



UNIVERSIDAD DE ALMERÍA
Escuela Superior de Ingeniería

*CULTIVO DE ESCAROLA (Cichorium endivia L.) EN UNA
ZONA VULNERABLE DE CONTAMINACIÓN POR
NITRATOS*

Autora: María Teresa Carrión García

Directores:

Joaquín Hernández Rodríguez

Elisa M. Suarez Rey

Julio 2011

UNIVERSIDAD DE ALMERÍA

ESCUELA SUPERIOR DE INGENIERÍA

INGENIERÍA TÉCNICA AGRÍCOLA

TITULO:

CULTIVO DE ESCAROLA (*Cichorium endivia* L.) EN UNA ZONA VULNERABLE DE CONTAMINACIÓN POR NITRATOS.

MODALIDAD:

PROYECTO MONOGRÁFICO.

La alumna:

María Teresa Carrión García

Los directores:

Joaquín Hernández Rodríguez

Elisa M. Suárez Rey

Este trabajo ha sido desarrollado en el marco del Proyecto de Investigación INIA RTA2008-00081-C05-05 “El uso eficiente del nitrógeno en las rotaciones hortícolas”.

**Dedicado a mi maravillosa familia
y a mis queridos amigos.**

Quisiera expresar mi agradecimiento a:

En primer lugar, quiero resaltar a la persona que abrió el camino de esta inolvidable aventura, el Dr. Joaquín Hernández, profesor, director y amigo.

A mi directora, la Dra. Elisa M^a Suárez- Rey por dirigir el proyecto de forma tan profesional y por ofrecerme la orientación que necesitaba.

A D. Jose M^a Montosa, técnico del ensayo, por enseñarme, sobre todo, a trabajar en campo.

A la Dra. Teresa Soriano, directora del IFAPA Camino de Purchil (Granada) y al Dr. Nicolás Castilla, jefe del Departamento de Horticultura del mismo, por facilitar mi estancia en el centro.

A los Doctores Luis Romero y Juan M. Ruíz, profesores del Departamento de Fisiología Vegetal de la Facultad de Ciencias de Granada, por poner a mi disposición el material y conocimientos necesarios para la realización de los experimentos de laboratorio.

A los trabajadores del IFAPA por colaborar en mi trabajo de forma responsable y eficaz.

A mis compañeras Rocío, Lorena y Mercedes, por prestarme su ayuda siempre que lo he necesitado

Y por supuesto, a las compañeras Eva y M^a del Mar, biólogas del Dpto. de Fisiología Vegetal de la Facultad de Ciencias de Granada, por estar pendientes de mí en todo momento

A todos ellos, gracias.

Índices

Índice general

1. Interés y objetivos.	7
2. Revisión bibliográfica.	
2.1. La agricultura y el uso de fertilizantes nitrogenados.	11
2.2. El papel del nitrógeno como contaminante ambiental: Las Zonas Vulnerables a la Contaminación por Nitratos (ZVCN)	11
2.3. Los nitratos y sus efectos adversos sobre la salud humana.	13
2.4. Optimización de la fertilización nitrogenada.	14
2.5. La lixiviación de los nitratos	15
2.6. Uso de medidores de clorofila para estimar el contenido de N foliar.	15
2.7. Relación entre el contenido de nitratos en hoja y la concentración de carotenoides	17
2.8. Metabolismo de los compuestos nitrogenados en la planta	18
2.9. El acolchado de suelos con materiales plásticos.	19
2.10. Las cubiertas flotantes	21
2.11. El cultivo de la escarola.	24
3. Material y métodos.	25
3.1 Descripción general de los ensayos.	26
3.1.1. Situación y características edafoclimáticas del área de cultivo.	26
3.1.2. Experimentos.	28
3.1.2.1 Experimento 1: Efecto del acolchado y la cubierta flotante	28
3.1.2.2. Experimento 2: Efecto de la dosis de nitrógeno.	28
3.2. Manejo agronómico del cultivo.	29
3.2.1. Material vegetal y calendario.	29
3.2.2. Riego y fertilización.	30
3.3. Estudio del crecimiento.	31
3.3.1. Procedimiento en campo.	32

3.3.2. Procedimiento en laboratorio.	32
3.3.3. Índices de crecimiento.	32
3.4. Determinación del nitrógeno.	33
3.4.1. Suelo	33
3.4.2. Planta	
3.5. Determinación de pigmentos fotosintéticos.	33
3.5.1. Análisis de pigmentos.	33
3.5.2. Medidas de transmisión/absorción mediante SPAD.	34
3.6. Actividad de la enzima nitrato reductasa y análisis de aminoácidos solubles y proteínas.	34
3.7. Caracterización microclimática.	35
3.8. Diseño estadístico.	35
4. Resultados y discusión.	36
4.1.- Experimento 1: Efecto del acolchado y de una cubierta flotante sobre el cultivo de escarola.	37
4.1.1. Condiciones microclimáticas	37
4.1.1.1 Radiación	37
4.1.1.2 Temperaturas de aire y suelo	38
4.1.1.3 Déficit de presión de vapor	40
4.1.2. Contenido de nitratos en suelo y planta	41
4.1.3. Pigmentos fotosintéticos: clorofila <i>a</i> , clorofila <i>b</i> , clorofila total y carotenos	44
4.1.4. Parámetros de crecimiento	46
4.1.5 Producción comercial	49
4.1.6 Relación entre las medidas de SPAD y los parámetros de crecimiento.	50
4.1.6.1. SPAD y Nitratos en planta	51
4.1.6.2. SPAD y pigmentos fotosintéticos	52
4.2.-Experimento 2: Efecto de la dosis de nitrógeno en el cultivo de escarola.	54
4.2.1. Contenido de nitratos en planta	54
4.2.2. Pigmentos fotosintéticos: clorofila <i>a</i> , clorofila <i>b</i> ,	

clorofila total y carotenos	55
4.2.3. Nitrato reductasa, proteínas y aminoácidos solubles.	56
4.2.4. Parámetros de crecimiento	57
4.2.5. Producción comercial	59
4.2.6. Relación entre las medidas de SPAD y los parámetros de crecimiento.	59
4.2.6.1. SPAD y Nitratos en planta	59
4.2.6.2. SPAD y Nitrógeno en suelo	61
4.2.6.3. SPAD y biomasa	62
4.2.6.4. SPAD y pigmentos fotosintéticos	62
5. Conclusiones	64
6. Bibliografía	66

Indice de figuras

Figura		Pág.
1	Metabolismo nitrogenado. Cortesía de Eva Sánchez Rodríguez. Dpto. Fisiología Vegetal de la Facultad de Ciencias de Granada (2011).	18
EXPERIMENTO 1		
2	Evolución de la radiación global incidente. En el tratamiento con cubierta de agrotexil (AC+CF), el sensor estuvo colocado bajo la misma desde el día 284 hasta el día 321.	37
3	Evolución de las temperaturas medias del aire en el ensayo de cubierta.	38
4	Evolución de las temperaturas máximas (líneas continuas) y mínimas (líneas discontinuas) del aire en el ensayo de cubierta.	39
5	Evolución de las temperaturas medias del suelo, medidas a 10 cm de profundidad, en el ensayo de cubierta.	40
6	Evolución del déficit de presión de vapor (DPV) medio en el ensayo de cubierta.	41
7	Evolución de la biomasa en el ensayo de cubierta.	46
8	Evolución del índice de área foliar en el ensayo de cubierta.	47
9	Relación entre el incremento de biomasa y días desde trasplante en el ensayo de cubierta.	50
10	Evolución de las medidas SPAD en el ensayo de cubierta. Los valores representados proceden de la media de 15 repeticiones \pm la desviación estándar.	50
11	Relación entre la concentración de nitratos en hoja fresca (mg Kg^{-1}) y las medidas de SPAD registrados para el ensayo de cubierta. Los datos representan la media de tres medidas.	51
12	Relación entre la concentración de clorofilas y los valores SPAD en el ensayo de cubierta.	53
EXPERIMENTO 2		
13	Relación entre contenido medio final de nitratos en hoja en el momento de cosecha y el N mineral disponible para la planta ($r = 0,997$). Los valores representan la media de tres repeticiones	54
14	Evolución de la biomasa en el ensayo de abonado.	58
15	Evolución del índice de área foliar (IAF) en el ensayo de abonado.	58
16	Evolución de las medidas SPAD. Los valores representados proceden de la media de 15 repeticiones \pm la desviación estándar. “**” indica diferencias significativas entre N1 y N0 ($p = 0,0091$).	60
17	Relación entre la concentración de nitratos en hoja y unidades SPAD en el ensayo de abonado. Medidas tomadas durante	60

	todo el ciclo. Cada punto representado es la media de tres repeticiones.	
18	Relación entre el N mineral disponible y las unidades SPAD para cada muestreo. Cada punto representado es la media de tres repeticiones.	61
19	Relación entre la biomasa (CDW) y unidades SPAD en el ensayo de abonado. Medidas tomadas durante todo el ciclo. Cada punto representado es la media de tres repeticiones.	62
20	Relación entre el contenido total de clorofila extraída (clorofila <i>a</i> + clorofila <i>b</i>) y las unidades SPAD para cada muestreo del ensayo de abonado.	63

Índice de tablas

Tabla		Pág.
1	Características físico-químicas del suelo en la parcela experimental (0-60 cm de profundidad)	27
2	Análisis químico del agua de riego al inicio del ensayo	27
3	Aportes previstos en el agua de riego según la solución ideal	31
4	Dotación de riego y abonado nitrogenado totales	31

EXPERIMENTO 1

5	Concentración media de nitratos (mmol L^{-1}) obtenido a la profundidad de 0-30 cm	42
6	Concentración media de nitratos (mmol L^{-1}) obtenido a la profundidad de 30-60 cm	43
7	Concentración media de nitratos (mmol L^{-1}) obtenido a la profundidad de 60-90 cm	43
8	Evolución de la concentración de nitratos ($\text{mg NO}_3^- \text{Kg}^{-1}$ p.f.) en el ensayo de cubierta.	44
9	Evolución de la concentración de clorofila <i>a</i> (mg m^{-2} hoja) en el ensayo de cubierta. Los datos proceden de la media de 27 repeticiones.	45
10	Evolución de la concentración de clorofila <i>b</i> (mg m^{-2} hoja) en el ensayo de cubierta. Los datos proceden de la media de 27 repeticiones.	45
11	Evolución de la concentración de clorofila total (mg m^{-2} hoja) en el ensayo de cubierta. Los datos proceden de la media de 27 repeticiones.	45
12	Evolución de la concentración de carotenoides (mg m^{-2} hoja) en el ensayo de cubierta. Los datos proceden de la media de 27 repeticiones.	45
13	Biomasa e índice de área foliar en el momento de cosecha, en el ensayo de cubierta.	48
14	Superficie foliar específica media en el momento de cosecha, en el ensayo de cubierta.	48
15	Producción comercial en el ensayo de cubierta.	49

EXPERIMENTO 2

16	Evolución de la concentración de nitratos (mg Kg^{-1} p.f.) en el ensayo de abonado.	55
17	Evolución de la concentración de clorofila <i>a</i> (mg m^{-2} hoja) en el ensayo de abonado. Los datos proceden de la media de 27 repeticiones.	55
18	Evolución de la concentración de clorofila <i>b</i> (mg m^{-2} hoja) en el ensayo de abonado. Los datos proceden de la media de 27 repeticiones.	55
19	Evolución de la concentración de clorofila total (mg m^{-2} hoja) en el ensayo de abonado. Los datos proceden de la media de 27 repeticiones.	56
20	Evolución de la concentración de carotenoides (mg m^{-2} hoja) en el ensayo de abonado. Los datos proceden de la media de 27 repeticiones.	56
21	Actividad de la enzima nitrato reductasa ($\text{mmol NO}_2^- \text{ minuto}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ proteína) \pm la desviación estándar a los 56 ddt. Los datos proceden de la media de 27 repeticiones	56
22	Contenido en proteínas y aminoácidos solubles (g m^{-2}) \pm la desviación estándar a los 56 ddt	57
23	Superficie foliar específica (SFE) \pm desviación estándar de tres dosis de N en el ensayo de abonado. Los datos proceden de la media de tres repeticiones.	58
24	Producción comercial en el ensayo de abonado.	59
25	Valores del coeficiente de determinación (R^2) calculado para la relación lineal entre el N mineral disponible y unidades SPAD en cada uno de los muestreos realizados	61
26	Valores del coeficiente de determinación (R^2) calculado para la relación lineal entre el contenido total de clorofila extraída (clorofila <i>a</i> + clorofila <i>b</i>) y unidades SPAD en cada uno de los muestreos realizados	63

Interés y objetivos

La Vega de Granada ha sido catalogada como zona vulnerable de contaminación de nitratos y por tanto el cultivo de especies hortícolas tiene que realizarse bajo un conjunto de técnicas que minimicen la lixiviación de fertilizantes nitrogenados que provocan la contaminación de los acuíferos. Conocer la dinámica de la asimilación del nitrógeno y utilizar técnicas de cultivo que limiten las necesidades de riego y el aporte de fertilizantes puede resultar útil para minimizar el impacto de la fertilización nitrogenada. Los acolchados de suelo y/o las cubiertas flotantes reducen la evaporación de agua desde el suelo y las necesidades de riego. Además la modificación en el régimen térmico del suelo favorece los procesos de nitrificación y la absorción de los elementos fertilizantes, por lo que se aumenta la eficiencia en la extracción de nutrientes.

Las hortalizas aprovechables por sus hojas suelen ser acumuladoras de nitratos y se han establecido, por normativa, límites en la concentración de este ión para buena parte de estos productos. Una fertilización excesiva en nitrógeno o ciertas técnicas de cultivo pueden aumentar estas concentraciones y hacer el producto no comercial.

La concentración de pigmentos fotosintéticos se ha relacionado con la concentración foliar de nitrógeno, por lo que de una forma indirecta se podría conocer la carencia o exceso de este elemento en planta mediante la medida de dichos pigmentos. El análisis de pigmentos es un procedimiento de laboratorio y no es una medida inmediata ni que pueda realizarse in situ. El SPAD es un equipo para estimar de modo indirecto el contenido de clorofilas que ofrece lecturas rápidas y no precisa de gran cualificación para su utilización. Aunque en algunos cultivos se han establecidos buenas relaciones entre las medidas de SPAD y la concentración de clorofilas o de nitrógeno en planta para otros se muestra como una técnica poco eficiente.

Es por esto que los objetivos que se han planteado en este estudio son:

- Analizar los efectos del acolchado plástico de suelo y la cubierta flotante sobre el cultivo, desarrollo y producción de escarola, evaluando la cantidad de nitratos en hojas bajo estas condiciones.

- Estudiar distintas dosis de abonado nitrogenado en el cultivo de escarola.

- Evaluar la utilidad del SPAD como técnica de monitoreo de la escarola.

Revisión bibliográfica

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. La agricultura y el uso de fertilizantes nitrogenados.

El nitrógeno (N) forma parte de los elementos esenciales para el crecimiento de las plantas y con frecuencia es el nutriente más limitante en la mayoría de los suelos agrícolas (Daughtry *et al.*, 2000; Samborski *et al.*, 2009). Sin el aporte de fertilizantes nitrogenados no hubiese sido posible el incremento en la producción de los cultivos en la agricultura moderna (Balasubramanian *et al.*, 2004). La aplicación excesiva de fertilizantes nitrogenados es una práctica común para asegurar la disponibilidad del elemento pero no es sostenible desde el punto de vista medioambiental (Schröder *et al.*, 2000; Scharf y Lory, 2009). Normalmente, hasta un máximo del 50% del N mineral aportado a un cultivo es recuperado por las plantas y el resto se disipa al medioambiente causando impactos adversos (Balasubramanian *et al.*, 2004). Los nitratos procedentes de la actividad agrícola contribuyen a la contaminación de ecosistemas acuáticos y de las aguas subterráneas (Samborski *et al.*, 2009, Thompson *et al.*, 2009).

La fertilización debe aportar los nutrientes en cantidad suficiente para garantizar una producción óptima y una calidad del producto adecuada (Cartelat *et al.*, 2005) pero se ha de encontrar el equilibrio entre la aplicación de nitrógeno a los cultivos y la conservación del medioambiente (Daughtry *et al.*, 2000). El objetivo debe ser el de lograr ajustar las tasas de aplicación (Cartelat *et al.*, 2005; Samborski *et al.*, 2009), para realizar los aportes de fertilizante en función de la disponibilidad espacial y temporal del nutriente, y así reducir las pérdidas de nitratos por lixiviación y, por tanto, incrementar la eficacia del uso del nitrógeno (Sripada *et al.*, 2008; Biermarcher *et al.*, 2009).

2.2. El papel del nitrógeno como contaminante ambiental: Las Zonas Vulnerables a la Contaminación por Nitratos (ZVCN)

El impacto del nitrógeno derivado de su uso excesivo en la agricultura es cada vez más preocupante. En un reciente informe de la Agencia Europea del Medio Ambiente (EEA, 2007) se menciona que, aunque la aplicación media de fertilizantes nitrogenados en los últimos años ha descendido, los nitratos provenientes de los abonos

orgánicos y de los fertilizantes aún continúan contaminando las fuentes de agua potable y las zonas costeras y marinas. Se ha estimado que la agricultura es responsable de alrededor del 50% del consumo de agua y que contribuye en un 50% al aporte total de N a los ríos de Europa (EEA, 2006). Otro estudio de la EEA sobre balances de N en Europa señala que los excedentes de N (diferencias entre aportes al suelo y extracciones por las plantas) en el período 1990-2000 han disminuido, pero que los valores actuales oscilan entre 37 y 226 kg N ha⁻¹. En España desde 1990 los excedentes han crecido un 47% (EEA, 2005) El Ministerio de Medio Ambiente señala que la contaminación de las aguas subterráneas por nitrato supone una gran preocupación y que esta contaminación es debida principalmente a la agricultura (MMA, 2006). Ello es debido a la realización de unas prácticas de cultivo inadecuadas, principalmente debido al manejo inadecuado del riego y el abonado.

Para controlar y regular este problema medioambiental se han desarrollado varias normativas. A nivel europeo, la Directiva Europea 91/676/CEE del Consejo, de 12 de diciembre de 1991, obliga a los estados miembros de la Unión a realizar controles de las aguas superficiales y subterráneas e identificar las zonas vulnerables y establecer planes de actuación para tales zonas. Esta Directiva ha sido trasladada a la normativa española por el Real Decreto 261/1996, de 16 de febrero, sobre protección de las aguas contra la contaminación producida por los nitratos procedentes de fuentes agrarias (BOE núm 61, de 11 de marzo). En Andalucía, el Decreto 36/2008, de 20 de febrero, designó 22 zonas vulnerables por contaminación de nitratos en la Comunidad Autónoma (BOJA núm 36, 2008), entre las cuales se encuentra la Vega de Granada. Después, la Orden de 7 de julio de 2009 aumentó esa cifra a 24 zonas (BOJA núm 157, 2009) y la Orden de 8 de enero de 2009 establece las Obligaciones y Recomendaciones de Manejo para estas zonas (BOJA núm. 4, 2009).

Se consideran ZVCN aquellas cuyas aguas contienen una concentración de nitratos superior o igual a 50 mgL⁻¹. Se establece asimismo un contenido máximo de nitratos en las hortalizas, diferenciando época del ciclo, manejo agronómico y destino final. Para la lechuga destinada a consumo en fresco y con ciclo de invierno, esa cantidad son 4000 mg NO₃⁻ kg de peso fresco⁻¹ (cultivo al aire libre) y 4500 mg NO₃⁻ kg de p.f.⁻¹ (cultivo en invernadero), a excepción de la lechuga tipo iceberg, cuyos valores

son más restrictivos, sin hacer referencia al momento del ciclo. Estos límites para ‘Iceberg’ son $2000 \text{ mg NO}_3^- \text{ Kg p.f.}^{-1}$ (cultivo al aire libre) y $2500 \text{ mg NO}_3^- \text{ Kg p.f.}^{-1}$ (cultivo en invernadero) (EFSA, 2008). La legislación vigente no presenta valores máximos para la escarola, de modo que en este estudio, hemos tomado los valores umbral de lechuga como referencia, por tratarse de una planta fisiológicamente muy parecida.

2.3. Los nitratos y sus efectos adversos sobre la salud humana.

El ión nitrato es un componente a tener en cuenta en el estudio de cultivos hortícolas, debido a su potencial de acumulación en planta (Mensinga *et al*, 2003; Lundberg *et al*, 2004 y 2008; Camargo y Alonso, 2006). Las hortalizas que se aprovechan por sus hojas, son claramente, las que mayor concentración de nitratos presentan (EFSA, 2008). El efecto tóxico más importante de este ión es el denominado “Síndrome del bebé azul” o metahemoglobinemia, que afecta principalmente a los niños en edades comprendidas entre 0 y 3 años (Keeny, 1986; Fletcher, 1991; Boink y Speijers, 2001). Se trata de un trastorno sanguíneo en el cual una cantidad anormal de hemoglobina se acumula en la sangre. En algunos casos de metahemoglobinemia, la hemoglobina es incapaz de transportar el oxígeno de manera efectiva a los tejidos corporales (DeBaun y Vichinsky, 2007). Esta enfermedad se puede transmitir de padres a hijos (hereditaria) o puede resultar de la exposición a ciertas drogas, químicos o alimentos (adquirida) (Gregg y Prchal, 2008). Dentro de las sustancias químicas que causan esta enfermedad se encuentran los nitritos usados como aditivos (por ejemplo, para evitar que las carnes se dañen: E-249 nitrito potásico y E-250 nitrito sódico) y los nitratos, que pueden ser añadidos como conservantes que se transforman lentamente en nitritos (E-251 nitrato sódico, E-252 nitrato potásico) (Antón y Lizaso, 2003), o que proceden de una alimentación con demasiadas verduras acumuladoras de nitratos (pej., remolacha, acelga, espinaca, lechuga).

