

CUÁNDO MUESTREAR Y QUÉ TEJIDO ANALIZAR PARA CONOCER EL ESTADO NUTRICIONAL DE ESTA VARIEDAD

Diagnóstico nutricional mediante el análisis del limbo y pecíolo de la variedad Garnacha tinta

El presente trabajo se enmarca dentro de la línea de investigación sobre nutrición mineral de la vid, que en el ámbito de la DOCa Rioja, está desarrollando el Servicio de Investigación y Desarrollo Tecnológico Agroalimentario (CIDA) del Gobierno de La Rioja. Con este trabajo se pretende contribuir al establecimiento, con criterios de re-

producibilidad y estabilidad en el tiempo, de aquellos tejidos y momentos más adecuados para el muestreo, así como fijar en niveles de referencia óptimos en el diagnóstico de diez elementos nutrientes en *Vitis vinifera* L., cv. Garnacha tinta injertada sobre el portainjerto R-110, en las condiciones agroclimáticas de La Rioja.

A. Benito¹, I. Romero¹, N. Domínguez¹,
E. García-Escudero¹, I. Martín²

¹ Servicio de Investigación y Desarrollo Tecnológico Agroalimentario (CIDA). Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino (CSIC-Universidad de La Rioja-Gobierno de La Rioja).

² Departamento de Química Agrícola de la Universidad Autónoma de Madrid.

La vid (*Vitis vinifera* L.) es actualmente uno de los cultivos más relevantes en términos económicos y, sin duda, el de mayor importancia económica en la Comunidad Autónoma de La Rioja.

Los parámetros producción y calidad de la cosecha se hallan muy vinculados al estado nutricional del cultivo, de tal manera que el nivel óptimo de nutrición correspondería a aquel que proporciona una vendimia de calidad con un rendimiento adecuado (Champagnol, 1990; García-Escudero *et al.*, 2001). En este sentido, cabe resaltar que la fertilización de la vid constituye una de las prácticas culturales habitualmente empleadas por el viticultor para modificar el estado nutricional del cultivo, en busca de un equilibrio óptimo entre el rendimiento y la calidad. Sin embargo, un inadecuado y/o desequilibrado aporte de fertilizantes puede contribuir a un detrimento de la calidad, a un comportamiento poco respetuoso con el medio ambiente y a un incremento de costes innecesario. Por lo tanto, es fundamental el conocimiento del estado nutricional del cultivo de cara a dise-

Foto 1. Muestreo de la hoja opuesta al primer racimo.



Foto 2. Separación de limbos y pecíolos en el laboratorio de viticultura del CIDA.



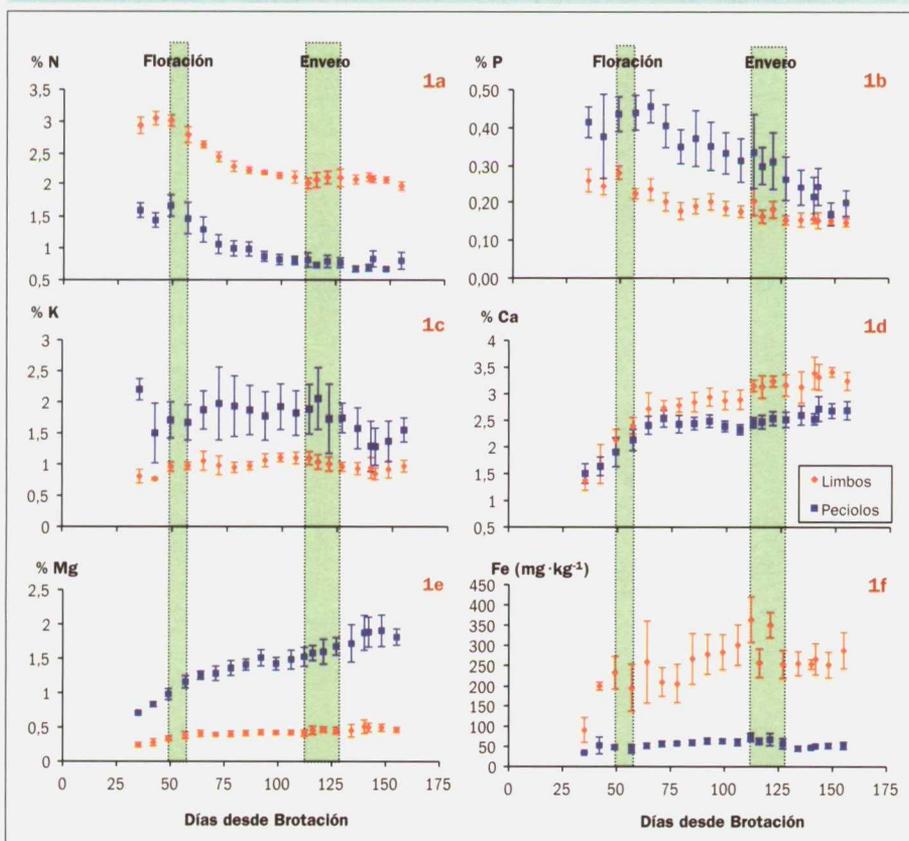
CUADRO I.

