



Universidad de Valladolid

Facultad de Ciencias

TRABAJO FIN DE GRADO

Grado en Química

Balance de nutrientes en la remolacha azucarera

Autor:

Marta López Conde

Tutor/es:

Rafael Pardo Almudí

Manuel Gutiérrez Sosa



Universidad de Valladolid

Departamento de
Química Analítica

UVa

Rafael Pardo Almudí, Catedrático del Departamento de Química Analítica de la Universidad de Valladolid, en relación con la SOLICITUD DE DEFENSA Y EVALUACIÓN DEL TRABAJO FIN DE GRADO según el Reglamento sobre la Elaboración y Evaluación del Trabajo Fin de Grado aprobado en Consejo de Gobierno de 18 de enero de 2012 (BOCyL 15 de febrero de 2012), COMO TUTOR del trabajo "*Balace de nutrientes en la remolacha azucarera*" realizado por Dña. MARTA LÓPEZ CONDE,

INFORMO QUE:

Dicho trabajo ha sido realizado en la *Asociación para la Investigación de la Mejora del Cultivo de la Remolacha Azucarera* (AIMCRA) y el Departamento de Química Analítica de la Universidad de Valladolid y que ha sido supervisado por D. Manuel Gutiérrez Sosa (de AIMCRA) y por mí. El trabajo tiene como fin estudiar el efecto de macro y micronutrientes sobre el cultivo de la remolacha azucarera y se enmarca dentro de los proyectos de investigación de AIMCRA. En el mismo se determinan una serie de parámetros de interés agronómico, en diferentes partes de plantas de remolacha azucarera, procedentes de parcelas de cultivo, controladas por AIMCRA, y situadas en el norte y sur de nuestra península. La parte experimental ha sido realizada por MARTA LÓPEZ CONDE íntegramente en AIMCRA, empleando procedimientos estándar ya validados, bajo la supervisión de D. Manuel Gutiérrez Sosa.

La alumna MARTA LÓPEZ CONDE ha realizado el trabajo satisfactoriamente y con dedicación, demostrando poseer una gran cualificación y capacidad de trabajo y de análisis. Considero que tanto el tema del trabajo como los aspectos desarrollados en el mismo, han resultado de gran interés para AIMCRA y además reúnen las condiciones para ser defendidos, ante la correspondiente Comisión Evaluadora, como Trabajo Fin de Grado, por lo que AUTORIZO a la alumna a proceder a su defensa.

Valladolid 29 de junio de 2016

Fdo. Rafael Pardo Almudí

UVa

Agradecimientos:

En primer lugar, me gustaría agradecer enormemente a mi tutor Rafael Pardo Almudí toda la ayuda prestada en la realización de este Trabajo Fin de Grado, aun siendo muy complicado para él debido a que es un trabajo realizado en una empresa externa. Además, agradecerle su participación en mi formación como química a lo largo de la carrera, siendo un gran docente.

En especial, agradecer a D^o Manuel Gutiérrez Sosa, jefe del departamento químico de AIMCRA quien me dio la oportunidad de realizar el proyecto en su departamento, sin él este trabajo no podría haberse llevado a cabo. Agradecerle la ayuda y dedicación recibida por su parte para la realización de este Trabajo Fin de Grado.

También agradecer a las técnicas del laboratorio, en especial a Mercedes, Ana y Anita, su ayuda en todo lo que he necesitado desde el primer día, y sus consejos de cómo trabajar en un laboratorio. Sin vuestra ayuda esto no podría haberlo conseguido.

Por otro lado, agradecer a la empresa AIMCRA permitirme utilizar sus instalaciones y equipos.

Por último, quiero agradecerle a mi madre, y a toda mi familia por ayudarme en todo momento durante el transcurso de la carrera, y también en la realización de este trabajo. Porque en los momentos duros y de agobio, cuando crees que no puedes más dicen "tú puedes" y sólo con escuchar eso todo se ve de otra manera. Sin vosotros familia, nada de esto habría sido posible, gracias. También agradecer a mi pareja y mis amigos el estar presentes tanto en los buenos como en los malos momentos, animándome y apoyándome siempre.

Muchas Gracias a todas las personas que de una manera u otra habéis participado tanto en mi formación como Graduada en Química, como en mi formación personal.

Resumen

Los nutrientes esenciales para el correcto desarrollo de una planta de remolacha azucarera se subdividen en dos grupos (macronutrientes y micronutrientes), dependiendo de la concentración necesaria para tener la cantidad suficiente para un correcto desarrollo. Dentro de los macronutrientes destacan el nitrógeno (N), el fósforo (P), el calcio (Ca), el magnesio (Mg) y el potasio (K). Dentro de los micronutrientes destacan el manganeso (Mn), el cobre (Cu) y el zinc (Zn). Estos nutrientes son absorbidos por la planta, alojándose en los diferentes órganos de la misma (raíz, peciolo y limbo).

En este trabajo, se han estudiado cuatro ensayos procedentes de diferentes regiones de España, dos de ellas situadas en la zona norte (Valladolid) y las otras dos situadas en la zona sur (Sevilla). En cada ensayo se ha estudiado la concentración de los nutrientes en diferentes momentos del ciclo y en cada parte de la planta, de esta manera, se puede establecer la cantidad de nutriente absorbida por cada parte de la planta a lo largo de todo el ciclo de cultivo.

La cantidad total de nutrientes se determinó sometiendo primero a las muestras a una mineralización (excepto para el nitrógeno) que consiste en una calcinación y posterior tratamiento con ácido clorhídrico. Los contenidos totales de calcio, magnesio, manganeso, cobre y zinc fueron cuantificados mediante espectrometría de absorción atómica; el contenido total de potasio fue cuantificado mediante espectrometría de emisión atómica; el contenido total de nitrógeno fue cuantificado mediante el método Kjeldahl; y el contenido total de fósforo fue cuantificado mediante espectrometría UV-Vis. Todos los procedimientos han sido validados mediante los apropiados Materiales de Referencia Certificados.

Los resultados de los análisis se interpretaron mediante la evolución temporal de los nutrientes. Se han estudiado de dos formas diferentes: (i) comparación de la evolución temporal de los nutrientes en cada parte de la planta en los cuatro ensayos realizados y (ii) comparación de la evolución temporal de la absorción total de nutrientes en las dos zonas geográficas estudiadas (norte y sur).

Abstract

The essential nutrients for proper development of a sugar beet plant is subdivided into two groups (macronutrients and micronutrients), depending on the concentration needed to have enough for proper development. Within the macronutrients include nitrogen (N), phosphorous (P), calcium (Ca), magnesium (Mg) and potassium (K). Within the micronutrients include manganese (Mn), copper (Cu) and zinc (Zn). These nutrients are absorbed by the plant, staying in different organs (root, petiole and leaf blade).

In this work, have been studied four assays from different regions of Spain, two of which are located in the northern area (Valladolid) and the other two are located in the southern area (Sevilla). In each assay it has studied the concentration of nutrients at different times of the cycle and in every part of the plant, thus you can know the amount absorbed by each part of the plant throughout the growing cycle.

The total amount of nutrients was determined by first subjecting the samples to a mineralization (except for nitrogen) which consists of calcination and subsequent treatment with hydrochloric acid. Total concentrations of calcium, magnesium, manganese, copper and zinc were quantified by atomic absorption spectrometry; total concentration of potassium was quantified by atomic emission spectrometry; the total concentration of nitrogen was quantified by the Kjeldahl method; and total concentration of phosphorous was quantified by UV-Vis spectrometry. All the procedures were validated with the appropriated Certified Reference Materials.

The results of the analysis were interpreted by the temporal evolution of the nutrient. They have been evaluated in two different ways: (i) comparison of the temporal evolution of the nutrients in every part of the plant in the four assays and (ii) comparison of the temporal evolution of the total absorption of nutrients in as two geographical areas evaluated (north and south).

Índice

1	INTRODUCCIÓN.....	1
1.1	Nutrientes esenciales de las plantas.....	3
1.2	Nitrógeno (N).....	4
1.2.1	Nitrógeno en el suelo.....	4
1.2.2	La absorción del nitrógeno y la asimilación por las plantas superiores.....	7
1.2.3	La nutrición de nitrógeno en las plantas superiores.....	8
1.2.4	Rango adecuado y desórdenes nutricionales.....	9
1.2.5	Interacciones con otros elementos esenciales.....	10
1.3	Fósforo (P).....	10
1.3.1	Fósforo en el suelo.....	10
1.3.2	La absorción del fósforo y la asimilación por las plantas superiores.....	11
1.3.3	La nutrición de fósforo en las plantas superiores.....	12
1.3.4	Rango adecuado y desórdenes nutricionales.....	12
1.3.5	Interacciones con otros elementos esenciales.....	13
1.4	Potasio (K).....	14
1.4.1	Potasio en el suelo.....	14
1.4.2	La absorción del potasio y la asimilación por las plantas superiores.....	14
1.4.3	La nutrición de potasio en las plantas superiores.....	15
1.4.4	Rango adecuado y desórdenes nutricionales.....	15
1.4.5	Interacciones con otros elementos esenciales.....	16
1.5	Calcio (Ca).....	17
1.5.1	Calcio en el suelo.....	17
1.5.2	La absorción del calcio y la asimilación por las plantas superiores.....	18
1.5.3	La nutrición de calcio en las plantas superiores.....	19
1.5.4	Rango adecuado y desórdenes nutricionales.....	19
1.5.5	Interacciones con otros elementos esenciales.....	19
1.6	Magnesio (Mg).....	20
1.6.1	Magnesio en el suelo.....	20
1.6.2	La absorción del magnesio y la asimilación por las plantas superiores.....	21
1.6.3	La nutrición de magnesio en las plantas superiores.....	21
1.6.4	Rango adecuado y desórdenes nutricionales.....	22
1.6.5	Interacciones con otros elementos esenciales.....	22
1.7	Cobre (Cu).....	23
1.7.1	Cobre en el suelo.....	23
1.7.2	La absorción del cobre y la asimilación por las plantas superiores.....	23
1.7.3	La nutrición de cobre en las plantas superiores.....	24
1.7.4	Rango adecuado y desórdenes nutricionales.....	24
1.7.5	Interacciones con otros elementos esenciales.....	24
1.8	Manganeso (Mn).....	25
1.8.1	Manganeso en el suelo.....	25
1.8.2	La absorción del manganeso y la asimilación por las plantas superiores.....	26
1.8.3	La nutrición de manganeso en las plantas superiores.....	26
1.8.4	Rango adecuado y desórdenes nutricionales.....	26
1.8.5	Interacciones con otros elementos esenciales.....	27
1.9	Zinc (Zn).....	27
1.9.1	Zinc en el suelo.....	27
1.9.2	La absorción del zinc y la asimilación por las plantas superiores.....	28
1.9.3	La nutrición de zinc en las plantas superiores.....	28
1.9.4	Rango adecuado y desórdenes nutricionales.....	28
1.9.5	Interacciones con otros elementos esenciales.....	29

2	OBJETIVOS.....	31
3	MATERIALES Y MÉTODOS.....	35
	3.1 Toma de muestra.....	37
	3.2 Tratamiento de la muestra a la llegada al laboratorio.....	38
	3.3 Materia seca.....	39
	3.4 Preparación de la muestra para los análisis.....	39
	3.5 Análisis de componentes mayoritarios (macronutrientes).....	40
	3.5.1 Fósforo (P).....	41
	3.5.1.1 Condiciones de medida.....	45
	3.5.2 Potasio (K), Calcio (Ca) y Magnesio (Mg).....	46
	3.5.2.1 Condiciones de medida.....	54
	3.5.3 Nitrógeno (N).....	56
	3.5.3.1 Condiciones de medida.....	57
	3.6 Análisis de los componentes minoritarios (micronutrientes).....	58
	3.6.1 Condiciones de medida.....	58
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	61
	4.1 Tratamiento de los datos.....	63
	4.2 Resumen estadístico.....	68
	4.3 Evolución temporal de cada nutriente en los tres órganos de la planta.....	71
	4.3.1 Nitrógeno (N).....	72
	4.3.2 Fósforo (P).....	73
	4.3.3 Calcio (Ca).....	74
	4.3.4 Magnesio (Mg).....	75
	4.3.5 Potasio (K).....	76
	4.3.6 Manganeso (Mn).....	77
	4.3.7 Cobre (Cu).....	78
	4.3.8 Zinc (Zn).....	79
	4.4 Comparación de la absorción total de macronutrientes entre el norte y el sur.....	80
5	CONCLUSIONES.....	85
6	BIBLIOGRAFÍA.....	89

Capítulo 1

Introducción

1.1-Nutrientes esenciales de las plantas

Hay dieciséis elementos que se consideran esenciales para el crecimiento de las plantas. Están divididos en dos categorías: los macronutrientes y los micronutrientes. Estos elementos (y sus símbolos) son:

Macronutrientes		Micronutrientes	
Carbono	(C)	Boro	(B)
Hidrógeno	(H)	Cloro	(Cl)
Oxígeno	(O)	Cobre	(Cu)
Calcio	(Ca)	Hierro	(Fe)
Magnesio	(Mg)	Manganeso	(Mn)
Nitrógeno	(N)	Molibdeno	(Mo)
Fósforo	(P)	Zinc	(Zn)
Potasio	(K)		
Azufre	(S)		

La única diferencia entre los macronutrientes y los micronutrientes es la concentración necesaria para tener la cantidad suficiente para un correcto desarrollo, tal como se muestra en la Tabla 1. En el caso de los macronutrientes, dicha concentración necesaria es de 10 a 5000 veces mayor que la de la mayoría de los micronutrientes.

Elemento	Símbolo	mmol/g peso seco	mg/kg (ppm)	%	Número relativo de átomos
Molibdeno	Mo	0,001	0.1	-	1
Cobre	Cu	0,10	6	-	100
Zinc	Zn	0,30	20	-	300
Manganeso	Mn	1,0	50	-	1.000
Hierro	Fe	2,0	100	-	2.000
Boro	B	2,0	20	-	2.000
Cloro	Cl	3,0	100	-	3.000
Magnesio	Mg	80	-	0,2	80.000
Fósforo	P	60	-	0,2	60.000
Calcio	Ca	125	-	0,5	125.000
Potasio	K	250	-	1,0	250.000
Nitrógeno	N	1.000	-	1,5	1.000.000

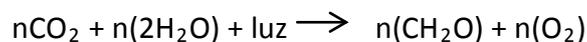
Tabla 1. Concentraciones medias suficientes de los nutrientes minerales en la materia seca vegetal para un crecimiento adecuado

Ya en 1860, se determinó que Calcio, Hierro, Magnesio, Nitrógeno y Fósforo eran esenciales para el desarrollo de las plantas (Blaya y García, 2003; Hewitt, 1963). En 1922, se determinó la importancia del Manganeso; en 1926 se añadieron a la lista de elementos esenciales el Boro y el Zinc, el Cobre en 1931, el Molibdeno en 1939, y el Cloro en 1954.

Los tres criterios para la esencialidad de un elemento fueron establecidos por Arnon y Stout (Arnon y Stout, 1939):

- La falta del elemento puede resultar en un crecimiento anormal, insuficiencia para completar el ciclo vital, o la muerte prematura de la planta.
- El elemento debe ser específico y no reemplazable por otro elemento.
- El elemento debe ejercer su efecto directamente sobre el crecimiento o el metabolismo y no por algún efecto indirecto como antagonizar otro elemento presente a niveles tóxicos.

Los elementos esenciales carbón (C), hidrógeno (H), y oxígeno (O) proceden del aire y el agua y se combinan en la fotosíntesis, el proceso exclusivo de las plantas verdes. En este proceso de captura de energía, una molécula de agua (H₂O) es dividida y combinada con dióxido de carbono (CO₂) para formar un carbohidrato y oxígeno, como se observa en la siguiente ecuación básica:



Los 13 nutrientes esenciales restantes derivan principalmente del suelo o del medio de cultivo. Los nutrientes esenciales tratados en este trabajo fin de grado:

Macronutrientes: nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K), magnesio (Mg) y calcio (Ca).

Micronutrientes: manganeso (Mn), Cobre (Cu) y zinc (Zn).

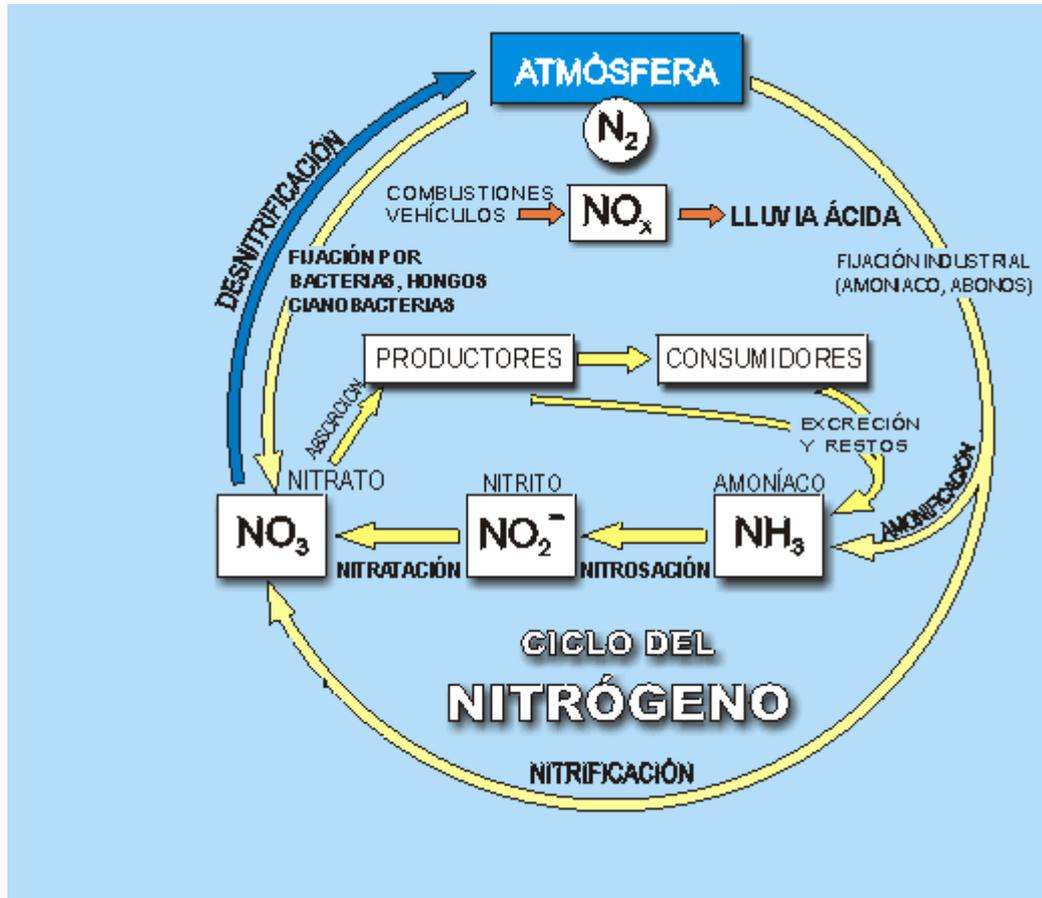
Todos ellos se discuten individualmente a continuación.

1.2-Nitrógeno (N)

1.2.1-Nitrógeno en el suelo

- Formas. La mayoría del nitrógeno se encuentra en los suelos (98%) y está asociado con la materia orgánica. Sus niveles totales oscilan entre 0,02% en el subsuelo hasta 2,5% en la turba, pero la capa de arado de la mayoría de los suelos cultivados contiene 0,02-0,04% de nitrógeno en peso. Sin embargo y debido a los continuos cambios en la disponibilidad de nitrógeno, las determinaciones de sus niveles en suelo son de uso limitado para predecir su disponibilidad a corto plazo en las plantas. Los cambios de sus estados de

oxidación se producen debido a procesos naturales químicos, bioquímicos y microbianos, que conforman el ciclo del nitrógeno (Marschner, 2011).



El ciclo del nitrógeno es dinámico y con las diferentes especies con varios estados de oxidación: +5 en N_2O_5 y HNO_3 ; +4 en NO_2 ; +3 en N_2O_3 y HNO_2 ; +2 en NO ; +1 en N_2O , HNO y H_2N_2O ; 0 en N_2 ; -1 en NH_2OH ; -2 en NH_2-NH_2 ; o -3 en NH_3 . El nitrógeno del suelo se puede encontrar principalmente en tres formas: (1) materia orgánica, (2) iones amonio (NH_4^+) fijados en puntos de intercambio de minerales arcillosos (3) iones amonio y nitrato (NO_3^-) presentes en la solución del suelo. Las formas del nitrógeno de importancia en la nutrición de la planta son amonio (NH_4^+), nitrato (NO_3^-) y nitrito (NO_2^-). Nitrato y amonio son las formas asimiladas por las plantas y constituyen los principales componentes de los fertilizantes nitrogenados aplicados a los cultivos (Black, 1968; Marschner, 2011; Soler y Arroyo, 2008). El nitrito es tóxico para las plantas en niveles muy bajos (menos de 5 mg/kg) y generalmente se convierte en un problema, únicamente cuando las prácticas de cultivo o los productos químicos ambientales aplicados afectan al proceso de nitrificación en el suelo.

- Dinámica. En el suelo, el nitrógeno puede ser transformado por mineralización (conversión de nitrógeno orgánico en nitrógeno inorgánico), seguido de nitrificación (conversión de amonio en nitrato). También puede ser incorporado

por fijación simbiótica (conversión de nitrógeno gaseoso en amonio o amonio). Por último, se puede perder mediante desnitrificación (transformación de nitrato en nitrógeno gas), volatilización de amonio (conversión de amonio en nitrógeno gaseoso), disociación reductora del nitrito (transformación del nitrito en óxido nitroso), o absorción por la planta (mayoritariamente amonio y nitrato). El ritmo de estas transformaciones de origen natural puede ser alterado por condiciones aeróbicas/anaeróbicas, pH del suelo, temperatura, y la presencia de inhibidores químicos o el uso de ciertos fungicidas/pesticidas. Tradicionalmente, el nitrato era la forma primaria de nitrógeno absorbida por las plantas debido a la rápida conversión de amonio en el suelo en nitrato. Dicho proceso de nitrificación incluye dos pasos. Primero, una bacteria (*Nitrosomonas spp.*) oxida el amonio a nitrito (Paso 1), y después otra bacteria (*Nitrobacter*) transforma el nitrito en nitrato (Paso 2). Bajo condiciones normales, la velocidad del Paso 2 es mayor que la del Paso 1, por lo que el nitrito no se acumula en el suelo a menos que el proceso se bloquee en el paso del nitrito, mediante alguna práctica medioambiental o de cultivo. La nitrificación requiere oxígeno y libera iones hidrógeno (H^+) que acidifican el suelo con el tiempo y requiere la adición de cal para ajustar el pH (Caballero et al, 2005; Epstein, 1979; Maynard y Barker, 1979). Las plantas superiores y los microorganismos compiten por el nitrógeno del suelo. Como los microorganismos son más eficientes en la interceptación de nitrógeno, la disponibilidad de éste para el crecimiento de las plantas depende de la relación carbono:nitrógeno (C:N) en el suelo. Cuando $C:N > 30:1$, el nitrógeno queda inmovilizado en el proceso de descomposición de residuos orgánicos por los microbios del suelo, mientras que con una relación comprendida entre 20:1 y 30:1 la inmovilización es limitada y se produce la liberación de nitrógeno mineral en el suelo. Por tanto, el nitrógeno está disponible para la absorción de las plantas cuando la relación $C:N < 20:1$. Con el fin de aumentar el nitrógeno disponible para la absorción de las plantas, se aplican rutinariamente fertilizantes que contienen nitrógeno a los suelos cultivados.

- Fertilizantes. Los fertilizantes nitrogenados se agrupan en función de la forma de nitrógeno. Hay fertilizantes a base de urea, a base de amonio y fertilizantes que contienen nitrógeno orgánico. Dado que se aplican en cantidades bastante grandes en los suelos de las tierras cultivadas, los fertilizantes nitrogenados pueden tener un efecto marcado sobre el pH del suelo. Los fertilizantes basados en amonio y en urea tienen un efecto acidificante muy fuerte en la mayoría de los suelos. Esta acidificación resulta de los protones liberados durante el proceso de nitrificación o durante la absorción de amonio por las raíces (Vázquez, 1997; Western Plant Health Association, 2010). Del mismo modo, los que contienen nitrógeno orgánico tienen un efecto acidificante a

través de la mineralización. Por lo tanto, el uso continuado a largo plazo de fertilizantes nitrogenados basados en amonio y en urea, debe ser acompañado de un programa regular de encalado si se quieren evitar los problemas de acidificación del suelo. Los principales efectos perjudiciales de la disminución del pH del suelo es que se incrementa el riesgo de toxicidad por aluminio (Al) y manganeso (Mn). Por el contrario, el uso de fertilizantes basados en nitratos resulta en un aumento temporal en el pH del suelo.

1.2.2-La absorción del nitrógeno y la asimilación por las plantas superiores

- **Absorción.** En la nutrición de las plantas, el nitrato y el amonio deben ser considerados como dos nutrientes diferentes debido a las diferentes reacciones con las plantas. Por lo general, se reconoce que el amonio hace más verde la planta mientras que el nitrato la hace más grande. El amonio es tóxico para la planta cuando se absorbe y debe ser combinado con carbono para formar compuestos nitrogenados y evitar que se dañe la planta. Si se suministra amonio, sea a través de la aplicación de fertilizantes o de la rápida descomposición de la materia orgánica añadiendo el carbono que normalmente es utilizado en el proceso de crecimiento, se obtendrá como resultado una planta más pequeña. Ya que el amonio es incorporado primero con los compuestos nitrogenados en la raíz, el primer impacto de los niveles altos de amonio se verá reflejado en una reducción del crecimiento de la raíz. Cuando el sistema radicular está sobrecargado en su capacidad, el ion amonio se traslada a la parte superior de la planta para desintoxicar el amonio absorbido. Así el carbono utilizado para el crecimiento de la hoja y el tallo es invertido en la desintoxicación del amonio absorbido. La absorción de amonio es óptima a pH neutro y se ha observado que su captación es menor cuando aumenta la acidez, debido a la competencia entre los iones hidrógeno y amonio en los puntos de unión en las raíces de las plantas (Black, 1968; Hewitt, 1963; Soler y Arroyo, 2008). Si aumenta la concentración del ion hidrógeno (o desciende el pH), la competición con el amonio se vuelve más intensa. El mecanismo de absorción de los iones amonio es desconocido en la actualidad. El nitrato es tomado por la planta en grandes cantidades mediante absorción pasiva y activa. El nitrato será absorbido continuamente siempre y cuando exista en el suelo, pero puede ser paralizada por el amonio y por niveles de pH superiores a 6 o inferiores a 4,5. La reducción de la absorción de nitratos a pH alto puede ser debido a los efectos competitivos de los iones hidroxilo (OH^-). La absorción de nitrato y amonio es asimismo dependiente de la temperatura, aumentando la absorción cuando ésta desciende.

