

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	3
1.1. IMPORTANCIA DE LOS CÍTRICOS EN LA REGIÓN DE MURCIA	3
1.2. DESCRIPCIÓN DE LA VARIEDAD Y LOS PATRONES ESTUDIADOS	4
1.2.1. Variedad.....	4
1.2.2. Patrones.....	4
1.3. INFLUENCIA DEL PATRÓN EN LA PRODUCCIÓN Y CALIDAD DE LOS FRUTOS.....	6
1.3.1. Producción	6
1.3.2. Calidad del fruto	7
1.4. ORIGEN DE LAS SALES Y SALINIZACIÓN DE LOS SUELOS.....	8
1.5. CALIDAD DEL AGUA DE RIEGO	8
1.5.1. Calidad del agua para riego e importancia de su estudio	8
1.5.2. Problemas asociados a la calidad del agua de riego	9
1.5.3. Utilización de las sondas de succión.....	12
1.6. EFECTO DE LA SALINIDAD EN LOS CULTIVOS DE CÍTRICOS	12
1.6.1. Influencia del patrón y papel de la variedad.....	12
1.6.2. Efectos nutricionales	14
1.6.3. Relaciones hídricas	15
1.6.4. Fotosíntesis.....	17
1.6.5. Fluorescencia	20
1.6.6. Transpiración	23
1.7. INFLUENCIA DE LA SALINIDAD SOBRE LA PRODUCCIÓN Y LA CALIDAD DE LOS FRUTOS	24
1.7.1. Efectos de la salinidad sobre la producción	24
1.7.2. Efectos de la salinidad sobre la calidad del fruto	26
1.8. INFLUENCIA DE LA NUTRICIÓN NITROGENADA EN LOS CÍTRICOS.....	27
1.8.1. Efecto sobre la producción	27
1.8.2. Efecto sobre la calidad de los frutos	28
1.8.3. Interacción de la nutrición nitrogenada y la salinidad	29
2. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO	32
2.1. OBJETIVOS	32
2.2. PLAN DE TRABAJO	33
3. MATERIAL Y MÉTODOS	35
3.1. EXPERIMENTO EN INVERNADERO.....	35
3.1.1. Ubicación y condiciones del invernadero	35
3.1.2. Material vegetal.....	36

3.1.3. Labores de cultivo	36
3.1.4. Sistema de riego y solución nutritiva	36
3.1.5. Diseño experimental.....	37
3.1.6. Determinaciones	39
3.2. EXPERIMENTO DE CAMPO.....	45
3.2.1. Localización y descripción de la parcela	45
3.2.2. Condiciones climáticas durante el ensayo	46
3.2.3. Calidad del agua de riego empleada	48
3.2.4. Material vegetal.....	48
3.2.5. Diseño experimental.....	48
3.2.6. Labores de cultivo	50
3.2.7. Determinaciones	51
3.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	64
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	65
4.1. RESPUESTA FISIOLÓGICA A LA SALINIDAD DE PLÁNTULAS DE CITRANGE CARRIZO Y MANDARINO CLEOPATRA, Y DE LA VARIEDAD LANE LATE SOBRE AMBOS PATRONES	65
4.1.1. Concentración de iones salinos.....	65
4.1.2. Relaciones hídricas.....	75
4.1.3. Parámetros de intercambio gaseoso	81
4.1.4. Estado nutricional del cultivo.....	88
4.1.5. Absorción y utilización de sodio y cloruro	99
4.2. RESPUESTA A LA SALINIDAD Y AL APORTE EXTRA DE ABONO NITROGENADO DE ÁRBOLES DE CITRANGE CARRIZO Y MANDARINO CLEOPATRA INJERTADOS SOBRE NARANJO LANE LATE.....	110
4.2.1. Salinidad del agua de riego.....	110
4.2.2. Concentración de iones salinos.....	115
4.2.3. Relaciones hídricas.....	123
4.2.4. Niveles de clorofilas en hoja (SPAD)	130
4.2.5. Fluorescencia de clorofilas.....	134
4.2.6. Parámetros de intercambio gaseoso	138
4.2.7. Estado nutricional del cultivo.....	146
4.2.8. Desarrollo vegetativo.....	167
4.2.9. Producción	169
4.2.10. Calidad del fruto	173
5. CONCLUSIONES.....	191
5.1. EXPERIMENTO DE INVERNADERO.....	191
5.2. EXPERIMENTO DE CAMPO.....	193
6. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	196

1. INTRODUCCIÓN

1.1. IMPORTANCIA DE LOS CÍTRICOS EN LA REGIÓN DE MURCIA

La citricultura en la región de Murcia ha experimentado un ligero descenso en los últimos años, pasando la superficie cultivada de 37.962 hectáreas en 2002, a 37.389 hectáreas en 2008, lo que supone algo más del 15 % en este periodo. El responsable de este descenso ha sido el limonero, cuyo cultivo, en el periodo 2002-2008, ha retrocedido 1.996 hectáreas. Por el contrario, el cultivo del mandarino ha aumentado en 1.023 hectáreas y el naranjo lo ha hecho en 400 hectáreas.

La producción citrícola, que se estabilizó entre 1997 y 2000 alrededor de las 620.000 toneladas, alcanzó un máximo histórico en 2003, con una producción que superó las 818.000 toneladas, descendiendo con notables altibajos, hasta las 655.000 toneladas de 2008. Las tres especies citadas anteriormente tuvieron un comportamiento en “diente de sierra” entre 2002 y 2008. La producción del limón se acercó en 2008 a las 390.000 toneladas, la de naranja a las 186.000 toneladas y la de mandarina a 57.000 toneladas (C.E.R.M., 2008).

En cuanto a la importancia relativa de la producción citrícola en nuestra región es muy significativo considerar que representa algo más del 50 % del total de la producción de los cultivos leñosos de la misma y un 24 % de la producción hortofrutícola regional.

Por su parte, la evolución del cultivo del naranjo, que globalmente ya hemos considerado, es de distinto signo según variedades, pues si bien Washington Navel permanece estable, las tempranas, Navelina y Newhall han ido descendiendo. Las variedades tardías, Valencia late, Lane late y, más recientemente, Navel Summer Powell, Navel Barnfield, Rhode y Chisslet son las que han experimentado un incremento más fuerte ya que han hecho posible una oferta de la mejor calidad de octubre a mayo/junio (Martinez-Serrano, 2008).

1.2. DESCRIPCIÓN DE LA VARIEDAD Y LOS PATRONES ESTUDIADOS

1.2.1. Variedad

La variedad ensayada fue el naranjo Lane late (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck), cuyas principales características agronómicas se recogen a continuación (Soler-Aznar, 2000):

- Origen: Mutación espontánea de Washington Navel, descubierta en Australia.
- Árbol: Ramas principales extendidas. Hojas cóncavas, onduladas, pecíolos no alados ó rudimentarios y pequeños. Inflorescencia: Simples y arracimadas. Flores con anteras de color amarillo pálido, estilos completos, no producen polen viable.
- Fruto: De achatado a ovoide, de color naranja, sin aureola; siempre presenta ombligo visible, sin semillas, gran calidad. Zumo de color amarillo a naranja, bajo en acidez y con elevado contenido en azúcares. Piel fina, glándulas de aceites esenciales visibles, adherencia a la pulpa moderada. La variedad Lane late, como otras selecciones del grupo Navel, ocasionalmente se comporta muy sensible a la granulación.
- Interés comercial: La mejor calidad de fruta para el consumo en fresco, principal destino de la producción española, se obtiene con variedades de naranja del grupo Navel. Nuestra actual estructura varietal permite prolongar la recolección desde noviembre, con Navelina y Washington Navel, hasta abril con Navel late y Lane late.

1.2.2. Patrones

Los patrones utilizados fueron dos:

- Citrango Carrizo (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck x *Poncirus trifoliata* (L.) Raf.). Los citrangeros son híbridos de *Poncirus trifoliata* y naranjo dulce. Es un híbrido obtenido por Savage en 1.909 polinizando flores de 'Washington Navel' con polen de *Poncirus trifoliata* (Savage y Gardner, 1965).

El citrange Carrizo es el patrón más usado en España (Forner y col., 2003) a causa de su vigor y producción en todos los suelos, excepto los que presentan niveles altos de calcio disponible.

Las variedades injertadas sobre citrange Carrizo presentan excelentes cosechas de elevada calidad comercial: Buena calidad de frutos, maduración adelantada y en general una buena productividad (Breedt y col., 1996; Conesa, 1999).

El citrange Carrizo presenta crecimiento vigoroso sobre diversidad de suelos, aunque es poco tolerante a la salinidad, a los suelos calcáreos y muy sensible a la *exocortis*. Es tolerante a la tristeza, psoriasis, xyloporosis y a “woody gall” y también es tolerante a *Phytophthora sp*, pero sensible a *Armillaria mellea*.

Presenta muy buena compatibilidad con las variedades de naranjo dulce, mandarino y pomelo cultivadas en España. Con estas variedades el patrón adquiere mayor diámetro que el injerto en la zona de unión de ambos.

- Mandarino Cleopatra (*Citrus reticulata* Blanco). El mandarino Cleopatra es la variedad de mandarino más utilizada como patrón. Es un buen patrón para naranjo y aceptable para limonero (González-Sicilia, 1960).

Presenta buenas cualidades por su adaptación a los suelos mediterráneos (Loussert, 1992). Es muy utilizado en los suelos calcáreos. Suele ir bien en terrenos de tipos francos ó sueltos. Da buena calidad cuando se le injerta naranjo dulce, mandarino ó pomelo y buena productividad a partir del décimo año (Castle, 1987), siendo el tamaño de los frutos algo inferior al producido sobre otros patrones (González-Sicilia, 1960; Russo, 1985; Foguet y col., 1987; Breedt y col., 1996; Carlos y Donadio, 1996; Conesa, 1999).

El mandarino Cleopatra es resistente a la salinidad y tolerante a pH altos. Se le considera un patrón no excluidor de iones sodio y sí de los iones cloruros (Walker y col., 1983). Tolerante a la clorosis férrica, pero muy sensible a la asfixia radicular.

1.3. INFLUENCIA DEL PATRÓN EN LA PRODUCCIÓN Y CALIDAD DE LOS FRUTOS

1.3.1. Producción

El tipo de patrón utilizado en el cultivo de los cítricos tiene una importancia notable sobre más de 20 caracteres agronómicos de los mismos, tales como el vigor de los árboles, tamaño, producción, calidad interna de los frutos ó fecha de maduración (Castle, 1978).

Aunque el mandarino Cleopatra tiene notables ventajas sobre los citrange Troyer y Carrizo, como su mayor tolerancia a enfermedades víricas (CEV) ó su adaptación a una amplia variedad de suelos, desde los arenosos a los arcillosos, salinos ó calizos de pH elevado, no es usado ampliamente como un patrón para naranjas, pomelos y algunas mandarinas (Davies y Albrigo, 1994) ya que es lento, no alcanzando su pleno desarrollo y producción hasta pasados 9-10 años (Castle, 1987).