Distribución de los muestreos en el ciclo de cultivo.

Periodo	Duración media (días)	Criterio de agrupación de muestreos	E.F. de Baggolini	Nº de muestreos
Prefloración	46	Nº días desde brotación hasta inicio de floración	H	2
Floración	11	% Flores abiertas	I	2
Cuajado	7	Cuajado	J	1
Tamaño guisante	38	Engrosamiento de las bayas	K	5
Racimo cerrado	6	Cierre de racimo	L	1
Envero	19	% Bayas coloreadas	M	4
Maduración	28	% Tiempo transcurrido entre final de envero y vendimia	N	5

FIGURA 1.

Evolución de la concentración de los macronutrientes en limbo y peciolo a lo largo del ciclo vegetativo. Las barras representan el intervalo de confianza para la media.



Para caracterizar el estado nutricional de cualquier cultivo en general, y de la vid en particular, se requiere contar con herramientas adecuadas que aporten información fiable sobre tal situación, siendo el análisis del limbo y peciolo la metodología más utilizada para la determinación del nivel de nutrición del viñedo

ñar y gestionar una adecuada estrategia de fertilización (García Escudero *et al.*, 2002a).

En este sentido, para caracterizar el estado nutricional de cualquier cultivo en general, y de la vid en particular, se requiere contar con herramientas adecuadas que aporten información fiable sobre tal situación, siendo el análisis de limbo y peciolo la metodología más utilizada para la determinación del nivel de nutrición del viñedo.

En este contexto, los métodos más habituales para la evaluación del estado nutricional de la vid son las metodologías de valores críticos y rangos de suficiencia. El establecimiento de valores de referencia para el análisis de los tejidos requiere asumir que la concentración de cada nutriente depende de un amplio abanico de factores ambientales, culturales y genéticos, por lo que el establecimiento de referencias locales se considera el más apropiado (Champagnol, 1990; Robinson 2005). Para un diagnóstico nutricional preciso es esencial definir las condiciones en que se establecen los niveles de referencia, fijar el tejido a analizar (Champagnol, 1990), así como determinar su posición en la planta y el momento del ciclo, caracterizado por el estado fenológico (Delas, 2000). El tejido seleccionado debería 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.

Sin embargo, la bibliografía no muestra una opinión unánime respecto al tejido y el momento de muestreo óptimos, aunque en general propone dos estados fenológicos que coinciden con el final de floración o cuajado, y el envero. Por otra parte, y en lo que al tejido se refiere, inicialmente se utilizó la hoja completa, para posteriormente analizar el limbo y el peciolo de forma independiente.

Material y métodos

Se realizó un estudio de seguimiento de *Vitis vinifera* L., cv. Garnacha tinta injertada sobre el patrón R-110, durante un periodo de cuatro años (2003-2006). El ensayo se realizó en un viñedo amparado por la DOCa Rioja, ubicado en el término municipal de Aldeanueva de Ebro.