- **Translocación del nitrato.** El nitrato es transportado hacia arriba en las plantas a través del xilema. Simultáneamente, la síntesis de aniones orgánicos aumenta con un correspondiente aumento de cationes inorgánicos que se acumulan en la raíz, como calcio (Ca), magnesio (Mg), potasio (K) y sodio (Na). Después de la absorción, el nitrato puede ser almacenado en las vacuolas o bien incorporado en moléculas orgánicas. El nitrato es reducido e incorporado en las moléculas orgánicas por el enzima nitrato reductasa (NR) activado por luz y cuya actividad viene controlada genéticamente.
- **Translocación del amonio.** El amonio debe ser incorporado rápidamente a las moléculas orgánicas, debido a que el amonio libre interrumpe el mecanismo de fotosíntesis mediante reacciones redox de desacoplamiento y afecta al apilamiento de membranas fotosintéticas en los cloroplastos.
- **Asimilación.** Como ya se comentó, el amonio es tóxico para las plantas y debe ser incorporado inmediatamente en los compuestos nitrogenados por absorción. Por otro lado, el nitrato no es tóxico y puede ser almacenado en la planta hasta que sea utilizado. Independientemente de la forma inorgánica de nitrógeno absorbido, es la forma amoniacal del nitrógeno la que es incorporada a los alfa-cetoglutaratos para producir glutamato en los cloroplastos. Esta reacción es controlada por el enzima glutamato deshidrogenasa. Otros grupos amino deben ser incorporados a los residuos glutamato para producir glutamina bajo el control de la enzima glutamina sintetasa. Estas reacciones son asimilaciones reductivas (donde $\text{NADPH} + \text{H}^+$ es transformado en NADP) y requieren energía transferida por el ATP (Hewitt, 1963; Caballero et al, 2005). Los residuos glutamato también se pueden formar por transaminación de alfa-cetoglutrato con glutamina, bajo el control de la enzima glutamato sintetasa. Una serie de transaminaciones utilizando el glutamato y la glutamina como donantes de grupo amino inician las rutas sintéticas de otros aminoácidos esenciales utilizando los receptores alfa-cetoácidos correspondientes.

1.2.3-La nutrición de nitrógeno en las plantas superiores

El nitrógeno está involucrado en la estructura de todos los aminoácidos, proteínas, y muchos enzimas. Es también parte de las bases púricas y pirimidínicas, y por lo tanto es un constituyente de los ácidos nucleicos (ADN y ARN). El nitrógeno está también presente en el anillo tetra-pirrol de la clorofila, NADH, NADPH, colina, y ácido indolacético (Epstein, 1972). También se encuentra en forma de nitrato libre en la savia de la vacuola. El nitrato debe ser acumulado en concentraciones considerables (> 1.000 mg/kg) en el tejido conductivo (peciolos y limbos) durante el periodo

vegetativo de crecimiento. Por lo tanto, los peciolos de ciertos cultivos pueden ser utilizados como indicadores del estado del nitrógeno en este periodo vegetativo.

1.2.4-Rango adecuado y desórdenes nutricionales

- Rango de suficiencia. El contenido de nitrógeno en las plantas oscila entre el 1,0 y 6,0% del peso seco en los tejidos foliares. Los altos contenidos de nitrógeno, sin embargo, pueden causar simulaciones de crecimiento que pueden producir deficiencia de otros elementos (si estas no son suplidas adicionalmente) debido a los efectos de dilución. El intervalo de nitrato en el peciolo está comprendido entre 8.000 y 12.000 mg/kg durante el principio del crecimiento, hasta 3.000 a 8.000 mg/kg a media temporada. El nitrato se concentra principalmente en la base del tallo principal y en los peciolos de las hojas recientemente maduras.
- Deficiencia. Todas las formas del nitrógeno son móviles en las plantas. Por lo tanto, los síntomas de la deficiencia de nitrógeno aparecen primero en las hojas más viejas. Con escasez de nitrógeno, las plantas crecen despacio y son débiles y raquíticas. Las hojas son pequeñas, el color del follaje es verde claro y amarillo, y las hojas más viejas a menudo caen prematuramente. La necrosis de las hojas o partes de la planta se produce en una fase bastante tardía y severa de la deficiencia (Jarrel y Beverly, 1981; Ohki, 1978). En el crecimiento de la raíz se reduce y se limita el ramificado; sin embargo, por lo general hay un aumento en la proporción raíz/tallo. Se reduce significativamente el rendimiento y la calidad.
- Toxicidad. Las plantas pueden tolerar el exceso de nitrato en un grado mucho mayor que el de amonio. Los niveles de amonio pueden ser tóxicos para las plantas si no es incorporado en compuestos nitrogenados que contienen carbono después de la absorción. El amonio también puede restringir la absorción de potasio debido a que ambos compiten por los puntos de captación de la raíz. Cuando el amonio es la forma dominante de nitrógeno disponible se desarrolla una condición de toxicidad., que viene caracterizada porque se restringe el crecimiento de la raíz, la cual aparece frecuentemente descolorida, y resulta en la ruptura del tejido vascular disminuyendo la absorción de agua. Los síntomas foliares pueden incluir clorosis y necrosis de las hojas, epinastia, y lesiones en el tallo. Sin embargo, una pequeña aplicación de fertilizante basado en amonio al final del periodo de crecimiento en plantas frondosas u ornamentales, resulta en un deseable color verde oscuro en las hojas sin reducción del crecimiento. Con fertilización amónica, pueden ocurrir

con frecuencia problemas secundarios de deficiencia de potasio (K), calcio (Ca) o magnesio (Mg).

1.2.5-Interacciones con otros elementos esenciales

- Competición por la absorción. El amonio reduce la absorción de cationes esenciales como potasio, calcio y magnesio, mientras que el nitrato reduce la absorción de aniones esenciales como fósforo y azufre. El cloro también puede competir con el nitrato en la absorción.
- Efecto sobre el pH. Las plantas alimentadas con amonio a menudo tienen mayor contenido en fósforo que las plantas alimentadas con nitrato, debido a la acidificación de la rizosfera con la absorción del amonio y la subsiguiente liberación del ión hidrógeno. La aplicación de amonio puede reducir la deficiencia de hierro (Fe) en suelos calcáreos.
- Molibdeno. Como el enzima nitrato reductasa necesita molibdeno (Mo), la deficiencia de éste reduce la velocidad de reducción del nitrato y así disminuye la eficiencia del uso del nitrógeno.

1.3-Fósforo (P)

1.3.1-Fósforo en el suelo

- Formas. El fósforo existe en el suelo como fosfato de calcio resultante del desgaste de los principales minerales productores de fósforo; fósforo no lábil o fuertemente ligado; fósforo orgánico en el humus y residuos orgánicos; y fosfatos solubles y absorbidos que constituyen el fósforo en solución (0,1 µgP/mL). Del fósforo absorbido, sólo la fracción mononuclear debe ser considerada para estar en equilibrio con el fósforo en solución, y por lo tanto accesible a las plantas.
- Dinámica. Los pK de acidez del ácido fosfórico son 2, 6, y 12. En el rango de pH de 5,5 hasta 7,0 la forma dominante de fósforo es $H_2PO_4^-$, y el fósforo disponible es mayor. A pH bajo se forman fosfatos insolubles de hierro y aluminio, mientras que con pH en torno a 7,0 se forman fosfatos insolubles de calcio y magnesio (Black, 1968; Blaya y García, 2003; Marschner, 2011). El fósforo liberado de la descomposición de los residuos de las plantas puede ser una fuente relativamente significativa de fósforo disponible para las plantas. Debido a que el fósforo es relativamente inmóvil en el suelo, es preferible tener

unas bandas de fósforo de 5 a 8 centímetros a los lados y de 3 a 5 centímetros por debajo de la semilla para difundir la aplicación.

- Fertilizantes. El fósforo en los fertilizantes se expresa como P_2O_5 . Sus fuentes de fósforo son superfosfatos normales, superfosfatos triples, mono- y difosfatos amónicos, superfosfatos amoniacados, y fosfato potásico.

1.3.2-La absorción del fósforo y la asimilación por las plantas superiores

- Movimiento a la raíz. El fósforo alcanza la superficie de la raíz principalmente por difusión a lo largo de un gradiente de concentración. Sin embargo, el fósforo sólo se mueve una pequeña distancia en el suelo y debe ser colocado cerca de la raíz para su absorción. Factores del suelo, tales como humedad, capacidad de tamponamiento o temperatura, y factores de la planta, tales como longitud y masa de la raíz o intensidad de infección de micorrizas, influyen en la velocidad de absorción de fósforo por las raíces.
- Absorción. El fósforo es absorbido activamente como $H_2PO_4^-$ y no sufre cambios redox en la planta. El fósforo de las células de la raíz o presente en la savia del xilema, es de 100 a 1.000 veces superior al fósforo en el suelo. La absorción del fósforo utiliza ya sea un sistema de co-transporte o de antiporte. El sistema de co-transporte consta de ATPasas que bombean H^+ en el apoplasto, para protonar un portador de fosfatos que después atraviesa la membrana plasmática, el pH del apoplasto controla la absorción de fósforo (Epstein, 1972; Hewitt, 1963). En el sistema antiporte, el HCO_3^- es bombeado fuera mientras que $H_2PO_4^-$ es bombeado dentro y por cada $H_2PO_4^-$ absorbido, se libera al suelo un OH^- , lo que tiende a incrementar el pH de la rizosfera. La absorción de fósforo por las plantas está determinada genéticamente y es diferente entre especies y cultivos. La absorción de fósforo es mejor en las plantas jóvenes y decrece con la madurez.
- Translocación y asimilación. A los pocos minutos de la absorción, la mayor parte del fósforo se convierte en fósforo orgánico y es metabolizado rápidamente. El fósforo es móvil en las plantas, y se producen principalmente movimientos hacia abajo en el floema ya sea como fósforo inorgánico u orgánico. La mayoría del fósforo inorgánico (del 85 al 90%) puede ser almacenado en las vacuolas, principalmente como ortofosfatos.

1.3.3-La nutrición de fósforo en las plantas superiores

- Sistema tampón celular. Como el ácido fosfórico es un tri-ácido, sus disociaciones sucesivas proporcionan fósforo para amortiguar el pH celular y mantener la homeostasis.
- La regulación del metabolismo. Los niveles de fósforo inorgánico regulan la actividad de enzimas como la fosfofructoquinasa y la ADP-glucosa pirofosforilasa, y están involucradas en el control de la síntesis de almidón y la respiración climatérica durante la madurez del fruto.
- Portador de energía. La ruptura de los enlaces P-P en nucleótidos di- y trifosfatos (mayormente adenosin trifosfato, ATP) y en fosfo-creatina, todos proporcionan energía que puede ser usada para la biosíntesis o la absorción del ion (Epstein, 1972; Marschner, 2011). La reducción del dinucleótido nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADP⁺) en NADPH también proporciona energía que puede ser utilizada en la respiración, la glucólisis y en la fijación de CO₂.
- Nucleótidos. Los mono-, di- y tri- fosfatos son los constituyentes de los ácidos nucleicos (DNA, tRNA, mRNA y rRNA). La trifosfato uridina (UTP) es necesaria para la síntesis de sacarosa; la trifosfato citosina (CTP) para la síntesis de fosfolípidos; y la trifosfato guanidina (GTP) para la formación de celulosa.
- Reserva de energía en forma de fitina en semillas y frutos. La fitina es la sal de calcio o magnesio del ácido fítico, un éster de inositol. Durante la germinación, la fitina se hidroliza a fósforo inorgánico libre que es utilizado para formar compuestos orgánicos de procesos metabólicos y en la formación de la pared celular.
- Constituyentes de las moléculas orgánicas. El fósforo está presente en los fosfolípidos de las membranas como constituyente de anclaje lipídico de algunas lipoproteínas y liposacáridos.

1.3.4-Rango adecuado y desórdenes nutricionales

- Rango de suficiencia. El rango de concentración de fósforo en hojas maduras va de 0,2 hasta 0,5%. El contenido de fósforo en las partes de plantas en crecimiento es mayor debido al intenso anabolismo, que requiere múltiples reacciones de transferencia de energía que implican ATP.

- Deficiencia. La deficiencia de fósforo generalmente tiene lugar cuando su contenido es inferior a 0,2%. La deficiencia temporal puede estar causada por bajas temperaturas en el suelo y resulta en un crecimiento retardado y una menor relación tallo/raíz (Ohki, 1987). Los síntomas incluyen un color verde oscuro en las hojas viejas, un color violáceo en las hojas y necrosis de los márgenes de las hojas.
- Toxicidad. Los niveles muy elevados de fósforo a mitad de crecimiento pueden paralizarlo, principalmente disminuyendo la absorción y translocación de zinc (Zn), hierro (Fe) y cobre (Cu).

1.3.5-Interacción con otros elementos esenciales

- Nitrógeno. Para la mayoría de los cultivos la relación óptima N:P es de 10:1. En los suelos alcalinos, los fertilizantes basados en amonio aumentan la disponibilidad de fósforo debido a su efecto acidificante.
- Calcio. Aumentando la cantidad de calcio en solución se incrementa la absorción de fósforo. Se ha propuesto que esto es debido a que el calcio estimula el transporte de fósforo a las membranas mitocondriales. Sin embargo, los fosfatos de calcio tienen baja solubilidad en agua a pH altos.
- Magnesio. El magnesio es un activador de los encimas quinasa y activa muchas reacciones incluyendo la transferencia de fosfatos.
- Aluminio. El aluminio puede formar fosfatos de aluminio en las regiones intercelulares de la punta de la raíz lo que restringe la translocación del fósforo, induciendo deficiencia de fósforo. Sin embargo, la absorción de aluminio suele estar acompañada de un aumento de absorción de fósforo, y los niveles altos de fósforo en la raíz tienen lugar con niveles altos de aluminio. No está claro, sin embargo, si este fósforo está disponible para ser usado por la planta.
- Hierro. Se cree que el hierro interfiere con la absorción, la translocación y la asimilación de fósforo debido a la formación de fosfatos de hierro.
- Zinc. Los altos niveles de fósforo pueden inducir síntomas de deficiencia de zinc en plantas con niveles adecuados de zinc. De manera inversa, se ha encontrado que los niveles altos de zinc interfieren con el metabolismo normal del fósforo.

1.4-Potasio (K)

1.4.1-Potasio en el suelo

- **Formas.** En los suelos, el potasio existe como componente estructural de minerales primarios y secundarios; potasio fijado en la red de minerales de arcilla; iones intercambiables absorbidos en la superficie de los coloides del suelo; y como soluto de la solución del suelo. El contenido total de potasio está entre 0,5 y 2,5% en la mayoría de los suelos, lo que representa aproximadamente 50 toneladas de potasio por hectárea. Sin embargo, sólo entre el 0,1 y el 2% del potasio total en el suelo está realmente disponible para las plantas.
- **Dinámica.** La erosión de los feldespatos que contienen potasio tiene como efecto la liberación de potasio en la solución del suelo para la utilización de las plantas (Black, 1963; Blaya, 2003). El potasio también puede moverse dentro de las capas intermedias de las partículas de arcilla y quedar atrapado. Se pueden fijar de 1 a 2 gramos de potasio por cada 100 gramos de minerales de arcilla. Este fenómeno, llamado fijación de potasio, es de importancia agrícola en suelos que contengan arcilla.
- **Fertilizantes.** Las principales fuentes de los fertilizantes de potasio son el nitrato potásico, sulfato potásico, cloruro potásico y Sul-Po-Mag (sulfato doble de potasio y magnesio).

1.4.2-La absorción del potasio y la asimilación por las plantas superiores

- **Movimiento a la raíz.** Solo una pequeña parte del movimiento del potasio en el suelo es por difusión a través de la película de agua situada alrededor de las partículas del suelo. Dado que la difusión es un proceso relativamente lento, puede ser necesaria la fertilización potásica para mantener elevados los niveles de potasio intercambiable. El crecimiento rápido de las plantas y la absorción pueden agotar el potasio en el suelo situado alrededor de la superficie de la raíz. Con altos niveles de potasio en el suelo, humedad fácilmente disponible y temperaturas elevadas se incrementa el movimiento de potasio del suelo a la raíz y se aseguran sus niveles adecuados para continuar con el crecimiento.
- **Absorción.** El potasio se absorbe como catión K^+ en mayores cantidades que la mayoría de los otros elementos, excepto el nitrógeno. Durante los periodos de máxima demanda, los cultivos en crecimiento activo pueden requerir diariamente de 3,25 a 4,5 kg de potasio por hectárea (Hewitt, 1963; Marschner, 2011)). Las plantas normalmente absorben la mayoría del potasio durante la

primera mitad de su ciclo de crecimiento, aunque existen periodos de máxima demanda para la mayoría de los cultivos y picos de alta demanda durante el desarrollo de la flor y la fruta, por lo que debe haber potasio disponible para la absorción durante este periodo. La absorción de potasio está afectada por el nivel de oxígeno en el suelo, más aún que la mayoría de los otros elementos.

- **Translocación y asimilación.** La continua y estable absorción de potasio por las raíces se atribuye a la presencia de ionóforos que permiten la difusión facilitada dentro de las células de la raíz. El potasio también es absorbido en un sistema de ATPasa activo. La mayoría de las membranas están caracterizadas por una elevada permeabilidad para el potasio, lo que explica la extrema movilidad del potasio a lo largo de toda la planta. Dentro de la planta, la principal dirección de transporte del potasio es desde lo alto del xilema hacia los tejidos jóvenes. También se produce a menudo una redistribución de las hojas más viejas a las hojas más jóvenes.

1.4.3-La nutrición del potasio en las plantas superiores

El potasio está implicado en el mantenimiento del buen estado de las plantas, la presión de turgencia celular y controla la apertura y el cierre de los estomas. Dado que la apertura de los estomas afecta a la disponibilidad del dióxido de carbono, el potasio es un controlador indirecto de la actividad fotosintética (Epstein, 1972; Marschner, 2011). También es necesario para la acumulación y la translocación de los nuevos carbohidratos sintetizados, este papel es particularmente importante durante el periodo de llenado de la fibra. Con deficiencia de potasio el crecimiento es más lento, ya que los azúcares y el almidón tienden a acumularse donde se han formado. El potasio está involucrado en la síntesis de celulosa, de manera que cuando hay deficiencia, las paredes celulares y los tallos están debilitados y las plantas presentarán tallos que se rompen fácilmente o que se caen debido al viento.

1.4.4-Rango adecuado y desórdenes nutricionales

- **Rango de suficiencia.** En hojas sanas, recientes y totalmente desarrolladas, el rango típico de suficiencia va de 1,5 a 4% sobre el peso seco, con una relación N:K en peso de 1:1, pero en algunos cultivos, los niveles de potasio en el tejido del tallo pueden llegar al 6 - 8%. Las concentraciones más altas se encuentran en las hojas nuevas, en los peciolo, y en el tallo. Los cultivos con alto rendimiento absorben entre 56 y 560 kg por hectárea de potasio. Sin embargo, la mayoría de las especies de plantas absorben más potasio del que necesitan y a este exceso se le suele denominar consumo de lujo.

- Deficiencia. Dado que el potasio es móvil en la planta, los síntomas de deficiencia aparecen primero en los tejidos viejos. Para la mayoría de los cultivos vegetales, los síntomas se manifiestan normalmente con un color verde claro, tirando a amarillo en los bordes y extremos de las hojas viejas que parece que estuvieran quemadas a lo largo de los bordes, por lo que este síntoma de deficiencia se conoce como quemadura (Ohki, 1987). Las plantas con deficiencia presentan enfermedades y la producción de la fibra, el fruto y la flor, su calidad y su duración se ven reducidas.
- Síntomas de toxicidad. Las plantas con un exceso de potasio se vuelven primero deficientes en magnesio y luego en calcio, debido a que se inducen desequilibrios de nutrientes que trastornan las relaciones normales K:Mg y K:Ca si estos dos elementos se encuentran en el extremo inferior de su rango de suficiencia.

1.4.5-Interacciones con otros elementos esenciales

- Nitrógeno. Los niveles de potasio y de nitrógeno están estrechamente relacionados en la mayoría de las plantas. Por lo general, el nitrógeno abundante aumenta la posibilidad de infectarse con enfermedades, mientras que el potasio aumenta la resistencia a la infección. El nitrógeno estimula un crecimiento rápido y suave, mientras que el potasio equilibra este efecto, promoviendo el crecimiento de tejidos más firmes. No son los únicos elementos que están presentes en concentraciones similares en las hojas de la mayoría de los cultivos, pero la respuesta a la aplicación de uno de ellos depende del nivel real del otro. La aplicación de potasio sin el suficiente nitrógeno conduce a la disminución del contenido del nitrógeno en las plantas jóvenes. La forma de nitrógeno tiene relación con la acumulación de potasio, así un incremento de nitrato tiende a resultar en la acumulación de potasio, mientras que el amonio tiende a rebajarla. Aumentando el calcio se tiende a anular los efectos negativos del aumento de nitrógeno en la absorción del potasio. El amonio tiene un mayor efecto depresivo sobre el potasio en las plantas cultivadas en el suelo que en las cultivadas en solución, debido a que interfiere con la difusión del potasio en la red de arcilla a la vez que compete con el potasio en la absorción. El potasio también influye en la absorción y/o utilización de las dos formas de nitrógeno. La absorción del nitrato está afectada por el potasio, un factor que se cree que es una de las funciones esenciales de este último. Para la mayoría de los cultivos, se pueden usar grandes cantidades de amonio sin causar toxicidad debido a la alta cantidad de potasio presente en el tejido, esto sugiere que existe una relación óptima de $\text{NH}_4:\text{K}$ para el crecimiento.

- **Calcio y magnesio.** La presencia simultánea de potasio, calcio y magnesio influye en la concentración individual de estos cationes dentro de la planta. El potasio parece ser el catión más activo de estos tres, teniendo un mayor efecto depresivo sobre el calcio y el magnesio del que tiene cualquiera de ellos sobre el potasio. El magnesio tiene un mayor efecto depresivo sobre el contenido de potasio en la planta que sobre el contenido de calcio y el calcio parece ser menos antagónico con el magnesio que con el potasio. Evidentemente, existe un antagonismo mutuo entre el potasio y el calcio, ya que raramente existen simultáneamente concentraciones elevadas de ambos elementos. Cuando la relación $K:(Ca+Mg)$ en el tejido de la planta tiende a ser constante, las variaciones están causadas por la procedencia del nitrógeno, la etapa de crecimiento, la adición de cal, y la deficiencia tanto de magnesio como de potasio. El uso de nitrato favorece la absorción del catión, aunque el nitrato de sodio puede disminuir la absorción de calcio. Si se añade cal, la cantidad total de cationes tiende a aumentar, posiblemente debido a la sustitución de cationes H^+ en el intercambio con la mayoría del calcio cuando la cal aplicada contiene mucho calcio, o cuando tanto magnesio como calcio aumentan cuando se aplica cal dolomítica como material de encalado. A pesar de la relación entre potasio y calcio+magnesio en el tejido de la planta, los valores críticos de estos elementos normalmente no se ven seriamente afectados a menos que la relación de uno de estos elementos con el otro sea muy grande.
- **Sodio.** Debido a que el potasio y el sodio son similares en cuanto a tamaño iónico y propiedades químicas, el sodio puede sustituir al potasio en la mayoría de sus papeles principales. Sin embargo, el potasio es un nutriente principal y el sodio no lo es. Por lo tanto, la aplicación de sodio puede reducir el efecto de la escasez de potasio, pero el resultado no son plantas saludables. El grado de esta sustitución depende de la especie de la planta y de la cantidad de potasio presente. Esta sustitución de sodio por potasio puede dificultar la interpretación del estado del potasio para algunas plantas.

1.5-Calcio (Ca)

1.5.1-Calcio en el suelo

- **Formas y dinámica.** El calcio está presente en varios minerales del suelo incluyendo los fosfatos, silicatos, sulfatos, y carbonatos. El desgaste de estos minerales proporciona iones Ca^{+2} . Estos iones divalentes deben de ser absorbidos sobre los coloides del suelo orgánicos e inorgánicos y a ello contribuyen la floculación de la arcilla, la agregación de partículas, y la

estructura del suelo (Black, 1968; Blaya y García, 2003). El calcio absorbido desde la superficie de los coloides del suelo y desde la solución del suelo está disponible para las plantas.

- Fertilizantes. Las principales fuentes de calcio son los materiales cálcicos como la calcita, la dolomita, la cal hidratada, y la cal precipitada. Aunque el calcio es conocido como base o catión básico, el incremento del pH del suelo después del encalado se debe a las reacciones en las que están implicados los carbonatos y el ácido carbónico, y no el calcio como tal (Western Plant Health Association, 2010). Otras fuentes de calcio como el yeso, el nitrato de calcio, y el cloruro de calcio tienen un efecto limitado en el pH del suelo.

1.5.2-La absorción del calcio y la asimilación por las plantas superiores

- Movimiento y absorción. El calcio se mueve por el suelo principalmente por difusión. Su absorción es pasiva y restringida a la punta de las raíces jóvenes, donde las paredes de las células de endodermo todavía no están suberizadas. La absorción del calcio se altera cuando las puntas de las raíces están dañadas por nematodos o alteradas químicamente por iones como el amonio, el sodio o el aluminio. La absorción se puede detener por absorción competitiva con el potasio o el amonio (Hewitt, 1963; Marschner, 2011). La presión del agua también puede paralizar la absorción del calcio debido a que se vean dañadas las puntas de las raíces.
- Translocación y asimilación. El calcio es translocado en el xilema fundamentalmente a través del vapor de transpiración. El movimiento en el xilema es facilitado por puntos de intercambio donde el Ca^{+2} es absorbido momentáneamente, y por quelación con ácidos orgánicos de la savia del xilema. Cuanto mayor sea la concentración de calcio en la misma, más rápido se mueve a través de la planta, preferentemente hacia el ápice del brote de las plantas en crecimiento. El calcio también es transportado en el floema pero en cantidades muy pequeñas, así, los niveles de calcio en los órganos de la planta previstos en gran medida a través del floema son bastante bajos, con movimientos de calcio limitados. Una humedad relativa alta puede reducir el movimiento del calcio al tejido meristemático, creando una deficiencia de calcio en los puntos de crecimiento del tejido de la planta.

1.5.3-La nutrición del calcio en las plantas superiores

La mayoría del calcio presente en las células está localizado en el apoplasto y en las vacuolas, mientras que la concentración en el citoplasma es baja. El principal papel estructural del calcio tiene lugar entre paredes celulares contiguas, donde se enlaza con los grupos carboxilo libres de las pectinas, por lo tanto, actúa como unión entre paredes celulares contiguas. También está involucrado en la elongación de las células en el brote y crecimiento de las puntas de las raíces. La aplicación de calcio a hojas senescentes reduce los efectos catabólicos de las citoquininas, por lo tanto la calidad poscosecha y la tasa de descomposición de las flores, el follaje, el fruto y el vegetal es dependiente del nivel de calcio (Epstein, 1972; Marschner, 2011). El calcio debe formar en las vacuolas cristales insolubles de oxalato, carbonato, sulfato o fosfato, regulando así el nivel de estos aniones por debajo de los niveles tóxicos.

1.5.4-Rango adecuado y desórdenes nutricionales

- Rango de suficiencia. El rango adecuado en hojas maduras se encuentra entre 0,5 y 1,5%. Aproximadamente el 0,08% del calcio se considera químicamente activo. Se necesitan elevados niveles de calcio para contrarrestar el efecto de otros iones y su efecto negativo sobre el metabolismo de las plantas.
- Deficiencia. La deficiencia de calcio está caracterizada por una reducción en el crecimiento de las extremidades y de las hojas jóvenes debido a que el calcio es inmóvil en la planta (Ohki, 1987). Las hojas con deficiencia son deformes y cloróticas y, en etapas posteriores se vuelven necróticas en los márgenes de la planta. La deficiencia temporal de calcio puede tener lugar cuando los niveles de calcio en el xilema son bajos debido a la reducida velocidad de transpiración en días húmedos, días nublados o cuando hay carencia de agua. La aplicación exógena de calcio se puede usar como medida preventiva, pero no para corregir síntomas existentes.
- Toxicidad. Los síntomas del exceso de calcio en los vegetales son poco comunes, pero aparecen mayormente como deficiencias inducidas por potasio o magnesio.

