Zubía Monográfico 16-17 41-58 Logroño 2004-2005

DIAGNÓSTICO NUTRICIONAL DE *VITIS VINIFERA* L CV TEMPRANILLO EN LA D.O.CA. RIOJA. NIVELES CRÍTICOS PRELIMINARES

IZASKUN ROMERO LAIBARRA[1]; IGNACIO MARTÍN RUEDA[1]; ISABEL LORENZO ÍÑIGO[1]; CRISTINA GARCÍA OLIVERAS[1]; MARÍA TERESA VILLAR RUBIO[1]; DIEGO LÓPEZ LLARÍA[1]; SERGIO IBÁÑEZ PASCUAL[1]; MARÍA CARMEN ARROYO DE GRANDES[2]; ENRIQUE GARCÍA-ESCUDERO DOMÍNGUEZ[1]

RESUMEN

El diagnóstico nutricional requiere analizar tejidos que reflejen el estado real del cultivo, de modo que sea comparable con valores de referencia específicos para cada variedad cultivada. En este trabajo se evalúa el análisis mineral de limbos y pecíolos para determinar el tejido y el momento de muestreo más adecuado para el correcto diagnóstico nutricional de la variedad de vid Tempranillo.

Se sugiere el envero para dar referencias para Tempranillo y se recomienda analizar N, P, K, Mg, Mn y Zn en limbo, Fe y B en pecíolo, y Ca en cualquiera de ambos tejidos. Además, desde 4 semanas después de cuajado hasta el final del envero dichos análisis serían comparables con referencias dadas para envero.

En base a lo sugerido anteriormente y utilizando el método de la "Carta Nutricional" se aportan tablas que muestran el nivel de nutrición de la variedad Tempranillo en la D.O.Ca. Rioja.

Palabras clave: diagnóstico nutricional; limbo; referencias; pecíolo, Tempranillo.

Nutritional diagnosis needs the tissue analyses that reflect the real nutritional status of the crop. These analyses will be compared with specific references for the different phenologic states and plant variety. In this work we evaluate blade and petiole mineral analysis along the crop season to determinate the best tissue and phenologic state for a correct nutritional diagnosis of vine, cv. Tempranillo.

Veraison is suggested to propose references for Tempranillo. Blade N, P, K, Mg, Mn and Zn analysis, as well as petiole Fe and B analysis, and Ca analysis in both tissues are also suggested. Moreover, from 4 weeks after fruit-set to the end of veraison it is possible to realise analysis that will be comparable to references given for these elements at veraison. The survey method is used to establish the nutritional level for the variety Tempranillo in the D.O.Ca. Rioja.

Key words: *nutritional diagnosis; blade; references; petiole, Tempranillo.*

1. Servicio de Investigación y Desarrollo Tecnológico del Gobierno de La Rioja (España). Ctra. Logroño-Mendavia NA Km. 87.8. Finca Valdegón. Apdo. de correos 433. 26071, Agoncillo (La Rioja).

2. Laboratorio Regional de La Rioja. Apdo. 433, 26080 Logroño (La Rioja).

0. INTRODUCCIÓN

Para planificar una correcta fertilización que permita obtener un mosto de calidad, es necesario conocer el nivel deseable de cada nutriente en tejidos representativos del estado nutricional de la planta. Una vez establecido el óptimo, se podrá definir el exceso y la deficiencia de cada uno de ellos y, a partir de ahí, controlar la nutrición mediante diagnóstico de los tejidos elegidos. La relación entre el contenido del órgano analizado y el rendimiento y la calidad de la vendimia son indispensables para establecer el contenido óptimo (válidos para una variedad dada en un medio dado y un tejido concreto), y constituyen las bases sobre las cuales se podrá aplicar un diagnóstico nutricional con garantías (Champagnol, 1990). Sin embargo, numerosos autores han constatando las dificultades para establecer relaciones entre estos parámetros y el contenido en nutrientes del material foliar debido a que rendimiento y calidad dependen de muchas variables diferentes: material vegetal, prácticas culturales, variaciones climáticas,… y su relación no se ha establecido aún claramente (Delas, 1990; Champagnol, 1990; Failla *et al.*, 1997). Así, una aproximación práctica para evitar, al menos parcialmente, estos problemas podría ser la utilización del método de encuesta o "carta nutricional". De este modo se evita la limitación de los ensayos de campo, respecto a su representatividad, y se recoge un mayor rango de fuentes de variación proveniente de una base de datos amplia que, si se tratan correctamente mediante métodos estadísticos apropiados, proporcionará más información (Failla *et al.*, 1997).

El método de la "Carta Nutricional" se ha utilizado para calcular referencias y representa el estudio completo de una zona vitícola, dividiéndola en subzonas homogéneas por condiciones agronómicas análogas y tomando como base la relación planta-suelo. Sin embargo, esta metodología tiene sus limitaciones. Por una parte la encuesta permite trabajar a escala regional con un gran número de variables pero, por otra parte, el número de parámetros es incontrolable y se corre el riesgo de muestreos sesgados que alteren la representatividad. La encuesta tan sólo sitúa el nivel de un elemento dentro de la población de la zona y las referencias obtenidas deben ser oportunamente ajustadas, y deberán considerarse provisionales hasta una verificación experimental más esmerada (Failla *et al.* 1995), no siendo extrapolables a otras regiones vitivinícolas. Existen numerosos trabajos que determinan los estándares de referencia para diversas variedades y regiones vitivinícolas mediante este procedimiento: Stringari *et al.* (1997) para diez localizaciones del centro y norte de Italia; Failla *et al.* (1995) para la Toscana; Ciesielska *et al.* (2002) para el Piamonte.

En España hay estudios para algunas variedades, con mayor o menor número de parcelas, y para diferentes tejidos y momentos fenológicos: Sipiora (1996) propone valores para las variedades Chenin blanc y Pinot noir en la D.O. Somontano; Gutiérrez y Darias (1998) para las variedades Verdelló, Gual y Listan blanco en Tenerife; Rodríguez-Lovelle y García-Rodejas (1994) para la variedad Godello en la D.O. Valdeorras; González-Andrés y Berberana (2002) y Giner *et al.* (2004) para Tempranillo en la D.O. Cigales y Utiel-Requena, respectivamente.

Por otra parte, el diagnóstico a partir de la comparación con referencias (Valores Críticos) requiere que el tejido a analizar esté en el mismo estadio fenológico que el de la referencia con la que se va a comparar, ya que el contenido en nutrientes puede variar ampliamente a lo largo del ciclo de cultivo. Además, una tabla de referencia adecuada deberá ajustarse a períodos del ciclo de cultivo donde los niveles de nutrientes permanezcan lo más estable posible durante cierto período de tiempo para poder dar un rango de suficiencia lo más estrecho posible, de modo que se

aumente la precisión en el diagnóstico, y que dicho rango de suficiencia sea válido para un período relativamente amplio.

Sin embargo, el desfase entre el momento de muestreo y el de la referencia no es el único factor que puede aportar variabilidad a la hora de proponer una referencia. Para evitar que la variabilidad debida a factores como año, climatología y suelo, entre otros, puedan hacer las tablas de referencia inútiles, el tejido a analizar deberá ser aquel cuya variabilidad frente a dichos factores sea pequeña cuando el estado de nutrición del cultivo esté en el óptimo.