Otra preocupación derivada de la presencia de nitratos en alimentos o en agua potable es la formación endógena de N-nitrosocompuestos de efectos cancerígenos, como las nitrosaminas (López Quintela, 1981). Los N-nitrosocompuestos son agentes teratógenos, mutagénicos y probables carcinógenos, altamente peligrosos para la salud humana. Se originan como consecuencia de la reacción de las aminas secundarias

(aromáticas y alifáticas) con el ácido nitroso HONO (Antón y Lizaso, 2003). El Grupo Especial de Contaminantes de la Cadena Alimentaria (CONTAM) de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) por la Comisión Europea, proporciona estrategias para gestionar los riesgos para la salud humana de la exposición de nitratos en la dieta resultante del consumo de vegetales (EFSA, 2008).

Una ingesta diaria admisible (IDA) de nitratos de $3,7 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de peso corporal·día⁻¹, equivalente a 222 mg de nitratos por día para un adulto de 60 Kg ha sido establecida por el Comité Científico de la Alimentación Humana (SCF) y ratificada a su vez por el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) en 2002.

2.4. Optimización de la fertilización nitrogenada.

En Europa se emplean varios sistemas de recomendación de abonado nitrogenado para los diferentes cultivos (Rahn *et al.*, 2001). Entre ellos se encuentra el criterio basado en medidas de suelo (Neeteson, 1995; Tremblay *et al.*, 2001), destacando el método N_{min} (nitrógeno mineral), empleado básicamente para cultivos hortícolas. Este método se fundamenta en el hecho observado por Rusell (1914) de que el N mineral del suelo (presente tanto en forma nítrica como amoniacal) influye en la cantidad de fertilizante absorbida por la planta. El autor observó que después de inviernos secos, y por tanto con poca lixiviación, permanecían en el suelo grandes cantidades de nitrato que podían ser utilizadas por el cultivo y reducir la necesidad de aportar más fertilizantes, consiguiendo un ahorro económico y cuidando el medio ambiente. El método N_{min} se desarrolló en Alemania (Wehrmann y Scharf, 1986) y es el más empleado en Europa en cultivos hortícolas (Rahn *et al.*, 2001). Se basa en la determinación del contenido de N mineral en el suelo al inicio del cultivo. Así, la dosis óptima de fertilizante es la diferencia entre el nitrógeno total requerido por la planta y la cantidad de N mineral que se encuentra en la parte del suelo explorado por las raíces al inicio del cultivo (Feller y Fink, 2002).

2.5. La lixiviación de los nitratos

El nitrógeno se pierde fundamentalmente por lixiviación, cuando la textura del suelo así lo posibilita (Balasubramanian *et al.*, 2004). Si además se aportan grandes cantidades de agua con el riego, dichas pérdidas se elevan. Por tanto, realizar una buena gestión hídrica es la herramienta para contener esas pérdidas (Balasubramanian *et al.*, 2004). La pérdidas de nitrato por lixiviación son bien conocidas (Neeteson *et al.*, 1989; Guimerá *et al.*, 1995; Hadas *et al.*, 1999; Ramos *et al.*, 2002; Thompson *et al.*, 2002; Vázquez *et al.*, 2006).

Para optimizar el uso eficiente del N en los cultivos hortícolas es necesario optimizar el manejo del agua de riego con técnicas como el monitoreo continuo de la cantidad de humedad en el suelo, estudiado desde hace décadas (Paltineanu y Sattr, 1997 y 1998; Fares y Alva, 1999 y 2000), ya que el proceso de lixiviación de N está ligado al de drenaje de agua, a su vez ligado a la textura del suelo y al exceso de riego (Balasubramanian *et al.*, 2004). A esta medida habría que añadir un sistema de riego controlado con instalaciones que permitan distribuir el agua uniformemente en la cantidad justa, siendo el sistema de riego por goteo el más adecuado, en comparación incluso con la microaspersión (Tapia *et al.*, 2007). Ajustar las dosis de N y considerar la demanda de la planta tiene como resultado una menor carga de nitratos para el agua drenada (Claret *et al.*, 2011).

2.6. Uso de medidores de clorofila para estimar el contenido de N foliar.

Existe una relación entre el contenido de N en hoja y la concentración de clorofila en la misma, ya que la mayoría del N de las hojas está contenida en las moléculas de clorofila (Peterson *et al.*, 1993). La capacidad fotosintética de las hojas, responsable de la formación de biomasa, está relacionada directamente con el contenido de nitrógeno en la planta. A su vez, el contenido de nitrógeno presente en los tilacoides de los cloroplastos es proporcional al contenido de clorofila (Evans *et al.*, 1989). El contenido en clorofila puede utilizarse en el manejo de programas nutricionales (Blasco *et al.*, 2010) y para mejorar el rendimiento del cultivo (López-Bellido *et al.*, 2004).

La concentración de clorofila en planta se puede determinar empleando diversos métodos, directamente *in situ* en condiciones de campo, o en laboratorio. Los medidores de clorofila como el SPAD (Soil Plant Analysis Development) son una herramienta de diagnóstico simple y portátil que miden el verdor o la concentración relativa de clorofila en las hojas. Uno de los medidores de clorofila portátiles más utilizados, es el Minolta SPAD-502, que ha sido utilizado para estimar el contenido de nitrógeno en planta (Varinderpal-Singh *et al.*, 2010). En la bibliografía, algunos autores han encontrado relaciones significativas entre el contenido de clorofila en hoja y los valores SPAD (Pinkard *et al.*, 2006).

El SPAD efectúa medidas instantáneas y no destructivas en hojas basándose en la cuantificación de la intensidad lumínica en dos longitudes de onda: a 650 nm, dentro de la región del rojo (que es absorbida por la muestra de tejido) y a 940 nm, en el infrarojo cercano (que es emitida y permite compensar la lectura por el efecto del grosor de la hoja). Estos índices o ‘valores SPAD’ se basan en el principio de que parte de la luz que emite el medidor es absorbida por la clorofila y el resto entra en contacto con la celda detectora, siendo convertida en una señal eléctrica. La cantidad de luz captada por la celda es inversamente proporcional a la cantidad de luz utilizada por las clorofila. La señal es procesada y la absorbancia es cuantificada en valores adimensionales que van del 0 al 99 (Rodríguez *et al.*, 1998).

Según Goffart *et al.* (2006), en un trabajo con escarola, señala que se necesita un mínimo de 30 lecturas individuales, tomadas en varios puntos de hojas bien desarrolladas, y sin tocar la nerviadura para obtener lecturas válidas. Además, se recomienda realizar las medidas a primera hora de la mañana ó última hora de la tarde (Gáborcík, 2003), ya que al amanecer y al atardecer, la radiación solar es baja y los cloroplastos, que son los orgánulos que almacenan la clorofila, se orientan en la célula vegetal a lo largo de las paredes celulares superiores e inferiores, maximizando en esa posición la absorción de luz. Con alta radiación durante las horas centrales del día, los cloroplastos se orientan verticalmente en las paredes celulares, paralelos a la radiación incidente, con lo que la medida SPAD no sería representativa (Hoel y Solhaug, 1998).

En la bibliografía se han encontrado gran variedad de estudios en los que se han empleado medidores de clorofila, mayoritariamente el SPAD, principalmente en maíz y

trigo. El maíz es el cultivo en el que se iniciaron los trabajos, pero en los últimos años se ha ido aplicando a otro tipo de cultivos hortofrutícolas (soja: Markwell *et al.*, 1995; haba: Abdelhamid *et al.*, 2003; escarola: Goffart *et al.*, 2006; pepino: Cho *et al.*, 2007; patata: Majid *et al.*, 2008; arroz: Lin *et al.*, 2010; uva: Lin, 2011), cultivos leñosos (cítricos: Rivas *et al.*, 2007; abedul: Uddling *et al.*, 2007; olivo: Boussadia *et al.*, 2008) y ornamentales (*Tradescantia albiflora*: Park *et al.*, 1996; *Oxalis acetosella*: Hoel y Solhaug, 1998; césped: Gáborcik, 2003; *Arabidopsis thaliana*: Ling *et al.*, 2011).

2.7. Relación entre el contenido de nitratos en hoja y la concentración de carotenoides

Los primeros artículos científicos que estudian los niveles de carotenoides en cultivos agrícolas datan de los años 60, pero es un tema muy actual y que genera gran interés científico; sólo en lo que llevamos de año se han realizado cerca de 800 publicaciones. En el caso del cultivo de lechuga, el contenido de carotenoides totales medido ha sido de $568 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ p.s., predominando el β -caroteno, violaxantina, luteína y neoxantina (Burns *et al.*, 2003). Asimismo, se ha estudiado que los niveles de nitrógeno tienen un efecto significativo en la acumulación de carotenoides (Kopsell *et al.*, 2007; Lefsrud *et al.*, 2009).

Por otro lado, los niveles de radiación recibidos influyen en la concentración de carotenoides en planta (Lefsrud *et al.*, 2006). Por ejemplo, en cultivo de espinaca en invernadero, con menor radiación UV-B que al aire libre, el contenido de carotenoides y otros metabolitos secundarios es mayor bajo abrigo cuando estas plantas tienen como mínimo siete semanas de edad (Heuberger *et al.*, 2004). En algunas apiáceas (*Centella asiatica* L.), un aumento de la intensidad lumínica produce una reducción en el contenido de β -caroteno (Sritongkul *et al.*, 2009). Sin embargo, en el caso de cultivos adaptados a la sombra, como la batata y la mandioca, cuyas partes comestibles son las raíces, un aumento de radiación incidente produce un aumento de carotenoides por unidad de clorofila (Johnston y Onwueme, 1998).

2.8. Metabolismo de los compuestos nitrogenados en la planta

Los procesos biológicos por los que el N inorgánico es convertido a N orgánico incluyen la fijación del N molecular (N_2) y la reducción de los nitratos. El ión nitrato (NO_3^-) representa la forma más oxidada del nitrógeno y debe ser reducido a amonio (NH_4^+) para poder ser asimilado en forma de ácidos nucleicos, aminoácidos y proteínas, necesarios para la síntesis de biomasa (Von Wiren *et al*, 1997; Ruiz y Romero, 1999; Lea y Azevedo, 2006). La siguiente figura muestra el ciclo del nitrógeno o "ciclo GOGAT", en la cual se muestra la ruta metabólica de las enzimas participantes en el proceso de transformación del nitrógeno.

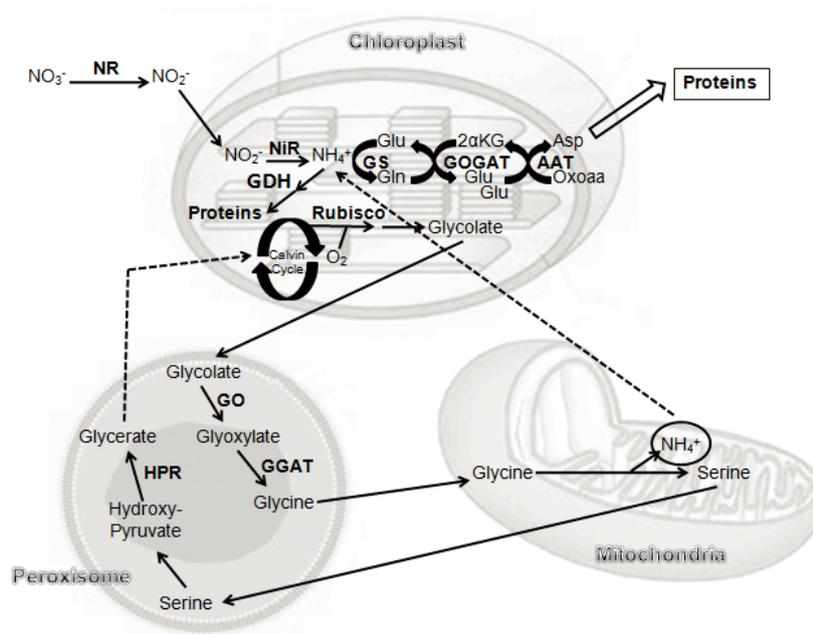


Figura 1. Metabolismo nitrogenado. Cortesía de Eva Sánchez Rodríguez. Dpto. Fisiología Vegetal de la Facultad de Ciencias de Granada (2011).

El primer paso en la reducción del ión NO_3^- es catalizado por la enzima nitrato reductasa (NR), dando lugar a la formación de nitrito (NO_2^-), el cual y por la acción de la enzima nitrito reductasa (NiR) será reducido a amonio (NH_4^+) (Miller y Smith, 1996). El amonio rápidamente es incorporado a moléculas orgánicas gracias a la acción de las enzimas glutamina sintetasa (GS) y glutamato sintetasa (GOGAT), resultando al final de este ciclo compuestos como clorofilas, nucleótidos, aminos y aminoácidos (Lea y Ireland, 1999; Harrison *et al*, 2004).

Un nivel bajo de intensidad lumínica está generalmente asociado a una reducción de la actividad de la NR y una acumulación de nitratos en algunas hortalizas de hoja (Gaudreau *et al.*, 1995, Chadjaa *et al.*, 1999). Sin embargo, en brasicas, el N disponible para la planta debe estar presente en forma de NO_3^- cuando la radiación PAR es alta, y en forma de NH_4^+ cuando la radiación PAR es baja, con el fin de obtener los mejores valores de peso seco (Falovo *et al.*, 2009).

2.9. El acolchado de suelos con materiales plásticos.

Los acolchados plásticos están fabricados principalmente de polietileno. El espesor del plástico puede variar, siendo los de mayor espesor los que más protección y calor proporcionan al cultivo. En cultivos estacionales, los más usados tienen entre 25 y 50 micras (Robledo y Martín, 1988). Si el cultivo es de alto valor añadido, donde el efecto térmico para su precocidad es importante, se requieren filmes que puedan llegar a espesores de incluso 60 μm (Díaz *et al.*, 2001). Tras el espesor, el color es el parámetro que más influye en los efectos que produce el acolchado de plástico sobre el suelo y el cultivo, ya que una parte de la radiación incidente será reflejada, absorbida o transmitida al suelo en función del color del mismo (Ham *et al.*, 1993; Teasdale y Abdul-Baki, 1995).

El plástico negro es el más utilizado para acolchar. Durante el día una película de polietileno negro absorbe gran parte del calor recibido llegando hasta del 90% de radiación de onda corta incidente (Ham *et al.*, 1993; Teasdale y Abdul-Baki, 1995; Munguia *et al.*, 2004). Si hay un buen contacto entre el suelo y el acolchado plástico, puede haber una conducción de calor significativa del acolchado al suelo (Teasdale y Abdul-Baki, 1995). En caso contrario el suelo se calienta más lentamente (Salman *et al.*, 1991), debido a la baja conductividad térmica del aire inmovilizado (Tindall *et al.*, 1991). En cualquier caso la alta temperatura en la superficie del plástico puede originar quemaduras en las plantas al contactar con él. Se ha demostrado que menos del 10% de la radiación de onda corta es reflejada por el PE negro (Liakatas *et al.*, 1986; Ham *et al.*, 1993; Teasdale y Abdul-Baki, 1995) frente al 20% de media de reflexión de los suelos desnudos (sin acolchar) (Bristow, 1998).

Puesto que estos plásticos no transmiten las radiaciones visibles comprendidas entre 300 y 400 nm de longitud de onda, las malas hierbas no crecen bajo el plástico, permitiendo que los cultivos se desarrollen sin competencias por agua y nutrientes, lo que se traduce en un aumento de producción (Robledo y Martín, 1988).

Durante la noche el plástico negro, dada su opacidad a las radiaciones térmicas, unido al calor almacenado durante el día, mantiene el suelo constantemente a una temperatura entre 0,5 a 4° C superior a la del suelo desnudo (Brun, 1992), la relativa opacidad (cerca del 50%) del plástico a la radiación terrestre (Ibarra y Rodríguez, 1991), y a la menor pérdida de energía del suelo al limitarse la evaporación (Ham *et al.*, 1993; Liakatas *et al.*, 1986). Siwek *et al.* (1994) dan incrementos de 0,5°C con relación al suelo desnudo, Teasdale y Abdul-Baki (1995) dan un incremento máximo de 5,7 °C bajo el plástico negro a 5 cm de profundidad, mientras que Brun (1992) lo describe ligeramente inferior durante el día, siendo la noche constantemente superior entre 0,5 y 4°C.

Los acolchados plásticos afectan al microclima en el que crece la planta, al cambiar la cantidad de radiación y su espectro, y al limitar la evaporación del suelo (Liakatas *et al.*, 1986). Estos cambios incrementan la temperatura del suelo, la humedad del mismo en la zona radical, la disponibilidad de elementos fertilizantes y como consecuencia, aumenta los rendimientos de los cultivos (Taber, 1983).

El acolchado plástico supone una barrera física a la evaporación del agua del suelo (Schalk y Robbins, 1987; Contreras y Sánchez, 1992; Roberts y Anderson, 1994), minorándola (Teasdale y Abdul-Baki, 1995) e incrementando el agua disponible para la transpiración (Barros y Hanks, 1993). Este descenso de evaporación hace necesario un menor aporte de agua de riego y, con ello, se reduce el lavado de nutrientes (Cushman y Snyder, 2002).

Los cultivos crecidos sobre acolchados aumentan el desarrollo de la parte aérea y la biomasa de todas las partes de la planta en comparación con las plantas sin acolchar (Renquist *et al.*, 1982). Varios autores han mostrado la eficacia del uso de los plásticos en combinación con condiciones de riego moderado, destacando que el crecimiento de las hojas. Por tanto, el acolchado mejora el uso eficiente del agua en

términos de crecimiento vegetativo como consecuencia de una mayor conservación de la humedad del suelo. La eficiencia del uso del agua (W.U.E.) se incrementa entre un 178% y un 219% con acolchado (Fan et al., 2002).

El acolchado plástico protege al suelo de los agentes meteorológicos y evita su compactación, manteniendo así su estructura (Brun, 1992), e incluso la mejora al mantener la humedad del suelo constante permitiendo desarrollar a la planta un sistema radicular más fasciculado y superficial, creciendo de forma más lateral que profunda (Bleyaert, 1991; Tüzel y Gül, 1991; Siwek *et al.*, 1994). Además, con el aumento de raíces secundarias, se asegura a la planta una mayor absorción de agua y nutrientes, que conducen a unos mayores rendimientos (Robledo y Martín, 1988).

Al estar el suelo protegido por una cubierta impermeable al agua, la penetración de ésta procedente de lluvia o riego, se limita a la que entra por las perforaciones hechas para la salida del tallo o las realizadas para este efecto en el material. Esto evita el lavado de nutrientes (Zotarelli et al., 2008) y, por tanto, los elementos fertilizantes no son arrastrados ni por la superficie del suelo, ni a capas más profundas donde las raíces no pueden alcanzarlos (Robledo y Martín, 1988). La fertilidad del suelo se ve así incrementada.

La temperatura del suelo es el factor abiótico más importante que afecta a los procesos de transferencia del nitrógeno en el suelo (Ruppel y Makswitat, 1996). Además, el contenido de agua en el suelo juega un papel primordial en la mineralización de este elemento (Makswitat *et al.*, 1995). El aumento de la temperatura y mantenimiento de la humedad del suelo debido a las cubiertas plásticas se traduce en un aumento de la nitrificación, lo que conduce a una mayor disponibilidad del nitrógeno para el cultivo (Robledo y Martín, 1988; Díaz *et al.*, 2001) y a un incremento en la eficiencia de su utilización por los cultivos (Fan *et al.*, 2002).

2.10. Las cubiertas flotantes

Una cubierta flotante consiste en la colocación sobre un cultivo de una lámina flexible de plástico perforado, velo permeable o malla que altera las condiciones microclimáticas del entorno protegido. La lámina puede estar apoyada sobre el cultivo,

que la eleva con su crecimiento o bien puede adoptar una disposición plana, fijándola al terreno y dejando una pequeña cámara de cultivo de 15-20 cm de altura (Hernández, 1996). Bajo el entorno protegido se genera el efecto invernadero que genera condiciones térmicas más favorables para los cultivos (Feltrim *et al.*, 2006) sobre todo en los momentos de inicio de ciclo (Cholakov y Nacheva, 2009).

Los materiales más utilizados son los “agrotexiles” que son materiales no tejidos constituidos por filamentos continuos de polipropileno (PP) o poliéster (PET), soldados térmicamente por medio de un proceso de calandrado formando finalmente un velo. Entre sus propiedades destacan su alta resistencia longitudinal y transversal, permeabilidad al agua, vapor y aire, y su resistencia a ácidos, disolventes orgánicos y alcalinos. Su peso comercial oscila entre 15 g m⁻² y 130 g m⁻².

Las cubiertas agrotexiles transmiten buena parte de la radiación solar de onda corta aunque es importante hacer una buena elección del espesor del material, ya que la transmisividad es función del mismo. Joublan y Vergara (2003) señalan que un espesor de 20 g m⁻² transmite un 69% de radiación fotosintéticamente activa (PAR), mientras que una cubierta de 30 g m⁻² transmite un 58% de PAR. Resultados similares han sido descritos por Rivera (1999).

El efecto invernadero generado bajo las cubiertas modifican el régimen térmico del recinto protegido incrementando las temperaturas diurnas. Giménez *et al.* (2002) encontraron un incremento de las temperaturas de la parte aérea de varios cultivos crecidos bajo esta técnica en torno a los 1-6° C de diferencia con respecto a los mismos cultivos al aire libre. Joublan y Vergara (2003) por su parte, obtuvieron una diferencia de 8° C más en las temperaturas medias para un cultivo de fresa. Durante la noche la modificación térmica es escasa ya que los materiales no tejidos son permeables a la radiación de onda larga (Wells y Loy, 1985).

Además de la temperatura del aire y la luz, la cubierta de agrotexil modifica los parámetros de temperatura y humedad del suelo (Splittstosser y Brown, 1991; Hernández y Morales, 1995). La permeabilidad continua de las cubiertas flotantes permite un aumento de la humedad relativa sin llegar a los niveles de un pequeño túnel, disminuyendo el riesgo de condensación y goteo sobre las plantas.

La combinación de cubiertas flotantes de agrotexil con acolchado de plástico negro se hace necesaria, en algunos cultivos, para evitar la invasión masiva de malas hierbas, lo cual supondría la retirada constante del agrotexil para su erradicación, haciendo inviable esta técnica (Joublan y Vergara, 2003; Suárez-Rey *et al.*, 2009).

