



Universidad
Zaragoza

Trabajo Fin de Máster

Evaluación de la tolerancia a la caliza activa de cinco variedades autorradicadas de almendro

Evaluation of active limestone tolerance of five self-grafted almond varieties

Autor

Marcos Figueras Panillo

Directores

José Casanova Gascón

Pablo Martín Ramos

Escuela Politécnica Superior de Huesca

2020

Resumen

Tradicionalmente, las plantaciones de almendro en seco se han plantado sobre patrones híbridos o francos con marcos amplios, pero en los últimos años se han desarrollado plantaciones en seto utilizando patrones enanizantes como Rootpac-20. Dada la baja adaptación a la sequía de este patrón, se plantea, como un avance en el sistema, conocer la adaptación de variedades autorradicadas o autoenraizadas, que presenten un sistema radicular mejor adaptado a condiciones de sequía, eviten el injerto (con el consiguiente abaratamiento del plantón) y puedan contribuir al aumento de la regularidad de las producciones. En el presente Trabajo Fin de Máster se ha analizado la tolerancia de cinco variedades autorradicadas a diversas concentraciones de caliza activa en suelo, tomando como referencia plantones injertados sobre dos patrones habituales, y realizando un seguimiento del estado fisiológico del material vegetal a lo largo de un ciclo vegetativo. En base a los resultados obtenidos, por sus elevados niveles de clorofila y su tolerancia a la caliza activa, las variedades '*Guara*' y '*Penta*' parecen ser las que ofrecen un mayor potencial para mejorar la viabilidad del sistema superintensivo en seco en suelos calizos. No obstante, serán necesarios estudios plurianuales más detallados antes de su implantación en futuras explotaciones.

Palabras clave: autorradicado; caliza activa; clorofila; *Prunus dulcis*; sistemas SES/SHD/2D

Abstract

Traditionally, dryland almond orchards have been planted on hybrid or frank rootstocks with wide spacings, but in recent years hedgerow (2D) plantations have been developed using dwarfing patterns such as Rootpac-20. Given the low adaptation of this pattern to drought, there is increasing interest in investigating the adaptation of self-grafted varieties, which feature a root system better adapted to drought conditions, can avoid grafting (with a reduction in the cost per seedling) and can contribute to improve production regularity. In the present MSc Thesis, the tolerance of five self-grafted varieties to different concentrations of active limestone in the soil has been analyzed, taking as a reference seedlings grafted on two widely used rootstocks, and monitoring the physiological state of the plants throughout a vegetative cycle. Based on the results obtained, due to their high chlorophyll contents and their tolerance to active limestone, '*Guara*' and '*Penta*' varieties seem to hold the greatest potential for improving the viability of the super-intensive dry system in limestone soils. However, more detailed multi-annual studies will be necessary before their implementation in future farms.

Keywords: active limestone; chlorophyll; *Prunus dulcis*; self-grafted; SHD systems

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Motivación.....	1
1.2. Objetivo general y objetivos específicos.....	1
1.3. El cultivo del almendro en el mundo.....	1
1.4. Producción mundial de almendra	2
1.5. El almendro en España.....	2
1.6. Antecedentes del proyecto	3
1.6.1. Cultivos leñosos autoenraizados en secano.....	3
1.6.2. La vid.....	3
1.6.3. El olivo superintensivo.....	3
1.6.4. El almendro superintensivo.....	4
1.7. Los suelos en España.....	5
1.7.1. La caliza activa.....	5
1.7.2. El hierro.....	6
1.7.3. La clorosis férrica	7
1.7.4. Relaciones caliza–hierro–suelo.....	8
1.7.5. Absorción del hierro.....	9
1.8. Métodos de seguimiento del estado fisiológico	10
1.8.1. Medida de la clorofila.....	10
1.8.2. Medida de la fluorescencia	11
1.8.3. Medida de la conductancia estomática	12
2. MATERIAL Y MÉTODOS	13
2.1. Material vegetal	13
2.1.1. Variedades.....	13
2.1.2. Patrones.....	15
2.2. Preparación del sustrato y plantación.....	15
2.3. Meteorología	17
2.4. Prácticas agronómicas.....	17
2.5. Medidas en hoja.....	18
2.5.1. Medida de la clorofila.....	19
2.5.2. Medida de la fluorescencia	19
2.5.3. Medida de la conductancia estomática	21
2.6. Seguimiento de la concentración de caliza activa.....	22
2.7. Análisis estadístico	22

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
3.1. Condiciones del ensayo.....	25
3.1.1. Análisis químico de los sustratos artificiales preparados.....	25
3.1.2. Condiciones meteorológicas	25
3.2. Seguimiento del estado de la planta.....	26
3.2.1. Medida de la clorofila.....	26
3.2.2. Medida de la fluorescencia.....	35
3.2.3. Medida de la conductancia estomática.....	36
3.3. Peso fresco de los órganos vegetativos.....	39
3.3.1. Peso de hojas.....	39
3.3.2. Peso de raíz.....	39
3.3.3. Peso de raíz y tallo	40
3.3.4. Peso de tallo.....	40
4. CONCLUSIONES.....	43
REFERENCIAS	45

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Detalle proceso de preparación del sustrato. Fuente: elaboración propia.	16
Figura 2.	A la izquierda, detalle de un plantón tras la plantación. A la derecha, diferentes tratamientos con niveles de caliza activa, de izquierda a derecha: 15%, 10%, 5% y testigo.....	16
Figura 3.	Disposición de los tratamientos en filas. Apréciase la falta de tutores. Fuente: elaboración propia.....	17
Figura 4.	Detalles varios: entutorado, etiquetado y anclaje del sistema de riego. Fuente: elaboración propia.....	18
Figura 5.	Detalle de los diferentes tipos de hojas en el plantón. Fuente: elaboración propia.....	19
Figura 6.	Medidor de clorofila Minolta SPAD-502. Fuente: Konica-Minolta.....	19
Figura 7.	Medidor de fluorescencia Hansatech FMS2+ Fuente: Hansatech Instruments.	20
Figura 8.	A la izquierda: detalle de clip de hoja durante la fase de adaptación a la oscuridad. A la derecha: disposición de varios clips sobre tratamiento testigo. Fuente: elaboración propia.	21
Figura 9.	Medidor de conductancia estomática Decagon SC-1. Fuente: Decagon Devices.	21
Figura 10.	Resultado de la filtración. De menor a mayor concentración de caliza activa (izquierda a derecha). Fuente: elaboración propia.	22
Figura 11.	Diagrama de Gaussien. Fuente: datos climáticos de la estación de Huesca.	25
Figura 12.	Box plot de las medidas SPAD en las diferentes fechas de toma de datos..	26
Figura 13.	Box plot de la evolución del SPAD para la variedad 'Avijor' en función del tratamiento y fecha (día juliano).....	27
Figura 14.	Box plot de la evolución del SPAD para el patrón GF-677 en función del tratamiento y fecha (día juliano).....	27
Figura 15.	Box plot de la evolución del SPAD para la variedad 'Guara' en función del tratamiento y fecha (día juliano).....	28
Figura 16.	Box plot de la evolución del SPAD para el patrón 'Mirabolano' en función del tratamiento y fecha (día juliano).....	28
Figura 17.	Box plot de la evolución del SPAD para la variedad 'Penta' en función del tratamiento y fecha (día juliano).....	28
Figura 18.	Box plot de la evolución del SPAD para la variedad 'Soleta' en función del tratamiento y fecha (día juliano).....	29
Figura 19.	Box plot de la evolución del SPAD para la variedad 'Vialfas' en función del tratamiento y fecha (día juliano).....	29
Figura 20.	Box plot de las medidas SPAD para las diferentes variedades.	30
Figura 21.	Box plot de las medidas de SPAD inicial para las diferentes variedades.....	31
Figura 22.	Box plot de las medidas de SPAD para los diferentes tratamientos.	31

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Sustratos artificiales empleados en los diferentes tratamientos. Se muestra la relación volumétrica de caliza activa aplicada a la mezcla, 'Caliza (% en volumen)', y el contenido de caliza activa finalmente fijado en la turba al final del periodo de estudio, 'Caliza activa (%)'.....	25
Tabla 2.	Análisis de las diferencias en las medidas de SPAD mediante prueba de Kruskal-Wallis para el total de los individuos a lo largo de todo el periodo de estudio, según comparaciones múltiples por pares mediante el procedimiento de Conover-Iman (prueba bilateral). Se muestran ordenados de menor a mayor concentración de clorofila.....	26
Tabla 3.	Análisis de las diferencias en las medidas de SPAD entre las distintas variedades mediante la prueba de Kruskal-Wallis, según comparaciones múltiples por pares mediante el procedimiento de Conover-Iman (prueba bilateral). Las variedades se muestran ordenadas de menor a mayor concentración de clorofila.....	30
Tabla 4.	Análisis de las diferencias en las medidas de SPAD mediante la prueba de Kruskal-Wallis para los distintos tratamientos, según comparaciones múltiples por pares mediante el procedimiento de Conover-Iman (prueba bilateral). Se muestran los tratamientos ordenados de menor a mayor concentración de clorofila.....	32
Tabla 5.	Análisis de las diferencias en las medidas de SPAD entre los distintos tratamientos para la variedad ' <i>Avijor</i> ' mediante Prueba de Friedman, según comparaciones múltiples por pares mediante el procedimiento de Nemenyi (prueba bilateral). Los tratamientos se muestran ordenados de menor a mayor concentración de clorofila.	32
Tabla 6.	Análisis de las diferencias en las medidas de SPAD entre los distintos tratamientos para el patrón GF-677 mediante Prueba de Friedman, según comparaciones múltiples por pares mediante el procedimiento de Nemenyi (prueba bilateral). Los tratamientos se muestran ordenados de menor a mayor concentración de clorofila	33
Tabla 7.	Análisis de las diferencias en las medidas de SPAD entre los distintos tratamientos para la variedad ' <i>Guara</i> ' mediante Prueba de Friedman, según comparaciones múltiples por pares mediante el procedimiento de Nemenyi (prueba bilateral). Los tratamientos se muestran ordenados de menor a mayor concentración de clorofila	33
Tabla 8.	Análisis de las diferencias en las medidas de SPAD entre los distintos tratamientos para el patrón ' <i>Mirabolano</i> ' mediante Prueba de Friedman, según comparaciones múltiples por pares mediante el procedimiento de Nemenyi (prueba bilateral). Los tratamientos se muestran ordenados de menor a mayor concentración de clorofila	34
Tabla 9.	Análisis de las diferencias en las medidas de SPAD entre los distintos tratamientos para la variedad ' <i>Penta</i> ' mediante Prueba de Friedman, según comparaciones múltiples por pares mediante el procedimiento de Nemenyi (prueba bilateral). Los tratamientos se muestran ordenados de menor a mayor concentración de clorofila	34

Tabla 10.	Análisis de las diferencias en las medidas de SPAD entre los distintos tratamientos para la variedad ' <i>Soleta</i> ' mediante Prueba de Friedman, según comparaciones múltiples por pares mediante el procedimiento de Nemenyi (prueba bilateral). Los tratamientos se muestran ordenados de menor a mayor concentración de clorofila.....	34
Tabla 11.	Análisis de las diferencias en las medidas de SPAD entre los distintos tratamientos para la variedad ' <i>Vialfas</i> ' mediante Prueba de Friedman, según comparaciones múltiples por pares mediante el procedimiento de Nemenyi (prueba bilateral). Los tratamientos se muestran ordenados de menor a mayor concentración de clorofila.....	35
Tabla 12.	Análisis de las diferencias en las medidas de Fv/Fm para las variedades en el día 155, según el test de Tukey (HSD) con un intervalo de confianza del 95%.	35
Tabla 13.	Análisis de las diferencias en las medidas de Fv/F ₀ para las variedades en el día 155, según el test de Tukey (HSD) con un intervalo de confianza del 95%......	35
Tabla 14.	Análisis de las diferencias en las medidas de conductancia para los dos días de medida según el test de Tukey (HSD) con un intervalo de confianza del 95%.	36
Tabla 15.	Análisis de las diferencias en las medidas de conductancia mediante ANOVA de medidas repetidas para los diferentes tratamientos según el test de Tukey (HSD) con un intervalo de confianza del 95%.	36
Tabla 16.	Análisis de las diferencias en las medidas de conductancia con ANOVA de Medidas Repetidas para las diferentes variedades según el test de Tukey (HSD) con un intervalo de confianza del 95%.	37
Tabla 17.	Análisis de las diferencias en las medidas de conductancia para las distintas variedades el día 210, según el test de Tukey (HSD) con un intervalo de confianza del 95%.	37
Tabla 18.	Análisis de las diferencias en las medidas de conductancia para las distintas variedades el día 255, según el test de Tukey (HSD) con un intervalo de confianza del 95%.	37
Tabla 19.	Análisis de las diferencias en las medidas de conductancia entre los distintos tratamientos en el día 210, según el test de Tukey (HSD) con un intervalo de confianza del 95%.	38
Tabla 20.	Análisis de las diferencias en las medidas de conductancia entre los distintos tratamientos en el día 255, según el test de Tukey (HSD) con un intervalo de confianza del 95%.	38
Tabla 21.	Análisis de las diferencias en peso de las hojas para las diferentes variedades en el día 211, según el test de Tukey (HSD) con un intervalo de confianza del 95%.	39
Tabla 22.	Análisis de las diferencias en peso de las hojas para los diferentes tratamientos en el día 211, según el test de Tukey (HSD) con un intervalo de confianza del 95%.	39
Tabla 23.	Análisis de las diferencias en peso de la raíz para las diferentes variedades en el día 211 según el test de Tukey (HSD) con un intervalo de confianza del 95%.	39

Tabla 24.	Análisis de las diferencias en peso de la raíz para los diferentes tratamientos en el día 211, según el test de Tukey (HSD) con un intervalo de confianza del 95%.....	39
Tabla 25.	Análisis de las diferencias en peso de la raíz y tallo para las diferentes variedades en el día 211, según el test de Tukey (HSD) con un intervalo de confianza del 95%.....	40
Tabla 26.	Análisis de las diferencias en peso de la raíz y tallo para los diferentes tratamientos en el día 211, según el test de Tukey (HSD) con un intervalo de confianza del 95%.....	40
Tabla 27.	Análisis de las diferencias en peso del tallo para las diferentes variedades en el día 211, según el test de Tukey (HSD) con un intervalo de confianza del 95%.....	40
Tabla 28.	Análisis de las diferencias en peso del tallo para los diferentes tratamientos en el día 211 según el test de Tukey (HSD) con un intervalo de confianza del 95%.....	41

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Motivación

En apenas unos años, el almendro ha pasado de ser un cultivo marginal que se desarrollaba en los suelos pobres y áridos de los campos españoles a representar una producción alternativa a las tradicionales de fruta, cereales o cítricos. Este cambio en el manejo del cultivo ha provocado que en la actualidad el almendro ofrezca una rentabilidad un 10-15% superior a los cereales o al olivo para una misma finca (Miarnau et al., 2015).

Paralelamente, el consumo de almendra ha aumentado notablemente (especialmente en EE.UU., el mayor productor): la demanda mundial crece a un ritmo del 5% anual (Miarnau et al., 2015). Este crecimiento viene propiciado en parte porque los frutos secos ocupan una posición relevante dentro de la pirámide alimenticia, y forman parte necesaria de la dieta mediterránea, reconocida a nivel mundial por su papel beneficioso sobre la salud humana pudiendo ejercer efectos saludables en diversas patologías, que van desde la enfermedad cardiovascular, la diabetes o el cáncer hasta enfermedades neurodegenerativas, como la enfermedad de Alzheimer (Bullo, 2015).

En España, a la coyuntura internacional favorable se han unido otros factores, como el impulso de nuevas variedades de floración tardía (meses de marzo y abril), sin embargo, es necesaria la adaptación a las condiciones edafológicas, donde la caliza activa es uno de los factores limitantes al crecimiento y origen de la fisiopatía que más problemas provoca en fruticultura. En suelos sedimentarios es uno de los factores clave a considerar en una nueva plantación.

1.2. Objetivo general y objetivos específicos

Comprobar el comportamiento frente a caliza activa de variedades autorradicadas de almendro.

Este objetivo general se concreta en:

- Analizar la adecuación de las diferentes variedades a niveles crecientes de concentración de caliza activa.
- Realizar un seguimiento del estado clorofílico de las diferentes variedades a lo largo de un ciclo vegetativo.
- Comparar otros parámetros (fluorescencia, intercambio gaseoso y peso de órganos vegetativos) con vistas al estudio de la viabilidad de implantación del sistema superintensivo en futuras plantaciones.

1.3. El cultivo del almendro en el mundo

La adaptación del almendro a los climas más duros, combinada con su capacidad de desarrollar un profundo y extenso sistema radicular, lo ha llevado a colonizar un amplio rango de nichos ecológicos. Está bien adaptado a los inviernos templados y a los veranos secos y calurosos gracias a su temprana floración, rápido crecimiento y resistencia a calor y sequía (Gradziel, 2017).

No obstante, al ser la especie frutal que presenta una floración más temprana, su producción se limita a zonas relativamente libres de heladas primaverales (Gradziel,

2017). La producción de almendras se desarrolla principalmente en zonas de clima mediterráneo, el Valle Central de California, el Medio Este, Asia Central, las laderas del Himalaya y algunas áreas equivalentes en el hemisferio sur, incluyendo Chile, Argentina, Sudáfrica y Australia.

1.4. Producción mundial de almendra

La producción mundial es muy variable a lo largo de los años, puesto que se ve muy influenciada por las condiciones meteorológicas. Esto se debe a varios factores: (i) el clima puede afectar a la polinización cuando se presentan malas condiciones en el momento de floración; (ii) en la zona mediterránea encontramos muchas explotaciones en secano, las cuales dependen en su práctica totalidad de las condiciones ambientales; y (iii) las lluvias en momentos cercanos a la cosecha también pueden afectar a la producción (Gradziel, 2017).