En la vid, el material vegetal a analizar no está totalmente unificado y no existe una regla aceptada como la mejor. Inicialmente se utilizó la hoja completa (limbo y pecíolo) para, posteriormente, analizar el limbo y el pecíolo de forma independiente. Más recientemente, se han complementado estos tejidos con análisis de savia obtenida a partir de los pecíolos. Por otra parte, cabe añadir la falta de acuerdo en el momento del ciclo más adecuado para el muestreo. En general, mientras algunos autores proponen dos estados fenológicos fundamentalmente, final de floración (cuajado) y envero, otros se decantan por el envero. La bibliografía disponible no hace sino constatar esta falta de acuerdo: Failla *et al.* (1995) utilizan el limbo foliar en floración y envero; García *et al.* (2001) analiza limbo en envero; Gutiérrez y Darias (1998) y García-Escudero *et al.* (2001) analizan limbo y pecíolo por separado en los estados de floración y de envero; Christensen (1989) analiza pecíolos en floración; Dal Bó (1993) pecíolos en envero; Robinson (1990) analiza hoja completa en envero mientras que González-Andrés y Berberana (2002) analizan pecíolos en floración y hoja completa en envero.

Comparando el análisis de pecíolo y limbo, Champagnol (1990) y Christensen (1984) indican que para nutrientes como P, K y Mg, los intervalos de variación en pecíolo son mucho más elevados que en limbo. Sin embargo, la mayor variación en pecíolo parece verse acompañada de una fluctuación más elevada, de forma que la significación de un resultado obtenido a partir de uno u otro de estos tejidos sería idéntica (Champagnol, 1990). Por otro lado, el nivel de nutrición en cada elemento puede variar ampliamente de una parcela a otra, especialmente en K y Mg (Loué, 1990; Champagnol, 1990).

La variedad Tempranillo es la variedad tinta de vid mayoritaria en España y se ha convertido en un referente para la elaboración de vinos tintos de calidad. Asimismo, el portainjerto Richter-110 está presente en el 52% de las plantaciones realizadas en los últimos años, alcanzando casi el 70% en la D.O.Ca. Rioja, una de las regiones vitivinícolas más importantes de España.

Establecer tejido y momento fenológico es el paso previo necesario para el diseño de tablas de referencia específicas que permitan realizar diagnósticos nutricionales y planes de fertilización más precisos. Este trabajo contempla como objetivos establecer el tejido y momento fenológico de muestreo más adecuados para el diagnóstico de diez elementos nutrientes en *Vitis vinifera* cv. Tempranillo sobre R-110. Así mismo, se hace un estudio del estado nutricional del Tempranillo en la D.O.Ca. Rioja en la actualidad.

1. MATERIALES Y MÉTODOS

1.1. MOMENTO FENOLÓGICO Y TEJIDO PARA MUESTREAR

Se realizaron estudios de seguimiento, dentro del período 2000-2004, en seis viñedos representativos de *Vitis vinifera* cv. Tempranillo injertado sobre R-110 en la

D.O.Ca. Rioja. En cada parcela, se eligió una unidad de muestreo homogénea de 450 cepas, que se subdividió en tres bloques de 150 cepas, para obtener tres repeticiones por muestreo. El seguimiento se realizó durante el ciclo completo con una intensidad de muestreo de entre uno y dos muestreos semanales, de prefloración a postvendimia. Dichos muestreos se distribuyeron en el ciclo vegetativo a partir de los estados fenológicos definidos por Baggiolini (Tabla 1).

TABLA 1. CRITERIO DE DISTRIBUCIÓN EN EL CICLO DE CULTIVO DE LOS MUESTREOS REALIZADOS.

Período	Momento Fenológico[a]	Muestreos	Ordenación de los muestreos	DMP[b]
Prefloración	H	3	Días hasta inicio de floración	51
Floración	I	8	%Flores abiertas	10
Cuajado - Envero	J-K-L	12	%Tiempo entre fin de floración e inicio de envero	60
Envero	M	14	%Bayas coloreadas	20
Maduración	N	13	%Tiempo entre final de envero y vendimia	42
Postvendimia	O	4	Días desde vendimia	30
Total		**54**		**213**

[a] Estados fenológicos de acuerdo con Baggiolini (1952).

[b] DMP: Duración media de cada período (en días).

Los suelos abarcan texturas francas, desde franco-arenosa a franco-arcillosa, con contenidos en materia orgánica entre 0,58 y 1,62%; pH entre 7,9 y 8,3; contenidos en caliza activa entre 5,1 y 29,1% y Capacidad de Intercambio Catiónico (C.I.C.) entre 7,97 y 16,6 meq/100g. Los viñedos seleccionados son plantaciones en plena producción (10-18 años), con una densidad de plantación comprendida entre 2800-3330 vides/ha y una carga entre 10-12 yemas/vid. El sistema de conducción utilizado fue tanto en vaso como en espaldera (Doble Cordón Royat), con un régimen hídrico de secano. La gestión del suelo resultó homogénea en cuanto a labores mecánicas de mantenimiento y la fertilización del cultivo realizada estuvo comprendida entre: 18-42 kg/ha de N, 23-60 kg/ha de P_2O_5 y 44-120 kg/ha de K_2O. Los rendimientos y calidad del mosto estaban dentro de los valores medios de la región.

Se tomaron aleatoriamente 30 hojas completas por repetición en cada muestreo, de ambas caras de exposición al sol, procedentes de pámpanos fructíferos y de vigor medio, a razón de una sola hoja por planta, situada en posición opuesta al primer racimo desde el comienzo del ciclo hasta envero, y opuesta al segundo racimo desde envero hasta vendimia (OIV, 1996). Limbos y pecíolos fueron separados, lavados, secados a 70ºC y molidos. Se determinó N según método Kjeldhal, y P, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn, Cu, B mediante digestión por microondas y agua oxigenada, y posterior determinación por ICP-OES.

Los datos fueron analizados estadísticamente atendiendo al diseño experimental de las 6 parcelas de seguimiento. Se combinó el cálculo de percentiles y el estudio gráfico (diagramas de caja), como método de estimación robusta ante valores atípicos, alejamientos de normalidad e indicios de heterogeneidad en las poblaciones estudiadas, y se realizó el análisis de varianza y de separación de medias mediante el test Tukey ($p \leq 0,05$) para determinar diferencias entre muestreos.

1.2. ESTUDIO NUTRICIONAL DEL VIÑEDO EN LA D.O.CA. RIOJA

Se utilizó el método de la "Carta Nutricional" para lo cual se recogieron datos y muestras durante 6 años (2000 a 2005), procedentes de un total de 140 parcelas

distribuidas dentro de todas las subzonas la D.O.Ca. Rioja. Se analizaron pecíolo y limbo en floración y envero, siguiendo el mismo procedimiento que las muestras vegetales del estudio de seguimiento.

La base de datos recoge la información que caracteriza cada parcela: parámetros vegeto-productivos y climáticos, momento fenológico del muestreo, niveles de nutrientes y análisis del mosto obtenido, entre otros.