Davies y Albrigo (1994) recogen en un cuadro adaptado de Castle (1987) las características más notables de un importante número de patrones de cítricos, cuadro en el que aparece el mandarino Cleopatra en el grupo de los patrones con producción intermedia, en tanto que el citrange Carrizo se incluye en el grupo de patrones de elevada producción. Sin embargo, Castle (1995) encontró que el naranjo Valencia producía más sobre mandarinos Cleopatra que sobre citrange Carrizo, resultados que también observó con pomelos Redblush y Marsh. Economides (1977) no encontró diferencias significativas en la producción de naranjos Valencia sobre mandarino Cleopatra y citrange Troyer. Tampoco Forner-Giner y col. (2003) obtuvieron diferencias significativas en la producción de naranjo Navelina sobre mandarino Cleopatra y citrange Troyer cuando compararon la producción acumulada durante los primeros siete años. Sin embargo, Forner (1996) comprobó que Clementina de Nules sobre mandarino Cleopatra era menos productivo que sobre otros patrones.

Investigaciones sobre múltiples combinaciones patrón/variedad han demostrado que el efecto de la salinidad sobre el crecimiento y producción está generalmente determinado más por el patrón que por la variedad (Cerdá y col., 1979, Vardi y col., 1988, Nieves y col., 1991a, García-Legaz y col., 1992, Levy y col., 1992).

1.3.2. Calidad del fruto

Los patrones utilizados en el cultivo de los cítricos no solo afectan de forma particularmente importante a la producción y al crecimiento de los árboles, sino que también lo hacen sobre más de 10 factores relacionados con la calidad de los frutos (Wutscher y Bistline, 1988). Entre tales efectos del patrón, los principales son los que se refieren al contenido en zumo, color interno, sólidos solubles, contenido en acidez y la relación entre los sólidos solubles y la acidez de los frutos. Otras características relacionadas con la calidad de los frutos, como la forma y el tamaño de los frutos, color de la corteza y el espesor de la misma, dependen también del patrón utilizado (Laborem y col., 1989).

La magnitud del efecto patrón sobre los diferentes factores relacionados con la calidad de los frutos oscila desde diferencias del 5 % hasta superiores al 30 %, en cualquier caso valores sustancialmente inferiores a los encontrados para la producción (Castle, 1995).

Los efectos sobre la calidad de los frutos de los patrones de los cítricos aunque sujetos a variaciones de un año a otro, son suficientemente consistentes para permitir seleccionar uno u otro patrón de acuerdo con objetivos cualitativos prefijados (Blondel, 1974; Castle y col., 1993).

El mandarino Cleopatra produce frutos más pequeños que otros patrones, como el citrange Carrizo (Breedt y col., 1996, Castle y Gmitter, 1999), pero con zumo de calidad moderada a alta (Turpin, 1978). El contenido en sólidos solubles y acidez de los pomelos Redblush y Marsh sobre mandarino Cleopatra es ligeramente superior al contenido observado con patrón citrange Carrizo aunque la relación sólidos solubles/acidez alcanza valores más altos con patrón citrange Carrizo que con mandarino Cleopatra (Wutscher, 1977; Economides y Gregoriu, 1993). Economides (1977) encontró resultados similares a los precedentes, con naranja Valencia, al obtener la media de los valores observados durante un trabajo de tres años de duración. Castle (1995) también observó que en los frutos de naranja Valencia cultivados sobre citrange Carrizo, la relación sólidos solubles/acidez, alcanza valores más elevados que sobre mandarino Cleopatra.

1.4. ORIGEN DE LAS SALES Y SALINIZACIÓN DE LOS SUELOS

La salinidad es más frecuente bajo condiciones áridas y semiáridas, donde su principal característica es la elevada evotranspiración asociada a la escasez e irregularidad de las lluvias. La elevada evaporación de estas regiones asociada a un inadecuado sistema de drenaje del agua de riego, contribuyen de forma significativa a la salinización de los campos agrícolas. Cuanto más grande sea la razón entre evaporación y precipitación, tanto más favorable se hacen las condiciones para la salinización del suelo, ya que tiende a concentrar las sales en los suelos y en el agua superficial (Allison y col., 1954; Ruiz, 1984; Caliandro y col., 2000). A nivel mundial, cerca del 23 % de la superficie cultivada es considerada salina y un 37 % sódica (Caliandro y col., 2000).

Por otra parte, la calidad del agua de riego, respecto a la concentración y tipos de sales disueltas es otro importante factor de salinización, ya que el agua que se utiliza para el riego en zonas áridas contiene un elevado porcentaje de sales en solución, significando un aumento paulatino de sales que se acumulan en el suelo, ya que el agua aportada se evapora o es utilizada por las plantas, mientras que las sales persisten (Allison y col., 1954; Carrasco, 1991; Razeto, 1999).

1.5. CALIDAD DEL AGUA DE RIEGO

1.5.1. Calidad del agua para riego e importancia de su estudio

La calidad del agua se refiere a las características de una fuente de agua que influyen sobre su aptitud para un uso específico. Es decir, en que grado la calidad del agua cumple con los requerimientos del uso al cual se destinará. En la evaluación de la calidad de agua para riego se pone énfasis en las características químicas, aunque el efecto de su aplicación dependerá de otros factores como el tipo de suelo, cultivo a regar y condiciones climáticas (Bresler y col., 1982).

El estudio de la calidad de agua para riego es un paso inevitable al emprender un proyecto de riego. La utilización continua de aguas de baja calidad, con manejo inadecuado, puede provocar un deterioro de la calidad de los suelos cuya recuperación puede ser técnicamente dificultosa y en algunos casos económicamente inviable (Prieto y Angueira, 1996).

1.5.2. Problemas asociados a la calidad del agua de riego

La composición y concentración de sales en la solución del suelo puede afectar el crecimiento de las plantas debido a: 1) cambio en las propiedades del suelo; 2) efecto de toxicidad y 3) efecto osmótico (Rhoades, 1972)

Los criterios prevalentes para calificar las aguas para riego y el peligro potencial de su uso son:

1.5.2.1. Salinidad:

Con respecto a las plantas, la salinidad se entiende como una concentración de sales solubles que excede la necesaria para el crecimiento óptimo de la planta y tal que puede afectar significativamente las propiedades coligativas de la solución a las que las raíces están expuestas, especialmente por la reducción de su potencial osmótico (Läuchli y Epstein, 1990).

Una solución conduce la electricidad tanto más cuanto mayor es su concentración de sales, por lo que habitualmente se ha usado esta propiedad para medir la salinidad en términos de conductividad eléctrica. La conductividad eléctrica puede expresarse en milimhos por centímetro ($\text{mmhos}\cdot\text{cm}^{-1}$), sus múltiplos y submúltiplos. Sin embargo, hoy en día la unidad más empleada es el decisiemens por metro ($\text{dS}\cdot\text{m}^{-1}$), que equivale, en valor absoluto, al $\text{mmhos}\cdot\text{cm}^{-1}$.

Pizarro (1996), propone que en el momento de estudiar los efectos de la salinidad del suelo sobre los cultivos, debería medirse la conductividad eléctrica real de la solución del suelo, que es la que está en contacto con las raíces de las plantas, ya que estas absorben el agua del suelo comprendida entre capacidad de campo y punto de marchitez. Por otra parte, las sales no son absorbidas, permaneciendo en la solución, por tanto, será más salina cuanto más próximo esté al punto de marchitez: la salinidad del suelo o de la solución, es variable con la humedad.

Utilizando las directrices establecidas por el laboratorio de salinidad de EE.UU, normas Riverside (Cánovas, 1986) y por la FAO (Ayers y Wescott, 1987), se puede evaluar la calidad de las aguas de riego y los efectos que el riego con ellas puede causar en el suelo y en los naranjos. De acuerdo con las primeras, el peligro de salinidad se considera bajo, medio, alto ó muy alto, (clases C1, C2, C3 y C4), si la C.E. (a 25 °C) no

excede de $0.25 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$, $0.75 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$, $2.25 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ ó supere los $2.25 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ respectivamente. Algunos trabajos señalan que valores de conductividad eléctrica del agua superiores a $1.1 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ ya empiezan a causar problemas para los cítricos (Maas y Hoffman, 1977; Maas. 1990). La mayor objeción que le podemos hacer a las normas Riverside es que son bastante restrictivas al aplicarlas a nuestras aguas de riego (Cánovas, 1986), resultando más adecuadas en nuestras condiciones las normas FAO, según las cuales el grado de restricción de uso de un agua se considera de ligero a moderado entre 0.7 y $3.0 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$, y severo a partir de $3.0 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$, valores bastante concordantes con las normas de Wilcox, para las que una conductividad entre 0.75 y $2.0 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ corresponde a un agua de calidad de buena a admisible, y entre $2.0 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ a $3.0 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ de calidad dudosa a no válida (Cánovas, 1986).

A mayor conductividad eléctrica necesario utilizar más cantidad de agua (mayor lavado del suelo) y en consecuencia por pérdidas por lixiviación, mayor cantidad de abono.

1.5.2.2 Sodicidad

La sodicidad de un agua es la cantidad relativa de sodio.

El peligro de producir sodicidad en el suelo está relacionado con la acumulación de sodio intercambiable en el suelo lo cual produce un deterioro de la permeabilidad y estructura. Los riesgos de un agua para producir sodicidad en el suelo han sido expresados por diferentes índices. El índice más usado es la RAS propuesto por Richards (1954).

La relación de absorción de sodio tradicional (RAS) hace referencia a la proporción relativa en que se encuentran el ión sodio y los iones calcio y magnesio. El RAS se calcula mediante la siguiente expresión:

$$\text{RAS} = \frac{\text{Na}^+}{\sqrt{(\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}) \times \frac{1}{2}}}$$

en la que la concentración de los cationes se expresa en $\text{meq}\cdot\text{L}^{-1}$.

De acuerdo con las normas del laboratorio de salinidad de EE.UU, podemos decir que el peligro de alcalinización es bajo para valores del RAS inferiores a 10, medio, de 10 a 18 y alto por encima de 18.

Uno de los iones que más favorecen la degradación del suelo es el sodio que sustituye al calcio en los suelos de zonas áridas, en circunstancias especiales y cuando se va produciendo la desecación superficial de los mismos. Esta sustitución da lugar a una dispersión de los agregados y a una pérdida de la estructura, por lo que el suelo adquiere un aspecto pulverulento y amorfo, perdiendo rápidamente su permeabilidad.

Estos problemas no son probables en la Región de Murcia debido al alto contenido de calcio de los suelos y el agua de riego, que actúa contrarrestando el efecto perjudicial del sodio. Algunos de los cultivos más sensibles al sodio son el almendro, el aguacate, los frutales de hueso y los cítricos.