Para la campaña 2019/2020, se estima una reducción de la producción de aproximadamente el 3%, hasta los 1,3 millones de toneladas de grano, ya que la reducción de las producciones en EE.UU. y la U.E. será compensada con un aumento en Australia y China. EE.UU., y más concretamente California, es el líder absoluto de la producción mundial de almendra, se espera una producción de aproximadamente 998.000 toneladas, aunque los rendimientos han sido menores se han visto compensados por la incorporación de nuevas zonas productivas. En la UE la producción caerá alrededor de un 2% hasta las 121.000 toneladas, con una demanda de importación de 285.000 toneladas (USDA, 2019).

1.5. El almendro en España

El almendro es una especie ampliamente cultivada en España (633.562 ha), con una producción total de 255.503 toneladas, que se concentra principalmente en el arco mediterráneo: Aragón (20%), Cataluña (7%), Comunidad Valenciana (17%), Murcia (12%), Andalucía (30%) y Castilla la Mancha (8%) (Ministerio de Agricultura, 2018).

Al ser un cultivo tolerante a la sequía, se ha cultivado tradicionalmente en secano y, a día de hoy, menos del 14% de la superficie está bajo regadío. Los rendimientos en secano son de en torno a 330 kg/ha, frente a una media de 1.727 kg/ha en regadío. Las buenas perspectivas económicas y de expansión que tiene actualmente el cultivo del almendro están incentivando su implantación en nuevas zonas de cultivo, que presentan unas condiciones más adecuadas para la obtención de buenos niveles productivos (Arquero, 2013). Así pues, nos encontramos que en el periodo 2013-2017 se produjo un aumento del 24,8%% de la superficie dedicada a este cultivo y un 73,2% de la producción en España (Ministerio de Agricultura, 2018).

España ha sido tradicionalmente un país exportador de almendra; sin embargo, en 2006 se produjo un cambio de tendencia que se mantiene actualmente, y las importaciones españolas superan a las exportaciones. Así, en 2018, España importó más de 82.000 toneladas de almendra en grano y exportó más de 62.000 t (Ministerio de Agricultura, 2018). Para la campaña 2019/2020 se espera una producción de 90.454 t, con un incremento de en torno al 1% respecto a la campaña anterior y del 18% si se compara con la media de los cinco últimos años (Ministerio de Agricultura, 2018).

1.6. Antecedentes del proyecto

1.6.1. Cultivos leñosos autoenraizados en secano

De forma tradicional se han cultivado en secano, incluso en aquellos más extremos, la vid, el olivo y el almendro, por tratarse de cultivos bien adaptados a condiciones de estrés hídrico. Así pues, la rentabilidad de estos cultivos ha estado ligada, por una parte, a la elección de material vegetal adecuado (selección de variedades rústicas y patrones con un sistema radicular potente, capaz de explorar un amplio perfil del suelo y de tolerar el estrés hídrico) y, por otra, a la realización de prácticas culturales que permitiesen limitar la pérdida de agua a través de la copa (transpiración) y del suelo (evaporación).

De hecho, la utilización de plantas leñosas autoenraizadas no constituye novedad alguna, dado que su utilización se remonta al Neolítico, cuando se inició la domesticación de las plantas y su propagación. Su uso se ha visto limitado tradicionalmente por la aptitud de cada especie a la emisión de raíces y por el comportamiento agronómico de la variedad sobre las mismas. Así, en avellano y en olivo, sigue siendo una práctica habitual, también utilizada en peral en variedades poco vigorosas y con mala compatibilidad con el membrillero (Iglesias, 2019).

1.6.2. La vid

La vid es quizás el cultivo en el que mejor se observa lo expuesto en el apartado 1.6.1, ya que una vez seleccionado el material vegetal, es el productor, mediante el sistema de formación, quien adapta el volumen de copa a la disponibilidad de agua mediante la poda de invierno (número de pulgares y número de yemas en cada uno de ellos). Así, en condiciones de mayor estrés, las copas son más reducidas, más bajas y de menor volumen con respecto a las zonas con mayores precipitaciones, donde se realizan los emparrados (Iglesias, 2019). También el mantenimiento del suelo libre de vegetación mediante el uso de cultivadores (con brazos intercepas) contribuye al ahorro de la humedad disponible en el suelo.

1.6.3. El olivo superintensivo

En condiciones de secanos frescales, el cultivo del olivo en seto es una realidad en España desde hace más de 25 años, principalmente con las variedades '*Arbequina*' y '*Arbosana*', con un concepto similar al expuesto a continuación para el almendro autoenraizado (Iglesias, 2019). Aunque las primeras experiencias de este cultivo en seto y secano apostaban por distancias entre filas mayores a las utilizadas en regadío (buscando con ello un mayor volumen radicular del cultivo y, por tanto, una mayor capacidad de explorar el suelo), las nuevas genéticas han permitido mejorar considerablemente el sistema gracias a la aparición de variedades mucho más eficientes en su aprovechamiento hídrico.

Los grandes avances en este sistema de producción, aparte de las ya nombradas nuevas variedades más productivas y eficientes, se resumen en los siguientes puntos (Roca, 2017):

- Diseño de un seto con dimensiones adecuadas con el objetivo de maximizar la eficiencia productiva y regulado mediante la poda mecánica de invierno en función del potencial productivo, iluminación y disponibilidad hídrica.

- Disminución de la distancia de las calles y altura del seto, consiguiendo así una mayor cantidad de “tabiques” vegetales de menor tamaño, que son capaces de aprovechar de forma más eficiente los recursos e *inputs*, y que facilitan el desarrollo de las labores sobre ellos, especialmente las de recolección.
- Reducción de los costes de implantación, mediante la utilización de planta con formato *Smarttree*®, que evita la incorporación de sistemas de emparrado (postes y alambres); además, la formación del seto se consigue de forma totalmente mecanizada, con sucesivos despuntes que permiten obtener un tabique desordenado.

1.6.4. El almendro superintensivo

Desde el año 2017 se ha producido una rápida expansión del cultivo de almendro en seto en seco a gran escala, a consecuencia de las buenas perspectivas en cuanto a precios y a una demanda creciente. Una vez sentadas las bases de los dos cultivos anteriormente expuestos, y con los buenos resultados que se han obtenido en almendro en seto en regadío en parcelas experimentales, este sistema de producción ha sufrido una evolución muy rápida hacia la eficiencia productiva y el aprovechamiento de *inputs*. Esta evolución se ha basado en dos aspectos clave:

- Los precedentes en seco apuntaban a que los patrones francos eran los mejor adaptados a condiciones de déficit hídrico, a diferencia de otros como GF-677 y Garnem, por llevar el melocotonero en sus parentales. Así pues, se han puesto en marcha programas para obtener almendro sobre sus propias raíces, lo cual permite contar con un sistema radicular adaptado a condiciones de sequía y evitar el injerto (con el consiguiente abaratamiento del plantón). Como desventajas, es preciso tener en cuenta que el almendro es difícil de radicar y sensible a la asfixia radicular.
- De la misma forma que se ha expuesto para el olivo en el apartado 1.6.3, en el almendro se han reducido los marcos de plantación, obteniendo una pared productiva formada por gran cantidad de árboles de poco tamaño, y cuyas dimensiones hacen que sea productiva en todos y cada uno de sus puntos. Siguiendo el símil con el olivo, el control del volumen de copa se realiza mediante poda mecanizada, siendo la operación que permite adaptar el seto a la disponibilidad hídrica de la zona y año.

La combinación de estas dos modificaciones aporta una mejor tolerancia a la sequía y un mayor control del volumen de copa, lo que se traduce en una gran regularidad en la producción. Además, la mayor densidad de plantación de este sistema conlleva una entrada en producción más rápida respecto al sistema tradicional.

Las características del cultivo del almendro autoenraizado en seto son, según Iglesias (2019):

- Variedades propagadas *in vitro*: se dispone de diferentes variedades en evaluación (*‘Avijor’*, *‘Guara’*, *‘Soleta’*, *‘Penta’* y *‘Vialfas’*), siempre autofértiles y de floración tardía o muy tardía, debido al riesgo de heladas en muchas zonas potenciales para este cultivo.
- Marcos de plantación estrechos: de 3,5-4,5 m entre líneas y 1,3-1,5 m entre árboles, dependiendo de la pluviometría y de las características del suelo.

- Dimensiones del seto: 60 cm de ancho por 1,50 a 2 m de altura.
- Necesidad de caballón en suelos poco drenados debido a la sensibilidad del almendro a la asfixia radicular.
- Entrada en producción en el tercer año y alcance de la plena producción en el 5º año, con una producción media potencial estimada de 650 kg/ha de grano.
- Sistema de producción ecológico, por tratarse de secanos con pluviometrías bajas y condiciones óptimas para la producción ecológica.
- Época de plantación: a ser posible en octubre-noviembre, para aprovechar las lluvias de otoño y primavera, frecuentes en muchos secanos.

Ventajas preconizadas para el seto autoenraizado frente al sistema tradicional (Iglesias, 2019):

- Control del volumen de copa, mediante la poda mecanizada y adaptación a la disponibilidad hídrica y a los suelos de cada zona.
- Producciones más regulares en el tiempo en ausencia de heladas, aunque estas hay que considerarlas como factor de riesgo en muchas zonas.
- Entrada en producción más rápida con respecto al vaso.
- Mecanización integral del cultivo, desde la poda hasta la recolección.
- Menor coste de producción y mayor rentabilidad por la reducción de costes.
- Bien adaptado a la producción ecológica por el volumen reducido de copa y la mayor eficiencia de los tratamientos.

Inconvenientes del seto autoenraizado frente al sistema tradicional (Iglesias, 2019):

- Mayor coste de plantación.
- Mala adaptación de los autoenraizados en suelos pesados y mal drenados.
- Requiere un buen nivel de tecnificación.
- Se precisa de máquinas cabalgantes para la recolección.

1.7. Los suelos en España

En el mundo, entre el 25 y el 30 % de los suelos son calcáreos (Sahin, Gunes, Taskin, y Inal, 2017), aunque según Garrido Valero (1994) este porcentaje alcanza hasta el 50% de los suelos de la Península Ibérica. En estas regiones, sobre todo en las zonas más erosionadas, pueden existir elevados contenidos en caliza activa. El caso típico de este proceso ocurre en algunos viñedos con un depósito de caliza en algunos horizontes de su perfil y situado en una zona alomada. Las partes más altas pueden haber sido erosionadas por efecto de un excesivo laboreo durante muchos años y la caliza subyacente empieza a aflorar. En este tipo de situación, el aumento de caliza activa, unido a la escasez de humedad en verano, impide el buen desarrollo del cultivo.

1.7.1. La caliza activa

Se conoce como caliza activa a la fracción fina (del tamaño de la arcilla) del carbonato cálcico (CaCO_3) y representa la cantidad de calcio libre. Constituye la fracción más reactiva, que es capaz de construir y mantener altos niveles de bicarbonato (HCO_3^-) en la solución del suelo (Inskeep y Bloom, 1986). Así pues,

entendemos que el contenido total de CaCO_3 en un determinado suelo no nos aporta una información particularmente útil.

Uno de los mayores problemas que presentan los suelos calcáreos es la baja biodisponibilidad de nutrientes debido a un alto pH y/o los niveles de HCO_3^- que afectan a la disponibilidad de macro y micronutrientes (Hell y Stephan, 2003). El bicarbonato es considerado uno de los factores más importantes que restringen la disponibilidad de hierro, ya que inactiva o inmoviliza el hierro en los tejidos de la planta (Ahmed, 2013).

La carencia de hierro inducida por la caliza activa tiene un fuerte efecto en la producción de gran cantidad de cultivos frutales, generando un gran problema económico (Jiménez et al., 2008).

1.7.2. El hierro

El hierro es un elemento abundante en la corteza terrestre, donde supone el 5,1% en peso, solamente superado por el silicio, oxígeno y aluminio (Jackson, 1958). El hierro es un micronutriente esencial para el crecimiento y desarrollo de las plantas debido a su importancia en numerosas funciones celulares (Jiménez et al., 2008) como la fotosíntesis, además de ser un cofactor de gran cantidad de enzimas antioxidantes, participando en la obtención de peróxido de hidrógeno que constituye la primera línea de protección ante patógenos (Mittler, 2002).

Como se ha indicado más arriba, su carencia supone uno de los principales desajustes nutricionales en los frutales cultivados en las zonas mediterráneas (Jiménez, Ollat, et al., 2011), especialmente en los de hueso (Byrne, Bacon, y Egilla, 1990). De hecho, entre el 20 y el 50% de estos frutales presentan carencias férricas relacionadas con los desórdenes nutricionales provocados por la gran cantidad de iones bicarbonato presentes en el suelo (Jaeger, Goldbach, y Sommer, 1999).

La causa de la carencia de hierro no suele ser su escasez, sino su baja solubilidad o disponibilidad para las plantas en la solución del suelo. Se encuentra en la naturaleza en forma de Fe(III) y Fe(II), dependiendo del estado redox del sistema. Las formas posibles son las siguientes (Catalina Tomás, 2015):

Soluble:

- Se encuentra en condiciones reductoras, como Fe^{2+} y sus formas hidroxiladas $\text{Fe}(\text{OH})_{n^{2-n}}$ en la disolución del suelo.
- Cuando el potencial de oxidación y la acidez sean altos se encuentra como Fe^{3+} y sus formas hidroxiladas $\text{Fe}(\text{OH})_{n^{3-n}}$.
- En combinaciones orgánicas formando complejos, en forma divalente y trivalente.

Insoluble:

- Como oxihidróxidos férricos (goetita, hematita, maghemita, lepidocrocita, ferridrita...)
- En forma de oxihidróxidos mixtos de Fe(III) y Fe(II), como la magnetita.
- En forma de carbonato (FeCO_3) o siderita, en suelos muy reducidos.

1.7.3. La clorosis férrica

Entre los estreses abióticos, la carencia de hierro afecta de forma severa al crecimiento de las plantas y la producción en todo el mundo. Normalmente, no es debida a una baja concentración de hierro total en el suelo, sino a que su disponibilidad para las plantas es escasa (Sahin et al., 2017).

Se conoce por clorosis férrica a un variado conjunto de síntomas relacionados con una nutrición deficiente de hierro, que afecta generalmente a plantas sensibles cultivadas en suelos calcáreos (Rombolà y Tagliavini, 2006). El síntoma principal es el amarilleamiento internervial de las hojas, debido a la inhibición de la síntesis de clorofila, que aparece, en general, en las hojas más jóvenes, por la escasa movilidad del hierro en el floema (Catalina Tomás, 2015). Cuando aparece la sintomatología, el ratio de crecimiento ya se ha visto afectado (Rombolà y Tagliavini, 2006), debido a que el hierro forma parte esencial de la composición de la clorofila, el mecanismo de transporte electrónico, la tasa fotosintética y la actividad enzimática (Sahin et al., 2017).

Además, a nivel radicular se producen una serie de cambios metabólicos, acompañados por la actividad de la enzima quelato reductasa férrica (FC-R) y de la acidificación de la rizosfera con el objetivo de incrementar la capacidad de absorción del ion Fe (M'Sehli et al., 2008).

Por último, a nivel químico, se ha demostrado que ocurren una serie de cambios a nivel de concentración de algunos de los principales componentes vegetales:

- La concentración de carbohidratos y las tasas de catabolismo de estos aumentan en condiciones de baja concentración de hierro para sostener energéticamente los requerimientos de la planta estresada (Jelali et al., 2010).
- La concentración de aminoácidos aumenta con la carencia de hierro motivada por el sostenimiento de una mayor síntesis de proteínas.
- La concentración de ácidos orgánicos marca el límite de hierro soluble en el suelo cuando son excretados por las plantas, pueden facilitar la translocación de iones y pueden ser asociados a la reducción de Fe³⁺ (Abadía et al., 2002).

La clorosis puede verse agravada (o motivada) por una serie de fenómenos meteorológicos que suelen darse en primavera y que se detallan a continuación:

- Fuertes lluvias, que tienden a saturar los poros del suelo y a aumentar las concentraciones de HCO₃⁻.
- Un aumento marcado de la temperatura del aire, estimulando el crecimiento de los brotes y por tanto los requerimientos de hierro.
- Temperaturas de suelo por debajo de los valores óptimos de absorción de hierro.

Si la carencia se prolonga en el tiempo y los árboles no son tratados, la clorosis evolucionará en necrosis, produciéndose una caída prematura de las hojas (Rombolà y Tagliavini, 2006).

Resulta conveniente cerciorarse de que la clorosis está causada por una carencia de hierro y no por algún otro tipo de desorden nutricional (Rombolà y Tagliavini, 2006).

La predicción del riesgo potencial durante la elección del material vegetal (especialmente el patrón) tiene una gran importancia, ya que permite evitar dificultades futuras a la hora de conseguir producciones adecuadas y la necesidad de recurrir a métodos agronómicos y químicos con, en ocasiones, una alta exigencia económica. Es, pues, necesario buscar y probar nuevos genotipos tolerantes a la clorosis inducida por la caliza activa, que además deben cumplir otros requerimientos agronómicos, tales como compatibilidad con la variedad injertada y tolerancia o resistencia a las principales plagas y enfermedades de nuestros suelos, que permita usarlos como portainjertos comerciales (Reighard, Ouellette, y Brock, 2006).

1.7.4. Relaciones caliza–hierro–suelo

Como se ha explicado en el apartado 1.7.2, el hierro en el suelo está presente en forma insoluble, principalmente como goethita, hematita y ferrihidrita. Todas estas formas son difícilmente accesibles para las plantas, y aún más si cabe en condiciones aeróbicas y de elevado pH, por lo que determinar el contenido total de hierro en el suelo tiene un uso limitado (Lindsay, 1974).