Para este trabajo se seleccionaron parcelas en plena producción (5-25 años) de la variedad Tempranillo con patrón R-110. Así mismo, se descartaron los muestreos concretos de aquellas parcelas que presentaron contenidos de nutrientes y producción anómalos y atípicos, así como las parcelas que presentaban problemas fitosanitarios.

El estudio estadístico incluyó el Test de Normalidad no paramétrico Kolmogorov-Smirnov, transformaciones matemáticas para los casos de alejamiento de la Normalidad y el cálculo de percentiles para los casos en que no fue posible la transformación a distribuciones Normales. Para ello, se utilizaron los programas estadísticos SPSS 12.0 y Statgraphics 5.1.

2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.1. ELECCIÓN DEL MEJOR MOMENTO PARA OBTENER REFERENCIAS

Unas referencias dadas para una región o tipo de suelo determinado deben asumir, lógicamente, la variabilidad producida por factores como parcela y año, entendiendo variabilidad como la variabilidad encontrada únicamente entre las repeticiones correspondientes a un mismo muestreo. Así mismo, el mejor momento para dar referencias se entiende como aquel cuya validez se prolongue suficientemente a lo largo del tiempo, de modo que se pueda sugerir a los agricultores un período de muestreo para realizar los análisis, lo bastante amplio como para que los errores de diagnóstico sean pequeños. Al estudiar la dinámica en la planta de los nutrientes, las diferencias en los niveles de éstos en el material vegetal de distintas parcelas podrían enmascarar períodos estables como si fuesen períodos de alta variabilidad entre las muestras. A partir del estudio exploratorio del conjunto de datos, se decidió determinar los períodos de estabilidad de forma individual para cada parcela, incluyéndose datos de todos los años. Posteriormente, se consideró el factor parcela globalmente para acotar los períodos de estabilidad a períodos válidos para todas las parcelas. En las Figuras 1 a 4 se puede observar el estudio de cajas para los nutrientes de una de las parcelas estudiadas. Estas gráficas nos indican la variabilidad encontrada dentro de cada muestreo. Así, una caja muy ancha entre el nivel superior e inferior sugiere una gran variabilidad dentro de un muestro, lo que indicaría que las referencias dadas para ese momento habrían de ser muy anchas y, debido a ello, poco útiles (Schaller *et al.*, 2002). La estabilidad a lo largo del tiempo se observa en la tendencia de las cajas a lo largo del ciclo. Esto es, si el valor medio de cada elemento baja o sube continuamente en muestreos sucesivos, será de esperar que referencias dadas en uno de dichos muestreos tendrían una corta vigencia y escasa validez para otro momento distinto; por el contrario, si muestreos sucesivos conservan un valor medio similar, se puede esperar que una referencia dada valdría para todos esos muestreos sucesivos. Este estudio estadístico, repetido para todas las parcelas, mostró entre uno y cinco posibles períodos de estabilidad (Figuras 1 a 4), más o menos prolongados en el tiempo.

La evolución estacional de los macronutrientes fue similar a la descrita por Failla *et al.* (1995) y Rodríguez (1996). El N, P y K presentaron contenidos decrecientes

a lo largo del ciclo tanto en limbo como en pecíolo (Figura 1), mientras los niveles de Ca y Mg se ven incrementados a medida que la estación avanza (figura 2).

La variabilidad dentro de un mismo muestreo de los contenidos de Fe, Mn y Zn resultó muy alta durante todo el ciclo, lo que apenas permite reconocer tendencias estacionales para estos elementos (Figura 3). El contenido en B se vio incrementado hasta el cuajado, de forma más notoria en limbo, para descender posteriormente hasta envero (Figura 4). Este comportamiento se corresponde con el observado por

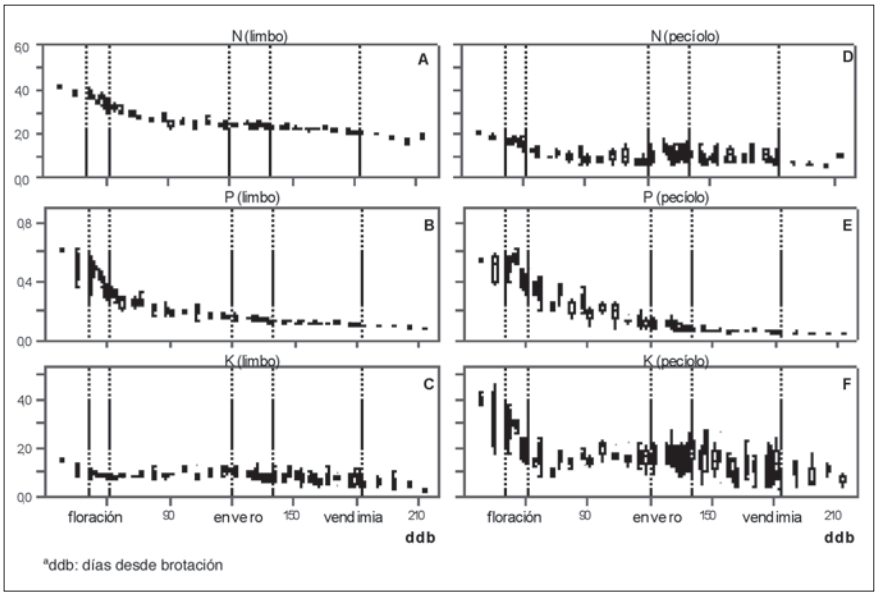

Figura 1. Evolución del contenido de N, P y K para limbo y pecíolo a lo largo del ciclo de cultivo en una de las parcelas del estudio (viñedo Agoncillo)

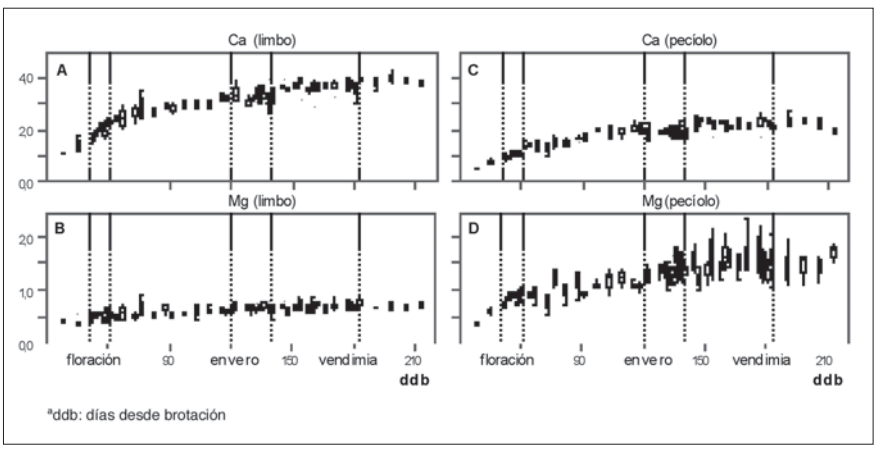

Figura 2. Evolución del contenido de Ca y Mg para limbo y pecíolo a lo largo del ciclo de cultivo en una de las parcelas del estudio (viñedo Agoncillo)