1.5.5-Interacciones con otros elementos esenciales

- Nitrógeno. El nitrato normalmente aumenta la absorción del calcio, posiblemente por la formación de quelatos de ácidos orgánicos de calcio que se liberan durante la captación de nitrato

- Cationes. La absorción del calcio está afectada en orden decreciente por la presencia de amonio, magnesio, potasio y sodio. La relación foliar considerada óptima para el crecimiento de las plantas de Ca:Mg es de 2:1 y la de K:Ca es 4:1.
- Fósforo. En condiciones ácidas, el fósforo favorece la absorción del calcio. La formación de fosfatos de calcio con baja solubilidad en suelos con $\text{pH} > 7,0$ reduce la disponibilidad del calcio.
- Micronutrientes. Los aumentos de pH como resultado de excesivos encalados resulta en una deficiencia inducida de hierro, manganeso, boro o zinc y la posterior clorosis.
- Aluminio. En los suelos con $\text{pH} < 5,0$ el calcio se puede enlazar con hidróxidos de aluminio y hierro. En la célula, la toxicidad del aluminio es debida a la competencia entre el calcio y el aluminio por los sitios de enlace en la proteína calmodulina. La absorción del calcio por las raíces es restringida debido a la competición con el aluminio por los sitios de enlace para la absorción de la raíz.
- Boro. El calcio y el boro tienen efectos sinérgicos en reducir la incidencia de los trastornos cerca de los puntos en crecimiento activo.

1.6-Magnesio (Mg)

1.6.1-Magnesio en el suelo

- Formas. El magnesio existe en el suelo en minerales primarios ferromagnéticos, en minerales secundarios arcillosos, y en sales inorgánicas como carbonatos, sulfatos o dolomita (Black, 1968; Blaya y García, 2003). Raramente se encuentra en la materia orgánica compleja y en los minerales primarios y secundarios no es intercambiable. El intercambiable, absorbido de la superficie de los coloides del suelo y el soluble de la solución del suelo, están disponibles para las plantas en el rango de pH desde 5,4 hasta 7,0.
- Dinámica. La sustitución isomorfa entre Fe^{+3} o Al^{+3} , y Mg^{+2} da como resultado la creación de cargas positivas en la superficie de los minerales arcillosos. Un pH bajo en el suelo favorece el desgaste de los minerales ferromagnéticos, dando como resultado la aparición de magnesio. El magnesio intercambiable representa aproximadamente el 5% del magnesio total en el suelo y sus niveles en suelos muy lixiviados o arenosos son generalmente bajos.

- Fertilizantes. El magnesio se encuentra principalmente en materiales de encalado como la cal dolomítica. El aumento del pH en el suelo inducido por estos materiales de encalado, proviene de las reacciones en las que están involucrados los carbonatos y el ácido carbónico, no el magnesio como tal. El tamaño de las partículas de los materiales de encalado que contienen magnesio afecta a la disponibilidad del mismo, ya que estos materiales tienen una solubilidad relativamente baja (Western Plant Health Association, 2010). Finalmente, la cal dolomítica triturada cambia el pH del suelo más deprisa que el material grueso. En sistemas de cultivo intensivos, el magnesio disponible para el segundo o tercer cultivo va a estar limitado. Esto es debido a su baja velocidad de liberación, y no al bajo nivel de magnesio. La baja liberación de magnesio de la cal dolomítica no es suficiente para soportar los sistemas de cultivo intensivo y requiere aplicaciones adicionales de fertilizantes de magnesio durante el ciclo de crecimiento. Es común la aplicación de magnesio como cloruro, nitrato o sulfato, lo que tiene un pequeño efecto sobre el pH del suelo.

1.6.2-La absorción del magnesio y la asimilación por las plantas superiores

- Movimiento y absorción. El magnesio se mueve por el suelo principalmente por difusión. Su absorción es pasiva, posiblemente mediada por los ionóforos, en los cuales el Mg^{+2} se mueve debido a un gradiente electroquímico (Hewitt, 1963; Marschner, 2011). La acción interferente de los ionóforos puede explicar el efecto de la competición de cationes (amonio, potasio, calcio y sodio) en la absorción de magnesio.
- Translocación y asimilación. El magnesio es móvil en el floema y puede ser transportado de las hojas viejas a las jóvenes o al ápice del brote. Ya que los tejidos de almacenamiento y las frutas dependen del floema para su abastecimiento de mineral, presentan valores más altos en potasio y magnesio que en calcio.

1.6.3-La nutrición del magnesio en las plantas superiores

- Constituyente de la clorofila. El magnesio se encuentra en el centro del anillo tetrapirrólico de la molécula de clorofila y constituye el 15-20% del magnesio total de las plantas. Otro 70% del total del magnesio está asociado con los aniones y los aniones orgánicos, malato y citrato.

- Funciones de cofactor. El magnesio es un cofactor de los enzimas quinasa que necesitan un catión divalente, como el Mg^{+2} o el Mn^{+2} , para activarse. Estos enzimas catalizan la transferencia de grupos fosforilo entre ATP y ADP (Epstein, 1972; Marschner, 2011). El magnesio es esencial para la actividad de dos enzimas fundamentales en la fijación de CO_2 , la carboxilasa fosfato ribulosa y la carboxilasa fosfoenolpiruvato, activando la carboxilasa fosfato ribulosa en las reacciones luminosas de la fotosíntesis en los cloroplastos.
- Funciones electrostáticas. Con sus dos cargas positivas, el magnesio también estabiliza la terminación de los grupos fosforilo en el ATP y el ADP mediante una débil interacción con las cargas negativas. El magnesio es el catión más importante en la neutralización de los aniones de la membrana tilacoide y también estabiliza los ribosomas en una configuración adecuada para la síntesis de proteínas.

1.6.4-Rango adecuado y desórdenes nutricionales

- Rango de suficiencia. El rango normal de concentración de magnesio en plantas es de 0,15% a 0,40%.
- Deficiencia. Dado que el magnesio es relativamente móvil en la planta, los síntomas de deficiencia aparecen primero en las hojas viejas y después en las jóvenes. La deficiencia se manifiesta por una coloración amarillenta intervetal en el filo de la hoja que progresa hacia el centro de la misma (Ohki, 1987). Por último, las hojas se vuelven rígidas y quebradizas con vetas retorcidas. La absorción del magnesio está muy influida por el pH y su disponibilidad se ve marcadamente disminuida cuando el pH del suelo es inferior a 5,5.
- Toxicidad. En las condiciones de campo, la toxicidad de magnesio raramente tiene lugar.

1.6.5-Interacciones con otros elementos esenciales

- Cationes. La absorción del magnesio se ve afectada por la presencia, en orden decreciente, de potasio, amonio, calcio y sodio. Las relaciones óptimas foliares para un crecimiento óptimo son Ca:Mg de 2:1 y K:Mg de 8:1.
- Manganeso. El manganeso paraliza la absorción del magnesio.

- Aluminio. En suelos ácidos, el aluminio compite con el magnesio en la absorción por los sitios de unión de la raíz.

1.7-Cobre (Cu)

1.7.1-Cobre en el suelo

- Formas y dinámica. La mayor parte del cobre en el suelo es insoluble y también inmóvil debido a que está fuertemente unido al suelo (Arnon Y Stout, 1939; Blaya y García, 2003). El encalado y el aumento del pH generalmente disminuyen la disponibilidad de cobre, posiblemente porque se fortalece la absorción de Cu^+ , Cu^{+2} o de $\text{Cu}(\text{OH})^+$. El cobre disponible en los suelos es muy probable que se presente como Cu^{+2} absorbido que puede enlazar directamente con los grupos carboxilo, carbonilo o fenólicos de la materia orgánica del suelo. Se encuentra Cu^{+2} soluble en la solución del suelo y también como quelato de cobre.
- Fertilizantes del suelo. Los materiales utilizados para la aplicación de cobre foliar y en el suelo incluye sulfato de cobre, sulfatos básicos de cobre, carbonatos de cobre, óxidos de cobre y quelatos de cobre (Western Plant Health Association, 2010). En el caso de suelos, se utiliza $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en una aplicación de 1 a 10 kg de cobre por hectárea cada pocos años.
- Fertilizantes de las hojas. Para la aplicación foliar de CuSO_4 o quelatos de cobre, se usan normalmente proporciones de 0,3 a 1 kg de cobre por hectárea.

1.7.2-La absorción del cobre y la asimilación por las plantas superiores

- Absorción. La absorción de cobre es activa y controlada metabólicamente. Pese a que las raíces tienen la habilidad de absorber Cu^{+2} también se puede absorber cobre quelatado.
- Translocación y asimilación. El cobre se mueve en el xilema complejoado con compuestos solubles de nitrógeno, tales como los aminoácidos (Hewitt, 1963; Marschner, 2011). Aproximadamente la mitad del cobre activo en la planta se encuentra en el cloroplasto y la concentración de cobre en los brotes es mayor cuando las plantas son jóvenes y disminuye a medida que maduran.

1.7.3-La nutrición del cobre en las plantas superiores

El cobre es un componente de varios complejos enzimáticos que influyen en el metabolismo de los carbohidratos y el nitrógeno de las plantas. La plastocianina es un enzima involucrado en la cadena de transporte de electrones del Fotosistema I y más de la mitad del cobre foliar está asociado con ella (Epstein, 1972; Marschner, 2011). Otros enzimas que contienen cobre están involucrados en reacciones de oxidación, reduciendo O_2 a H_2O o H_2O_2 . En el cloroplasto, los tres isoenzimas de superóxido dismutasa protegen las plantas del daño del superóxido (O_2^-) por la reducción del H_2O_2 .

1.7.4-Rango adecuado y desordenes nutricionales

- Rango de suficiencia. El rango de cobre que contienen la mayoría de las plantas está entre 2 y 20 mg/kg. El rango de suficiencia en hojas va de 3 a 5 mg/kg. Cuando se utilizan fungicidas de cobre, se pueden dar niveles por encima de 200 mg/kg.
- Deficiencia. Dado que el cobre es inmóvil en la planta, los órganos jóvenes son las primeras partes de la planta en mostrar los síntomas de deficiencia. Los efectos consisten en un crecimiento reducido o en un mal desarrollo con deformación de las hojas jóvenes y de los puntos de crecimiento, así como en la necrosis del sistema apical (Kabata-Pendias, 2010; Ohki, 1987). Las hojas jóvenes pueden tener puntas blancas o blanqueadas. La deficiencia de cobre aumenta la frecuencia de absorción, especialmente cuando ocurre un crecimiento simultáneo como respuesta a una fertilización con nitrógeno.
- Toxicidad. El exceso de cobre puede inducir deficiencias de hierro. El crecimiento de las raíces puede ser deforme, con pequeñas formaciones laterales en la raíz, posiblemente debidos al daño de la membrana causado por el exceso de cobre. El pH bajo en el subsuelo puede restringir el crecimiento de la raíz.

1.7.5-Interacciones con otros elementos esenciales

- Nitrógeno. Los elevados niveles de nitrógeno aumentan la demanda de cobre en la planta, ya que este se une con los aminoácidos. El aumento de necesidad de cobre está también relacionado con el efecto de dilución causado por el crecimiento de la planta.

- Zinc. El cobre inhibe significativamente la absorción de zinc, y viceversa. Se cree que el zinc interfiere con el cobre en el sitio de absorción.
- Manganeso. El cobre puede estimular la absorción de manganeso.
- Molibdeno. El cobre interfiere con el papel del molibdeno en la reducción enzimática del nitrato. Se ha encontrado un antagonismo mutuo entre el cobre y el molibdeno en algunas plantas: cuando un elemento está en exceso, la aplicación del otro elemento alivia los síntomas negativos.
- Aluminio. Se ha observado que el aluminio tiene efectos adversos sobre la absorción del cobre.

1.8-Manganeso (Mn)

1.8.1-Manganeso en el suelo

- Formas y dinámica. El desgaste de los minerales primarios ferromagnéticos que contienen manganeso forman minerales secundarios como la pirolusita (MnO_2) y la manganita [$\text{MnO}(\text{OH})$]. También se encuentra en los suelos como óxidos de hierro y manganeso, en parte adsorbidos en la superficie de minerales arcillosos. En condiciones anaeróbicas y ácidas se favorece la liberación de Mn^{+2} en la solución del suelo que es la fracción de manganeso más importante para la nutrición de las plantas. A pH ligeramente ácido aumenta el Mn^{+3} , mientras que a pH en torno a 8 se encuentra Mn^{+4} . La disponibilidad de manganeso depende también del contenido en materia orgánica y de la actividad microbótica (Black, 1968; Blaya y García, 2003). La disponibilidad se ve significativamente afectada por el pH del suelo (aumentando a medida que disminuye el pH), por la temperatura del suelo, el contenido en materia orgánica, y la forma y el método de fertilización. El manganeso como Mn^{+2} es filtrado fácilmente desde el suelo a la planta.
- Fertilizantes. Las fuentes comunes son sulfato de manganeso y cloruro de manganeso. El manganeso también se encuentra disponible en una forma quelato con AEDT.

1.8.2-La absorción del manganeso y la asimilación por las plantas superiores

- Absorción. Al igual que con los otros cationes esenciales divalentes, calcio y magnesio, la absorción del manganeso es competitiva y mediada metabólicamente.
- Translocación y asimilación. Los niveles de manganeso en la raíz normalmente son bajos y es translocado principalmente en el xilema como Mn^{+2} , o combinado débilmente con ácidos orgánicos. El manganeso es relativamente inmóvil en la planta.

1.8.3-La nutrición del manganeso en las plantas superiores

Los cambios entre Mn^{+2} y Mn^{+3} permiten que el manganeso esté involucrado en procesos de oxidación, y sirve como cofactor para las enzimas nitrito reductasa, hidroxilamina reductasa, RNA polimerasa y fosfotransferasa (Epstein, 1972; Hewitt, 1963; Marschner, 2011). También, es un elemento de la enzima superóxido dismutasa que neutraliza los radicales libres formados por la ruptura del agua durante la reacción de Hill en la fotosíntesis. Del mismo modo, el manganeso y el enzima superóxido dismutasa pueden estar involucrados en controlar la cantidad de superóxidos y radicales libres que se generan por el ozono y los contaminantes atmosféricos.

1.8.4-Rango adecuado y desordenes nutricionales

- Rango de suficiencia. El rango del nivel foliar de manganeso se encuentra entre 10 y 200 mg/kg, pero el rango de suficiencia se encuentra entre 10 y 50 mg/kg.
- Deficiencia. Los síntomas de la deficiencia de manganeso varían según la especie vegetal, con frecuencia se parecen a los síntomas del hierro y el zinc y en general consisten en clorosis entre las vetas de las hojas viejas (Kabata-Pendias, 2010; Ohki, 1987).
- Toxicidad. La toxicidad del manganeso ocurre con frecuencia en suelos ácidos ($pH < 5,4$), pero la tolerancia a la toxicidad del manganeso depende de las especies y del cultivo. La toxicidad del manganeso aparece como un borde amarillo en las hojas jóvenes con un área central verde. Pueden aparecer puntos de necrosis en varias partes de la hoja.

1.8.5-Interacción con otros elementos esenciales

- Nitrógeno. Las plantas alimentadas con nitrato absorben mayores cantidades de manganeso que las plantas alimentadas con amonio. Sin embargo, una alta fertilización con amonio puede aumentar la absorción de manganeso debido a la acidificación de la rizosfera y aumentar así el manganeso disponible para la absorción.
- Fósforo. El fósforo aumenta la absorción del manganeso.
- Magnesio. El magnesio disminuye la absorción de manganeso debido a la competencia.
- Cal. Aumentar el pH disminuye la solubilidad y la absorción del manganeso lo que puede crear deficiencia, mientras que en un suelo ácido se puede originar toxicidad.
- Hierro. El antagonismo del hierro y el manganeso incluye la competencia por la absorción, la interferencia en la translocación, y la posible interferencia en el sitio funcional de la planta.

1.9-Zinc (Zn)

1.9.1-Zinc en el suelo

- Formas. El principal mineral primario que contiene zinc es el mineral sulfurado, blenda o esfalerita. En algunos silicatos el zinc sustituye a Fe^{+2} y a Mg^{+2} y está presente en la augita, en la biotita y en la hornblenda.
- Dinámica. El zinc se puede absorber sobre los minerales primarios desgastados, en la superficie de las partículas de arcilla, enlazando con la materia orgánica, formando complejos de óxido hidratado o permaneciendo en la solución del suelo (Black, 1968; Blaya y García, 2003).
- Fertilizantes. Las principales fuentes son sulfato de zinc aplicado en proporción de entre 50 y 100 kg de $ZnSO_4$ por hectárea. Es preferible aplicar bandas fertilizantes de zinc en vez de difusión radial ya que el zinc no se mueve en el suelo. Otras fuentes incluyen nitrato de amonio y zinc, nitrato de zinc y quelatos de zinc. El abono con gallinaza y estiércol animal también proporciona cantidades importantes pero variables de zinc.

1.9.2-La absorción del zinc y la asimilación por las plantas superiores

- Movimiento y absorción. La disponibilidad de zinc para la planta está relacionada con su movilidad, moviéndose por difusión hasta un 95% del zinc presente en el suelo. Los factores que limitan la difusión del zinc a las raíces de la planta también reducen su disponibilidad. Esta es probablemente la razón más importante de que la deficiencia de zinc tenga lugar con frecuencia en suelos compactados o donde el crecimiento de la raíz está limitado (Hewitt, 1963; Marschner, 2011). El zinc es absorbido principalmente como catión Zn^{+2} , aunque el $(ZnCl)^+$ y los quelatos de zinc también pueden ser absorbidos. La absorción de Zn^{+2} es activa y está controlada metabólicamente.
- Translocación y asimilación. El zinc está presente en la savia del xilema como un ion y no aparece formando complejos. Se puede mover en el xilema mediante intercambios lentos y estables de uniones sucesivas a ligandos como se observa con Cu^{+2} y Fe^{+3} .

1.9.3-La nutrición del zinc en las plantas superiores

El papel del zinc es similar al del Mn^{+2} y el Mg^{+2} y está involucrado en la unión entre enzima y sustrato en varios sistemas enzimáticos (Epstein, 1972; Marschner, 2011). Algunos de los procesos en los que está involucrado: (1) promueve las reacciones de hidrólisis e hidratación que tienen lugar en los grupos carbonilo (reaccionan CO_2 y H_2O para formar H_2CO_3) protegiendo las proteínas de la desnaturalización resultante de los cambios locales de pH; (2) conversión del radical superóxido (O_2^-) en peróxido de hidrógeno para proteger el organismo anaeróbico del daño causado por el O_2^- ; (3) síntesis de RNA. Algunos de los enzimas activados con Zn^{+2} también pueden ser activados con Mg^{+2} , Mn^{+2} , Cu^{+2} o Ca^{+2} . El zinc puede estar también involucrado en la formación de almidón.

1.9.4-Rango adecuado y desordenes nutricionales

- Rango de suficiencia. El rango de suficiencia para el zinc en las hojas se encuentra entre 15 y 50 mg/kg. Aunque está presente en toda la planta, es retenido preferentemente por el sistema radicular.
- Deficiencia. Los síntomas de deficiencia de zinc son la clorosis en las áreas intervetales de la hoja volviéndose esas áreas de un color verde claro, amarillo o incluso blanco (Kabata-Pendias, 2010; Ohki, 1987). Al contrario de otros nutrientes, la deficiencia de zinc está más relacionada con las especies. En

muchos casos, la deficiencia está caracterizada por pequeños entrenudos y áreas cloróticas en hojas viejas.

- Toxicidad. A niveles sobre 200 mg/kg, la toxicidad del zinc resulta en una reducción del crecimiento de la raíz y de la expansión de la hoja, seguido de clorosis. Los niveles de zinc altos en el suelo pueden inducir también deficiencia de hierro, manganeso o fósforo.

1.9.5-Interacciones con otros elementos esenciales

- Fósforo. El exceso de fósforo interfiere con la absorción de zinc al igual que en la translocación y en el metabolismo.
- Hierro. El exceso de zinc impide la absorción de hierro y puede resultar en el desarrollo de síntomas de deficiencia de hierro.

Capítulo 2

Objetivos

2. OBJETIVOS

El objetivo general de este Trabajo Fin de Grado coincide con el pretendido por la empresa AIMCRA, que es la mejora de los cultivos de remolacha azucarera en base a los contenidos en micronutrientes y macronutrientes.

Los objetivos específicos son:

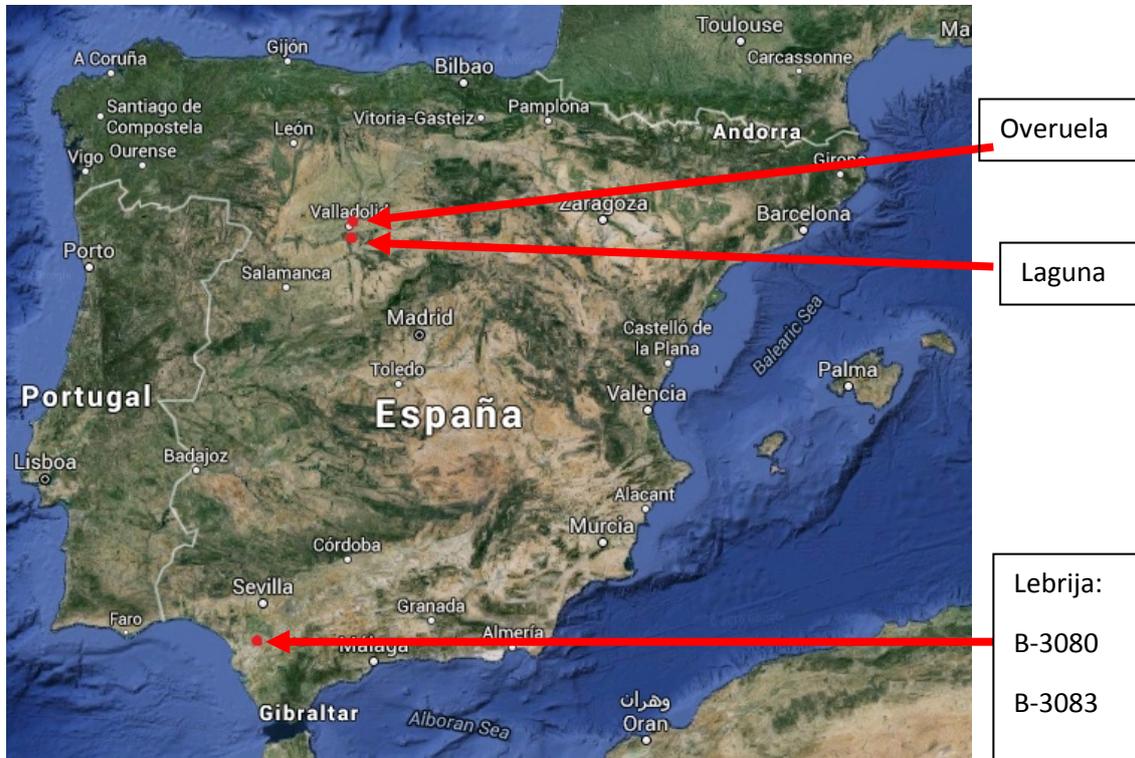
- Determinar el contenido total de los elementos mayoritariamente presentes en la remolacha azucarera (macronutrientes), como son, el Nitrógeno (N), el Fósforo (P), el Potasio (K), el Calcio (Ca) y el Magnesio (Mg).
- Determinar el contenido de alguno de los elementos minoritariamente presentes en la remolacha azucarera (micronutrientes), en este caso, el Manganeso (Mn), el Cobre (Cu) y el Zinc (Zn).
- Observar la evolución temporal durante el tiempo de cultivo tanto de los elementos mayoritarios como de los elementos minoritarios.
- Observar la diferencia según la zona y la parcela de siembra, habiendo dos zonas y, dentro de cada zona dos parcelas.
- Observar las diferencias de los valores obtenidos en las diferentes partes de la planta.
- Comparar la absorción de los macronutrientes por la planta entre las dos zonas geográficas estudiadas.

Capítulo 3

Materiales y métodos

3.1-Toma de muestra

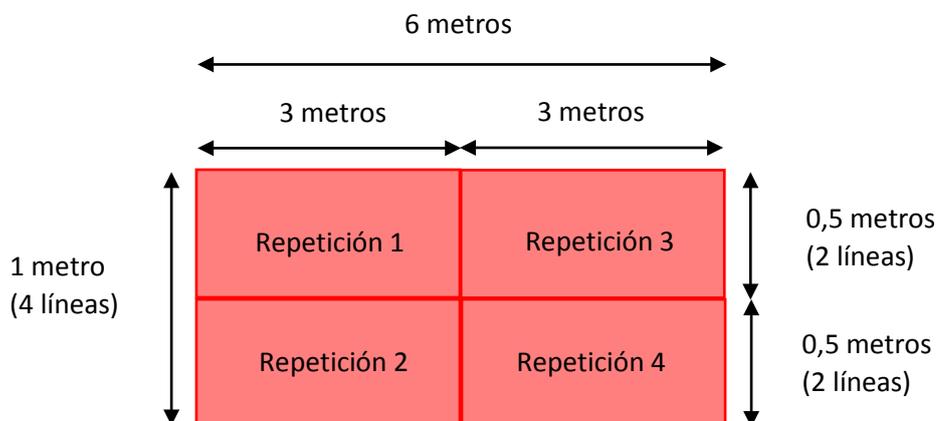
Las muestras utilizadas en este estudio provienen de cuatro ensayos de cultivo de remolacha azucarera diferentes, dos en el sur y dos en el norte de España.



La toma de muestra se realiza en todos los ensayos de la misma forma, aunque en tiempos diferentes. En el sur de España, la siembra de la remolacha azucarera se realiza en octubre-diciembre y la cosecha se realiza en junio-julio; mientras que en el norte, la siembra se realiza en marzo-abril y la cosecha en octubre-diciembre. Durante el periodo de cultivo se realizaron varios muestreos, en los 3 primeros meses se toman muestras cada 15 días y, en los 3 meses siguientes, cada mes. Las muestras se recogen de zonas de la parcela que tengan las mismas propiedades (riego, la luz, etc.) y en cada muestreo se toman 4 réplicas o repeticiones, según se muestra en el siguiente esquema:

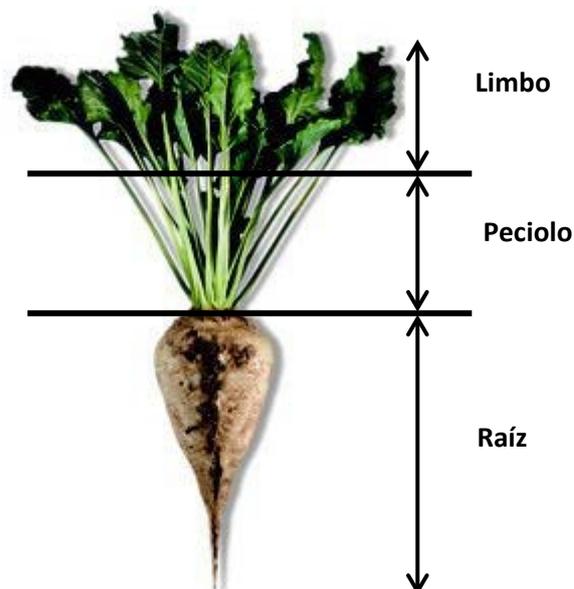


Las cuatro réplicas o repeticiones, proceden de rectángulos contiguos de 3 metros de largo y conteniendo cada uno dos líneas de siembra a lo ancho (0,5 metros):



3.2-Tratamiento de la muestra cuando llega al laboratorio

Lo primero que se hace es separarla en las diferentes partes que tiene la planta ya que cada una se analiza por separado. Las partes de una planta de remolacha azucarera son raíz, peciolo y limbo, aunque en los primeros muestreos las dos últimas se analizaron conjuntamente bajo el nombre de 'hojas tiernas'. En la siguiente imagen podemos observar las diferentes partes de una planta de remolacha azucarera:



Una vez separadas las partes, se realiza un primer lavado con DERQUIM, un detergente sin fosfatos, en una dilución del 5-10%. A continuación, se realizan varios lavados con agua destilada para eliminar todo el barro y la suciedad con la que las plantas llegan al laboratorio. Por último, se trocean las diferentes partes con una guillotina.