El suelo donde se asienta la parcela es un Haplocalcids típico, de textura franca en el

CUADRO II.

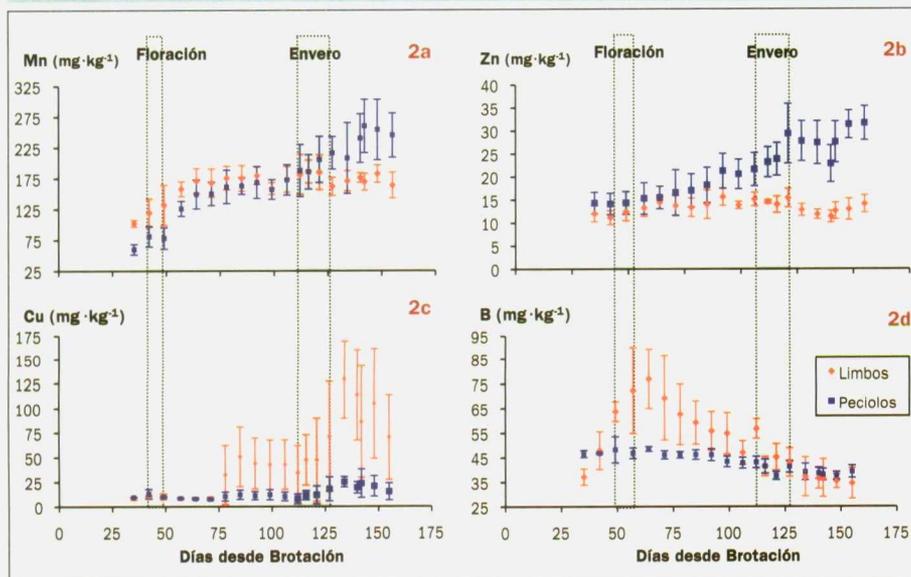
Períodos de estabilidad de los elementos nutricionales en limbos.

Periodos Estabilidad		H 35	H50 42	I30 49	I100 57	J 64	K5 71	K20 78	K35 85	K50 92	K75 99	L 106	M5 112	M20 116	M70 121	M100 127	N20 134	N40 140	N60 142	N80 148	N100 155	E.F. D.O.B.	
1	a				N	N																	
2	b							N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N		
1	a				P	P	P																
2	b						P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P			
1	a			K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K
1	a				Ca	Ca	Ca	Ca	Ca														
2	b									Ca	Ca	Ca	Ca	Ca	Ca	Ca	Ca	Ca	Ca	Ca			
1	a			Mg	Mg	Mg	Mg	Mg	Mg	Mg	Mg	Mg	Mg										
2	b					Mg	Mg	Mg	Mg	Mg	Mg	Mg	Mg	Mg	Mg	Mg	Mg	Mg	Mg	Mg	Mg	Mg	Mg
1	a		Fe	Fe	Fe	Fe	Fe	Fe	Fe	Fe	Fe	Fe											
2	b								Fe	Fe	Fe	Fe	Fe	Fe	Fe	Fe	Fe	Fe	Fe	Fe	Fe	Fe	Fe
1	a	Zn	Zn	Zn	Zn	Zn	Zn	Zn	Zn	Zn	Zn	Zn	Zn	Zn	Zn	Zn	Zn	Zn	Zn	Zn	Zn	Zn	Zn
1	a				Mn	Mn	Mn	Mn	Mn	Mn	Mn	Mn	Mn	Mn	Mn	Mn	Mn	Mn	Mn	Mn	Mn	Mn	Mn
1	a			B	B	B	B	B	B	B	B												
2	b									B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B

*Zona en verde: período de estabilidad común a todos los nutrientes que incluye la plena floración. *Zona en rojo: período de estabilidad común a todos los nutrientes que incluye el envero

FIGURA 2.

Evolución de la concentración de los micronutrientes en limbo y pecíolo a lo largo del ciclo vegetativo. Las barras representan el intervalo de confianza para la media.



horizonte superficial (Ap) y franco-limo-arcilloso en el horizonte subsuperficial (B). Este suelo se caracteriza por tener niveles bajos de materia orgánica y valores normales de CIC, caliza activa y carbonatos totales. El pH es superior a 8 en los dos horizontes, y su CE es baja.