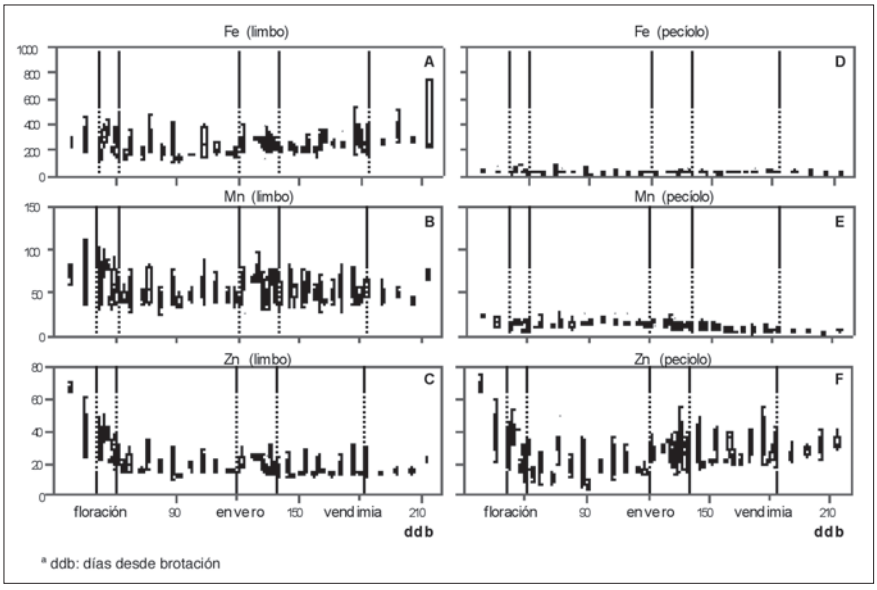

Figura 3. Evolución del contenido de Fe, Mn y Zn en limbo y pecíolo a lo largo del ciclo de cultivo en una de las parcelas del estudio (viñedo Agoncillo)

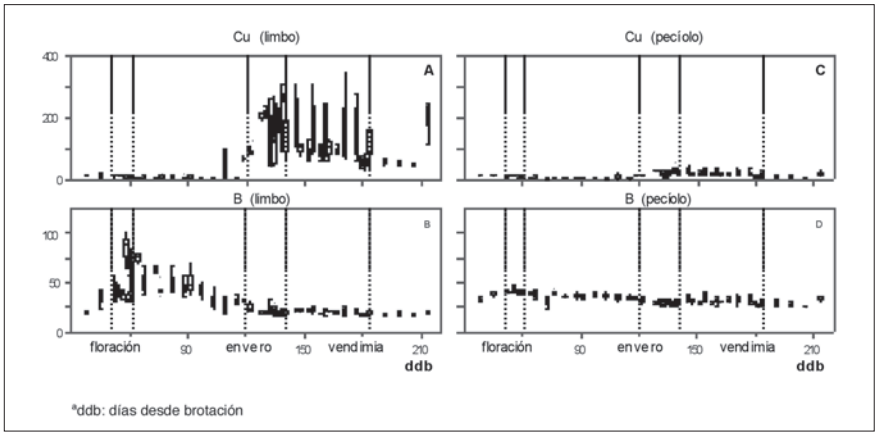

Figura 4: Evolución del contenido de Cu y B en limbo y pecíolo a lo largo del ciclo de cultivo en una de las parcelas del estudio (viñedo Agoncillo)

Failla *et al.* (1995) en lo que se refiere a la variabilidad y al contenido de B, si bien estos autores describen un aumento en el contenido en Fe que en nuestro caso no se ve confirmado. El Cu mantiene valores relativamente constantes, tanto en limbo como en pecíolo, desde el inicio de floración hasta un momento cercano al envero, a partir del cual la aplicación de tratamientos fitosanitarios de base cúprica genera un aumento del contenido total y de variabilidad dentro de cada muestreo, lo que imposibilita el diagnóstico (figuras 4a y 4c), tal y como ha sido puesto de manifiesto por varios investigadores (Fregoni y Scienza 1974; Failla *et al.* 1995).

Se ha de tener en cuenta que se está considerando como "período de estabilidad" al subconjunto de muestreos, consecutivos en el tiempo, que no mostró diferencias significativas en el test estadístico de separación de medias aplicado (Test de Tukey). Tomando como ejemplo el K, en limbo no se encontraron diferencias significativas entre muestreos en el período comprendido entre final de floración y vendimia (Figura 1c), mientras que en pecíolo, el período en que el contenido en K es equivalente se extiende desde 70% de floración hasta un mes después de vendimia (Figura 1f). Este resultado coincide con lo encontrado por Champagnol (1990) para viñedos con buenas condiciones de nutrición.

Por las características propias de las técnicas de análisis de varianza, es precisamente la mayor variabilidad de los contenidos en pecíolo en cada muestreo la que hace que no se encuentren diferencias entre muestreos (Figura 1f) y, por lo tanto, se alargue el período de estabilidad. Sin embargo, las referencias dadas para pecíolo en dicho período tendrían que asumir un rango excesivo que puede reducir su utilidad para diagnóstico nutricional. Porro *et al.* (1995) indican que sería preferible analizar aquel tejido cuyos contenidos minerales presenten una menor variabilidad, ya que permitiría el establecimiento de rangos de referencia lo más estrechos posible que posibiliten diagnósticos ante pequeñas variaciones en los contenidos de nutrientes. Sin embargo, para el caso del K Champagnol (1990) indica que la significación de un resultado obtenido a partir de limbo o pecíolo es idéntica a pesar de la mayor fluctuación del pecíolo.

La evolución de cada elemento en el tiempo fue similar en las seis parcelas, con pequeñas desviaciones en las fechas (datos no mostrados). El estudio del conjunto de parcelas restringió ligeramente los períodos de estabilidad a períodos comunes en todas las parcelas (Figura 5).

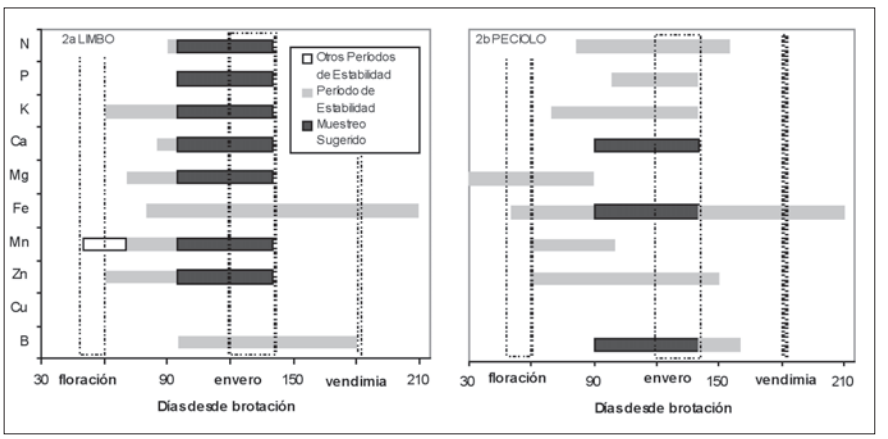

Figura 5: Períodos de estabilidad en limbo y pecíolo para los elementos estudiados (todas las parcelas del estudio)

Si observamos los contenidos en limbo (Figuras 1 y 2), podemos apreciar que los contenidos de N disminuyeron a lo largo del ciclo para llegar a una estabilización desde cuatro semanas antes de envero hasta el final del mismo. P, Ca y Mg mostraron períodos de estabilidad que comienzan tres semanas antes de envero para el P, tres semanas después de cuajado para el Ca y desde una semana después del cuajado

para el Mg, terminando al final del envero todos ellos. El período de estabilidad del Fe va desde tres semanas después de cuajado hasta un mes después de vendimia. Los contenidos en Zn resultaron estables desde final de floración hasta una semana antes de vendimia y el Mn mostró su período más estable desde una semana después de floración a una semana después de envero, presentando un período de estabilidad adicional en torno a floración que permitiría realizar un diagnóstico precoz de este elemento en limbo (Figura 3).