3.3-Materia seca

Para calcular el tanto por ciento de humedad de las diferentes partes de la remolacha azucarera, se pesan entre 6-7 gramos de muestra en una balanza de precisión Mettler PM 400 (Figura 1) y se introduce en una estufa de aire forzado Selecta Theroven (Figura 2) a 105 °C durante 24-48 horas.



Figura 1. Balanza de precisión Mettler PM 400.



Figura 2. Estufa de aire forzado Selecta Theroven.

Transcurrido este tiempo y cuando se ha eliminado todo el agua de la muestra, se vuelve a pesar, obteniendo la materia seca y el tanto por ciento de humedad de la muestra.

3.4-Preparación de la muestra para los análisis

El resto de muestra troceada se introduce en una estufa armario de secado con aire forzado Selecta DRY-BYG 720L 2003741 (Figura 3) a 65 °C durante 4-8 días para eliminar todo el agua de la muestra sin que ésta se degrade (IT08-PC09, 2015).



Figura 3. Estufa armario de secado con aire forzado Selecta DRY-BYG 720L 2003741.

Cuando la muestra ya está seca, se tritura con el molinillo y se tamiza con un tamiz de 0,75 mm obteniendo así una muestra seca, finamente dividida y homogénea.

Posteriormente, se mineraliza la muestra siguiendo los siguientes pasos:

1. Se pesan 0,5 gramos de muestra en unos crisoles cerámicos utilizando una balanza de precisión Mettler PM 400 (Figura 1), y se introducen en una mufla Selecta 367 PE (Figura 4) manteniéndolos a 500 °C durante 4-6 horas.



Figura 4. Mufla Selecta 367 PE.

2. Transcurrido ese tiempo, se deja enfriar la mufla y se abre la puerta para conseguir que los crisoles alcancen la temperatura ambiente.
3. Una vez fríos, se sacan los crisoles y se les añade 3 ml agua y 10 ml de ácido clorhídrico (HCl) 2 M.
4. Los crisoles se colocan en una placa calefactora y se retiran cuando se vean vapores.
5. Se filtra la muestra para obtener el extracto, enrasando la disolución a 50 ml.

Esta disolución se mantiene refrigerada para evitar la degradación de la muestra.

Los parámetros que se van a determinar con esta disolución son fósforo, potasio, calcio, magnesio, manganeso, cobre y zinc. El nitrógeno se determina directamente a partir del polvo vegetal.

3.5-Análisis de componentes mayoritarios (macronutrientes)

Los macronutrientes son aquellos elementos que aparecen en mayor concentración en la planta y, por lo tanto, son esenciales para su crecimiento y su desarrollo.

3.5.1-Fósforo (P)

La determinación cuantitativa del contenido total de fósforo se lleva a cabo en un espectrómetro de UV-Vis Shimadzu UV-1201 V (Figura 5).



Figura 5. Espectrómetro de UV-Vis Shimadzu UV-1201 V

Un espectrómetro de UV-Vis consta de cinco componentes básicos (Skoog, 2001), los cuales se exponen a continuación (Figura 6).

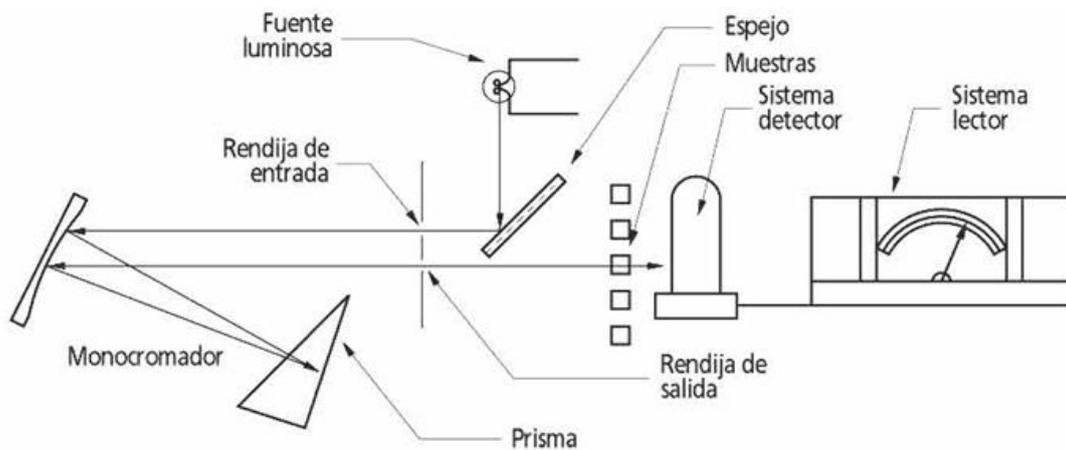


Figura 6. Diagrama de los componentes básicos de un espectrómetro de UV-Vis.

1. Fuente de energía radiante. Una fuente ha de cumplir los siguientes requisitos:

- Generar un haz con suficiente potencia o intensidad para su fácil detección.
- Proporcionar radiación continua en una amplia zona del espectro donde va a utilizarse.
- Ser estable, es decir, mantener constante la intensidad o potencia del haz radiante, el tiempo necesario para efectuar la medida.
- La intensidad no debe variar apreciablemente con la longitud de onda.

Las fuentes de radiación que emiten en UV-Vis pueden ser térmicas o de descarga. En este caso la lámpara utilizada es una lámpara de Wolframio (W) que está dentro del grupo de las lámparas térmicas (Figura 7).

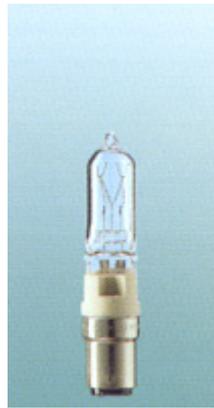


Figura 7. Lámpara de wolframio (W).

Esta lámpara consta de un filamento de wolframio encerrado en una ampolla de vidrio en la que se ha hecho el vacío y trabaja a una temperatura de 2870 °K.

2. Selector de longitudes de onda. Se utilizan para seleccionar una banda estrecha de longitudes de onda (monocromática), para el cumplimiento de la Ley de Beer. Los dispositivos utilizados son filtros y monocromadores.

En este caso se utiliza un monocromador que es un dispositivo que produce un haz de radiación de gran pureza espectral y, además, permite ir variando la longitud de onda de trabajo. El monocromador consta de cinco partes que se exponen a continuación (Figura 8).

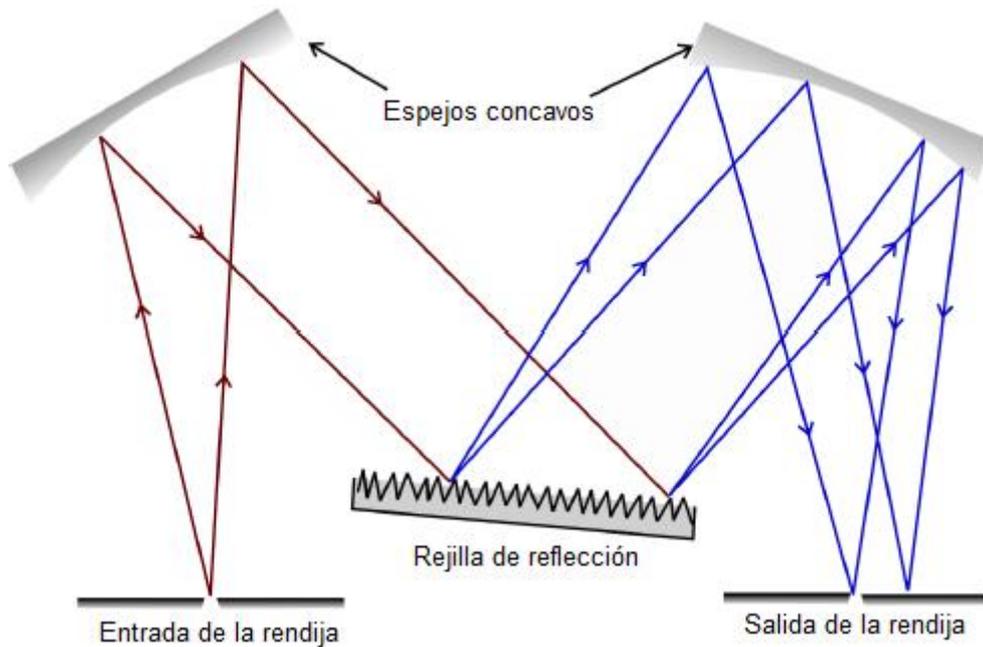


Figura 8. Diagrama de las partes que de las que consta un monocromador de red.

- Rendija de entrada que permite el paso de la luz policromática de la fuente.
 - Lente o espejo colimador que produce un haz paralelo de radiación.
 - Elemento dispersante, puede ser un prisma o una red, que dispersa la radiación en sus longitudes de onda individuales. En este caso, el elemento dispersante utilizado es una rejilla holográfica cóncava.
 - Lente o espejo de enfoque que forma otra vez la imagen de la rendija y la enfoca a una superficie plana, el plano focal.
 - Rendija de salida que se encuentra en el plano focal y aísla la banda espectral de radiación a una determinada longitud de onda.
3. Recipiente para contener la muestra (cubeta). El recipiente que contiene la muestra, como el resto de los elementos ópticos del equipo, tiene que permitir el paso de la radiación de interés. Por lo tanto, en el UV serán de cuarzo o de sílice, mientras que en el visible pueden ser de vidrio o de plástico.

En este caso trabajamos a una longitud de onda de 466 nm, por lo que, la radiación es del visible y la cubeta es de vidrio o de plástico. Las cubetas suelen ser prismáticas de base cuadrada, de 1 cm de ancho o camino óptico (Figura 9).



Figura 9. Cubeta de vidrio.

4. Detector para medir la energía transmitida. Los detectores son dispositivos que permiten medir la energía radiante transmitida a través de la muestra. Todos son fotoeléctricos y han de cumplir los siguientes requisitos:

- Respuesta a la energía radiante.
- Elevada sensibilidad, es decir, repuesta a bajos niveles de energía radiante.
- Bajo tiempo de respuesta o respuesta instantánea.
- Capacidad de amplificación de la señal de salida.
- Estabilidad, respuesta constante.
- Poca influencia de la longitud de onda en la respuesta.
- Linealidad de la respuesta con la intensidad o potencia.

Hay distintos tipos de detectores, en este caso se utilizan un fotodiodo de silicio. Estos detectores están constituidos por diodos colocados en línea.

Los diodos tienen dos partes; una está compuesta por silicio (Si) y aluminio (Al) y se denomina Si(p), como el aluminio es un elemento con menos electrones que el Silicio, hay deficiencia de electrones y, por lo tanto, hay huecos que se comportan como cargas positivas; la otra está compuesta por silicio (Si) y fósforo (P) y se denomina Si(n), como el fósforo es un elemento con más electrones que el Silicio, hay exceso de electrones y, por lo tanto, hay cargas negativas. Se establece una diferencia de potencial con polarización inversa (Figura 10):

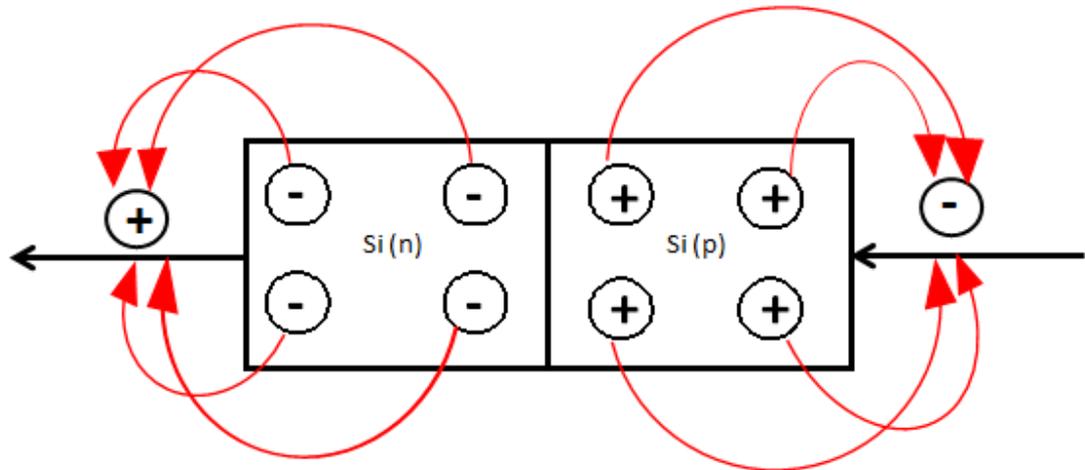


Figura 10. Funcionamiento del fotodiodo de silicio.

Las cargas positivas van hacia el extremo negativo y las cargas negativas van hacia el extremo positivo (flechas rojas). La zona central queda des poblada de cargas y no se conduce la corriente, es decir, se forma una capa de depleción.

Cuando la radiación incide sobre el circuito, se crean pares hueco-electrón que originan una corriente proporcional a la potencia radiante.

5. Indicador de señal o dispositivo de lectura. Un dispositivo de lectura es un transductor que convierte una señal procesada en una señal que puede ser entendida por un observador humano.

3.5.1.1-Condiciónes de medida

Para determinar cuantitativamente la cantidad de fósforo (P), se prepara una solución a partes iguales de vanadato de amonio, molibdato amónico y ácido nítrico (HNO_3) para dar color a la muestra (IT16-PC09, 2015). A continuación se pipetea 1 ml de muestra en un tubo de ensayo y se añaden 4 ml de la solución nitro-vanadato-molibdato, se agita y se deja reposar durante una hora. Transcurrido este tiempo, se mide la absorbancia de la muestra a 466 nm obteniendo así la concentración total de fósforo.

Para determinar la concentración total de fósforo (P), es necesario recurrir a la ley de Lambert-Beer, que establece una relación lineal entre la absorbancia de luz monocromática y la concentración de un cromóforo en solución, tal como aparece en la siguiente expresión:

$$A = \log \frac{P}{P_0} = \varepsilon \cdot c \cdot l$$

Donde A es la absorbancia que es adimensional, P es la intensidad de salida (Vatios), P_0 es la intensidad de entrada (Vatios), ϵ es el coeficiente de extinción molar ($\text{mol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$), c la concentración (mol l^{-1}) y l es la longitud de trayectoria de la muestra, es decir, la longitud de la cubeta en la que se introduce la muestra y se expresa en cm.

La Tabla 2 y la Figura 11 muestran una de las líneas de calibrado a modo de ejemplo:

Concentración (mg/L)	Absorbancia
20	0,078
40	0,191
60	0,238
100	0,394
200	0,779

Tabla 2. Calibración del espectrómetro UV-Vis.

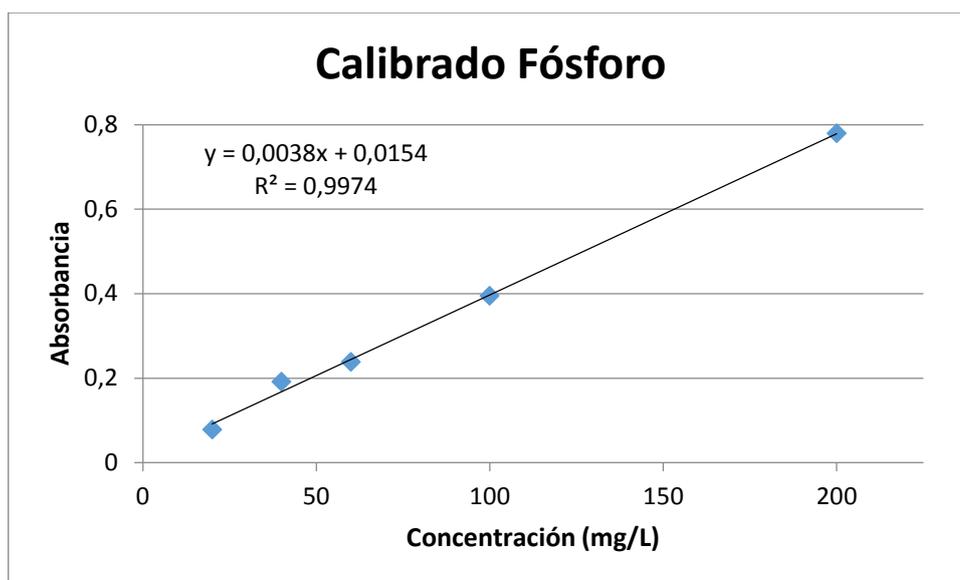


Figura 11. Línea de calibrado del espectrómetro UV-Vis.

3.5.2-Potasio (K), Calcio (Ca) y Magnesio (Mg)

La determinación cuantitativa del contenido total de los cationes (potasio, calcio, magnesio) se lleva a cabo en un espectrofotómetro de absorción atómica ANALYTIKJENA AAS novAA 300 bu (Figura 12). El calcio (Ca) y el magnesio (Mg) se analizan mediante espectrometría de absorción mientras que el potasio (K) se analiza mediante espectrometría de emisión.



Figura 12. Espectrofotómetro de absorción atómica ANALYTIKJENA AAS novAA 300 bu.

Un espectrofotómetro de absorción atómica de un solo haz consta de cuatro componentes básicos mientras que un espectrofotómetro de emisión atómica de un solo haz consta de tres componentes básicos (Skoog, 2001). La diferencia entre ambos es que el espectrofotómetro de absorción atómica no tiene fuente de radiación mientras que el espectrofotómetro de absorción atómica sí que la tiene. Estos elementos básicos se exponen a continuación (Figura 13):

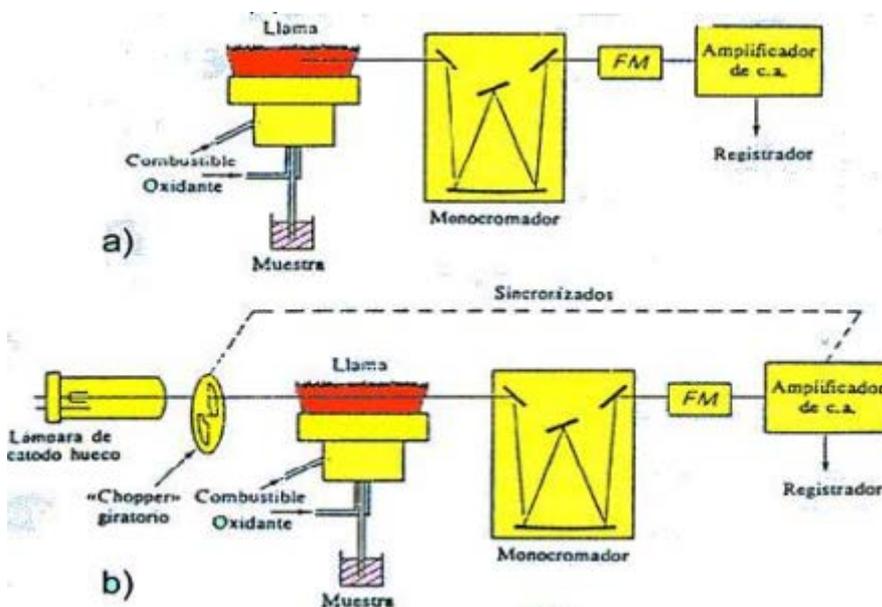


Figura 13. a)Esquema de los componentes básicos de un espectrofotómetro de emisión atómica. b)Esquema de los componentes básicos de un espectrofotómetro de absorción atómica.

1. Fuente de radiación. Los métodos basados en absorción atómica son potencialmente muy específicos, ya que las líneas de absorción atómica son considerablemente estrechas y las energías de transición electrónica son únicas para cada elemento. Las fuentes de radiación en absorción atómica pueden ser lámparas de cátodo hueco o lámparas de descarga sin electrodos. En este caso se utilizan lámparas de cátodo hueco (Figura 14).

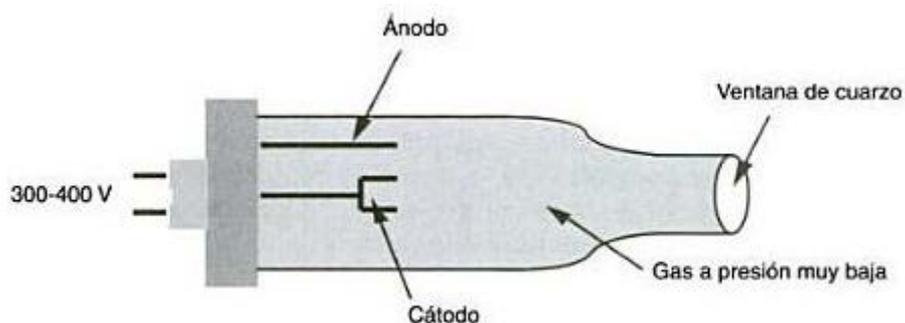


Figura 14. Lámpara de cátodo hueco.

Las lámparas de cátodo hueco consisten en un ánodo de wolframio y un cátodo cilíndrico compuesto por el material que se quiere determinar, cerrados herméticamente en un tubo de vidrio relleno con argón o neón a una presión de 1 a 5 torr.

Cuando se aplica un potencial del orden de 300 V entre los electrodos se produce la ionización del gas inerte, lo que da lugar a una corriente de aproximadamente 5 a 15 mA al tiempo que los iones y los electrones migran hacia los electrodos. Si el potencial es lo suficientemente grande, los cationes gaseosos adquieren la suficiente energía cinética como para arrancar alguno de los átomos metálicos de la superficie del cátodo y producir una nube atómica. Una parte de los átomos metálicos desprendidos se encuentran en estado excitado y, de este modo, al volver al estado fundamental emiten su radiación característica. Al final, los átomos metálicos se vuelven a depositar difundiendo de nuevo hacia la superficie del cátodo o hacia las paredes de vidrio del tubo.

La configuración cilíndrica del cátodo tiende a concentrar la radiación en una región limitada del tubo metálico. Este diseño aumenta también la probabilidad de que la redeposición sea en el cátodo más que sobre las paredes del vidrio.

2. Quemador y aspirador de la muestra. El nebulizador y el sistema atomizador suelen estar integrados en uno, especialmente en los equipos de absorción atómica. En este sistema, la disolución de la muestra (o parte de ella) es inicialmente aspirada y dirigida como una fina niebla hacia la llama (atomizador), lugar donde se forman los átomos en estado fundamental.

En espectroscopia atómica las disoluciones se introducen generalmente en el atomizador por nebulización neumática, nebulización ultrasónica o vaporización electrotérmica. Dos de estos métodos incluyen la nebulización, en la que la muestra se convierte en una niebla en pequeñas gotitas finamente divididas por medio de un chorro de gas comprimido. El flujo de gas conduce a la muestra a la zona en la que tiene lugar la atomización.

En este caso el aparato utilizado tiene un nebulizador neumático. Dentro de estos, hay varios tipos (Figura 15), de tubo concéntrico, de flujo cruzado, de disco fritado y Babington. El utilizado en este caso es el Babington, que consiste en una esfera hueca en la que el gas a elevada presión se bombea a través de un pequeño orificio en la superficie de la esfera. El líquido, que cae formando una delgada película sobre la superficie de la esfera, se nebuliza al expandirse el chorro de gas. Este tipo de nebulizador está menos expuesto a sufrir obstrucciones y, por ello, es de mayor utilidad en el caso de muestras con un contenido salino elevado o de suspensiones con un nivel de partículas alto.

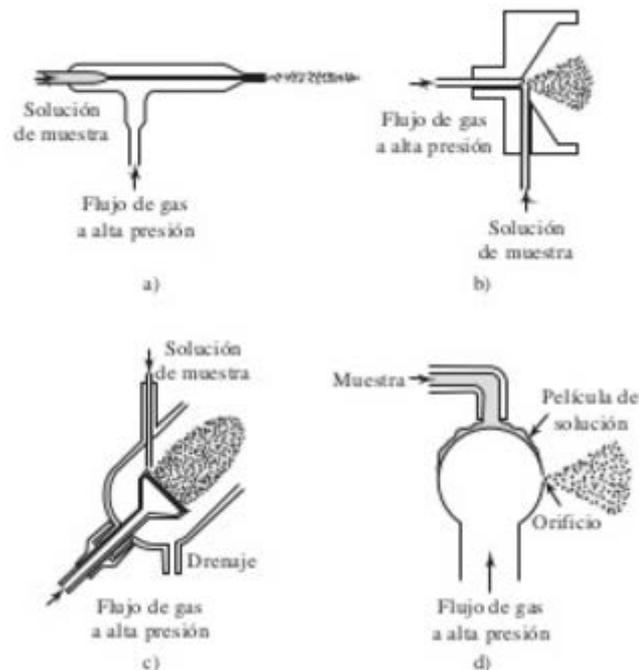


Figura 15. Tipos de nebulizadores neumáticos: a) de tubo concéntrico, b) de flujo cruzado, c) de disco fritado, d) de Babington.

En cuanto al atomizador, puede haber atomización con llama o atomización electrotérmica. Este espectrofotómetro de absorción atómica la atomización se realiza mediante una llama. En un atomizador de llama, la disolución de la muestra es nebulizada mediante un flujo de gas oxidante, mezclado con el gas combustible, y se transporta a una llama donde se produce la atomización. En

la llama tienen lugar una serie de procesos encadenados. El primero es la desolvatación, en el que se evapora el disolvente hasta producir un aerosol molecular sólido finamente dividido. Luego la disociación de la mayoría de estas moléculas produce un gas atómico. La mayoría de los átomos así formados se ionizan originando cationes y electrones. La atomización es la etapa más crítica en la espectroscopia de llama y la que limita la precisión de dichos métodos. En este caso el combustible utilizado es acetileno y el oxidante es aire, alcanzando unas temperaturas de 2100-2400°C.

Las regiones más importantes de la llama (Figura 16) son la zona de combustión primaria, la región interconal y la zona de combustión secundaria. En la zona de combustión primaria rara vez se alcanza el equilibrio y, por tanto, no se utiliza en la espectrometría de llama. La región interconal es una zona frecuentemente rica en átomos libres y es la parte de la llama más ampliamente utilizada en espectroscopía. En la zona de combustión secundaria, los productos formados en la región interior se convierten en óxidos moleculares estables que se dispersan por los alrededores. La temperatura máxima se localiza aproximadamente 1 cm por encima de la zona de combustión primaria.

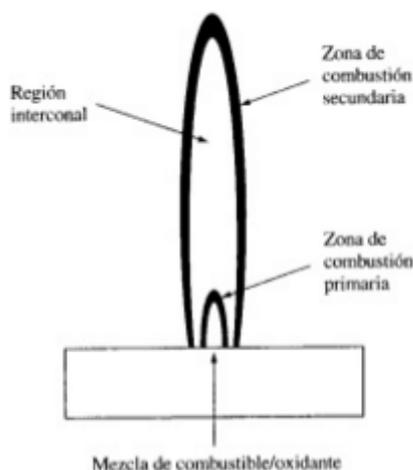


Figura 16. Regiones más importantes de la llama.