Se trata de un viñedo en plena produc-

ción plantado en 1989, conducido en vaso, con un marco de plantación de 2,8x1,2 m y con un régimen hídrico de seco. Las precipitaciones medias de noviembre a octubre en el periodo 2003/2006 fueron de 396 mm. La zona presenta un clima Mediterráneo seco (Me), según la clasificación de Padakis.

El diseño experimental corresponde a tres bloques homogéneos, a modo de repeticiones, con cincuenta cepas en cada bloque. Con una frecuencia semanal a lo largo del ciclo vegetativo (**cuadro I**), se muestrearon treinta hojas completas y sanas por repetición, procedentes de pámpanos fructíferos y de vigor medio, a razón de una sola hoja por planta, en posición opuesta al primer racimo desde el comienzo del ciclo hasta envero (**foto 1**), y opuesta al segundo racimo desde envero a vendimia (Romero *et al.*, 2009).

Una vez en el laboratorio, se separaron limbos y pecíolos (**foto 2**), se lavaron con agua corriente y destilada, y posteriormente se secaron en estufa a 70°C hasta peso constante, durante al menos 24 horas (**foto 3**). Finalmente, las muestras fueron molidas y tamizadas a 0,5 mm. Los análisis minerales fueron realizados por el Laboratorio Regional de la Comunidad Autónoma de La Rioja. Se determinó el contenido de N mediante el método Kjeldhal y la concentración de P, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Cu, Zn y B, mediante digestión con H₂SO₄ y H₂O₂, y posterior determinación por ICP-AES.

El tratamiento estadístico de los resultados, realizado con el programa informático SPSS 12.0, incluyó el Test de Normalidad Shapiro-Wilks y el Test de Levene de homogeneidad de varianzas. Se realizó un análisis de

Productos para la vid

Glifosato 36%
Oxifluorfen FAE
(Oxifluorfen 24% EC)

HERBICIDAS

Panda 48 LE
(Clorpirifos 48% EC)
Saditrina E
(Cipermetrina 0,033% DP)
Mitrus
(Fenbutestan 55% SC)

INSECTICIDAS

Merit
(Triadimenol 25% EC)
Secret
(Miclobutanil 12.5% EC)

FUNGICIDAS

Metaman FAE
(Metalaxil 8%+ Mancozeb 64% WP)
Metafol FAE
(Metalaxil 10% + Folpet 40% WP)

FUNGICIDAS

Nautile
(Cimoxanilo 5%+Mancozeb 68% WG)
Duett C
(Cimoxanilo4%+Sulf. Cu 22.5% WP)
Duett M
(Cimoxanilo 4%+Mancozeb 40% WP)

FUNGICIDAS

**Microthiol Special
Disperss**
(Azufre 80% WG)
Agrezufre Cúprico
(Azufre 60%+Oxicloruro Cu 4%)

FUNGICIDAS

Caldo Bordelés
SRS Disperss
(Sulfato cuprocálcico, Cu 20% WG)
Novicure
(Sulfato tribásico 40% en Cu WG)

FUNGICIDAS

Vondozeb GD
(Mancozeb 75% WG)
Vondozeb-D 80 PM
(Mancozeb 80% WP)

FUNGICIDAS



cequisa

Entença, 157 - 1º • 08029 Barcelona
Tel.: 932 402 910 • Fax: 932 005 648
www.cequisa.com

CUADRO III.