1.5.2.3. Efecto de toxicidad:

Aparte del efecto osmótico, la presencia de sales solubles en la zona radicular determina la absorción por la planta de algunos iones específicos que se acumulan en los diversos tejidos y especialmente en la hoja llegando a provocar efectos tóxicos en la planta. Estos efectos pueden ser debidos bien a la toxicidad del propio ión, a la formación inducida de productos metabólicos tóxicos ó a desequilibrios iónicos ó nutricionales, y afectan al metabolismo, al balance hormonal y al desarrollo estructural, rendimiento que en fases más agudas pueden llegar a la muerte de la planta.

La toxicidad más común a partir del agua de riego es la producida por el cloro, que no es adsorbido por el suelo, y se mueve fácilmente en la solución desde donde es absorbido por la planta y circula en ella hasta acumularse en las hojas. Si la concentración sobrepasa la tolerancia del cultivo aparecen claros síntomas de toxicidad que incluyen hojas quemadas y necrosis de tejidos (Maas, 1984 y 1986). Los iones cloruro y sodio también pueden ser absorbidos directamente por el follaje, cuando se riega por aspersion, en períodos de alta temperatura y baja humedad relativa (Maas, 1986).

Sin embargo, estos síntomas sólo aparecen cuando el árbol ha acumulado una cantidad límite de cloruro y sodio (Munns y Tester, 2008) y como ocurre normalmente

en los vegetales, se expresa cuando ya existen daños que van en deterioro de la producción.

Para Ayers y Wescot (1987) las aguas con concentraciones de cloruro entre 14 y 10 meq·L⁻¹ tienen restricción ligera a moderada y cuando las concentraciones son superiores a 10 meq·L⁻¹ poseen una severa restricción para el riego.

Cánovas (1986) señala como límite de tolerancia para aguas de riego 0.5 gramos·L⁻¹, aunque dependiendo del tipo de suelo, no es de extrañar que cultivos regados con aguas que contengan 0.7 a 0.8 gramos·L⁻¹ no presentan daños foliares. Cerdá y col. (1980) califican de calidad media el agua con un contenido en cloruros de 0.30 a 0.70 gramos·L⁻¹, y de calidad baja las que superan los 0.70 gramos·L⁻¹.

1.5.3. Utilización de las sondas de succión

Para medir la salinidad real del suelo se ha planteado la utilización de sondas de succión ya que este equipo succiona la misma solución del suelo que las raíces (Pizarro, 1996, Fainstein, 1997; Mendoza, 2000). Estos instrumentos tienen una punta de cerámica porosa, semejante a la de un tensiómetro, conectada a una tubería hueca de cloruro de polivinilo (PVC).

Las sondas de succión permiten tener en todo momento, con gran facilidad y ahorro de tiempo, la C.E., pH, un análisis de los nutrientes de la solución y también de las sales nocivas para los cultivos, como el sodio y cloruro (Mendoza, 2000). Esto permite una evaluación continua de la dinámica de los iones a varias profundidades del perfil radicular, pudiendo evitar y superar desequilibrios nutricionales típicos de condiciones adversas, así como estimar la disponibilidad de fertilizantes para la planta en sistemas de fertirrigación, la solución de drenaje o lo que se ha lixiviado por efecto del riego ó lluvias (Nielsen y col., 1998; Rombolá y col., 2000).

1.6. EFECTO DE LA SALINIDAD EN LOS CULTIVOS DE CÍTRICOS

1.6.1. Influencia del patrón y papel de la variedad

Los cítricos, en su conjunto, pueden ser considerados como especies sensibles a la salinidad.

Teniendo en cuenta que los cítricos cultivados se componen habitualmente del patrón y de la variedad injertada, la respuesta de los árboles a la salinidad depende del comportamiento individual de cada una de las partes, así como de las posibles interacciones injerto/patrón que se puedan producir.

Existe una gran influencia de los patrones sobre las cantidades de Cl^- y/o Na^+ acumuladas en las hojas de árboles injertados y sin injertar. La concentración foliar de Cl^- puede variar más de 10 veces entre el peor y el mejor regulador de Cl^- (Cooper y col., 1952; Peynado y Young, 1969), mientras que la variación en la concentración de Na^+ oscila entre unas 6 veces (Kirkpatrick y Bitters, 1969) y unas 4,5 veces (Cooper y col., 1952). Maas (1993) situó entre los mejores excluidores de Cl^- a mandarina Sunki, pomelo, mandarina Cleopatra, naranjo chino y lima Rangpur, y calificó como los mejores excluidores de Na^+ a naranjo amargo, mandarina Cleopatra, citrange Rusk, limonero rugoso y lima Rangpur.

La exclusión de Cl^- y Na^+ son características heredables. El *Poncirus trifoliata* es uno de los peores excluidores de Cl^- (Cooper, 1961; Peynado y Young, 1969; Sykes, 1985b) junto con el citrange Carrizo, aunque el *Poncirus trifoliata* se muestra como un eficiente excluidor de Na^+ a baja salinidad (Walker, 1986). Esta capacidad para restringir el transporte de Na^+ al injerto puede ser expresado en sus híbridos. Sykes (1992) informó que el híbrido lima Rangpur x *Poncirus trifoliata* fue muy eficiente restringiendo el Na^+ en la zona basal del tallo. Igualmente ocurre con la habilidad de lima Rangpur para restringir el transporte de Cl^- al injerto (Ream y Furr, 1976; Gallasch y Dalton, 1989; Sykes, 1992).

Las variedades igual que los patrones pueden influenciar en la acumulación de Cl^- en hojas (Lloyd y col., 1989, 1990; Bañuls y col., 1990; Levy y Shalhevet, 1990; Nieves y col., 1991a; García-Legaz y col., 1992, 1993; Nieves y col., 1992; Bañuls y Primo Millo, 1995). Los efectos de la variedad pueden apreciarse mejor cuando los patrones son pobres excluidores (Lloyd y col., 1989), sin embargo los patrones con significativa capacidad para excluir Cl^- tienen mayor impacto sobre los niveles de Cl^- acumulado en las hojas que la variedad (Cooper y col., 1952; Behboudian y col., 1986). El mecanismo utilizado por algunos de los injertos para reducir el transporte de iones es desconocido, aunque parece estar relacionado con su vigor y necesidades hídricas.

En pocos estudios se ha comparado directamente el resultado de patrones injertados y sin injertar en condiciones salinas (Behboudian y col., 1986; Nieves y col., 1992). Los resultados son contradictorios y muestran que el injerto, en algunos casos modifica, y en otros no modifica las acumulaciones foliares de Na^+ y Cl^- . El patrón puede modificar la respuesta de distintos injertos. Bañuls y col. (1990) encontraron que el naranjo Navel acumulaba mucho más Cl^- que el mandarino Clementino cuando se injertaba sobre mandarino Cleopatra, mientras que no había diferencias significativas cuando estaban injertados sobre citrange Troyer.

1.6.2. Efectos nutricionales

El desarrollo de un cultivo puede verse adversamente afectado por desórdenes nutricionales inducidos por problemas de salinidad, estos desórdenes según Grattan y Grieve (1999), pueden ser resultado del efecto de la salinidad en la disponibilidad de nutrientes, competencia de absorción, transporte o distribución de nutrientes dentro de la planta. Bar y col. (1997) agregan como consecuencia de este desequilibrio iónico una posible reducción en la elongación de las raíces disminuyendo el volumen de suelo que puede ser explorado y así la cantidad de iones que se mueven por difusión hacia el interior de la planta.

La disponibilidad y la absorción de nutrientes por las plantas en condiciones salinas está afectado por muchos factores del medioambiente suelo-planta. La fase sólida del suelo y la composición y concentración de solutos de la solución del suelo controla la actividad de los nutrientes (Grattan y Grieve, 1999). El pH de la solución del suelo puede influir en la disponibilidad de los elementos, junto con esto, la concentración y proporción en que se encuentren estos últimos, puede interferir en la absorción y transporte de un nutriente en particular y actuar indirectamente sobre otros.

Bajo condiciones salinas-sódicas o sódicas, Grattan y Grieve (1999), señalan que los altos niveles de Na^+ no solo interfieren con la absorción del K^+ por las raíces, sino que también pueden destruir la integridad de las membranas de las raíces y con ello su selectividad. Bar y col. (1997), señalan la importancia del mantenimiento de altos niveles en el citoplasma de K^+ y bajos de Na^+ para la actividad de muchos enzimas.

Estudios realizados por Francois (1984) y Subbarao y col. (1990) demuestran que en diferentes cultivos hortícolas, los contenidos de K^+ en los tejidos de la planta

disminuyen con salinidad- Na^+ o cuando se incrementa la relación $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$. Maathuis y Amtmann (1999) señalan que la elevada concentración de Na^+ en el exterior puede reducir la entrada de K^+ debido a la competencia por los transportadores de membrana, reduciéndose así la selectividad K^+/Na^+ .

Casero (1995) indica que la absorción del calcio puede ser competitivamente disminuida por la presencia de otros cationes como amonio, potasio, magnesio, sodio, aluminio y los propios protones, que bien son absorbidos con mayor rapidez por la planta, u ocupan un sitio en los puntos de intercambio de la superficie radicular.

Trabajos realizados por Moya y col. (2000), aplicando tres sales de cloruro, CaCl_2 , NaCl y KCl en plantas de cítricos, señalan que las tres sales causan efectos nocivos en las plantas; sin embargo, aquellas que recibieron Ca^{2+} , crecieron mejor que las tratadas con Na^+ , mientras que las que recibieron K^+ lo hicieron mucho peor. Parece que en las células de la raíz de los cítricos, el flujo pasivo de cationes con alta permeabilidad (calcio y potasio), desarrolla, según el principio básico de neutralidad eléctrica, potenciales de difusión favorables a una gran absorción de cloruros provocando un aumento en las concentraciones de cloruro foliar. No obstante, un exceso de K^+ impide la correcta absorción de cationes, produciendo desequilibrios calcio-magnesio por deficiencia de calcio. En general, la adición de calcio no reduce significativamente los niveles de sodio ni potasio, pero sí los de magnesio; por el contrario, el Na^+ reduce la absorción de calcio, magnesio y potasio.

Según Carrasco (1991), los suelos sódicos por presentar generalmente un pH sobre 10, reducen la disponibilidad de algunos nutrientes como el hierro y manganeso, ya que tienden a precipitar como hidróxidos u óxidos insolubles.

Razeto (1995) menciona como otro efecto indirecto de la salinidad, la interferencia que ejercen algunas sales como el carbonato y bicarbonato sobre la absorción y traslocación de hierro, y la insolubilización del fósforo junto con el hierro y manganeso que ocurre a pH alcalinos.

1.6.3. Relaciones hídricas

La disponibilidad de agua en los tejidos vegetales tiene dos vertientes diferentes, ambas englobadas bajo la denominación de relaciones hídricas de las plantas. Por una

parte, está la concentración de agua en los tejidos (masa, volumen de agua respecto a masa ó volumen total del tejido). Por otra parte, está la energía asociada a esa agua ó estado hídrico.