Existen una gran cantidad de propiedades del suelo que intervienen en la nutrición férrica, es por ello que no es fácil predecir un futuro desarrollo clorótico en un cultivo perenne en base a un único parámetro del suelo:

- Los contenidos de arcilla y materia orgánica influyen en la disponibilidad del hierro. En los suelos arcillosos existe una tendencia a adsorberlo; sin embargo, un contenido adecuado de materia orgánica actúa de forma favorable en el aprovechamiento del hierro por parte del cultivo, debido a sus propiedades acidificantes y reductoras, así como a la capacidad de determinadas sustancias húmicas para formar quelatos en condiciones adversas de pH (Lindsay, 1979).
- La enzima FC-R cuyo comportamiento se expone en el epígrafe 1.7.5 alcanza su máxima actividad a niveles de pH entre 4 y 5 (Schmidt, 1997). Sin embargo, esta enzima es muy sensible a los cambios en el medio: las temperaturas extremas (muy por encima o debajo de 25°C), los valores de pH superiores a 7,5, y la presencia de metales pesados reducen su actividad (Lucena, 2000).
- El contenido de carbonatos del suelo tiene gran influencia sobre las propiedades físicas y químicas de los suelos y con la disponibilidad de Fe, en particular la concentración de HCO_3^- en la solución del suelo es el parámetro más determinante en la inducción de clorosis férricas, ya que tampona el pH entre 7,5 y 8,5. En este rango, la disponibilidad de Fe es mínima, lo que favorece su oxidación y su paso a compuestos de baja solubilidad (Catalina Tomás, 2015).

Si bien es cierto que estas propiedades surgen de las relaciones caliza-hierro-suelo y nos van a condicionar desde el punto de vista químico, existen otras propiedades de los suelos determinadas por la presencia de carbonato cálcico que van a condicionar el desarrollo de las raíces desde una perspectiva física (Catalina Tomás, 2015):

- Los carbonatos influyen en la formación de horizontes y agregados estructurales.

- Los suelos calcáreos presentan alta densidad aparente y baja macroporosidad, características que pueden ser agravadas con texturas finas y por acción de la cementación de materiales calcáreos.
- Los suelos calcáreos pueden ser compactados en profundidad y formar costras en superficie que dificulten el crecimiento de las plántulas.

Una mejor estimación del hierro asimilable por las raíces del cultivo se obtiene por extracción mediante oxalato amónico o bicarbonato amónico (DTPA). El pH del suelo es a menudo una herramienta interesante pero no suficiente.

1.7.5. Absorción del hierro

En función del tipo de respuesta que las plantas realicen frente a la clorosis férrica encontramos dos grupos: no eficientes (o calcífugas), que son las que no desarrollan ningún tipo de respuesta, y eficientes (o calcícolas), que desarrollan respuesta. Las calcícolas las podemos subdividir en dos grupos en función de los mecanismos que desarrollan para adquirir el hierro del medio de crecimiento. Diferenciamos la estrategia I (donde se incluyen dicotiledóneas y monocotiledóneas no gramíneas) y la estrategia II (donde se incluyen las gramíneas).

Tradicionalmente se habían considerado como dos estrategias independientes, pero en los últimos años se han encontrado algunas excepciones: algunas plantas de estrategia II tienen algunos sistemas de las de estrategia I, y viceversa (Kobayasi y Nishizawa, 2014).

1.7.5.1. Estrategia I

Para aumentar la capacidad de absorción de hierro del suelo, las plantas dicotiledóneas y monocotiledóneas no gramíneas desarrollan una serie de reacciones en respuesta a la deficiencia de hierro (Martínez Cuenca, 2012):

- Acidificación de la rizosfera y del apoplasto de la raíz, gracias a la excreción de protones por medio de la estimulación de la enzima H⁺-ATPasa.
- Incremento de la capacidad reductora a través de la inducción de la actividad de la enzima FC-R, que toma electrones de la nicotinamida adenina dinucleótido (NADH) y reduce los iones Fe³⁺ a Fe²⁺. Su capacidad aumenta a pH entre 4 y 5, y en condiciones de ausencia de Fe en el medio.
- Transporte del hierro al interior de las células de la raíz, debido a la enzima *Iron-Regulated Transporter 1* (IRT1) que actúa como transportador, que se encuentra en la membrana plasmática y que requiere una cierta presencia de hierro para la expresión de los genes que la regulan.

1.7.5.2. Estrategia II

Las raíces de las plantas gramíneas sintetizan y excretan compuestos de bajo peso molecular, los fitosideróforos (FS), que tienen la capacidad de formar complejos con el Fe(III) presente en el suelo. Estas sustancias son liberadas por las raíces y tienen la capacidad de incrementar la cantidad de Fe en la disolución del suelo. Tras ello, son absorbidos sin reducción a través de un sistema de transporte de alta afinidad de la membrana de la raíz. Estos fitosideróforos se sintetizan en zonas subapicales de la raíz, y su precursor es la metionina, que es un aminoácido cuyo ciclo de síntesis sufre una gran activación en raíces de plantas deficientes en hierro (Martínez Cuenca, 2012).

Por otro lado, el transporte del complejo hasta el citoplasma se realiza con la acción de una proteína de alta especificidad (YS1, *Yellow Stripe 1*), regulada por la deficiencia de hierro en raíz y tallo. Cuando el complejo llega al citosol, se libera el Fe³⁺ y el fitosideróforo es degradado o liberado nuevamente al exterior.

1.8. Métodos de seguimiento del estado fisiológico

1.8.1. Medida de la clorofila

La clorofila es un pigmento que absorbe la luz y permite a las plantas y otros organismos realizar la fotosíntesis, convirtiendo el dióxido de carbono y agua en glucosa y oxígeno (Salisbury y Ross, 2009). Su contenido foliar está a menudo muy correlacionado con la actividad fotosintética y el estado de nitrógeno de las hojas (Evans, 1983). El contenido de clorofila, sumado a la tasa de fotosíntesis, constituyen los principales factores que influyen en el crecimiento y las respuestas a los insumos nutricionales de las plantas.

Tradicionalmente la concentración de clorofila en hoja se determinaba mediante extracción de muestras de hoja y análisis espectrofotométrico (Porra et al., 1989), aunque este método presentase algunos inconvenientes, como ser un método destructivo, caro y costoso en el tiempo, además de no poder ser aplicado para todos los propósitos (Uddling et al., 2007).

La alternativa pasa por el análisis no destructivo mediante el uso de medidores SPAD. Si bien el medidor SPAD se desarrolló originalmente en Japón para el manejo del nitrógeno en la producción de arroz (*Oryza sativa* L.), actualmente se usa de forma habitual para la estimación rápida y no destructiva de la clorofila foliar (Wood et al., 1993). Ha sido utilizado desde los años 90 en cuantificación de clorofila en hoja, nutrición vegetal, estimación de producción, evaluación de combinaciones patrón/variedad e incompatibilidad traslocada de injerto, porque un bajo índice SPAD puede ser asociado con el bloqueo de asimilación de carbohidratos y al consumo de N (das Neves et al., 2017).

El medidor de clorofila más usado es el SPAD-502, que es un dispositivo portátil, autocalibrado, cómodo de usar y no destructivo que permite estimar la cantidad de clorofila presente en las hojas de las plantas (Yadawa, 1986), así como el estado de nitrógeno de las mismas (Rubio-Covarrubias et al., 2009). Este instrumento cuantifica la cantidad relativa de clorofila foliar midiendo la transmitancia de la hoja en dos bandas de longitud de onda (400-500 nm y 600-700 nm) e informa de las lecturas en unidades arbitrarias (SPAD-502 Índice de Clorofila, SCI), que son proporcionales a la concentración de clorofila en hoja.

Existe relación entre el color verde de las hojas (medido por el SPAD) y la concentración de clorofila, y es por ello que el SPAD es usado para estimar concentraciones de clorofila en hoja con gran precisión (Sim et al., 2015), y para identificar variedades sensibles a clorosis férrica (Radhamani et al., 2016).

Debido a la buena correlación entre las lecturas SPAD con el contenido de clorofila, y a la pronta disponibilidad de los resultados, el medidor SPAD es ampliamente aceptado en agronomía (Loh et al., 2002).

1.8.2. Medida de la fluorescencia

La fluorescencia de la clorofila se ha usado para evaluar la respuesta de las plantas a diferentes tipos de estrés (Baker y Rosenqvist, 2004). Aporta información sobre el proceso de transporte electrónico en la fotosíntesis que no puede ser obtenida por otros métodos más tradicionales, como la medición de la fotosíntesis basada en el intercambio de gases. Además, ha demostrado ser un indicador sensible a los daños en la fotosíntesis causados por estrés ambiental (Schreiber et al., 1995).

El principio del análisis de fluorescencia de la clorofila, según Maxwell and Johnson (2000), es relativamente sencillo, ya que supone que la energía de la luz absorbida por las moléculas de clorofila en una hoja puede experimentar uno de los tres procesos siguientes:

- Puede ser usada en la fotosíntesis.
- Puede disiparse en forma de calor.
- Puede volver a emitirse como luz (fluorescencia).

Estos tres procesos ocurren en competencia, de modo que cualquier aumento en la eficiencia de uno dará como resultado una disminución del rendimiento de los otros dos. Por lo tanto, al medir la fluorescencia de la clorofila se puede obtener información sobre los cambios en la eficiencia de la fotoquímica y la disipación de calor.

Se sabe desde hace tiempo que los cambios en la emisión de la fluorescencia de la clorofila en organismos fotosintéticos son con frecuencia indicadores de cambios en la actividad fotosintética (McAlister y Myers, 1940). Además, se ha demostrado que las mediciones de fluorescencia de clorofila podrían usarse para estimar, de manera rápida y no invasiva, la eficiencia operativa del transporte de electrones a través de la función del fotosistema II (PSII), relacionada con la asimilación de CO₂ (Siebke et al., 1997).

Según Baker and Oxborough (2004), los parámetros que intervienen en la fluorescencia de la clorofila son los siguientes:

- F_M : nivel máximo de fluorescencia para hojas adaptadas a la oscuridad.
- F_0 : nivel mínimo de fluorescencia para hojas adaptadas a la oscuridad.
- F_V (fluorescencia variable): diferencia entre las dos anteriores.

La fluorescencia mínima (F_0) es la emitida cuando la quinona (Q_A), receptora primaria de electrones en el PSII, está completamente oxidada y el centro de reacción del PSII está abierto al comenzar las reacciones fotoquímicas (Jiménez-Suanca y Balaguera-López, 2015).

La F_0 es independiente de los eventos fotoquímicos y su aumento puede tener dos causas: daños en el centro de reacción del PSII o una reducción de la capacidad para transferir la energía de excitación de la antena hacia el centro de reacción (Baker y Rosenqvist, 2004).

En general, la fluorescencia mínima (F_0) y variable (F_V) nos permiten estimar si existe estrés o daño en el aparato fotosintético (Kodad y Morales Iribas, 2011). El parámetro de fluorescencia F_V/F_M proporciona una estimación de la eficiencia cuántica máxima de la fotoquímica del PSII (Baker y Oxborough, 2004). Para un gran rango de especies, tanto salvajes como domésticas o crecidas en laboratorio, estos

parámetros se han usado como indicadores del daño causado al aparato fotosintético por el hielo, la sequía o la contaminación, constituyendo así una base para la selección de genotipos en programas de mejora genética (Mohammed et al., 1995).

1.8.3. Medida de la conductancia estomática

Para realizar la fotosíntesis y respiración, las plantas, necesitan tomar CO₂ y O₂ de la atmósfera, respectivamente. Para ello cuentan con unas estructuras que se denominan estomas, que son unos pequeños poros localizados en la epidermis de las hojas que dan a la planta acceso inmediato a los compuestos nombrados anteriormente (Aldasoro Galán, 2017).

La conductancia estomática (g) es la velocidad (cm·s⁻¹) a la cual se produce el flujo de agua transpirada desde las hojas hacia la atmósfera a través de los estomas (López, 2005), de modo que esta velocidad es directamente proporcional al nivel de apertura estomático. La herramienta que nos permite determinar este parámetro se denomina porómetro, y su funcionamiento se basa en la técnica del estado estacionario, que consiste en calcular el flujo de vapor en la superficie de una hoja midiendo la presión de vapor en dos puntos de ésta, que están separados por una cámara de recorrido conocido.

Entre los factores que provocan variaciones en la apertura estomática, se encuentran la humedad atmosférica y del suelo, la concentración de CO₂ y O₂ del aire, la luz, la temperatura y la velocidad del viento (Aldasoro Galán, 2017).

El estado ideal de los poros, buscado en los sistemas agrícolas, es aquel de máxima apertura estomática, lo cual se traducirá en una alta tasa de transpiración (salida de H₂O y O₂), además se permitirá la entrada de CO₂ (López, 2005), satisfaciendo la alta demanda de este compuesto por parte de las hojas, motivada por la alta tasa fotosintética, promovida a su vez por una alta radiación y estado hídrico adecuado (Aldasoro Galán, 2017).

El caso contrario ocurre por la noche: cuando la demanda de CO₂ es mínima, también lo es la apertura estomática, limitando así pérdidas innecesarias de agua (Aldasoro Galán, 2017) y provocando una disminución drástica de la conductancia estomática (López, 2005).

Existe un factor que prevalece sobre el resto, y que produce el cierre de los estomas: la humedad del suelo. Bajo condiciones de estrés hídrico, aún en presencia de luz y CO₂, se produce el cierre estomático, sacrificándose la fotosíntesis con el objetivo de evitar pérdidas de agua (Díaz y Aguirreolea, 2008), lo cual produce una disminución en la producción (López, 2005).

Los estomas requieren una regulación muy precisa, lo cual se debe fundamentalmente a que la atmósfera se encuentra, en general, muy lejos de su punto de saturación de agua (Aldasoro Galán, 2017). Las actividades de apertura y cierre estomático son las que mantienen la homeostasis, equilibrando la actividad fotosintética y el estatus hídrico en la planta (Díaz y Aguirreolea, 2008), y evitando disminuciones acusadas en la eficiencia del uso del agua (Spinelli, 2015).

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Material vegetal

2.1.1. Variedades

En el presente estudio se han ensayado cinco variedades autorradicadas, cuyas principales características se recogen a continuación:

2.1.1.1. 'Guara'

- Origen: desconocido. Seleccionada y saneada en la Unidad de Fruticultura del Servicio de Investigación Agraria de la Diputación General de Aragón.
- Porte: muy abierto.
- Vigor: medio.
- Flor: época de floración del 27 de febrero al 13 de marzo (en el Valle del Ebro). Flores de color blanco y tamaño medio, localizadas principalmente en ramilletes de mayo. Elevada densidad de floración.
- Polinización: autógama, no requiere polinización cruzada, aunque puede polinizarse con variedades de su época de floración.
- Fruto: consistencia de la cáscara dura, de forma amigdaloides. Rendimiento en pepita 30-34%.
- Pepita: acorazada, con 1,30 g de peso medio, de sabor agradable.
- Observaciones: El estigma se encuentra situado a la misma altura que los estambres, lo cual permite la autopolinización. El comportamiento frente a heladas tardías ha sido bueno y ello explica su regularidad de producción. Fácil formación y poda.

2.1.1.2. 'Soleta'

- Origen: '*Blanquerna*' × '*Belle d'aurons*'. Siglas de la selección: F-4-10. Clon 503. Nº de registro en la OEW 20054616 (27 de octubre de 2005).
- Porte: semi-abierto.
- Vigor: medio.
- Flor: época de floración tardía, unos 2-3 días antes de '*Guara*'. Flores de color blanco y tamaño medio a grande, localizadas principalmente en ramilletes de mayo y menos en ramos mixtos. Elevada densidad de floración.
- Polinización: autógama, no requiere polinización cruzada, aunque puede polinizarse con variedades de su época de floración.
- Fruto: consistencia de la cáscara dura, sin separarse en capas, de forma elíptica. Rendimiento en pepita 27-35%.
- Pepita: elíptica, con 1,27 g de peso medio, de sabor agradable. De fácil pelado una vez tostada.
- Observaciones: la morfología de la flor permite su autopolinización. La poda de formación y de fructificación es sencilla. Interesante por la calidad, por la respuesta de su pepita al tostado y por su época de maduración medio-tardía, lo que puede permitir el escalonamiento de la recolección.

2.1.1.3. 'Penta'

- Origen: 'S5133' × 'Lauranne'. Seleccionada en el CEBAS-CSIC, Murcia.
- Porte: intermedio.
- Vigor: intermedio.
- Flor: época de floración extra-tardía, 12-14 días después de 'Guara'. Flores de color blanco, localizadas principalmente en brindillas y ramos mixtos. Elevada intensidad de floración.
- Polinización: autógama, no requiere polinización cruzada y presenta un alto nivel de auto-fertilidad.
- Fruto: consistencia de la cáscara dura, de forma típica amigdaloides. Rendimiento en pepita 27%.
- Pepita: elíptica amigdaloides, con 1 g de peso medio.
- Observaciones: Presenta una maduración temprana, es bastante resistente a enfermedades y no produce semillas dobles.

2.1.1.4. 'Avijor'

- Origen: 'Ferragnès' × 'Tuono'. Seleccionada en el INRA, Francia.
- Porte: semiabierto.
- Vigor: medio.
- Flor: época de floración extra-tardía, 10-12 días después de 'Guara'. Flores blancas, de tamaño medio, localizadas preferentemente en ramilletes de mayo.
- Polinización: autógama, no requiere polinización cruzada y presenta un alto nivel de auto-fertilidad.
- Fruto: consistencia de la cáscara semidura, de forma alargada. Rendimiento en pepita 35-40%.
- Pepita: forma alargada, con 1,3 g de peso medio.
- Observaciones: presenta una alta resistencia a enfermedades criptogámicas, especialmente a mancha ocre. Muy fácil formación del árbol y poda.