En cuanto a la composición de pecíolo (Figuras 1 y 2), los contenidos de N disminuyeron a lo largo del ciclo para llegar a una estabilización desde tres semanas después de cuajado hasta mitad del período de maduración. P, Ca y Mg mostraron períodos de estabilidad que comienzan tres semanas antes del envero para el P, cuatro semanas antes del envero para el Ca y tres semanas después del cuajado para el Mg, terminando al final del envero para todos ellos (Figura 5). El período de estabilidad para el Fe abarca desde inicio de floración hasta un mes después de vendimia. Para el caso del Zn comprendería desde final de floración hasta la primera semana de maduración mientras que el Mn tiene un período de estabilidad desde final de floración hasta tres semanas antes de envero (Figura 3). Además, el Mg presenta otro período de estabilidad adicional en torno a floración que permitiría el establecimiento de una referencia precoz en pecíolo para este elemento (Figura 2d).

El contenido en B presenta un período de estabilidad desde cuatro semanas antes de envero hasta mitad de maduración en pecíolo (Figura 4d) o final de maduración en limbo (Figura 4c). El análisis de Cu deberá realizarse antes de cualquier aplicación de productos fitosanitarios de base cúprica (Figuras 4a y 4c).

Estos resultados sugieren que el período de mayor estabilidad en el tiempo, de los contenidos minerales de limbo y pecíolo, está comprendido entre las cuatro semanas después de cuajado y el final del envero (Romero *et al.* 2005). La toma de muestra en ese período evitaría errores debidos a desviaciones en el momento de muestreo respecto de las referencias dadas para esa época. El intervalo de muestreo sugerido ampliaría el margen que dan otros autores, que proponen el envero como época adecuada para tomar la muestra (Fregoni 1980; Champagnol 1990, Delas 1990; Bertoni 1991).

2.2. ELECCIÓN DEL TEJIDO A ANALIZAR

Para evaluar la idoneidad de los tejidos analizados se empleó el Rango Intercuartil, que cuantifica la dispersión de los datos respecto a una medida de posición, mostrando, por tanto, la representatividad asignable a cada dato. Esta herramienta es un estimador robusto de dispersión ante variaciones en el tamaño muestral y presencia de datos anómalos. En las Figuras 6 y 7 se muestra el Rango Intercuartil frente al estado fenológico para cada elemento y tejido. El Rango Intercuartil refleja la diferencia entre el límite superior y el inferior de las cajas observadas en las Figuras 1, 2, 3 y 4 y, por lo tanto, una mayor diferencia en el Rango Intercuartil entre un tejido y otro para un período de estabilidad dado reflejará mayor variabilidad en el primero de los tejidos y, por tanto, reflejará la mayor idoneidad del otro tejido para el diagnóstico nutricional en dicho período de estabilidad.

Los Rangos Intercuartiles se han calculado a partir del conjunto global de datos, incluyendo las diferentes parcelas y los distintos años, dado que unos niveles de referencia dados para un cultivo deben asumir la variabilidad debida al año y a la subzona que representen. En general, el N y Zn en pecíolo tuvieron mayor variabilidad que en limbo a lo largo del ciclo, lo que se refleja como Rangos Intercuartiles más

elevados (Figuras 6a y 7c). El P, K y Mg, coincidiendo con los resultados obtenidos por otros autores (Christensen 1984, Champagnol 1990), también mostraron mayor variabilidad en pecíolo (Figura 6). Por el contrario, Fe y B mostraron intervalos de variación mayores en limbo que en pecíolo (Figuras 7a y 7e), mientras que el Ca presentó pocas diferencias entre limbo y pecíolo (Figura 6d), aunque este último tiene, ligeramente, menor variabilidad en la zona de estabilidad del envero. El Mn presenta un menor intervalo de variación en pecíolo al inicio del ciclo, invirtiéndose esta tendencia en torno al día 90 desde brotación (Figura 7b).

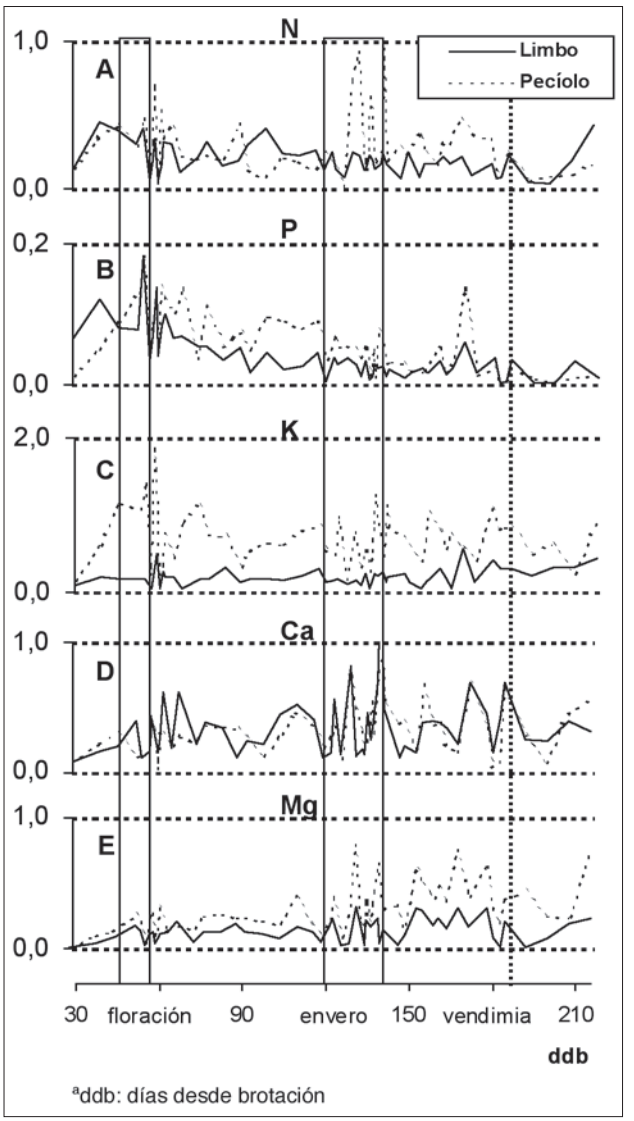

Figura 6: Rango Intercuartil para N, P, K, Ca y Mg (g/100g peso seco) en limbo y pecíolo a lo largo del ciclo de cultivo en una de las parcelas del estudio (viñedo Agoncillo)