Las cubiertas flotantes han sido satisfactoriamente utilizadas para incrementar los rendimientos de los cultivos, particularmente en altas latitudes (Argall y Stewart, 1997). Ibarra-Jiménez *et al.* (2004) encontraron un incremento en la producción de biomasa en el cultivo de melón que se tradujo en un aumento de 1,9 veces más de rendimiento usando esta práctica en contraposición al cultivo al aire libre. Igualmente encontraron diferencias significativas de biomasa en cultivos de sandía y de pepino. Cholakov y Nacheva (2009) obtuvieron en un ensayo con patata unos rendimientos de casi el 30% más con respecto al aire libre, usando acolchado de plástico negro y cubiertas de agrotexil en hileras.

El microclima creado bajo las cubiertas flotantes mejora la fotosíntesis con sus efectos en la precocidad, la calidad y la productividad (FAO, 2002). Papaseit *et al.* (1997) indican que el uso de cubiertas flotantes consigue crear un microclima favorable para las plantas en una época y zona determinada del crecimiento y con ello, se favorece una calidad más homogénea, mayores tamaños y cierta precocidad (1 a 2 semanas). Suárez-Rey *et al.* (2008) consiguieron en un ensayo con lechuga tipo iceberg un adelanto de la cosecha de una semana con respecto al cultivo al aire libre. Joublan y Vergara (2003) adelantaron 5 días la cosecha de fresa. Resultados similares obtuvo Díaz (1997) en este cultivo.

Las cubiertas flotantes en combinación con acolchados, proporcionan una mayor eficiencia del uso del agua, incrementan el rendimiento, permiten obtener cosechas fuera de temporada, frutos de mayor calidad y un mejor control de plagas y enfermedades (Reiners y Nitzche, 1993). Maroto (2008) destaca que el agrotexil constituye una barrera física importante en el vuelo de insectos vectores de virus. Las cubiertas flotantes además aportan una protección al viento y otros agentes ambientales adversos (López *et al.*, 2006).

El agrotexil se puede colocar directamente sobre el cultivo o con guías de hilo a una cierta altura sobre el cultivo. En lechuga, la primera forma de colocarlo es la que produce un peso fresco mayor (Salas, *et al*, 2008). La técnica es fácil de manejar y permite una retirada del tejido menos problemática que los túneles bajos. (Nascimento, 2004; Maroto, 2008)

2.11. El cultivo de la escarola.

En España se dedican al cultivo de escarola 2400 hectáreas que producen anualmente 61.900 toneladas, de las que aproximadamente la mitad son destinadas a la exportación. El valor de la producción está en torno a los 30 millones de euros. El rendimiento medio es de aproximadamente 2,5 kg m⁻² al aire libre y de 3,4 kg m⁻² en cultivo protegido. (Anuario Estadística MARM, 2009). La región con mayor producción es Cataluña, que aporta una media del 37% del total nacional. La Comunidad Autónoma de Andalucía es la quinta región en importancia en el cultivo de escarola, con una producción media de 5.400 Tn, lo cual supone el 9% de la producción total en España. (Anuario de Estadística, MARM, 2009). Granada produce el 26% de la escarola en Andalucía, con una media de 1.400 Tn anuales. Es la segunda provincia andaluza más importante en este cultivo, por detrás de Sevilla.

La escarola es una planta anual o bianual perteneciente a la familia Compositae, cuyo nombre científico es el de *Cichorium endivia* L. Existen dos grupos varietales en función de la forma de sus hojas: Las variedades *Crispas*, de hojas divididas y bordes dentados, y las variedades *Latifolias*, con hojas anchas, onduladas y con bordes poco dentados. El cultivar 'Mesbella', elegido para este trabajo, pertenece al grupo *latifolia*. La planta tiene las hojas en roseta y no llega a formar cogollo. Las fechas de trasplante para 'Mesbella' son: primeros de octubre y primeros de enero. Las técnicas más usuales de cultivo son con acolchados plásticos negro en escarolas de pequeño tamaño. La finalidad es evitar la presencia de malas hierbas, evitar que se ensucie la planta y, sobre todo ahorrar agua y adelantar el ciclo de cultivo (Maroto *et al*, 2.000).

Material y métodos

3. MATERIAL Y MÉTODOS.

3.1 DESCRIPCIÓN GENERAL DE LOS ENSAYOS.

3.1.1. Situación y características edafoclimáticas del área de cultivo.

Los experimentos se llevaron a cabo en la finca experimental del Centro Camino de Purchil del Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera de Andalucía (IFAPA), localizado en la Vega de Granada (37° 10' N, 3° 40' O, 640 m de altitud). El clima de la comarca de la Vega de Granada ha sido definido como Mediterráneo continental templado (MAPA, 1989) y se caracteriza por un régimen térmico con alternancia de inviernos frescos y prolongados y veranos calurosos (invierno tipo avena y verano tipo arroz según la clasificación de Papadakis). El periodo libre de heladas es tan solo de 5 meses. El régimen de humedad es Mediterráneo seco con pluviometría media anual inferior a los 500 mm, una humedad relativa del aire baja durante casi todo el año y predominancia de vientos flojos y calmos. La nubosidad es escasa y se alcanzan las 2935 horas de sol al año (INM, 2007).

El suelo, de naturaleza aluvial, ha sido clasificado como Typic Xerofluvent (Soil Survey Staff, 1992), con una densidad aparente de 1440 Kg m⁻³. Las características físico-químicas fueron determinadas en el Laboratorio Agroalimentario Regional (L.A.R.) a partir de muestras compuestas obtenidas en las parcelas de los experimentos a distintas profundidades (tabla nº1). La metodología para dicho análisis queda descrita por el Método Oficial de Análisis del MAPA (1994).

El agua de riego procedía de un pozo cercano, que la extraía del acuífero de la Vega de Granada a 30 m de profundidad, y era acumulada en un aljibe. Este agua fue analizada en el LAR, siguiendo la metodología descrita por el MAPA (1994) y los resultados se muestran en la tabla nº2. Se clasifica como C2-S1 y presenta un riesgo medio de salinidad y bajo de sodicidad (Cuenca, 1989).

Tabla n° 1. Características físico-químicas del suelo en la parcela experimental (0-60 cm de profundidad).

Caliza Activa (%)	3,30
Carbonatos (%)	10,30
Clasificación	Franco
Fósforo asimilable (ppm)	11
Materia orgánica oxidable (%)	0,83
Nitrógeno total (%)	0,90
PH	8,6
Potasio asimilable (ppm)	112
Prueba previa salinidad (mmhos·cm ⁻¹)	0,15
Textura arcilla (%)	13,05
Textura arena (%)	43,75
Textura limo (%)	43,20

Tabla n° 2. Análisis químico del agua de riego al inicio del ensayo.

Aniones (mmol·L⁻¹)	
Nitratos (NO ₃ ⁻)	0,71
Fosfatos (H ₂ PO ₄ ⁻)	0
Sulfatos (SO ₄ ⁼)	1,02
Carbonatos (HCO ₃ ⁻)	7,33
Cloruros (Cl ⁻)	0,65
Cationes (mmol·L⁻¹)	
Amonio (NH ₄ ⁺)	0
Potasio (K ⁺)	0,12
Calcio (Ca ⁺⁺)	2,4
Magnesio (Mg ⁺⁺)	2,3
Sodio (Na ⁺)	0,87
pH	7,5
CE (dS·m ⁻¹)	0,83

3.1.2. Experimentos.

3.1.2.1 Experimento 1: Efecto del acolchado y la cubierta flotante

El acolchado de plástico negro (con polietileno lineal de baja densidad, de 25 μm de espesor) fue colocado sobre el suelo previamente nivelado, rastrillado y con el sistema de riego por goteo instalado. La cubierta flotante de agrotexil (de 17 g m^{-2}) se colocó sobre el cultivo, sin tensar y sin necesidad de apoyos, sujeta en los bordes de la parcela con el propio suelo.

Se establecieron tres tratamientos:

AL \rightarrow Cultivo al aire libre.

AC \rightarrow Acolchado con plástico negro.

AC + CF \rightarrow Acolchado de plástico negro y cubierta flotante de agrotexil.

3.1.2.2. Experimento 2: Efecto de la dosis de nitrógeno.

El método para el cálculo de las necesidades de N se hizo siguiendo el método N_{min} (N mineral, descrito por Scharpf, 1991) fijando un valor de 190 Kg N ha^{-1} totales para el cultivo de escarola (Feller y Fink, 2002), y teniendo en cuenta la mineralización, además del N en suelo y agua, tal y como describe el método. Se fijaron 3 niveles de N. El tratamiento N1 suponía la cantidad de N descrita como valor “objetivo” y se establecieron dos dosis más, una sin aporte de N (el tratamiento N0) y otra con un aporte del 50% más de N de la dosis fijada como objetivo. Este último tratamiento (N2) se estableció con la finalidad de estudiar su efecto en la concentración de nitratos en hoja en el momento de cosecha y verificar si se superaban los niveles de nitratos máximos permitidos por la normativa europea (Reglamento CE No.1822/2005).

Los tres tratamientos fueron:

N0 \rightarrow 0 Kg N ha^{-1}

N1 \rightarrow 190 $\text{Kg}\cdot\text{N ha}^{-1}$

N2 \rightarrow 285 $\text{Kg}\cdot\text{N ha}^{-1}$

Para el cálculo del aporte de N en cada tratamiento, se tuvo en cuenta el N mineral inicial en suelo ($77 \text{ Kg}\cdot\text{ha}^{-1}$) en la capa 0-60 cm y la cantidad de N en el agua de riego (ver tabla 2). El resto de datos se obtuvo de la bibliografía (Feller y Fink, 2002). Al estar el ensayo localizado en la zona vulnerable a la contaminación por nitratos (ZVCN) “la Vega de Granada”, hemos comprobado que la dosis N1 estaba dentro de los valores permitidos. Para cultivo de lechuga al aire libre (no está descrito la escarola), la cantidad máxima permitida es de 5 UFN t^{-1} (Orden de 18 de noviembre de 2008, BOJA núm. 4). En nuestro caso, el rendimiento fresco de escarola en los últimos años ha sido de 40 t ha^{-1} (Suarez-Rey *et al.*, 2008), por lo que el valor de la dosis media quedaría por debajo de este límite.

3.2. MANEJO AGRONÓMICO DEL CULTIVO.

3.2.1. Material vegetal y calendario.

El cultivar de escarola (*Cichorium endivia* L. var. *latifolia*) fue Mesbella (Nunhems semillas) que fue sembrada bajo invernadero el día 28/08/2010. El trasplante se realizó entre los días 1 y 2 de octubre de 2010. Las plantas se colocaron en líneas separadas entre sí por 0,6 m y con una separación de 0,4 m entre plantas de una misma línea, lo que daba una densidad de $8,33 \text{ plantas m}^{-2}$.

Las plantas eran recolectadas cuando alcanzaron un peso comercial de aproximadamente 450 gramos. En el experimento 1, debido a las diferencias en la velocidad de crecimiento encontradas, el tratamiento de acolchado combinado con cubierta de agrotexil se cosechó el 18 de noviembre (46 ddt), el tratamiento de acolchado se recogió el día 3 de diciembre (53 ddt) y el de tratamiento al aire libre finalizó el 22 de diciembre (82 ddt). En el experimento 2 todas las plantas fueron cosechadas el día 22 de diciembre (82 días después de trasplante, ddt).

3.2.2. Riego y fertilización.

El riego se aplicó de modo localizado mediante goteo. Un controlador de riego (Prisma, 2002. Sistemas Guadalfeo, SL.) abastecía a los ramales portagoteros, separados entre sí por 0,6 m (una línea de goteo para cada dos líneas de plantas). Los goteros interlínea estaban separados entre sí por 0,33 m (5,05 goteros m⁻²), con un caudal nominal de 2 L h⁻¹ y una uniformidad de riego del 96,3 % (ASAE, 1985).

Para el manejo del riego se midió el contenido de humedad volumétrica del suelo mediante sensores Em50 (Mod. EC-5 y EC-20, Decagon Devices). Se colocaron cuatro sensores por parcela, en 3 parcelas seleccionadas al azar (una parcela AL, una parcela AC y una parcela AC+CF), a distintas profundidades (dos a 15 cm y dos a 30 cm). Cada set de sensores estaba conectado a un datalogger ECH₂O (Decagon Devices), programados para registrar datos horarios. Las lecturas obtenidas en la parcela AL sirvieron de referencia para el riego en las parcelas del Experimento 2. El riego se programaba de forma automática con 10 mm, calculado para un valor límite de contenido de agua en suelo de 35 mm en un volumen de suelo de 30 cm de profundidad.

La aplicación de fertilizante en todos los tratamientos fue mediante fertirriego utilizando la solución nutritiva descrita en la tabla nº 3. En el experimento nº1, dada la distinta duración del ciclo en cada tratamiento, los aportes totales de fertilizantes de cada tratamiento fueron diferentes (tabla nº4).

En el experimento nº 2, el tratamiento N0 no recibió solución nutritiva y los aportes de elementos fertilizantes eran debidos únicamente a los contenidos en el agua de riego. El tratamiento N2, además de la solución nutritiva recibió una cobertera de 95 kg N ha⁻¹. Los datos de cantidad de riego y aportes de nitrógeno por tratamiento se dan en la tabla nº 4.

Tabla nº 3. Aportes previstos en el agua de riego según la solución ideal (adaptado de Santamaría y Elia, 1997, para todos los iones excepto NO_3^- y NH_4^+ , calculados según método N_{\min} descrito en el texto) y los aportes del agua de riego. Valores negativos indican un exceso de presencia del ión en la solución de riego.

	Aniones mMOL ⁻¹					Cationes mMOL ⁻¹				
	NO_3^-	H_2PO_4^-	SO_4^{2-}	HCO_3^-	Cl^-	NH_4^+	K^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}	Na^+
Agua de riego	0.71	0	1.02	7.33	0.65	0	0.12	2.40	2.30	0.87
Solución ideal	2.69	1.00	2.70	0	0	2.69	3.00	2.00	0.50	0
Aportes previstos	1.98	1.00	1.68	-7.33	-0.65	2.69	2.88	-0.40	-1.80	-0.87

Tabla nº 4. Dotación de riego y fertilización nitrogenada.

Tratamiento	Longitud ciclo (días)	Riego (L m^{-2})	Aporte N* (kg N ha^{-1})	Nmin total (kg N ha^{-1})
AL	82	135,8	96,4	173,4
AC	53	124,0	73,9	150,9
AC+CF	46	124,0	73,9	150,9
N0	82	135,8	11,1	98,2
N1	82	135,8	96,4	183,4
N2	82	135,8	191,4	278,4

* Incluye N aportado por fertirriego, aportado por el agua de riego y la cobertera manual del tratamiento N2

3.3. ESTUDIO DEL CRECIMIENTO.

Para realizar un estudio del crecimiento se realizaron 9 muestreos en campo a los 0, 15, 25, 35, 46, 53, 64, 75 y 82 ddt.

3.3.1. Procedimiento en campo.

En cada muestreo se tomaron 8 plantas en cada parcela elemental. Para evitar el efecto borde no se recogían plantas de las líneas exteriores. Tras cada muestreo, las plantas colindantes a las plantas retiradas eran descartadas para el muestreo siguiente. Los muestreos se realizaban en campo a las 9:00 horas de la mañana. Las plantas eran cortadas a ras de suelo (sin raíces) e introducidas en bolsas de plástico negro previamente etiquetadas. Todo el material muestreado era llevado a una cámara frigorífica a 4°C. Desde que la primera planta se cortaba hasta que eran introducidas en la cámara frigorífica nunca se sobrepasó la hora de duración.

3.3.2. Procedimiento en laboratorio.

Las plantas eran extraídas de la cámara frigorífica y, a partir de 4 de ellas, se determinaron los siguientes parámetros:

- Peso fresco y seco total.
- Número de hojas.
- Superficie foliar mediante un analizador de imágenes (Mod. LI-3100C, Licor Biosciences Ltd.)

A partir de las otras 4 plantas muestreadas, se obtenía una muestra compuesta de aproximadamente 300 gramos, que era secada en estufa a 65 °C hasta peso constante, para la determinación de la biomasa y los análisis de nitratos en laboratorio mediante electrodo de ión selectivo (ISE; Mod, 9707 BNWP, Thermo Scientific Orion).

3.3.3. Índices de crecimiento.

Los índices de crecimiento calculados a partir de los valores anteriores fueron:

- Biomasa o CDW (Warren-Wilson, 1981)
 - Crop Dry Weight → peso seco · densidad plantación⁻¹ (g m⁻²).
- Índice de área foliar o LAI (Watson, 1947)
 - Leaf Area Index → área foliar · superficie suelo⁻¹ (m² m⁻²).

- Superficie foliar específica o SLA (Beadle, 1988; Hunt, 1990)
 - o Specific Leaf Area → área foliar · peso seco⁻¹ (m² Kg⁻¹).

3.4. DETERMINACIÓN DE NITRÓGENO.

3.4.1. Suelo

El N mineral en suelo se determinó al inicio, mitad y final del ciclo sobre un extracto 1:2 (Sonneveld, 1990), a tres profundidades: 0-30 cm, 30-60 cm y 60-90 cm. En el primer intervalo se midió la cantidad de nitrógeno presente en forma de nitrato y en forma de amonio (N-NO₃⁻ y N-NH₄⁺) para sumar N mineral. En el intervalo 30-90 cm, sólo se tuvo en cuenta el N-NO₃⁻, ya que la cantidad de N-NH₄⁺ presente se consideraba insignificante.

Se midió la concentración de nitratos en la solución del suelo mediante sondas de succión (Mod. HI 83900, Hanna Instruments). Estas se colocaron a media distancia entre la planta y el emisor, y a 3 profundidades (15, 45 y 75 cm), con 2 sondas por profundidad. Se mantenía una succión constante en torno a 40-50 Kpa. Antes de colocarlas, se extraía suelo con una barrena y se preparaba una pasta que se adhería a la cápsula porosa, para asegurar un buen contacto. Cada 8-10 días se tomaban muestras y se analizaba el nitrato con el electrodo de ión selectivo.

3.4.2. Planta

A partir de submuestras de 100 g de peso seco se analizó la concentración de N en forma de nitrato en un extracto 1:50 (Suárez-Rey *et al.*, 2008) usando un electrodo selectivo (Mod, 9707 BNWP, Thermo Scientific Orion).

3.5. DETERMINACIÓN DE PIGMENTOS FOTOSINTÉTICOS.

3.5.1. Análisis de pigmentos.

Para el análisis de pigmentos fotosintéticos se cortaron 3 hojas maduras (de aproximadamente diez gramos de peso en total) de 3 escarolas escogidas al azar en cada repetición, para los dos experimentos. El corte se realizaba entre las 9:00 y las 11:00

horas. Inmediatamente después se conservaron mediante congelación a -4 °C. Se llevaron a cabo un total de 9 muestreos con una periodicidad de 7-10 días, a los 27, 34, 41, 49, 56, 62, 71, 78 y 88 ddt. De cada una de estas muestras, se obtuvieron 3 submuestras que fueron analizadas posteriormente para cuantificar las clorofilas (a y b) y los carotenoides (Wellburn, 1994). Las medidas de absorbancia, a 666 nm, 653 nm y 470 nm, se obtuvieron con un espectrofotómetro (Mod, NanoQuant Infinite M 200, Tecan Group Ltd). Las unidades se han expresado como mg de pigmento m⁻² hoja (Abdelhamid *et al.*, 2003).

3.5.2. Medidas de transmisión/absorción mediante SPAD.

Las medidas indirectas del contenido foliar de clorofila mediante el SPAD (Soil Plant Analysis Development) se realizaron siguiendo la metodología de Goffart (2006), descrita para escarola. Se realizaron ocho muestreos de plantas con periodicidad semanal. El equipo empleado fue un medidor portátil SPAD-502 (Kónica Minolta, Japan). Las lecturas del medidor fueron tomadas a las 9:00 de la mañana en cinco escarolas por parcela elemental, y en cada planta se tomaron seis lecturas en hojas totalmente expandidas, resultando un total de treinta medidas SPAD por repetición.

3.6. ACTIVIDAD DE LA ENZIMA NITRATO REDUCTASA Y ANÁLISIS DE AMINOÁCIDOS SOLUBLES Y PROTEÍNAS.

Para el análisis enzimático y de nutrientes del material vegetal en laboratorio, se cortaron 3 hojas maduras (de aproximadamente diez gramos de peso en total) de 3 escarolas escogidas al azar en cada repetición, para los dos experimentos. El corte se realizaba entre las 9:00 y las 11:00 horas. Inmediatamente después se conservaron mediante congelación a -4 °C. Se realizó un único muestreo a los 53 ddt.

La prueba de la nitrato reductasa siguió la metodología de Kaiser y Lewis (1984). El nitrito formado fue colorimétricamente determinado a 540 nm después de digestión con sulfanilamida y naftiletlenodiamida, de acuerdo con el método de Hageman y Hucklesby (1971).

La determinación de aminoácidos solubles se realizó según el método descrito por Yemm y Cocking (1955), con medidas de absorbancia a 570 nm.

Las proteínas fueron determinadas siguiendo el método Bradford (1976), usando solución madre de glicina y midiendo absorbancia a 595 nm.

3.7. CARACTERIZACIÓN MICROCLIMÁTICA.

Mediante un datalogger CR10X de Campbell Scientific, programado para realizar medidas cada diez minutos y promediar cada media hora todas las lecturas de los sensores, y un multiplexer AM416 (Campbell Scientific Ltd), se midieron bajo la cubierta flotante, sobre el acolchado y en el exterior los siguientes parámetros climáticos:

- Temperatura de suelo a 10 cm de profundidad: dos sensores por tratamiento (Mod, 107, Campbell Scientific Ltd.).
- Temperatura y humedad relativa de aire a 30 cm de altura sobre el suelo. Un sensor por tratamiento (Mod. HMP 45C de Vaisala).
- Radiación global a 30 cm sobre el suelo: un piranómetro por tratamiento (Mod. SP 1110.). Las lecturas en Wm^{-2} se convirtieron en MJm^{-2} para obtener las integrales de radiación.
- Radiación fotosintéticamente activa (PAR) a 30 cm sobre el suelo: un sensor por tratamiento (Mod. SKP 215 de Skye Instruments). A partir de las lectura instantáneas en $\mu molm^{-2}s^{-1}$ se calcularon las integrales en $molm^{-2}$.