2.1.1.5. 'Vialfas'

- Origen: 'Felisia' × 'Bertina'. Siglas de la selección: I-3-27. Clon 546.
- Porte: semiabierto.
- Vigor: medio.
- Flor: época de floración ultra-tardía, 17 días después de 'Guara'. Flores blancas, de tamaño medio, localizadas tanto en ramilletes de mayo como en ramos mixtos.
- Polinización: autógama, no requiere polinización cruzada, aunque presenta un alto nivel de auto-fertilidad.
- Fruto: consistencia de la cáscara dura, de forma elíptica. Rendimiento en pepita 25%.
- Pepita: forma acorazada, con 1,2 g de peso medio, de sabor agradable.
- Observaciones: la fruta muestra muy buena calidad organoléptica, alto contenido en ácido oleico y fitoesteroides. Fácil formación del árbol y poda, alta tolerancia a enfermedades (mancha ocre).

2.1.2. Patrones

Para propósitos de comparación, también se han ensayado dos patrones, con las siguientes características:

2.1.2.1. 'GF-677'

Información general:

- Especie: híbrido de almendro y melocotonero (*Prunus dulcis* × *Prunus persica*).
- Origen: programa de mejora genética de INRA.

Características agronómicas:

- Vigor: muy vigoroso.
- Compatibilidad: patrón utilizable para almendro, melocotón y ciruelo japonés en regadío, así como para almendro en secano.
- Porte: semi-erguido.
- Productividad: bastante productivo.
- Propagación: buena capacidad de propagación por los diferentes sistemas en uso.
- Adaptabilidad: se considera que es un buen patrón, especialmente indicado para situaciones con problemas de nematodos y para plantaciones con bajas necesidades de frío.

2.1.2.2. 'Mirabolano'

Información general:

- Especie: *Prunus cerasifera* Ehrh.
- Origen: seleccionado en California.

Características agronómicas:

- Vigor: medio-bajo.
- Compatibilidad: patrón utilizable para ciruelo y algunas variedades de albaricoquero.
- Porte: semi-erguido.
- Productividad: bastante productivo, alta calidad de frutos.
- Propagación: buena capacidad de propagación por los diferentes sistemas en uso.
- Adaptabilidad: se considera que es un buen patrón, se adapta bien a la caliza, a la asfixia radicular y a la sequía.

2.2. Preparación del sustrato y plantación

El primer paso en el desarrollo del experimento fue la preparación de suelos con diferente concentración de caliza activa, para lo cual se mezcló el componente principal del sustrato (en este caso ha sido la turba rubia), con diferentes cantidades de caliza activa (Figura 1). Se obtuvieron así los sustratos para los diferentes tratamientos en los que se basa el estudio, correspondientes a un 5%, 10%, 15%, 20%, 25% y 30% de concentración de caliza activa, así como un tratamiento testigo (solo turba).



Figura 1. Detalle proceso de preparación del sustrato. Fuente: elaboración propia.

Para comprobar si parte de la caliza activa podía haber sido lixiviada, bien debido a un excesivo riego o como consecuencia de alguna tormenta, se llevaron a cabo dos análisis de suelo a lo largo del ciclo vegetativo que duró el experimento (a la mitad y al final).

Tras haber obtenido una mezcla homogénea de cada una de las concentraciones citadas en el apartado anterior, cada sustrato (tratamiento) se distribuyó en 31 macetas de 3 L. En cada una de ellas se dispuso un plantón, se cubrió el total de la raíz con sustrato, se presionó con las manos y se regó hasta capacidad de campo, tratando así de que la raíz quedara adecuadamente cubierta por el sustrato, sin huecos (Figura 2). En todos los tratamientos se aportó abono.



Figura 2. A la izquierda, detalle de un plantón tras la plantación. A la derecha, diferentes tratamientos con niveles de caliza activa, de izquierda a derecha: 15%, 10%, 5% y testigo.

Los plantones empleados en el ensayo fueron cinco variedades de almendro autorradicadas ('Guara', 'Soleta', 'Penta', 'Avijor' y 'Vialfas', presentadas en la sección 2.1.1) y dos patrones ('GF-677' y 'Mirabolano', comentados en la sección 2.1.2). Las 31 macetas de cada tratamiento fueron ocupadas por 6 individuos de 'Guara', 'Soleta', 'Penta' y 'Avijor', 3 individuos de 'Vialfas', y 2 de cada patrón. En adelante,

estos individuos, tanto variedades como patrones, se designarán mediante el término 'variedad' o 'variedades'.

2.3. Meteorología

Los datos agrometeorológicos se obtuvieron a través de la web de la Oficina del Regante, solicitándose los de la estación meteorológica más cercana, en este caso Huesca. Se trabajó con las medias semanales para temperatura mínima, media y máxima y con los datos de pluviometría mensual y evapotranspiración. A partir de ellos se elaboró un climograma.

2.4. Prácticas agronómicas

La primera labor agronómica que se realizó tras la plantación, indicada en el epígrafe 2.2, consistió en el riego de las macetas de forma manual y abundante, con el objetivo de que se compactase el sustrato y no quedasen poros grandes en las inmediaciones de la raíz.

A continuación, se organizaron los plantones formando filas, en cada una de las cuales se disponía un determinado tratamiento (o concentración de caliza), como se muestra en la Figura 3. Se clavaron tutores de madera (uno en cada maceta), sin prescindir de los tutores plásticos originales del vivero, a los que se ató (mediante macarrón azul de PVC) el plantón (Figura 4), con el objetivo de minimizar los zarandeos por la acción del viento que pudieran producir roturas y para favorecer un crecimiento recto.



Figura 3. Disposición de los tratamientos en filas. Apréciase la falta de tutores. Fuente: elaboración propia

Se amarró a la zona media de cada plantón una etiqueta (Figura 4), en la cual se especificaba la variedad que correspondía además del tratamiento al que estaba sometido.

Se instaló el sistema de riego localizado de alta frecuencia, cuyo accionamiento se automatizó mediante una electroválvula. Los laterales se dispusieron de forma longitudinal respecto a cada tratamiento (Figura 4). Los emisores presentaban una separación de 30 cm y un caudal de 6 L/h, de forma que a cada maceta le

correspondiese un emisor. Cada cinco macetas se colocó un sistema de anclaje del lateral de riego al sustrato, y además se ató a cada plantón (con macarrón de PVC), con el objetivo de evitar que deformaciones en la tubería pudiesen dejar algún plantón sin la correspondiente dosis de riego.



Figura 4. Detalles varios: entutorado, etiquetado y anclaje del sistema de riego. Fuente: elaboración propia.

Se monitorizaron las principales plagas, aunque no fue necesario realizar tratamientos fitosanitarios debido a éstas se encontraron por debajo del umbral. En cuanto a enfermedades criptogámicas, se limitaron los tratamientos a dos aplicaciones preventivas con productos cúpricos en las primeras semanas de desarrollo de los plantones. Con la entrada del verano, las condiciones de temperaturas elevadas y baja humedad ambiental hicieron posible prescindir de consiguientes aplicaciones.

2.5. Medidas en hoja

Para realizar las mediciones se eligieron, como norma general, hojas adultas, completamente formadas y funcionales, y que a simple vista no presentaban ningún daño, enfermedad o plaga que pudiera distorsionar la toma de datos.

Así pues, en cada medición, se descartaban, por una parte, las hojas apicales, por su inmadurez e incapacidad de llevar a cabo de forma adecuada las funciones fotosintéticas, y las hojas basales, por su mayor deterioro y senescencia, además de por recibir una deficiente iluminación.

En la Figura 5 se ilustra lo expuesto en los primeros párrafos de este epígrafe: en verde se marcan las hojas apicales, en amarillo las hojas que son objeto de mediciones, y en rojo las hojas más viejas.

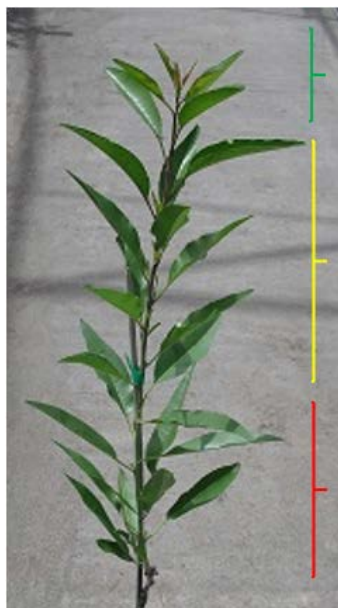


Figura 5. Detalle de los diferentes tipos de hojas en el plantón. Fuente: elaboración propia.

2.5.1. Medida de la clorofila

Se monitorizó el estado de la clorofila en hoja a lo largo de todo el periodo vegetativo. Se tomaron dos medidas por plantón (en dos hojas diferentes) en las siguientes fechas: 4 y 14 de junio, y 2, 12, 18, 24 y 30 de julio. Para ello, se utilizó un medidor SPAD-502 (Konica Minolta, Figura 6).



Figura 6. Medidor de clorofila Minolta SPAD-502. Fuente: Konica-Minolta.

2.5.2. Medida de la fluorescencia

Se midió la fluorescencia de la clorofila mediante un fluorímetro o PEA (*Plant Efficiency Analyser*), en concreto, con un equipo Hansatech FMS2+ (Hansatech, Figura 7).



Figura 7. Medidor de fluorescencia Hansatech FMS2+ Fuente: Hansatech Instruments.

Este sistema requiere un proceso de adaptación de las hojas a la oscuridad, y consta de varios elementos:

- *Clips* de hoja: el primer paso en la medición consiste en cubrir la hoja o la parte de ella donde se va a medir con un *clip* cerrado (Figura 8). El proceso de adaptación a la oscuridad es variable en cuanto a tiempo, dependiendo de la especie, aunque se tomó como norma general 30 minutos.
- Sensor: Su cabezal redondeado encaja en el clip, que se abre exponiendo la planta a la iluminación y medición. La iluminación es producida por seis LEDs que producen luz roja con una longitud de onda de en torno a 650 nm, que es fácilmente absorbida por los cloroplastos. El detector es un fotodiodo de alto rendimiento asociado a un circuito amplificador. El diseño óptico y el filtrado aseguran que responde al máximo a la señal de fluorescencia.
- Caja de control: Contiene todo el instrumental electrónico del PEA (batería, disco duro, teclado...). Recibe la señal de fluorescencia del sensor y la transforma de analógica a digital, mostrando en la pantalla los parámetros de fluorescencia.



Figura 8. A la izquierda: detalle de clip de hoja durante la fase de adaptación a la oscuridad. A la derecha: disposición de varios clips sobre tratamiento testigo. Fuente: elaboración propia.

Se tomó una medida por plantón tomando el criterio expuesto en el epígrafe 2.5, el día 2 de junio.

2.5.3. Medida de la conductancia estomática

Se midió la conductancia estomática utilizando un Porómetro de Hoja SC-1 (Decagon, Figura 9).



Figura 9. Medidor de conductancia estomática Decagon SC-1. Fuente: Decagon Devices.

Se tomó una medida por plantón tomando el criterio expuesto en el epígrafe 2.5, en dos fechas: 29 de julio y 23 de octubre.

2.6. Seguimiento de la concentración de caliza activa

Se obtuvieron muestras del sustrato de varias macetas de cada uno de los tratamientos con una barrena, de modo que la muestra incluía todo el (posible) perfil de la maceta. Este análisis se realizó al final del experimento, con el objetivo de saber si parte de la caliza admitida por la turba había podido perderse por lixiviación, debida al riego o a algún periodo de lluvias.

Se calculó la concentración de caliza activa en cada uno de los tratamientos mediante el método de Nijelsohn. A continuación se detalla el protocolo:

- Se mezclaron 5 g de sustrato, secado al aire, con 125 mL de oxalato amónico 0,2N y la mezcla se sometió a agitación durante dos horas en agitador mecánico.
- Se filtró al vacío en un embudo Büchner con papel de filtro (Figura 10).
- A partir de 25 mL de filtrado, se valoró por calcimetría el volumen de CO₂ desprendido tras la adición de HCl.



Figura 10. Resultado de la filtración. De menor a mayor concentración de caliza activa (izquierda a derecha). Fuente: elaboración propia.

Con los resultados obtenidos de la valoración se calculó el porcentaje de caliza activa según la siguiente fórmula:

$$\text{Caliza activa (\%)} = \frac{P' \times L}{L' \times P} \times \frac{250}{25} \times 1000$$

donde:

- L = volumen (mL) de CO₂ desprendido por el suelo.
- L' = volumen (mL) de CO₂ desprendido por el CaCO₃ patrón.
- P = peso de suelo seco (g).
- P' = peso de CaCO₃ (g).

2.7. Análisis estadístico

El análisis estadístico se ha llevado a cabo con el software XLSTAT 2018 (Addinsoft SARL, Paris, Francia).

A continuación, se describen brevemente las pruebas estadísticas utilizadas:

- Análisis de la varianza (ANOVA, *ANalysis Of VAriance*), tanto unifactorial como multifactorial, para la determinación de diferencias significativas entre los distintos factores. La interpretación de los resultados se ha llevado a cabo mediante el Test HSD (*Honestly-Significant-Difference*) de Tukey, un test de comparaciones múltiples que permite comparar las medias de los t niveles

de un factor después de haber rechazado la hipótesis nula de igualdad de medias mediante la técnica ANOVA.

- Análisis de la varianza (ANOVA, *ANalysis Of VAriance*) con medidas repetidas (MR), para estudiar el efecto de uno o más factores cuando al menos uno de ellos es un factor intra-sujetos. La interpretación de los resultados se ha llevado a cabo mediante el Test HSD (*Honestly-Significant-Difference*) de Tukey, un test de comparaciones múltiples que permite comparar las medias de los t niveles de un factor después de haber rechazado la hipótesis nula de igualdad de medias mediante la técnica ANOVA.
- Prueba de Kruskal-Wallis: método no paramétrico para probar si un grupo de datos proviene de la misma población. Es equivalente al ANOVA. La interpretación de los resultados se ha llevado a cabo mediante las comparaciones múltiples por pares mediante el procedimiento de Conover-Iman (Prueba bilateral).
- Prueba de Friedman: método no paramétrico que equivale a la prueba de ANOVA para medidas repetidas. La interpretación de los resultados se ha llevado a cabo mediante las comparaciones múltiples por pares mediante el procedimiento de Nemenyi (prueba bilateral).
- Matriz de correlaciones de Pearson: permite determinar la fuerza del vínculo entre dos variables cuantitativas, ya sea positiva o negativa.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Condiciones del ensayo

3.1.1. Análisis químico de los sustratos artificiales preparados

En la Tabla 1 se muestra la concentración de caliza activa aplicada a los diferentes tratamientos (% en volumen), así como la cantidad de caliza activa fijada finalmente en el sustrato, obtenida mediante análisis químico al final del experimento. Si bien no se obtuvieron valores de caliza activa superiores al 17%, es preciso señalar que los tratamientos 4, 5 y 6, debido a su mayor contenido volumétrico de caliza, presentaron un comportamiento físicamente diferente, con mayor consistencia y compacidad.

Tabla 1. Sustratos artificiales empleados en los diferentes tratamientos. Se muestra la relación volumétrica de caliza activa aplicada a la mezcla, 'Caliza (% en volumen)', y el contenido de caliza activa finalmente fijado en la turba al final del periodo de estudio, 'Caliza activa (%)'.

Tratamiento	Caliza(% en volumen)	Caliza activa (%)	Desviación
T0	0	0,77	±0,14
T1	5	8,26	±0,05
T2	10	11,02	±0,47
T3	15	14,40	±0,05
T4	20	15,41	±0,41
T5	25	15,61	±0,14
T6	30	16,26	±0,19

3.1.2. Condiciones meteorológicas

En el diagrama de Gausson de la Figura 11 se resumen los datos obtenidos de la estación meteorológica más cercana (Huesca) para año en el que se realizó el estudio (2019): temperaturas mínimas, medias y máximas, así como pluviometría.

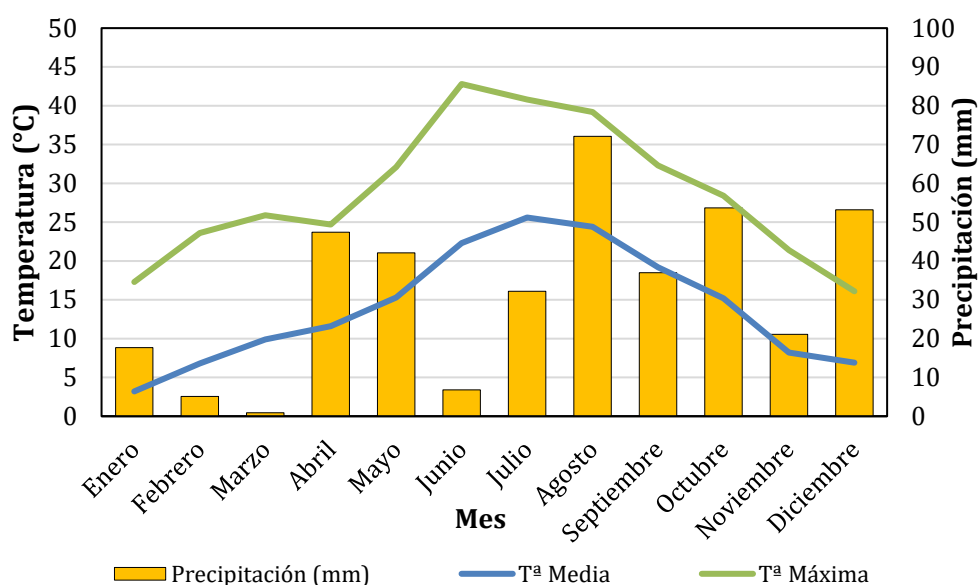


Figura 11. Diagrama de Gausson. Fuente: datos climáticos de la estación de Huesca.

