIS_P$	0,793***
K	$DOP_K = 9,832 + 3,214 \cdot DRIS_K$	0,741***		$DOP_K = 11,697 + 2,623 \cdot DRIS_K$	0,617***
Ca	$DOP_{Ca} = 1,898 + 0,973 \cdot DRIS_{Ca}$	0,413***		$DOP_{Ca} = 4,285 + 1,811 \cdot DRIS_{Ca}$	0,564***
Mg	$DOP_{Mg} = 7,567 + 2,000 \cdot DRIS_{Mg}$	0,760***		$DOP_{Mg} = 17,069 + 2,677 \cdot DRIS_{Mg}$	0,806***
$\Sigma$	$\sum  DOP  = 65,341 + 1,289 \cdot NBI_{DRIS}$	0,458***		$\sum  DOP  = 96,998 + 1,427 \cdot NBI_{DRIS}$	0,522***

<sup>a</sup> Regresión lineal simple: Nivel de confianza al 95% (\*\*p ≤ 0,001).

Esta falta de relación, respecto a los resultados encontrados por otros autores, puede ser debido al distinto criterio seguido en la obtención de referencias para cada uno de los métodos, DRIS y DOP.

Mientras que las normas DRIS obligan a marcar un criterio diferenciador de “calidad” entre dos subpoblaciones, las referencias DOP se han obtenido sin un criterio tan restringido, limitándose la selección a la elección y valoración de las parcelas de forma más general. Estas diferencias en los criterios de obtención de las referencias podría reducir la bondad del ajuste entre ambos índices generales,  $\sum |DOP_i|$  y  $NBI_{DRIS}$  y, por consiguiente, el coeficiente de determinación obtenido al relacionarlos.

Sería conveniente, por tanto, comparar ambos métodos cuando las referencias hayan sido obtenidas bajo criterios más similares, de modo que se pueda valorar de forma más precisa la relación entre ambos índices para el cv. Tempranillo.

#### IV.3.4.2.- RELACIÓN ENTRE LOS ÍNDICES INDIVIDUALES DRIS Y DOP

De la misma forma que se ha valorado la relación entre los índices generales de nutrición obtenidos mediante las metodologías DRIS y DOP, se puede hacer una valoración de la relación entre los índices individuales para cada nutriente analizado, para cada tejido y momento fenológico.

Los coeficientes de regresión para limbo muestran, en general, que los coeficientes de determinación son superiores en floración que en envero (Tabla 34). El limbo en floración mostró, con una significación  $p \leq 0,001$ , un  $R^2$  superior a 0,72 para el Ca y superior a 0,81 para P, K, y Mg. El N, por su parte, sólo mostró un  $R^2$  de 0,32. Sin embargo, en envero, el Ca alcanzó un  $R^2$  de 0,60, mientras que P, K y Mg obtuvieron un  $R^2$  entre 0,71 y 0,79, reduciéndose para el N a 0,17 (Tabla 34).

Respecto al pecíolo, tanto en floración como en envero, mostró unos  $R^2$  significativos a  $p \leq 0,001$  para todas las regresiones individuales calculadas entre los índices DRIS y DOP (Tabla 35). Al contrario de lo observado en limbo, el pecíolo únicamente mostró unos  $R^2$  superiores en floración para el N, P y K, los cuales alcanzaron, junto con el Mg, un  $R^2$  entre 0,71 y 0,80. El Ca, sin embargo, apenas superó un  $R^2$  de 0,41. En envero, N y K mostraron unos  $R^2$  entre 0,38 y 0,62, respectivamente. Los mayores  $R^2$  fueron para el P - 0,79 - y para el Mg - 0,81 - mientras que el Ca alcanzó un  $R^2$  de 0,56 (Tabla 35).

Estos resultados para limbo y pecíolo de la variedad Tempranillo, en los dos momentos fenológicos estudiados, sugieren que, con la excepción del N, los índices individuales correlacionan mejor que los índices generales de valoración del estado nutricional del cultivo,  $NBI_{DRIS}$  y  $\sum |DOP_i|$ . Además, las regresiones individuales obtenidas pueden ser consideradas, en general, un aceptable ajuste que permitiría transformar los índices DRIS en sus equivalentes DOP y viceversa, e incluso transformar los índices generales  $NBI_{DRIS}$  y  $\sum |DOP_i|$ .

Este tipo de transformaciones pueden ser útiles para verificar, con otras referencias, un diagnóstico dudoso. Además, las transformaciones pueden ser útiles para interpretar los índices DRIS en términos de desviación de contenidos nutricionales, lo que permitiría estimar las necesidades de cada nutriente o las necesidades fertilizantes, tal y como el método DOP permite (Montañés y col., 1993).

Sin embargo, dichos cálculos necesitarán de información adicional y de estudios complementarios para validar estas transformaciones de resultados entre métodos, así como para ajustar las dosis fertilizantes. Además, los cálculos para los nutrientes que presentan bajos  $R^2$ , como el N y el Ca en limbo, o el N, Ca e incluso el K en pecíolo, serían demasiado inexactos como para plantear un programa de fertilización del viñedo a partir de dichas transformaciones.



#### IV.4.- CONCLUSIONES DEL CAPÍTULO

1. Se proponen Rangos de Suficiencia para el diagnóstico nutricional de vid (*Vitis vinifera* L.), cv. Tempranillo injertado sobre 110-R, en las condiciones edafo-climáticas y agroambientales de la DOCa Rioja, para dos tejidos: limbo y pecíolo, en dos estados fenológicos: floración y envero.
2. Se proponen niveles de referencia para diagnóstico nutricional de la vid (*Vitis vinifera* L.), cv. Tempranillo injertado sobre 110-R, en las condiciones edafo-climáticas y agroambientales de la DOCa Rioja, para dos tejidos: limbo y pecíolo, en dos estados fenológicos: floración y envero, para su empleo en el método de Desviación del Óptimo Porcentual.
3. Se proponen las siguientes relaciones entre nutrientes, con sus correspondientes CV%, para el diagnóstico foliar de la vid (*Vitis vinifera* L.), cv. Tempranillo injertado sobre 110-R, para su empleo mediante la metodología DRIS:
  - Limbos en floración: **N/K; Ca/N; Mg/N; P/K; P/Ca; P/Mg; Ca/K; Mg/K; Ca·Mg**
  - Limbos en envero: **P/N; N/K; N·Ca; Mg/N; P/K; P·Ca; P·Mg; Ca/K; K·Mg; Mg/Ca**
  - Pecíolos en floración: **N·P; N/K; Ca/N; Mg/N; P/K; P/Ca; P/Mg; Ca/K; Mg/K; Ca·Mg**
  - Pecíolos en envero: **P/N; N/K; N/Ca; N/Mg; P\*·K; P/Ca; P/Mg; Ca/K; Mg/K; Ca/Mg**
4. Las normas obtenidas por cualquiera de los métodos son válidas para la combinación cv. Tempranillo injertado sobre 110-R, en las condiciones edáficas y agroclimáticas de la DOCa Rioja. Estas referencias perderán fiabilidad a medida que las condiciones de un viñedo a diagnosticar difieran de aquellas condiciones en las que se obtuvieron, por lo que debe ser tenido en cuenta cuando se empleen en otras zonas vitícolas o para otras combinaciones de variedad y portainjerto.
5. La comparación entre las metodologías de Rangos de Suficiencia y DOP indicarían que el limbo sería una mejor opción para llevar a cabo un diagnóstico nutricional utilizando estas dos metodologías para la variedad estudiada.

6. Las referencias DRIS obtenidas permiten llevar a cabo un diagnóstico nutricional de *Vitis vinifera* L., cv. Tempranillo injertado sobre Richter-110, capaz de diferenciar entre viñedos de producción moderada frente a los que no lo son, tanto en limbo como en pecíolo, y tanto en floración como en envero. Además, aunque el limbo es capaz de diferenciar eficientemente entre ambas sub-poblaciones en los dos momentos fenológicos, no presenta la sensibilidad del pecíolo en envero.
  
7. Se proponen ecuaciones de regresión que relacionan los índices DRIS y DOP, principalmente para el P y Mg en limbos y pecíolos, así como para K en limbos. Estas ecuaciones de regresión permiten transformar los índices de ambos métodos con fines de confirmación de diagnóstico, valoración de requerimientos nutricionales y cálculo de necesidades fertilizantes. Sin embargo, dichos ajustes requerirán estudios específicos para ajustar la relación entre diagnóstico y dosis fertilizantes.