3.8. DISEÑO ESTADÍSTICO.

En los dos experimentos el diseño experimental fue totalmente aleatorio con tres tratamientos y tres repeticiones por tratamiento. Cada repetición era una parcela elemental de 48 m² de superficie (12m x 4m). Para el análisis estadístico de los datos se realizaron análisis de la varianza y se utilizó el test T de Bonferroni para la separación de medias. Para el procesamiento estadístico de los datos se usó el programa Statistix v. 8.0.

Resultados y discusión

4.1.- EXPERIMENTO 1: EFECTO DEL ACOLCHADO Y DE UNA CUBIERTA FLOTANTE SOBRE EL CULTIVO DE ESCAROLA

4.1.1. Condiciones microclimáticas

4.1.1.1 Radiación

La radiación acumulada por el cultivo ha sido de 816, 680 y 481 MJ m⁻² en los tratamientos AL (aire libre), AC (acolchado) y AC+CF (acolchado + cubierta flotante), respectivamente. La evolución de la integral diaria se muestra en la figura nº 2. Las diferencias en los valores de la integral radiativa entre el tratamiento AL y AC se deben a la mayor duración del ciclo al aire libre. Las diferencias de radiación acumulada entre el tratamiento AC+CF con los restantes se dan entre los días 284 (en que se coloca la cubierta) y el 321 (el día 322 se retira). La cubierta de polipropileno reduce la radiación global disponible para las plantas en torno a un 17 % ya que la transmisividad media calculada para el periodo en la que estuvo colocada fue del 83%. Este valor de transmisividad a la radiación global es idéntico al medido frente a la radiación PAR.

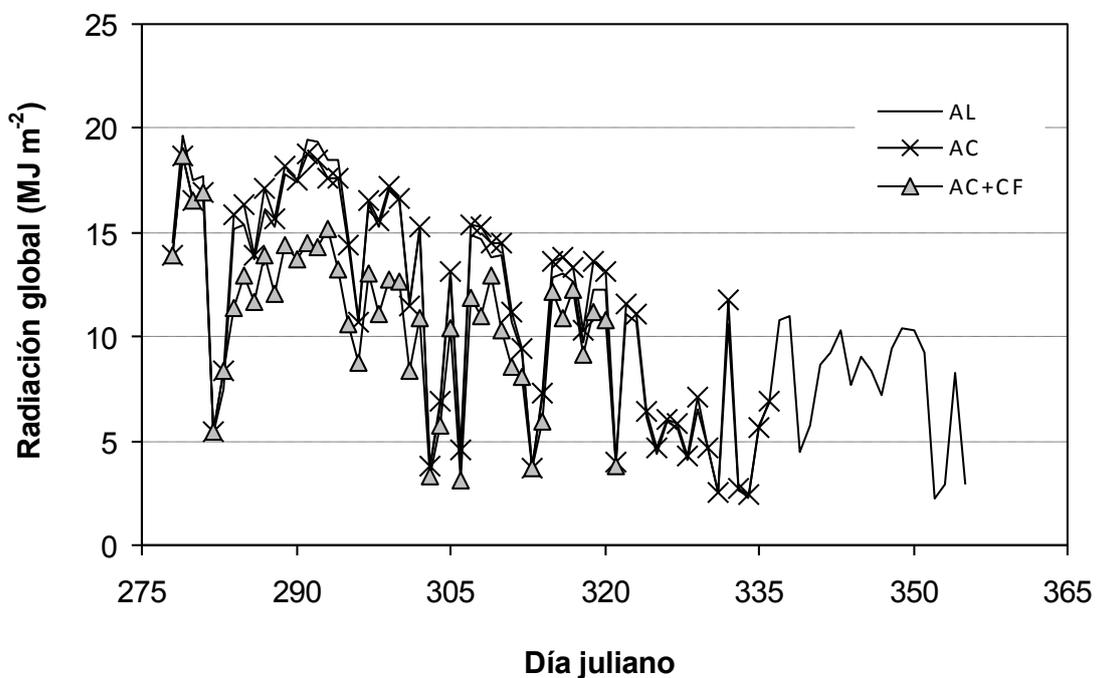


Figura nº 2. Evolución de la radiación global incidente. En el tratamiento con cubierta de agrotexil (AC+CF), el sensor estuvo colocado bajo la misma desde el día 284 hasta el día 321.

4.1.1.2 Temperaturas de aire y suelo

La cubierta flotante de agrotexil genera un importante efecto invernadero elevando las temperaturas medias en 4,5°C (media de todo el ciclo) con respecto a los otros dos tratamientos que tienen un comportamiento térmico casi idéntico (figura nº 3). Este efecto es casi exclusivamente diurno, ya que las temperaturas mínimas apenas se ven afectadas (con diferencias en torno a un grado centígrado a favor del tratamiento con cubiertas). Sin embargo durante el día si hay un aumento importante en las temperaturas máximas, siendo el promedio de máximas del periodo en el que las cubiertas están instaladas más de 14°C superior al registrado al aire libre (figura nº 4). Este comportamiento de las cubiertas con respecto al aumento de las temperaturas máximas y a una leve mejora de las temperaturas mínimas ha sido similar al descrito por Hernández (1996).

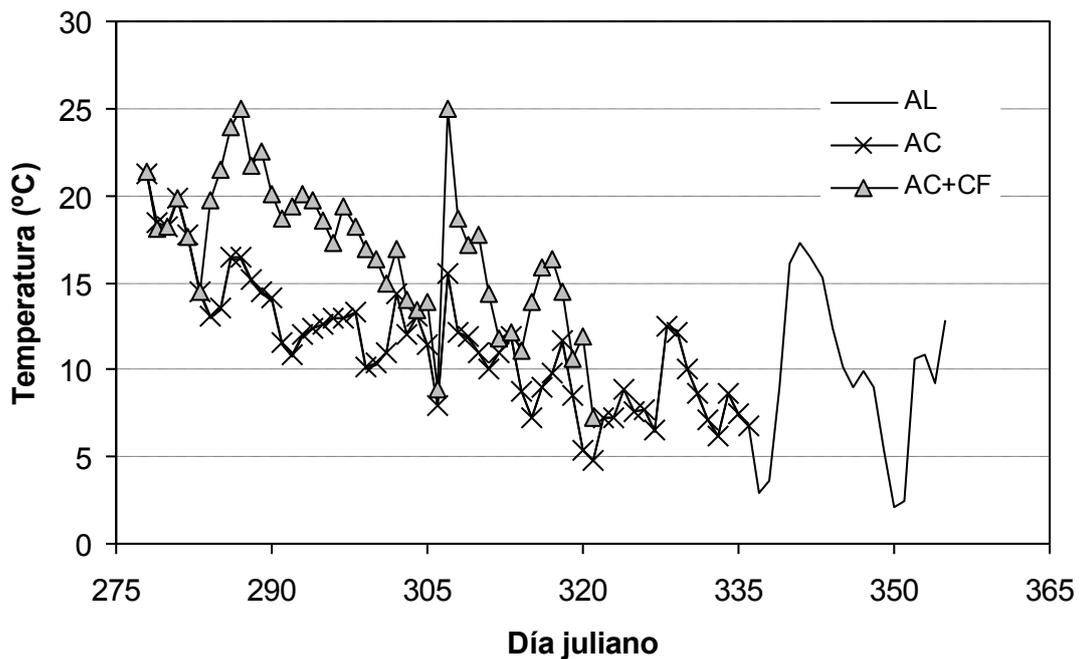


Figura nº 3. Evolución de las temperaturas medias del aire.

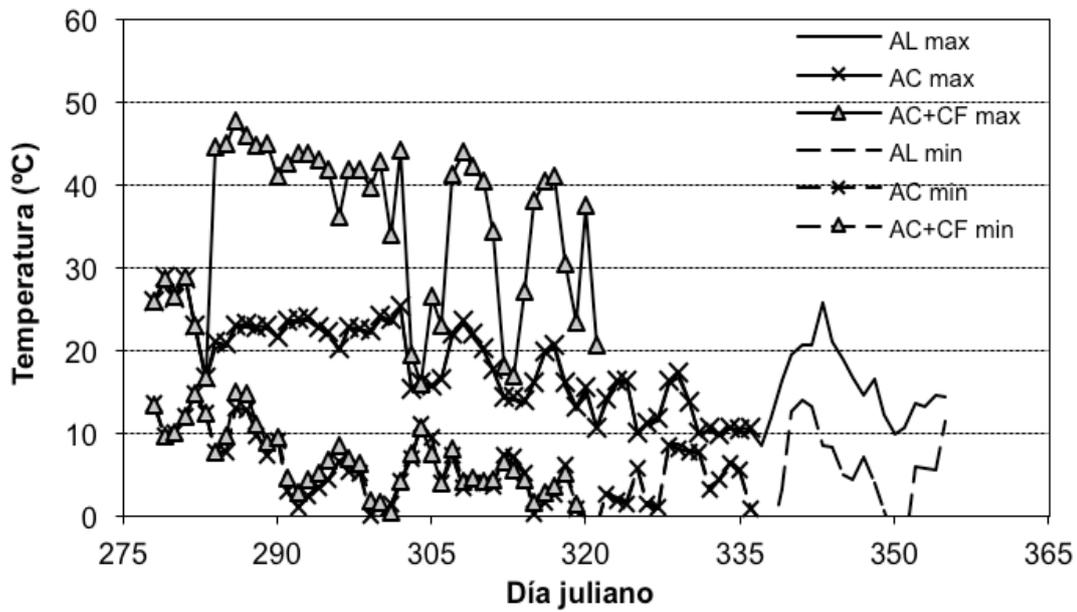


Figura nº 4. Evolución de lad temperaturad máximas (líneas continuas) y mínimas (líneas discontinuas) del aire

En las temperaturas de suelo (figura nº 5) se observa como el acolchado eleva las temperaturas medias de suelo al aire libre en torno a 3°C y la cubierta flotante genera además una ganancia de 1,6°C. Estas mayores temperaturas de suelo pueden ser la causantes de la menor duración del ciclo del cultivo crecido sobre los acolchados (Moyano, 2007 y Suarez-Rey *et al.*, 2008). El incremento térmico encontrado es ligeramente inferior al relatado por Teasdale y Abdul-Baki (1995) para un acolchado negro pero las condiciones climáticas fueron distintas, ya que en nuestro experimento, realizado en otoño, las temperaturas exteriores rara vez sobrepasaron los 25°C. A la vista de los incrementos en las temperaturas de suelo parece que el efecto de los acolchados para elevar las temperaturas mínimas es superior al de la cubierta flotante.

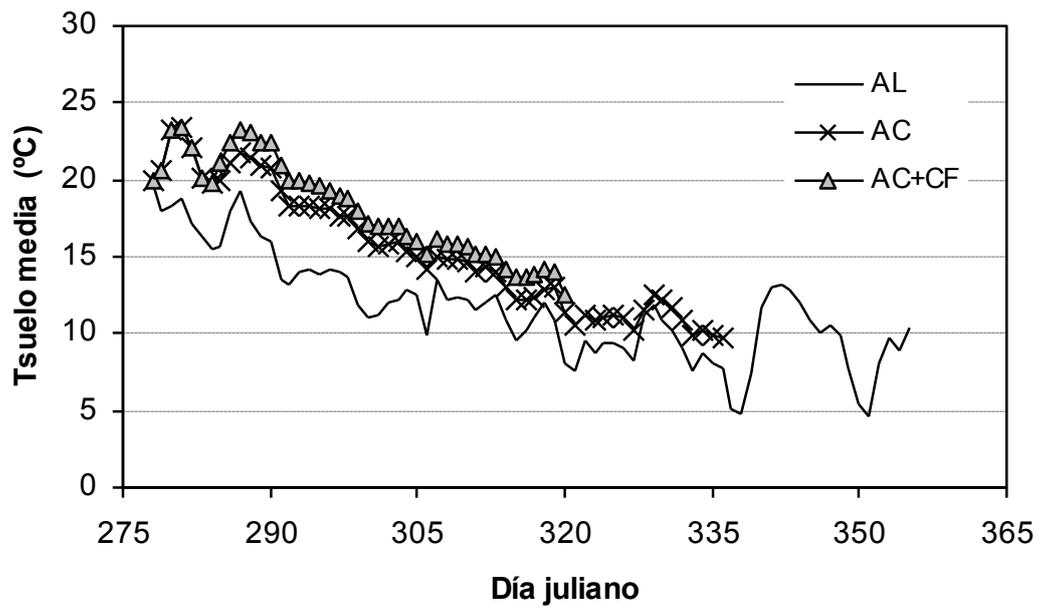


Figura nº 5. Evolución de la temperaturas medias de suelo medidas a 10 cm de profundidad.

4.1.1.3 Déficit de presión de vapor

Los valores registrados de DPV para los tratamientos AL y AC fueron muy similares a lo largo del ciclo (figura nº 6). Sin embargo, se observa que los valores fueron muy superiores en el tratamiento con la cubierta de agrotextil, llegando, en ocasiones, a valores puntuales máximos de 9 kPa debido a la baja humedad ambiental y a las mayores temperaturas del aire inducidas bajo la cubierta. La naturaleza semipermeable de la cubierta flotante de polipropileno permite la salida de vapor de agua desde el recinto protegido al exterior, por lo que la humedad ambiental bajo la cubierta, en momentos en la que la del aire es baja, también es baja (Hernández, 1996). A pesar de estos valores elevados de DPV, las plantas crecidas bajo el tratamiento AC+CF no mostraron síntomas de estrés, puesto que no sufrieron déficit de riego. Estos valores elevados de DPV debieron imponer una alta demanda transpiratoria y una mayor absorción de agua y nutrientes que en el resto de tratamientos, lo que explica que, unido a las mejores temperaturas de aire y suelo las plantas crecidas bajo las cubiertas consiguieran su madurez comercial 7 días antes que las plantas crecidas sobre los acolchados y 36 días antes que las del aire libre.

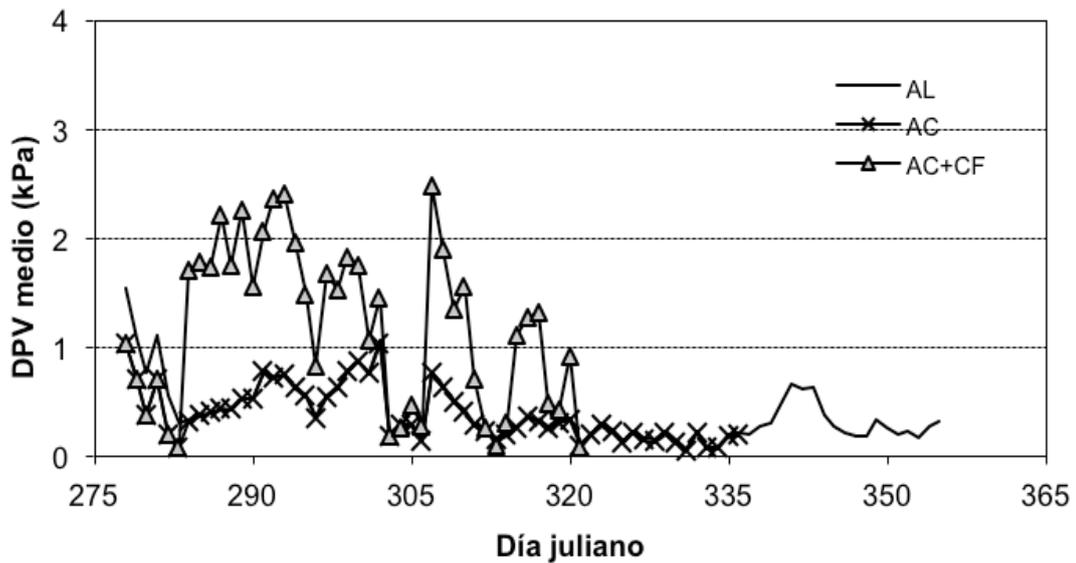


Figura nº 6. Evolución del déficit de presión de vapor (DPV) medio

4.1.2. Contenido de nitratos en suelo y planta

Los acolchados y las cubiertas flotantes reducen la evapotranspiración del cultivo y por tanto la dosis de riego. Esto hizo que los aportes totales de nitrógeno fueran distintos entre los tratamientos con acolchado y el aire libre (tabla nº 4 en el capítulo de material y métodos) debido a la distinta duración del ciclo.

Uno de los efectos de los acolchados es el de mejorar la eficiencia en la absorción de nutrientes (Moreno *et al*, 2002) por lo que la mayor extracción por las plantas crecidas sobre ellos debería afectar la concentración de nitratos en la solución de suelo. Las tablas nº 5, 6 y 7 muestran los contenidos medios de nitratos en solución de suelo, obtenidos a partir de dos sondas de succión, a tres profundidades del perfil, 0-30 cm, 30-60 cm y 60-90 cm. Aunque los tratamientos AC y AC+CF fueron cosechados antes, se dejaron las sondas de succión en campo hasta el momento de cosecha del cultivo al aire libre.

La concentración de nitratos en la solución del suelo fue superior en el tratamiento AL para el perfil de suelo de 0-60 cm durante la mayor parte del ciclo, lo que indica una menor extracción por las plantas crecidas al aire libre y una mayor eficiencia en la absorción de nutrientes en los tratamientos con acolchado de polietileno.

En el caso del cultivo con cubierta de agrotexil, esta eficiencia de absorción es incluso mayor que en AC, al haber menor contenido de nitratos en la solución de suelo. Estos resultados ponen de manifiesto las ventajas que presentan la combinación de técnicas de riego localizado combinado con el uso de cubiertas. Las temperaturas óptimas para la absorción de nitratos son las que se encuentran en el rango de 16-22°C (Vaast *et al.*, 1998; Tischner, 2000). En la figura nº 5 puede observarse como el tratamiento al aire libre alcanza este umbral térmico óptimo únicamente a inicios de ciclo cuando el desarrollo foliar es aún muy limitado y por tanto la evapotranspiración y la absorción de agua y nutrientes es muy limitada. Las plantas crecidas sobre los acolchados están un periodo de tiempo mucho mas largo bajo estas condiciones térmicas que propician la máxima absorción.

En cuanto al contenido de nitratos en el perfil más profundo analizado, de 60 a 90 cm, la concentración del mismo se mantiene bastante estable en los tratamientos AL y AC. Una tendencia menos estable se observa en AC+CF a esta profundidad, aunque los valores medidos son siempre bajos. A la vista de estos resultados y hasta el momento de en que se muestrearon las sondas, no se observa que los nitratos sean lixiviados en grandes cantidades a capas más profundas de suelo, incluso considerando la lluvia registrada durante la última parte del ciclo.

Tabla nº 5. Concentración media de nitratos (en mmol L⁻¹) obtenido a la profundidad de 0-30 cm. “s/m” indica sin muestra en el momento de la extracción.

ddt	Tratamiento		
	AL	AC	AC+CF
20	s/m	1,28	0,36
26	5,89	1,19	0,57
33	6,56	s/m	0,81
42	4,98	0,22	0,29
50	0,26	0,21	0,23
54	3,95	0,31	s/m
71	1,13	0,17	0,12
82	0,17	0,12	0,19

Tabla nº 6. Concentración media de nitratos (en mmol L⁻¹) obtenido a la profundidad de 30-60 cm. “s/m” indica sin muestra en el momento de la extracción.

ddt	Tratamiento		
	AL	AC	AC+CF
20	4,03	2,16	1,95
26	4,13	2,85	1,70
33	5,36	1,87	3,02
42	5,65	2,26	1,32
50	4,85	1,82	0,92
54	5,31	1,66	s/m
71	4,62	0,84	0,15
82	0,60	0,60	0,15

Tabla nº 7. Concentración media de nitratos (en mmol L⁻¹) obtenido a la profundidad de 60-90 cm. “s/m” indica sin muestra en el momento de la extracción.

ddt	Tratamiento		
	AL	AC	AC+CF
20	0,48	0,34	0,85
26	0,45	0,85	0,71
33	0,43	0,48	s/m
42	0,50	1,23	0,69
50	0,24	1,24	0,11
54	0,58	1,21	s/m
71	0,51	0,85	0,84
82	1,22	0,24	0,23

Tabla n° 8. Evolución de la concentración de nitratos ($\text{mg NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$ p.f.)

Tratamiento	15ddt	25ddt	35ddt	46ddt	53ddt	64ddt	75ddt	82ddt	NO_3^- final
AL	1551 a	2516 a	2343 a	1700 b	1170 a	1619 a	1137 a	1304 a	1304 b
AC	2257 a	2478 a	2023 a	1536 b	1003 a				1003 b
AC+CF	2816 a	2424 a	2791 a	2315 a					2315 a

*Dentro de la misma columna, valores seguidos de distinta letra indican diferencias significativas entre tratamientos según el test T de Bonferroni ($p < 0,05$).

Las concentraciones de nitratos en planta no alcanzan los valores máximos de referencia (establecidos por la normativa para lechuga) en el momento de cosecha en ninguno de los tres tratamientos, aunque como puede verse en la tabla n° 8 las plantas crecidas bajo las cubiertas se acercan mucho al valor límite de 2500, llegando en alguna parte del ciclo a superarlo.

En cuanto a los tratamientos AL y AC, las concentraciones de nitratos no muestran diferencias en ninguno de los muestreos realizados.

Las causas de que las escarolas cubiertas por agrotexil tengan una concentración de nitratos superior a los otros dos tratamientos se debe a la combinación de varios factores; por un lado, estas plantas reciben un 17% menos de radiación PAR y radiación global que las plantas al aire libre y con acolchado. Esta reducción lumínica afecta negativamente a la actividad de la enzima nitrato reductasa, de naturaleza inducible (Roorda van Eysinga y van der Meijs, 1985; Lillo, 1994; Dapoigny *et al.*, 2000) por lo que se ve afectada la capacidad que tiene la planta para reducir el nitrato. Por otro lado, el DPV en el tratamiento con la cubierta de agrotexil es mucho mayor que el resto (figura n° 6), lo que se debe traducir en una mayor transpiración del cultivo y, por tanto, una mayor absorción de nutrientes, produciéndose una acumulación en hoja del ión nitrato.