3.2. Seguimiento del estado de la planta

3.2.1. Medida de la clorofila

3.2.1.1. Evolución temporal

Al estudiar de forma global la evolución del SPAD (**Figura 12**), independientemente de los factores ‘Variedad’ y ‘Tratamiento’, se observó un decaimiento con el tiempo (expresado en formato de día juliano), obteniéndose pequeñas diferencias, significativas desde el punto de vista estadístico, que se recogen en la Tabla 2.

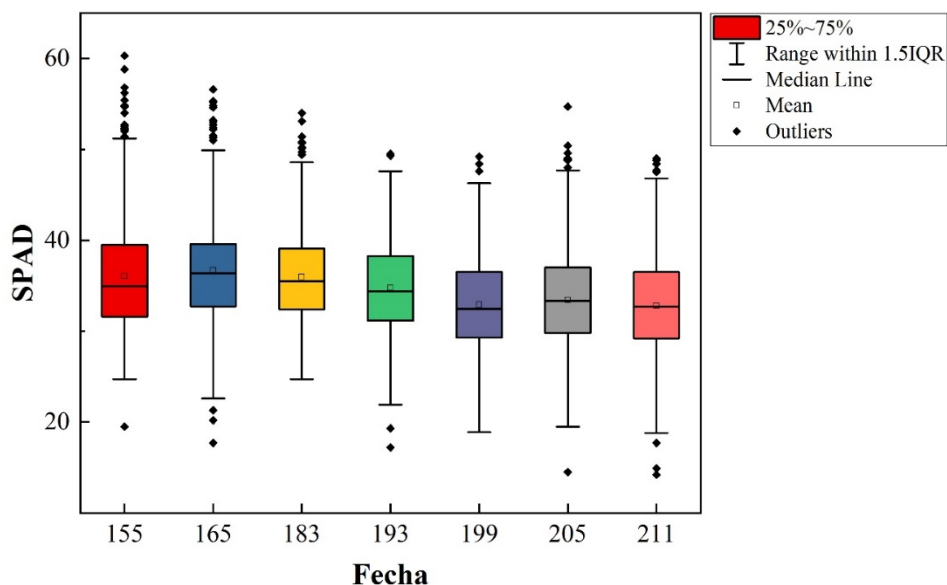


Figura 12. Box plot de las medidas SPAD en las diferentes fechas de toma de datos.

Tabla 2. Análisis de las diferencias en las medidas de SPAD mediante prueba de Kruskal-Wallis para el total de los individuos a lo largo de todo el periodo de estudio, según comparaciones múltiples por pares mediante el procedimiento de Conover-Iman (prueba bilateral). Se muestran ordenados de menor a mayor concentración de clorofila.

Fecha	Frecuencia	Suma de rangos	Media de rangos	Grupos	
199	372	399099,000	1072,847	A	
211	372	414264,500	1113,614	A	
205	372	426353,000	1146,110	A	
193	372	495666,500	1332,437	B	
155	372	524728,500	1410,560	B	C
183	372	558075,500	1500,203	C	
165	372	573523,000	1541,728	C	

Al tener en cuenta todas las variedades y tratamientos a la vez (Figura 12), se aprecian grandes desviaciones (además de la presencia de algunos valores atípicos). En general se muestra una evolución temporal decreciente, lo cual supone una tendencia anómala, ya que se esperaría que el valor del SPAD creciera a lo largo del ciclo vegetativo (Casanova et al., 2019). Esto puede deberse al envejecimiento de las hojas, motivado por las elevadas temperaturas registradas durante la campaña (Figura 11), que produjeron agostamiento de los individuos.

Las medianas fluctuaron a lo largo del experimento entre 32,8 y 36,1 unidades SPAD. Según López-López et al. (2016), que trataron de predecir la aparición de

mancha ocre en almendro, los valores SPAD para hojas sanas en el mes de julio estarían en torno a 40 unidades, valores sensiblemente superiores a los obtenidos en el presente estudio.

Por otra parte, Erdal et al. (2016) clasificaron las hojas según su tonalidad en ‘verde pálido’ (entre 18 y 27), ‘verde’ (entre 33y 35) y ‘verde oscuro’ (entre 35 y 40). Siguiendo este sistema de clasificación, los valores obtenidos indican que los individuos objeto de estudio se encontraban en el grupo ‘verde oscuro’ en los primeros días del experimento, terminando en el grupo central ‘verde’.

La evolución temporal del SPAD desglosada por variedad y tratamiento se recoge en los siguientes box plot (Figura 13 a Figura 19). En algunas de las variedades (por ejemplo, para la variedad ‘Penta’, Figura 17) se apreció una tendencia creciente al comienzo del estudio, pero los valores de SPAD terminaron decayendo en todos los casos, en línea con lo comentado anteriormente.

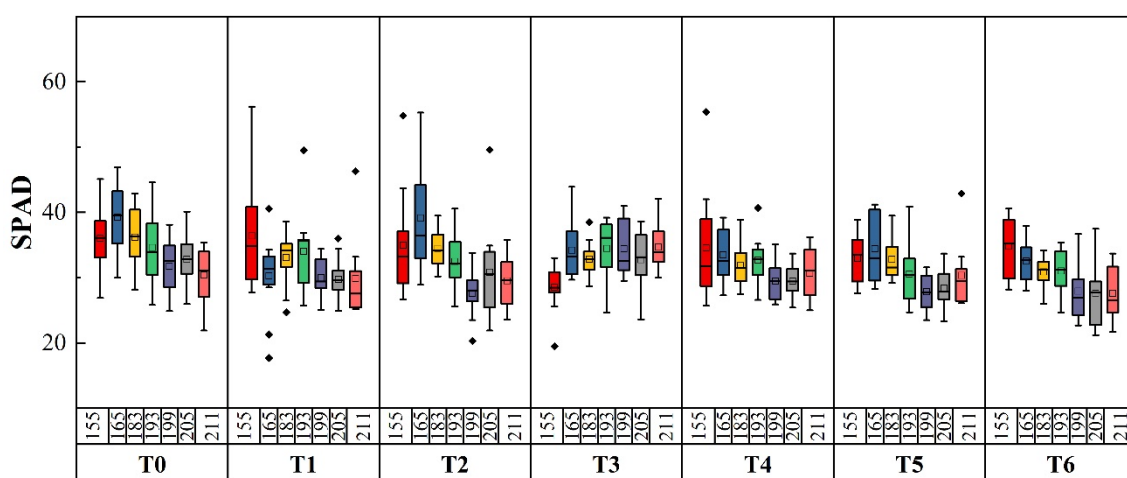


Figura 13. Box plot de la evolución del SPAD para la variedad ‘Avijor’ en función del tratamiento y fecha (día juliano).

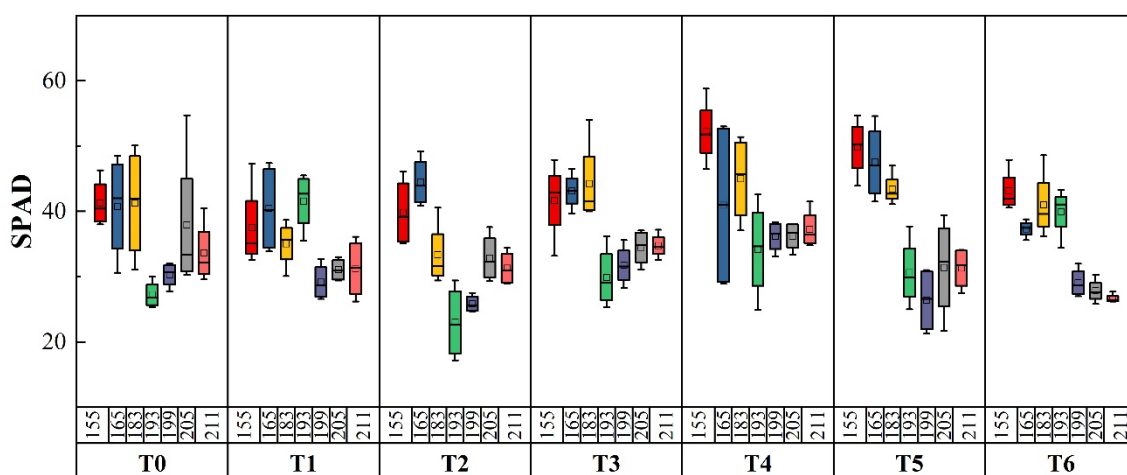


Figura 14. Box plot de la evolución del SPAD para el patrón ‘GF-677’ en función del tratamiento y fecha (día juliano).

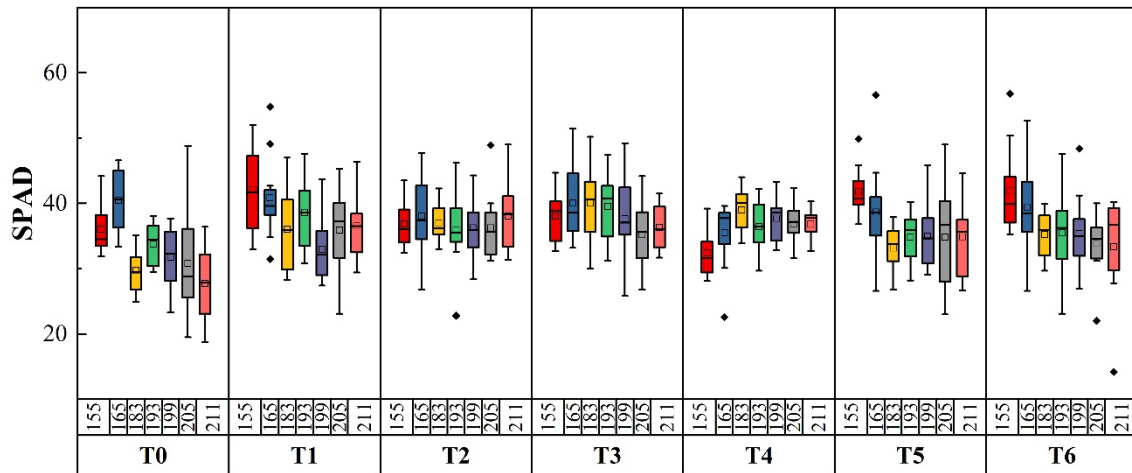


Figura 15. Box plot de la evolución del SPAD para la variedad '*Guara*' en función del tratamiento y fecha (día juliano).

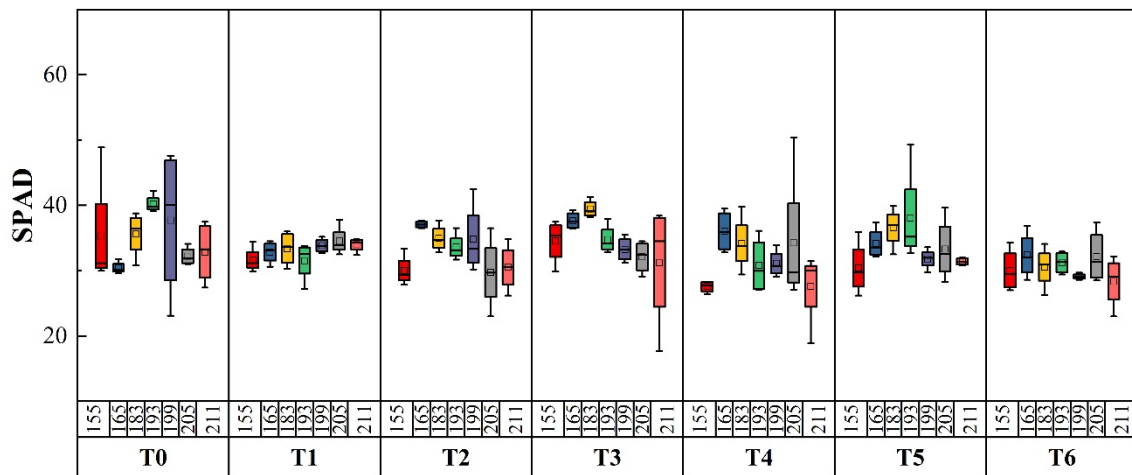


Figura 16. Box plot de la evolución del SPAD para el patrón '*Mirabolano*' en función del tratamiento y fecha (día juliano).

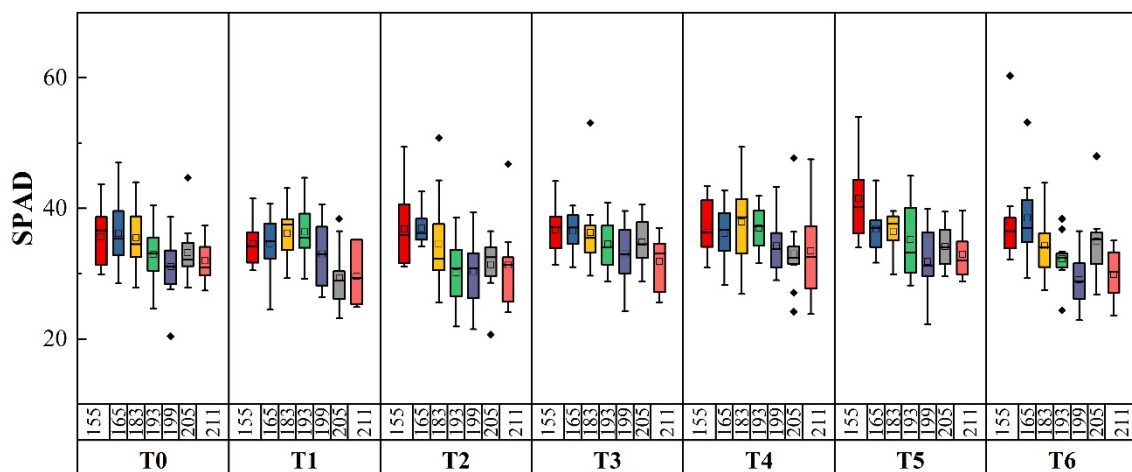


Figura 17. Box plot de la evolución del SPAD para la variedad '*Penta*' en función del tratamiento y fecha (día juliano).

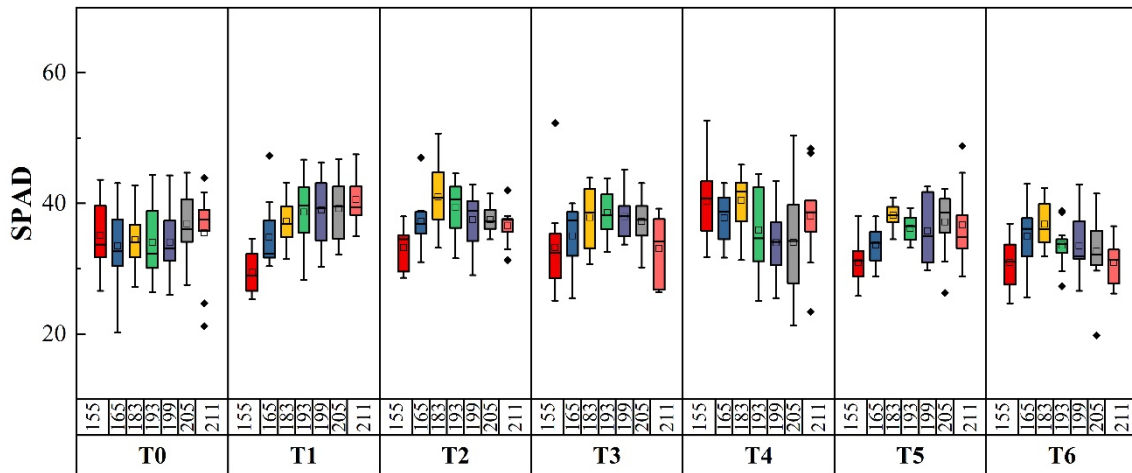


Figura 18. Box plot de la evolución del SPAD para la variedad 'Soleta' en función del tratamiento y fecha (día juliano).

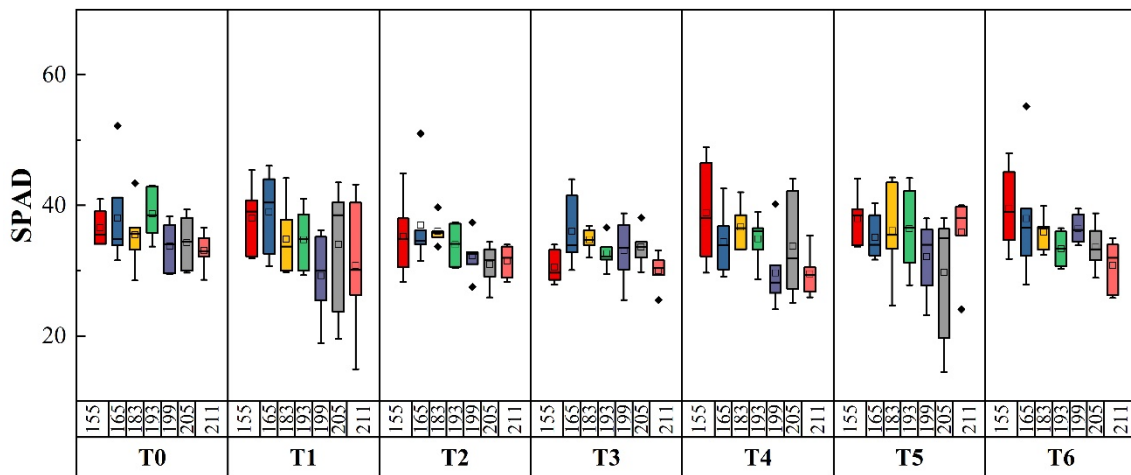


Figura 19. Box plot de la evolución del SPAD para la variedad 'Vialfas' en función del tratamiento y fecha (día juliano).