## **V. Bibliografía**

---



- AMERINE, M.A.; WINKLER, A.J. 1944. "Composition and quality of musts and wines of California grapes". *Hilgardia*, 15: 493-675.
- ARNON, D.I.; STOUT, P.R. 1939. "The essentiality of certain elements in minute quantity for plants with special reference to copper". *Plant Physiology*, 14: 371-375.
- ARROYO, M.C.; GARCÍA-ESCUADERO, E.; ZABALLA, O.; CHAVARRI, J.B. 1997. "Variety influence in vine (*V. vinifera* L.) nutritional status and must and wine potassium contents". *Acta Horticulturae*, 448: 133-136.
- BAGGIOLINI, M. 1952. "Les stades repères dans le développement annuel de la vigne et leur utilisation pratique". *Revue romande d'Agriculture et d'Arboriculture.*, 8(1): 4-6.
- BARKER, A.V.; PILBEAM, D.J. 2007. *Handbook of Plant Nutrition*. CRC Press-Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL, USA. 613 p.
- BASSÁL, I. SIGLO VI. "Libro de agricultura". En: *Estudio preliminar*. Ed. Junta de Andalucía, Sevilla, España. 1997. (ISBN: 978-84-87004-52-0)
- BAVARESCO, L.; GATTI, M.; FREGONI, M. 2010. "Nutritional deficiencies". En: *Methodologies and Results in Grapevine Research*. Delrot, S.; Medrano, H.; Or, E.; Bavaresco, L.; Grando, S. (Eds.), Ed. Springer, Geidelberg, Germany. 165-191.
- BAYERS, E. 1962. "Diagnostic leaf analysis for deciduous fruits". *South African Journal of Agricultural Science*, 5: 315-319.
- BEAUFILS, E.R. 1973. "Diagnosis and recommendation integrated system (DRIS). A general scheme for experimentation and calibration based on principles developed from research in plant nutrition". University of Natal, Pietermaritzburg, South Africa. *Soil Science Bulletin*, 1: 1-132.
- BELL, S.J.; HENSCHKE, P.A. 2005. "Implications of nitrogen nutrition for grapes, fermentation and wine". *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 11: 242-295.
- BENITO, A.; ROMERO, I.; DOMÍNGUEZ, N.; GARCÍA-ESCUADERO, E.; MARTÍN, I. 2014. "Leaf blade and petiole analysis for nutrient diagnosis in *Vitis vinifera* L. cv. Garnacha tinta". *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 19: 285-214.
- BERTONI, G.; MORARD, P. 1982. "Blade or petiole analysis as a guide for grape nutrition". *Communications in. Soil Science and Plant Analysis*, 13: 93-605.
- BEVERLY, R.B. 1987. "Modified DRIS method for simplified nutrient diagnosis of 'Valencia' oranges". *Journal of Plant nutrition*, 10:1401-1408.
- BOTELHO, R.V.; PIRES E, J.P.; TERRA, M.M.; MIELE, A.; MÜLLER, M.M.L.; POTT, C.A. 2005. "Leaf mineral status and bud fertility of 'Centennial Seedless' grapevines". *Bulletin de L'OIV*, 78(897-898): 737-749.
- BOULTON, R. 1980. "The general relationship between potassium, sodium and pH in grapejuice and wine". *American Journal of Enology and Viticulture*, 31: 76-80.
- BOUMA, D. 1983. "Diagnosis of mineral deficiencies using plant test". En: *Encyclopedia of plant physiology, New Series*. Läuchli, A.; Bielecki, R.L. (Eds.), Springer-Verlag Publishing, Berlin, Germany. 15A: 120-146.
- BRAVDO, B.A. 1992. "Mineral Nutrition". En: *Proceedings of the 4th International Symposium on Grapevine Physiology*. Fondazione Giovanni Dalmasso-Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste (Eds.). Istituto Agrario San Michele All'Adige, Torino, Italia, 11-15 de Mayo 1992: 159-163.
- BRAVDO, B.A.; HEPNER, Y. 1987. "Irrigation management and fertigation to optimize grape composition and vine performance". *Acta Horticulturae*, 206: 49-68.

- BROWN, A.I. 1999. "Soil sampling and sample handling for chemical analysis". En: *Soil analysis: an interpretation manual*. Peverill, K.I.; Sparrow, L.A.; Reuter, D.J. (Eds.), CSIRO Publishing, Collingwood, VIC, Australia. 369 pp.
- BROWN, P.H.; HU, H. 1996. "Phloem mobility of boron is species dependent: evidence for phloem mobility in sorbitol-rich species". *Annals of Botany*, 77(5): 497-505.
- CADAHÍA, C. 2000. *Fertirrigación. Cultivos Hortícolas y Ornamentales*. 2ª Edición revisada. Ed. Mundi-Prensa, Barcelona, España. 475 p.
- CHAMPAGNOL, F. 1990. "Rajeunir le diagnostic foliaire". *Le Progrès Agricole et Viticole*, 107(15/16): 343-351.
- CHAMPAGNOL, F. 1984. *Éléments de physiologie de la vigne et de viticulture generale*. Impr. Dehan, Montpellier, France. 351 p.
- CHELVAN, R.C.; SHIKHAMANY, S.D.; CHADHA, K.L. 1984. "Evaluation of low yielding vines of Thompson seedless for nutrient indices by DRIS analysis". *The Indian Journal of Horticulture*, 41: 166-170.
- CHONÉ, X.; LAVIGNE-CRUEGE, V.; TOMINAGA, T.; VAN LEEUWEN, C.; CASTAGNEDE, C.; SAUCIER, C.; DUBOURDIEU, D. 2006. "Effect of wine nitrogen status on grape aromatic potential: Flavor precursors (S-cytokine conjugates), glutathione and phenolic content in *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon blanc". *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 40(1): 1-6.
- CHRISTENSEN, P. 1989. *Vineyard tissue sampling guide for plant analysis*. California University. CA. USA.
- CHRISTENSEN, P. 1984. "Nutrient Level Comparisons of Leaf Petioles and Blades in Twenty-Six Grape Cultivars Over Three Years (1979 through 1981)". *American Journal of Enology and Viticulture*, 35(3): 124-133.
- CHRISTENSEN, P. 1969. "Seasonal changes and distribution of nutritional elements in Thompson Seedless Grapevines". *American Journal of Enology and Viticulture*, 20(3): 176-190.
- CHRISTENSEN, P.; BEEDE, R.H.; PEACOCK, W.L. 2006. "Fall foliar sprays prevent boron-deficiency symptoms in grapes". *California Agriculture*, 60: 100-103.
- CIESIELSKA, J.; MALUSA, E.; BOURLLOT, G. 2002. "Grape leaf diagnosis in the Piedmont Region". *Acta Horticulturae*, 594: 387-392.
- COLUGNATI, G; GOTTARDO, L.; DELUISA, A.; BASSI, M. 1992. "Variazioni della composizione minerale delle foglie in vitigni di pregio della pianura friulana". En: *Proceedings of the 4th International Symposium on Grapevine Physiology*. Fondazione Giovanni Dalmasso-Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste (Eds.). Istituto Agrario San Michele All'Adige, Torino, Italia, 11-15 de Mayo de 1992: 180-184.
- CONRADIE, W.J. 2005. "Partitioning of mineral nutrients and timing of fertilizer applications for optimum efficiency". En: *Proceedings of the Soil Environment and Vine Mineral Nutrition Symposium*. Christensen, L.P.; Smart, D.R. (Eds.), American Society for Enology and Viticulture Ed. San Diego, CA, USA, 29-30 de Junio de 2004: 69-81.
- CONRADIE, W.J. 2001a. "Timing of nitrogen fertilisation and the effect of poultry manure on the performance of grapevines on sandy soil. I. Soil analysis, grape yield and vegetative growth.". *South African Journal for Enology and Viticulture*, 22(2): 53-59.
- CONRADIE, W.J. 2001b. "Timing of nitrogen fertilisation and the effect of poultry manure on the performance of grapevines on sandy soil. II. Leaf analysis, juice analysis and wine quality". *South African Journal for Enology and Viticulture*, 22(2): 60-68.
- CONRADIE, W.J. 1981a. "Nutrient consumption by Chenin Blanc grown in sand culture and seasonal changes in the chemical composition of leaf blades and petioles". *South African Journal of Enology and Viticulture*, 2(1): 15-18.

- CONRADIE, W.J. 1981b. "Seasonal uptake of nutrients by Chenin blanc in sand culture II. Phosphorous, potassium, calcium and magnesium". *South African Journal of Enology and Viticulture*, 2(1): 7-13.
- CONRADIE, W.J. 1980. "Seasonal uptake of nutrients by Chenin blanc in sand culture I. Nitrogen". *South African Journal of Enology and Viticulture*, 1(1): 59-65.
- CONRADIE, W.J.; SAAYMAN, D. 1989. "Effects of Long-term Nitrogen, Phosphorus, and Potassium fertilization on Chenin blanc vines. II. Leaf Analyses and Grape Composition". *American Journal of Viticulture and Enology and Viticulture*, 40: 91-98.
- COOK, J.A.; KISHABA, T. 1956. "Petiole nitrate analysis as a criterion of nitrogen needs in California vineyards". *Proceedings of the American Society for Horticultural Science*, 68: 131-140.
- COOMBE, B.G.; DRY, P.R. 1995. *Viticulture. Volume 1 Resources*. Winetitles Ed., Adelaide, Australia. 211 p.
- CRCV: Cooperative Research Center for Viticulture. 2006. "VitiNotes: Grapevine nutrition 3: Petiole analysis". Disponible en: <http://www.crcv.com.au/viticare/vitinotes/Viti-Notes/grapevine%20nutrition/03%20Petiole%20analysis.pdf>
- CRDOCa RIOJA: CONSEJO REGULADOR DE LA DOCa RIOJA. "Memoria 2012". Disponible en: [http://es.riojawine.com/multimedia/files/publicaciones/MemoriaConsejo\\_2012.pdf](http://es.riojawine.com/multimedia/files/publicaciones/MemoriaConsejo_2012.pdf)
- DAL BÓ, M.A. 1993. "Nutrición y abonado de la vid". *Viticultura/Enología Profesional*, 24: 9-13.
- DAVENPORT, J.R.; MARDEN, J.M.; LYNN, J.; MILLS, L.J.; HATTENDORF, M.J. 2003. "Response of Concord grape to variable rate nutrient management". *American Journal of Enology and Viticulture*, 54(4): 286-293.
- DELAS, J. 2000. *Fertilisation de la Vigne*. Éditions Féret, Bordeaux, France. 159 p.
- DELAS, J. 1990. "Diagnostic foliaire: aspect historique, pratique actuelle". *Le Progrès Agricole et Viticole*, 107(18): 399-402.
- DELAS, J. 1968. "Etude par analyse foliaire, de la carence en magnesium dans la vignoble bordelais". En: *Memoria General del II Coloquio Europeo y Mediterráneo para el Control de la Alimentación de las Plantas Cultivadas*. Ed. Centro de Edafología y Biología Aplicada. Sevilla, España, 8-15 de Septiembre de 1968: 343-250.
- DELAS, J.; Dumartin, P.; Molot, C.; Boniface, J.C. 1976. "Le dessecchement de la rafle dans la vignoble bordelais". *Connaissances de la Vigne et du Vin*, 10: 227-248.
- DELAS, J.; Molot, C. 1967. "Fertilisation potasique du vignobles bordelais". *Bulletin de l'Association Francaise des Etudes du Sol*, 1: 1-11.
- DELGADO, R.; MARTIN, P.; DEL ALAMO, M.; GONZALEZ, M.R. 2004. "Changes in the phenolic composition of grape berries during ripening in relation to vineyard nitrogen and potassium fertilisation rates". *Journal of the science of food and agriculture*, 84(7): 623-630.
- DUNDON, C.G.; SMART, R.E. 1984. "Effects of water relations on the potassium status of Shiraz vines". *American Journal of Enology and Viticulture*, 35(1): 40-45.
- EICHORN, K.W.; LORENZ, D.H. 1977. "Phänologischche Entwicklungsstadien der Rebe". *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes*, 29: 119-120.
- ELWALI, A.M.O.; GASCHO, G.J. 1984. "Soil testing, foliar analysis and DRIS as guide for sugarcane fertilization". *Agronomy Journal*, 76: 466-470.
- ETOURNEAUD, F. 1983. *Contribution a l'étude de la nutrition minerale de la vigne dans le Bordelais: (Etude des elements K et Mg)*. Tesis Doctoral. Ecole Nationale Supérieure Agronomique, Montpellier, France. 179 p.
- EYMAR, E.; CADAHÍA, C.; SÁNCHEZ, A. 2001. "Foliar nutrient reference levels obtained in hydroponic cultures as preliminary norms for DRIS to fertigate conifers". *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 32: 267-282.