Uno de los efectos más evidentes del estrés salino es la reducción del potencial osmótico de la solución del suelo y, consecuentemente, el potencial hídrico del suelo, lo cual se traduce en una reducción en la capacidad de absorción de agua por las plantas, manifestándose en las mismas síntomas similares a los efectos del estrés hídrico: reducción de expansión foliar y pérdida de turgencia.

Esta situación genera señales químicas (aumento del Ca^{2+} libre intracelular, síntesis de ABA, etc.) que desencadenan posteriores respuestas adaptativas (Hasegawa y col., 2000). Así, una célula vegetal expuesta a un medio salino equilibra su potencial hídrico perdiendo agua, lo que produce la disminución del potencial osmótico y del de turgencia. De este modo, cuando la planta consigue mantener el potencial de presión de turgor, se dice que ha realizado un ajuste osmótico. Mantener la presión de turgor es necesario para el crecimiento celular, la apertura de estomas, fotosíntesis, etc. (Flowers y col., 1977; Greenway y Munns, 1980).

El proceso de ajuste osmótico se produce mediante la acumulación de solutos orgánicos e inorgánicos que reducen el potencial osmótico celular (Wyn Jones y Gorham, 1983), y a través de la reducción en la conductividad hidráulica de las membranas, posiblemente por disminución del número o apertura de los canales de agua (acuaporinas) (Carvajal y col., 1999). Los cambios macroscópicos que se observan bajo condiciones de salinidad, como reducción del área foliar y de la relación parte aérea/raíz, entre otros, también reflejan el ajuste necesario para recuperar el balance hídrico. También se observa frente al estrés salino un aumento en la succulencia de las hojas (Ashraf, 1993; Reimann y Breckle, 1995; Leidi y Saiz, 1997), adaptación desarrollada aparentemente más para la reducción de la pérdida de agua que para el mantenimiento de la actividad fotosintética (Fischer y Turner, 1978; Longstreth y Nobel, 1979).

Por otro lado, las concentraciones elevadas de iones puede provocar la inactivación de los enzimas del citoplasma, por lo que son compartimentados en las vacuolas. Para evitar que éstas absorban el agua del citoplasma por ósmosis, la célula

sintetiza una serie de solutos sin carga que se denominan osmóticos compatibles. Se consideran solutos compatibles porque no inhiben el metabolismo celular mientras que generan el potencial osmótico requerido para permitir la absorción de agua en condiciones de menor potencial hídrico. En algunos casos tienen más función protectora y/o estabilizante de membranas y enzimas que principalmente osmótica (Hasegawa y col., 2000, Munns y col., 2006). Entre los metabolitos más frecuentes se indican ácidos orgánicos (Luttge y col., 1975), glicinabetaína (Leigh y col., 1981), aminoácidos, tales como la prolina (Ahmad, 1978; Syvertsen, 1984; Syvertsen y Smith, 1984; Dunn y col., 1998; Ashraf y Foolad, 2007; Anjum, 2008) y azúcares (Maloh y col., 1988).

Diversos autores (Walker y col., 1993; Ruiz, 1996), señalan a los iones inorgánicos como los principales responsables del ajuste osmótico, ya que contribuyen con alrededor de las $\frac{3}{4}$ partes del total de solutos osmóticos contenidos en las hojas de los cítricos. En este sentido, se acepta al K^+ como uno de los principales solutos empleados para el ajuste osmótico (Greenway y Munns, 1980; Wyn Jones y Gorham, 1983).

Finalmente, el efecto de la salinidad sobre las relaciones hídricas en los cítricos ha sido también estudiado, entre otros, en patrones como naranjo amargo (Zekri y Parsons, 1990a), naranjo dulce (Bañuls y Primo-Millo, 1992) y en injertos de naranjo y pomelo (Lloyd y col., 1987a, 1987b, 1990) naranjo, lima y tangelo (Behboudian y col., 1986) y en limonero (Nieves y col., 1991b).

1.6.4. Fotosíntesis

Varios estudios realizados con cítricos cultivados en condiciones de campo, en invernadero ó en cámaras de cultivo, muestran que la velocidad de asimilación de CO_2 y la conductancia estomática disminuyen con la presencia de NaCl en la zona radicular (Walker y col., 1982, 1983; Behboudian y col., 1986; Syvertsen y col. 1988; Lloyd y col. 1987a, 1987b, 1989, 1990; Bañuls y Primo-Millo, 1992, 1995; García-Legaz y col., 1993; Bañuls y col., 1997; García-Sánchez y Syvertsen, 2006; Gimeno y col., 2009).

Los factores responsables de los efectos de la salinidad sobre la fotosíntesis son complejos ya que la respuesta de la planta varía con la época del año, con la edad del árbol y de la hoja y con las diferentes condiciones ambientales (Syvertsen y col., 1988),

si bien los mecanismos por los que la salinidad afecta a la fotosíntesis pueden considerarse como resultado de los siguientes factores:

- *Deshidratación de las membranas celulares*, reduciéndose su permeabilidad a la difusión de CO_2 . Las concentraciones altas de sales en el suelo y en el agua crean un incremento elevado de la presión osmótica del suelo, reduciéndose la disponibilidad de agua para las plantas. El descenso en el potencial hídrico causa un estrés osmótico, lo cual inactiva de forma reversible el transporte fotosintético de electrones. En este sentido, Bañuls y Primo-Millo (1995) encontraron una correlación significativa entre la conductancia estomática y el potencial hídrico foliar en árboles de cítricos sometidos a estrés salino. Sin embargo, el potencial hídrico foliar tomado al medio día (Ψ_{md}) no es un parámetro tan válido para valorar el estado hídrico de las plantas como el potencial hídrico foliar medido al amanecer (Ψ_{pd}). Paranychianakis y col. (2004) encontraron en ensayos realizados en viñedos, un efecto significativo de la salinidad sobre Ψ_{pd} y una ausencia de efecto sobre Ψ_{md} .
- *Reducción del suministro de CO_2* como consecuencia del cierre estomático. La reducción en la conductancia estomática tiene como consecuencia una disponibilidad limitada de CO_2 para las reacciones de carboxilación. Iyengar y Reddy (1996) encontraron que el cierre estomático minimiza la pérdida de agua por transpiración, lo que afecta a los sistemas cloroplásticos de captación de luz y conversión energética. La causa del cierre estomático cabría buscarla en la biosíntesis de ácido abscísico y su transferencia a la parte aérea de la planta, así como a la acumulación de carbohidratos, K^+ , Ca^{2+} y Cl^- en las células guarda, las cuales están implicadas en el cierre estomático (Robinson y col., 1997).
- *Toxicidad causada por los iones salinos Cl^- y Na^+* . La relación causa-efecto entre reducción de la tasa de asimilación de CO_2 y altas concentraciones de Cl^- y/o Na^+ en hojas no ha sido establecida, aunque algunos estudios han encontrado una alta correlación entre la reducción de la tasa de asimilación de CO_2 y concentraciones de Cl^- (Walker y col., 1982, 1993; Lloyd y col., 1989, Bañuls y Primo Millo, 1992; García-Legaz y col., 1993; Syvertsen y Lloyd, 1994; Storey y Walker, 1999; García-Sánchez y col., 2002b; Gimeno y col., 2009). Otros estudios han encontrado una correlación negativa entre la tasa de asimilación de

CO₂ y la concentración foliar de Na⁺ (Behboudian y col., 1986; Lloyd y col., 1990; García-Legaz y col., 1993; Walker y col., 1993). Sin embargo, otros autores no han encontrado una relación directa entre la acumulación de iones Cl⁻ o Na⁺ en las hojas y la reducción de la tasa de asimilación de CO₂ (Bañuls y Primo-Millo, 1995; Bañuls y col., 1997). En este sentido, Romero-Aranda y Syvertsen (1996) encontraron que altas concentraciones foliares de Cl⁻, conseguidas mediante pulverizaciones foliares con disoluciones salinas, no causaron ningún efecto en la tasa de asimilación de CO₂, aunque estas mismas concentraciones foliares causaron una disminución en otros estudios anteriores (Lloyd y col., 1987a, 1987b; García-Legaz y col., 1993). Walker y col. (1982) demostraron que plantas de Etrog citrón recuperaban su valor normal de la tasa de asimilación de CO₂ cuando pasaban de concentraciones superiores a 300 mM de NaCl a condiciones normales. Estos trabajos ponen de manifiesto que la ausencia de un estrés osmótico en el medio donde se desarrolla la raíz puede ser un factor importante para que la tasa de asimilación de CO₂ no disminuya. Sin embargo, Bañuls y Primo Millo (1992) y Bañuls y col. (1997) mostraron que concentraciones superiores a 400 mM de Na⁺ en hojas, utilizando NaNO₃ en la disolución salina, no tuvieron ningún efecto sobre la tasa de asimilación de CO₂ y la conductancia estomática de plantas de naranjo dulce. Resultados similares han sido obtenidos en árboles de naranjo Valencia regados con aguas cuya concentración de Cl⁻ fue de 20 mM, en este caso, tampoco se produjo una reducción de la tasa de asimilación de CO₂ a pesar de una concentración foliar de Cl⁻ de 197-231 mM (Syvertsen y col., 1988).

Es posible que estas respuestas tan contradictorias mostradas por las diferentes combinaciones patrón-injerto, diferente edad y tamaño de los árboles y diferentes tratamientos salinos puedan ser explicadas por las diferencias en las concentraciones de los iones Cl⁻ y/o Na⁺ en las hojas y, por consiguiente, en los mecanismos para equilibrar y compartimentar de forma eficaz estos iones y así mantener los procesos fisiológicos. Lloyd y col. (1989) observaron mayor velocidad del flujo de iones Cl⁻ hacia las hojas de limonero Prior Lisbon que hacia las hojas de naranjo Valencia, lo que sugirió que tal diferencia en los flujos iónicos pudiera ser un factor crucial que permitiera explicar las diferentes

respuestas fisiológicas de las hojas de naranjo y limonero a la salinización del sistema radicular.

- *Deficiencia de K^+* . El papel del K^+ en la fotosíntesis es complejo. La activación de enzimas por el K^+ (Gething, 1994) y su participación en la producción de adenosín trifosfato (ATP) es, con toda probabilidad, de más importancia en la regulación de la tasa de fotosíntesis que su papel en la actividad estomática. El ATP se utiliza como fuente de energía para otras muchas reacciones químicas.

Cuando las plantas son deficientes en potasio, el nivel de fotosíntesis y de producción de ATP se ven reducidos y todos los procesos dependientes del ATP se ralentizan. Por el contrario, la respiración de la planta aumenta lo que también contribuye a disminuir el crecimiento y el desarrollo.