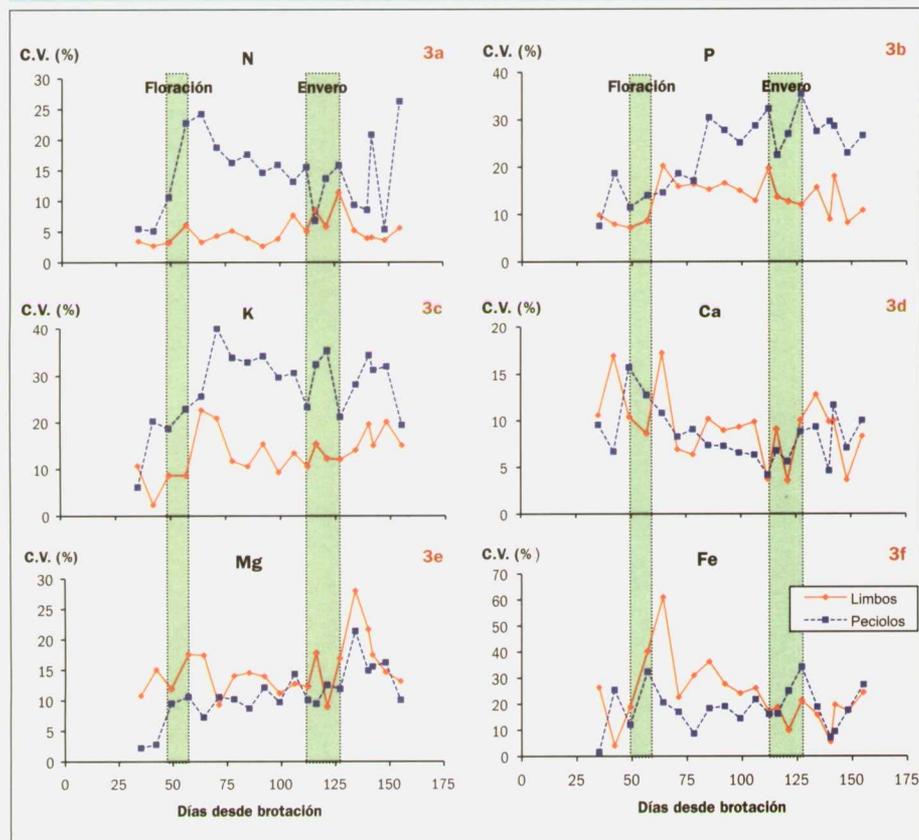
Períodos de estabilidad de los elementos nutricionales en pecíolos.

Periodos Estabilidad		H 35	H50 42	I30 49	I100 57	J 64	K5 71	K20 78	K35 85	K50 92	K75 99	L 106	M5 112	M20 116	M70 121	M100 127	N20 134	N40 140	N60 142	N80 148	N100 155	E.F. D.O.B.	
1	a				N	N																	
2	b							N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
1	a	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P										
2	b								P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P			
1	a	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K
1	a				Ca	Ca	Ca	Ca	Ca	Ca	Ca	Ca	Ca	Ca	Ca	Ca							
1	a				Mg	Mg	Mg	Mg	Mg														
2	b						Mg	Mg	Mg	Mg	Mg	Mg	Mg	Mg	Mg	Mg	Mg						
1	a		Fe	Fe	Fe	Fe	Fe	Fe	Fe	Fe	Fe	Fe											
2	b					Fe	Fe	Fe	Fe	Fe	Fe	Fe	Fe	Fe	Fe	Fe							
1	a	Zn	Zn	Zn	Zn	Zn	Zn	Zn	Zn	Zn	Zn	Zn	Zn	Zn	Zn								
2	b									Zn	Zn	Zn	Zn	Zn	Zn	Zn	Zn	Zn	Zn	Zn	Zn		
1	a				Mn	Mn	Mn	Mn	Mn	Mn	Mn	Mn	Mn	Mn									
2	b						Mn	Mn	Mn	Mn	Mn	Mn	Mn	Mn	Mn	Mn	Mn	Mn					
1	a										B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
2	b	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B										

*Zona en verde: período de estabilidad común a todos los nutrientes que incluye la plena floración. *Zona en rojo: período de estabilidad común a todos los nutrientes que incluye el envero.

FIGURA 3.

Coefficientes de variación (%) para la concentración de macronutrientes en limbos y pecíolos.



varianza (ANOVA) de un factor (estado fenológico), y se llevó a cabo el Test de Comparación de Medias (Tukey, $p \leq 0,05$) para determinar diferencias entre muestreos.