- FAILLA, O.; BOGONI, M.; PORRO, D.; STRINGARI, G. 1997. "Soil and leaf analysis: Effect of pedo-climatic, cultural and genetic factors on their calibration and interpretation". *Acta Horticulturae*, 448: 225-232.
- FAILLA, O.; SCIENZA, A.; STRINGARI, G.; PORRO, D.; TARDUCCI, S.; DI DIONISIO, A. 1995. "Indagine sullo stato nutrizionale dei vigneti in alcune zone toscane a denominazione d'origine per una proposta d'interpretazione delle analisi fogliari e del terreno". *VigneVini. Rivista italiana di viticoltura e di enologia*. (Suplemento), 12:15-25.
- FAILLA, O.; STRINGARI, G.; PORRO, D.; SCIENZA, A. 1993. "Stato nutrizionale di alcune zone viticole dell'Italia centro-settentrionale". *VigneVini. Rivista Italiana di Viticoltura e di Enologia*, 3:77-82.
- FALLAHI, E.; SHAFII, B.; STARK, J.C.; FALLAHI, B.; HAFEZ, S.L. 2005. "Influence of Wine Grape Cultivars on Growth and Leaf Blade and Petiole Mineral Nutrients". *HortTechnology*, 15(4): 825-830.
- FÖRSTER, J.C.; JESCHKE, W.D. 1993. "Effects of potassium withdrawal on nitrate transport and on the contribution of the root to nitrate reduction in the whole plant". *Journal of Plant Physiology*, 141: 322-328.
- FRAGUAS, J.C.; MIELE, A.; SILVA, E.B. 2003. "Grapevine nutritional diagnosis methods for the "Serra Gauchá" viticulture region, Brazil". *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 37(1): 15-21.
- FREGONI, M. 1980. *Nutrizione e fertilizzazione della vite*. Ed. Edagricole, Bologna, Italia. 418 p.
- FREGONI, M. 1985. *Viticultura generale. Compendi didattici e scientifici*. Ed. Reda, Roma, Italia. 728 p.
- GARCÍA, M.; GALLEGU, P.; DAVERÈDE, C.; IBRAHIM, H. 2001. "Effect of three rootstocks on grapevine (*Vitis vinifera* L.) cv. Négrette, grown hydroponically. I. Potassium, calcium and magnesium nutrition". *South African Journal of Enology and Viticulture*, 22(2): 101-103.
- GARCÍA-ESCUADERO, E.; LORENZO, I.; ROMERO, I.; GARCÍA, C.; VILLAR, M.T.; LÓPEZ, D.; IBÁÑEZ, S.; MARTÍN, I. 2006. "Niveles de referencia en base a calidad para el diagnóstico foliar en el ámbito de la D.O.Ca. Rioja". En: *Nutrición Mineral: Aspectos fisiológicos, agronómicos y ambientales. XI Simposio ibérico sobre nutrición mineral de las plantas*. Lamsfus, C. (Ed.), Ed. Universidad Pública de Navarra. Pamplona, España, 18-21 de Julio de 2006, 2: 335-342.
- GARCÍA-ESCUADERO, E.; ROMERO, I.; BENITO, A.; DOMÍNGUEZ, N.; MARTÍN, I. 2013. "Reference Levels for Leaf Nutrient Diagnosis of cv. 'Tempranillo' grapevine in the Rioja Appellation". *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 44: 645-654.
- GARCÍA-ESCUADERO, E.; ZABALLA, O.; ARROYO, M.C.; MEDRANO, H. 1995. "Influence de l'irrigation sur la production de matiere seche et sur l'exportation de macroelements dans cv. Tempranillo". En: *Actas de las 8<sup>as</sup> Jornadas del Grupo Europeo de Sistemas de Conducción del Viñedo (GESCO)*. Ed. Cámara Municipal do Porto. Vairao, Oporto, Portugal, 3-5 de Julio de 1995, 1: 379-383.
- GARCÍA-ESCUADERO, E.; ZABALLA, O.; LAHOZ, I.; ARROYO, M.C. 2001. "Influencia de la variedad en la composición mineral de hojas de vid (*Vitis vinifera* L.) y en la calidad del vino". En: *Actas del IV Congreso Ibérico de Ciencias Hortícolas*. Sociedad Española de Ciencias Hortícolas (Eds.). Cáceres, España, 7-11 de Mayo de 2001: 1701-1708.
- GARCÍA-ESCUADERO, E.; ZABALLA, O.; GONZÁLEZ, G.; VILLAR, M.T.; ARROYO, M.C. 2002a. "Una propuesta de mejora para el abonado de la vid en la D.O.Ca. Rioja". En: *III Foro Mundial del Vino. Rioja III Milenio*. Gobierno de La Rioja (Ed.). Albelda, La Rioja, España, 23-25 de Mayo 2002: 53-56.
- GARCÍA-ESCUADERO, E.; ZABALLA, O.; GONZÁLEZ, G.; VILLAR, M.T.; ARROYO, M.C. 2002b. "Variación de la composición mineral de hojas de cv. Tempranillo según el órgano analizado y la época de muestreo". En: *III Foro Mundial del Vino. Rioja III Milenio*. Gobierno de La Rioja (Ed.). Albelda, La Rioja, España, 23-25 de Mayo 2002: 15-24.

- GINER, J.F.; GIMÉNEZ, M.; OLTRA, M.A.; FERNÁNDEZ, M.; ARCINIEGA, L. 2004. "Establecimiento de los niveles de interpretación foliar para la variedad Cencibel en la comarca de Utiel-Requena". En: *Resúmenes del X Congreso Nacional de Enólogos*. Ed. Federación Nacional de Enólogos. Valencia, España. 23-25 de Abril de 2004: 28 p.
- GOBIERNO DE LA RIOJA. CONSEJERÍA DE AGRICULTURA, GANADERÍA Y MEDIO AMBIENTE. 2013. "Anuario Estadístico de La Rioja 2013". Disponible en: [http://www.larioja.org/upload/documents/818331\\_Anuario2013.pdf?idtab=818219](http://www.larioja.org/upload/documents/818331_Anuario2013.pdf?idtab=818219)
- GÓMEZ DEL CAMPO, M.; RUIZ, C.; SOTÉS, V.; LISSARRAGUE, J.R. 2000. "Water consumption, leaf area development, and production in four grapevine varieties". *Acta Horticulturae*, 526: 193-200.
- GONZÁLEZ-ANDRÉS, F.; BERBERANA, J. 2002. "Determinación de los estándares de referencia locales en el análisis foliar de viñedos Tempranillo en la D.O. Cigales (Valladolid; España)". *Nutri-Fitos*, 83: 29-41.
- GRANT, R.S.; MATTHEWS, M.A. 1996. "The influence of phosphorus availability, scion, and rootstock on grapevine shoot growth, leaf area, and petiole phosphorus concentration". *American Journal of Enology and Viticulture*, 47(3): 217-224.
- GUTIÉRREZ, V.L.; DARIAS, J. 1998. "Niveles foliares comparativos de tres variedades de uva blanca cultivadas en Tenerife (Islas Canarias)". *Viticultura/Enología Profesional*, 59: 7-10.
- HALLMARK, W.R.; BEVERLY, R.B. 1991. "Review - An Update in the Use of the Diagnosis and Recommendation Integrated System". *Journal of Fertilizer Issues*, 3: 74-78.
- HEPNER, Y.; BRAVDO, B. 1985. "Effect of crop level and drip irrigation scheduling on the potassium status of Cabernet sauvignon and Carignane vines and its influence on must and wine composition and quality". *American Journal of Enology and Viticulture*, 36(2): 140-147.
- HIDALGO, J. 2005. "Tecnología de elaboración y soluciones enológicas al aumento de pH en los vinos debido al potasio". En: *Gestión del pH en el vino de calidad. Informe técnico*. Fundación para la cultura del Vino (Ed.), Madrid, España. 65-86.
- HILBERT, G.; SOYER, J.P.; MOLOT, C.; GIRAUDON, J.; MILIN, S.; GAUDILLERE, J.P. 2003. "Effects of nitrogen supply on must quality and anthocyanin accumulation in berries of cv. Merlot". *Vitis, Journal of Grapevine Research*, 42(2): 69-76.
- HOCKMAN, J.N.; BURGER, J.A.; SMITH, D.W. 1989. "A DRIS application to Fraser fir Christmas trees". *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 20: 305-318.
- HOENIG, M.; BAETEN, H.; VANHENTENRIJK, S.; VASSILEVA, E.; QUEVAUVILLER, P. 1998. "Critical discussion on the need for an efficient mineralization procedure for the analysis of plant material by atomic spectrometric methods". *Analytica Chimica Acta*, 358: 85-94.
- HOLZAPFEL, B.P.; TREEBY, M.T. 2007. "Effects of timing and rate of N supply on leaf nitrogen status, grape yield and juice composition from Shiraz grapevines grafted to one of three different rootstocks". *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 13: 14-22.
- ITV-Midi: Institut Technique de la Vigne et du Vin. Station Régionale Midi-Pyrénées. 2002. "Méthodologies. Prélèvement pour analyse foliaire". Disponible en: <http://www.itv-midipyrenees.com/services-professionnels/methode-analyse/prelevement-analyse-foliaire.php>
- JIREJI, R.; KELLY, M.T.; FARINES, V.; DELOIRE, A.; BRENON, E.; MILESI, F.; BLAISE, A. 2007. "Fumure azotée: influence sur les formes d'azote dans les baies de raisin de la nouaison à la maturité". *Bulletin de l'O.I.V.*, 80(914-916): 187-200.
- JONES, B.J.Jr. 1998. *Plant nutrition manual*. Ed. CRC, Boca Raton, FL, USA. 149 p.
- JONES, B.J.Jr.; WOLF, B.; MILLS, H.A. 1991. *Plant analysis handbook. A practical sampling, preparation, analysis, and interpretation guide*. Micro-Macro Publishing, Inc., Athens, GA, USA. 213 p.