Las grandes desviaciones registradas en la mayor parte de las fechas, podrían deberse a la pequeña superficie de medida del instrumento.

3.2.1.2. Factor 'Variedad'

Cuando se analizan los datos en base a la variedad (Figura 20), independientemente de los factores 'Fecha' y 'Tratamiento', se observa que hay variedades que presentaron una gran desviación, que se explicaría por las marcadas diferencias de los valores SPAD a lo largo del experimento. De nuevo, se observaron diferencias significativas desde un punto de vista estadístico, que se muestran en la Tabla 3.

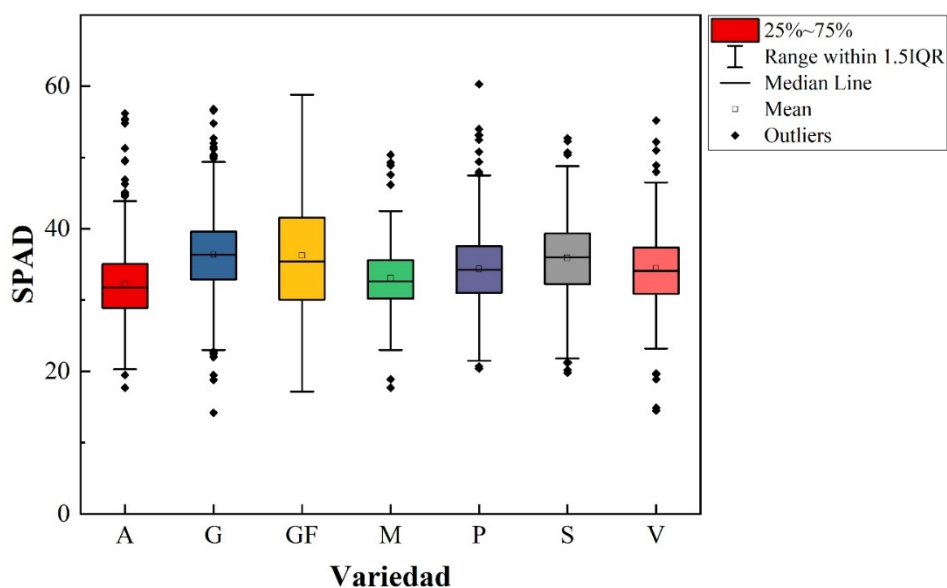


Figura 20. Box plot de las medidas SPAD para las diferentes variedades.

Tabla 3. Análisis de las diferencias en las medidas de SPAD entre las distintas variedades mediante la prueba de Kruskal-Wallis, según comparaciones múltiples por pares mediante el procedimiento de Conover-Iman (prueba bilateral). Las variedades se muestran ordenadas de menor a mayor concentración de clorofila.

Variedad	Frecuencia	Suma de rangos	Media de rangos	Grupos
A	588	831424,500	1413,987	A
M	588	869086,500	1478,038	A
S	588	1164114,000	1979,786	B
V	588	1205881,000	2050,818	B
P	588	1404181,000	2388,063	C
G	588	1467533,500	2495,805	C D
GF	588	1530565,500	2603,003	D

En la Tabla 3 se aprecia que las plantas para las que se obtuvieron valores más altos de clorofila fueron las del patrón ‘GF-677’ (con una mediana de 35,5 unidades SPAD) y las de la variedad ‘Guara’ (con una mediana de 36,4 unidades SPAD). En el otro extremo, las plantas con valores más bajos fueron las de patrón ‘Mirabolano’ (con una mediana de 32,65 unidades SPAD) y las de la variedad ‘Avijor’ (con una mediana de 31,8 unidades SPAD). Los valores SPAD obtenidos fueron sensiblemente inferiores a los rangos presentados por Jiménez, Pinochet, et al. (2011).

El patrón GF-677 es considerado en muchos estudios como tolerante a la clorosis férrica por su capacidad de reducir hierro del medio (Jiménez et al., 2008). En muchos casos, al ser comparado con otros patrones, es el que presenta una mayor concentración de hierro en hoja (Sotomayor et al., 2014), una mayor concentración de clorofila (Jiménez et al., 2011) y es más tolerante a la presencia de bicarbonato en el medio (Cellini et al., 2011). No obstante, existen artículos en los que los valores más bajos de SPAD se obtuvieron para este genotipo (Mestre et al., 2015).

En la Figura 21 se muestra un box plot para el SPAD de partida de las diferentes variedades. Se observa que las variedades que presumiblemente presentaron mejores valores SPAD a lo largo del estudio, conforme a la Tabla 3, fueron las que partieron de un mayor valor de SPAD inicial. Esto sugiere que, a priori, no se pueden sacar conclusiones firmes, siendo preciso llevar a cabo con un análisis más detallado de cada variedad por separado (que se recoge en el epígrafe 3.2.1.4).

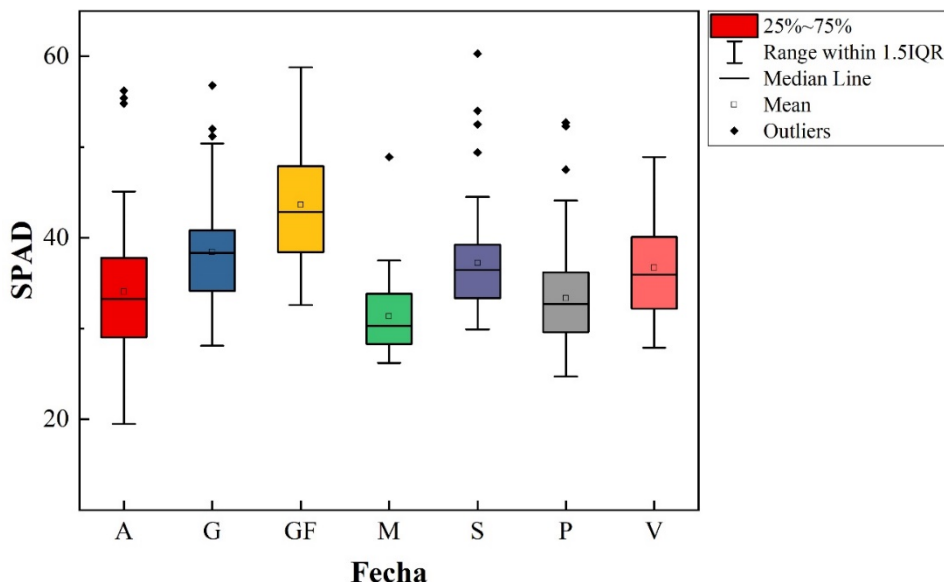


Figura 21. Box plot de las medidas de SPAD inicial para las diferentes variedades.

3.2.1.3. Factor 'Tratamiento'

Estudiando los valores de SPAD (con independencia de los factores 'Fecha' y 'Variedad') para los diferentes tratamientos se obtuvieron diferencias significativas, aunque pequeñas en valor absoluto, que se representan en la Figura 22 y se analizan en la Tabla 4.

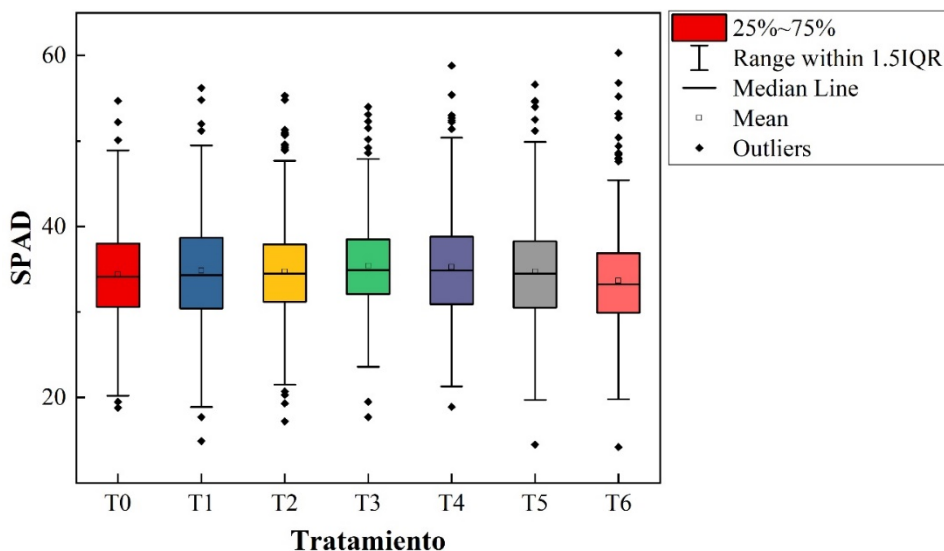


Figura 22. Box plot de las medidas de SPAD para los diferentes tratamientos.

Tabla 4. Análisis de las diferencias en las medidas de SPAD mediante la prueba de Kruskal-Wallis para los distintos tratamientos, según comparaciones múltiples por pares mediante el procedimiento de Conover-Iman (prueba bilateral). Se muestran los tratamientos ordenados de menor a mayor concentración de clorofila.

Tratamiento	Frecuencia	Suma de rangos	Media de rangos	Grupos	
T6	434	585587,500	1349,280	A	
T0	434	638770,000	1471,820	A	B
T5	434	661371,500	1523,897	A	B
T2	434	662057,000	1525,477	A	B
T1	434	663608,000	1529,051	A	B
T4	434	689893,000	1589,615	B	
T3	434	714954,000	1647,359	B	

Las diferencias obtenidas, aunque significativas, son pequeñas, y las medidas presentan desviaciones muy grandes, por lo que su interpretación podría resultar tendenciosa. Procede, pues, desglosar las medidas para las diferentes variedades o combinar varios factores.

3.2.1.4. Factor 'Variedad' * 'Tratamiento' * 'Fecha'

A continuación, se estudian las diferencias referidas en la sección anterior de forma individualizada para cada una de las variedades estudiadas. En algunas de ellas apenas se registraron diferencias entre los tratamientos, mientras que otras mostraron valores SPAD muy dispares en función de la concentración de caliza en suelo:

3.2.1.4.1. 'Avijor'

En esta variedad se observa el comportamiento preconizado (Tabla 5): siendo el tratamiento exento de caliza activa (T0) el que presenta mayores concentraciones de clorofila (mediana de 34,15 unidades SPAD), y los tratamientos con mayor concentración los que presentan menores valores (por ejemplo, para T5 la mediana fue de 30,35 unidades SPAD).

Tabla 5. Análisis de las diferencias en las medidas de SPAD entre los distintos tratamientos para la variedad 'Avijor' mediante Prueba de Friedman, según comparaciones múltiples por pares mediante el procedimiento de Nemenyi (prueba bilateral). Los tratamientos se muestran ordenados de menor a mayor concentración de clorofila.

Tratamiento	Frecuencia	Suma de rangos	Media de rangos	Grupos			
T6	84	265,000	3,155	A			
T5	84	283,000	3,369	A	B		
T4	84	319,500	3,804	A	B	C	
T1	84	325,500	3,875	A	B	C	
T2	84	349,500	4,161		B	C	D
T3	84	377,500	4,494			C	D
T0	84	432,000	5,143				D

3.2.1.4.2. 'GF-677'

El comportamiento para el patrón GF-677 fue inesperado (Tabla 6), con los valores más bajos de SPAD para los tratamientos T0 y T2, mientras el T4 presentó los valores más altos. Tal anomalía pero podría ser atribuida a la gran tolerancia de este patrón a la presencia de caliza activa en el sustrato (Massai et al., 2003) y a la clorosis férrica (Assimakopoulou et al., 2011). Es preciso aclarar que este comportamiento

no es exclusivo del patrón GF-677, sino que es común a la mayoría de híbridos de melocotonero × almendro (Xiloyannis et al., 2004).

Tabla 6. Análisis de las diferencias en las medidas de SPAD entre los distintos tratamientos para el patrón 'GF-677' mediante Prueba de Friedman, según comparaciones múltiples por pares mediante el procedimiento de Nemenyi (prueba bilateral). Los tratamientos se muestran ordenados de menor a mayor concentración de clorofila

Tratamiento	Frecuencia	Suma de rangos	Media de rangos	Grupos	
T2	28	80,000	2,857	A	
T6	28	93,000	3,321	A	
T0	28	102,000	3,643	A	
T1	28	103,500	3,696	A	
T5	28	120,500	4,304	A	B
T3	28	125,000	4,464	A	B
T4	28	160,000	5,714		B

3.2.1.4.3. 'Guara'

El comportamiento que muestra esta variedad (Tabla 7) fue totalmente anómalo, ya que el menor de los valores de SPAD, significativamente diferente al resto, correspondió al testigo, es decir, al tratamiento exento de caliza (T0). Como se expone más adelante en este documento, esto podría deberse a problemas fisiológicos derivados de la ausencia de calcio en el medio para aquellas plantas que son calcícolas.

Tabla 7. Análisis de las diferencias en las medidas de SPAD entre los distintos tratamientos para la variedad 'Guara' mediante Prueba de Friedman, según comparaciones múltiples por pares mediante el procedimiento de Nemenyi (prueba bilateral). Los tratamientos se muestran ordenados de menor a mayor concentración de clorofila

Tratamiento	Frecuencia	Suma de rangos	Media de rangos	Grupos	
T0	84	236,500	2,815	A	
T5	84	328,500	3,911		B
T4	84	332,500	3,958		B
T2	84	343,500	4,089		B
T6	84	345,000	4,107		B
T1	84	366,500	4,363		B
T3	84	399,500	4,756		B

3.2.1.4.4. 'Mirabolano'

El comportamiento mostrado por 'Mirabolano' se asemejó al esperado (Tabla 8), aunque no fue tan claro como el obtenido para la variedad 'Avijor'. Los peores valores SPAD se registraron para el tratamiento T6 (con una mediana de 33,5 unidades SPAD) y los mejores para el tratamiento T0 (con una mediana de 34,7 unidades SPAD). Sin embargo, estos resultados contrastan con lo recogido en algunos estudios, como el de Moreno (2002), que defienden la tolerancia de este patrón a la clorosis férrica promovida por suelos compactos y calizos.

Tabla 8. Análisis de las diferencias en las medidas de SPAD entre los distintos tratamientos para el patrón 'Mirabolano' mediante Prueba de Friedman, según comparaciones múltiples por pares mediante el procedimiento de Nemenyi (prueba bilateral). Los tratamientos se muestran ordenados de menor a mayor concentración de clorofila

Tratamiento	Frecuencia	Suma de rangos	Media de rangos	Grupos		
T6	28	70,000	2,500	A		
T4	28	85,000	3,036	A	B	
T5	28	115,000	4,107	A	B	C
T2	28	115,000	4,107	A	B	C
T1	28	124,000	4,429		B	C
T0	28	130,000	4,643		B	C
T3	28	145,000	5,179			C

3.2.1.4.5. 'Penta'

No se puede sacar ningún tipo de conclusión para esta variedad, ya que no se observa ningún patrón en la evolución de los valores SPAD en función del tratamiento (Tabla 9).

Tabla 9. Análisis de las diferencias en las medidas de SPAD entre los distintos tratamientos para la variedad 'Penta' mediante Prueba de Friedman, según comparaciones múltiples por pares mediante el procedimiento de Nemenyi (prueba bilateral). Los tratamientos se muestran ordenados de menor a mayor concentración de clorofila

Tratamiento	Frecuencia	Suma de rangos	Media de rangos	Grupos		
T2	84	288,500	3,435	A		
T6	84	309,000	3,679	A	B	
T1	84	314,500	3,744	A	B	
T0	84	315,500	3,756	A	B	
T3	84	369,000	4,393	A	B	
T4	84	375,000	4,464		B	
T5	84	380,500	4,530		B	

3.2.1.4.6. 'Soleta'

Esta variedad parece mostrar un cierto comportamiento calcícola (Tabla 10), ya que los peores valores se obtuvieron no sólo para T6 (con una mediana de 33 unidades SPAD), sino también para el testigo T0 (con una mediana de 34,05 unidades SPAD). Sin embargo, el resto de tratamientos se ajustó bastante al comportamiento esperado, siendo el mejor el tratamiento T2 (con una mediana de 37,6 unidades SPAD).

Tabla 10. Análisis de las diferencias en las medidas de SPAD entre los distintos tratamientos para la variedad 'Soleta' mediante Prueba de Friedman, según comparaciones múltiples por pares mediante el procedimiento de Nemenyi (prueba bilateral). Los tratamientos se muestran ordenados de menor a mayor concentración de clorofila

Tratamiento	Frecuencia	Suma de rangos	Media de rangos	Grupos		
T6	84	255,000	3,036	A		
T0	84	291,500	3,470	A	B	
T5	84	313,500	3,732	A	B	
T3	84	345,000	4,107		B	C
T1	84	365,500	4,351		B	C
T4	84	373,000	4,440		B	C
T2	84	408,500	4,863			C

3.2.1.4.7. 'Vialfas'

Para esta variedad no se observaron diferencias significativas entre tratamientos (Tabla 11).

Tabla 11. Análisis de las diferencias en las medidas de SPAD entre los distintos tratamientos para la variedad 'Vialfas' mediante Prueba de Friedman, según comparaciones múltiples por pares mediante el procedimiento de Nemenyi (prueba bilateral). Los tratamientos se muestran ordenados de menor a mayor concentración de clorofila

Tratamiento	Frecuencia	Suma de rangos	Media de rangos	Grupos
T3	42	132,500	3,155	A
T4	42	159,000	3,786	A
T2	42	160,500	3,821	A
T1	42	172,500	4,107	A
T6	42	180,500	4,298	A
T0	42	184,000	4,381	A
T5	42	187,000	4,452	A

3.2.2. Medida de la fluorescencia

Se estudiaron de forma global los valores obtenidos para los diferentes parámetros (F_0 , F_m , F_v , T_m), así como los factores (F_v/F_m , F_m/F_0), en una fecha temprana (día 155) para las diferentes variedades. Al cumplirse los requisitos de normalidad y homocedasticidad, se procedió a realizar un análisis ANOVA. Los resultados del test de Tukey (HSD), recogidos en la Tabla 12 y la Tabla 13, mostraron diferencias significativas, pero pequeñas en valor absoluto. Esto confirmaría la gran similitud en el estado fisiológico inicial de las diferentes variedades, así como un bajo nivel de estrés.