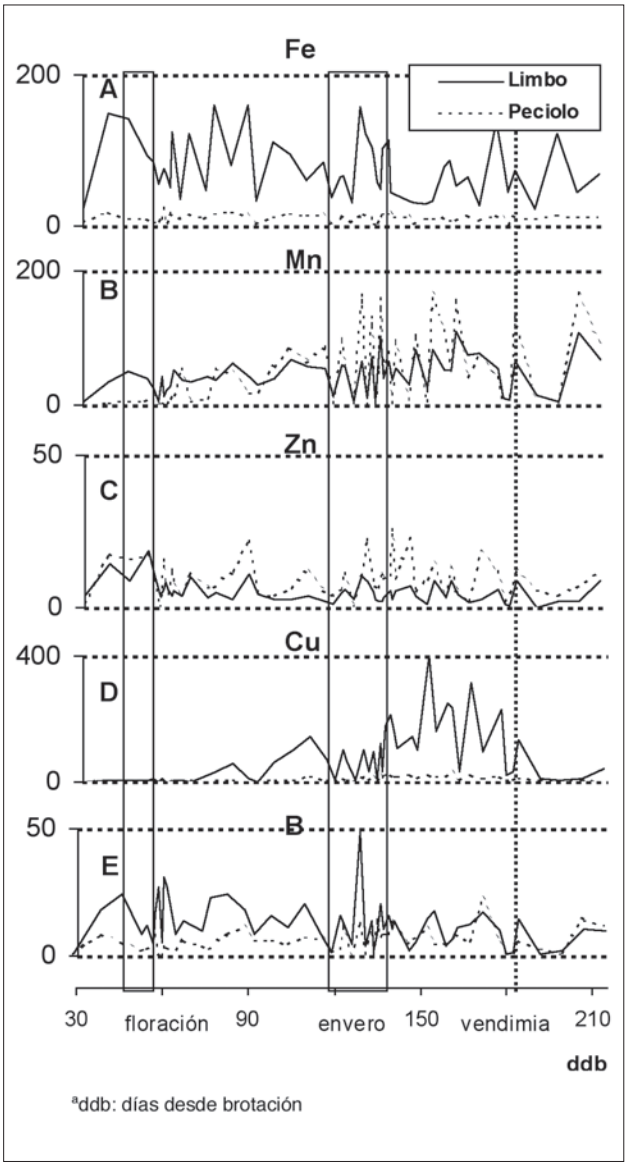

Figura 7: Rango Intercuartil para Fe, Mn, Zn, Cu y B (mg/Kg peso seco) en limbo y pecíolo a lo largo del ciclo de cultivo en una de las parcelas del estudio (viñedo Agoncillo)

Algunos autores recomiendan el análisis de pecíolo en floración para el diagnóstico nutricional ya que, a las ventajas de un análisis temprano que permitiría posibles enmiendas, también atribuyen una mayor respuesta a la fertilización por parte de los nutrientes en dicho tejido. Sin embargo, la mayor variabilidad del pecíolo, junto con la rápida evolución de los niveles de nutrientes desde la brotación hasta

pasado el cuajado, obligaría a dar rangos de referencia más amplios que haría menos fiable el diagnóstico nutricional. Siguiendo el criterio dado por Porro *et al.* (1995), en que es preferible emplear en el análisis aquel tejido cuyos contenidos minerales presenten una menor variabilidad, y aplicándolo a los resultados obtenidos, los muestreos se deben realizar en limbo para análisis de N, P, K, Mg y Zn; en pecíolo para Fe y B y en cualquiera de ambos tejidos para Ca y Cu. En el caso del Mn, el tejido a analizar dependería del momento de muestreo (Figura 5), limbo en envero y pecíolo en floración (Romero *et al.* 2005).

2.3. NIVEL DE NUTRICIÓN EN LA D.O.CA. RIOJA

Se analizaron los datos de las 140 parcelas y 6 años desde un enfoque estadístico descriptivo.

Para cada nutriente se verificó la distribución Normal de los datos mediante el test no paramétrico de Kolmogorov-Smirnov. Cuando quedaba verificada la Normalidad, se realizaba un estudio de distribución a partir de los valores de la media y la desviación típica. El rango de valores que caracteriza a un determinado porcentaje de población se delimita mediante: $\mu \pm k \cdot \sigma$, donde k se calcula para cada porcentaje en distribuciones normales de media cero y varianza 1. Se decidió dividir la población de datos en tres clases, considerando el 50% ($\mu \pm 0{,}67\sigma$) y el 90% ($\mu \pm 1{,}64\sigma$) centrales para definir la población media y las poblaciones con valores medios por debajo y por encima respecto a esa población media (modificado de Stringari *et al.*, 1997).

En el caso de distribuciones no Normales, se realizaron transformaciones matemáticas simples para conseguir distribuciones Normales, antes de realizar el estudio de distribución. A modo de ejemplo se presentan los histogramas para el K en limbo durante el envero antes y después de ser transformados (Figura 8). En este caso, se utilizó la transformación de raíz cuadrada, recomendada para poblaciones con gran asimetría positiva.

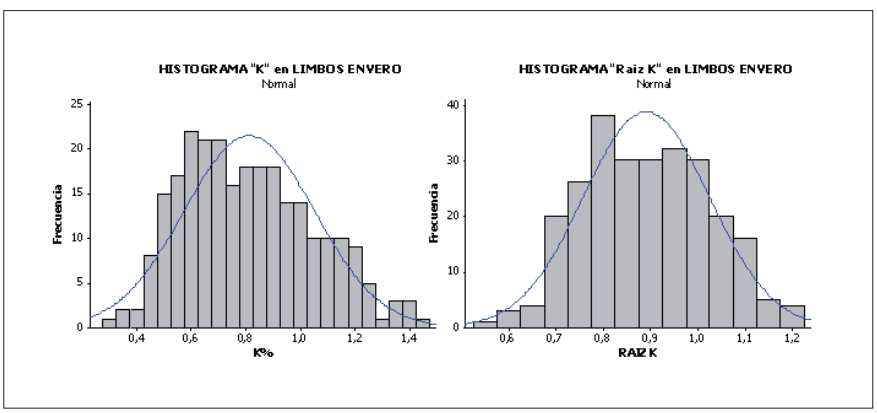

Figura 8: Histogramas para K en limbos en envero antes y después de ser transformados.

Finalmente, cuando la transformación sencilla a distribución Normal para alguno de los nutrientes no fue posible, el rango de valores que representa a cada porcentaje de población se obtiene a partir del cálculo de percentiles P_5, P_{25}, P_{75} y

P_{95}, estableciéndose el intervalo que recoge el 50 y el 90% de los datos centrales. Este proceso fue necesario realizarlo para K en limbos-envero, P y Mn en pecíolos-envero y K, Fe y Cu en limbos–floración.

En las Tablas 2 y 3 se muestran los valores representativos de macroelementos y microelementos de limbos de cv. Tempranillo en la D.O. Ca Rioja en floración y envero.