4.1.3. Pigmentos fotosintéticos: clorofila a, clorofila b, clorofila total y carotenos

En las tablas n° 9 a n° 12 se muestran los resultados obtenidos al analizar la concentración de pigmentos en los tres tratamientos.

Las plantas crecidas bajo cubierta tienen inicialmente una menor concentración de clorofilas a, b y a+b pero en los dos últimos muestreos realizados

igualan o superan las concentraciones de los otros dos tratamientos. Las adaptaciones de los cultivos a la falta de luz son la de incrementar la concentración de pigmentos, mejorar la eficiencia fotosintética o bien la de aumentar la superficie foliar (Jones, 1992). La reducción de radiación que impone el agrotexil, de tan solo el 17% parece que no es suficiente para inducir diferencias en la concentración foliar de pigmentos.

Tabla nº 9. Evolución de la clorofila *a* (mg m⁻² hoja). Los datos proceden de la media de 27 repeticiones.

Tratamiento	27 ddt	34 ddt	41 ddt	49 ddt	56 ddt	62 ddt	71 ddt	78 ddt	88 ddt
AL	30,5 a	23,6 a	14,8 c	23,6 a	22,7 b	13,3	18,4	18,0	44,4
AC	26,3 a	21,9 a	19,8 b	25,8 a	37,8 a				
AC+CF	10,2 b	12,4 b	43,4 a	30,2 a					

*Dentro de la misma columna, valores seguidos de distinta letra indican diferencias significativas entre tratamientos según el test T de Bonferroni ($p < 0,05$).

Tabla nº 10. Evolución de la clorofila *b* (mg m⁻² hoja). Los datos proceden de la media de 27 repeticiones.

Tratamiento	27 ddt	34 ddt	41 ddt	49 ddt	56 ddt	62 ddt	71 ddt	78 ddt	88 ddt
AL	15,2 a	13,1 a	10,1 c	13,1 b	13,9 b	10,1	13,1	15,8	25,9
AC	14,1 a	13,8 a	13,2 b	16,5 a	20,0 a				
AC+CF	8,2 b	8,9 b	23,6 a	18,4 a					

*Dentro de la misma columna, valores seguidos de distinta letra indican diferencias significativas entre tratamientos según el test T de Bonferroni ($p < 0,05$).

Tabla nº 11. Evolución de la clorofila total (mg m⁻² hoja). Los datos proceden de la media de 27 repeticiones.

Tratamiento	27 ddt	34 ddt	41 ddt	49 ddt	56 ddt	62 ddt	71 ddt	78 ddt	88 ddt
AL	45,7 a	36,6 a	24,9 c	36,7 b	36,6 b	23,4	31,6	33,8	70,4
AC	40,4 a	35,7 a	33,0 b	42,4 ab	57,8 a				
AC+CF	18,4 b	21,3 b	67,0 a	48,6 a					

*Dentro de la misma columna, valores seguidos de distinta letra indican diferencias significativas entre tratamientos según el test T de Bonferroni ($p < 0,05$).

Tabla nº 12. Evolución de la concentración de carotenos (mg m⁻² hoja). Los datos proceden de la media de 27 repeticiones.

Tratamiento	27 ddt	34 ddt	41 ddt	49 ddt	56 ddt	62 ddt	71 ddt	78 ddt	88 ddt
AL	14,5 b	18,1 b	16,9 b	24,9 a	22,6 b	28,2	24,0	16,6	26,6
AC	16,4 a	23,3 a	21,1 a	27,5 a	28,0 a				
AC+CF	18,0 a	19,8 b	17,5 b	21,3 b					

*Dentro de la misma columna, valores seguidos de distinta letra indican diferencias significativas entre tratamientos según el test T de Bonferroni ($p < 0,05$).

El contenido de carotenos es mayor siempre en el tratamiento con acolchado pero el contenido final en las plantas cosechadas es muy similar entre las plantas crecidas al aire libre y sobre acolchados (26,6 y 28,0 mg m⁻² hoja respectivamente) y ligeramente superior a las plantas crecidas bajo las cubiertas (21,3 mg m⁻² hoja). Se ha indicado que la dosis de radiación afecta a la concentración de carotenos de modo que hojas sombreadas tienen menor concentración que hojas soleadas (Demmig-Adam *et al.* 1996) o que los cultivos de verano presentan una mayor concentración que los cultivos de invierno (Azevedo y Rodriguez-Amaya 2005). Esto podría explicar las diferencias encontradas entre las plantas crecidas sobre acolchados, que están expuestas a mayor insolación y las crecidas bajo cubierta.

4.1.4. Parámetros de crecimiento

La evolución de la biomasa y el índice de área foliar se muestra en las figuras 7 y 8.

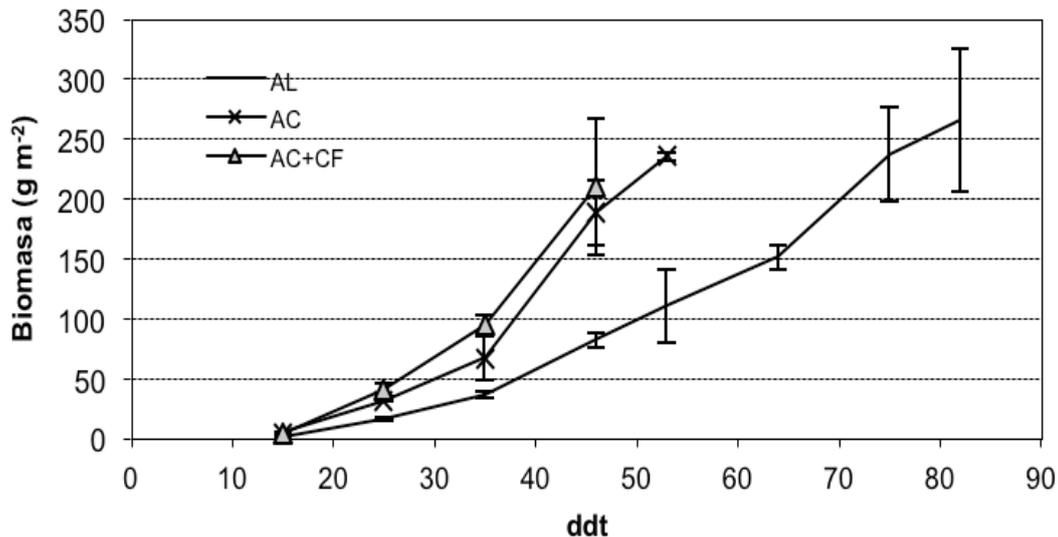


Figura nº 7. Evolución de la biomasa

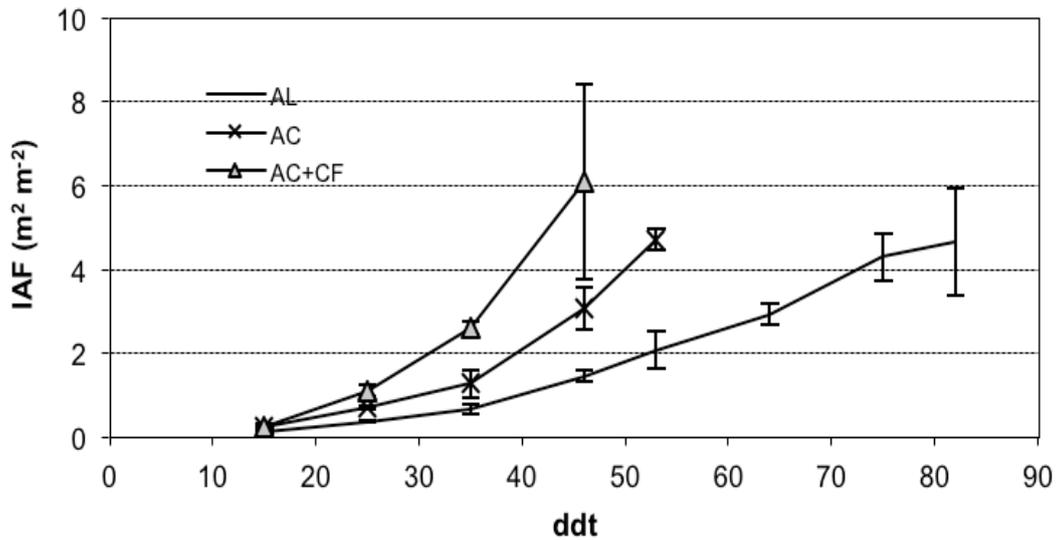


Figura nº 8. Evolución del índice de área foliar

En ambas gráficas se observa la precocidad registrada en los tratamientos con cubierta, especialmente patente en el caso del tratamiento con cubierta de acolchado combinado con agrotexil. La biomasa producida en el tratamiento con cubierta de agrotexil siempre fue significativamente superior al aire libre en todos los muestreos. Comparando con el tratamiento AC, solo se obtuvieron diferencias significativas a los 25 ddt. En el caso del tratamiento con acolchado solo respecto al aire libre, fue significativamente superior los días 15, 25, 46 y 53 ddt. En cuanto a la figura 8, el índice de área foliar fue superior en el tratamiento bajo cubierta a partir de los 15 ddt, respecto a AC y AL, excepto a los 46 ddt, que no se registraron diferencias significativas entre AC+CF y AC. Por otro lado, el tratamiento de acolchado también fue superior al del aire libre a los 25, 35 y 53 ddt.

La variabilidad en los datos observada al final del ciclo para el tratamiento AC+CF es muy alta, tal como se observa en las figuras 7 y 8 y la tabla nº 13, debido a la diferencia de valores obtenidos (mucho mayor) en una de las parcelas de ese tratamiento. Los valores finales medios y la variabilidad registrada en los datos de biomasa e índice de área foliar quedan recogidos en la tabla nº 13. No se han obtenido diferencias significativas respecto a los valores finales entre tratamientos de cubierta e

índice de área foliar, debido principalmente a la alta variabilidad registrada en el tratamiento AC+CF.

Tabla nº 13 . Biomasa e índice de área foliar en el momento de cosecha.

Tratamiento	Biomasa (g m ⁻²)	LAI m ² m ⁻²
AL	265 ± 59,3 a	4,7 ± 1,28 a
AC	235 ± 3,8 a	4,7 ± 0,25 a
AC+CF	210 ± 57,3 a	6,1 ± 2,32 a

*Dentro de la misma columna, valores seguidos de distinta letra indican diferencias significativas entre tratamientos según el test T de Bonferroni ($p < 0,05$).

En los valores de superficie foliar específica (tabla nº 14), sí que se han obtenido diferencias significativas entre tratamientos ya las plantas cultivadas bajo cubierta flotante han desarrollado una mayor superficie foliar que el resto en relación a su peso seco. En el momento de cosecha, estas plantas tienen un ratio de SFE de 1,6 respecto al aire libre y 1,4 respecto al tratamiento de acolchado.

Dado que la planta no reacciona incrementando su concentración de clorofila la adaptación a la menor intensidad luminosa la realiza aumentando el tamaño de la antena captadora generando hojas más finas, con menos células en el mesófilo (Loomis y Connors, 2002).

Tabla nº 14. Superficie foliar específica media en el momento de cosecha.

Tratamiento	SFE (m ² kg ⁻¹)
AL	17,4 ± 0,99 b
AC	19,9 ± 0,76 b
AC+CF	28,6 ± 2,87 a

*Dentro de la misma columna, valores seguidos de distinta letra indican diferencias significativas entre tratamientos según el test T de Bonferroni ($p < 0,05$).

4.1.5 Producción comercial

La producción comercial obtenida en cada uno de los tratamientos de cubierta se muestra en la tabla nº 15. No se observaron diferencias significativas entre tratamientos aunque la variabilidad medida en las parcelas AC+CF fue alta.

Tabla nº 15. Producción comercial .

Tratamiento	Producción (kg m ⁻²)
AL	4,5 ± 0,89 a
AC	3,9 ± 0,18 a
AC+CF	4,9 ± 1,45 a

*Dentro de la misma columna, valores seguidos de distinta letra indican diferencias significativas entre tratamientos según el test T de Bonferroni ($p < 0,05$).

Los acolchados y la combinación acolchados+cubiertas no consiguen incrementar la cosecha de esta variedad de escarola y lo que hacen es acortar su ciclo de cultivo. El momento de corte comercial es cuando las plantas alcanzan los 450 gramos aproximadamente y este momento se alcanza a distinta velocidad en cada tratamiento. Las plantas crecidas sobre acolchados (con y sin cubierta) tienen un crecimiento muy rápido como se puede ver en la figura nº 9 donde se muestra la evolución de la biomasa en función del tiempo. Las pendientes de las rectas de regresión de AC y AC+CF son muy similares, lo que indica un velocidad similar de crecimiento y más altas que AL. Estas relaciones lineales encontradas (con buenos R²) y las altas pendientes indican que el ciclo comercial finaliza con bastante antelación al ciclo biológico de la planta de modo que las plantas que crecen en peores condiciones climáticas son capaces, con el tiempo, de alcanzar los mismos valores de biomasa y producción que otras protegidas en nuestras condiciones de cultivo. En zonas más frías o en calendarios con temperaturas más bajas la precocidad inducida por los acolchados y/o las cubiertas flotantes podría ser más interesante para evitar daños por heladas o paradas vegetativas que alargan los ciclos de cultivo.

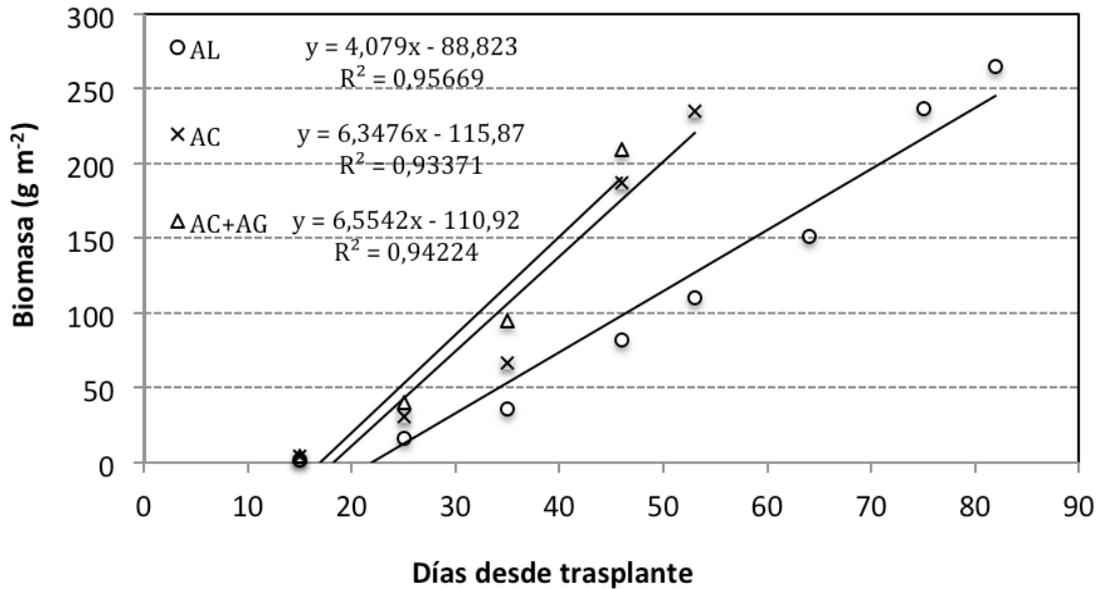


Figura nº 9. Relación entre incremento de biomasa de días desde trasplante

4.1.6. Relación entre las medidas de SPAD y los parámetros de crecimiento.

Según Goffart *et al.* (2006) las mejores relaciones entre las medidas con SPAD y el contenido de nitratos en planta se obtienen dentro del período que va de las 3 a las 4 semanas después del trasplante por lo que a partir de los de los 27 ddt se tomaron medidas con el medidor portátil SPAD para establecer si el medidor era capaz de discriminar entre distintas pautas de crecimiento, concentración de nitratos en planta, contenido de pigmentos etc.

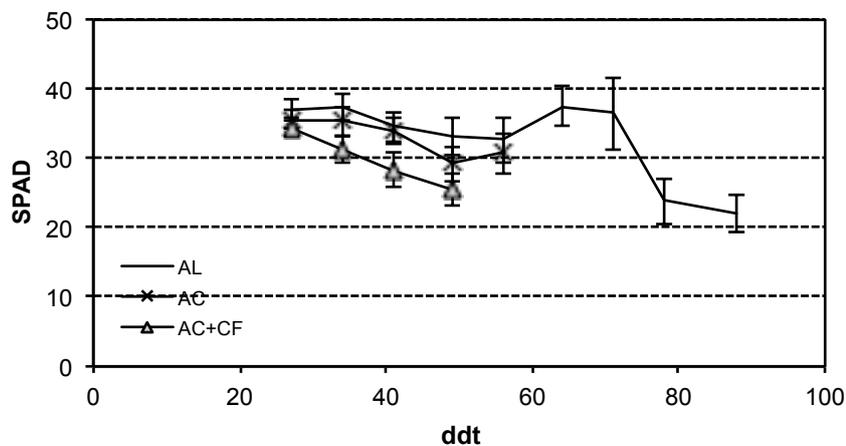


Figura 10. Evolución de las medidas SPAD. Los valores representados proceden de la media de 15 repeticiones \pm la desviación estándar.

En todos los muestreos realizados, se observan diferencias significativas entre los tratamientos AL y AC+CF. Además, el tratamiento AL muestra diferencias significativas respecto al tratamiento AC los días 34 y 49 ddt. Los valores más altos con el SPAD se obtuvieron siempre en AL, y los más bajos en AC+CF. Los valores SPAD están dentro del rango 22-37,5. La tendencia se muestra descendente conforme avanza el ciclo. De modo general se puede observar una tendencia de las medidas de SPAD a ir bajando conforme la planta crece, pero no se ha encontrado ninguna relación entre crecimiento y SPAD.

4.1.6.1. SPAD y Nitratos en planta

La relación entre las medidas SPAD y la concentración de nitratos en hoja en el ensayo de cubiertas se presenta en la figura nº 11. Aunque en la figura se puede observar que los valores de SPAD aumentan cuando aumenta la concentración de nitratos en planta no se ha encontrado ninguna buena correlación entre concentración de nitratos en planta y valores de SPAD en ninguno de los tratamientos por lo que, en nuestras condiciones, y con la variedad ensayada la medida de SPAD no parece útil para estimar la concentración de nitratos en hojas de escarola.

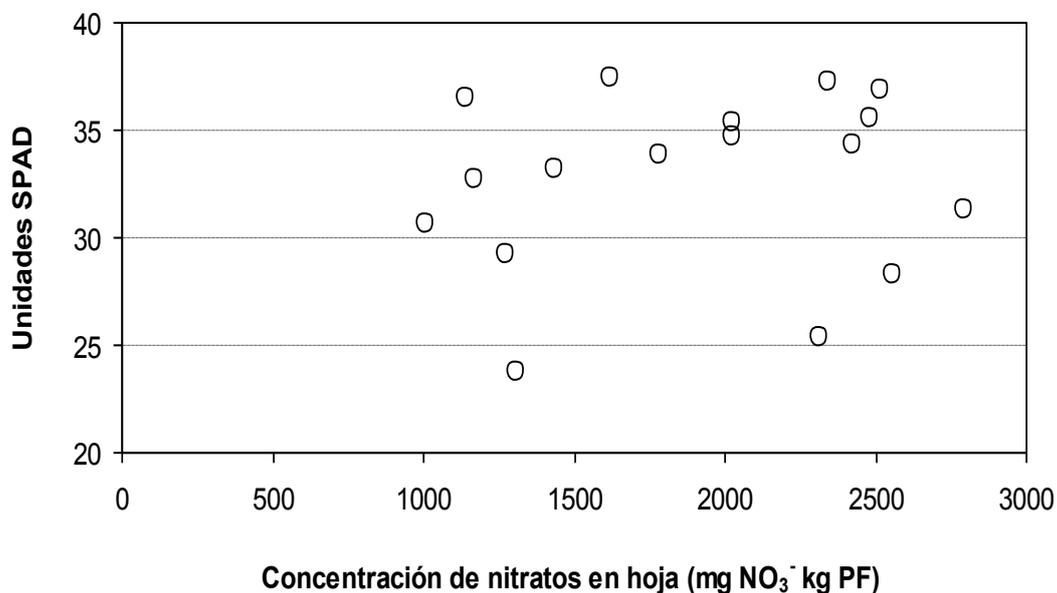


Figura nº 11. Relación entre la concentración de nitratos en hoja fresca (mg Kg^{-1}) y las medidas de SPAD registrados para el ensayo de cubierta. Los datos representan la media de tres medidas.

4.1.6.2. SPAD y pigmentos fotosintéticos

Se han encontrado relaciones entre los valores de SPAD y la concentración de clorofilas (figura 12) aunque dichas relaciones tienen una escasa utilidad práctica debido a que son distintas entre tratamientos. Así encontramos ajustes lineales en plantas crecidas al aire libre, ajustes polinómicos en las plantas sobre acolchado y ajustes exponenciales en las plantas crecidas bajo las cubiertas. Además las tendencias observadas van en la línea de que a mayor cantidad de clorofilas menores valores de SPAD lo cual es contrario a lo indicado en la literatura (Uddling *et al.* 2007).