Otras causas del bajo rendimiento fotosintético debido a la salinidad han sido identificadas por Iyengar y Reddy (1996), y pueden resumirse así:

- Senescencia acelerada en tejidos.
- Cambios en la actividad enzimática inducidos por alteraciones de la estructura citoplasmática. La salinidad puede provocar cambios en la composición iónica del citoplasma y cloroplastos (Harvey y col., 1981), lo cual puede afectar al funcionamiento de la maquinaria fotosintética (Robinson y Downton, 1984, 1985).
- Retroalimentación negativa a causa de la reducción del efecto “sumidero”.

1.6.5. Fluorescencia

El proceso fotosintético se inicia cuando la luz es absorbida por los pigmentos fotosintéticos (básicamente clorofila *a*, *b* y carotenoides) de los complejos antena de la membrana fotosintética. Parte de la energía absorbida es transferida como energía de excitación y atrapada por el centro de reacción, en donde es utilizada para hacer trabajo químicamente útil, y la otra parte es disipada principalmente como calor y en menor grado re-emitida como energía luminosa de menor energía (fluorescencia). Esta distribución de la energía en los tres procesos ocurre simultáneamente, de tal forma que el incremento en la eficiencia de uno de ellos, resultará en la disminución de los otros

dos. Por lo tanto, a través de la medición del rendimiento de la fluorescencia de la clorofila se puede obtener información de la eficiencia fotoquímica y la disipación térmica de la energía absorbida (Maxwell y Johnson, 2000) y así evaluar las limitaciones a la fotosíntesis de origen no estomático (Werner y col., 2001).

El estudio de la fluorescencia de la clorofila (*Chl a*) se ha convertido, por tanto, en un método rápido y no destructivo para el estudio de los efectos de un factor estresante sobre el funcionamiento del sistema fotosintético (Krause y Weis, 1988; Horton y col., 1994; Strasser y Strasser, 1995).

Esta técnica se basa en inducir la emisión de fluorescencia de la clorofila (*Chl a*) en plantas adaptadas a la oscuridad e iluminadas. Esta fluorescencia depende del estado de reducción de los aceptores primarios de electrones del *FS II*. La emisión de fluorescencia presenta una curva característica, cuyos parámetros son utilizados en la interpretación del rendimiento cuántico del *FS II* (Krause y Weis, 1984, 1988; Strasser y Strasser, 1995). Así, el cociente fluorescencia variable/fluorescencia máxima (F_v/F_m) proporciona una medida de la eficiencia fotoquímica máxima del *FS II* (Butler, 1978), siendo este parámetro usado ampliamente para detectar perturbaciones inducidas en el aparato fotosintético por cualquier tipo de estrés (Strasser y col., 2000), ya que un descenso de la relación F_v/F_m se ha relacionado con una caída del rendimiento cuántico óptimo de la fotosíntesis, mientras que la recuperación de este estado se asocia con un restablecimiento de F_v/F_m (Adams y col., 1990).

El uso de la fluorescencia de clorofila (*Chl a*) en ensayos realizados con salinidad ha sido catalogado por diversos autores como un parámetro útil que se comporta como un indicador temprano del estrés salino (Smillie y Nott, 1982; Bongi y Loreto, 1989; Mishra y col., 2001), ya que el análisis de las características de la fluorescencia, tales como el rendimiento cuántico y la curva de inducción de fluorescencia de la *Chl a* del *FSII* (curva de Kautsky) reflejan las propiedades de la molécula de clorofila y su comportamiento. No obstante, otros autores tales como Larcher y col. (1990), Brugnoli y Lauteri (1991), Mishra y col. (1991), Jiménez y col. (1997) y García-Sánchez y Syvertsen (2006) indican ausencia de respuesta de la relación F_v/F_m al tratamiento con NaCl.

Típicamente, el índice F_v/F_m se halla entre 0.70 y 0.85 en plantas sanas bien hidratadas (Butler y Kitajima, 1975; Björman y Demmig, 1987). Cualquier proceso de estrés como altas o bajas temperaturas, sequía, salinidad o exceso de luz puede reflejarse en una disminución de F_v/F_m (Öquist, 1987). Sin embargo, la disminución de la eficiencia fotoquímica y por tanto del índice F_v/F_m puede deberse a dos procesos distintos, entre los que a menudo es difícil distinguir: fotoprotección y fotoinactivación.

La *fotoprotección*, que tendría un papel de protección ante el exceso de luminosidad, es definida por Osmond y col. (1999) como una caída (dependiente de la luz y de carácter en general rápidamente reversible) en la eficiencia en los procesos fotoquímicos, indicada por una disminución en la relación F_v/F_m , acompañado de una caída de la señal de fluorescencia en la oscuridad F_0 .

La *fotoinactivación*, por otra parte, se refiere a un fenómeno dependiente de la luz en los procesos fotoquímicos primarios, que es lentamente reversible, a menudo acompañado por un aumento de F_0 y correlacionado con una disminución en la población de centros de reacción del *FS II* funcionales. El incremento de F_0 evidencia un aumento en la fluorescencia de la antena cuando el centro de reacción es inactivado durante la exposición a excesiva radiación. Algunos autores consideran que la fotoinactivación puede representar una estrategia fotoprotectiva de aclimatación en situaciones de estrés (Anderson y col., 1997). De esta manera, el recambio de la proteína *DI* funcionaría como un 'fusible', evitando que el daño se extienda a todo el aparato fotosintético. Es decir, la inactivación de esta parte del transporte electrónico actúa como una válvula de seguridad para la totalidad de la cadena transportadora de electrones (Nilsen y Orcutt, 1996).

Aunque se ha propuesto más de un mecanismo para explicar la fotoinactivación (Leitsch y col., 1994), el mejor caracterizado es el daño a nivel de una de las proteínas del centro de reacción del *FS II*. La sobreexcitación del aparato fotosintético en condiciones de intensa radiación puede conducir a la pérdida de la función del centro de reacción del *FS II*, principalmente de un componente clave, la proteína *DI*. Esta proteína es altamente inestable (de vida media muy corta) siendo sometida a un continuo recambio a través de re-síntesis en los ribosomas cloroplásticos. La pérdida de función de los centros de reacción del *FS II* es un proceso inevitable luego que una

cierta cantidad de fotones es absorbida (Anderson y col., 1997). Sin embargo, se desconoce aún el mecanismo molecular del inicio de la fotoinactivación.

1.6.6. Transpiración

La transpiración, principal proceso en las relaciones hídricas de las plantas, es reducida por el estrés salino en muchas especies de plantas. Esta reducción se atribuye a una pérdida de capacidad de la raíz para transportar agua (Hagemeyer y Waisel, 1989), al incremento en la resistencia estomática y a los cambios anatómicos y morfológicos que sufren las hojas de las plantas que crecen bajo condiciones de salinidad (Flowers y Yeo, 1989).

La reducción en la turgencia induce el cierre de los estomas, con lo cual disminuye la posibilidad de transpiración como estrategia de defensa del vegetal, utilizada para evitar las consecuencias negativas que le acarrearía la plasmólisis, dado que la supervivencia del vegetal depende de mantener la turgencia, indispensable para el crecimiento y la expansión celular, así como la apertura estomática (Viswanathan y Zhu, 2003). Por otro lado, los efectos osmóticos sobre el vegetal están relacionados con la concentración total de sales presentes en la solución del suelo, independientemente de la especie cultivada. Al aumentar la concentración de sales en la solución del suelo disminuyen los potenciales osmótico e hídrico del sustrato, lo cual presenta serias limitaciones a las raíces para la toma de agua, por tanto, las plantas deben mantener un potencial hídrico más negativo que el del medio externo para asegurar la absorción de agua (Bárcenas-Abogado y col., 2002).

Con miras al ajuste osmótico eficaz en su interior, los vegetales toman los iones en mayor concentración en la solución del suelo (en condiciones salinas Na^+ y Cl^-), independientemente del grado de toxicidad, con el fin de reducir el potencial osmótico a un nivel inferior al del medio para lograr la entrada de agua, pero una vez han podido tomar el agua necesaria para la supervivencia, almacenan de nuevo estos iones en la vacuola, para evitar los efectos tóxicos (Gaxiola y col., 1999; Zhang y col., 1999; Shi y Zhu, 2002). Sin embargo, la toma excesiva de Na^+ induce una reducción de la relación K^+/Na^+ , en donde el K^+ se hace limitante, pues es un regulador del potencial osmótico para la toma de agua (Keller y Volkenburg, 1996; Clausen y col., 1997). En la toma de los iones mencionados la transpiración tiene un papel fundamental puesto que facilitaría tanto la toma como el transporte de iones. Sin embargo, la reducción en la tasa de

transpiración en las plantas expuestas a la salinidad puede ser el reflejo de un mecanismo de defensa del vegetal que le ayude a evitar la toma excesiva de iones tóxicos y la acumulación posterior en los tejidos aéreos sensibles (hojas y ápices). La reducción en la cantidad de agua evapotranspirada en plantas cultivadas se ha encontrado en cítricos por Yang y col. (2002). De igual manera, se conoce que patrones de cítricos tolerantes a la salinidad, como el mandarino Cleopatra, tienen menor velocidad de transpiración que patrones sensibles como el *Poncirus trifoliata* (Graham y Syvertsen, 1985; Syvertsen y Graham, 1985; Walker, 1986).

Se ha encontrado también que la salinidad reduce del flujo del agua por el xilema en especies leñosas (Ali-Dinar y col., 1999). Puesto que la transpiración es la fuerza impulsora del movimiento del agua en los vasos del xilema, la determinación del flujo del xilema es una herramienta útil para la evaluación del consumo total de agua en condiciones salinas, permitiendo investigar respuestas rápidas de árboles a las condiciones alteradas del suelo (Cermak y Kucera, 1993).

1.7. INFLUENCIA DE LA SALINIDAD SOBRE LA PRODUCCIÓN Y LA CALIDAD DE LOS FRUTOS

1.7.1. Efectos de la salinidad sobre la producción

La influencia de la salinidad sobre el peso medio de los frutos o el número de los mismos no sigue un patrón uniforme. Maas (1993), revisando diversos aspectos relacionados con la salinidad y la producción en cítricos, estableció que la reducción en la producción causada por las sales se debe principalmente a la disminución en el número de frutos y no a la disminución en el peso medio de los mismos. Francois y Clark (1980), en un ensayo de 10 años de duración con naranjo Valencia tampoco encontraron diferencias significativas en el peso medio de los frutos de los árboles que recibieron tratamientos salinos (15 mM y 30 mM NaCl) a pesar de que el número de frutos por árbol se redujo apreciablemente. Bielorai y col. (1988) sobre pomelo, García-Sánchez y col. (2002a) en limón Fino 49 obtuvieron los mismos resultados en este aspecto.