- KELLER, M.; ARNINK, K.J.; HRAZDINA, G. 1998. "Interaction of nitrogen availability during bloom and light intensity during veraison. I. Effects on grapevine growth, fruit development, and ripening". *American Journal of Enology and Viticulture*, 49(3): 333-334.
- KELLER, M.; HRAZDINA, G. 1998. "Interaction of nitrogen availability during bloom and light intensity during veraison. II. Effects on anthocyanin and phenolic development during grape ripening". *American Journal of Enology and Viticulture*, 49(3): 341-349.
- KELLER, M., POOL, R.M.; HENICK-KLING, T. 1999. "Excessive nitrogen supply and shoot trimming can impair colour development in Pinot Noir grapes and wine". *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 5: 45-55.
- KLEIN, I.; STRIME, M.; FANBERSTEIN, L.; MANI, Y. 2000. "Irrigation and fertigation effects on phosphorus and potassium nutrition of wine grapes". *Vitis: Journal of Grapevine Research*, 39(2): 55-62.
- KLIEWER, W.M. 1991. "Methods for determining nitrogen status of vineyards". En: *Proceedings of the International Symposium on Nitrogen in Grapes and Wine*. Rantz, J. (Ed.), American Society for Enology and Viticulture Ed. Seattle, WA, USA, 18-19 de Junio de 1991: 133-147.
- KOCHIAN, L.V. 2000. "Molecular physiology of mineral nutrient acquisition, transport and utilization". En: *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. Buchanan, B.B.; Gruisem, W.; Jones, R.L. (eds.), American Society of Plant Physiologists Ed., Rockville, MD, USA. 1204-1249.
- KODUR, S.; TISDALL, J.M.; TANG, C.; WALKER, R.R. 2011. "Uptake, Transport, accumulation and retranslocation of potassium in grapevine rootstocks (*Vitis*)". *Vitis*, 50(4): 145-149.
- LACHICA, M.; GONZÁLEZ, C. 1976. "La vid en Chile. Determinación del equilibrio nutritivo óptimo". *Anales de Edafología y Agrobiología*, 35: 917-946.
- LAGATU, H.; MAUME, L. 1934. "Le diagnostic foliaire de la pomme de terre". *Annales de l'Ecole Nationale d'Agriculture de Montpellier*, 22: 50-158.
- LELAKIS, M.P. 1958. "Sur un nouvel optimum expérimental de l'alimentation de la vigne déterminé par le diagnostic foliaire basé sur l'analyse de feuilles prélevées au niveau des grappes (4e et 5e noeuds)". *Comptes Rendus des Seances de L'Academie d'Agriculture de France*, 44: 221-224.
- LEVY, J.F. 1969. "Les bases physiologiques du diagnostic foliaire de la vigne". *Vignes et Vins*, 177: 52-54.
- LEVY, J.F. 1968. "Les bases physiologiques du diagnostic foliaire de la vigne". En: *Memoria General del II Coloquio Europeo y Mediterráneo para el Control de la Alimentación de las Plantas Cultivadas*. Ed. Centro de Edafología y Biología Aplicada. Sevilla, España, 8-15 de Septiembre de 1968: 243-253.
- LEVY, J.F. 1967. "L'application du diagnostic foliaire a la determination des besoins alimentaires des vignes". *Vignes et Vins*, 157: 23-31.
- LEVY, J.F. 1964. "Identification et etude par l'analyse foliaire de quelques carences alimentaires de la vigne dans le midi de la France". En: *Compte rendu 1<sup>er</sup> colloque européen sur le contrôle de la nutrition minérale et de la fertilisation en viticulture, arboriculture et autres cultures méditerranéennes*. Laboratoire Coopératif de Diagnostic Foliaire (Ed.). Montpellier, France, 28 de Septiembre a 3 de Octubre de 1964: 220-226.
- LIESENMEIER, A.; RAUHUT, D.; DIEHL, H.; SCHUBERT, S.; LÖHNERTZ, O. 2006. "Influence of nitrogen fertilization on the relation of aroma quality and aroma compounds of Riesling wines". *Mitteilungen Klosterneuburg, Rebe und Wein, Obstbau und Früchteverwertung*, 56: 3-4.
- LIPKA, Z; TANNER, V. 1974. "Une nouvelle methode de dosage rapide de l'acide tartrique dans les moût, les vins et autres boissons (selon Rebelein)". *Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture et Horticulture*, 6: 5-10.
- LOUÉ, A. 1990. "Le diagnostic foliaire (ou petiolaire) dans les enquetes de nutrition minerale des vignes". *Le Progrès Agricole et Viticole*, 107(20): 439-453.

- LOUÉ, A.; GAGNARD, J., MORARD, P. 1987. "Vignes". En: *Plant Analysis as a Guide to the Nutrient Requirements of Temperate and Tropical Crops*. Martín-Prevel, P.; Gagnard, J.; Gautier, P. (Eds.), Ed. Lavoisier, París, France. 193 p.
- LUCENA, J.J. 1997. "Methods of diagnosis of mineral nutrition of plants. A critical review. Mineral Nutrition and Fertilizer Use for Deciduous Fruit Crops". *Acta Horticulturae*, 448: 179-191.
- MAGRAMA: MINISTERIO DE AGRICULTURA, ALIMENTACIÓN Y MEDIO AMBIENTE. 2013. "Encuesta sobre Superficies y Rendimientos de Cultivos (ESYRCE)". Disponible en: [http://www.magrama.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/Vi%C3%B1edo2012\\_tcm7-271019.pdf](http://www.magrama.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/Vi%C3%B1edo2012_tcm7-271019.pdf)
- MAPA: MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACIÓN. 2004. Los parásitos de la vid. Estrategias de Protección Razonada. Ed. Mundiprensa, Madrid, España. 391 p.
- MAPA: MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACIÓN. 2003. "Variedades de Vid. Registro de Variedades Comerciales". Ed. M.A.P.A., Secretaría General Técnica. Madrid. 301 p.
- MAPA: MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACIÓN. 1986. *Métodos oficiales de análisis*. Ed. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid, España. 662 p.
- MARÍN, A.; ALONSO-MARTIRENA, J.I.; ANDRADES, M.; PIZARRO, C. 2000. "Contenido de metales pesados en suelos de viñedo de la D.O.Ca Rioja". *Edafología*, 7(3): 351-357.
- MARSCHNER, H. 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. 2nd Edition. Academic Press, London, England. 889 p.
- MARTÍN, I.; BENITO, A.; ROMERO, I.; DOMÍNGUEZ, N.; GARCÍA-ESCUADERO, E. 2013. "Preliminary Diagnosis and Recommendation Integrated System Norms for Leaf Nutrient Diagnosis of Tempranillo grapevine in the Rioja Appellation". *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 44: 655-667.
- MARTÍN, I.; PRIETO, M.; LÓPEZ, M.C.; ALONSO, N.; CADAHÍA, C.; EYMAR, E. 2007. "Preliminary norms for DRIS to fertigate ornamental shrubs". *Journal of Plant Nutrition* 30: 21-35.
- MARTÍN, I.; ROMERO, I.; LORENZO, I.; DOMÍNGUEZ, N.; MANGADO, A.; LÓPEZ, D.; IBAÑEZ, S.; GARCÍA-ESCUADERO, E. 2007. "Evaluación preliminar de la metodología DRIS para el diagnóstico nutricional de la vid (*Vitis vinífera* L.), variedad Tempranillo". En: *II Jornadas del Grupo de Fertilización de la Sociedad Española de Ciencias Hortícolas (S.E.C.H)*. Suso, M.L.; Pardo, A.; Vázquez, N. (Eds.), Ed. Gobierno de La Rioja-S.E.C.H. Logroño, España, 27-29 de Noviembre de 2007: 210-217.
- MARTÍN, P.; DELGADO, R.; GONZÁLEZ, M.R.; GALLEGOS, J.I. 2004. "Colour of 'Tempranillo' grapes as affected by different nitrogen and potassium fertilization rates". *Acta Horticulturae*, 652:153-160.
- MARTÍNEZ ABAIGAR, J.; NÚÑEZ OLIVERA, E.; TOMÁS LAS HERAS, R. 1994. *Agroclimatología de La Rioja*. Ed. Instituto de Estudios Riojanos, Logroño, España. 155 p.
- MARTINEZ, J.M.; ETXALEKU, N.; PAVÓN, F.; GÓMEZ, N. 2006. *Cartografía de suelos. Finca Valdegón, Agoncillo, La Rioja (Escala 1:5.000)*. Datos no publicados.
- MAY, P. 2004. *Flowering and Fruitset in Grapevines*. Lythrum Press, Adelaide, South Australia. 119 p.
- MENGEL, K.; KIRKBY, E.A. 2001. *Principles of plant nutrition*. 5th edition. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. 849 p.
- MONTAÑÉS, L.; HERAS, L.; ABADÍA, J.; SANZ, M. 1993. "Plant Analysis Interpretation based on a new index: Deviation from optimum percentage (DOP)". *Journal of Plant Nutrition*, 16: 1289-1308.
- MONGUE, E.; MONTAÑÉS, L.; VAL, J.; SANZ, M. 1995. "A comparative study of the DOP and the DRIS methods, for evaluating the nutritional status of peach trees". *Acta Horticulturae*, 383: 191-199.
- MORARD, P.; TORRES, P.; ANDRÉ, L. 1981. "Influence des porte-greffes sur la nutrition minerale de la vigne (variété Grenache)". *Le Progrès Agricole et Viticole*, 98(15/16): 604-608.