Tabla 12. Análisis de las diferencias en las medidas de F_v/F_m para las variedades en el día 155, según el test de Tukey (HSD) con un intervalo de confianza del 95%.

Variedad	Medias LS	Error estándar	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)	Grupos
P	0,793	0,007	0,778	0,807	A
S	0,791	0,007	0,777	0,806	A
V	0,783	0,010	0,763	0,803	A B
GF	0,782	0,013	0,757	0,807	A B
A	0,782	0,007	0,768	0,797	A B
G	0,782	0,007	0,767	0,796	A B
M	0,743	0,013	0,718	0,768	B

Tabla 13. Análisis de las diferencias en las medidas de F_v/F_0 para las variedades en el día 155, según el test de Tukey (HSD) con un intervalo de confianza del 95%.

Variedad	Medias LS	Error estándar	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)	Grupos
S	3,969	0,139	3,695	4,242	A
P	3,962	0,139	3,688	4,236	A
G	3,813	0,139	3,539	4,087	A B
A	3,760	0,139	3,486	4,034	A B
GF	3,670	0,241	3,196	4,144	A B
V	3,359	0,196	2,972	3,746	A B
M	3,067	0,241	2,592	3,541	B

Conforme a lo indicado más arriba, esta similitud entre todas las medidas, incluso para F_v/F_0 , que es el parámetro más sensible y se puede utilizar para obtener información útil sobre el estado fisiológico de los árboles (Ranjbarfordoei, Samson, y Van Damme, 2011), es indicativa de un estado inicial similar para todas las variedades. Además, los niveles mínimos no apuntan a que existiese estrés en ninguna de las variedades al inicio del experimento. Ranjbarfordoei et al. (2011) estudiaron los efectos deletéreos de la radiación UV-B en los procesos fotosintéticos del almendro, y obtuvieron para los individuos testigo (no estresados) valores para el parámetro F_v/F_m de en torno a 0,8, lo cual se asemeja a los obtenidos en el presente ensayo.

3.2.3. Medida de la conductancia estomática

Se estudian a lo largo de este epígrafe los valores de conductancia estomática obtenidos en función de tres factores: tiempo, variedad y tratamiento.

3.2.3.1. Factor fecha

En primer lugar, se estudiaron las diferencias en conductancia estomática mediante un ANOVA. La Tabla 14 muestra diferencias significativas entre las dos fechas de toma de datos, siendo la conductancia estomática del día 255 un 52% mayor que la del día 210. Conforme al estudio agrometeorológico llevado a cabo en el epígrafe 3.1.2, el día 210 se registró una temperatura media 7,3 °C mayor que el día 255. Por lo tanto, esta diferencia puede estar motivada por las diferentes condiciones meteorológicas, pese a haber seguido las condiciones de toma de datos expuestas en el epígrafe 2.5 en cuanto a horario y procedimiento.

Tabla 14. Análisis de las diferencias en las medidas de conductancia para los dos días de medida según el test de Tukey (HSD) con un intervalo de confianza del 95%.

Fecha	Medias LS	Grupos
255	546,388	A
210	359,203	B

Al analizar las diferencias entre tratamientos (Tabla 15) se obtienen resultados coherentes con los obtenidos para el SPAD. Estas diferencias permiten distinguir los cuatro tratamientos de menor concentración de caliza activa de los dos de mayor concentración. De nuevo, el tratamiento testigo presentó diferencias con el resto, con una media del orden de cuatro veces menor que el peor del resto de los tratamientos.

Tabla 15. Análisis de las diferencias en las medidas de conductancia mediante ANOVA de medidas repetidas para los diferentes tratamientos según el test de Tukey (HSD) con un intervalo de confianza del 95%.

Tratamiento	Medias LS	Grupos
T2	604,805	A
T4	575,882	A
T3	572,000	A
T1	551,336	A
T6	386,756	B
T5	383,659	B
T0	95,131	C

En cuanto a las diferencias entre variedades (Tabla 16), también se obtuvieron diferencias significativas, que permiten distinguir las variedades 'Soleta' y 'Vialfas' de la variedad 'Avijor'.

Tabla 16. Análisis de las diferencias en las medidas de conductancia con ANOVA de Medidas Repetidas para las diferentes variedades según el test de Tukey (HSD) con un intervalo de confianza del 95%.

Variedad	Medias LS	Grupos	
S	510,119	A	
V	498,236	A	
G	470,457	A	B
P	430,065	A	B
M	429,255	A	B
GF	426,280	A	B
A	405,158		B

3.2.3.2. Factor 'Variedad'

Se estudiaron también mediante ANOVA las diferencias entre las variedades para cada fecha de toma de datos por separado. El test de Tukey (HSD) con un intervalo de confianza del 95% únicamente mostró diferencias significativas en el día 210 (Tabla 17). Estas diferencias fueron pequeñas y únicamente permiten diferenciar 'Soleta' de 'Avijor'.

Tabla 17. Análisis de las diferencias en las medidas de conductancia para las distintas variedades el día 210, según el test de Tukey (HSD) con un intervalo de confianza del 95%.

Variedad	Medias LS	Error estándar	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)	Grupos	
S	427,879	27,427	373,811	481,946	A	
GF	427,407	47,505	333,760	521,054	A	B
V	391,476	38,787	315,013	467,939	A	B
G	357,819	27,427	303,752	411,886	A	B
M	338,957	47,505	245,310	432,604	A	B
P	320,381	27,427	266,314	374,448	A	B
A	309,260	27,427	255,192	363,327		B

Sin embargo, para el día 255 no se observaron diferencias significativas entre las variedades (Tabla 18), lo cual podría deberse al avanzado estado de senescencia de todo el material vegetal.

Tabla 18. Análisis de las diferencias en las medidas de conductancia para las distintas variedades el día 255, según el test de Tukey (HSD) con un intervalo de confianza del 95%.

Variedad	Medias LS	Error estándar	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)	Grupos
V	547,789	68,515	412,724	682,853	A
S	530,649	52,420	427,312	633,986	A
M	526,449	89,707	349,607	703,290	A
G	517,103	52,420	413,766	620,440	A
P	481,022	52,420	377,685	584,359	A
A	449,666	52,420	346,329	553,003	A
GF	410,646	86,665	239,800	581,491	A

3.2.3.3. Factor 'Tratamiento'

Las diferencias entre los tratamientos para cada fecha de toma de datos por separado se analizaron también mediante ANOVA. En ambas fechas se apreciaron diferencias entre los tratamientos, de forma que, en general, la conductancia estomática disminuyó con el aumento de la concentración de caliza activa. Esta gradación fue más visible en el día 255 (Tabla 20) que en el día 210 (Tabla 19).

Tabla 19. Análisis de las diferencias en las medidas de conductancia entre los distintos tratamientos en el día 210, según el test de Tukey (HSD) con un intervalo de confianza del 95%.

Tratamiento	Medias LS	Error estándar	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)	Grupos
T4	522,416	24,388	474,339	570,493	A
T3	427,429	24,388	379,352	475,506	A B
T2	416,287	24,388	368,210	464,364	B C
T6	385,913	24,388	337,836	433,990	B C
T1	357,423	24,388	309,345	405,500	B C
T5	319,113	24,388	271,036	367,190	C
T0	100,268	24,388	52,191	148,345	D

Tabla 20. Análisis de las diferencias en las medidas de conductancia entre los distintos tratamientos en el día 255, según el test de Tukey (HSD) con un intervalo de confianza del 95%.

Tratamiento	Medias LS	Error estándar	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)	Grupos
T2	811,948	37,579	737,867	886,029	A
T1	764,674	37,579	690,593	838,755	A B
T3	728,685	37,579	654,604	802,766	A B
T4	627,967	37,579	553,886	702,048	B C
T5	496,742	37,579	422,661	570,822	C D
T6	378,422	37,579	304,341	452,503	D
T0	90,275	26,330	38,370	142,179	E

En las tablas anteriores, resultan llamativos los bajos valores de conductancia obtenidos para el tratamiento testigo, que pueden ser debidos al papel fundamental del calcio en el metabolismo celular de las plantas (Leng et al., 2020). El calcio está involucrado en cantidad de procesos fisiológicos: sensibilidad, transmisión, respuesta y expresión de las señales de estrés (Guo et al., 2015). Además, puede paliar los efectos adversos del estrés hídrico (Xu et al., 2013) e inducir la síntesis de sustancias que permiten ajustar el potencial osmótico y restituir el potencial hídrico de la planta (Kang et al., 2017), mejorar el movimiento estomático en las hojas e incrementar la transferencia de electrones (Wang et al., 2014).

En el estudio de Leng et al. (2020), los aportes de calcio exógeno incrementaron el potencial y contenido hídrico de las hojas, aliviando el daño de la sequía gracias a la acumulación de ciertos reguladores osmóticos que juegan un papel importante en la mejora del estado hídrico de las plantas. Martínez-Ballesta et al. (2008) sugirieron que el calcio exógeno puede jugar un papel importante en la regulación del transporte hídrico en plantas sometidas a estrés abiótico. En la misma línea, existen varios estudios en otros cultivos que proponen que el calcio exógeno mejora el estado hídrico en plantas sometidas a estrés, como los de Abou El-Yazied (2011) para judías (*Phaseolus vulgaris*) o Marques et al. (2014) para maíz (*Zea mays*).

3.3. Peso fresco de los órganos vegetativos

3.3.1. Peso de hojas

El peso de las hojas fue superior para la variedad 'Guara' que para el resto de variedades. En referencia a las concentraciones se obtuvieron mayores pesos en las concentraciones medias-altas y se acusó la ausencia de caliza en el medio.

Tabla 21. Análisis de las diferencias en peso de las hojas para las diferentes variedades en el día 211, según el test de Tukey (HSD) con un intervalo de confianza del 95%.

Variedad	Medias LS	Error estándar	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)	Grupos
G	34,941	0,681	33,584	36,299	A
P	31,474	0,681	30,117	32,832	B
A	30,851	0,681	29,494	32,209	B
S	26,804	0,681	25,447	28,162	C

Tabla 22. Análisis de las diferencias en peso de las hojas para los diferentes tratamientos en el día 211, según el test de Tukey (HSD) con un intervalo de confianza del 95%.

Tratamiento	Medias LS	Error estándar	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)	Grupos
T4	33,508	0,901	31,711	35,304	A
T5	32,500	0,901	30,704	34,296	A B
T6	31,460	0,901	29,664	33,256	A B C
T1	30,975	0,901	29,179	32,771	A B C
T3	30,678	0,901	28,881	32,474	A B C
T2	29,443	0,901	27,646	31,239	B C
T0	28,563	0,901	26,766	30,359	C

3.3.2. Peso de raíz

El peso de la raíz fue superior para la variedad 'Soleta' que para el resto, en cuanto a concentración de caliza no existe una tendencia clara, es superior en concentraciones medias-altas y acusa la ausencia de caliza en el medio.

Tabla 23. Análisis de las diferencias en peso de la raíz para las diferentes variedades en el día 211 según el test de Tukey (HSD) con un intervalo de confianza del 95%.

Variedad	Medias LS	Error estándar	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)	Grupos
S	34,137	1,412	31,324	36,951	A
A	29,481	1,412	26,668	32,295	A B
G	25,043	1,412	22,229	27,856	B C
P	23,441	1,412	20,628	26,255	C

Tabla 24. Análisis de las diferencias en peso de la raíz para los diferentes tratamientos en el día 211, según el test de Tukey (HSD) con un intervalo de confianza del 95%.

Tratamiento	Medias LS	Error estándar	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)	Grupos
T5	36,615	1,868	32,893	40,337	A
T2	33,653	1,868	29,931	37,374	A B
T4	28,075	1,868	24,353	31,797	B C
T1	27,463	1,868	23,741	31,184	B C
T6	26,730	1,868	23,008	30,452	B C
T3	22,588	1,868	18,866	26,309	C
T0	21,058	1,868	17,336	24,779	C

Trentin et al. (2019) observaron un mayor desarrollo radicular en las plantas cuyo sustrato estaba tratado con caliza activa en relación al testigo. Relacionaron este mayor peso y superficie de absorción radicular con el aumento del pH del sustrato promovido por la adición de la caliza, que hace que el fósforo sea más accesible para las plantas. Además, logra mitigar los efectos de toxicidad provocados por la presencia de metales pesados, cuya accesibilidad decrece a medida que aumentan los valores de pH.

3.3.3. Peso de raíz y tallo

El peso de raíz y tallo fue superior para la variedad 'Soleta' que para el resto. En cuanto a los tratamientos, se aprecian pesos mayores en los de concentración intermedia de caliza, y se aprecia la diferencia cuando la caliza está ausente.

Tabla 25. Análisis de las diferencias en peso de la raíz y tallo para las diferentes variedades en el día 211, según el test de Tukey (HSD) con un intervalo de confianza del 95%.

Variedad	Medias LS	Error estándar	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)	Grupos
S	50,070	1,651	46,780	53,360	A
A	41,649	1,651	38,358	44,939	B
G	40,940	1,651	37,650	44,230	B C
P	35,334	1,651	32,044	38,624	C

Tabla 26. Análisis de las diferencias en peso de la raíz y tallo para los diferentes tratamientos en el día 211, según el test de Tukey (HSD) con un intervalo de confianza del 95%.

Tratamiento	Medias LS	Error estándar	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)	Grupos
T5	54,765	2,184	50,413	59,117	A
T2	47,075	2,184	42,723	51,427	A B
T4	42,988	2,184	38,635	47,340	B C
T1	42,233	2,184	37,880	46,585	B C D
T6	38,965	2,184	34,613	43,317	B C D
T3	34,393	2,184	30,040	38,745	C D
T0	33,570	2,184	29,218	37,922	D

3.3.4. Peso de tallo

El peso del tallo muestra tendencia, en cuanto a variedades, a ser superior en 'Soleta' y 'Guara' que en 'Avijor' y 'Penta'. En cuanto a tratamientos, no se aprecia una tendencia clara (Tabla 27).

Tabla 27. Análisis de las diferencias en peso del tallo para las diferentes variedades en el día 211, según el test de Tukey (HSD) con un intervalo de confianza del 95%.

Variedad	Medias LS	Error estándar	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)	Grupos
S	15,933	0,533	14,871	16,995	A
G	15,897	0,533	14,835	16,959	A
A	12,167	0,533	11,105	13,229	B
P	11,893	0,533	10,831	12,955	B

Tabla 28. Análisis de las diferencias en peso del tallo para los diferentes tratamientos en el día 211 según el test de Tukey (HSD) con un intervalo de confianza del 95%.

Tratamiento	Medias LS	Error estándar	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)	Grupos
T5	18,150	0,705	16,745	19,555	A
T4	14,913	0,705	13,507	16,318	B
T1	14,770	0,705	13,365	16,175	B C
T2	13,423	0,705	12,017	14,828	B C
T0	12,513	0,705	11,107	13,918	B C
T6	12,235	0,705	10,830	13,640	B C
T3	11,805	0,705	10,400	13,210	C

Existen estudios previos que indican el gran poder antitranspirante del calcio (De Silva et al., 1985), que limita la acumulación de biomasa y (reforzando lo expuesto al final del epígrafe 3.2.3) reduce el intercambio gaseoso (Rothwell et al., 2014). Sin embargo, Rothwell et al. (2015) mostraron una disminución de la biomasa de los brotes en respuesta a la adición de caliza activa, y proponen que la caliza en el medio reducen el fósforo a disposición de la planta, y ésta responde disminuyendo el intercambio gaseoso, además, se promueve la síntesis de ABA, limitándose la fotosíntesis, la acumulación de biomasa y el rendimiento de los cultivos

4. CONCLUSIONES

El análisis de la fluorescencia inicial permitió confirmar un estado fisiológico de partida similar para las diferentes variedades objeto de estudio, descartando la existencia de estrés.

El estudio de conductancia estomática aportó diferencias globales entre las dos fechas de medida, y entre los diferentes tratamientos (siendo los más desfavorables los dos con mayores concentraciones de caliza activa y el testigo), pero no evidenció diferencias significativas entre las variedades.

La monitorización mediante SPAD evidenció un decaimiento generalizado del contenido en clorofila a lo largo del periodo de estudio (mayo-octubre), tanto para las variedades autorradicadas como para los patrones. Tal comportamiento puede atribuirse a la combinación de temperaturas máximas anormalmente altas y muy bajas precipitaciones durante la campaña, que habría afectado al desarrollo de los plántones. No obstante, los mayores contenidos de clorofila se registraron en las variedades '*Guara*' y '*Penta*', y para el patrón '*GF-677*'; las variedades '*Vialfas*' y '*Soleta*' mostraron contenidos intermedios; y los contenidos más bajos correspondieron a la variedad '*Avijor*' y al patrón '*Mirabolano*'.

En relación con el comportamiento frente a la caliza activa, el patrón '*Mirabolano*' y la variedad '*Avijor*' fueron los más sensibles, manifestando un descenso más acusado del contenido en clorofila a medida que aumentó la cantidad de caliza presente en el sustrato. La variedad '*Soleta*', si bien se ajustó también al comportamiento anterior, manifestó un cierto carácter tolerante a la caliza activa. Dicho carácter se manifestó de forma más evidente en el patrón '*GF-677*' y la variedad '*Guara*', pero con mínimas diferencias entre tratamientos, lo que sugiere una buena tolerancia a la caliza activa. Las variedades '*Penta*' y '*Vialfas*' también evidenciaron pocas diferencias entre los tratamientos con diferentes concentraciones de caliza.