Resultados y discusión

Evolución de cada elemento en el tiempo

De los análisis realizados en el laboratorio para evaluar la evolución de los diferentes elementos a lo largo del ciclo, se sacan las siguientes resultados:

- ▶ El contenido en N y P (**figura 1a y 1b**) presenta un comportamiento inicial acumulativo, hasta el inicio de floración para el N y hasta el cuajado para el P, estableciéndose posteriormente un descenso continuado a lo largo del ciclo vegetativo.
- ▶ El contenido en Ca, Mg y Mn asciende desde prefloración hasta vendimia (**figuras 1d, 1e y 2a**).
- ▶ El Zn, por su parte, mantiene una tendencia acumulativa en los dos tejidos hasta el inicio de envero, momento a partir del cual tiende ligeramente a disminuir en el limbo (**figura 2b**).
- ▶ El Fe parece mostrar una tendencia general creciente en los dos tejidos, siendo

ésta más marcada en el caso de los limbos (**figura 1f**).

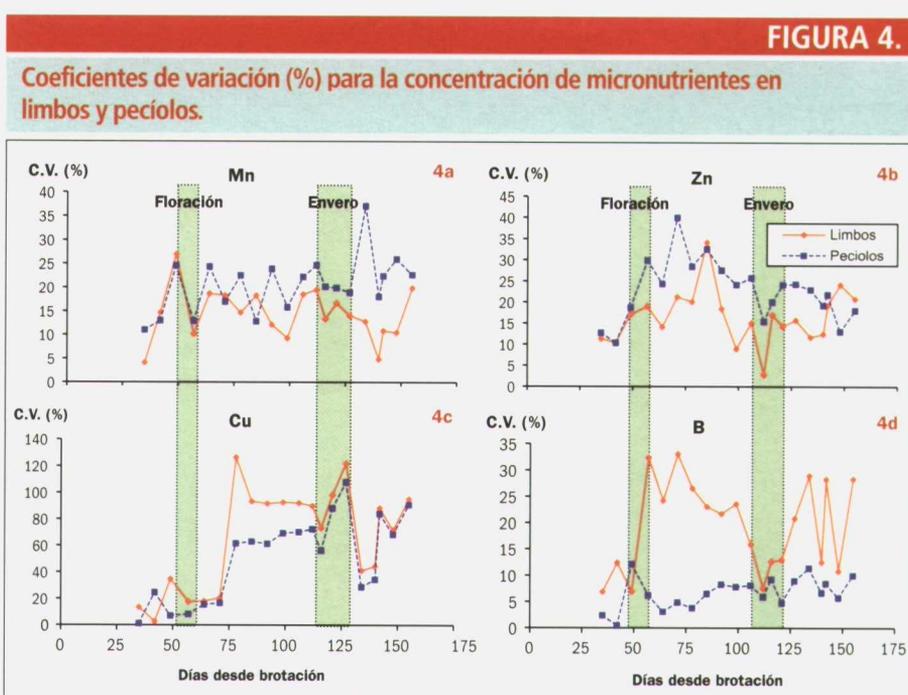
- ▶ El K mantiene un comportamiento irregular durante todo el ciclo (**figura 1c**).
- ▶ El Mn presenta una tendencia acumulativa en los dos tejidos, siendo ésta más marcada en el caso de los pecíolos, mientras que en los limbos, tras un mayor ritmo acumulativo entre floración y cuajado, ralentiza esta tendencia, incrementando sus contenidos con menor intensidad (**figura 2a**).
- ▶ El B en el limbo manifiesta un comportamiento creciente hasta el cuajado, para disminuir paulatinamente hacia el momento de vendimia. Sin embargo, los pecíolos difieren en cuanto a su comportamiento, observándose una paulatina, aunque ligera, disminución a lo largo del ciclo (**figura 2d**).

Las pautas observadas coinciden en general con lo aportado por otros autores (Christensen, 1984; García-Escudero *et al.*, 2002b; Romero *et al.*, 2006).