Por el contrario, Primo-Millo y col. (2000) valoraron en un 19 % y 15 % respectivamente la pérdida de peso medio por efecto del riego con aguas salinas en naranjo Navelina y mandarino Clemenules. Lo anterior concuerda con los resultados de

Morinaga y Sykes (2001) con mandarino Satsuma en los que la salinidad redujo el peso medio y el diámetro de los frutos y con los de García-Sánchez y col. (2003) en pomelo Star Ruby. También se observó una disminución del peso de los limones disminuye en la variedad Verna cuando se empleaban aguas salinas para el riego (Nieves y col., 1991b). Sin embargo, García-Sánchez y col. (2002a), no encontraron reducción significativa del peso del fruto con la salinidad cuando la variedad de limón Fino 49 estaba injertado sobre *Citrus macrophylla*. Por otro lado, Dasberg y col. (1991) constataron que la salinidad incrementó el peso medio de naranjas Shamouti en un ensayo plurianual.

En estudios sobre limón Verna sometido a riego salino, Nieves y col. (1990) observaron que el que el descenso en la producción venga determinado por un factor ó por otro dependía del patrón. Así, en limón Verna injertado sobre naranjo amargo y sobre mandarino Cleopatra el efecto que predominaba era la reducción en el peso individual de los frutos. Sin embargo, cuando el patrón era *Citrus macrophylla*, la producción fue afectada tanto por el número de frutos como por la reducción en el peso medio de los mismos.

Estudios realizados sobre la reducción de la producción por la salinidad sin acumulaciones excesivas de Na^+ ó Cl^- y sin síntomas aparentes de toxicidad indican que el efecto predominante es el osmótico (Bingham y col., 1974; Biorai y col., 1978, 1988; Levy y col., 1979; Cerdá y col. 1990; Dasberg y col., 1991). La acumulación en la parte aérea de los iones específicos depende de la capacidad de los patrones para restringir el transporte hacia la variedad.

La relación entre salinidad y productividad puede ser expresada como una función lineal negativa con salinidades por encima del umbral crítico. Maas y Hoffman (1977) establecieron que el valor crítico de C.E. en la zona de la raíz para naranjas era de $1.7 \text{ dS} \cdot \text{m}^{-1}$ y que cada $1.0 \text{ dS} \cdot \text{m}^{-1}$ adicional provocaría un descenso del rendimiento del 16 %. Shalveh y Levy (1990) sugirieron que este umbral crítico estaba en $1.3 \text{ dS} \cdot \text{m}^{-1}$ y que el rendimiento descendía un 13 % por cada $1.0 \text{ dS} \cdot \text{m}^{-1}$ adicional.

La reducción de la producción por la salinidad puede ser aumentada por factores medioambientales adversos. Así, Francois y Clark (1980) observaron que la reducción en la producción de naranjos Valencia en un experimento de 10 años de duración con

aguas salinas era mucho mayor que la estimada por Maas y Hoffman (1977), lo que fue debido a una mayor caída de frutos en primavera por un incremento rápido de la temperatura, llegando a alcanzar casi los 40 °C.

1.7.2. Efectos de la salinidad sobre la calidad del fruto

La salinidad produce alteraciones en el fruto, algunas de las cuales podrían asociarse a estados nutricionales deficitarios en algunos elementos como el nitrógeno y el potasio. Entre estas alteraciones pueden citarse el aumento de la concentración de azúcares en el zumo junto con el índice de madurez. Esto fue comprobado por Primo-Millo y col. (2000) que observaron como el riego con aguas salinas provocó en los frutos de naranjo Navelina y mandarina Clemenules una relativa disminución de la acidez total (TA), aumentando por otra parte, el total de sólidos solubles (TSS), y el índice de madurez (TSS/TA). Resultados similares fueron obtenidos por Morinaga y Sykes (2001) donde el riego de mandarinos Satsuma (*Citrus unshiu* Marc.) injertados sobre *Poncirus trifoliata* con soluciones 10 mM NaCl, disminuyó el diámetro de los frutos pero mejoró el contenido en sólidos totales (TSS) y el índice de madurez.

Cuando el incremento de los sólidos solubles debido a la salinidad va asociado al aumento de la acidez del fruto, puede ocurrir que el índice de madurez no se vea afectado. En este sentido, Dasberg y col. (1991) encontraron que la salinidad del agua de riego no afectó apreciablemente a la calidad de los frutos de naranjo Shamouti injertado sobre lima dulce con madera intermedia de naranjo amargo ya que tanto el valor de TSS como el contenido en sacarosa tendían a incrementarse, aunque, al producirse también un ligero incremento en la acidez de los frutos, el índice de madurez resultó similar en todos los tratamientos ensayados. Estos resultados también fueron encontrados por Metochis (1989) con pomelos Marsh Seedless injertados sobre naranjo amargo regados con aguas de elevados contenidos en sulfatos ($4.1 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$) que mostraron incrementos semejantes en el contenido de sólidos solubles y acidez total, por lo que el índice de madurez no resultó afectado.

En limón no está claro el efecto de la salinidad sobre la calidad del fruto. Nieves y col. (1991b) no observaron cambios debido a la salinidad lo suficientemente importantes como para afectar a la calidad para el mercado en fresco en frutos de limonero Verna injertados sobre naranjo amargo, mandarina Cleopatra y *Citrus macrophylla*. El contenido en sólidos solubles experimentó un ligero incremento, mayor

sobre *Citrus macrophylla* que sobre los otros dos patrones, mientras que la acidez total no mostró un comportamiento claro en ninguno de los 3 patrones ensayados. El espesor de la piel, sobre todo sobre naranjo amargo y mandarino Cleopatra, se redujo por efecto de la salinidad. Por otro lado, con la variedad de limonero Fino 49 sobre patrón de *Citrus macrophylla*, García-Sánchez y col. (2002a) obtuvieron resultados poco concordantes con los anteriores, pues tanto la acidez como el contenido en sólidos totales disminuyó con la salinidad, aunque la relación TSS/TA se mantuvo inalterada.

Otras alteraciones en el fruto inherentes a la salinidad son la reducción del tamaño, la disminución del espesor de corteza y del porcentaje de la misma, así como un aumento del porcentaje de zumo del fruto. Resultados concordantes fueron los obtenidos por Primo-Millo y col. (2000) y por Morinaga y Sykes (2001), sin embargo, García-Sánchez y col. (2003), estudiando la respuesta a la sal de pomelo Star Ruby sobre los patrones citrange Carrizo y mandarino Cleopatra, encontraron que los frutos sobre Cleopatra presentaban similares porcentajes de zumo, pulpa y corteza tanto en el tratamiento control como en el salino. Sin embargo, en frutos sobre citrange Carrizo, el tratamiento salino incrementó los porcentajes de pulpa y corteza y disminuyó el porcentaje de zumo con respecto a los frutos de control.

1.8. INFLUENCIA DE LA NUTRICIÓN NITROGENADA EN LOS CÍTRICOS

1.8.1. Efecto sobre la producción

La influencia del nitrógeno en la producción de los cítricos es bastante mayor que la de cualquier otro nutriente, de ahí que se aplique ampliamente a las áreas citrícolas de todo el mundo para mantener las producciones. Muchos agricultores aplican los fertilizantes nitrogenados de modo incorrecto, con el consiguiente riesgo de producir efectos perjudiciales en la calidad de los frutos y contaminación en las aguas (Pomares y col. 1993), de donde se deriva la importancia de una correcta aplicación de los abonos nitrogenados para aumentar su eficiencia y reducir la contaminación.

Se han realizado numerosos estudios sobre los niveles de fertilización nitrogenada y su efecto en la producción y calidad de los cítricos, recomendándose aplicar de 100 a 260 kg de N por hectárea y año (Koo y col., 1984).

Se ha encontrado en cítricos una relación cuadrática entre la cantidad de nitrógeno aplicado y el comportamiento productivo de los árboles (Obreza y Rouse, 1993; Schumann y col., 2003, Alva y col., 2006; Hammami y col., 2009). Hammami y col. (2009), en ensayos realizados con árboles de mandarino Clementina señalaron un óptimo productivo con tasas de nitrógeno comprendidas entre 160 y 232 kg de N por hectárea y año, disminuyendo la producción cuando se superaban estos valores.

Sin embargo, Dasberg (1987) utilizando datos de diferentes países señaló que no es frecuente obtener respuestas en producción cuando se aplican en el cultivo de los cítricos, niveles superiores a 200 kg de N por hectárea y año. También se han encontrado respuestas positivas a dosis de 300 kg de N por hectárea y año utilizando riego localizado (Legaz y col., 1981; Dasberg y col., 1983).

Primo-Millo y col. (2000) también encontraron que el peso de la cosecha y el número de frutos producidos por árbol aumentaba con el nivel de nitrógeno aplicado, pero recomiendan valorar las aportaciones en forma de NO_3^- del agua de riego así como el procedente de procesos de nitrificación y de las precipitaciones, con objeto de minimizar el impacto ecológico del abonado nitrogenado. En todo caso, niveles foliares de nitrógeno superiores a 2.5 % resultan contraproducentes.

1.8.2. Efecto sobre la calidad de los frutos

La fertilización nitrogenada juega un papel importante no solo en la producción de los cítricos, sino también en su calidad (Futch y Alva, 1994). Así, aunque en Japón llegan a recomendarse hasta 800 Kg de N por hectárea y año para obtener la máxima producción de mandarino Satsuma, no es frecuente sobrepasar los 300 Kg por hectárea y año si se desea obtener frutos de buena calidad (Iwakiri y Nakahara, 1981).

Cuando se aumenta la aplicación de N disminuye el peso de los frutos como consecuencia del aumento de la producción y el número de frutos (Koo y Reese, 1977; Hernández, 1981; Legaz y col., 1981; Primo-Millo y col., 2000). He y col. (2003) obtuvieron una relación cuadrática entre la fertilización nitrogenada y el peso de los frutos de pomelo Marsh, con un máximo para 100 Kg de N por hectárea y año.

El espesor de corteza aumenta con las aplicaciones de nitrógeno, adquiriendo el fruto un aspecto más rugoso (Hernández, 1981; Primo-Millo y col., 2000) y con una

entrada en color más tardía. Embleton y col. (1973) establecieron que el espesor de la piel aumenta hasta que se alcanzan niveles foliares de nitrógeno del 2.6 %. A partir del mismo, el incremento en el espesor de la piel es muy reducido. El contenido en zumo disminuye con el abonado nitrogenado (Pomares y col., 1993; Primo-Millo y col., 2000), incrementándose, por el contrario, la proporción de pulpa (Primo-Millo y col., 2000).

La acidez aumenta con el nitrógeno, y lo mismo ocurre con los sólidos solubles, sin embargo la relación entre los sólidos solubles y la acidez disminuye, consecuencia del mayor incremento relativo de la acidez con el nitrógeno (He y col., 2003). Estos autores encontraron una relación lineal con pendiente negativa entre el índice de madurez y el nitrógeno aplicado, si bien el coeficiente de correlación no fue muy alto: $r = -0,7$.

Por todo lo anterior, parece claro que el abonado nitrogenado en exceso, hace disminuir la calidad interna y externa de los frutos.