- MOURAO FILHO, F.A.A. 2004. "DRIS: Concepts and Applications on Nutritional Diagnosis in Fruit Crops". *Scientia Agrícola*, 61: 550-560.
- MPELASOKA, B.S.; SCHACHTMAN, D.P.; TREEBY, M.T.; THOMAS, M.R. 2003. "A review of potassium nutrition in grapevines with special emphasis on berry accumulation". *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 9(3): 154-168.
- NAGARAJAH, S. 1999. "A petiole sap test for nitrate and potassium in Sultana grapevines". *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 5(2): 56-60.
- NAGARAJAH, S.; KYLE, G; NESBITT, A.; WILLOUGHBY, S. 2001. "Sap tests for phosphate, sodium, chloride and calcium in grapevine petioles". *Australian and New Zealand grapegrower and winemaker*, 450: 28-32.
- NAVARRO, S.; LEÓN, M.; ROCA-PÉREZ, L; BOLUDA, R.; GARCÍA-FERRIZ, L.; PÉREZ-BERMÚDEZ, P.; GAVIRIA, I. 2008. "Characterisation of Bobal and Crujidera grape cultivars, in comparison with Tempranillo and Cabernet Sauvignon: Evolution of leaf macronutrients and berry composition during grape ripening". *Food Chemistry*, 108(1): 182-190.
- NAVARRO, S.; NAVARRO, G. 2003. *Química agrícola*. Ed. Mundiprensa, Madrid, España. 487 p.
- O.I.V. ORGANIZACIÓN INTERNACIONAL DE LA VIÑA Y EL VINO. 1996. Resolution Viti 4/95. "Diagnostic Foliaire: Une Méthode Harmonisée". *Bulletin de L'O.I.V.*, 68(779-780): 35-40.
- PAPADAKIS, J. 1966. *Climates of the world and their agricultural potentialities*. Editado por el autor, Buenos Aires, Argentina. 174 p.
- PAREJO J. 1991. *Evolución durante el ciclo vegetativo, del contenido peciolar en elementos minerales, en distintas variedades de Vitis vinifera L.* Tesis doctoral. E.T.S. Ingenieros Agrónomos, Universidad Politécnica de Madrid, España. 408 p.
- PAREJO, J.; GONZALO, A.; GIRO, P. 1992. "Seasonal differences of nutrient level in Chardonnay". En: *Proceedings of the 4th International Symposium on Grapevine Physiology*. Fondazione Giovanni Dalmasso-Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste (Eds.). Istituto Agrario San Michele All'Adiege, Torino, 11-15 de Mayo de 1992: 171-174.
- PEACOCK, W.L.; CHRISTENSEN, P.; HIRSCHFELT, D.J. 1991. "Efficient uptake and utilization of nitrogen in drip- and furrow-irrigated vineyards". En: *Proceedings of the International Symposium Nitrogen in Grapes and Wines*. Rantz, J. (Ed.), American Society for Enology and Viticulture Ed. Seattle, WA, USA, 18-19 de Junio de 1991: 116-119.
- PEARSON, R.C.; GOHEEN, A.C. 1996. *Plagas y Enfermedades de la vid*. Ed. Mundi-Prensa. Madrid. 91 p.
- PHIOLA, J.A. 2005. "Tissue Sampling For Vineyards". University of Maryland Cooperative Extensión. Disponible en: <http://www.westernmaryland.umd.edu/pages/PetioleSampleFSdraft070505.pdf>
- PONI, S. ; INTRIERI, C. ; SILVESTRONI, O. 1994. "Interactions of Leaf Age, Fruiting and Exogenous Cytokinins in Sangiovese Grapevines Under Non-Irrigated Conditions. II. Chlorophyll and Nitrogen Content". *American Journal of Enology and Viticulture*, 45(3): 278-284.
- PONI, S.; QUARTIERI, M.; TAGLIAVINI, M. 2003. "Potassium nutrition of Cabernet Sauvignon grapevines (*Vitis vinifera* L.) as affected by shoot trimming". *Plant and Soil*, 253: 341-351.
- PORRO, D.; DORIGATTI, C.; STEFANINI, M.; CESCHINI, A. 2001. "Use of SPAD meter in diagnosis of nutritional status in apple and grapevine" *Acta Horticulturae*, 564: 243-252.
- PORRO, D.; STEFANINI, M.; FAILLA, O.; STRINGARI, G. 1995. "Optimal leaf sampling time in diagnosis of grapevine nutritional status". *Acta Horticulturae*, 383: 135-142.
- ROBINSON, J. B. 2005. "Critical plant tissue values and application of nutritional standards for practical use in vineyards". En: *Proceedings of the Soil Environment and Vine Mineral Nutrition Symposium*. Christensen, L.P.; Smart, D.R. (Eds.), American Society for Enology and Viticulture Ed. San Diego, CA, USA, 29-30 de Junio de 2004: 61-68.

- ROBINSON, J.B. 1995. "Grapevine Nutrition". En: *Viticulture. Volume 2. Practices*. Coombe, B.G; Dry, P.R. (Eds), Winetitles Ed., Adelaide, Australia. 178-208.
- ROBINSON, J.B.; NICHOLAS, P.R.; MCCARTHY, J.R. 1978. "A comparison of three methods of tissue analysis for assessing the nutrient status of plantings of *Vitis vinifera* in an irrigated area in South Australia". *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry*, 18: 294-300.
- RODRIGUEZ-LOVELLE, B. 2003. *Guide de la fertilisation raisonnée. Vignobles de la Vallée du Rhône*. Institut Rhodanien, Orange, France. 39 p.
- RODRIGUEZ-LOVELLE, B.; SOYER, J.P.; MOLOT, C. 1999. "Efectos del enherbado en viticultura sobre la nutrición mineral, el rendimiento y el vigor". *Investigación agraria. Producción y Protección Vegetales*, 14(1-2): 131-146.
- RUFTY, T.W.Jr.; JACKSON, W.A.; RAPER, C.D.Jr. 1981. "Nitrate reduction in roots as affected by presence of potassium and by flux of nitrate through the roots". *Plant Physiology*, 68: 605-609.
- ROMERO, I.; GARCÍA-ESCUADERO, E.; MARTÍN, I. 2013. "Leaf blade vs. petiole analysis for nutritional diagnosis of *Vitis vinifera* L cv. Tempranillo". *American Journal of Enology and Viticulture*, 64: 50-64.
- ROMERO, I.; GARCÍA-ESCUADERO, E.; MARTÍN, I. 2010. "Effects of leaf position on blade and petiole mineral nutrient concentration of Tempranillo grapevine (*Vitis vinifera* L.)". *American Journal of Enology and Viticulture*, 61: 544-550.
- SALISBURY, F.B.; ROSS, C. 1992. *Plant physiology*. 4th Edition. Wadsworth Publishing Company, Belmont, CA, USA. 682 p.
- SAMISH, R.M.; MOSCICKI, W.Z.; KESLER, B.; HOFFMAN, M. 1960. "Nutritional survey of Israel vineyards and olive groves by foliar analysis". *Special report, The National and University Institute of Agriculture, The Volcani Center*. 98-125.
- SANZ, M. 1999. "Evaluation of interpretation of DRIS system during growing season of the peach tree: Comparison with DOP method". *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 30: 1025-1036.
- SANZ, M. 1991. "Foliar diagnosis in peach tree: reference nutrient contents throughout the season". *Anales de Aula Dei*, 20(3-4): 67-73.
- SAROSI, M. 1965. "Études effectuées en Hongrie en relation avec le contrôle de la nutrition de la vigne par l'analyse des feuilles". *Vignes et Vins*, 140: 22-30.
- SCHALLER, K. 2007. "Leaf nutrient diagnosis – towards a more sustainable viticulture". En: *Proceedings of the XXX O.I.V. World Congress of Vine and Wine*. Ed. Organización Internacional de la Vid y del Vino. Budapest, Hungary. 10-16 de Junio de 2007: 6 p.
- SCHALLER, K. 2006. "Evaluation of the nutritional perennial status of crops - possibilities and pitfalls of leaf analysis". *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine, Cluj-Napoca. Horticulture*, 63(1-2): 5-10.
- SCHALLER, K.; LÖHNERTZ, O.; MICHEL, H. 2002. "Modified DRIS-system for leaf analysis to optimise fertilizer inputs-Further developments with grapevines". *Acta Horticulturae*, 594: 369-375.
- SCHALLER, K.; LÖHNERTZ, O.; MICHEL, H. 1995. "Improvements of the DRIS-system and first experiences in grapevine nutrition with special consideration of the compositional nutrient diagnosis approach". *Acta Horticulturae*, 383: 171-179.
- SCHREINER, R.P. 2005. "Spatial and temporal variation of roots, arbuscular mycorrhizal fungi, and plant and soil nutrients in a mature Pinot noir (*Vitis vinifera* L.) vineyard in Oregon, USA". *Plant and Soil*, 276: 219-234.
- SCHREINER, R.P. 2004. "Mycorrhizas and Mineral Acquisition in Grapevines". En: *Proceedings of the Soil Environment and Vine Mineral Nutrition Symposium*. Christensen, L.P.; Smart, D.R. (Eds.), American Society for Enology and Viticulture Ed. San Diego, CA, USA, 29-30 de Junio de 2004: 49-60.