Elección del tejido a analizar

El tejido elegido para el diagnóstico nutricional debe cumplir, entre otros requisitos, el de ofrecer resultados reproducibles. Se empleó el coeficiente de variación como herramienta para determinar el tejido más adecuado a analizar en cada momento del ciclo. El N, Mn y Zn mostraron una mayor variabilidad en pecíolo a lo largo de la mayor parte del ciclo vegetativo (**figuras 3a, 4a y 4b**). Tal variabilidad supone una mayor fuente de error al realizar un diagnóstico mediante la comparación con unas referencias dadas, como se hace en la metodología de niveles críticos o rangos de suficiencia.

En este mismo contexto, y referido al P y K, los resultados coinciden con los de otros autores (Christensen, 1984; Champagnol, 1990; Romero *et al.*, 2006), mostrando una mayor variabilidad del pecíolo con respecto al limbo (**figuras 3b y 3c**). Sin embargo, el Ca presenta una variabilidad en los tejidos alterna, que dificulta decantarse por uno de ellos como el más adecuado (**figura 3d**). Por su parte, el Mg presenta mayor variabilidad para el limbo en floración, tendiendo a igualarse al pecíolo en enero (**figura 3e**). Por el contrario, el B muestra mayor variabilidad en limbos que en pecíolos durante todo el ciclo



Se sugiere que en un primer periodo de plena floración-cuajado se proceda al diagnóstico de N, K, Mn y Zn en limbos, y Mg, Fe y B en pecíolos. Respecto al segundo periodo, la recomendación sería diagnosticar N, P, K, Fe, Mn y Zn en limbo, mientras que Ca, Mg y B se podría realizar en pecíolo

de cultivo (**figura 4d**). Comportamiento similar tiene el Fe, excepto en los periodos de prefloración y envero, donde el pecíolo muestra mayor variabilidad.

Elección del momento de muestreo

El momento de muestreo debe comprender un periodo caracterizado por la estabilidad en su composición mineral, entendiéndose por periodo de estabilidad un conjunto de muestreos consecutivos en el tiempo que no muestran diferencias estadísticas en el contenido de cada nutriente. La determinación de los periodos de estabilidad se realizó individualmente para cada elemento, obteniéndose diferentes periodos de estabilidad, más o menos prolongados en el tiempo, para cada elemento y tejido considerado. Los periodos de estabilidad se muestran en los cuadros II y III (limbo y pecíolo).

Se obtuvieron así dos periodos dentro del ciclo de cultivo en los que se podrían diag-

nosticar todos los nutrientes simultáneamente. Para los limbos, un periodo inicial que abarca desde plena floración (I100) a cuajado (J), y un segundo que comprende desde K50 a N40, es decir, desde baya tamaño guisante en un 50% hasta mediados de maduración (N40) (**cuadro II**). En el caso de los pecíolos, se observa un periodo inicial que coincide con el indicado inicialmente para limbos, y otro que abarca desde baya tamaño guisante al 75% (K75) al final de envero (M100) (**cuadro III**).

En este sentido, si consideramos la información obtenida a partir del coeficiente de variación, se sugiere que en el periodo de plena floración-cuajado se proceda al diagnóstico de N, K, Mn y Zn en limbos, y Mg, Fe y B en pecíolos. Para Ca y P, en este primer periodo no se puede determinar con claridad cual de los dos tejidos sería el más adecuado. Respecto al segundo periodo de estabilidad, la recomendación sería diagnosticar N,



Foto 3. Detalle de la cámara de secado de muestras, dispuesta a 70°C.

P, K, Fe, Mn y Zn en limbo, mientras que Ca, Mg y B se podría realizar en peciolo. No se ha considerado el Cu debido a los tratamientos fitosanitarios de base cúprica que han impedido realizar esta parte del estudio.

Conclusiones

A la vista de los resultados obtenidos para *Vitis vinifera L.*, cv. Garnacha tinta injertada sobre R-110, en condiciones de cultivo características del ámbito de la DO Ca Rioja, se sugieren dos periodos de diagnóstico en los que establecer referencias generales:

- ▶ El primero de ellos y más temprano en el tiempo, comprendería la plena floración y el cuajado, y permitiría un diagnóstico precoz así como una posible intervención en la misma campaña.
- ▶ El segundo, con una mayor duración en el tiempo, se extendería desde baya tamaño guisante en un 50% hasta mediados de maduración para limbos, y desde ba-

ya tamaño guisante al 75% al final de envero para peciolos.