1.8.3. Interacción de la nutrición nitrogenada y la salinidad

En los cítricos, el estrés salino disminuye la actividad fotosintética, la transpiración, conductancia estomática y la conductividad hidráulica de las raíces, todo lo cual da como resultado la reducción del crecimiento (Romero-Aranda y col., 1998). Cuando la producción de fotoasimilados por los cítricos se convierte bajo condiciones salinas, en un factor limitante, se hace patente un amplio abanico de deficiencias nutricionales (Alva y Syvertsen, 1991). La abscisión de hojas producida por el estrés salino contribuye, igualmente, a la reducción del crecimiento (Gómez-Cadenas y col., 1998).

Es bien conocido que la composición mineral del suelo modifica la respuesta de los cítricos a la salinidad (Romero-Aranda y col., 1998). Los nitratos y otros compuestos nitrogenados como la urea ó las sales amónicas tienen un efecto, marcadamente beneficioso en el crecimiento de distintas especies leñosas sometidas a estrés salino, incluidos los cítricos (Romero-Aranda y Syvertsen, 1996), habiéndose sugerido que los nitratos atenúan el efecto negativo de las sales reduciendo la absorción de cloruros (Romero-Aranda y Syvertsen, 1996; Tyerman y Skerrett, 1998; Cerezo y col., 1999; Kafkafi y col., 2001; Gimeno y col., 2009).

El papel fisiológico que juegan los nitratos para reducir el efecto negativo de las sales en los cítricos permanece sometido a discusión (Iglesias y col., 2004). Parece ser que incluye dos mecanismos: un efecto “dilución” de los cloruros como resultado de un mayor crecimiento de las plantas, y un antagonismo de los iones nitrato en la absorción de los iones cloruro. Iglesias y col. (2004) encontraron que en plantas salinizadas de naranjo Navelina sobre citrange Carrizo, *Citrus macrophylla* y mandarino Cleopatra, la aplicación de una cantidad suplementaria de nitratos redujo la abscisión de hojas, aumentó el contenido de clorofila fotosintética y aumentó el crecimiento de hojas maduras. Se redujo la concentración de cloruro en las raíces de los árboles injertados sobre citrange Carrizo y *Citrus macrophylla* suplementados con nitrógeno, los cuales tenían, por otra parte, mayor nivel foliar de cloruro en las hojas jóvenes, lo que sugiere que el aumento en el crecimiento de plantas salinizadas suplementadas con nitratos reduce la concentración de cloruro en las raíces por medio de su transporte a las hojas jóvenes.

Cerezo y col. (1997) estudiaron la cinética de absorción de nitratos en citrange Troyer y mandarino Cleopatra mostrando que como en otras plantas superiores, responde a un modelo bifásico relacionado con la concentración externa de NO_3^- . Este proceso es llevado a cabo, probablemente por dos sistemas diferentes de transportadores, los cuales están afectados por los iones cloruro de distinta forma. Por un lado existe un sistema saturable de alta afinidad (HATS) a bajas concentraciones de nitratos que muestra la típica curva Michaelis-Menten hasta concentraciones de 1 mM NO_3^- , con valores para K_m de 280 μM , tanto para uno como otro patrón. Este sistema de alta afinidad resulta inhibido competitivamente por los iones Cl^- . Un sistema lineal de baja afinidad (LATS) opera con concentraciones externas de NO_3^- de 1 a 10 mM, habiéndose observado que no resulta inhibido por concentraciones elevadas de Cl^- en el medio. Sin embargo, los pretratamientos con cloruros reducen de forma notable la absorción de nitratos, es decir, el LATS parece ser inhibido por la concentración interna de Cl^- en las células radicales. En ambos casos, el citrange Troyer es más sensible a la reducción de la absorción de nitratos causada por el Cl^- que el mandarino Cleopatra.

En todo caso, la disminución de la concentración nitrógeno en los tejidos de la planta producida por la absorción del ión cloruro provoca efectos asociados a la deficiencia en este elemento: reducción del crecimiento, de la producción, etc. (Primo-

Millo y col., 2000), por lo que cabe esperar que la fertilización con una cantidad adicional de nitrógeno mejore los aspectos empeorados por la salinidad (Dasberg y col., 1991).



2. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO

2.1. OBJETIVOS

Las zonas citrícolas tienen un clima semiárido donde las lluvias son escasas, y nos encontramos con un problema creciente y muy marcado en nuestra geografía, la escasez de recursos hídricos. Esto unido a la situación especialmente deficitaria en la Región de Murcia motiva en ocasiones el empleo de agua de pobre/mala calidad en el cultivo de los cítricos. La utilización de aguas o terrenos salinizados para el cultivo produce pobres rendimientos e incluso, en condiciones extremas, impide la utilización agrícola de amplias zonas que se convierten en improductivas, afectando gravemente a la economía agrícola.

La sensibilidad de los cítricos a la salinidad varía de unas especies a otras y su grado de tolerancia depende en gran medida de la combinación injerto-patrón. Los principales mecanismos de tolerancia están relacionados con la capacidad del patrón para restringir o limitar la absorción y/o transporte de los iones salinos al injerto.

Dada la importancia del patrón, la principal finalidad de este trabajo es:

- a) Determinar cuál es el patrón más adecuado en la zona del campo de Cartagena, con una importante problemática de salinidad.
- b) Evaluar la posibilidad de reducir ó eliminar el efecto negativo con un aporte extra de nitrógeno aplicado a través de la solución de riego, con el objetivo de que los resultados derivados del estudio sean una aportación más al conocimiento de la interacción entre la salinidad y la fertilización nitrogenada.

Los patrones elegidos para desarrollar este trabajo son mandarino Cleopatra y citrange Carrizo, que han sustituido a naranjo amargo debido a su alta sensibilidad a la tristeza.

Con el fin de responder a los objetivos comentados se plantearon 2 experimentos:

- a) **Experimento en invernadero:** El experimento en invernadero se llevó a cabo para:

- Establecer las diferencias en los procesos de absorción, transporte y acumulación de los iones salinos entre los patrones, así como la influencia de la variedad de naranjo Navel Lane late en estos procesos.
 - Estudiar el comportamiento fisiológico de plantones de citrange Carrizo, mandarina Cleopatra y sus combinaciones con naranjo cv. Navel Lane late a diferentes niveles salinos y tiempos de exposición.
- b) **Experimento en campo:** El experimento en campo se llevó a cabo para:
- Establecer las diferencias en los procesos de acumulación de los iones salinos entre los patrones, así como la efectividad de la fertilización nitrogenada suplementaria para reducir la absorción de iones salinos por la raíz en ambos patrones.
 - Estudiar el comportamiento fisiológico de las combinaciones citrange Carrizo/Lane late y mandarina Cleopatra/Lane late en condiciones de salinidad moderada (30 mM NaCl) o con un aporte extra de nitrógeno.
 - Evaluar la influencia del patrón empleado, la salinidad y de dosis elevadas de nitrógeno sobre el rendimiento productivo y la calidad externa e interna de los frutos de Lane late, atendiendo a los diferentes patrones estudiados.
 - Averiguar la eficacia de la adición de dosis altas de nitrógeno a la solución salina en la paliación de los efectos negativos de la salinidad y así contribuir a dilucidar la conveniencia de estos niveles de N aplicados sobre ambos patrones en las condiciones edafoclimáticas del campo de Cartagena.

2.2. PLAN DE TRABAJO

Con el fin de poder responder a los objetivos anteriormente comentados se plantearon los experimentos que a continuación se detallan:

1. Experimento en invernadero: El ensayo en invernadero consistió en someter plantas de dieciocho meses de edad de citrange Carrizo, mandarina Cleopatra y sus combinaciones con naranjo Navel Lane late a cuatro tratamientos, un control y tres tratamientos salinos que consistieron en la adición de 20, 40 y 60 mM de NaCl respectivamente a la disolución control. El experimento se inició el 1 de

Octubre de 2003 y acabó el 24 de noviembre de 2003, realizándose a lo largo de los 55 días que duró el ensayo 5 muestreos de material vegetal. En cada uno de estos muestreos se determinaron los parámetros de relaciones hídricas, intercambio gaseoso *in vivo* e *in situ*, al mismo tiempo que se muestreaba una planta por tratamiento y combinación, determinándose la concentración mineral tanto en hojas, como en raíces y tallos.

2. Experimento en campo: Para evaluar la respuesta de la variedad de naranjo Lane late injertada sobre los patrones citrange Carrizo y mandarino Cleopatra desde el punto de vista fisiológico, de desarrollo vegetativo y productivo a la fertilización nitrogenada adicional, al riego salino moderado y a una solución salina enriquecida con nitrógeno, se planteó un sistema bifactorial, con dos niveles salinos (0 mM y 30 mM de NaCl) y dos niveles de nitrógeno (100% y 140% fertilización N) en tres bloques al azar con 3 árboles por bloque. A lo largo de los tres años que duró el ensayo (2004-2006) se estudiaron puntualmente diversos aspectos, tales como las relaciones suelo-planta-atmósfera, desarrollo vegetativo, calidad y producción. Al mismo tiempo se estudió el efecto de los distintos tratamientos aplicados sobre el estado nutricional de la planta.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. EXPERIMENTO EN INVERNADERO

Durante el periodo comprendido entre el 10 de octubre de 2003 al 25 de noviembre de 2003 se realizó un ensayo de salinidad en invernadero con plantas de dos patrones de cítricos, de 18 meses de edad, de mandarina Cleopatra y de citrange Carrizo, así como con sus combinaciones con la variedad Lane late.

3.1.1. Ubicación y condiciones del invernadero

El experimento se desarrolló en un invernadero situado en el Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (Murcia) (Fotografía 3.1). El invernadero tiene una estructura de acero y el material de la cubierta es de policarbonato. Posee un sistema de refrigeración por hidro-Cooling y sistema cenital de apertura de techo. La temperatura máxima osciló entre 28 y 32 °C y la mínima entre 10 y 12 °C. La humedad relativa media fue de 63 %. El DPV atmosférico descendió por la noche alcanzando valores cercanos a cero y por el día se mantuvo entre 2 y 4 kPa.



Fotografía 3.1. Interior del invernadero del I.M.I.D.A. donde se realizó el experimento.

3.1.2. Material vegetal

En el experimento se utilizaron dos tipos de patrones diferentes, Carrizo (*Citrus sinensis* Osb. × *Poncirus trifoliata* (L.) Raf.) y Cleopatra (*Citrus reticulata* Blanco) y la variedad de naranja Lane late (*Citrus sinensis* (L.) Osb), obteniéndose así cuatro combinaciones de plantas (Carrizo, Cleopatra, Lane late/Carrizo y Lane late/ Cleopatra).

El material vegetal utilizado en el ensayo tenía una edad de 18 meses y se adquirió en viveros autorizados de cítricos. Las plantas procedentes del vivero se transplantaron en macetas de 3 litros con arena de filtro silícea.