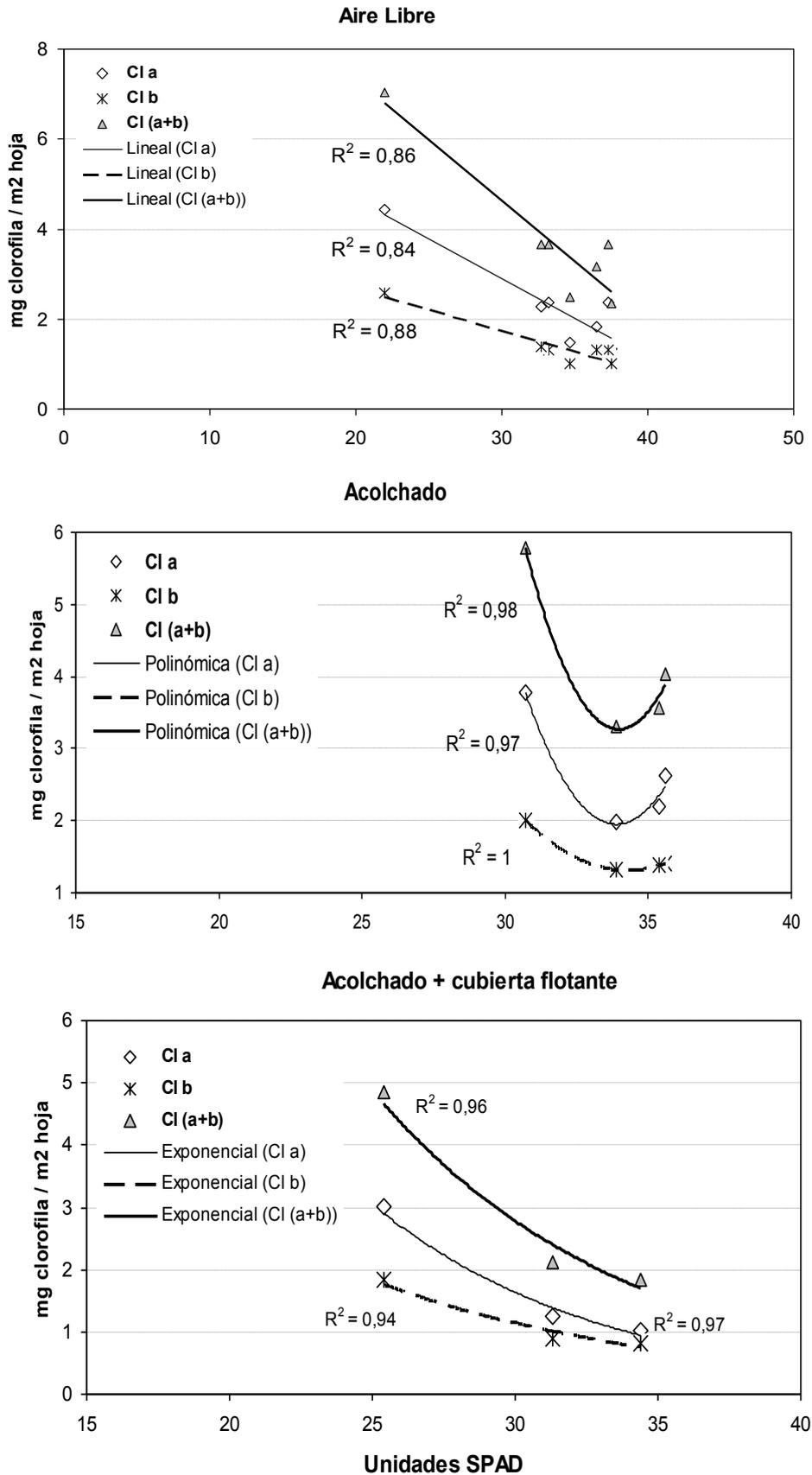


Figura 12. Relación entre la concentración de clorofilas y los valores SPAD.

4.2.-EXPERIMENTO 2: EFECTO DE LA DOSIS DE NITRÓGENO EN EL CULTIVO DE ESCAROLA

4.2.1. Contenido de nitratos en planta

La figura 13 muestra la concentración de nitratos en hoja en el momento de cosecha para los 3 tratamientos (N0, N1 y N2). Como puede observarse en la gráfica, se aprecia una estrecha relación (coeficiente de correlación r de Pearson = 0,997) entre la concentración de nitrato en planta en y el N mineral en suelo (Nmin total en tabla 4).

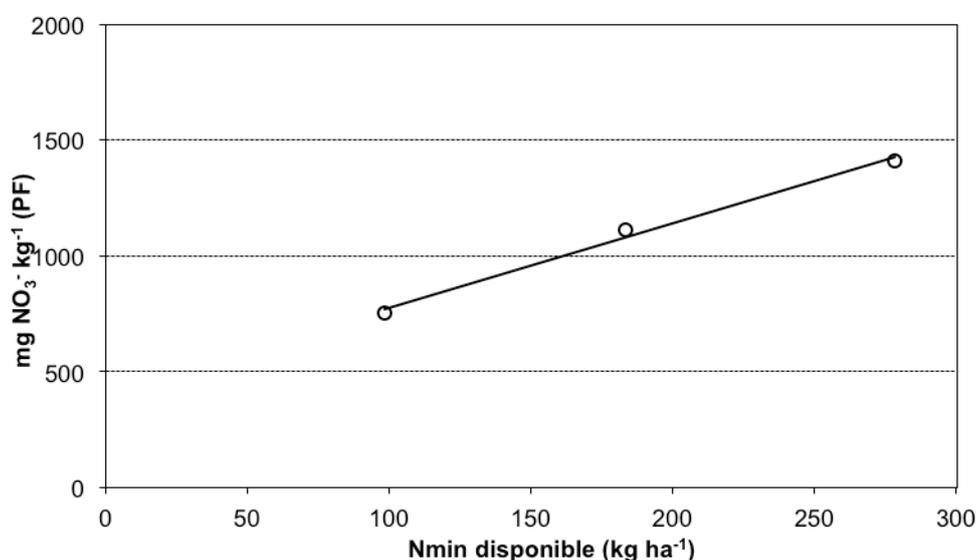


Figura 13. Relación entre contenido medio final de nitratos en hoja en el momento de cosecha y el N mineral disponible para la planta ($r = 0,997$). Los valores representan la media de tres repeticiones.

Aunque los valores de nitrato en planta en el tratamiento de máxima acumulación estaría dentro de los límites legales se puede ver claramente como una reducción en los aportes nitrogenados reduce considerablemente el contenido de nitratos, llegando casi a la mitad en el tratamiento N0, siendo, por tanto, estas plantas más saludables desde el punto de vista alimentario.

Aunque desde el punto de vista comercial únicamente interese el valor de nitratos en hoja en el momento de cosecha, hemos realizado un estudio de la evolución de su contenido en planta a lo largo del ciclo (tabla nº 16).

Las concentraciones de nitrato en planta varían a lo largo de todo el ciclo. A partir del día 46 ddt se observan diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos, de modo que las plantas crecidas en el tratamiento con menos nitrógeno en suelo son las que menos nitratos acumulan en hoja

Tabla nº 16. Evolución de la concentración de nitratos (mg kg^{-1} p.f.).

Tratamiento	15 ddt	25 ddt	35 ddt	46 ddt	53 ddt	64 ddt	75 ddt	82 ddt
N0	1262 a	2214 a	1890 a	924 b	1062 b	1194 b	982 b	754 b
N1	1390 a	2788 a	2072 a	1398 ab	1211 ab	1494 ab	1112 ab	1109 ab
N2	1754 a	2794 a	2027 a	1535 a	1577 a	1582 a	1411 a	1410 a

*Dentro de la misma columna, valores seguidos de distinta letra indican diferencias significativas entre tratamientos según el test T de Bonferroni ($p < 0,05$).

4.2.2. Pigmentos fotosintéticos: clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total y carotenos

Las tablas 17, 18 y 19 muestran los valores obtenidos en la extracción de clorofilas (clorofila *a*, clorofila *b* y clorofila total, respectivamente). Aunque aparecen diferencias estadísticas entre tratamientos, éstas son variables y cambian en el tiempo sin que marquen una tendencia clara. No se aprecia que un incremento en el abonado nitrogenado induzca cambios en la concentración de pigmentos fotosintéticos.

Tabla nº 17. Evolución de la clorofila *a* (mg m^{-2} hoja). Los datos proceden de la media de 27 repeticiones.

Tratamiento	27 ddt	34 ddt	41 ddt	49 ddt	56 ddt	62 ddt	71 ddt	78 ddt	88 ddt
N0	15 c	29 a	18 c	15 c	13 c	14 b	27 a	27 a	43 ab
N1	26 a	25 a	26 b	33 a	17 b	32 a	20 b	27 a	36 b
N2	21 b	16 b	33 a	23 b	37 a	12 b	19 b	32 a	54 a

*Dentro de la misma columna, valores seguidos de distinta letra indican diferencias significativas entre tratamientos según el test T de Bonferroni ($p < 0,05$).

Tabla nº 18. Evolución de la clorofila *b* (mg m^{-2} hoja). Los datos proceden de la media de 27 repeticiones.

Tratamiento	27 ddt	34 ddt	41 ddt	49 ddt	56 ddt	62 ddt	71 ddt	78 ddt	88 ddt
N0	9 c	15 a	16 b	10 c	9 c	12 b	17 a	19 a	24 a
N1	14 a	13 a	15 b	18 a	11 b	18 a	15 b	20 a	23 a
N2	12 b	11 b	19 a	13 b	20 a	10 b	13 b	22 a	29 a

*Dentro de la misma columna, valores seguidos de distinta letra indican diferencias significativas entre tratamientos según el test T de Bonferroni ($p < 0,05$).

Tabla nº 19. Evolución de la clorofila total (mg m^{-2} hoja). Los datos proceden de la media de 27 repeticiones.

Tratamiento	27 ddt	34 ddt	41 ddt	49 ddt	56 ddt	62 ddt	71 ddt	78 ddt	88 ddt
N0	24 c	44 a	34 b	25 c	22 c	26 b	44 a	46 a	67 b
N1	40 a	38 a	41 b	51 a	28 b	50 a	35 b	47 a	59 b
N2	33 b	27 b	52 a	36 b	57 a	22 b	32 b	54 a	83 a

*Dentro de la misma columna, valores seguidos de distinta letra indican diferencias significativas entre tratamientos según el test T de Bonferroni ($p < 0,05$).

Resultados similares se obtienen con los caratenoides (tabla nº 20)

Tabla nº 20. Evolución de la concentración de carotenoides (mg m^{-2}). Los datos proceden de la media de 27 repeticiones.

Tratamiento	27 ddt	34 ddt	41 ddt	49 ddt	56 ddt	62 ddt	71 ddt	78 ddt	88 ddt
N0	14 b	22 a	23 a	23 b	24 b	25 a	30 a	22 b	21 b
N1	15 b	22 a	18 b	30 a	28 a	25 a	28 a	20 b	25 ab
N2	17 a	20 b	23 a	28 a	24 b	26 a	24 b	25 a	28 a

*Dentro de la misma columna, valores seguidos de distinta letra indican diferencias significativas entre tratamientos según el test T de Bonferroni ($p < 0,05$).

4.2.3. Nitrato reductasa, proteínas y aminoácidos solubles.

A los 56 ddt se analizó la actividad de la enzima nitrato reductasa (NR) y el contenido en proteínas y aminoácidos solubles (tablas 21 y 22).

Tabla nº 21. Actividad de la enzima nitrato reductasa ($\text{mmol NO}_2^- \text{ minuto}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ proteína) \pm la desviación estándar a los 56 ddt. Los datos proceden de la media de 27 repeticiones*.

Tratamiento	Actividad de la Nitrato reductasa
N0	$0,07 \pm 0,113$ b
N1	$0,12 \pm 0,227$ b
N2	$0,25 \pm 0,147$ a

*Dentro de la misma columna, valores seguidos de distinta letra indican diferencias significativas entre tratamientos según el test T de Bonferroni ($p < 0,05$).

Tal y como se observa en la tabla 21, la actividad de la enzima NR muestra diferencias significativas entre tratamientos, aumentando su actividad en proporción a la cantidad de nitratos disponible (tabla nº 16). La NR es una enzima que reduce los

nitratos a nitritos y es uno de los primeros pasos en la síntesis de aminoácidos por lo que actividades altas de la misma suelen elevar inicialmente los contenidos en aminoácidos solubles y posteriormente la cantidad de proteínas.

Tabla nº 22. Contenido en proteínas y aminoácidos solubles (g m^{-2}) \pm la desviación estándar a los 56 ddt. Los datos proceden de la media de 27 repeticiones*.

Tratamiento	Proteínas	Aa solubles
N0	2,3 \pm 0,65 a	1,1 \pm 0,47 a
N1	2,6 \pm 0,60 a	1,0 \pm 0,28 a
N2	2,6 \pm 0,52 a	0,9 \pm 0,20 a

*Dentro de la misma columna, valores seguidos de distinta letra indican diferencias significativas entre tratamientos según el test T de Bonferroni ($p < 0,05$).

Cuando se cuantifica la cantidad de nitrógeno mineral que es fijado en planta en forma de nitrato, los tratamientos N0 y N1 tienen valores similares (32% y 31% respectivamente) y mayores que en el tratamiento N2 (26%). A pesar de este menor valor en el tratamiento N2, la gran concentración de N en suelo hace que la acumulación de nitratos en hoja sea mayor que en los restantes tratamientos incluso con una mayor cantidad de actividad nitrato reductasa.

Una posible causa que explique el incremento de nitratos en hoja y que, sin embargo, no se produzca un incremento en la concentración de aminoácidos y proteínas al aumentar la dosis de N podría ser que en el siguiente paso metabólico en la ruta del nitrógeno moderado por la nitrito reductasa que reduce los nitritos a amonio se liberara una gran cantidad de este ión hasta niveles que pudieran llegar a ser tóxicos para la planta y provocara la interrupción en la síntesis de aminoácidos y proteínas.

4.2.4. Parámetros de crecimiento

En las figuras 14 y 15 se puede ver la evolución de la biomasa y la superficie foliar y en la tabla nº 23 los valores finales de la superficie foliar específica. Ninguno de

los parámetros de crecimiento muestra diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos.

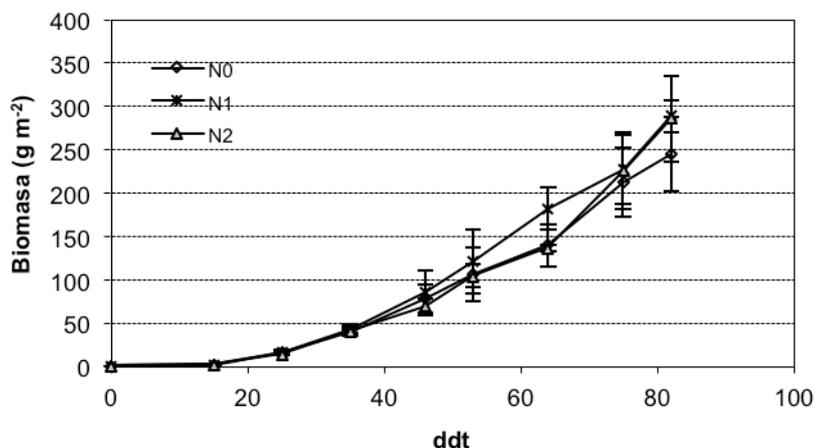


Figura 14. Evolución de la biomasa

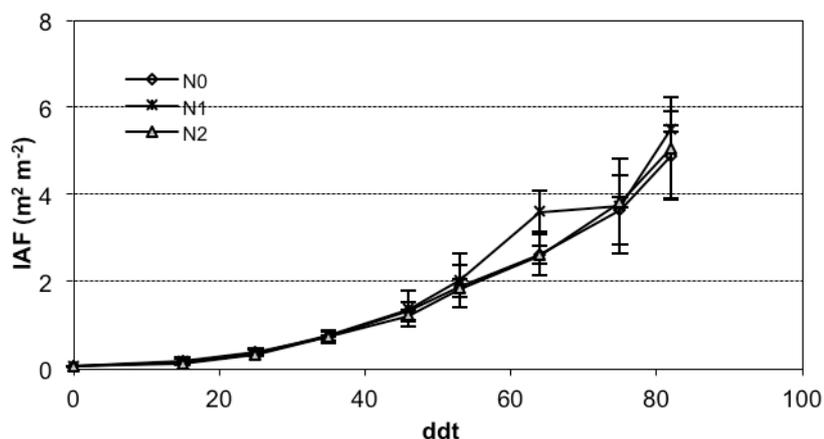


Figura 15. Evolución del índice de área foliar (IAF)

Tabla nº 23. Superficie foliar específica (SFE) \pm desviación estándar de tres dosis de N en el ensayo de abonado. Los datos proceden de la media de tres repeticiones.

Tratamiento	SFE* (m ² kg ⁻¹)
N0	19,9 \pm 2,12 a
N1	19,1 \pm 1,48 a
N2	17,8 \pm 2,75 a

*Dentro de la misma columna, valores seguidos de distinta letra indican diferencias significativas entre tratamientos según el test T de Bonferroni ($p < 0,05$).

4.2.5. Producción comercial

Tal y como ocurre con los parámetros de crecimiento no se encuentran diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos de abonado en la producción comercial de escarola (tabla n° 24) en las condiciones de nuestro experimento.

Tabla n° 24. Producción comercial

Tratamiento	PF final* (kg m ⁻²)
N0	4,2 ± 0,71 a
N1	5,2 ± 0,41 a
N2	5,1 ± 0,85 a

*Dentro de la misma columna, valores seguidos de distinta letra indican diferencias significativas entre tratamientos según el test T de Bonferroni ($p < 0,05$).

A la vista de estos resultados de crecimiento y producción, desde el punto de vista agronómico y económico no es interesante aumentar el abonado nitrogenado para esta variedad de escarola por encima de los 100 kg N ha⁻¹.

4.2.6. Relación entre las medidas de SPAD y los parámetros de crecimiento.

4.2.6.1. SPAD y Nitratos en planta

Las medidas de SPAD, realizadas a partir de los 27 ddt, no detectan las diferencias de concentración de nitratos medidas en planta ya que durante la mayor parte del ciclo no se encuentran diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos (figura 16). Únicamente encontramos diferencias a los 71 ddt y éstas son favorables para el tratamiento con menor contenido en nitrógeno mineral en suelo cuando lo usual es justo lo contrario, que los valores de SPAD sean más altos en plantas que acumulan mayor cantidad de nitratos (Holland *et al.*, 2010; Zebarth *et al.*, 2011).

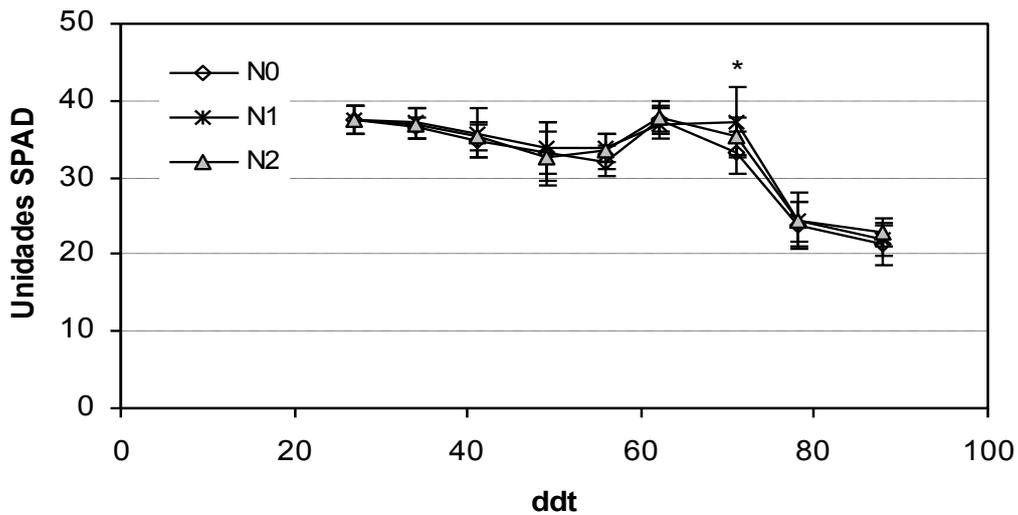


Figura nº 16. Evolución de las medidas SPAD. Los valores representados proceden de la media de 15 repeticiones \pm la desviación estándar. “*” indica diferencias significativas entre N1 y N0 ($p = 0,0091$).

A partir de todos los datos de SPAD y las concentraciones de nitrato en planta realizamos una regresión para relacionar ambas variables (figura 17). Aunque globalmente se puede establecer una relación exponencial entre ambas variables ($y = 38,51(1 - e^{-0,001433x})$) el bajo R^2 obtenido, de 0,44 hace que la relación no se pueda considerar como buena, por lo que podemos indicar, que, en las condiciones de nuestro experimento el SPAD no es una metodología útil para la estimación de los contenidos de nitrato en hoja.

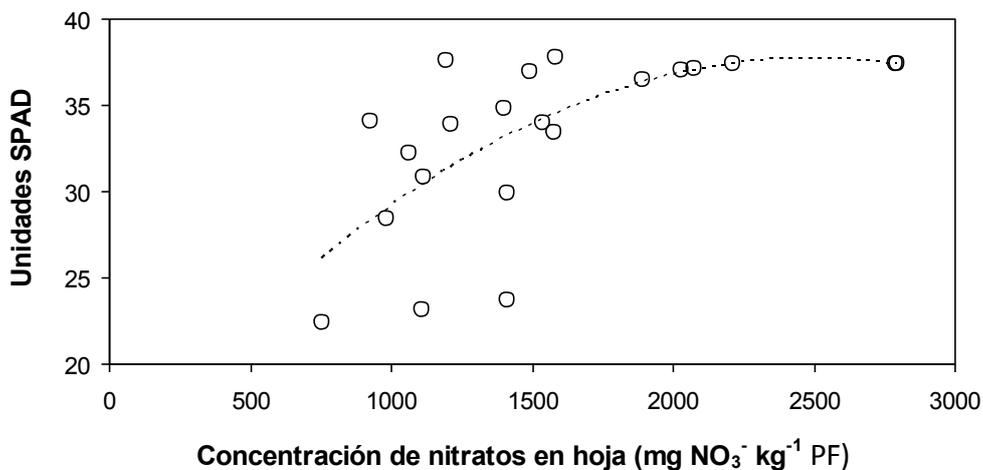


Figura nº 17. Relación entre la concentración de nitratos en hoja y unidades SPAD. Medidas tomadas durante todo el ciclo. Cada punto representado es la media de tres repeticiones.