Así mismo, se recomienda el envero como el periodo más fiable para realizar un diagnóstico dada la mayor vigencia en el tiempo de unas referencias nutricionales, ya que las aportadas para la plena floración y cuajado tendrían una validez muy corta. Para el diagnóstico nutricional se recomienda analizar N, P, K, Mn y Zn en limbo, así como Ca, Mg y B en peciolo. El Fe dependerá del momento: peciolo en floración y limbo en envero. ●

Agradecimientos

A M^a Carmen Arroyo y el personal del Laboratorio Regional de la C.A. de La Rioja. Esta investigación ha sido financiada por el INIA (proyecto SC00-016), la Consejería de Agricultura y Desarrollo Económico de C.A. de La Rioja (proyectos R-01-03, R-01-04, R-03-05 y R-04-06) y el Fondo Social Europeo.

Bibliografía ▼

- ▶ Champagnol, F. 1990. Rajeunir le diagnostic foliare. Progrès Agricole et viticole 107:343-351.
- ▶ Christensen, P. 1984. Nutrient level comparisons of leaf petioles and blades in twenty-six grape cultivars over three years (1979 through 1981). Am. J. Enol. Vitic. 35:124-133.
- ▶ Delas, J. 2000. Fertilisation de la Vigne. Editions Féret, Bordeaux (FRA). 159p
- ▶ García-Escudero, 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. Cáceres. España. Sociedad Española de Ciencias Hortícolas (Eds.): 1701-1708.
- ▶ García-Escudero, 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. Albelda, La Rioja, 23-25 de Mayo 2002.
- ▶ García-Escudero, E., Zaballa, O., González, G., Villar, M.T. y Arroyo, M.C. 2002b. Variación de la composición mineral de las hojas de cv. Tempranillo según el órgano analizado y la época de muestreo. En: III Foro Mundial del Vino. Rioja III Milenio, Albelda, 23-25 de mayo.
- ▶ Robinson, J. B. 2005. Critical Plant Tissue Values and Application of Nutritional Standards for Practical Use in Vineyards. Proceedings of The Soil Environment and Vine Mineral Nutrition Symposium. ASEV Publ. San Diego, California. 29-30 June 2004: 61-68
- ▶ Romero, I., García, C., Villar, M.T., López, D., Ibáñez, S., Arroyo, M.C., Martín-Rueda, I. y García-Escudero, E. 2006. Utilización del análisis de limbo y peciolo para el diagnóstico nutricional de la vid (*Vitis vinifera L.*), variedad Tempranillo. Actas de Horticultura, 44:56-63.
- ▶ Romero, I., Martín, I., García, C., González, G., López, D., Villar, M.T., Zaballa, O., García-Escudero, E. 2009. Variación de la composición nutricional de limbo y peciolo de vid (*Vitis vinifera L.*) cv. Tempranillo en función de su posición en el pámpano. Comunicación presentada en el VI Congreso Ibérico de Ciencias Hortícolas. Logroño, 25-29 mayo 2009.



SulfolPotasse® GranulPotasse® SOP Standard

SOP de Tessenderlo Cuando la calidad realmente cuenta

Tessenderlo Group es líder en la producción del sulfato potásico (SOP) durante más de 80 años.

Como primer productor en el mundo de SOP, Tessenderlo Group ofrece al agricultor sulfato potásico de calidad en una extensa gama, sulfato potásico standard, soluble y granulado, siempre en función de las necesidades del agricultor.

Además de SOP, el grupo pone a disposición del agricultor una serie de fertilizantes líquidos con azufre como son el tiosulfato amónico, tiosulfato potásico y tiosulfato cálcico, fertilizantes especiales para la agricultura.

Tessenderlo Group Fertilizers
giving nature a helping hand