Tabla 2. Niveles de nutrientes de limbos en floración.
(Rango Normal: $\mu \pm 0{,}67\sigma$; Rango Superior e Inferior: $\mu \pm 1{,}64\sigma$)

	Bajo	Inferior al normal	Normal	Superior al normal	Alto
N %	< 2,75	2,75 – 3,01	3,01 – 3,37	3,37 - 3,63	> 3,63
P %	< 0,19	0,19 – 0,24	0,24 – 0,33	0,33 - 0,44	> 0,44
K %	< 0,69	0,69 – 0,87	0,87 – 1,15	1,15 - 1,36	> 1,36
Ca %	< 1,63	1,63 – 2,03	2,03 – 2,57	2,57 - 2,96	> 2,96
Mg %	< 0,24	0,24 – 0,30	0,30 – 0,37	0,37 - 0,48	> 0,48
Fe ppm	< 84,5	84,5 – 110	110 – 173	173 – 240	> 240
Mn ppm	< 29,9	29,9 – 46,8	46,8 – 86,8	86,8 – 135,7	> 136
Zn ppm	< 11,3	11,3 – 14,9	14,9 – 21,9	21,9 – 29,0	> 29,0
Cu ppm	< 6,5	6,5 – 8,4	8,40 – 12,3	12,3 – 15,4	> 15,4
B ppm	< 37,0	37,0 – 71,1	47,3 – 71,1	71,1 – 81,4	> 81,4

Tabla 3. Niveles de nutrientes de limbos en envero.
(Rango Normal: $\mu \pm 0{,}67\sigma$; Rango Superior e Inferior: $\mu \pm 1{,}64\sigma$)

	Bajo	Inferior al normal	Normal	Superior al normal	Alto
N %	< 1,93	1,93 – 2,10	2,10 – 2,35	2,35 – 2,53	> 2,53
P %	< 0,11	0,11 – 0,13	0,13 – 0,17	0,17 – 0,20	> 0,20
K %	< 0,44	0,44 – 0,65	0,65 – 0,97	0,97 - 1,19	> 1,19
Ca %	< 2,68	2,68 – 3,11	3,11 – 3,69	3,69 – 4,12	> 4,12
Mg %	< 0,25	0,25 – 0,36	0,36 – 0,51	0,51 – 0,77	> 0,77
Fe ppm	< 112	112 – 145	145 – 206	206 – 267	> 267
Mn ppm	< 41,6	41,6 – 69,1	69,1 – 119	119 – 163	> 163
Zn ppm	< 11,2	11,2 – 14,1	14,1 – 19,3	19,3 – 24,3	> 24,3
Cu ppm	-	-	-	-	-
B ppm	< 23,3	23,3 – 29,1	29,1 – 42,4	42,4 – 48,1	> 48,1

Finalmente, en las Tablas 4 y 5 se muestran los valores para pecíolo de cv. Tempranillo en la D.O. Ca Rioja en floración y envero.

Tabla 4. Niveles de nutrientes de pecíolos en floración. (Rango Normal: μ ± 0,67σ; Rango Superior e Inferior: μ ± 1,64σ)

	Bajo	Inferior al normal	Normal	Superior al normal	Alto
N %	< 0,72	0,72 – 0,91	0,91 – 1,24	1,24 – 1,58	> 1,58
P %	< 0,16	0,16 – 0,24	0,24 – 0,35	0,35 – 0,43	> 0,43
K %	< 0,80	0,80 – 1,35	1,35 – 2,33	2,33 – 3,19	> 3,19
Ca %	< 1,19	1,19 – 1,43	1,43 – 1,77	1,77 – 2,02	> 2,02
Mg %	< 0,38	0,38 – 0,51	0,51 – 0,69	0,69 – 0,82	> 0,82
Fe ppm	< 15,3	15,3 – 20,1	20,1 – 29,2	29,2 – 38,4	> 38,4
Mn ppm	< 10,3	10,3 – 16,0	16,0 – 29,4	29,4 – 45,8	> 45,8
Zn ppm	< 5,30	5,30 – 10,5	10,5 – 20,6	20,6 – 29,9	> 29,9
Cu ppm	< 4,20	4,20 – 5,90	5,90 – 9,20	9,20 – 12,7	> 12,7
B ppm	< 32,0	32,0 – 35,8	35,8 – 44,7	44,7 – 48,5	> 48,5

Tabla 5. Niveles de nutrientes de pecíolos en envero. (Rango Normal: μ ± 0,67σ; Rango Superior e Inferior: μ ± 1,64σ)

	Bajo	Inferior al normal	Normal	Superior al normal	Alto
N %	< 0,35	0,35 – 0,42	0,42 – 0,51	0,51 – 0,57	> 0,57
P %	< 0,05	0,05 – 0,07	0,07 – 0,12	0,12 – 0,18	> 0,18
K %	< 0,29	0,29 – 0,94	0,94 – 2,16	2,16 – 3,18	> 3,18
Ca %	< 1,64	1,64 – 2,02	2,02 – 2,55	2,55 – 2,93	> 2,93
Mg %	< 0,47	0,47 – 0,73	0,73 – 1,10	1,10 – 1,36	> 1,36
Fe ppm	< 15,2	15,2 – 20,4	20,4 – 28,8	28,8 – 35,7	> 35,7
Mn ppm	< 6,9	6,90 – 21,3	21,3 – 73,9	73,9 – 130	> 130
Zn ppm	< 9,8	9,80 – 15,9	15,9 – 26,8	26,8 – 36,4	> 36,4
Cu ppm	-	-	-	-	-
B ppm	< 29,2	29,2 – 32,9	32,9 – 41,4	41,4 – 45,1	> 45,1

Los valores de N, K y Mg en limbo mostrados (Tablas 2 y 3) son semejantes a los establecidos en la D.O. Utiel-Requena (Giner *et al.*, 2004). El P, sin embargo, es algo superior mientras que el Ca tiene un rango más estrecho y se sitúa entre los límites dados por Giner *et al.* (2004). En el caso de los micronutrientes, es el Fe donde se muestran las mayores diferencias, observándose en la D.O.Ca. Rioja valores más altos que en Utiel-Requena. El Mn muestra, a su vez, niveles similares mientras que el Zn queda por debajo de los valores de dicha D.O. Por último, el Cu muestra valores similares en floración, mientras que los altos niveles observados en envero, debido a contaminación por fitosanitarios, impide hacer una comparación objetiva.

Estas diferencias entre la misma variedad en distintas D.O. muestran la necesidad de disponer de referencias locales para poder realizar diagnósticos nutricionales con garantías.

Se ha de tener en cuenta que las tablas mostradas en este trabajo, tan sólo sitúan el nivel de un elemento dentro de la población de la zona y, por lo tanto, su

utilización como referencia deberá considerarse provisional hasta una verificación experimental más esmerada (Failla *et al.* 1995). De este modo, en estos momentos se están preparando unas tablas similares, obtenidas a partir de criterios de calidad de uva y mosto las cuales, al haber seleccionado las poblaciones en base a dichos criterios, serán unas tablas más útiles para ser utilizadas como referencia. Dichas tablas requerirán, lógicamente, el ajuste y verificación continua para adaptarse a los requerimientos de calidad en cada momento.