4.2.6.2. SPAD y Nitrógeno en suelo

Las medidas SPAD también se han relacionado en la literatura con el N aplicado. Lopez-Bellido *et al.*, (2004) relaciona el N aplicado con las lecturas SPAD en la hoja bandera del maíz, obteniendo un valor de R^2 de 0,90 usando una regresión exponencial. La figura 18 muestra la relación obtenida en el ensayo, entre el N disponible y las medidas SPAD, para cada uno de los muestreos realizados. La tabla nº 25 recoge los valores de R^2 para cada muestreo, obtenidos a partir de regresiones lineales simples. A la vista de esta figura, una relación exponencial no mejoraría el valor del ajuste (R^2), puesto que en tres de los siete muestreos (ddt = 46, 53 y 75) se observa que los valores SPAD decrecen al aumentar la dosis de N (N2 respecto a N1).

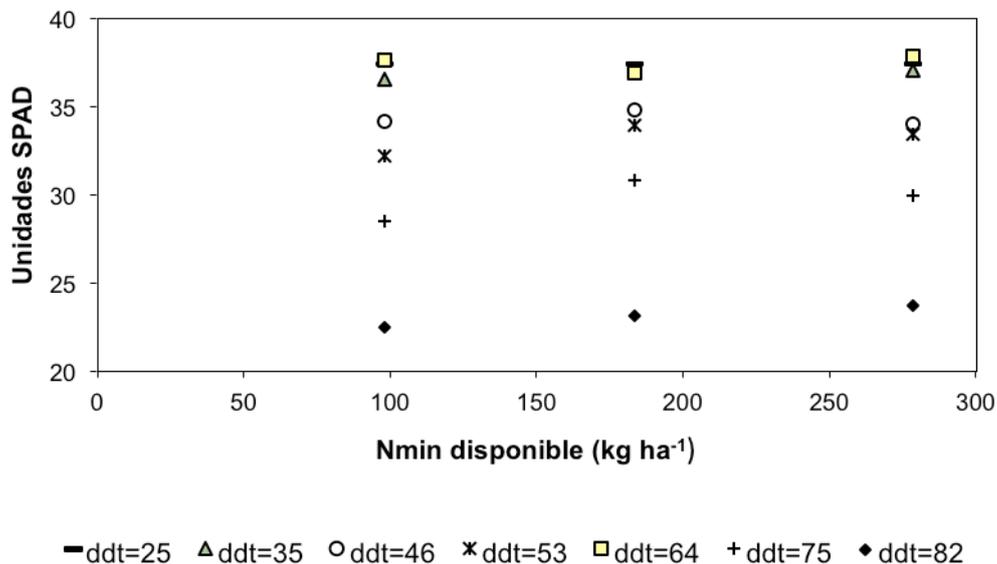


Figura nº 18. Relación entre el N mineral disponible y las unidades SPAD para cada muestreo. Cada punto representado es la media de tres repeticiones.

Tabla nº 25. Valores del coeficiente de determinación (R^2) calculado para la relación lineal entre el N mineral disponible y unidades SPAD en cada uno de los muestreos realizados.

ddt	25	35	46	53	64	75	82
R^2	0,00	0,57	0,02	0,44	0,06	0,34	0,99

4.2.6.3. SPAD y biomasa

El medidor SPAD también se ha utilizado para estimar el peso seco de pepino en invernadero cultivado en sustrato de perlita (Cho *et al.*, 2006), encontrando relaciones significativas entre las medidas SPAD y el peso seco de planta ($R^2 = 0,478$) considerando una relación lineal entre ambas variables. También Abdelhamid *et al.* (2003) encontraron una relación lineal entre las lecturas SPAD y el peso seco de la planta, en un ensayo de cultivo de haba en maceta, con un valor de R^2 muy superior (0,96). Si vemos la figura 19, en nuestro estudio se podría estimar una relación lineal entre ambas, pero decreciente. Aunque la relación encontrada es aún mayor que la descrita por Cho *et al.* (2006), no la consideramos de interés ya que pensamos que no sirve para realizar ningún tipo de predicción. Lo que ocurre con esta relación es que se compara una serie que aumenta (la biomasa) con otra que disminuye (las unidades de SPAD) tal y como vimos en la figura nº 17).

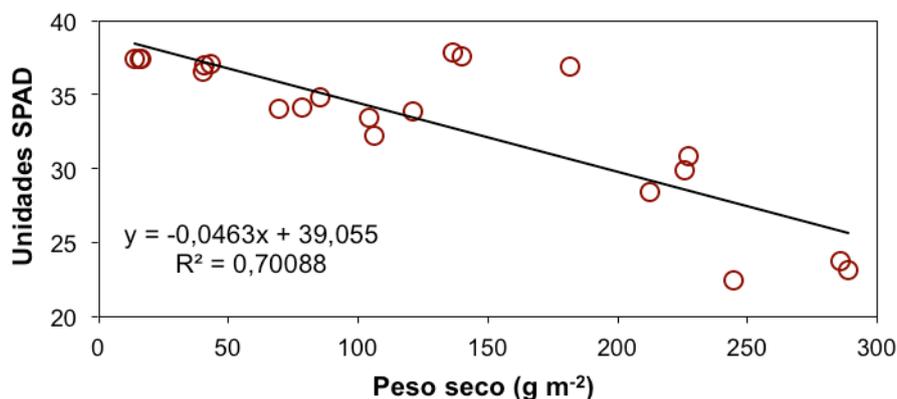


Figura nº 19. Relación entre la biomasa (CDW) y unidades SPAD. Medidas tomadas durante todo el ciclo. Cada punto representado es la media de tres repeticiones.

4.2.6.4. SPAD y pigmentos fotosintéticos

La figura 20 muestra la relación entre las medidas SPAD y la clorofila total extraída. La tendencia que siguen las medidas SPAD para valores crecientes de clorofila por unidad de superficie, es decreciente. Es decir, a medida que avanza el ciclo de cultivo, la planta va incrementando peso y concentración de clorofilas como cabría esperar, pero el medidor no es capaz de detectarlo

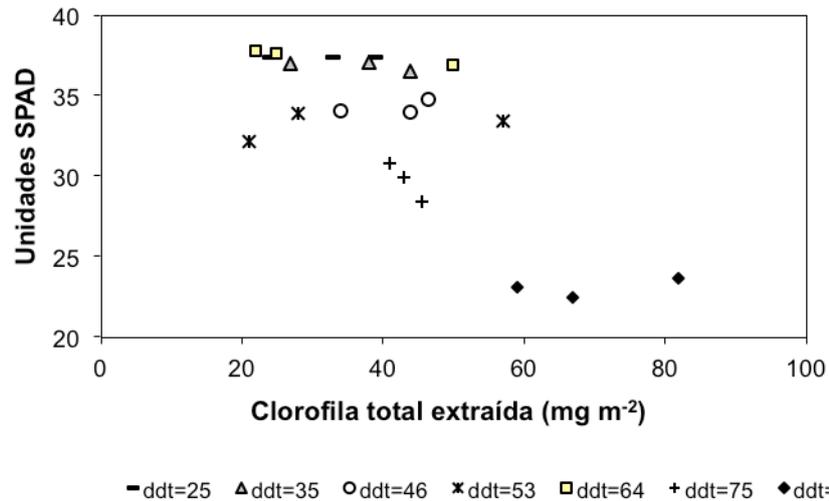


Figura 20. Relación entre el contenido total de clorofila extraída (clorofila *a* + clorofila *b*) y las unidades SPAD para cada muestreo.

Tabla n° 26. Valor del coeficiente de determinación (R^2) para la relación lineal entre el contenido total de clorofila extraída (clorofila *a* + clorofila *b*) y las unidades SPAD para cada muestreo.*Ecuaciones con pendiente negativa.

ddt	25	35	46	53	64*	75*	82
R^2	0,49	0,44	0,32	0,16	0,99	0,99	0,35

Además, las relaciones encontradas son variables en cada muestreo como puede observarse en la tabla n° 26, de modo que en dos de ellos (64 y 75 ddt) si se encuentran buenos ajustes entre los valores de SPAD y el contenido de clorofilas totales pero en los restantes muestreos no. Esto hace que que no podamos considerar al SPAD como un sistema de monitoreo útil para el cultivo de escarola.

Conclusiones

PRIMERA: El acolchado de suelos con acolchado de plástico negro y su utilización conjunta con una cubierta flotante reduce considerablemente la duración del ciclo de cultivo de la escarola como cultivo de otoño para una vega de interior.

SEGUNDA: La elevación de las temperaturas de suelo de los acolchados mejoran la eficiencia en la absorción de nitrógeno pero no elevan sustancialmente el contenido de nitratos en hoja.

TERCERA: Las plantas crecidas bajo cubierta incrementan notablemente su concentración foliar de nitratos.

CUARTA: La dosis recomendada en bibliografía para la fertilización nitrogenada de escarola para los rendimientos esperados es claramente excedentaria ya que con una dosis de 100 kg N ha^{-1} se obtienen los mismos rendimientos y plantas más saludables al contener menos nitratos.

QUINTA: Las plantas crecidas con altas dosis de nitrógeno acumulan una mayor cantidad de nitratos en hoja ya que a pesar de tener una mayor actividad nitrato reductasa no son capaces de metabolizar todo el nitrógeno.

SEXTA: Las medidas de SPAD no son útiles para monitorizar el cultivo de escarola ya que no se han encontrado relaciones estadísticas sólidas y significativas entre dichas medidas y ningún parámetro biológico estudiado.

Bibliografía

A

Abdelhamid, M., Horiuchi, T. y Oba, S. 2003. Evaluation of the SPAD value in faba bean (*Vicia faba* L.) leaves in relation to different fertilizer applications. *Plant Production Science*, 6 (3): 185-189.

Antón A. y Lizaso J. 2003. Nitritos, nitratos y nitrosaminas. En: Fundisa. Artículos de divulgación.

Argall, J.F. y Stewart, K.A. 1997. Technologies for the culture of melon in marginal growing regions. *Proc. Agricultural Plastic Congress*, 21: 127-132.

ASAE, 1985. American Society of Agricultural Engineering. Erosion and soil productivity. *Amer. SOC. Agric. Engr. Publ. No. 8-85*.

Azevedo, C. y Rodríguez-Amaya, D. 2005. Carotenoid composition of kale as influenced by maturity, season and minimal processing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85 (4): 591-597.

B

Balasubramanian V., Alves, B., Aulakh, M., Bekunda, M., Cai, Z., Drinkwater, L., Mugendi, D., Van kessel, C., Onema, O. 2004. Crop, environmental and management factors affecting nitrogen use efficiency. En: *Agriculture and the Nitrogen Cycle* (Mosier *et al.*, Eds). Island Press, 19-33.

Barros, L.C.G. y Hanks, R.J. 1993. Evapotranspiration and yield of beans as affected by mulch and irrigation. *Agronomy Journal*, 85: 682-697.

Beadle, C.L. 1988. Análisis de crecimiento vegetal. E: Técnicas de fotosíntesis y bioproductividad. Colegio de postgraduados, Chapingo, México. 17-21.

Biermarcher J.T., Brorsen B.W., Epplin F.M., Solie, J.B., Raun, W.R. 2009. The economic potencial of precision nitrogen application with wheat based on plant sensing. *Agricultural Economics*, 40: 397-407.

Blasco, B., Rios, J.J., Cervilla, L.M., Sánchez-Rodríguez, E., Rubio-Wilhelmi, M.M., Rosales, M.A., Ruiz, J.M. y Romero, L. 2010. Photorespiration in letuce plants (*Lactuca sativa* L.): Induced changes in response to lodine biofortification. *Journal of plant growth regulation*. 29 (4): 477-486.

Bleyaert, J. 1991. Influence of soil covering on tomatoes grown in plastic greenhouses. *Plasticulture*, 89: 39-44.

BOE, 1996. Boletín Oficial de España. Real Decreto 261/1996, de 16 de Febrero, sobre protección de las aguas contra la contaminación producida por los nitratos procedentes de fuentes agrarias. Núm. 61, 9734-9737.

Boink, A. y Speijers, G. 2001. Health effects of nitrates and nitrites, a review. International Conference on Environmental Problems Associated with Nitrogen Fertilisation of Field Grown Vegetable Crops. Acta Horticulturae, 563.

BOJA, 2008. Boletín Oficial de la Junta de Andalucía. Decreto 36/2008, de 20 de febrero, por el que se designan las zonas vulnerables y se establecen medidas contra la contaminación por nitratos de origen agrario. Núm. 36.

BOJA, 2008. Boletín Oficial de la Junta de Andalucía. Orden de 18 de noviembre de 2008, por la que se aprueba el programa de actuación aplicable en las zonas vulnerables a la contaminación por nitratos procedentes de fuentes agrarias designadas en Andalucía. Núm. 4.

BOJA, 2009. Boletín Oficial de la Junta de Andalucía. Orden de 8 de enero de 2009, corrección de errata a la Orden de 18 de noviembre de 2008, por la que se aprueba el programa de actuación aplicable en las zonas vulnerables a la contaminación por nitratos procedentes de fuentes agrarias designadas en Andalucía. Núm. 4.

BOJA, 2009. Boletín Oficial de la Junta de Andalucía. Orden de 7 de julio de 2009, conjunta de las Consejerías de Agricultura y Pesca y Medio Ambiente, por la que se aprueba la modificación de las zonas vulnerables designadas mediante Decreto 36/2008, de 5 de febrero, por el que se designa las zonas vulnerables y se establecen medidas contra la contaminación por nitratos de origen agrario. Núm. 157.

Boussadia, O., Steppe, K., Zgallai, H., Ben El Hadj, S., Braham, M., Lemeur, R. y Van Labeke, M.C. 2011. Nondestructive determination of nitrogen and chlorophyll content in olive tree leaves and the relation with photosynthesis and fluorescence parameters. *Photosynthetica*, 49 (1): 149-153.

Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72 (1-2): 248-254.

Bristow, K.L. 1998. The role of mulch and its architecture in modifying soil temperature. *Australian Journal Soil Research*, 26: 269-280.

Brun, R. 1992. Le pillage plastique. Les plastiques en agriculture. *Revue Horticole*. Paris. 393-407.

Burns, J., Frase, P.D. y Bramley, P.M. 2003. Identification and quantification of carotenoids, tocopherols and chlorophylls in commonly consumed fruits and vegetables. *Photochemistry*, 62: 939-947.

C

Camargo, J.A. y Alonso, A. 2006. Inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: causes and consequences. *Environment International*, 32: 831-849.

Cartelat A., Cerovic, Z.G., Goulas, Y., Meyer, S., Lelarge, C., Prioul, J.L., Barbottin, A., Jeuffroy, M.H., Gate, P., Agati, G., Moya, I. 2005. Optically assessed contents of leaf polyphenolics and chlorophyll as indicators of nitrogen deficiency in wheat (*Triticum aestivum* L.) Field Crop Research, 91: 35-49.

Chadjaa, H., Vezina, L.P. y Gosselin, A. 1999. Effect of supplementary lighting on growth and primary nitrogen metabolism of greenhouse lamb's lettuce and spinach. Canadian Journal of Plant Science, 79: 421-426.

Cho, Y.Y., Oh, S., Oh, M.M. y Son, J.E. 2007. Estimation of individual leaf area, fresh weight and dry weight of hydroponically grown cucumbers (*Cucumis sativus*, L) using leaf length, width and SPAD value. Scientia Horticulturae, 111: 330-334.

Cholakov, T.L. y Nacheva, E.K. 2009. Results from using polypropilene cover in production of early potatoes. Acta Horticulturae, 830: 603-608.

Claret, M., Urrutia, R., Ortega, R., Best, S. y Valderrama, N. 2011. Quantifying nitrate leaching in irrigated wheat with different nitrogen fertilization strategies in an alfisol. Research. Chilean Journal of Agricultural Research, 71 (1): 148-156.

Contreras, E. y Sánchez, F. 1992. Ensayo preliminar del comportamiento de calabacita (*Cucurbita pepo* L.), frijol ejotero (*Phaseolus vulgaris* L.) y pepino (*Cucumis sativus* L.) en acolchados y microtúneles. Revista Chapingo, 15 (73-74): 34-38.

Cuenca, R.H., 1989. Irrigation system design. An engineering approach. Libro, 552 pp.

Cushman, K.E. y Snyder, R.G. 2002. Swine effluent compared to inorganic fertilizers for tomato production. Journal of Plant Nutrition 25 (4): 809-820.

D

Dapoiny, L., de Tourdonnet, S., Roger-estrade, J., Jeuffroy, M.-H. y Fleury, A. 2000. Effect of nitrogen nutrition on growygh and nitrate accumulation in lettuce (*Lactuca sativa* L.), under various conditions of radiation and temperatrure. Agronomie, 20: 843-855.

Daughtry, C. S., Walthall, C. L., Kim, M. S., Brown de Colstoun, E., McMurtrey, J. E. 2000. Estimating corn leaf chlorophyll concentration from leaf and canopy reflectance. Remote Sensing of Environment, 74: 229-239.

Demmig-Adams B., Gilmore A.M., Adams W.W. 1996. In vivo functions of carotenoids in higher plants. FASEB Journal 10: 403-412

Díaz, L. 1997. Desarrollo vegetativo y productivo de la frutilla (*Fragaria x ananassa* Duch.) con cobertura de agrotexil de poliéster y mulch de plástico negro. Memoria del Título de Ingeniero Agrónomo, Universidad de Concepción, Chile.

Díaz, T., Espí, E., Fontecha, A., Jiménez, J.C., López, J. y Salmerón, A. 2001. Los filmes plásticos en la producción agrícola. Ed. Mundi-prensa. Madrid. España.

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

DeBaun, M.R. y Vichinsky, E. 2007. Hemoglobinopathies. In: Kliegman *et al.*, Eds. Nelson Textbook of Pediatrics. Elsevier, 462.

E

EEA, 2005. European Environment Agency. Agriculture and Environment in EU-15. The IRENA indicator Report. Report nº 6. Copenhagen, Denmark.

EEA, 2006. European Environment Agency. Assessing environmental integration in EU agricultural policy. EEA Briefing 2006/1. Copenhagen, Denmark.

EEA, 2007. European Environment Agency. Europe's environment. The fourth assessment. Copenhagen, Denmark.

EFSA, 2008. European Food Safety Authority. Factors influencing the concentration of nitrate in plants. The EFSA Journal, 689: 1-79.

Evans, R. O., Gilliam, J. W. y Skaggs, R. W. 1989. Managing water table management systems for water quality. In: Proc. Spec. Conference Natl. Water Quality Life Symposium on Irrigation and Drainage Div., ASCE. Newark DE, 237.

F

Falovo, C., Colla, G., Schreiner, M., Krumbein, A. y Schwarz, D. 2009. Effect of nitrogen form and radiation on growth and mineral concentration of two *Brassica* species. Scientia Horticulturae, 123 (2): 170-177.

Fan, X.L., Zhang, J.P. y Wu, P. 2002. Water and nitrogen use efficiency of lowland rice in ground covering rice production system in south China. Journal of Plant Nutrition, 25(9): 1855 -1862.

FAO nº 56, ETo de Penman-Monteith. Food and Agriculture Organization (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). Evapotranspiración del cultivo. Guías para la determinación de los requerimientos de agua de los cultivos.

FAO nº 90, 2002. Food and Agriculture Organization (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). El cultivo protegido en clima mediterráneo.

Fares, A. y Alva, A.K., 2000. Soil water components based on capacitance probes in a sandy soil. *Soil Science Society of America Journal*, 64 (1): 311-318.

Feller, C. y Fink, M. 2002. Nitrogen uptake by table beet. Validation of a model. *Journal of the American Society of Horticultural Science*, 127 (6): 1013- 1017.

Feltrim, A.L., Cecílio, A.B., Rezende, B. y Barbosa, J.C. 2006. Produção de chicória do período de cobertura com tecido de polipropileno, *Horticultura Brasileira*, 23: 249-254.

Fletcher, D.E. 1991. Managing nitrogen for ground water quality and farm profitability. In: Follet *et al.* Eds. *Soil Science Society of America Journal*, 9-16.

G

Gáborcík N., 2003. Relationship between contents of chlorophyll (a+b) (SPAD values) and nitrogen of some temperate grasses. *Photosynthetica* 41(2): 285-287.

Gaudreau, L., Charbonneau, J., Vezina, L.P. y Gosseli, A. 1995. Effects of photoperiod and photosynthetic photon flux on nitrate content and nitrate reductase activity in greenhouse-grown lettuce. *Journal of Plant Nutrition*, 18 (3).

Giménez, C., Otto, R.F. y Castilla, N. 2002. Productivity of leaf and root vegetable crops under direct cover. *Scientia Horticulturae*, 94 (1-2): 1-11.

Goffart, J.P., Renard, S., Frankinet, M., Sinnaeve, A., Maréchal, J. y Delvigne, A. 2006. Leaf chlorophyll content measurements for nitrogen fertilization management of curled-leaved endives in open-field. *Acta Horticulturae*, 700.

González, F.J.M., Aragüés, L.R., Blanco. O., Medina, E., 2010. Ensayo de riego deficitario controlado en melocotón de Calanda. Reunión Hispano-Portuguesa de Grupos de Investigación en Riego y Relaciones Hídricas en Cultivos Leñosos (29-30 nov. 2010, Guadajira, Badajoz).

Gregg, X.T. y Prchal, J.T. 2008. Red blood cell enzymopathies. In: Hoffman *et al.*, Eds. *Hematology: Basic Principles and Practice*. Elsevier, 45.

Guimerá, J., Marfa, O., Candela, L. y Serrano, L. 1995. Nitrate leaching and strawberry production under drip irrigation management. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 56: 121-135.

H

Hadas, A., Sagiv, B. y Haruvy, N. 1999. Agricultural Practices. *Agricultural Water Management*, 42(1): 81-95.

Hageman, R.H. y Hucklesby, D.P. Nitrate reductase. 1971. *Methods Enzymol*, 1; 23: 497-503.

Ham, J.M., Kluitenberg, G.J. y Lamont, W.J. 1993. Optical properties of plastic mulches affect the field temperature regime. *Journal of American Society of Horticultural Science*, 118 (2): 188-193.

Harrison, J., Hirel, B. y Limami, A.M. 2004. Variation in nitrate uptake and assimilation between two ecotypes of *Lotus japonicus* and their recombinant inbred lines. *Physiologia plantum*, 120 (1): 124-131.