Si bien los resultados presentados corresponden únicamente a una campaña, y son necesarios estudios plurianuales para obtener conclusiones sólidas, las variedades autorradicadas más prometedoras parecen ser '*Guara*' y '*Penta*', por sus elevados niveles de clorofila y su tolerancia a la caliza activa, mostrando un comportamiento equivalente al de las plantas injertadas sobre patrón '*GF-677*', muy empleado en suelos calcáreos mediterráneos.

REFERENCIAS

- Abadía, J., López-Millán, A.-F., Rombolà, A., y Abadía, A. (2002). Organic acids and Fe deficiency: a review. *Plant and soil*, 241(1), 75-86.
- Abou El-Yazied, A. (2011). Foliar application of glycine betaine and chelated calcium improves seed production and quality of common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under water stress conditions. *Res. J. Agric. Biol. Sci*, 7(4), 357-370.
- Ahmed, A. (2013). Study influence of elemental sulphur compared with foliar spray fertilizers on productivity and maintenance calcareous soil. *Nature and Science*, 11(5), 26-34.
- Aldasoro Galán, J. (2017). *Disponibilidad hídrica y fijación de nitrógeno en leguminosas: fisiología, metabolismo y proteómica*. Tesis Doctoral. Pamplona: Universidad Pública de Navarra.
- Arquero, O. (2013). *Manual del almendro*. Sevilla: Servicio de Publicaciones y Divulgación
- Assimakopoulou, A., Holevas, C. D., y Fasseas, K. (2011). Relative susceptibility of some prunus rootstocks in hydroponics to iron deficiency. *Journal of Plant Nutrition*, 34(7), 1014-1033.
- Baker, N. R., y Oxborough, K. (2004). Chlorophyll fluorescence as a probe of photosynthetic productivity. En *Chlorophyll a Fluorescence* (pp. 65-82): Springer.
- Baker, N. R., y Rosenqvist, E. (2004). Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *Journal of experimental botany*, 55(403), 1607-1621.
- Bullo, M. (2015). *Frutos secos y salud*. Proceedings del Simposio nacional de almendro y otros frutos secos, Lérida: IRTA.
- Byrne, D., Bacon, T., y Egilla, J. (1990). Stonefruit rootstocks tolerant to calcareous soils. *ITEA*, 9, 119-133.
- Casanova, J., Figueras, M., Iglesias, I., y Martín, P. (2019). Comparison of SHD and open-center training systems in almond tree orchards cv. 'Soleta'. *Agronomy*, 9(12), 874.
- Catalina Tomás, Á. (2015). *Utilización de medidas de fluorescencia de la clorofila para monitorizar el estado nutricional y estimar el potencial enológico en viñedos afectados por clorosis férrica*. Tesis Doctoral. Valladolid: Universidad de Valladolid.
- Cellini, A., Corpas, F. J., Barroso, J. B., y Masia, A. (2011). Nitric oxide content is associated with tolerance to bicarbonate-induced chlorosis in micropropagated *Prunus* explants. *Journal of plant physiology*, 168(13), 1543-1549.
- das Neves, T. R., Mayer, N. A., y Ueno, B. (2017). Graft incompatibility in *Prunus* spp. preceded by SPAD index reduction. *Semina: Ciências Agrárias*, 38(2), 635.
- De Silva, D., Cox, R., Hetherington, A., y Mansfield, T. (1985). Suggested involvement of calcium and calmodulin in the responses of stomata to abscisic acid. *New Phytologist*, 101(4), 555-563.
- Díaz, M. S., y Aguirreolea, J. (2008). *Transpiración y control estomático*. En J. Azcón Bieto, M. Talón Cubillo, I- Bonilla Mangas, A. Gárate Ormaechea (Eds.) *Fundamentos de fisiología vegetal*. Madrid: McGraw-Hill Interamericana de España

- Erdal, Í., Türkmen, R., y Akgün, A. (2016). Variations in chlorophyll, SPAD values and some nutrient concentrations depending on chlorosis in peach leaves. *Lucrări Științifice*, 59, 13-16.
- Evans, J. R. (1983). Nitrogen and photosynthesis in the flag leaf of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant physiology*, 72(2), 297-302.
- Garrido Valero, S. (1994). *Interpretación de análisis de suelos* (8434108100). Retrieved from
- Gradziel, T. M. (2017). *Almonds: Botany, Production and Uses*. Wallingford, Reino Unido: CABI.
- Guo, Y., Ren, Y., Liu, G., Cao, C., y Yan, L. (2015). Effects of calcium (CaCl₂), GA 3 and complex liquid on the physiological characteristics of alfalfa seedlings under drought stress. *Acta Prataculturae Sinica*, 24(7), 89-96.
- Hell, R., y Stephan, U. W. (2003). Iron uptake, trafficking and homeostasis in plants. *Planta*, 216(4), 541-551.
- Iglesias, I. (2019). El almendro en seto autoenraizado: una nueva alternativa productiva para los secanos. <https://www.interempresas.net/Horticola/Articulos/256086-El-almendro-en-seto-autoenraizado-una-nueva-alternativa-productiva-para-los-secanos.html>
- Inskeep, W. P., y Bloom, P. R. (1986). Calcium carbonate supersaturation in soil solutions of Calciaquolls. *Soil Science Society of America Journal*, 50(6), 1431-1437.
- Jackson, M. (1958). *Soil chemical analysis*. Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall Inc.
- Jaeger, B., Goldbach, H., y Sommer, K. (1999). *Release from lime induced iron chlorosis by CULTAN in fruit trees and its characterisation by analysis*. En II ISHS Conference on Fruit Production in the Tropics and Subtropics 531.
- Jelali, N., Dell'orto, M., Abdelly, C., Gharsalli, M., y Zocchi, G. (2010). Changes of metabolic responses to direct and induced Fe deficiency of two *Pisum sativum* cultivars. *Environmental and Experimental Botany*, 68(3), 238-246.
- Jiménez-Suanca, S. C., y Balaguera-López, H. E. (2015). Fluorescence as an indicator of stress in *Helianthus annuus* L.: A review. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 9(1), 149-160.
- Jiménez, S., Ollat, N., Deborde, C., Maucourt, M., Rellán-Álvarez, R., Moreno, M. Á., y Gogorcena, Y. (2011). Metabolic response in roots of *Prunus* rootstocks submitted to iron chlorosis. *Journal of Plant Physiology*, 168(5), 415-423.
- Jiménez, S., Pinochet, J., Abadía, A., Moreno, M. Á., y Gogorcena, Y. (2008). Tolerance response to iron chlorosis of *Prunus* selections as rootstocks. *HortScience*, 43(2), 304-309.
- Jiménez, S., Pinochet, J., Romero, J., Gogorcena, Y., Moreno, M. Á., y Espada, J. L. (2011). Performance of peach and plum based rootstocks of different vigour on a late peach cultivar in replant and calcareous conditions. *Scientia Horticulturae*, 129(1), 58-63.
- Kang, J., Zhao, W., Zheng, Y., Zhang, D. M., Zhou, H., y Sun, P. (2017). Calcium chloride improves photosynthesis and water status in the C 4 succulent xerophyte *Haloxylon ammodendron* under water deficit. *Plant Growth Regulation*, 82(3), 467-478.
- Kobayashi, T., y Nishizawa, N. K. (2014). Iron sensors and signals in response to iron deficiency. *Plant Science*, 224, 36-43.

- Kodad, O., y Morales Iribas, F. (2011). Evaluation of almond flower tolerance to frosts by chlorophyll fluorescence. En G. Zakyntinos (Ed.), XIV GREMPA meeting on pistachios and almonds. Zaragoza: CIHEAM-IAMZ/FAO/AUA/TEI Kalamatas/NAGREF.
- Leng, X., Xue, L., Wang, J., Li, S., Yang, Z., Ren, H. y Li, J. (2020). Physiological responses of *Handeliidendron bodinieri* (Levl.) Rehd. to exogenous calcium supply under drought Stress. *Forests*, 11(1), 69.
- Lindsay, W. (1974). Role of chelation in micronutrient availability. *The plant root and its environment*.
- Lindsay, W. (1979). *Chemical Equilibria in Soils*. New York: John Wiley and Sons.
- Loh, F. C., Grabosky, J. C., y Bassuk, N. L. (2002). Using the SPAD 502 meter to assess chlorophyll and nitrogen content of benjamin fig and cottonwood leaves. *HortTechnology*, 12(4), 682-686.
- López-López, M., Calderón, R., González-Dugo, V., Zarco-Tejada, P. J., y Fereres, E. (2016). Early detection and quantification of almond red leaf blotch using high-resolution hyperspectral and thermal imagery. *Remote Sensing*, 8(4), 276.
- López, V. (2005). *Respuestas fisiológicas en uva de mesa cultivar Crimson Seedless sometidas a déficit hídrico*. Tesis doctoral. Santiago, Chile: Universidad de Chile,.
- Lucena, J. J. (2000). Effects of bicarbonate, nitrate and other environmental factors on iron deficiency chlorosis: A review. *Journal of Plant Nutrition*, 23(11-12), 1591-1606.
- M'Sehli, W., Youssfi, S., Donnini, S., Dell'Orto, M., De Nisi, P., Zocchi, G. y Gharsalli, M. (2008). Root exudation and rhizosphere acidification by two lines of *Medicago ciliaris* in response to lime-induced iron deficiency. *Plant and Soil*, 312(1-2), 151.
- Marques, D. J., Ferreira, M. M., da Silva Lobato, A. K., Guedes de Carvalho, J., de Assuncao Carvalho, J., Alves de Freitas, W. y Mauro de Castro, E. (2014). CaSiO₃ improves water potential and gas exchange but not contribute to the production parameters of maize plants exposed to different irrigation depths. *Australian Journal of Crop Science*, 8(8), 1257.
- Martínez-Ballesta, M. C., Cabanero, F., Olmos, E., Periago, P. M., Maurel, C., y Carvajal, M. (2008). Two different effects of calcium on aquaporins in salinity-stressed pepper plants. *Planta*, 228(1), 15-25.
- Martínez Cuenca, M.-R. (2012). *Respuestas del sistema de absorción de hierro en las raíces de los cítricos ante diferentes condiciones clorosantes del medio*. Tesis doctoral. Valencia: Universidad politécnica de Valencia.
- Massai, R., Loreti, F., y Fei, C. (2003). Evaluación de nuevo patrones híbridos melocotonero x almendro. *ITEA*, 99(1), 27-37.
- Maxwell, K., y Johnson, G. N. (2000). Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, 51(345), 659-668.
- McAlister, E., y Myers, J. (1940). The time course of photosynthesis and fluorescence observed simultaneously. *Smithsonian Inst. Misc Collections*, 99(6), 1.
- Mestre, L., Reig, G., Betrán, J. A., Pinochet, J., y Moreno, M. Á. (2015). Influence of peach-almond hybrids and plum-based rootstocks on mineral nutrition and yield characteristics of 'Big Top'nectarine in replant and heavy-calcareous soil conditions. *Scientia Horticulturae*, 192, 475-481.

- Miarnau, X., Torqueti, L., Batlle, I., Romero, A., Rovira, M., y Alegre, S. (2015). *La revolución del almendro: Nuevas variedades y modelos productivos*. En Simposio nacional de almendro y otros frutos secos. Lérida: IRTA.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (2018). Estadísticas de superficies y producciones de cultivos.
- Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7(9), 405-410.
- Mohammed, G., Binder, W., y Gillies, S. (1995). Chlorophyll fluorescence: a review of its practical forestry applications and instrumentation. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 10(1-4), 383-410.
- Moreno, M. (2002). *Breeding and selection of Prunus rootstocks at the Aula Dei experimental station, Zaragoza, Spain*. En I International Symposium on Rootstocks for Deciduous Fruit Tree Species. Zaragoza: ISHS.
- Porra, R., Thompson, W., y Kriedemann, P. (1989). Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 975(3), 384-394.
- Radhamani, R., Kannan, R., y Rakkiyappan, P. (2016). Leaf chlorophyll meter readings as an indicator for sugarcane yield under iron deficient typic Haplustert. *Sugar Tech*, 18(1), 61-66.
- Ranjbarfordoei, A., Samson, R., y Van Damme, P. (2011). Photosynthesis performance in sweet almond [*Prunus dulcis* (Mill) D. Webb] exposed to supplemental UV-B radiation. *Photosynthetica*, 49(1), 107.
- Reighard, G., Ouellette, D., y Brock, K. (2006). Growth and survival of 20 peach rootstocks and selections in South Carolina. *Acta Horticulturae*, 713, 269-274.
- Roca, J. M. (2017). El olivo en secano en alta densidad: nuevas técnicas de cultivo. *Olint*, 31, 28-34.
- Rombolà, A. D., y Tagliavini, M. (2006). Iron nutrition of fruit tree crops. En *Iron nutrition in plants and rhizospheric microorganisms* (pp. 61-83). Amsterdam: Springer.
- Rothwell, S. A., Dodd, I. C., y soil. (2014). Xylem sap calcium concentrations do not explain liming-induced inhibition of legume gas exchange. *Plant*, 382(1-2), 17-30.
- Rothwell, S. A., Elphinstone, E. D., y Dodd, I. C. (2015). Liming can decrease legume crop yield and leaf gas exchange by enhancing root to shoot ABA signalling. *Journal of Experimental Botany*, 66(8), 2335-2345.
- Rubio-Covarrubias, O. A., Brown, P. H., Weinbaum, S. A., Johnson, R. S., y Cabrera, R. I. (2009). Evaluating foliar nitrogen compounds as indicators of nitrogen status in *Prunus persica* trees. *Scientia Horticulturae*, 120(1), 27-33.
- Sahin, O., Gunes, A., Taskin, M. B., y Inal, A. (2017). Investigation of responses of some apple (*Malus x domestica* Borkh.) cultivars grafted on MM106 and M9 rootstocks to lime-induced chlorosis and oxidative stress. *Scientia Horticulturae*, 219, 79-89.
- Salisbury, F., y Ross, C. (2009). *Plant physiology*. Australia: Cengage Learning.
- Schmidt, W. (1997). *Topography of the NADH-linked ferric chelate (turbo) reductase in plasma membrane from Plantago roots*. 9th International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants. Stuttgart: Universitat Hohenheim.

- Schreiber, U., Bilger, W., y Neubauer, C. (1995). Chlorophyll fluorescence as a noninvasive indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis. En *Ecophysiology of photosynthesis* (pp. 49-70). Amsterdam: Springer.
- Siebke, K., von Caemmerer, S., Badger, M., y Furbank, R. T. (1997). Expressing an RbcS antisense gene in transgenic *Flaveria bidentis* leads to an increased quantum requirement for CO₂ fixed in photosystems I and II. *Plant Physiology*, 115(3), 1163-1174.
- Sim, C., Zaharah, A., Tan, M., y Goh, K. (2015). Rapid determination of leaf chlorophyll concentration, photosynthetic activity and NK concentration of *Elaeis guineensis* via correlated SPAD-502 chlorophyll index. *Asian J. Agric. Res*, 9(3), 132-138.
- Sotomayor, C., Ruiz, R., y Castro, J. (2014). Growth, yield and iron deficiency tolerance level of six peach rootstocks grown on calcareous soil. *Ciencia e Investigación Agraria*, 41(3), 403-409.
- Spinelli, G. (2015). *Water stress and water use of almonds in California: linking plant water status and canopy transpiration*. Tesis doctoral. California, EEUU: University of California Davis.
- Trentin, E., Facco, D. B., Hammerschmitt, R. K., Ferreira, P. A. A., Morsch, L., Belles, S. W., . . . Tiecher, T. L. (2019). Potential of vermicompost and limestone in reducing copper toxicity in young grapevines grown in Cu-contaminated vineyard soil. *Chemosphere*, 226, 421-430.
- Uddling, J., Gelang-Alfredsson, J., Piikki, K., y Pleijel, H. (2007). Evaluating the relationship between leaf chlorophyll concentration and SPAD-502 chlorophyll meter readings. *Photosynthesis Research*, 91(1), 37-46.
- USDA. (2019). Tree nuts: World markets and trade. United States Department of Agriculture.
<https://usda.library.cornell.edu/concern/publications/tm70mv16z?locale=en>
- Wang, W.-H., Chen, J., Liu, T.-W., Chen, J., Han, A.-D., Simon, M., . . . Zheng, H.-L. (2014). Regulation of the calcium-sensing receptor in both stomatal movement and photosynthetic electron transport is crucial for water use efficiency and drought tolerance in *Arabidopsis*. *Journal of Experimental Botany*, 65(1), 223-234.
- Wood, C., Reeves, D., y Himelrick, D. (1993). Relationships between chlorophyll meter readings and leaf chlorophyll concentration, N status, and crop yield: a review. *Proceedings of the Agronomy Society of New Zealand*, 23, 1-9.
- Xiloyannis, C., Dichio, B., Tuzio, A., Kleinhentz, M., Salesses, G., Gomez-Aparisi, J., . . . Esmenjaud, D. (2004). *Characterization and selection of Prunus rootstocks resistant to abiotic stresses: waterlogging, drought and iron chlorosis*. En VIII International Symposium on Canopy, Rootstocks and Environmental Physiology in Orchard Systems. Budapest: ISHS.
- Xu, C., Li, X., y Zhang, L. (2013). The effect of calcium chloride on growth, photosynthesis, and antioxidant responses of *Zoysia japonica* under drought conditions. *PloS one*, 8(7).
- Yadawa, U. (1986). A rapid and nondestructive method to determine chlorophyll in intact leaves. *HortScience*, 21(6), 1449-1450.