3. CONCLUSIONES

Para que el análisis foliar constituya una herramienta útil, resulta de interés elegir aquellos períodos de muestreo que permita realizar un diagnóstico del mayor número posible de nutrientes.

A la vista de los resultados obtenidos para *Vitis vinifera* cv. Tempranillo sobre R-110, en las condiciones de cultivo características del ámbito de la D.O.Ca Rioja, se sugiere el envero como época para establecer referencias generales. Además, existe un período que va desde 4 semanas después de cuajado hasta el final del envero en que los contenidos de nutrientes serían comparables con dichas referencias. Esto posibilitaría hacer un diagnóstico nutricional precoz con garantías y permitiría aplicar fertilizaciones correctoras en la misma campaña. Por tanto, para el diagnóstico nutricional se recomienda analizar N, P, K, Mg, Mn y Zn en limbo, Fe y B en pecíolo, y Ca en cualquiera de ambos tejidos. El diagnóstico de Cu en esta época se ve impedido por las habituales aplicaciones fitosanitarias de base cúprica. Se sugieren unas tablas de niveles de nutrientes en limbo y pecíolo, para floración y envero, preparadas siguiendo la metodología de Encuesta Nutricional. Estas tablas pueden ser utilizadas como valores de referencia para realizar los clásicos diagnósticos nutricionales de comparación con "valores críticos". Sin embargo, requerirán su rediseño en base a criterios de calidad.

AGRADECIMIENTOS

A Luis A. Sarabia y M. Cruz Ortiz, del Departamento de Matemáticas y Computación de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Burgos y especialmente, a los más de 140 viticultores y técnicos, sin cuya colaboración en la toma de muestras habría sido imposible crear la base de datos.

4. BIBLIOGRAFÍA

Baggiolini, M., 1952. Les stades repères de la vigne. Rev. Romande Agric. Vitic. Arboric. (8), 4-6.

Bertoni, G., 1991. Diagnostic d´une alimentation excessive en potassium ou en azote par l´analyse foliaire. Progrès Agric. Vit. (12), 272-274.

Champagnol, F., 1990. Rajeunir le diagnostic foliare. Progrès Agric. Vit. (107), 343-351.

Christensen, P., 1984. Nutrient level comparisons of leaf petioles and blades in twenty-six grape cultivars over three years (1979 through 1981). Am. J. Enol. Vitic. (35), 124-133.

Christensen, P., 1989. Vineyard tissue sampling guide. California University. USA.

Ciesielska, J., Malusa, E., Bourlot, G., 2002. Grape leaf diagnosis in the Piedmont Region. Acta Hort. (594), 387-392.

Dal Bó, M.A., 1993. Nutrición y abonado de la vid. Vitic. Enol. Prof. (24), 9-13.

Delas, J., 1990. Analyse foliaire, un complément utile. VITI de la vigne au vin. (139), 59-60.

Failla, O., Scienza, A., Stringari, G., Porro, D., Tarducci, S., Di Dionisio, A., 1995. Indagine sullo stato nutrizionale dei vigneti in alcune zone toscane a denominazione d'origine per una proposta d'interpretazione delle analisi fogliari e del terreno. VigneVini. Suplemento. (12), 15-25.

Failla, O., Bogoni, M., Porro, D., Stringari, G., 1997. Soil and leaf analysis: Effect of pedo-climatic, cultural and genetic factors on their calibration and interpretation. Acta Hort. (448), 225-232.

Fregoni, M., Scienza, A., 1974. Il rame nella nutrizione della vite. Economia Trentina 2.

Fregoni, M., 1980. Nutrizione e fertilizzazione della vite. Edagricole. Bologna.

García, M., Gallego, P., Daverède, C., Ibrahim, H., 2001. Effect of three rootstocks on grapevine (*Vitis vinifera* L.) cv. Négrette, Grown Hydroponically. I. Potassium, Calcium and Magnesium Nutrition. S. Afr. J. Enol. Vitic. (22), 101-103.

García - Escudero, E., Zaballa, O., Lahoz, I., Arroyo, M.C., 2001. Influencia de la variedad en la composición mineral de hojas de vid (*Vitis vinifera* L.) y en la calidad del vino. *In* Actas del IV Congreso Ibérico de Ciencias Hortícolas. Sociedad Española de Ciencias Hortícolas (Eds.). 1701-1708. Cáceres.

Giner, J.F., Giménez, M., Oltra, M.A., Fernández, M., Arciniega, L., 2004. Establecimiento de los niveles de interpretación foliar para la variedad Cencibel en la comarca de Utiel-Requena. Resúmenes del X Congreso Nacional de Enólogos. Valencia. 23-25 de abril. 28.

González - Andrés, F., Berberana, J., 2002. Determinación de los estándares de referencia locales en el análisis foliar de viñedos Tempranillo en la D.O. Cigales (Valladolid; España). Nutri-Fitos. 29-41.

Gutiérrez, V.L., Darías, F., 1998. Niveles foliares comparativos de tres variedades de uva blanca cultivadas en Tenerife (Islas Canarias). Vitic. Enol. Prof. (59), 7-10.

Loué, A., 1990. Le Diagnostic Foliaire (ou Pétiolaire) dans les enquêtes de nutrition minérale des vignes. Progrès Agricole et Viticole. (107), 439-453.

Porro, D., Stefanini, M., Failla, O., Stringari, G., 1995. Optimal leaf sampling time in diagnosis of grapevine nutritional status. Acta Hort. (383), 135-142.

OIV., 1996. Diagnostic foliaire: Une méthode harmonisée. Bulletin de L'O.I.V. (69), 35-40.

Robinson, J.B., 1990. Grapevine nutrition: An update. Aust. Grapegrower and Winemaker. (323), 9-12.

Rodríguez-Lovelle, B., García-Rodeja, E., 1994. Evolución estacional de los contenidos foliares de N, P, K, Ca y Mg en la variedad Godello. Vit. Enol. Prof. (32), 18-24.

Rodríguez, B., 1996. *El cultivo de la vid en las comarcas del interior de Galicia: fertilidad de los suelos y estado nutricional de las variedades autóctonas*. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela.

Romero, I., García, C., Villar, M.T., López, D., Ibáñez, S., Arroyo, M.C., Martín-Rueda, I., García-Escudero, E., 2005. Utilización del análisis de limbo y pecíolo para el diagnóstico nutricional de la vid (*Vitis vinifera* L.) variedad Tempranillo. En Actas de las I Jornadas del Grupo de Fertilización de la Sociedad Española de Ciencias

Hortícolas. Actas de Horticultura. C. Ramos, I. Bautista, R. Belda, J.M. de Paz y otros (Eds.). Moncada, Valencia. (44), 56-63.

Schaller, K., Lohnertz, O., Michel H., 2002. Modified Dris-System for leaf analysis to optimise fertilizer inputs-further developments with grapevines. Acta hort. (594),

Sipiora, M., 1996. Interpretación del estadio nutricional de viñedos de *Chenin blanc* y *Pinot noir* en la denominación de origen Somontano basada en análisis de pecíolos y hojas. Vit. Enol. Prof. (47), 22-29.

Stringari, G., Porro, D., Failla, O., Möller, F., 1997. A method to assess and manage leaf analysis standards according to genetic and environmental variability. Acta Hort. (448), 145-153.