- SCHREINER, R.P.; SCAGEL, C.F. 2006. "Nutrient uptake and distribution in a mature Pinot noir vineyard". *HortScience*, 41(2): 336-345.
- SIPIORA, M.J.; ANDERSON, M.M.; MATTHEWS, M.A. 2004. "A role of irrigation in managing vine potassium status on a clay soil". En: *Proceedings of the Soil Environment and Vine Mineral Nutrition Symposium*. Christensen, L.P.; Smart, D.R. (Eds.), American Society for Enology and Viticulture Ed. San Diego, CA, USA, 29-30 de Junio de 2004: 153-169.
- SKINNER, P.W.; MATTHEWS, M.A. 1991. "A novel interaction of magnesium translocation with the supply of phosphorus to roots of grapevine, *Vitis vinifera* L.". *Plant, Cell and Environment*, 13: 821-826.
- SKINNER, P.W.; MATTHEWS, M.A.; CARLSON, R.M.. 1987. "Phosphorus requirements of wine grapes: extractable phosphate of leaves indicates phosphorus status". *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 112: 449-454.
- SMART, R.E. 2005. "Higher yields cause low wine quality". *Wine Business Monthly*. November, 2005.
- SMART, R.E.; ROBINSON, M.D. 1991. *Sunlight into Wine: A Handbook for Winegrape Canopy Management*. Winetitles Ed., Underdale, South Australia. 88 p.
- S.S.S.: SOIL SURVEY STAFF. 2006. *Keys to Soil Taxonomy*. 10th edition. U.S. Department of Agriculture-Natural Resources Conservation Service. USA. 332 p.
- SOYER, J.P. 2005. "Fertilización potásica y acidez de los mostos y los vinos." En: *Gestión del pH en el vino de calidad. Informe técnico*. Fundación para la cultura del Vino (Eds.), Madrid. España. 45-54.
- SPAYD, S.E.; WAMPLE, R.L.; STEVENS, R.G; EVANS, R.G; KAWAKAMI, A.K. 1993. "Nitrogen Fertilization of White Riesling in Washington: Effects on Petiole Nutrient Concentration, Yield, Yield Components, and Vegetative Growth". *American Journal of Enology and Viticulture*, 44(4): 378-386.
- SPRING, J.L. 1999. "Indice chlorophyllien du feuillage et nutrition azotée du cépage Chasselas. Premières expériences en Suisse romande". *Revue suisse de Viticulture, Arboriculture et Horticulture*, 31(3): 141-145.
- SPRING, J.L.; RYSER, J.P.; SCHWARZ, J.J.; BASLER, P.; BERTSCHINGER, L.; HÄSELI, A. 2003. "Données de base pour la fumure en viticulture (Revisión 2003)". *Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture et Horticulture*, 35(4): 1-24.
- STEVENS, R.M. 2004. "Vine nutritional response to adverse physical and chemical effects of intermittent irrigation with saline High-SAR Water". En: *Proceedings of the Soil Environment and Vine Mineral Nutrition Symposium*. Christensen, L.P.; Smart, D.R. (Eds.), American Society for Enology and Viticulture Ed. San Diego, CA, USA, 29-30 de Junio de 2004: 25-38.
- STRINGARI, G; PORRO, D.; FAILLA, O.; MÖLLER, F. 1997. "A method to assess and manage leaf analysis standards according to genetic and environmental variability". *Acta Horticulturae*, 448: 145-153.
- SUMNER, M.E. 1978. "Interpretation of foliar analyses for diagnostic purposes". *Agronomy Journal*, 71: 343-348.
- SUMNER, M.E. 1977. "Application of Beaufile's Diagnostic Indices to maize data published in the literature irrespective of age and conditions". *Plant and Soil*, 46: 359-369.
- SZÓKE, L.; VANEK, G.; SZABO, T. 1992. "Nutrient Uptake Dynamics of Grapevine During the Vegetation". En: *Proceedings of the 4th International Symposium on Grapevine Physiology*. Fondazione Giovanni Dalmasso-Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste (Eds.). Istituto Agrario San Michele All'Adige. Torino, Italia, 11-15 de Mayo de 1992: 165-170.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. 2002. *Plant physiology*. 3rd edition. Sinauer Associates, Inc., Sunderland. MA, USA. 690 p.
- TANDONNET, J.P.; SOYER, J.P.; GAUDILLÈRE, J.P.; DECROOCQ, S.; BORDENAVE, L.; OLLAT, N. 2008. "Long term effects of nitrogen and water supply on conferred vigour and yield by SO4 and

- Riparia Gloire de Montpellier rootstocks”. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 42(2): 89-98.
- TARDÁGUILA, J.; BERTAMINI, M.; GIULIVO, C.; SCIENZA, A. 1995. “Rootstock effects on growth, dry weight partitioning and mineral nutrient concentration of grapevine”. *Acta Horticulturae*, 388: 111-116.
- TREEBY, M.T.; HOLZAPFEL, B.P.; PICKERING, G.J.; FRIEDRICH, C.J. 2000. “Vineyard nitrogen supply and Shiraz grape and wine quality”. *Acta Horticulturae*, 512: 77-92.
- U.E. 1990. Reglamento (CEE) nº 2676/90 de la Comisión de 17 de septiembre de 1990 por el que se determinan los métodos de análisis comunitarios aplicables en el sector del vino (DO L 272 de 3.10.1990, p. 1).
- VAN LEEUWEN, C.; FRIANT, P.; SOYER, J.P.; MOLOT, C.; CHONE, X.; DUBORDIEU, D. 2000. “Measurement of total nitrogen and assimilable nitrogen in grape juice to assess vine nitrogen Status”. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 34(2): 75-82.
- VIVIN, P., CASTELAN-ESTRADA, M.; GAUDILLERE, J.P. 2003. “Seasonal changes in chemical composition and construction costs of grapevine tissues”. *Vitis*, 42: 5-12.
- WALKER, R.R.; BLACKMORE, D.H.; CLINGELEFFER, P.R.; CORRELL, R.L. 2004. “Rootstock effects on salt tolerance of irrigated field-grown grapevines (*Vitis vinifera* L. cv. Sultana). 2. Ion concentrations in leaves and juice”. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 10: 90–99.
- WALWORTH, J.L.; SUMNER, M.E. 1987. “The Diagnosis and Recommendation Integrated System (DRIS)”. *Advances in Soil Science*, 6: 149-188.
- WHITE, R.E. 2009. “The nutrition of grapevines”. En: *Understanding Vineyard Soils*. Oxford University Press Ed., NY, USA. 230 pp.
- WILLIAMS, L.E. 2005. “Reassessment of grapevine petiole analyses and guidelines for N and K”. En: *Grape Day Proceedings*. Kearney Agricultural Center-University of California (Eds.). Parlier, CA, USA, 12 de Agosto de 2005: 1-20.
- WOLF, T.K. 2007. “Mineral Nutrition”. En: *The North Carolina Winegrape Grower’s Guide*. North Carolina Cooperative Extension Service, College of Agriculture and Life Sciences of the NC State University (Eds.), Raleigh, NC, USA. 14 p.
- WOLPERT, J.A.; ANDERSON, J.M. 2007. “Rootstock Influence on Grapevine Nutrition: Minimizing Nutrient Losses to the Environment”. En: *Proceedings of the California Plant and Soil Conference*. California Chapter of the American Society of Agronomy (Ed.). Sacramento, CA, USA, 6-7 de Febrero de 2007: 77-83.
- WOLPERT, J.A.; SMART, D.R.; ANDERSON, J.M. 2005. “Lower Petiole Potassium Concentration at Bloom in Rootstocks with *Vitis berlandieri* Genetic Backgrounds”. *American Journal of Enology and Viticulture*, 56(2): 163-169.
- ZABALLA, O.; GARCÍA-ESCUADERO, E.; CHÁVARRI, J.B.; MEDRANO, H.; ARROYO, M.C. 1997. “Influence of vine irrigation (*Vitis Vinifera* L.) on potassium nutrition”. *Acta Horticulturae*, 448: 219-224.



## **VI. Anexos**

---

- 1.- Métodos de análisis y determinación.
- 2.- Encuestas de caracterización de los viñedos estudiados para la determinación de los niveles de referencia



## **VI.1.- MÉTODOS DE ANÁLISIS Y DETERMINACIÓN**

### **VI.1.1.- CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DEL SUELO**

Todos los análisis de suelo se han llevado a cabo en el Laboratorio Regional de La Grajera, según métodos oficiales del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (D.G.P.A., 1986), excepto en los que se indica el método seguido para realizarlos.

#### **Textura:**

Se utiliza el método de la pipeta de Robinson (método oficial). Está basado en el hecho de que la sedimentación elimina, en una zona de profundidad  $h$  y en un tiempo  $t$ , todas las partículas cuyas velocidades de sedimentación sean mayores de  $h/t$ , mientras que las partículas que tengan velocidades de sedimentación inferiores a la citada se mantienen en dicha zona a la concentración original. Los resultados se expresan en % arena, % limo y % arcilla.