En los equipos de absorción atómica se utilizan dos tipos de quemadores, los de flujo turbulento y los de flujo laminar o de premezcla. En este caso se utiliza un quemador de flujo laminar (Figura 17). En este quemador, la muestra es nebulizada por el flujo de oxidante, una vez pasado el extremo del capilar. El aerosol resultante se mezcla con el combustible y pasa a través de una serie de deflectores, que eliminan las gotas que no sean muy finas. Debido a estos deflectores la mayor parte de la muestra se reúne en el fondo de la cámara de mezcla, de donde se envía a un recolector de desechos. El aerosol, el oxidante y el combustible, se queman en la ranura de un quemador, que produce una llama que generalmente tiene 5 ó 10 cm de

longitud. Los quemadores de flujo laminar producen una llama relativamente estable y un recorrido mayor, lo cual aumentan la sensibilidad. Además, la obstrucción rara vez constituye un problema.

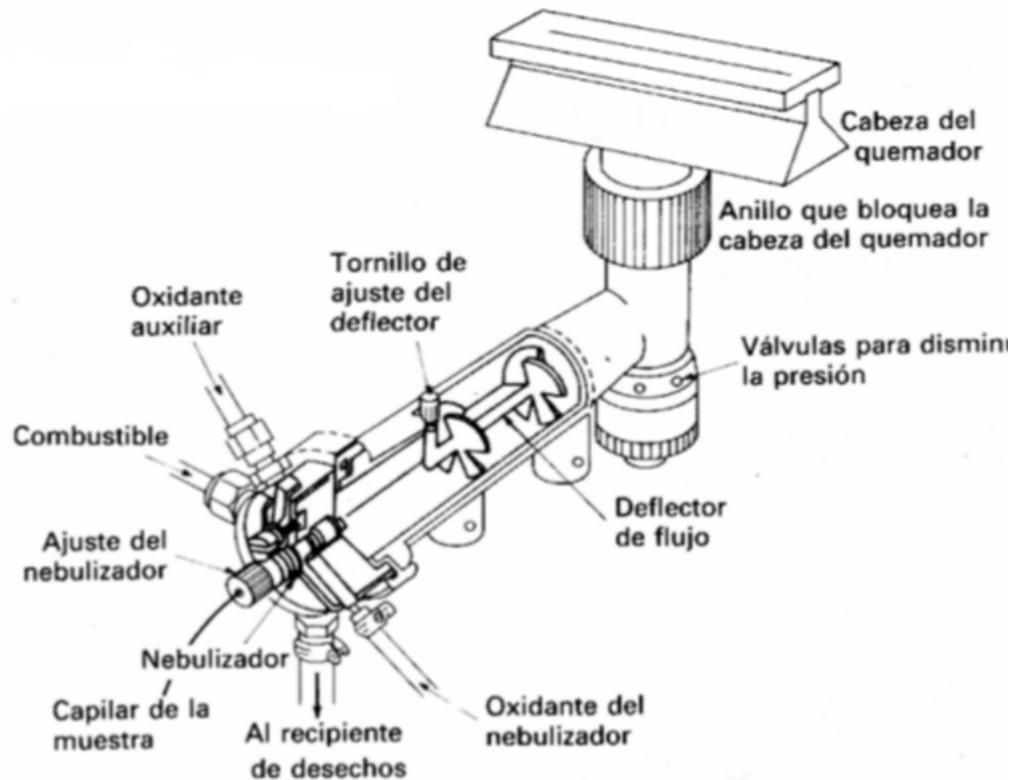


Figura 17. Quemador de flujo laminar.

Para medir absorción el cabezal del quemador tiene que estar en paralelo a la lámpara (Figura 18) mientras que para medir emisión el cabezal del quemador tiene que estar en perpendicular a la lámpara (Figura 19).



Figura 18. Posición del quemador en absorción.



Figura 19. Posición del quemador en emisión.

3. Monocromador. El monocromador es un dispositivo que produce un haz de radiación de gran pureza espectral y, además, permite ir variando la longitud de onda de trabajo. El monocromador consta de cinco partes que se exponen a continuación (Figura 20).

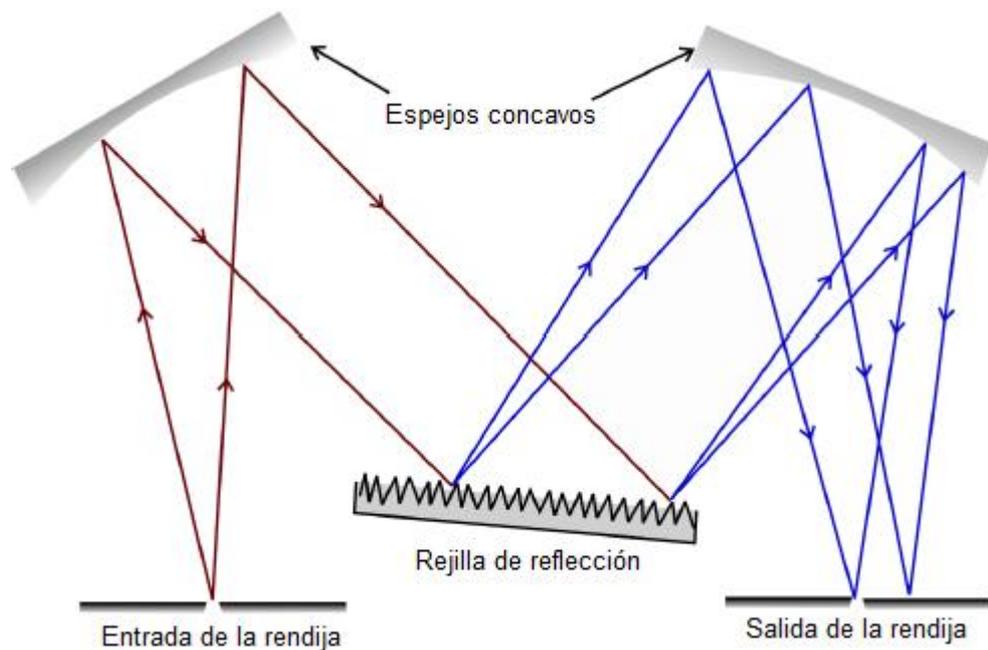


Figura 20. Diagrama de las partes que de las que consta un monocromador de red.

- Rendija de entrada que permite el paso de la luz policromática de la fuente.
- Lente o espejo colimador que produce un haz paralelo de radiación.
- Elemento dispersante, puede ser un prisma o una red, que dispersa la radiación en sus longitudes de onda individuales. En este caso, el elemento dispersante utilizado es una rejilla holográfica cóncava.
- Lente o espejo de enfoque que forma otra vez la imagen de la rendija y la enfoca a una superficie plana, el plano focal.
- Rendija de salida que se encuentra en el plano focal y aísla la banda espectral de radiación a una determinada longitud de onda.

4. Sistema de detección. El sistema de detección puede estar diseñado con fotoceldas, fototubos, fotodiodos o fotomultiplicadores. Esto depende de los rangos de longitud de onda, de la sensibilidad y de la velocidad de respuesta requeridas. El sistema de detección recibe la energía lumínica proveniente de la muestra y la convierte en una señal eléctrica proporcional a la energía recibida. La señal eléctrica puede ser procesada y amplificada, para que pueda interpretarse a través del sistema de lectura que una vez procesada es presentada al analista de diferentes maneras.

En este caso el sistema de detección utilizado es el tubo fotomultiplicador. Este detector está compuesto por muchos fototubos colocados en serie (Figura 22). Un fototubo (Figura 21) se compone por un cátodo recubierto de un material fotosensible que puede ser metales alcalinos (potasio, cesio), antimonio, óxidos de metales alcalinos, plata y óxidos de plata; y un ánodo que es un hilo grueso.

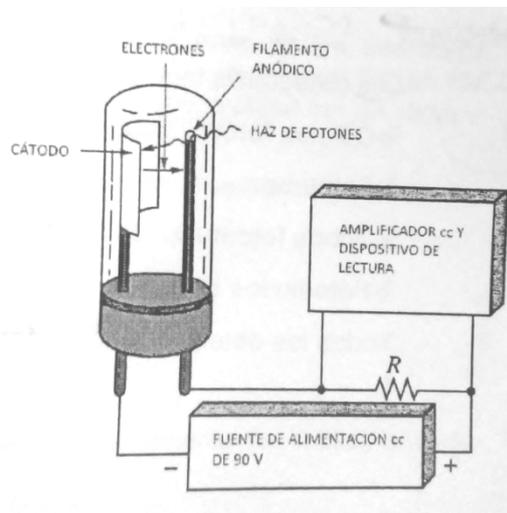


Figura 21. Esquema de un fototubo.

Se conecta a una fuente exterior para establecer una diferencia de potencial entre ánodo y cátodo de 90 V. Dentro está hecho el vacío, así que si no hay electrones no se detecta nada. Hay un circuito auxiliar que se llama circuito de amplificación. El material fotosensible ha de estar alojado donde no esté expuesto a la luz.

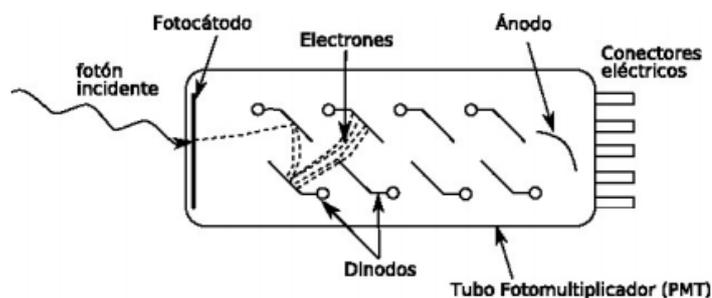


Figura 22. Esquema de un tubo fotomultiplicador.

La radiación incide sobre el material fotosensible y emite electrones que son captados por el ánodo produciendo una señal medible. En el tubo fotomultiplicador, llega la radiación al primer fragmento de material fotosensible y, por cada electrón que llega, se multiplica por dos para el siguiente fragmento de material fotosensible, y así sucesivamente.

En función del número de dinodos que se pongan, llegarán más electrones al final y la radiación será más intensa. Cada dinodo está 90 V más positivo que el anterior. La corriente resultante es mucho mayor que en un fototubo y puede ser amplificada.

Los tubos fotomultiplicadores tienen una respuesta muy rápida pero la sensibilidad y el límite de detección vienen determinados por el ruido de fondo debido a radiaciones termoiónicas.

3.5.2.1-Condiciónes de medida

Para determinar cuantitativamente el contenido total de cationes se toma una alícuota del extracto obtenido en la mineralización, se añade el agente relajante (en este caso La_2O_5) y se lleva a una dilución de 1:100 con agua destilada (IT06-PC09, 2015). La dilución es necesaria ya que las concentraciones de estos elementos son muy elevadas en la planta y sus valores no estarían dentro del intervalo lineal de las curvas de calibrado (Tabla 3).

	Longitud de onda de medida.	Intervalo lineal de la curva de calibrado	Concentración característica para 0,1 uAbs
Potasio (K)	766,5 nm	-----	-----
Calcio (Ca)	422,7 nm	Hasta 3 mg/L	1,1 mg/L
Magnesio (Mg)	285,2 nm	Hasta 0,4 mg/L	0,07 mg/L

Tabla 3. Longitud de onda característica para cada elemento, rango de linealidad de sus curvas de calibrado y concentraciones características.

Una vez preparadas las muestras para medir, se preparan los patrones de calibración (Tabla 4).

	Rango de concentración mínima - máxima (mg/L)	Rango de absorbancias mínima - máxima
Potasio (K)	0 – 10	Emisión, de 0 a 1
Calcio (Ca)	0 – 3	0 – 0,26
Magnesio (Mg)	0 – 0,5	0 – 0,75

Tabla 4. Rangos de concentración y de absorbancias para cada elemento en las curvas de calibración.

Como ejemplo, se muestra una línea de calibrado para cada elemento (Figura 23).

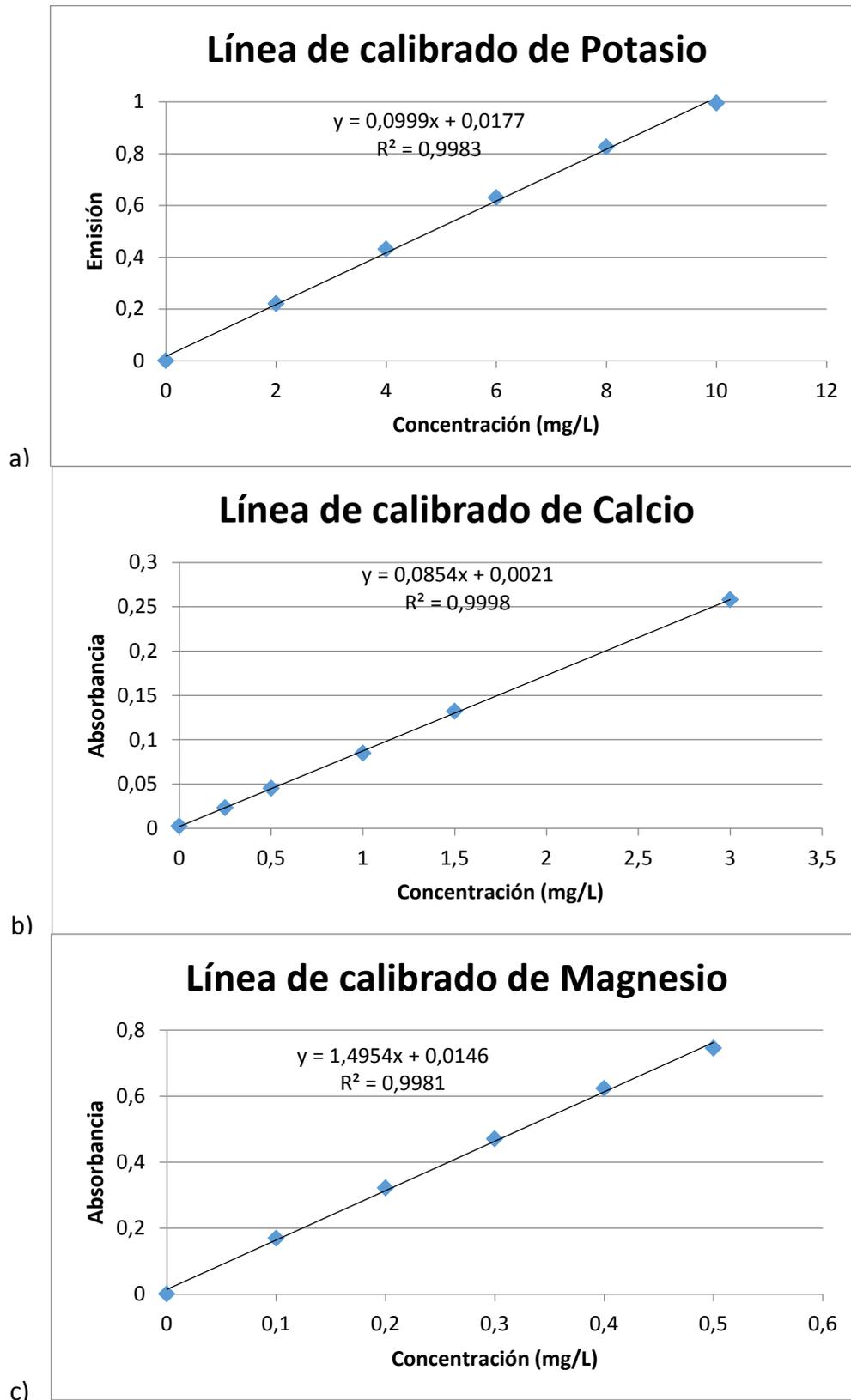


Figura 23. Ejemplos de las líneas de calibrado para a) Potasio, b) Calcio, c) Magnesio.

La concentración total de calcio (Ca) y Magnesio (Mg) se determina mediante la ley de Lambert-Beer, que establece una relación lineal entre la absorbancia de luz monocromática y la concentración de un cromóforo en solución, tal como aparece en la siguiente expresión:

$$A = \log \frac{P}{P_0} = \varepsilon \cdot c \cdot l$$

Donde A es la absorbancia que es adimensional, P es la intensidad de salida (Vatios), P_0 es la intensidad de entrada (Vatios), ε es el coeficiente de extinción molar ($\text{mol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$), c la concentración (mol l^{-1}) y l es la longitud de trayectoria de la muestra (cm).

3.5.3-Nitrógeno (N)

La determinación cuantitativa del contenido total de Nitrógeno se lleva a cabo mediante el método Kjeldahl (Norma UNE 77318, 2001), que consta de tres pasos:

- Digestión de la muestra en un digestor FOSS DT 220 (Figura 24). Durante la digestión se lleva a cabo la conversión del nitrógeno en ión amonio. Esa conversión se hace en medio sulfúrico concentrado, y precisa de una sustancia que fije los nitratos y un catalizador.
- Destilación de la muestra en un destilador FOSS 8100 (Figura 25). Se lleva a cabo en medio alcalino, convirtiendo el amonio en amoníaco gaseoso. Este amoníaco gaseoso se recoge sobre una disolución de ácido bórico, que ya incluye el indicador ácido-base, dando lugar a la formación de boratos.
- Valoración de los boratos formados con ácido clorhídrico. Se valora la disolución verde obtenida, hasta viraje del indicador a rosa, y se anota el volumen de ácido clorhídrico gastado.



Figura 24. Digestor FOSS DT 220.



Figura 25. Destilador FOSS 8100.

3.5.3.1-Condiciones de medida

Para la etapa de digestión se pesan 0,5 g de polvo vegetal en una balanza analítica Mettler Toledo (Figura 26), se añaden 10 ml de ácido sulfúrico mezclado con ácido salicílico, el catalizador (sulfato de cobre (II) y sulfato potásico) y 5 ml de tiosulfato sódico (IT20-PC09, 2015). A continuación se introducen los tubos en el digestor durante una hora y media a una temperatura de 380 °C.



Figura 26. Balanza analítica Mettler Toledo.

Transcurrido el tiempo de digestión se sacan los tubos del digestor y se dejan enfriar añadiendo un poco de agua. Posteriormente, se lleva a cabo la destilación en la que el equipo destilador añade 80 ml de disolución alcalina (hidróxido sódico, NaOH concentrado) y 10 ml de agua. A la salida del destilador se coloca un erlenmeyer con 50 ml de la disolución absorbente del amoníaco (ácido bórico y una mezcla de indicadores: verde de bromocresol y rojo de metilo) que tiene un color rosa. A medida que se va destilando la muestra, ésta se va volviendo cada vez más verde, debido a la formación de boratos en la disolución, hasta obtener al final un extracto de color verde oscuro.

Por último, se lleva a cabo la valoración del extracto obtenido en la destilación con ácido clorhídrico (HCl) 0,1 M hasta que vire del color verde al color rosa, debido a la protonación de los boratos, lo que provoca que el indicador vuelva a virar de verde a rosa.

El contenido total de nitrógeno (%_N), en tanto por ciento sobre la materia seca, se calcula usando la fórmula:

$$\%_N = \frac{(V_1 - V_0) \cdot [H^+] \cdot M_N}{m} \cdot \frac{100 + \%_{M.S.}}{100} \cdot \frac{100}{1000}$$

donde

V_1 es el volumen, en mililitros, de ácido clorhídrico usado en la valoración de la muestra;

V_0 es el volumen, en mililitros, de ácido clorhídrico usado en el ensayo del blanco;

$[H^+]$ es la concentración de H^+ en el ácido clorhídrico, en moles por litro;

M_N es el peso de un mol de nitrógeno, en gramos por mol;

m es la masa en gramos, de la muestra de suelo secada al aire;

$\%_{M.S.}$ es el contenido de agua, expresado como porcentaje en masa, sobre la base de un tejido vegetal secado en estufa.

3.6-Análisis de componentes minoritarios (micronutrientes)

Los micronutrientes que hemos determinado son manganeso (Mn), cobre (Cu) y zinc (Zn). La determinación cuantitativa de todos ellos se lleva a cabo en un espectrofotómetro de absorción atómica ANALYTIKJENA AAS novAA 300 bu (Figura 12).

El funcionamiento de este aparato ya ha sido descrito en el apartado para la determinación cuantitativa de potasio, calcio y magnesio.

3.6.1-Condiciones de medida

Para determinar cuantitativamente el contenido total de microelementos se mide directamente del extracto obtenido en la mineralización (IT15-PC09, 2015), debido a que las concentraciones de estos parámetros en la muestra son muy bajas en la planta y están dentro del intervalo lineal de las curvas de calibrado (Tabla 5).

	Longitud de onda de medida.	Rango lineal de la curva de calibrado	Concentración característica para 0,1 uAbs
Manganeso (Mn)	279,5 nm	Hasta 3 mg/L	0,5 mg/L
Cobre (Cu)	324,8 nm	Hasta 4 mg/L	0,7 mg/L
Zinc (Zn)	213,9 nm	Hasta 1 mg/L	0,25 mg/L

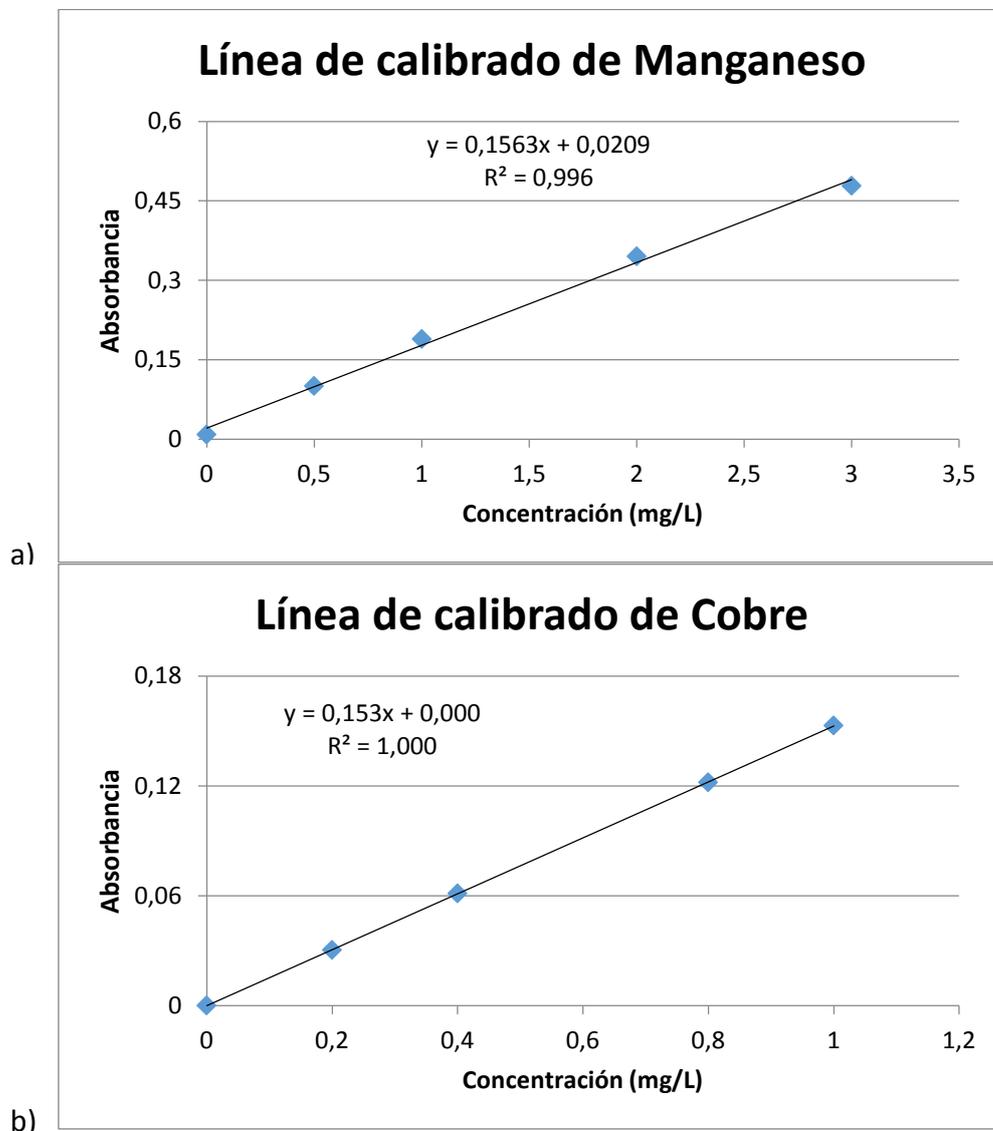
Tabla 5. Longitud de onda característica para cada elemento, rango de linealidad de sus curvas de calibrado y concentraciones características.

Una vez preparadas las muestras para medir, se preparan los patrones de calibración (Tabla 6). En cada calibración se utilizan cinco patrones incluyendo el blanco de calibración.

	Rango de concentración mínima - máxima (mg/L)	Rango de absorbancias mínima - máxima
Manganeso (Mn)	0 – 3	0 – 0,5
Cobre (Cu)	0 – 1	0 – 0,16
Zinc (Zn)	0 – 1	0 – 0,40

Tabla 6. Rangos de concentración y de absorbancias para cada elemento en las curvas de calibración.

Como ejemplo, se muestra una línea de calibrado para cada elemento (Figura 27).



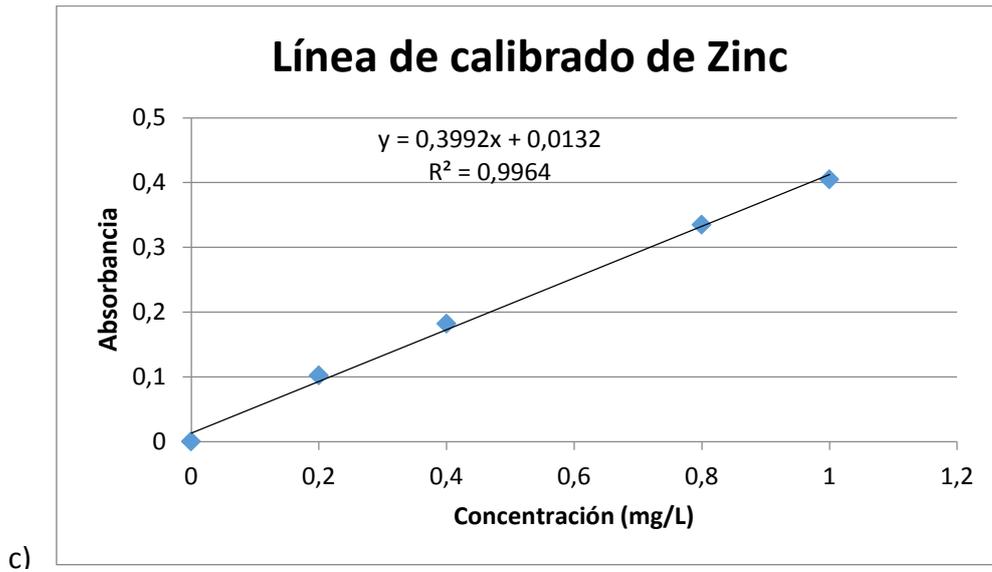


Figura 27. Ejemplos de las líneas de calibrado para a) Manganeso, b) Cobre c) Zinc.

La concentración total de manganeso (Mn), cobre (Cu) y zinc (Zn) se determina mediante la ley de Lambert-Beer, ya explicada en los apartados de determinación de calcio y magnesio y de fósforo.