Heuberger, H., Praeger, U., Georgi, M., Schirmacher, G., Graßmann, J. y Schnitzler, W.H. 2004. Precision stressing by UV-B radiation to improve quality of spinach under protected cultivation. *Acta Horticulturae*, 659: VII International Symposium on Protected Cultivation in Mild Winter Climates: Production, Pest Management and Global Competition.

Hernández, J. y Morales, M.I. 1995. Los agrotexiles y sus aplicaciones. HF/marzo, (45-47).

Hernández, J. 1996. Valoración agronómica y análisis microclimático de la técnica de semiprotección de cubiertas flotantes sobre col china. Tesis doctoral. Universidad de Granada. Granada. 265 pp.

Hernández, J., Soriano, T., Morales, M.I., Castilla, N. 2004. Row covers for quality improvement of Chinese cabbage (*Brassica rapa* subsp. *Pekinensis*). *New Zeland Journal of crop and horticultural science*. 32(4): 379-388.

Hoel, B.O. y Solhaug, K.A. 1998. Effect of irradiance on chlorophyll estimation with the Minolta SPAD-502 leaf chlorophyll meter. *Annals of Botany* 82: 389-392.

Holland, K.H. y Schepers, J.S. 2010. Derivation of available rate nitrogen application model for in-season fertilization of corn. *Agronomy Journal*, 102 (5): 1415-1424.

Hunt, R., 1990. Basic growth analysis : plant growth analysis for beginners. Unwin Hyman. London.

I

Ibarra, J. y Rodríguez, A. 1991. Acolchados de suelo con películas plásticas. Ed. Limusa. México. 132 pp.

Ibarra-Jiménez, L., Quezada, M.R., Munguía-López, J. y Cedeño-Ruvalcaba, B. 2004. Efecto del acolchado y micronutrientes en el desarrollo y fotosíntesis de sandía y pepino. In: *Memorias VI, Congreso Iberoamericano para el Desarrollo y Aplicación de los Plásticos en la Agricultura*, Bogotá, Colombia, (15-18).

I.N.M. 2007: Instituto Nacional de Meteorología. Ministerio de Medio Ambiente. Disponible en: www.inem.es

J

Jefferies, R.A. y Mackerron, D. K.L., 1989. Radiation interception and growth of irrigated and droughted potato (*Solanum tuberosum*). *Field Crops Research*, 22 (2), pp. 101-112.

JECFA, 2002. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Evaluation of certain drug residues in food. Technical Reports Series, 893.

Johnston, M. y Onwueme, I.C. 1998. Effect of shade on photosynthetic pigments in the tropical root crops: yam, taro, tannia, cassava and sweet potato. *Experimental Agriculture*, 34: 301-312.

Jones, H.G. 1992. *Plants and Microclimate, A Quantitative Approach to Environmental Plant Physiology*, Cambridge University Press, Cambridge. 443 pp.

Joublan, J.P. y Vergara, M. 2003. Desarrollo vegetativo y productivo de la frutilla (*Fragaria x ananassa* Duch.), utilizando una cubierta de agrotexil de diferentes densidades. *Agro Sur*, 31 (1).

K

Kaiser, J.J. y Lewis, O.A.M. 1984. Nitrate reductase and glutamine synthetase activity in leaves and roots of nitrate-fed *Helianthus annuus* L. *Plant and Soil*, 77 (1): 127-130.

Keeney, D.R. 1986. "Sources of nitrate to groundwater". *Critical Reviews in Environmental Control*, 16: 257-304.

Kopsell, D.A., Casey, T., Sams, C.E. y Scott, J. 2007. Influence of nitrogen and sulfur on biomass production and carotenoid and glucosinolate concentrations in watercress (*Nasturtium officinale* R. Br.) *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 10628-10634.

L

Lea, P.J. y Azevedo, R.A. 2006. Nitrogen use efficiency. 1. Uptake of nitrogen from the soil. *Annals of Applied Biology*, 149: 243- 247.

Lea, P.J. e Ireland, R.J. 1999. Nitrogen metabolism in higher plants. In: Singh, B.K. Eds *Plant aminoacids: Biochemistry and Biotechnology*. New York: Marcel Dekker, 1-47.

Lefsrud, M.G., Kopsell, D.A., Kopsell, D.E. y Curran-Celentano, J. 2006. Irradiance levels affect growth parameters and carotenoid pigments in kale and spinach grown in a controlled environment. *Physiologia Plantarum*, 127: 624-631.

Lefsrud, M.G., Kopsell, D.A. y Kopsell, D.E. 2009. Nitrogen levels influence biomass, elemental accumulations and pigment concentrations in spinach. *Journal of Plant Nutrition*, 30 (2): 171-185.

Liakatas, A., Clark, J. y Monteith, J. 1986. Measurements of the heat balance under plastic mulches. *Agricultural and Forest Meteorology*, 36: 227-239.

Lillo, C. 1994. Light regulation of nitrate reductase in green leaves of higher plants. *Physiol Plant*, 90: 616-620.

Lin, F.F., Qiu, L.F., Shi, Y.Y., Chen, L.S., Wang, K., 2010. Investigation of SPAD meter-based indices for estimating rice nitrogen status. *Computers and electronics in agriculture* 71S, S60-S65.

Ling, Q., Huang, W. y Jarvis, P. 2011. Use of a SPAD-502 meter to measure leaf chlorophyll concentration in *Arabidopsis thaliana*. *Photosynthetic Research*, 107: 209-214.

Loomis, R.S. y Connor, D.J. 2002. *Ecología de cultivos. Productividad y manejo en sistemas agrarios*. Editorial MundiPrensa. Madrid. 591 pp.

López-Bellido, R.J. Shepherd, C.E. y Barraclough, P.B. 2004. Predicting post-anthesis N requirements of bread wheat with a Minolta SPAD meter. *European Journal of Agronomy*, 20: 313- 320.

López, J., González, A., Muñoz, F.J., Álvarez, N. y Fernández, J.A. 2006. Evaluación de materiales biodegradables de acolchado experimentales en la región de Murcia. XXXVI Seminario de Técnicos y Especialistas en Horticultura, Ibiza.

López, M.A. 1981. Kinetic studies on the formation of N-nitroso compounds. IV Formation of mononitrosopiperazine and general discussion of N-nitrosation mechanisms in aqueous perchloric solution. *Monatshefte für Chemie*, 112 (11): 1221-1238.

Lundberg, J.O., Weitzberg, J., Cole, J.A. y Benjamín, N. 2004. Nitrate, bacteria and human health. *Nature Review Microbiology*, 2 (8): 681.

Lundberg, J.O., Weitzberg, E. and Gladwin, M.T. 2008. The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. *Nature Reviews Drug Discovery*, 7: 156-167.

M

Majid, A., Poljak, M., Sabljo, A., Knezovic, Z y Horvat, T. (2008) Efficiency of use of chlorophyll meter and cardy-ion meter in potato nitrogen nutrition supply. VII. Alps-Adria Scientific Workshop.

- Makswitat, E., Latus, C., Merbach, W., Ruppel, S., Augustin, J., Kuchenbuch, R. y Wirth, S.J. 1995. Nitrogen dynamics in soils of the Northeast German Lowland cultivated with picking cucumber (*Cucumis sativus*, L.) with mulch film. Zalf-Berichte, (15) 41 p.
- MAPA 1989. Caracterización agroclimática de la provincia de Granada. Madrid. 197 pp.
- MAPA, 1994. Métodos oficiales de análisis. Tomo III. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid.
- MARM, 2009. Ministerio de Medio Ambiente, Rural y Marino. Anuario de Estadística Agraria. www.marm.es/estadistica/pags/anuario/2009/AE_2009_13_06_10_02.xls
- MMA, 2006. Ministerio de Medio Ambiente. Medio Ambiente en España 2005. Allué R. (coord.). Secretaría General Técnica. Madrid.
- Markwell, J., Osterman, J.C. y Mitchell, J.L. 1995. Calibration of the Minolta SPAD-502 leaf chlorophyll meter. Photosynthesis Research, 46: 467-472.
- Maroto, J.V., Miguel, A. y Baixauli, C. 2000. La lechuga y la escarola. Fundación Caja Rural Valencia. Ed. Mundi-Prensa. 242 p.
- Maroto, J.V. 2008. Elementos de horticultura general. Ed. Mundi-Prensa. 480 p.
- Mensinga, T., Speijers, G. y Meulenbelt, J. 2003. Health implication of exposure to environmental nitrogenous compounds. Toxicol Review, 22: 41-51.
- Miller, A.J. y Smith, S.J. 1996. Nitrate transport and compartmentation. Journal of Experimental Botany, 47: 843-854.
- Milton, J.S., 1992. Statistical methods in the biological and health sciences. Ed. McGraw-Hill. 526 pp.
- Mondaish, A.S., Horton, R. y Dirkham, D. 1985. Soil water evaporation supresion by sand mulches. Soil Science, 139: 357-361.
- Moreno, D.A., Vllora, G., Hernández, J., Castilla, N., Romero L., 2002. Floating row covers affect molybdenum and nitrogen status in chinese cabbage grown under field conditions. Functional Plant Biology, 29: 585-593.
- Moyano, J.E., Flor, E., Soriano, T., Quesada, F.M., Castilla, N. Y Suárez-Rey, E.M. 2007. Respuesta del cultivo de escarola (*Cichorium endivia*, L.) al riego localizado combinado con acolchado plástico y cubiertas flotantes. Riegos y Drenajes, 155: 30-35.
- Munguia, J., Zermeño, A., Quezada, R., De la Rosa, M., Ibarra, I. y Torres-B, A. 2004. Relación entre los componentes del balance de energía y la resistencia estomática en el cultivo de melón bajo acolchado plástico. International Journal of Experimental Botany, 181-192.

N

Nascimento, W.M. 2004. Novos rumos na produção de hortaliças. Embrapa Hortaliças.

Neeteson J.J., Greenwood D.J., y Draycott A. 1989. Model calculations of nitrate leaching during the growth period of potatoes. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 37: 237-256.

Neeteson, J.J. 1995. Nitrogen management for intensively grown arable crops and field vegetables. In: *Nitrogen Fertilization in the Environment* (Bacon, P.E., Eds). Marcel Dekker, New. York, 295-325.

O

Otto, R.F., Giménez, C. y Castilla, N., 2000. Evapotranspiration and dry matter production of horticultural crops under cover. *Acta Horticulturae*, 516: 23-30.

P

Paltineanu, I.C. y Starr, J.L. 1997. Real-time soil water dynamics using multisensor capacitance probes: laboratory calibration. *Soil Science Society of America Journal*, 61: 1576-1585.

Paltineanu, I.C. y Starr, J.L. 1998. Real-time soil water dynamics over large areas using multisensor capacitance probes and monitoring system. *Soil and Tillage Research*, 47 (1-2): 43-49.

Papaseit P., Badiola, J. y Armengol, E. 1997. Los plásticos y la agricultura. Ediciones de Horticultura, S.L. España. 204 p.

Park, Y., Chow, W.S. y Anderson, J.M., 1996. Chloroplast movement in the shade plant *Tradescantia albiflora* helps protect photosystem II against light stress. *Plant Physiology*, 111: 867-875.

Peterson, T.A., Blackmer, T.M. y Francis, D.D. 1993. Using a chlorophyll meter to improve N management. Nebguide G93-1171A. University of Nebraska, Lincoln.

Pinkard, E.A., Patel, V. y Mohammed, C. 2006. Chlorophyll and nitrogen determination for plantation-grown *Eucalyptus nitens* and *E. globulus* using a non-destructive meter. *Forest ecology and management*, 223 (1-3): 211-217.

R

Rahn, C., De Neve, S., Bath, B. y Bianco, V. 2001. A Comparison of Fertiliser recommendation system for cauliflowers in Europe. *Acta Horticulturae*, 563: 39-46.

Ramos, C., Agut, A. y Lidón, A.L. 2002. Nitrate leaching in important crops of the Valencian Community. *Environmental Pollution*, 118: 215- 223.

Reglamento CE No.1822/2005, de la Comisión de 8 de noviembre de 2005, por el que se regula los nitratos en determinados vegetales. *Diario de la Unión Europea*.

Reiners, S. y Nitzche, P. J. 1993. Rowcovers improve early season tomato production. *HortTechnology*, 3: 197-199.

Renquist, A.R.; Breen, P.j.; Martin, L.W. 1982. Vegetative growth response of "Olympus" Strawberry to polyethylene mulch and drip irrigation regimes. *Journal of American Society for Horticultural Science*, 107(3): 369-372.

Rivas, F., Gravina, A. y Agustí, M. 2007. Girdling effects on fruit set and quantum yield efficiency of PSII in two *Citrus* cultivars. *Tree Physiology*, 27: 527-535.

Rivera, D. 1999. Modificación del microambiente para aumentar la precocidad en arándano alto (*Vaccinium corymbosum* L.), utilizando una cubierta de agrotexil de poliéster. Memoria de Título Ing. Agron. Fac. Universidad de Concepción, Chillán, Chile. 30 p.

Roberts, B.W. y Anderson, J.A. 1994. Canopy shade and mulch affects yield and solar injury of bell pepper. *HortScience*, 29(4): 258-260.

Robledo, F. y Martín, L. 1988. Aplicación de los plásticos en la agricultura. Ed. Mundi-Prensa. Madrid. 562 pp.

Rodríguez, M.N., Alcántar, G., Aguilar, A., Etchervers, J. y Santizó, J.A. 1998. Estimación de la concentración de nitrógeno y clorofila en tomate mediante un medidor portátil de clorofila. *Terra Latinoamericana*, 16 (2): 135-141.

Roorda van Eysinga, J.P. y Van der Meijs, M.Q. 1985. Effect of nitrogen nutrition and global radiation on yield and nitrate content of lettuce grown under glass. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*.

Ruiz, J.M. y Romero, L. 1999. Cucumber yield and nitrogen metabolism in response to nitrogen supply. *Scientia horticulturae*, 82: 309- 316.

Ruppel, S. y Makswitat, E. 1996. Effect of black plastic mulch on nitrogen balance in cultivation of pickles (*Cucumis sativus* L.). *Gartenbauwissenschaft*, 61(5): 230-237.

Rusell, E.J. 1914. The nature of amount of the fluctuation in nitrate contents of arable soils. *Journal of Agricultural Science*, 6: 18-57.

S

Salas, J.F., Moraes, C.A., García, S. y Sabundjiau, T.T. 2008. Evaluación del cultivo protegido por agrotexil en la cultura de la lechuga y su desempeño en diferentes tipos de aplicaciones. *Arquivos do Instituto Biológico, Sao Paulo*, 75 (4): 437-442.

Salman, H., Bakry, M.O., Abou, A.F. y El-Beltagy, A.S. 1991. The effect of plastic mulch on the microclimate of plastic house. *Acta Horticulturae*, 287: 417-425.

Samborski, S.M., Tremblay, N. y Fallon, E. 2009. Strategies to make use of plant sensors- based diagnostic information for nitrogen recommendations. *Agronomy Journal*, 101: 800–816.

Santamaría, P. y Elia, A., 1997. Producing nitrate-free endive heads: effect of nitrogen form on growth, yield, and ion composition of endive. *J Am Soc Hortic Sci* 122:140–145.

Schalk, J.M. y Bobbins, M.L. 1987. Reflective mulches influence plant survival, production and insect control in fall tomatoes. *HortScience*, 22(1): 30-32.

Scharf, P.C. y Lory, J.A. 2009. Calibrating reflectance measurements to predict optimal sidedress nitrogen rate for corn. *Agronomy Journal*, 101:615–625.

Scharpf, H.C. 1991. Stickstoffdüngung im Gemusebau. AID Nr. 1223. Auswertungs- und Informationsdienst für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten; Bonn, Germany.

Schröder, J.J., Neeteson, J.J., Oenema, O. y Struik, P.C. 2000. Does the crop or the soil indicate how to save nitrogen in maize production? Reviewing the state of the art. *Field Crops Research*, 66: 151-064.

Siwek, P., Cebula, S., Libik, A. y Mydlarz, J. 1994. The effect of mulching on changes in microclimate and the growth and yield of sweet pepper grown in plastic tunnels. *Acta Horticulturae*, 366:161-167.

Soil Survey Staff, 1992: Keys to soil taxonomy. 6th ed. USDA. Washington DC, USA.

Sonneveld, C. 1990. Estimating quantities of water-soluble nutrients in soils using a specific 1:2 by volume extract. *Commun. in Soil Sci. Plant Anal.*, 21, 1257- 1265.

Splittstosser y Brown, 1991. Current changes in plasticulture for crop production. 23rd National Agricultural Plastics Congress. Mobile, Alabama, 241-251.

Sripada, R.P., Schmidt, J.P., Dellinger, A.E. y Beegle, D.B. 2008. Evaluating multiple indices from a canopy reflectance sensor to estimate corn N requirements. *Agronomy Journal*, 100: 1553-1561.

Sritongkul, J., Srilaong, V., Uthairatanakij, A., Kanlayanarat, S. y Chalermglin, P. 2009. Effect of light intensity on chemical composition of asiatic pennywort (*Centella*

asiatica L. urban). Acta Horticulturae, 837: Asia Pacific Symposium on Assuring Quality and Safety of Agri-Foods.

Suárez-Rey, E.M., Giménez, C., Soriano, T., Moyano, J.E. y Castilla, N. 2008. Characterization of growth and quality parameters in escarole (*Cichorium endivia* L.) with different covering techniques. European Journal Science, 73 (6): 259- 266.

Suárez-Rey, E.M., Romero-Gámez, M., Montosa, J.M. y Mansilla, F. 2009. Producción de ajo tierno bajo cubiertas flotantes de agrotexil. En: www.horticom.com

T

Taber, H. 1983. Effects of plastic soil and plant covers on Iowa tomato and muskmelon production. Proceedings of National Agricultural Plastics Conference 17: 37-45.

Tapia, V.L., Marroquín, F., Cortes, I., Anguiano, J. y Castellanos, Z. 2007. Nutrición del aguacate. En: Teliz y Aguilera Eds. El aguacate y su manejo integrado. Mundi-Prensa, 87-107.

Teasdale, J.R. y Abdul-baki, A.A. 1995. Soil temperature and tomato growth associated with black polyethylene and hairy vetch mulches. Journal of American Society for Horticultural Science, 120(5): 848-853.

Tischner, R. 2000. Nitrate uptake and reduction in higher and lower plants. Invited Review. Plant, Cell and Environment, 23: 1005-1024.

Thompson, R.B.; Gallardo, M. y Giménez, C. 2002. Risk of nitrate leaching from the horticultural industry of Almería, Spain. In: F.J. Villalobos and L. Testi (Eds.) Book of Proceedings of the VII Congress of the European Society for Agronomy, 755-756.

Thompson, R.B., Gallardo, M., Joya, M., Segovia, C., Martínez-Gaitán, C. y Granados, M.R. 2009. Evaluation of rapid analysis systems for on-farm nitrate analysis in vegetable cropping. Spanish Journal of Agricultural Research, 7: 200-211.

Tindall, J., Beverly, R. y Radcliffe. 1991. Mulch effect on soil properties and tomato growth using micro irrigation. Agronomy Journal, 83: 1028-1034.

Tremblay, N., Wang y Z., Bélec, C. 2007. Evaluation of the Dualex for the assessment of corn nitrogen status. Journal of Plant Nutrition, 30: 1335-1369.

Tüzel, Y. y Gül, A. 1991. Effects of different plastic mulching materials on yield and soil temperature of spring season glasshouse cucumber crops. Plasticulture, 3:37-40.

U

Uddling, J., Alfredsson, J.G., Piikki, K. y Pleijel, H. 2007. Evaluating the relationship between leaf chlorophyll concentration and SPAD-502 chlorophyll meter readings. *Photosynthesis Research*, 91: 37-46.

V

Vaast, P., Zasoski, R.J y Bledsoe, C.S. 1998. Effects of solution pH, temperature, nitrate/ammonium ratios and inhibitors on ammonium and nitrate uptake by arabica coffee in short term solution culture. *Journal of Plant Nutrition*, 21: 1551-1564.

Varinderpal-Singh, S., Bijay, S., Yadvinder, S., Thind, H.S. y Gupta, R.K. 2010. Need based nitrogen management using the chlorophyll meter and leaf colour chart in rice and wheat in South Asia: A review. *Nutrient Cycling Agroecosystems*, 88: 361-380.

Vázquez, N., Pardo, A., Suso, M.L. y Quemada, M. 2006. Drainage and nitrate leaching under processing tomato grown with drip irrigation and plastic mulching. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 112: 313-323.

Von Wiren, N.S., Gazarrini, W. y Frommer, B. 1997. Regulation of mineral nitrogen uptake in plants. *Plant and Soil*. 196: 191- 199.

W

Warren-Wilson, J. 1981. Analysis of growth , photosynthesis and light interception for single plants and stands. *Annals of Botany*, 48: 507- 512.

Watson, D.J. 1947. Comparative physiological studies on the growth of field crops: I. Variation in net assimilation rate and leaf area between species and varieties, and within and between years. *Annals of Botany*, 11: 41-76.

Wehrmann, J. y Scharf, H.C. 1986. The N min method: an aid to integrating various objectives of nitrogen fertilization. *Z. Pflanzenernaehr. Boenk*, 149: 428-440.

Wellburn A.R. 1994. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoides, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *J Plant Physiol* 144: 307-313.

Wells, O. y Loy, B. 1985. Intensive vegetable production with row covers. *HortScience*, 20(5): 822-825.

Y

Yemm, E.W. y Cocking, E.C. 1955. The determination of Aminoacid with Ninhydrin. Analyst, London, 80: 209-213.

Z

Zebarth, B.J., Tai, H., Luo, S., Millard, P., Ce Koeyer, D., Li, X.-Q. y Xiong, X. 2011. Differential gene expression as an indicator of nitrogen sufficiency in field-grown potato plants. Plant and Soil, 1-14 (Article in Press).

Zotarelli, L., Dukes, M.D., Scholberg, J.M., Hanselman, T., Le Femminalle, K. y Muñoz-Carpena, R. 2008. Nitrogen and water use efficiency of zucchini squash for plastic mulch bed system on a sandy soil. Scientia Horticulturae, 116 (1): 8-16.