#### **Carbonatos:**

Cuando se tratan los carbonatos con ácido clorhídrico (HCl) a temperatura constante en un dispositivo cerrado, el incremento de volumen (a presión constante) o de presión (a volumen constante) es una medida directa del  $\text{CO}_2$  desprendido, cuando no se producen otros gases. El aparato utilizado para medir el incremento de volumen se denomina calcímetro Williams. Los datos obtenidos son % de carbonatos totales.

#### **Caliza activa:**

Se calcula por una dosificación gasométrica de  $\text{CO}_2$ , del carbonato amónico, formado al reaccionar el carbonato cálcico  $[\text{CaCO}_3]$  activo con el oxalato amónico en disolución. Equipo: calcímetro Bernard, anotando el volumen de  $\text{CO}_2$  desprendido. Los resultados se expresan en % caliza activa.

#### **Materia orgánica oxidable:**

Se determina la materia orgánica del suelo que se oxida con dicromato potásico 1 N. en presencia de ácido sulfúrico. El exceso de oxidante se valora con sulfato ferroso-amónico (sal de Möhr) y la cantidad de materia orgánica se calcula a partir de la cantidad de dicromato reducido, teniendo en cuenta un factor de conversión de carbono a materia orgánica en el

supuesto de que la materia orgánica contiene un 58% de carbono y un factor de recuperación considerando que sólo se oxida el 77% de la M.O. presente.

Se expresa en % materia orgánica oxidable. El equipo dosificador utilizado es un autovalorador de la marca Metrom modelo DM 798 Titrino.

#### **pH:**

El pH de las muestras de suelo se determina en agua 1/5. Se pesan 10 g. de suelo y se le añaden 50 ml de agua destilada. En esta suspensión se introducen los electrodos para medir el pH en el líquido sobrenadante. El pH-metro utilizado es un equipo autovalorador Crison Multimeter MM41, con un electrodo de pH (5014).

#### **Conductividad eléctrica:**

Se determina en agua 1/5 a 25°C con un ionómetro Crison MM41, con electrodo de conductividad (5670) y sonda de temperatura. Los resultados son expresados en mmhos/cm.

#### **Capacidad total de cambio, magnesio y calcio asimilable:**

Los cationes retenidos en el suelo son intercambiados con los iones de hexamincobalto de la disolución y la capacidad total de cambio es obtenida por diferencia entre la cantidad inicial de hexamincobalto en solución y la cantidad restante en el extracto, después de producirse el intercambio de iones.

El reactivo utilizado para la extracción es el Cohex, tricloruro de cobalto examina  $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]$ . A 2,5 g de suelo se le añaden 50 mL de extractante y, tras una hora de agitación a 20°C, se filtra el extracto, se centrifuga a 2000 rpm durante 5 minutos, se centrifuga y, una vez filtrado, se mide la absorbancia a 475 nm. El espectrofotómetro utilizado es de UV-visible el modelo 8625 Philips. Se expresa en  $\text{mmol}_c \cdot 100\text{g}^{-1}$  de suelo.

#### **Fósforo, Potasio, Sodio, Magnesio, Calcio, Hierro, Manganeso, Zinc, Cobre, cloruros y sulfatos:**

Se realiza una extracción con el reactivo Melhich 3 que contiene:  $\text{CH}_3\text{COOH}$  0,2 M;  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  0,25 M;  $\text{NH}_4\text{F}$  0,015 M;  $\text{HNO}_3$  0,01 M y EDTA 0,01 M a pH 2,5 con una relación suelo:disolución 1:10 y un tiempo de agitación de 10 minutos. Posteriormente se realiza una

determinación mediante emisión atómica ICP-OES, utilizando un espectrofotómetro de emisión de plasma modelo: óptima 3300 Dv (Perkin Elmer). Se expresa en  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  suelo.

### **VI.1.2.- CALIDAD DEL MOSTO**

Los análisis se realizaron en los laboratorios del CIDA y los métodos utilizados para llevarlos a cabo fueron los establecidos por el **Reglamento de la CEE N° 2676/90** de la Comisión de 17 de septiembre de 1990: “Métodos de análisis comunitarios en el Sector del vino”. Para aquellos no especificados en este reglamento, se indica el método empleado.

Los parámetros determinados y los métodos analíticos empleados fueron los siguientes:

#### **Densidad**

La densidad relativa a 20° C o densidad 20° C/20° C es la relación, expresada en número decimal, entre la masa de cierto volumen de vino o de mosto a 20°C y la masa del mismo volumen de agua a la misma temperatura. Se determinó mediante aerometría.

#### **pH**

Es una medida de la acidez real del vino, expresada como la concentración de iones hidrógeno libres en disolución. La medida del pH se fundamenta en la diferencia de potencial entre dos electrodos (de referencia y de medida) sumergidos en el vino y conectados a un pHmetro (micropH 2001 CRISON).

#### **Acidez total**

Es la suma de los ácidos valorables del vino cuando se lleva a pH 7 añadiendo una solución alcalina valorada. Se determinó mediante valoración potenciométrica con hidróxido sódico (NaOH 0.1 N) hasta pH 7, de 20 ml de vino.

#### **Ácido málico**

Fue determinado mediante kit enzimático comercial (Boehringer-Manhein), basado en una serie de reacciones sucesivas en las que se libera una cantidad de NADH proporcional a la concentración del compuesto estudiado, que se determina en base a su absorbancia a 340 nm.

#### **Potasio**

El potasio se determina directamente, en la muestra diluida de mosto o vino, en una disolución tampón de cloruro de cesio que evita la ionización del potasio. Se determinó por espectrofotometría de emisión atómica a 766,7 nm (Perkin-Elmer 3100), empleando un mechero con llama de acetileno/aire.

## **VI.2.- ENCUESTAS DE CARACTERIZACIÓN DE LOS VIÑEDOS ESTUDIADOS PARA LA DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES DE REFERENCIA.**

Las encuestas fueron diseñadas por el personal de la sección de Viticultura y Enología del Servicio de Investigación y Desarrollo Tecnológico Agroalimentario, con la colaboración de una red de técnicos en viticultura, en el año 2000. Se reproducen en su formato original.

### **VI.2.1.- ENCUESTA INICIAL**

CÓDIGO:

#### **I. DATOS DEL COLABORADOR**

APELLIDOS:

NOMBRE:

DIRECCIÓN:

POBLACIÓN:

TELÉFONO:

FAX:

e-MAIL:

#### **II. UBICACIÓN DE LA PARCELA**

POLÍGONO:

Nº PARCELA:

PAGO:

TERMINO MUNICIPAL:

SUBZONA:

### III. CARACTERÍSTICAS DEL TERRENO

#### III.1 TOPOGRAFÍA DE LA PARCELA

- TERRENO LLANO
- TERRENO PENDIENTE 
  - \* Pendiente < 5%
  - \* Pendiente 5-10%
  - \* Pendiente >10%

#### III.2 DRENAJE DE LA PARCELA

SI NO

- DIFICULTAD DE DRENAJE
- PROBLEMAS DE ASFIXIA RADICULAR

#### III.3 ALTITUD

- < 300 m.
- 300 - 500 m.
- > 500 m.

#### III.4 EXPOSICIÓN

- SUR
- NORTE
- ESTE
- OESTE
- OTRAS

Especificar:

#### III.5 PERFIL DEL SUELO

- PROFUNDIDAD DEL SUELO (explorable por las raíces)
  - \* Poco profundo (< 50 cm.)
  - \* Medianamente profundo (50-100 cm.)
  - \* Profundo (>100 cm.)

- HOMOGENEIDAD DEL SUELO SI NO
- \* Existencia de horizontes heterogéneos
- (horizonte de arcilla, petrocálcico, elementos gruesos,...)
- Especificar:

### III.6 TEXTURA

- ARCILLOSA (Pesada)
  - FRANCA (Media)
  - ARENOSA (Suelta)
  - OTRAS
- Especificar:

- Presencia de elementos gruesos

### III.7 ESTRUCTURA

- MIGAJOSA
- GRANULAR
- LAMINAR
- POLIÉDRICA

### III.8 FERTILIDAD DEL SUELO

- BAJA
- MEDIA
- ALTA

### III.9 SALINIDAD

SI NO

### III.10 CALIZA

- BAJA
- MEDIA
- ALTA

## IV. CARACTERÍSTICAS CLIMÁTICAS

### IV.1 RÉGIMEN PLUVIOMÉTRICO

- PRECIPITACIÓN MEDIA ANUAL:

- \* < 300 mm.
- \* 300-400 mm.
- \* > 400 mm.