Capítulo 4

Resultados y discusión

4.1-Tratamiento de los datos

Los resultados obtenidos en el laboratorio para los macronutrientes (nitrógeno, fósforo, calcio, magnesio y potasio) están expresados en % sobre materia seca, pero interesa tenerlos en kg/ha para saber la cantidad de nutriente que absorbe la planta por unidad de superficie, ya que de esta manera se puede deducir la cantidad de nutriente que se debe aplicar en forma de fertilizante. Para ello, necesitamos saber la biomasa de la muestra. La biomasa es el peso seco en kg por hectárea de terreno y se calcula de la siguiente manera:

$$biomasa \left(\frac{kg}{ha} \right) = \%_{M.S.} \cdot peso \text{ fresco} \left(\frac{kg}{ha} \right)$$

Para saber la cantidad de nutriente que absorbe la planta por unidad de superficie se realizan las siguientes operaciones:

$$\%_{nutriente} \cdot biomasa \left(\frac{kg}{ha} \right) \cdot 100 = cantidad \text{ de nutriente absorbido} \left(\frac{kg}{ha} \right)$$

Por otro lado, los resultados obtenidos en el laboratorio para los micronutrientes (manganeso, cobre y zinc) están expresados en mg/kg de materia seca (ppm) pero, de forma análoga a los macronutrientes, interesa tenerlos en g/ha (si se dan en kg/ha se obtienen números muy pequeños con los que es difícil trabajar) para conocer también en último término la cantidad de nutriente que se debe aplicar como fertilizante o bien conocer las extracciones reales, con el objeto de reponer esos nutrientes o bien para cálculos como alimentación animal. La operación es similar a la anterior:

$$ppm_{nutriente} \left(\frac{mg}{kg} \right) \cdot biomasa \left(\frac{kg}{ha} \right) \cdot \frac{1 \text{ g}}{1000 \text{ mg}} = cantidad \text{ de nutriente absorbido} \left(\frac{g}{ha} \right)$$

A continuación aparecen unas tablas con los resultados (media de cuatro réplicas) obtenidos en cada campo de ensayo. (Tablas 7-10):

Parcela B-3080, ensayo de la zona del sur.									
Órgano	Fecha	N (kg/ha)	P (kg/ha)	Ca (kg/ha)	Mg (kg/ha)	K (kg/ha)	Mn (g/ha)	Cu (g/ha)	Zn (g/ha)
Hojas tiernas	03/12/2014	0,311	0,0113	0,0798	0,0288	0,1045	0,510	0,0897	0,238
Limbo	05/01/2015	2,65	0,183	1,25	0,702	1,44	8,20	0,862	2,39
	04/02/2015	21,7	1,20	5,74	5,09	13,2	46,5	4,54	15,0
	04/03/2015	58,8	3,29	17,3	14,3	51,1	123	14,3	45,4
	31/03/2015	164	9,68	42,6	41,3	142	850	47,5	223
	28/04/2015	113	7,25	71,8	45,6	136	636	47,6	173
	27/05/2015	137	9,18	68,4	39,2	161	892	49,3	176
	23/06/2015	83,5	6,58	72,9	33,1	152	895	37,4	147
Peciolo	05/01/2015	0,677	0,0287	0,209	0,0673	0,261	2,11	0,252	0,684
	04/02/2015	6,08	0,492	2,11	1,099	6,73	14,9	2,04	5,27
	04/03/2015	24,7	2,07	4,51	4,098	53,8	19,8	7,18	16,7
	31/03/2015	86,7	8,18	15,6	18,3	293	58,6	30,7	55,3
	28/04/2015	84,8	9,37	39,9	23,9	499	167	44,2	79,5
	27/05/2015	53,5	6,69	34,3	18,8	556	146	25,3	82,9
	23/06/2015	51,4	7,11	36,4	15,9	487	183	40,9	97,5
Raíz	03/12/2014	0,0351	0,00198	0,0181	0,00474	0,0217	0,119	0,0118	0,0240
	05/01/2015	0,33	0,0193	0,150	0,0377	0,136	1,28	0,199	0,538
	04/02/2015	5,78	0,650	1,06	0,755	6,35	4,00	2,34	6,34
	04/03/2015	30,3	2,76	10,6	4,75	41,9	50,7	16,8	42,0
	31/03/2015	80,9	8,19	23,4	14,5	130	119	43,2	134
	28/04/2015	98,9	15,0	28,1	22,5	199	254	76,2	240
	27/05/2015	104	26,8	32,4	26,8	193	263	101	324
	23/06/2015	147	35,8	64,8	40,0	259	286	155	359

Tabla 7. Media de las cuatro repeticiones por muestreo para cada órgano de la planta en la parcela de B-3080, ensayo del sur. Los resultados están calculados respecto a materia seca.

Parcela B-3083, ensayo de la zona del sur.									
Órgano	Fecha	N (kg/ha)	P (kg/ha)	Ca (kg/ha)	Mg (kg/ha)	K (kg/ha)	Mn (g/ha)	Cu (g/ha)	Zn (g/ha)
Hojas tiernas	03/12/2014	2,33	0,0995	0,568	0,255	0,616	8,73	0,805	1,94
Limbo	05/01/2015	6,29	0,426	2,72	1,95	4,52	29,6	1,76	6,36
	04/02/2015	43,3	2,49	9,76	10,9	26,8	137	10,1	39,3
	04/03/2015	81,4	5,14	23,4	18,0	69,7	305	31,5	78,7
	31/03/2015	147	7,98	30,9	28,1	140	821	45,8	149
	28/04/2015	119	7,95	42,7	27,5	145	815	49,8	135
	27/05/2015	80,4	4,28	36,9	21,1	91,1	615	25,1	82,5
	23/06/2015	75,9	5,29	40,2	18,2	92,6	489	32,7	85,8
Peciolo	05/01/2015	1,80	0,192	0,853	0,402	2,34	11,4	0,656	1,94
	04/02/2015	11,2	0,982	3,83	2,97	15,1	34,5	4,24	10,6
	04/03/2015	29,7	2,64	8,11	7,44	72,1	93,5	17,8	25,9
	31/03/2015	52,3	5,35	10,2	11,3	199	110	20,0	57,0
	28/04/2015	59,6	6,22	27,1	15,7	414	198	44,7	79,8
	27/05/2015	23,5	2,27	19,1	7,51	293	123	15,7	45,3
	23/06/2015	29,5	3,61	22,0	9,02	288	129	29,4	51,1
Raíz	03/12/2014	0,120	0,00850	0,0701	0,0213	0,0696	0,238	0,0655	0,150
	05/01/2015	1,14	0,169	0,804	0,377	1,70	8,93	0,664	2,11
	04/02/2015	10,2	1,53	2,01	1,64	11,1	11,8	4,83	14,1
	04/03/2015	29,5	4,20	10,5	5,47	37,5	103	14,2	52,0
	31/03/2015	73,0	9,07	18,1	13,0	88,1	286	47,4	135
	28/04/2015	83,8	10,8	20,7	17,8	142	366	81,3	205
	27/05/2015	86,6	17,0	59,6	26,4	162	448	106	199
	23/06/2015	114	20,6	56,5	32,1	176	464	120	387

Tabla 8. Media de las cuatro repeticiones por muestreo para cada órgano de la planta en la parcela B-3083, ensayo del sur. Los resultados están calculados respecto a materia seca.

Parcela Laguna, ensayo de la zona del norte.									
Órgano	Fecha	N (kg/ha)	P (kg/ha)	Ca (kg/ha)	Mg (kg/ha)	K (kg/ha)	Mn (g/ha)	Cu (g/ha)	Zn (g/ha)
Hojas tiernas	28/04/2015	3,82	0,613	1,57	0,932	6,08	5,95	1,27	4,83
	12/05/2015	34,1	2,37	5,57	3,69	37,0	29,2	8,05	35,6
Limbo	21/05/2015	52,5	5,25	18,0	13,1	81,9	55,7	8,55	71,3
	03/06/2015	49,4	4,74	19,6	13,4	76,8	58,6	13,1	86,0
	17/06/2015	69,2	6,11	26,4	18,9	97,3	89,0	19,7	107
	01/07/2015	93,5	6,86	38,8	25,5	146	141	25,8	110
	29/07/2015	120	8,81	55,1	31,3	186	102	28,2	115
	25/08/2015	151	9,69	57,7	34,9	180	94,8	53,0	114
	28/09/2015	93,6	6,25	42,5	21,4	111	70,1	28,8	77,0
	20/10/2015	84,8	5,58	31,8	18,3	101	38,3	23,1	55,7
Pecíolo	21/05/2015	18,6	2,86	8,33	4,11	67,4	12,4	9,01	24,8
	03/06/2015	17,6	2,63	11,5	4,04	74,3	12,8	9,41	33,4
	17/06/2015	19,8	3,03	13,9	4,49	90,7	6,26	15,8	33,5
	01/07/2015	39,8	5,27	22,7	6,89	143	56,6	18,4	53,7
	29/07/2015	42,1	7,62	29,7	8,50	208	48,8	20,9	64,6
	25/08/2015	49,9	8,04	28,1	9,06	224	27,6	21,6	47,0
	28/09/2015	42,4	6,47	24,5	7,93	136	32,3	24,1	44,7
	20/10/2015	29,5	3,60	15,9	5,14	105	12,3	15,1	25,0
Raíz	28/04/2015	0,415	0,110	0,146	0,111	0,728	1,05	0,219	0,846
	12/05/2015	6,44	0,773	0,350	0,219	3,87	0,787	2,76	10,8
	21/05/2015	23,1	5,79	5,76	3,71	54,4	4,88	12,5	38,6
	03/06/2015	31,1	7,50	7,11	4,28	42,4	11,9	22,1	73,1
	17/06/2015	48,4	12,4	7,04	6,65	74,6	0,00	35,2	111
	01/07/2015	96,6	20,0	22,4	15,0	131	98,0	64,7	194
	29/07/2015	131	33,3	45,0	26,0	220	153	110	292
	25/08/2015	143	32,1	31,5	28,5	160	98,8	93,0	341
	28/09/2015	162	31,5	32,9	35,1	211	64,6	180	367
	20/10/2015	151	17,8	27,1	35,0	206	28,8	151	332

Tabla 9. Media de las cuatro repeticiones por muestreo para cada órgano de la planta en la parcela de Laguna, ensayo del norte. Los resultados están calculados respecto a materia seca.

Parcela Overuela, ensayo de la zona del norte.									
Órgano	Fecha	N (kg/ha)	P (kg/ha)	Ca (kg/ha)	Mg (kg/ha)	K (kg/ha)	Mn (g/ha)	Cu (g/ha)	Zn (g/ha)
Hojas tiernas	28/04/2015	1,11	0,119	0,683	0,303	1,36	2,58	0,456	1,51
	12/05/2015	12,7	0,597	2,86	1,66	10,3	9,39	2,12	6,63
Limbo	21/05/2015	40,5	2,57	16,3	10,5	45,1	100	14,4	57,1
	03/06/2015	70,9	3,95	31,8	25,4	81,5	131	24,3	84,9
	17/06/2015	105	6,90	46,7	27,4	90,4	215	29,5	103
	01/07/2015	171	11,0	92,7	53,9	145,1	515	53,0	177
	29/07/2015	186	9,62	104	54,9	147,6	480	65,9	193
	25/08/2015	190	10,7	85,0	54,0	128,5	353	112	130
	28/09/2015	99,4	4,73	47,7	22,8	56,0	216	57,8	102
	20/10/2015	108	4,52	41,7	22,2	64,0	146	37,6	72,7
Peciolo	21/05/2015	15,2	1,37	8,73	2,82	38,5	26,3	5,30	16,4
	03/06/2015	23,5	1,79	17,5	6,39	79,0	33,6	12,9	28,8
	17/06/2015	41,7	3,76	22,5	9,94	134	51,6	15,3	34,5
	01/07/2015	72,4	7,01	34,4	20,0	192	119	27,6	83,0
	29/07/2015	85,6	7,08	50,3	23,9	241	175	47,6	100
	25/08/2015	57,2	5,75	34,9	17,0	212	56,3	82,9	44,8
	28/09/2015	90,7	7,14	40,3	17,4	163	145	57,8	87,2
	20/10/2015	83,7	5,84	35,0	16,0	184	69,4	51,9	64,9
Raíz	28/04/2015	0,113	0,0140	0,0873	0,0202	0,149	0,560	0,0662	0,252
	12/05/2015	1,80	0,124	0,180	0,0994	1,42	0,473	0,426	1,12
	21/05/2015	10,9	1,28	1,95	1,30	18,8	14,8	4,50	15,7
	03/06/2015	30,2	2,69	9,72	4,75	40,9	23,8	23,5	50,1
	17/06/2015	52,0	4,73	8,45	8,22	85,9	33,3	28,0	79,5
	01/07/2015	101	9,24	18,9	16,6	137	115	50,8	126
	29/07/2015	194	17,9	48,1	36,2	189	170	85,3	276
	25/08/2015	218	23,9	22,7	40,0	141	246	238	291
	28/09/2015	248	14,8	43,5	55,1	193	381	229	342
	20/10/2015	244	8,87	40,3	59,7	198	145	221	324

Tabla 10. Media de las cuatro repeticiones por muestreo para cada órgano de la planta en la parcela de Overuela, ensayo del norte. Los resultados están calculados respecto a materia seca.

En todos los casos la repetibilidad, expresada como desviación típica relativa, ha sido inferior al 5%. Los resultados inferiores al límite de detección se han sustituido por 0,00 mg/kg.

Como se apuntó al comienzo, los resultados de macronutrientes están expresados en kg/ha mientras que los de micronutrientes lo están en g/ha, debido a que la concentración de los primeros en la planta es mucho mayor.

4.2-Resumen estadístico

Las Tablas 11-14 muestran un resumen de los parámetros estadísticos más habituales para cada parcela y parámetro analizado. La Figura 28 por su parte, muestra los gráficos de caja y bigotes (box-plot) de los contenidos de los distintos parámetros analizados en cada parcela, que permite una mejor visualización de dichos parámetros.

Parcela B-3080 (SE)								
	N	P	Ca	Mg	K	Mn	Cu	Zn
Media	58,93	6,98	24,94	16,12	147,10	218,24	32,47	96,79
Mediana	53,48	6,58	17,26	14,51	130,21	118,60	25,30	55,31
DE	52,15	8,84	25,27	15,46	170,56	298,81	37,97	107,98
DER	0,88	1,27	1,01	0,96	1,16	1,37	1,17	1,12
Varianza	2719,60	78,18	638,73	238,95	29089,52	89287,95	1442,05	11659,88

Tabla 11. Resumen de los parámetros estadísticos para los distintos parámetros analizados en la parcela B-3080. Resultados expresados en Kg/ha para N-P-Ca-Mg y K y g/ha para Mn, Cu y Zn.

Parcela B-3083 (SE)								
	N	P	Ca	Mg	K	Mn	Cu	Zn
Media	50,53	5,14	19,43	12,05	107,50	243,77	30,66	80,25
Mediana	43,32	4,20	18,14	10,89	88,12	128,63	20,02	52,00
DE	42,90	5,32	17,99	10,12	110,61	255,53	33,34	91,02
DER	0,85	1,03	0,93	0,84	1,03	1,05	1,09	1,13
Varianza	1840,34	28,32	323,64	102,37	12235,24	65297,04	1111,49	8284,63

Tabla 12. Resumen de los parámetros estadísticos para los distintos parámetros analizados en la parcela B-3083. Resultados expresados en Kg/ha para N-P-Ca-Mg y K y g/ha para Mn, Cu y Zn.

Parcela de Laguna (VA)								
	N	P	Ca	Mg	K	Mn	Cu	Zn
Media	64,38	9,18	22,54	13,79	113,47	48,42	36,25	102,25
Mediana	48,87	6,18	22,55	8,78	102,97	35,32	21,28	67,91
DE	49,41	9,32	15,88	11,59	67,91	43,55	44,71	105,01
DER	0,77	1,01	0,70	0,84	0,60	0,90	1,23	1,03
Varianza	2441,21	86,83	252,24	134,31	4612,24	1896,37	1998,73	11027,12

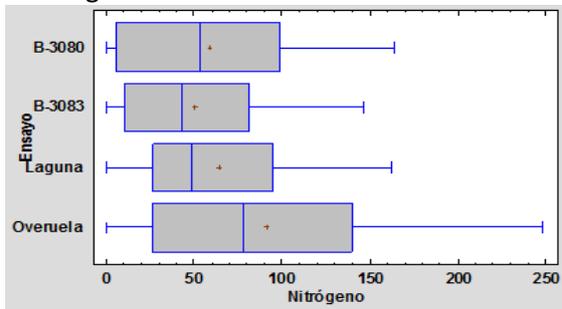
Tabla 13. Resumen de los parámetros estadísticos para los distintos parámetros analizados en la parcela de Laguna. Resultados expresados en Kg/ha para N-P-Ca-Mg y K y g/ha para Mn, Cu y Zn.

Parcela de Overuela (VA)								
	N	P	Ca	Mg	K	Mn	Cu	Zn
Media	91,18	6,35	32,39	21,73	107,83	142,05	56,37	103,29
Mediana	78,05	5,24	33,10	17,18	109,46	117,37	33,56	81,26
DE	76,93	5,61	27,42	19,22	73,16	142,35	67,33	98,89
DER	0,84	0,88	0,85	0,88	0,68	1,00	1,19	0,96
Varianza	5918,81	31,49	751,65	369,40	5351,90	20263,57	4533,00	9780,03

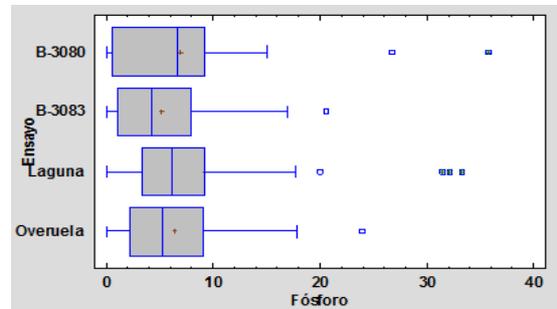
Tabla 14. Resumen de los parámetros estadísticos para los distintos parámetros analizados en la parcela de Overuela. Resultados expresados en Kg/ha para N-P-Ca-Mg y K y g/ha para Mn, Cu y Zn.

En estas tablas-resumen se observa la complejidad de los datos recogidos y la necesidad de realizar un análisis diferenciado de ellos. En las tablas se puede observar que, dentro de los macronutrientes, los más abundantes en la planta son el potasio (K) y el nitrógeno (N) en todos los ensayos realizados.

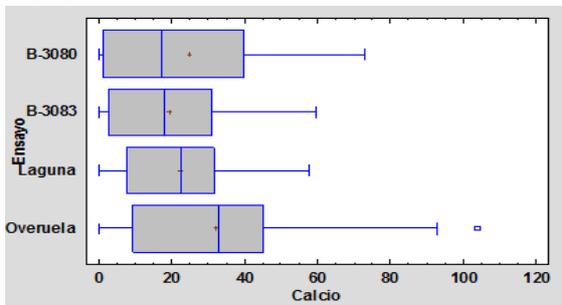
• Nitrógeno:



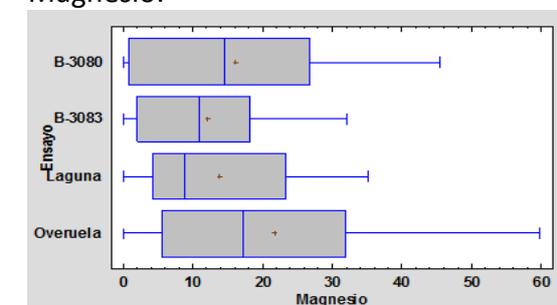
• Fósforo:



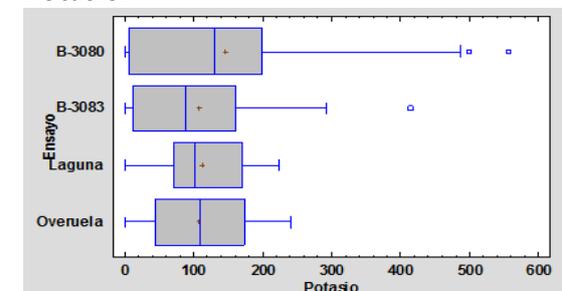
• Calcio:



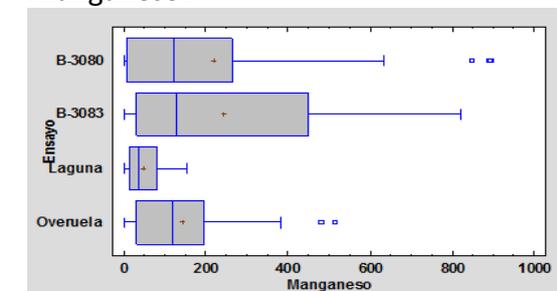
• Magnesio:



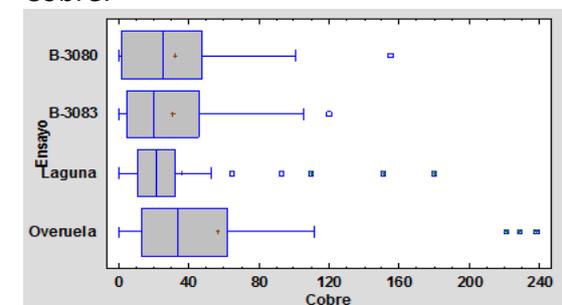
• Potasio:



• Manganeso:



• Cobre:



• Zinc:

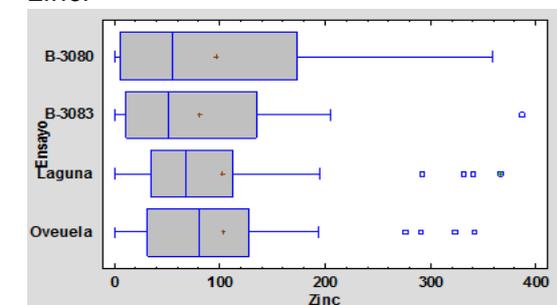


Figura 28. Gráficos de caja y bigotes (box-plots) de los contenidos de los distintos parámetros analizados en cada parcela.

En los gráficos se observa que, por lo general, todos los ensayos presentan, para todos los elementos analizados, distribuciones sesgadas, con la cola hacia valores elevados, ya que tienen coeficientes de sesgo positivos, y sus medias son mayores que las medianas.

Para el nitrógeno (N), el calcio (Ca) y el magnesio (Mg) el ensayo de la Overuela aparece a un orden de magnitud más grande que el resto de los elementos; mientras que para el potasio (K) es el ensayo B-3080 el que aparece a un orden de magnitud más grande que el resto de los elementos.

También se aprecia la existencia de algunos elementos anómalos (situados más allá de 1,5 veces el intervalo intercuartil) para el fósforo (P) en todos los ensayos, el calcio (Ca) en el ensayo de la Overuela, el potasio (K) en los dos ensayos del sur (B-3080 y B-3083), el manganeso (Mn) en los ensayos de la overuela y B-3080, el cobre (Cu) en todos los ensayos y el zinc (Zn) en todos los ensayos excepto en el B-3080.

Para realizar las comparaciones, debemos tener en cuenta que los cuatro ensayos tienen elevados rendimientos y que para todos se realizó previamente un análisis de suelo y se recomendó una fertilización para que la planta se desarrollara correctamente, con las cantidades necesarias de cada nutriente en forma de fertilizante.

4.3-Evolución temporal de cada nutriente en los tres órganos de la planta.

En este apartado se va a realizar una comparación tanto inter-zonal (norte – norte y sur – sur) como intra-zonal (norte – sur) de la evolución temporal de cada nutriente analizado, individualmente, en los tres órganos diferenciados de la planta (raíz, peciolo y limbo). Para ello, se representan los gráficos de evolución temporal por parcela y nutriente de los distintos órganos de la planta.

4.3.1-Nitrógeno (N)

Los gráficos de evolución temporal obtenidos en los cuatro ensayos realizados para el nitrógeno son las siguientes:

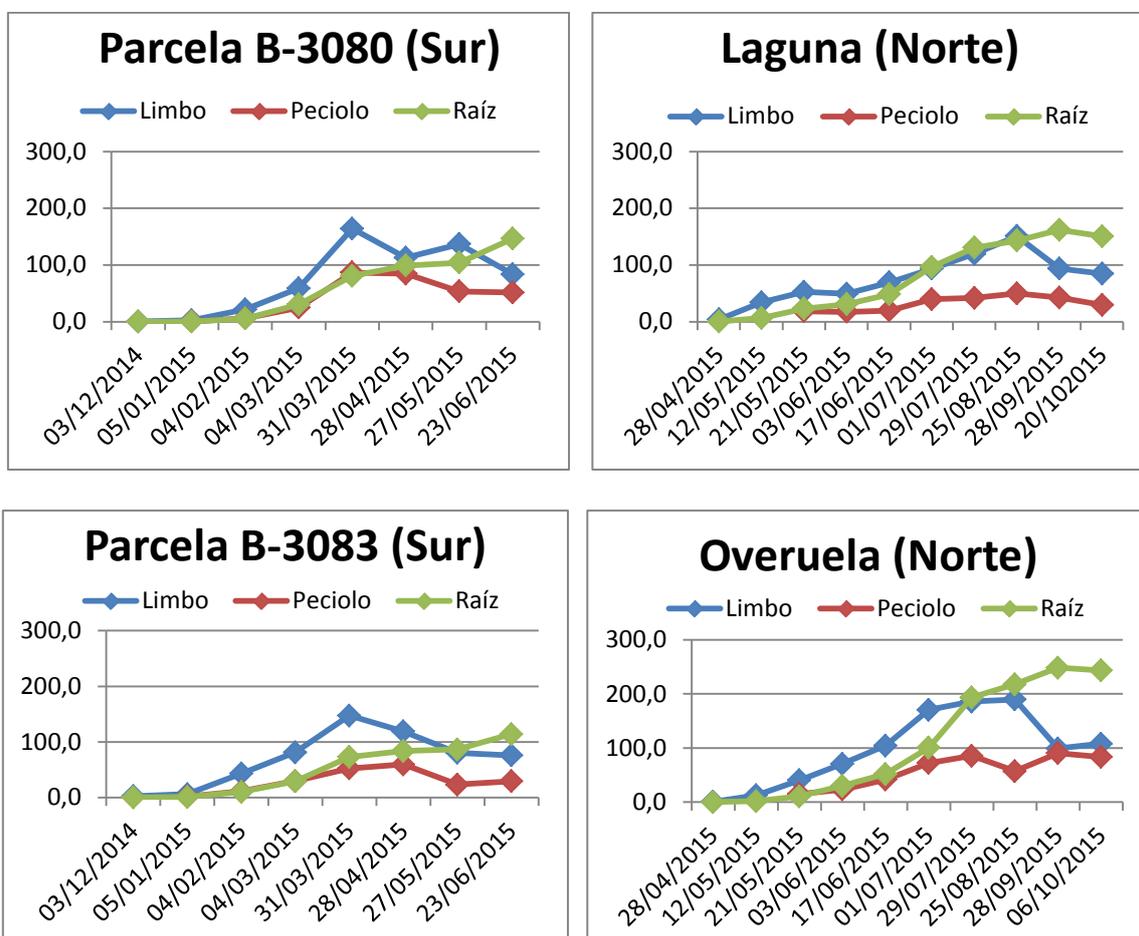


Figura 29. Comparación de la cantidad de nitrógeno absorbido por los distintos órganos de la planta en los cuatro ensayos realizados. Las unidades en todos los casos son kg/ha. En cada punto n=4.

Como se puede observar, la parcela que mayor contenido en nitrógeno presenta es Overuela con valores superiores a 200 kg/ha en la raíz. En todos los ensayos el peciolo es el que menos contenido en nitrógeno presenta manteniéndose siempre por debajo de 100 kg/ha. En el limbo aumenta hasta aproximadamente la mitad del ciclo y después comienza a disminuir, en la raíz se observa un aumento continuado y en el peciolo se observa un contenido relativamente constante a lo largo de todo el ciclo.

La diferencia entre los ensayos del sur y los del norte es más que apreciable, sobre todo en el contenido en la raíz donde se puede observar que en los ensayos del sur aumenta muy lentamente, mientras que en los ensayos del norte aumenta más rápido para luego mantenerse constante o incluso disminuir.

4.3.2-Fósforo (P)

Los gráficos de evolución temporal obtenidos en los cuatro ensayos realizados para el fósforo son las siguientes:

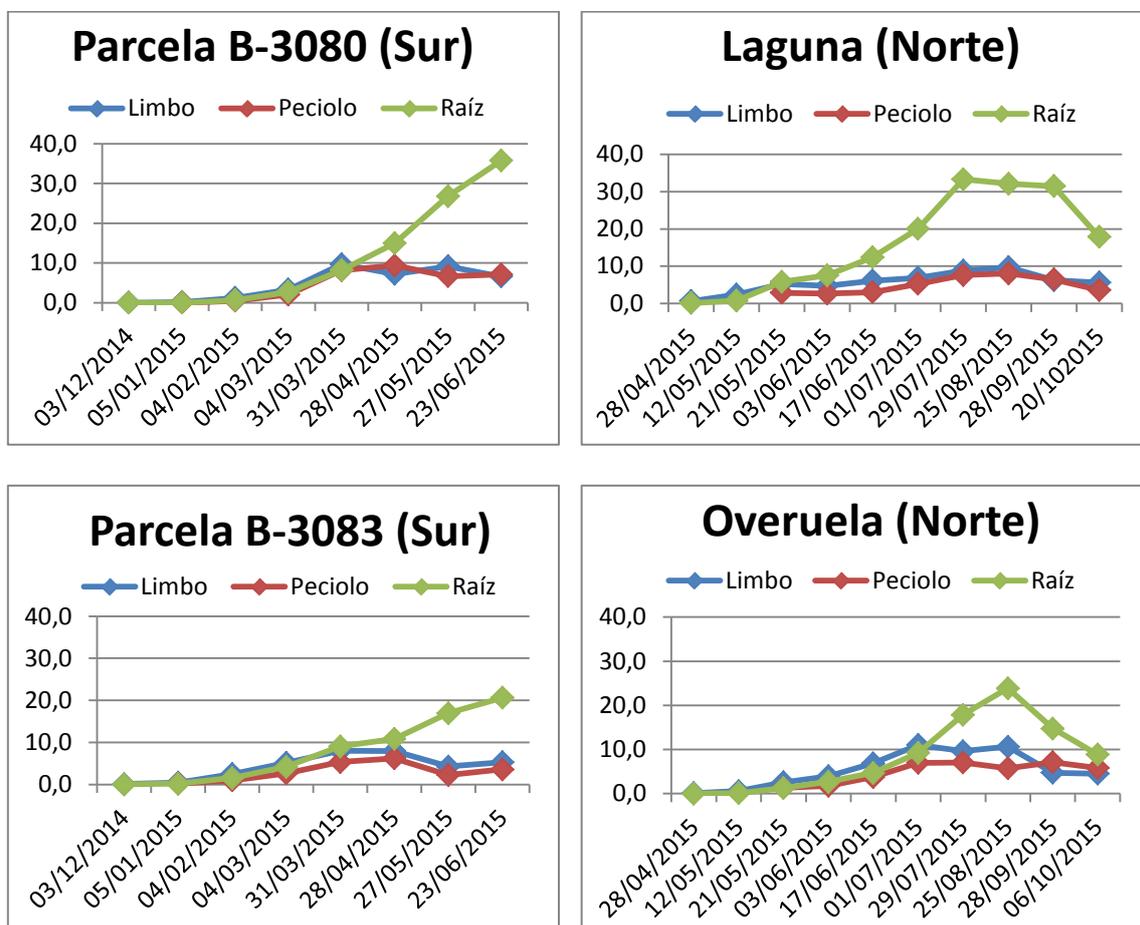


Figura 30. Comparación de la cantidad de fósforo absorbido por los distintos órganos de la planta en los cuatro ensayos realizados. Las unidades en todos los casos son kg/ha. En cada punto n=4.

Como se puede observar, el órgano que mayor contenido en fósforo presenta en todos los ensayos es la raíz. Además hay dos campos que presentan claramente mayor cantidad de fósforo, la parcela B-3080 en el sur y el campo de Laguna en el norte, superando los 30 kg/ha. El contenido en el peciolo y el limbo es relativamente bajo y constante manteniéndose en prácticamente todos los muestreos por debajo de 10 kg/ha.

La diferencia entre los ensayos del sur y los del norte es más que apreciable, sobre todo en el contenido en la raíz donde se puede observar que en los ensayos del sur aumenta hasta la cosecha, mientras que en los ensayos del norte aumenta hasta aproximadamente la mitad del ciclo y después comienza a disminuir.

4.3.3-Calcio (Ca)

Los gráficos de evolución temporal obtenidos en los cuatro ensayos realizados para el calcio son las siguientes:

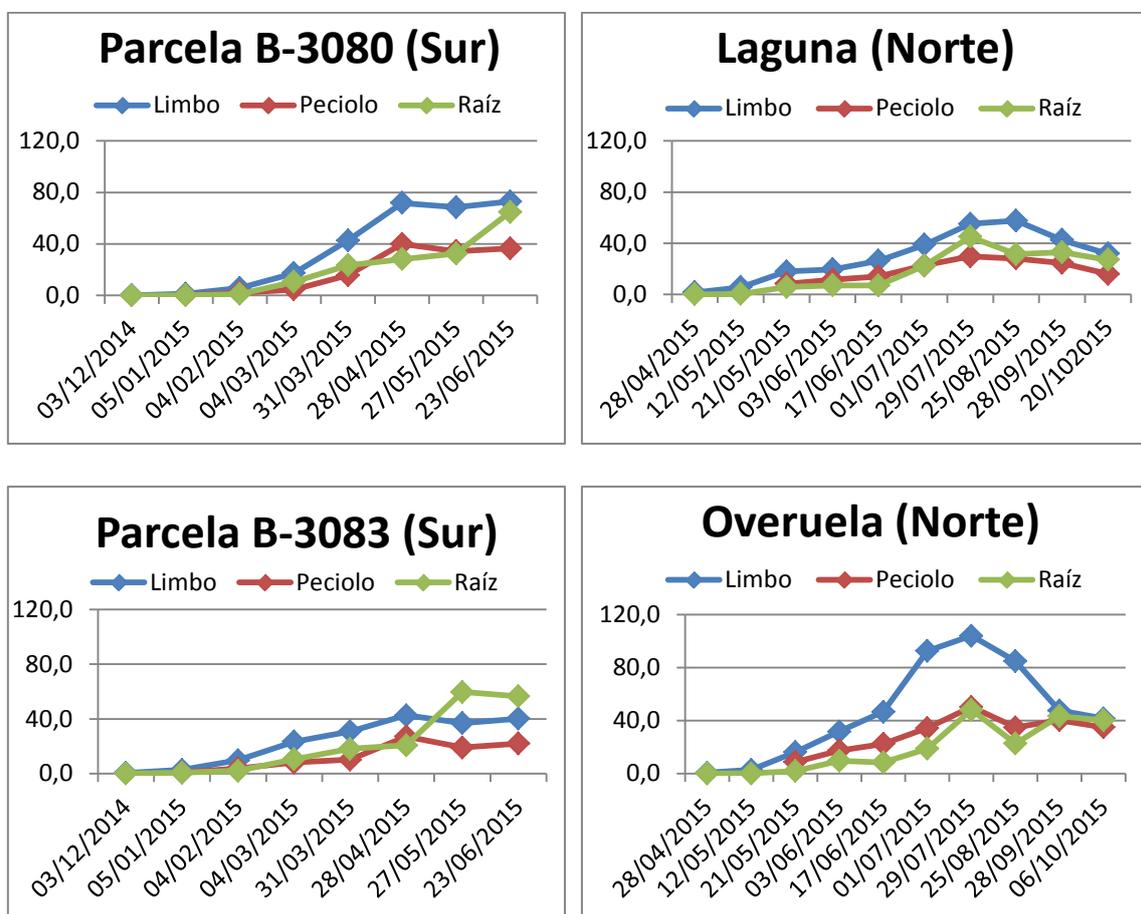


Figura 31. Comparación de la cantidad de calcio absorbido por los distintos órganos de la planta en los cuatro ensayos realizados. Las unidades en todos los casos son kg/ha. En cada punto n=4.

Como se puede observar, el órgano que mayor contenido en calcio presenta en todos los ensayos es el limbo. Además hay un campo que presenta claramente mayor cantidad de calcio, el campo de Overuela en el norte, superando los 100 kg/ha. El contenido en el peciolo es relativamente bajo y constante manteniéndose en prácticamente todos los muestreos por debajo de 40 kg/ha.

La diferencia entre los ensayos del sur y los del norte es más que apreciable, sobre todo en el contenido en la raíz donde se puede observar que en los ensayos del norte se mantiene prácticamente siempre por debajo de 40 kg/ha y es más o menos constante mientras que en los ensayos del sur aumenta al final del ciclo superando los 60 kg/ha.

4.3.4-Magnesio (Mg)

Los gráficos de evolución temporal obtenidos en los cuatro ensayos realizados para el magnesio son las siguientes:

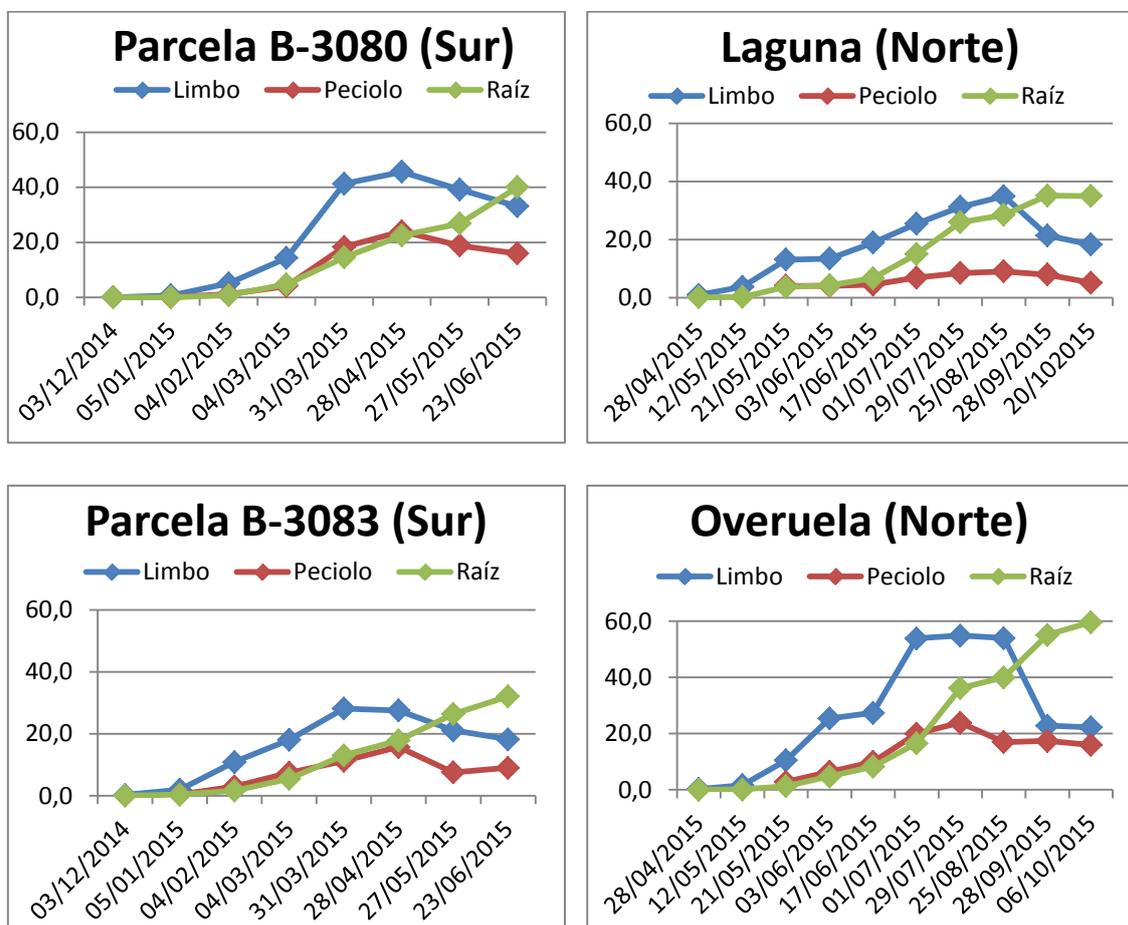


Figura 32. Comparación de la cantidad de magnesio absorbido por los distintos órganos de la planta en los cuatro ensayos realizados. Las unidades en todos los casos son kg/ha. En cada punto n=4.

Como se puede observar, la parcela que mayor contenido en magnesio tiene es la Overuela en el norte, llegando casi a los 60 kg/ha mientras que la parcela B-3083 del sur es la que menor contenido en magnesio tiene no superando los 35 kg/ha. El órgano con menor contenido es el peciolo durante todo el ciclo mientras que el limbo y la raíz son los que mayor contenido presentan a mitad de ciclo y al final del ciclo, respectivamente.

En este caso no hay prácticamente diferencia entre los ensayos del norte y del sur, en ambas zonas la evolución temporal de los órganos se comporta de una manera similar.

4.3.5-Potasio (K)

Los gráficos de evolución temporal obtenidos en los cuatro ensayos realizados para el potasio son las siguientes:

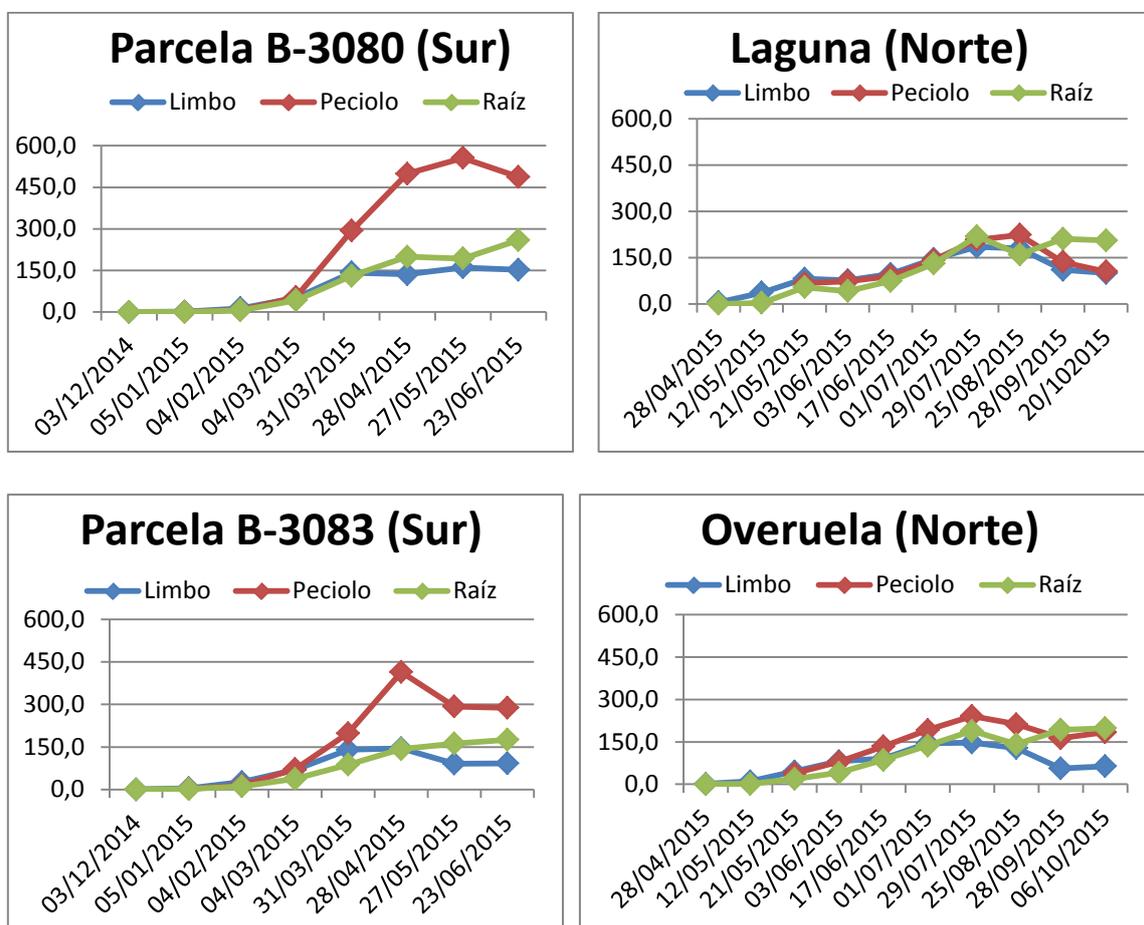


Figura 33. Comparación de la cantidad de potasio absorbido por los distintos órganos de la planta en los cuatro ensayos realizados. Las unidades en todos los casos son kg/ha. En cada punto n=4.

Como se puede observar, la parcela que mayor contenido en potasio presenta es la B-3080 con valores superiores a 500 kg/ha en el pecíolo. En los ensayos del sur el pecíolo es el que más contenido en potasio presenta aumentando aproximadamente hasta la mitad del ciclo y disminuyendo al final. En la raíz y en el limbo se observa un contenido relativamente constante a lo largo de todo el ciclo no superando en ningún caso los 300 kg/ha.

La diferencia entre los ensayos del sur y los del norte es más que apreciable, sobre todo en el contenido del pecíolo donde se puede observar que en los ensayos del sur es mucho más elevada que en el resto de los órganos, mientras que en los ensayos del norte es del mismo orden que en el resto de los órganos.

4.3.6-Manganeso (Mn)

Los gráficos de evolución temporal obtenidos en los cuatro ensayos realizados para el manganeso son las siguientes:

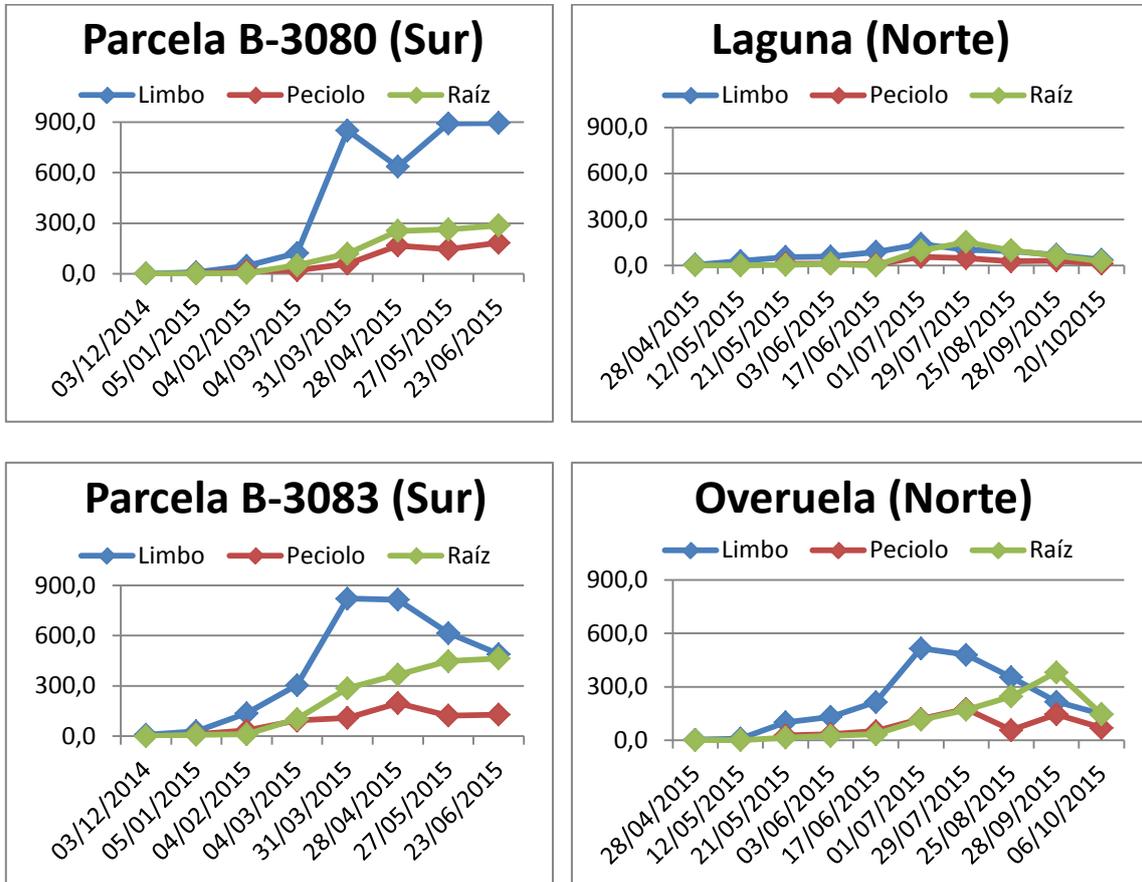


Figura 34. Comparación de la cantidad de manganeso absorbido por los distintos órganos de la planta en los cuatro ensayos realizados. Las unidades en todos los casos son g/ha. En cada punto n=4.

Como se puede observar, la parcela que menor contenido en manganeso presenta es Laguna no superando los 300 g/ha. En todos los ensayos el órgano que menor contenido en manganeso presenta es el peciolo no superando en ninguno de los casos los 300 g/ha mientras que el que mayor contenido presenta es el limbo en todos los ensayos durante prácticamente todo el ciclo.

La diferencia entre los ensayos del sur y los del norte es más que apreciable, en el norte el contenido de manganeso siempre es inferior a 600 g/ha mientras que en el sur supera los 800 g/ha.

4.3.7-Cobre (Cu)

Los gráficos de evolución temporal obtenidos en los cuatro ensayos realizados para el cobre son las siguientes:

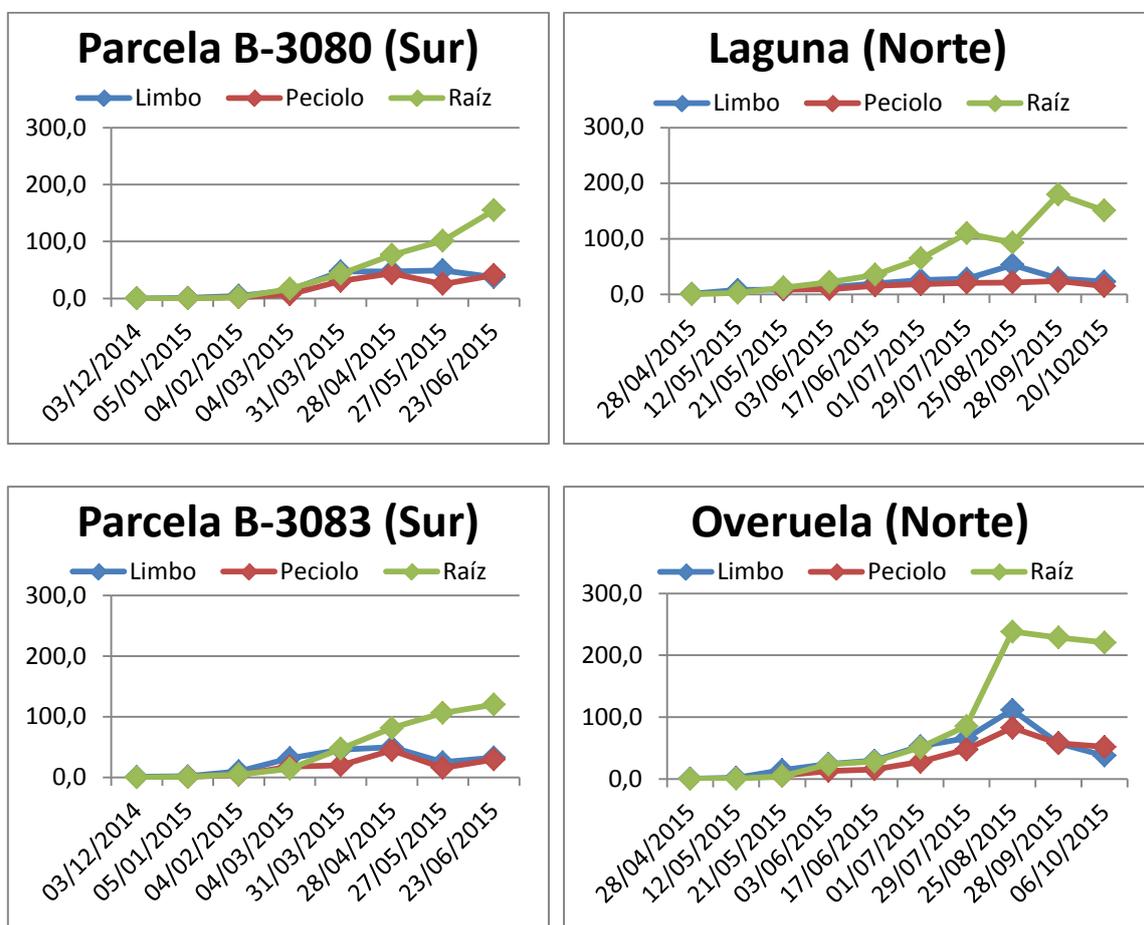


Figura 35. Comparación de la cantidad de cobre absorbido por los distintos órganos de la planta en los cuatro ensayos realizados. Las unidades en todos los casos son g/ha. En cada punto n=4.

Como se puede observar, el órgano que mayor cantidad de cobre presenta es la raíz. El peciolo y el limbo se mantienen prácticamente constantes presentando en la mayoría de los casos valores inferiores a 100 g/ha y son muy similares en todos los ensayos a lo largo del ciclo. La parcela que mayor contenido en cobre presenta es Overuela superando los 200 g/ha.

Se observa mucha diferencia en la evolución temporal del contenido de cobre en la raíz entre el norte y el sur, en el sur aumenta poco a poco hasta el final del ciclo mientras que en el norte presenta un aumento mucho más acusado en ciertos muestreos del ciclo.