- % PRECIPITACIÓN VERANO/ PRECIPITACIÓN ANUAL: %  
(Verano= Junio-Julio-Agosto-Setiembre)

### IV.2 ACCIDENTES CLIMÁTICOS

- HELADAS

- \* Primavera
- \* Otoño-Invierno

- GRANIZO

- VIENTO

- ASURADO

- RIADA

- OTROS

Especificar:

## V. CARACTERÍSTICAS DEL VIÑEDO

SUPERFICIE DE LA PARCELA:

VARIEDAD:

PORTAINJERTO:

AÑO DE PLANTACIÓN:

MODALIDAD DE PLANTACIÓN:

- Injerto en campo
- Planta-Injerto
- Desfonde
- Subsolado
- Otros

Especificar:

- Abonado de fondo SI NO

Especificar:

CULTIVOS ANTERIORES:

V.1 FENOLOGÍA (Fecha aproximada)

- BROTACIÓN:

- FLORACIÓN:

- ENVERO:

- VENDIMIA:

V.2 VIGOR DE LA PLANTA

- BAJO (< 500g. madera/cepa)

- MEDIO (500-1000 g. madera/cepa)

- ALTO (> 1000 g. madera/cepa)

V.3 PRODUCCIÓN

→ RENDIMIENTO (Media de los últimos cinco años)

- < 5000 kg/ha

- 5000-7500 kg/ha

- 7500- 10000 kg/ha

- > 10000 kg/ha

- Rendimiento Campaña 1999:

→ ANOMALÍAS DE LA FECUNDACIÓN

- FILAGE (Desarrollo de muchos zarcillos)

- CORRIMIENTO

- MILLERANDAGE (Desarrollo desigual de los granos del racimo)

Comentarios:

#### V.4 NIVEL DE AGOSTAMIENTO DE LOS SARMIENTOS

- MALO
- REGULAR
- BUENO

#### V.5 ÉPOCA DE MADURACIÓN DE LA UVA

- PRECOZ
- MEDIA
- TARDÍA

#### V.6 CARACTERÍSTICAS DEL MOSTO (Media de los últimos cinco años)

- GRADO
  - \* < 10
  - \* 10-11
  - \* 11-12
  - \* 12-13
  - \* > 13
- Grado Campaña 1999:
- ACIDEZ
  - \* Baja
  - \* Media
  - \* Alta
- Acidez Campaña 1999:

#### V.7 VALORACIÓN DEL ESTADO SANITARIO DE LA PARCELA (Apreciación media)

- DEFICIENTE
- REGULAR
- BUENO

parcela: - Principales plagas, enfermedades y alteraciones no parasitarias de la

VI. CONDUCCIÓN DEL VIÑEDO
---------------------------

VI.1 DISPOSICIÓN DE LA PLANTACIÓN

- MARCO

\* Separación entre filas (m.):

\* Separación entre cepas (m.):

- DENSIDAD (nº cepas/ha):

VI.2 ORIENTACIÓN DE LAS FILAS

- NORTE-SUR

- ESTE-OESTE

- OTRAS

Especificar:

VI.3 SISTEMA DE PODA

- VASO

\* N° brazos:

\* N° pulgares:

\* N° yema/pulgar:

\* Altura del tronco:

Comentarios y breve descripción:

- CORDÓN

\* SIMPLE

\* DOBLE

\* N° pulgares/brazo:

\* N° yema/pulgar:

\* Altura del tronco:

\* TIPO DE ESPALDERA:

→ Poste de madera

→ Poste metálico

→ Otros

Especificar:

→ N° de alambres:

Comentarios y breve descripción de la “espaldera” (separación entre postes , entre alambres,...):

- OTROS (Guyot, abanico, ...)

Especificar:

#### VI.4 OPERACIONES EN VERDE

- ESPERGURADO

- DESNIETE

- DESPUNTE

- DESHOJADO

- ACLAREO DE RACIMOS

- OTROS

Especificar:

#### VI.5 MICROCLIMA (Exposición) DE HOJAS Y RACIMOS

- Superposición (“amontonamiento”) de hojas

SI NO

- Exposición de racimos

\* BUENA

\* MALA

### VII. MANTENIMIENTO DEL SUELO

- LABOREO

- HERBICIDAS

Especificar herbicidas:

- CUBIERTA VEGETAL

→ Espontánea

→ Siembra

Especificar:

- TÉCNICAS MIXTAS (combinación de las anteriores)

Comentarios y breve descripción:

- PRINCIPALES MALAS HIERBAS PRESENTES EN LA PARCELA:

VIII. PROTECCIÓN DEL VIÑEDO
-----------------------------

VIII.1 PLAGAS

- ACARIOSIS

- PIRAL

- POLILLA

- OTROS

Especificar:

VIII.2 ENFERMEDADES

- MILDIU

- OIDIO

- BOTRITIS

- EUTIPA

- YESCA

- OTRAS

Especificar:

VIII.3 OTRAS ALTERACIONES PARASITARIAS

- VIRUS

Especificar:

- BACTERIAS

Especificar:

- OTRAS

Especificar:

#### VIII.4 LUCHA FITOSANITARIA (nº tratamientos)

AGENTE PARASITARIO	PRODUCTO MÁS UTILIZADO	Nº DE TRATAMIENTOS	OBSERVACIONES
ACARIOSIS PIRAL POLILLA MILDIU OIDIO BOTRITIS EUTIPA YESCA OTROS,...			

Comentarios:

#### IX. RÉGIMEN HÍDRICO

- SECANO

- REGADÍO

→ RIEGO DE INVIERNO

\* Manta

\* Aspersión

\* Localizado

\* Cantidad de agua aplicada (m<sup>3</sup>/ha):

\* Época de riego:

→ RIEGO DE VEGETACIÓN

\* Manta

\* Aspersión

\* Localizado

\* Cantidad de agua aplicada (m<sup>3</sup>/ha):

\* Época y frecuencia de riego:

X. FERTILIZACIÓN
------------------

X.1 ABONADO ORGÁNICO DE MANTENIMIENTO

- Tipo de abono:
  - Cantidad aportada (kg/ha)
  - Frecuencia:
  - Época:
  - Modalidad
    - \* Superficie
    - \* Localizado
    - \* Otros
- Especificar:

X.2 ABONADO MINERAL DE MANTENIMIENTO

- Tipo de abono:
  - Cantidad aportada por tipo de abono (kg/ha):
  - Frecuencia:
  - Época:
  - Modalidad
    - \* Superficie
    - \* Localizado
    - \* Fertirrigación
    - \* Otros
- Especificar:

X.3 ABONADO FOLIAR

- Tipo de abono:
- Cantidad aportada por tipo de abono (kg/ha):
- Frecuencia:
- Época:

#### X.4 VALORACIÓN DEL ESTADO NUTRICIONAL DE LA PLANTA

- SIN PROBLEMAS
- CON PROBLEMAS

##### → CARENCIAS → TOXICIDADES

- \* NITRÓGENO  \* BORO
- \* FOSFORO  \* MANGANESO
- \* POTASIO  \* OTROS
- \* MAGNESIO  Especificar:
- \* HIERRO
- \* BORO
- \* MANGANESO
- \* ZINC
- \* OTROS

Especificar:

OBSERVACIONES
---------------

**VI.2.2.- ENCUESTA ANUAL**

**CÓDIGO: RX - 99**

**DATOS DEL COLABORADOR (Persona de contacto)**

NOMBRE:

DIRECCIÓN:

POBLACIÓN:

TELÉFONO:

FAX:

e-MAIL:

**DATOS DEL PROPIETARIO**

NOMBRE:

DIRECCIÓN:

POBLACIÓN:

TELÉFONO:

**UBICACIÓN DE LA PARCELA**

PAGO:

TERMINO MUNICIPAL:

## **1.- ACCIDENTES CLIMÁTICOS**

Indicar si se ha registrado y en qué fecha: helada, granizo, vientos fuertes, asurado, riada, ... etc.

## **2.- PRODUCCIÓN**

### **2.1.- RENDIMIENTO**

Indicar el rendimiento en kg/ha de la parcela. Este dato es de gran importancia para el estudio, no tiene ningún carácter de control y es totalmente confidencial.

### **2.2.- ALTERACIONES DE LA FLORACIÓN -FECUNDACIÓN**

Indicar si se han producido problemas de corrimiento, desecamiento del raspón, desarrollo irregular de los granos, ...

## **3.- PROTECCION DEL VIÑEDO**

### **3.1.- VALORACIÓN DEL ESTADO SANITARIO DE LA PARCELA (Apreciación media)**

SI                      NO

- SATISFACTORIO

#### **3.1.1.- PLAGAS**

- ACARIOSIS

- PIRAL

- POLILLA

- OTROS

Especificar:

3.1.2.- ENFERMEDADES

- MILDIU

- OIDIO

- BOTRITIS

- EUTIPA

- YESCA

- OTRAS

Especificar:

3.1.3.- OTRAS ALTERACIONES PARASITARIAS

- VIRUS

Especificar:

- BACTERIAS

Especificar:

- OTRAS

Especificar:

### 3.1.4.- LUCHA FITOSANITARIA

AGENTE PARASITARIO	PRODUCTO MÁS UTILIZADO	Nº DE TRATAMIENTOS	OBSERVACIONES
ACARIOSIS PIRAL POLILLA MILDIU OIDIO BOTRITIS EUTIPA YESCA OTROS,...			

Comentarios:

### 4.- OPERACIONES EN VERDE

Indicar si se ha practicado y en qué fecha aproximada: espergurado, desniete, despunte, deshojado, aclareo de racimos, ...

### 5.- MANTENIMIENTO DEL SUELO

- LABOREO

- HERBICIDAS

\* Herbicida en toda la superficie

\* Herbicida en la fila

\* Herbicida en rodales

Especificar herbicidas:

- CUBIERTA VEGETAL

Espontánea

• Siembra

Especificar:

- TÉCNICAS MIXTAS (combinación de las anteriores )

Comentarios y breve descripción:

- PRINCIPALES MALAS HIERBAS PRESENTES EN LA PARCELA:

## **6.- RÉGIMEN HÍDRICO**

- SECANO

- REGADÍO

Indicar época, modalidad, n1 de riegos y volumen de agua aplicada (m<sup>3</sup>/ha).

## **7.- FERTILIZACIÓN**

7.1.- Indicar época, modalidad (en superficie, localizado, ...), tipo de abono (mineral, orgánico, ..), y cantidad aportada de fertilizante (kg/ha)

7.2.- En caso de aplicación de abono foliar, indicar época, n1 de aplicaciones, tipo de abono y cantidad de producto aplicado (kg/ha)

7.3.- Indicar si se ha observado alguna carencia (potasio, fosforo, nitrógeno, boro, zinc, hierro, ...) ó toxicidad en la parcela. Describir brevemente la sintomatología observada.

## **OBSERVACIONES**