4.3.8-Zinc (Zn)

Los gráficos de evolución temporal obtenidos en los cuatro ensayos realizados para el zinc son las siguientes:

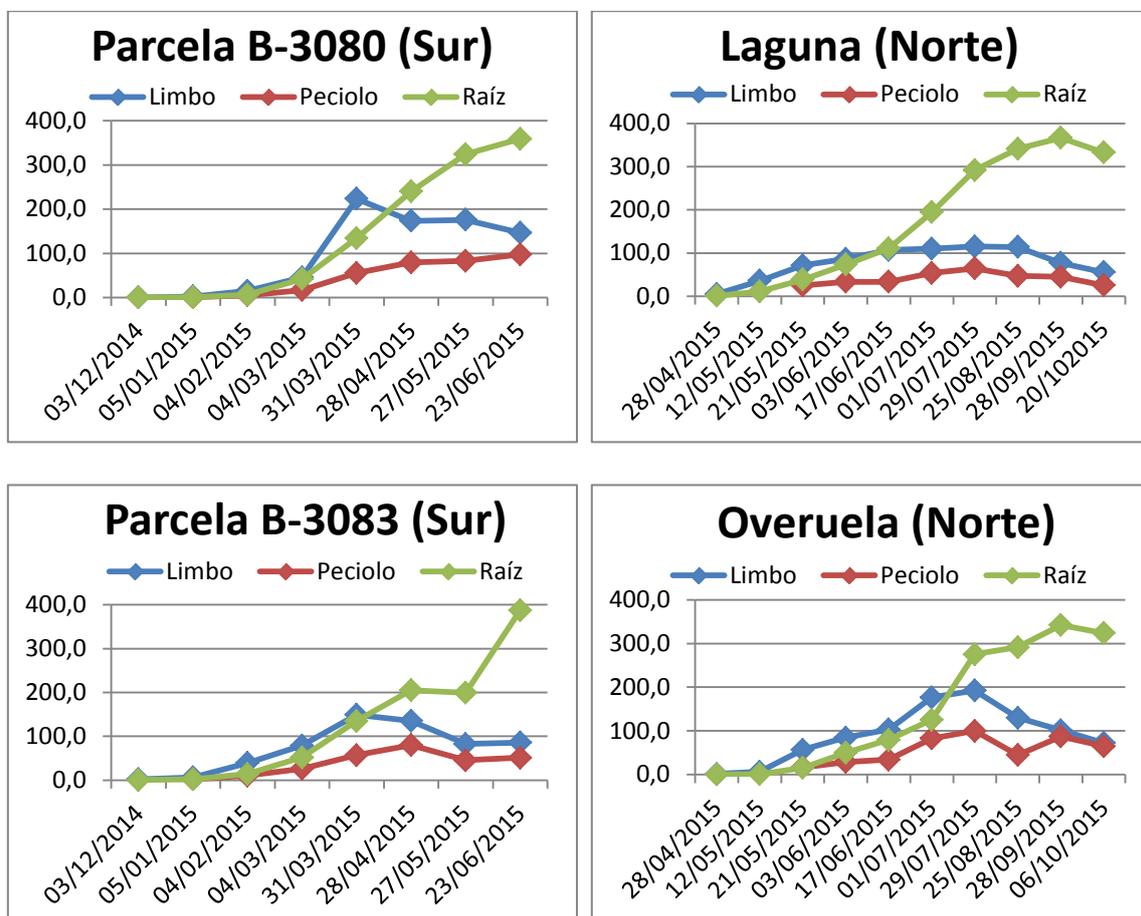


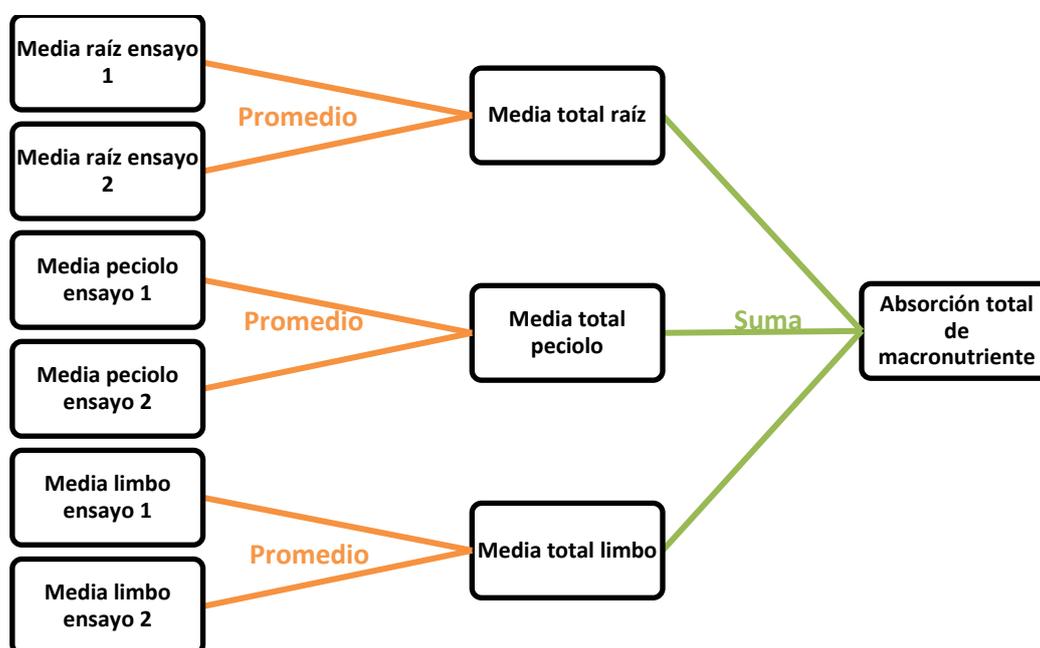
Figura 36. Comparación de la cantidad de zinc absorbido por los distintos órganos de la planta en los cuatro ensayos realizados. Las unidades en todos los casos son g/ha. En cada punto n=4.

Como se puede observar, el órgano que mayor contenido de zinc presenta prácticamente a lo largo de todo el ciclo es la raíz en todos los ensayos. Por otro lado, la cantidad absorbida en peciolo y limbo no supera prácticamente en ningún muestreo los 200 g/ha.

A penas hay diferencias entre el norte y el sur ya que todos los ensayos están dentro del mismo orden en los respectivos órganos de la planta. La única diferencia apreciable es que en el sur el contenido de zinc en la raíz aumenta hasta el final del ciclo mientras que en el norte disminuye un poco al final del ciclo.

4.4-Comparación de la absorción total de macronutrientes entre el norte y el sur.

En este apartado se va a realizar una comparación intra-zonal de la absorción total de los macronutrientes a lo largo del ciclo de cultivo. Para esto, en primer lugar, se realiza una media entre los resultados obtenidos en los ensayos del norte y del sur, respectivamente; a continuación se suman las contribuciones de raíz peciolo y limbo en cada muestreo (tal y como se muestra en el esquema); por último se transforman los resultados a unidades de fertilizante, siendo estos N para el nitrógeno, P₂O₅ para el fósforo, CaO para el calcio, MgO para el magnesio y K₂O para el potasio.



A continuación se muestran las tablas (Tablas 15-16) con los cálculos ya realizados y, por tanto, con los datos necesarios para hacer la comparación de la absorción total entre las dos zonas de España y el gráfico de comparación (Figura 37).

Sur					
Fecha	N (kg/Ha)	P ₂ O ₅ (kg/Ha)	CaO (kg/Ha)	MgO (kg/Ha)	K ₂ O (kg/Ha)
03/12/2014	1,40	0,139	0,515	0,257	0,489
05/01/2015	6,45	1,17	4,19	2,93	6,26
04/02/2015	49,2	8,42	17,2	18,6	47,9
04/03/2015	127	23,0	52,1	44,8	197
31/03/2015	302	55,5	98,6	105	598
28/04/2015	280	64,8	161	127	926
27/05/2015	242	75,8	176	116	877
23/06/2015	250	90,5	205	123	876

Tabla 15. Absorción total de nutrientes en la zona sur en forma de fertilizante.

Norte					
Fecha	N (kg/Ha)	P ₂ O ₅ (kg/Ha)	CaO (kg/Ha)	MgO (kg/Ha)	K ₂ O (kg/Ha)
28/04/2015	2,73	0,980	1,74	1,13	5,01
12/05/2015	27,5	4,42	6,27	4,71	31,7
21/05/2015	80,4	21,9	41,3	29,5	184
03/06/2015	111	26,7	68,1	48,3	238
17/06/2015	168	42,3	87,5	62,7	345
01/07/2015	287	68,1	161	114	539
29/07/2015	379	96,6	233	150	718
25/08/2015	404	103	182	152	631
28/09/2015	368	81,1	162	132	524
20/10/2015	350	53,0	134	130	517

Tabla 16. Absorción total de nutrientes en la zona norte en forma de fertilizante.

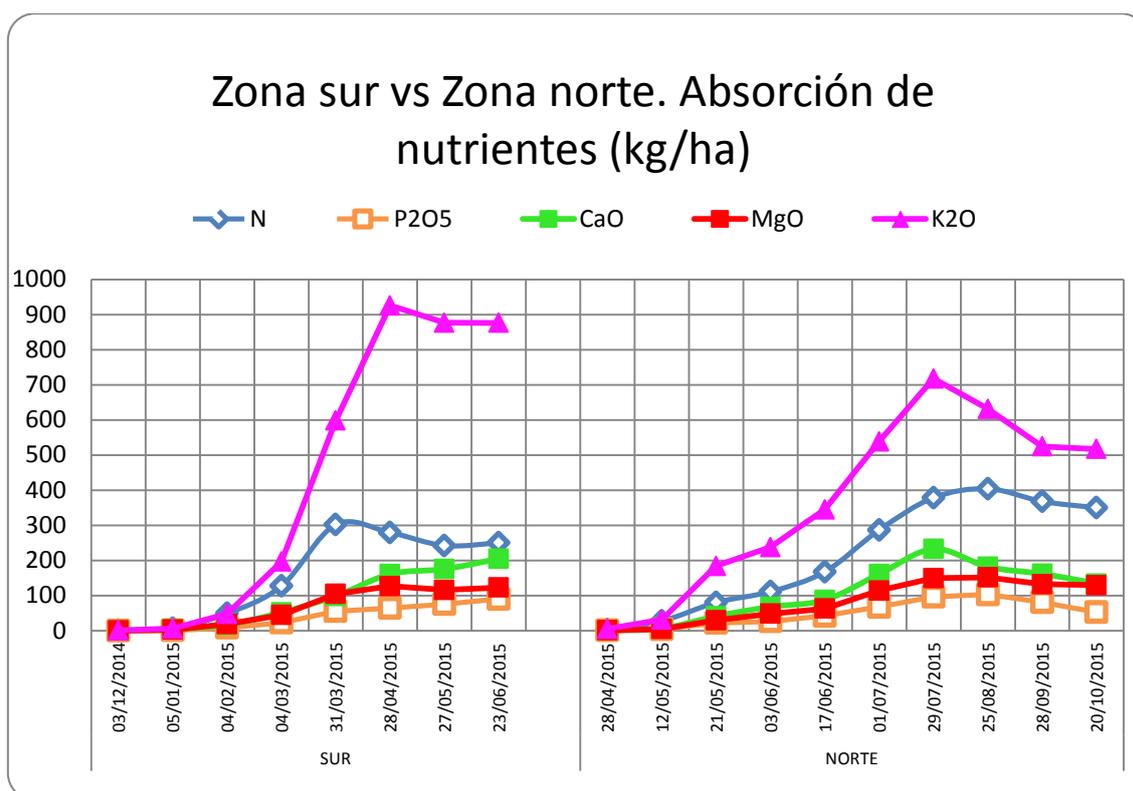


Figura 37. Comparación de la absorción de nutrientes en la zona norte y en la zona sur. Todos los resultados están expresados en kg/ha. Para cada punto n=8.

La cantidad absorbida por la planta de P_2O_5 , de MgO y de CaO se encuentra dentro del mismo rango en las dos zonas, mientras que la de N y K_2O es muy diferente. Analizamos cada nutriente por separado para poder observar mejor las diferencias entre las zonas:

- **Nitrógeno (N).**

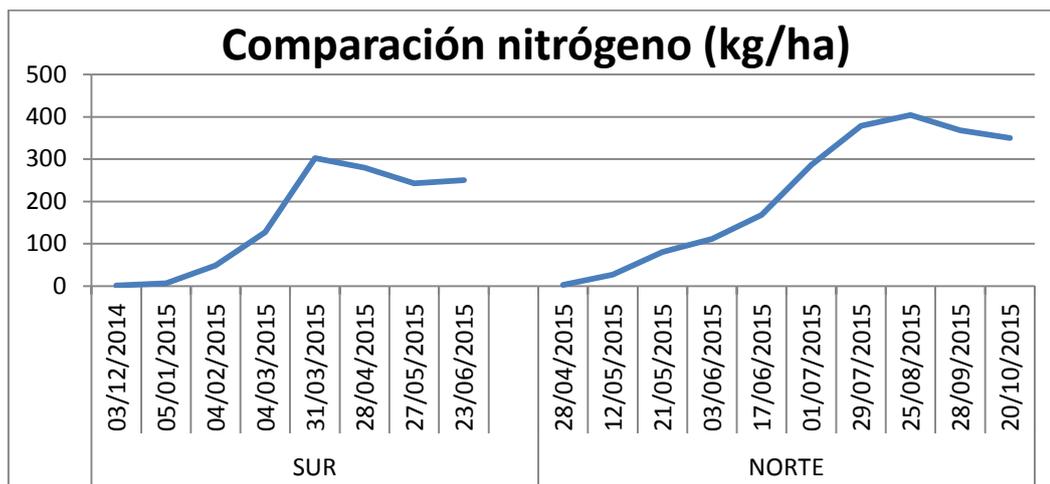


Figura 38. Comparación de la absorción de nitrógeno en la zona norte y en la zona sur. Todos los resultados están expresados en kg/ha. En cada punto n=8.

La absorción de nitrógeno en el norte es más elevada que en el sur, sin embargo en ambas zonas la evolución temporal es similar, aumenta hasta aproximadamente la mitad del ciclo y luego comienza a disminuir.

- **Fósforo (P_2O_5).**

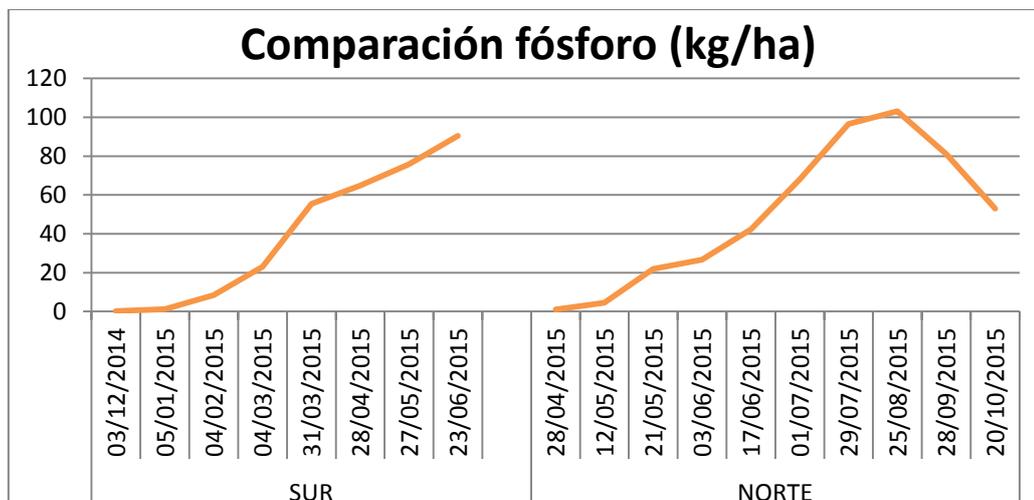


Figura 39. Comparación de la absorción de fósforo en la zona norte y en la zona sur. Todos los resultados están expresados en kg/ha. En cada punto n=8.

La absorción de fósforo en el norte y en el sur es muy diferente ya que en el sur la planta absorbe hasta el final del ciclo, mientras que en el norte absorbe hasta aproximadamente la mitad del ciclo y después comienza a disminuir. En cuanto a rango son similares, siendo en ambas zonas del orden de 100 kg/ha.

- **Calcio (CaO).**

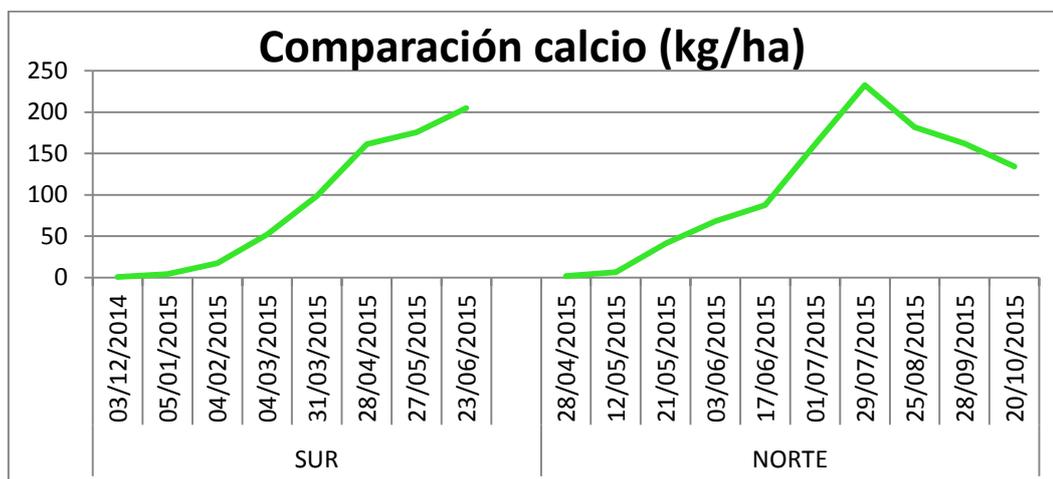


Figura 40. Comparación de la absorción de calcio en la zona norte y en la zona sur. Todos los resultados están expresados en kg/ha. En cada punto n=8.

Al igual que en el fósforo, la absorción de calcio en el norte y en el sur es muy diferente ya que en el sur la planta absorbe hasta el final del ciclo, mientras que en el norte absorbe hasta aproximadamente la mitad de ciclo y después comienza a disminuir. En cuanto a rango son similares, siendo en ambas zonas del orden de 200 kg/ha.

- **Magnesio (MgO).**

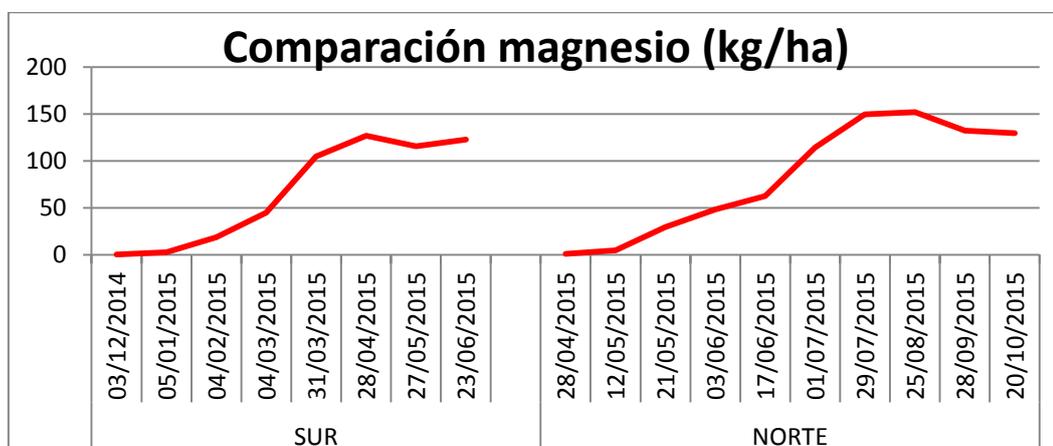


Figura 41. Comparación de la absorción de magnesio en la zona norte y en la zona sur. Todos los resultados están expresados en kg/ha. En cada punto n=8.

La absorción de magnesio es prácticamente igual en el norte y en el sur, la evolución temporal es muy similar aumentando hasta aproximadamente la mitad del ciclo y disminuyendo al final. El rango es algo superior en el norte que en el sur siendo la diferencia no superior a 30 kg/ha.

- **Potasio (K₂O).**

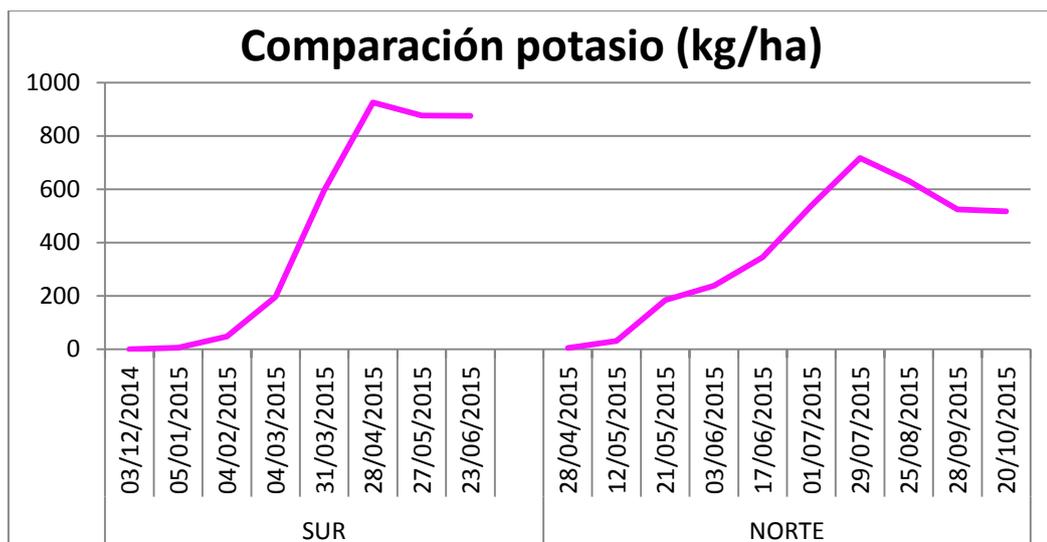


Figura 42. Comparación de la absorción de potasio en la zona norte y en la zona sur. Todos los resultados están expresados en kg/ha. En cada punto n=8.

La absorción de potasio en el norte y en el sur es completamente diferente. En cuanto al rango, la absorción en el sur es unos 300 kg/ha superior a la del norte. Por otro lado, en ambas zonas la absorción aumenta hasta aproximadamente la mitad del ciclo y se mantiene prácticamente constante en el sur, mientras que en el norte disminuye unos 200 kg/ha hasta el final del ciclo.

Capítulo 5

Conclusiones

Se ha llevado a cabo un estudio para aportar información acerca del contenido y absorción de nutrientes principales (N, P, Ca, Mg, K) y de nutrientes secundarios (Mn, Cu, Zn) para la planta de remolacha azucarera, en muestras de remolacha procedentes de cuatro ensayos, seleccionados en base a su rendimiento, procedentes de dos zonas geográficas de España (dos ensayos del norte, en Valladolid y dos ensayos del sur, en Sevilla), con el fin último de establecer alguna relación entre los distintos parámetros así como entre las dos zonas geográficas.

Las muestras en un total de 408, fueron tomadas en diferentes momentos del ciclo de cultivo de la remolacha azucarera, en periodos que oscilan entre los 15 días (al principio del ciclo) y un mes (a partir de la mitad del ciclo). El total de las muestras fue muestreado por el equipo de AIMCRA.

Los contenidos totales fueron determinados mediante espectrometría de absorción atómica excepto para el fósforo que se determinó mediante espectrometría de absorción UV-Vis y para el nitrógeno que se determinó mediante el método Kjeldahl.

Dentro de los macronutrientes, el elemento que se presenta en mayor cantidad es el potasio (K) y el elemento que se presenta en menor cantidad es el fósforo (P). Por otro lado, dentro de los micronutrientes, el elemento que se presenta en mayor cantidad es el manganeso (Mn) y el elemento que se presenta en menor cantidad es el cobre (Cu).

En la evolución temporal se observa que, el nitrógeno (N), el calcio (Ca) y el magnesio (Mg) alcanzan valores más elevados en el ensayo de la Overuela del norte; mientras que el potasio (K) alcanza valores más elevados en el ensayo B-3080 de sur. En cuanto a la absorción por órgano, generalmente es la raíz la que mayor absorción presenta y el peciolo el que menos, excepto para el calcio (Ca) y el manganeso (Mn) para los que el órgano que mayor absorción presenta es el limbo, y para el potasio (K) donde la mayor absorción la presenta el peciolo y la raíz y el limbo se mantienen constantes a lo largo del ciclo.

La tendencia general de los diferentes nutrientes en los distintos órganos es a aumentar hasta el final del ciclo o a aumentar hasta la mitad del ciclo y luego mantenerse constantes o incluso disminuir. Las diferencias entre los ensayos del norte y del sur es en casi todos los nutrientes más que apreciable excepto para el magnesio (Mg) donde apenas hay diferencia entre las dos zonas geográficas.

En la comparación de la absorción total de macronutrientes entre el norte y el sur se observa que, el fósforo (P_2O_5), el magnesio (MgO) y el calcio (CaO) se presentan en el mismo rango en ambas zonas geográficas, mientras que el nitrógeno (N) y el potasio (K_2O) se presentan en rangos muy diferentes entre las dos zonas.

Para el nitrógeno (N), la absorción es mayor en el norte que en el sur pero la forma que presenta la evolución temporal es parecida en ambas zonas. Para el fósforo (P_2O_5) y el calcio (CaO), la absorción es muy similar en las dos zonas mientras que la forma que presenta la evolución temporal es muy distinta. Para el magnesio (MgO), la absorción es muy similar en las dos zonas y la forma que presenta la evolución temporal también es muy parecida. Para el potasio (K_2O), la absorción es mayor en el sur que en el norte y la forma que presenta la evolución temporal es muy distinta en ambas zonas.

Capítulo 6

Bibliografía

- * Arnon, D. I., & Stout, P. R. (1939). The essentiality of certain elements in minute quantity for plants with special reference to copper. *Plant physiology*, 14(2), 371.
- * Black, C. A. (1968). Soil-plant relationships. *Soil-plant relationships.*, (2nd ed.).
- * Blaya, S. N., & García, G. N. (2003). *Química agrícola: el suelo y los elementos químicos esenciales para la vida vegetal*. Mundi-Prensa Libros.
- * Brennan, R. F., Armour, J. D., & Reuter, D. J. (1993). Diagnosis of zinc deficiency. In *Zinc in soils and plants* (pp. 167-181). Springer Netherlands.
- * Caballero, R., Carmona, L., Casas, T., & Cires Segura, A. D. (2005). Actividad nitrato reductasa en relación con la nutrición nitrogenada y el régimen de riego en plantas de remolacha azucarera (*Beta vulgaris* L.) de siembra otoñal.
- * Departamento de Química Analítica. *Apuntes de Control y Gestión de la Calidad*. Curso 2014-2015.
- * Departamento de Química Analítica. *Apuntes de Técnicas instrumentales*. Curso 2013-2014.
- * Epstein, E. (1972). *Mineral nutrition of plants: principles and perspectives*.
- * Hewitt, E. J. (1963). The essential nutrient elements: requirements and interactions in plants. *Plant physiology*, 3, 137-360.
- * Instrucción técnica IT06-PC09 (2015). Determinación de macronutrientes por absorción atómica.
- * Instrucción técnica IT08-PC09 (2015). Calcinación en mufla y dilución con ácido clorhídrico.
- * Instrucción técnica IT15-PC09 (2015). Determinación de micronutrientes por absorción atómica.
- * Instrucción técnica IT16-PC09 (2015). Determinación de fósforo mediante espectroscopia de UV-Vis.
- * Instrucción técnica IT20-PC09 (2015). Determinación de nitrógeno total mediante el método Kjeldahl.
- * Jarrell, W. M., & Beverly, R. B. (1981). The dilution effect in plant nutrition studies. *Advances in agronomy*, 34(1), 197-224.
- * Kabata-Pendias, A. (2010). *Trace elements in soils and plants*. CRC press.
- * Marschner, H. (2011). *Marschner's mineral nutrition of higher plants*. Academic press.
- * Maynard, D. N., & Barker, A. V. (1979, June). Regulation of nitrate accumulation in vegetables. In *Symposium on Quality of Vegetables 93* (pp. 153-162).
- * Miller, J. N. M., & Jane, C. (2002). *Estadística y quimiometría para química analítica* (No. 543.062: 519.23 MIL).

- * Norma UNE 77318 (2001). Calidad del suelo. Determinación de nitrógeno total. Método Kjeldahl modificado.
- * Ohki, K. (1987). Physiology: Critical nutrient levels related to plant growth and some physiological processes. *Journal of plant nutrition*, 10(9-16), 1583-1590.
- * Skoog, D. A., Holler, F. J., & Nieman, T. A. (2001). Principios de análisis instrumental.
- * Soler Rovira, J., & Arroyo Sanz, J. M. (2008). Indicadores del estado nutricional del cultivo en la fertilización nitrogenada de la remolacha azucarera. *Tierras de Castilla y León*, 150, 62-68.
- * Vázquez, M. F. (1997). Abonado de la remolacha azucarera. *Vida rural*, (52), 36-37.
- * Western Plant Health Association. (2010). *Western fertilizer handbook*. Waveland Press.