3.1.3. Labores de cultivo

Para el control de plagas, se pulverizaron con abamectina al 0.1 % con el fin de controlar el minador (*Phyllocnistis citrella*), con bromopropilato 0.2 % y tetradifon + dicofol 0.2 %, alternando el producto en cada tratamiento, para el control del ácaro rojo (*Panonychus citri*) y con butocarboxim 0.1 % para el control del pulgón (*Aphis* sp.).

3.1.4. Sistema de riego y solución nutritiva

Se regó manualmente, 3 veces por semana empleando 500 mL de solución nutritiva (Tabla 3.1).

Dicha solución se preparó con los siguientes abonos: NH_4NO_3 , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, mientras que los micronutrientes se añadieron mediante el abono complejo Nutromix 10, Biagro ($0,03 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$). El agua utilizada fue el agua potable consumida en la zona. El pH de la solución fue medido mediante un pH-metro (Equipo multiparamétrico de pH y CE Cyberscan PC 510 XS-meter 507) y se mantuvo en el intervalo 6,0-6,5 empleando para ello ácido sulfúrico 1 M. La CE inicial de la solución fue medida mediante un conductivímetro (Equipo multiparamétrico de pH y CE Cyberscan PC 510 XS-meter 507) siendo de $1,2 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$.

3.1.5. Diseño experimental

Se establecieron cuatro tratamientos: un tratamiento control que consistió en el riego con la disolución nutritiva de la tabla 3.1 (S1) y tres tratamientos salinos que consistieron en la adición de 20, 40 y 60 mM NaCl respectivamente a la disolución control (S2, S3, S4 respectivamente). Los tratamientos se iniciaron tras tres meses de adaptación de las plantas a las nuevas condiciones. Para evitar el shock osmótico, los niveles salinos se adicionaron por incrementos sucesivos de 20 mM NaCl cada 3 días hasta conseguir la concentración adecuada.

Los tratamientos fueron distribuidos en 16 mesas, realizando 4 bloques completamente al azar. En cada bloque se repitieron todos los tratamientos y combinaciones (Figura 3.1).

Tabla 3.1. *Composición de la solución nutritiva empleada.*

Macronutrientes (g·L ⁻¹)					
N	P	K	Ca	Mg	
0.22	0.063	0.13	0.24	0.052	
Micronutrientes (mg·L ⁻¹)					
Zn	Mn	Fe	Cu	Mo	B
0.096	0.051	2.35	0.041	0.0079	0.067

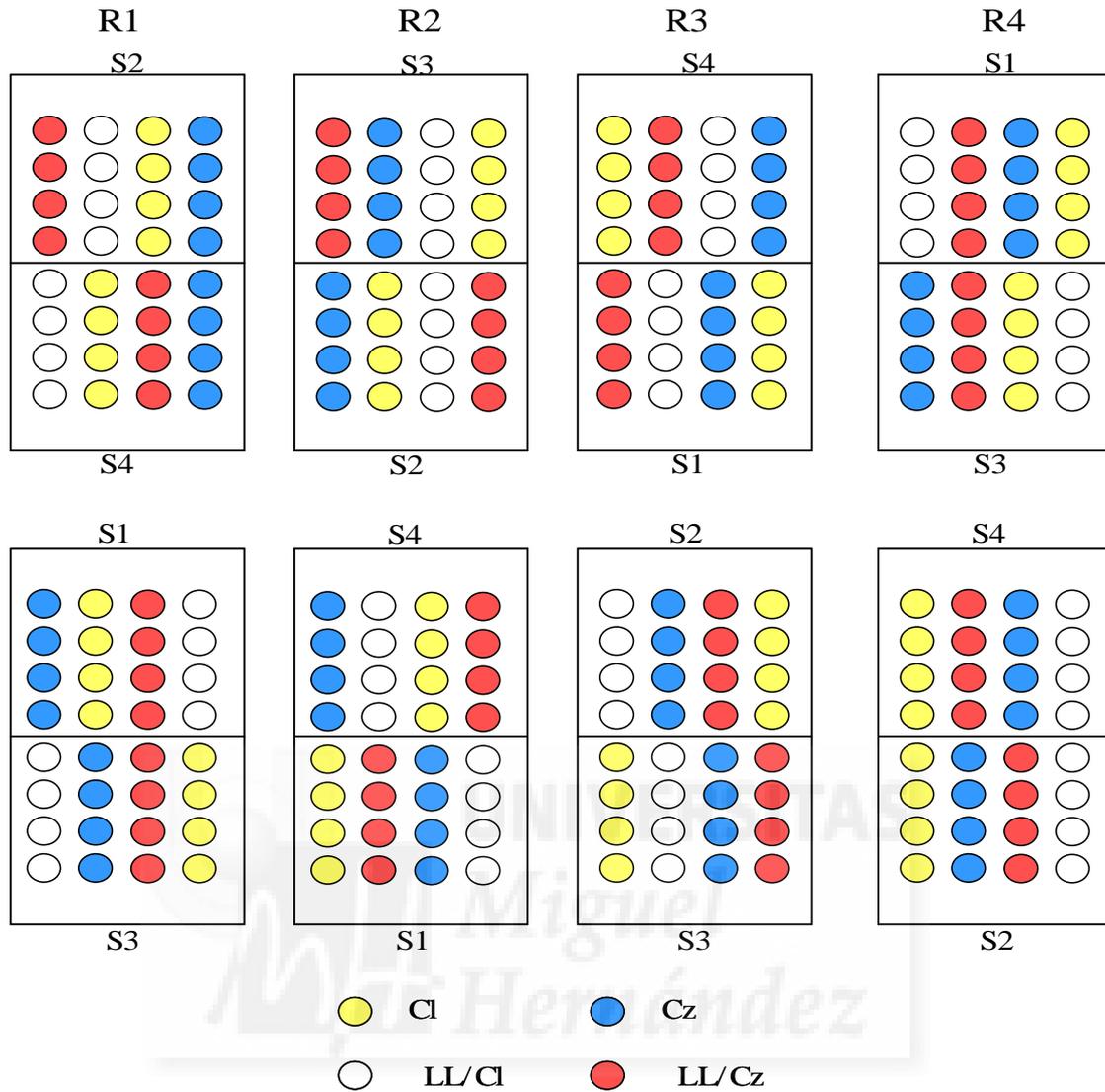


Figura 3.1. Distribución de las diferentes combinaciones y tratamientos con sus respectivas repeticiones (Rx) en el invernadero.

El diseño experimental fue bifactorial, con dos factores cualitativos salinidad y combinación, con 20 plantas por tratamiento:

1. Salinidad: 4 tratamientos (S1 (control), S2, S3 y S4).
2. Combinación: 4 combinaciones (Carrizo, Cleopatra, Lane late / Carrizo y Lane late/ Cleopatra).

El inicio del experimento se consideró una vez se completó la aplicación de los tratamientos salinos.

3.1.6. Determinaciones

Durante el desarrollo del experimento se realizaron un total de cinco muestreos: al inicio del experimento y a partir de ahí se realizaron cuatro muestreos más a los 13, 27, 41 y 55 días. En cada uno de estos muestreos se muestreó una planta por tratamiento y combinación a la que se le determinaron los siguientes parámetros:

3.1.6.1. Relaciones hídricas de la planta

3.1.6.1.1. Potencial hídrico del xilema

Para la determinación del potencial hídrico de xilema se ha utilizado el método de la cámara de presión (Soil Moisture Equip. Corp. Mod) siguiendo el procedimiento descrito por Schölander y col. (1965). Las medidas se realizaron utilizándose hojas completamente desarrolladas y expandidas. Las hojas seleccionadas se taparon con papel de celofán cubierto de papel aluminio previamente a la realización de la medida durante dos horas, tomando una hoja por planta.

Una vez cortada la hoja se introduce inmediatamente en la cámara de presión, con el fin de evitar pérdidas de agua y con el pecíolo hacia fuera. Se inyecta gas N₂ en la cámara, con un aumento de presión de 0,03 MPa·s⁻¹, observando la salida de la savia en la superficie con una lente de aumento. La presión marcada en ese momento en el manómetro (MPa o bares) indica el potencial del xilema.

Finalmente, las mediciones se llevaban a cabo a medio día (12:00 h), situando la cámara de presión cerca de donde se encontraban las plantas muestreadas, por lo que el intervalo de tiempo transcurrido entre el corte del pecíolo de la hoja y dicha medición fue muy breve, asegurando de este modo la fiabilidad de los datos obtenidos.

3.1.6.1.2. Contenido relativo de agua de las hojas

Para la determinación del contenido relativo de agua se tomó una hoja por planta, totalmente expandidas y se colocó individualmente en una bolsa de plástico con cierre hermético, que fue pesada previamente, y se determinó el peso fresco de hoja mediante una balanza de precisión (± 0.0001 g). A continuación, las hojas se colocaron en vasos de precipitado con los pecíolos sumergidos en agua destilada, donde se mantuvieron durante 24 horas en oscuridad y a 4 °C hasta su completa saturación (Torrecillas y col., 1996), para una mejor hidratación se les corto un trocito de pecíolo

facilitando así una rápida y mas efectiva entrada de agua. Una vez saturadas se pesaron de nuevo, para hallar el peso a plena turgencia. Por último se secó la hoja en una estufa a 100 °C durante 24 horas. El contenido relativo de agua (CRA) se calculó mediante la siguiente ecuación (Slavik, 1974):

$$CRA = \frac{P_f - P_s}{P_t - P_s} \times 100$$

Siendo P_f el peso fresco, P_s el peso seco y P_t el peso a plena turgencia.

3.1.6.1.3. Potencial osmótico

Para el análisis del potencial osmótico (Ψ_π) se tomó una hoja por planta, totalmente expandida, se guardó en bolsa de plástico envuelta en papel de aluminio y se congeló a -20 °C. Para determinar el potencial osmótico a plena turgencia (Ψ_π^{100}), se cogieron hojas similares a las utilizadas para el Ψ_π . Seguidamente, se colocaron en vasos de precipitado, con el pecíolo sumergido en agua destilada, donde se mantuvieron durante 24 horas en oscuridad a 4 °C. Una vez hidratadas, las muestras se congelaron a -20 °C.

Para la medida, tanto del Ψ_π como del Ψ_π^{100} , las muestras se descongelaron de manera gradual a temperatura ambiente. Seguidamente, se introdujo la hoja, previamente cortada en varios trozos, en una jeringuilla hipodérmica de 5 mL donde se extrajo toda la savia celular, que fue recogida en viales de 1.5 mL. Inmediatamente, se determinó la osmolalidad de una alícuota de 10 μ L, que fue medida en un osmómetro (Model 5100B, Wescor, Logan, Utah). El potencial osmótico fue calculado multiplicando por el factor de conversión (-0.002437) y asumiendo que 40 μ mol·g⁻¹ de H₂O corresponde a 0.1 MPa (Rodrigues y col., 1993).

3.1.6.1.4. Potencial de Turgor

El potencial de turgor celular (Ψ_P) se calculó por diferencia entre el potencial hídrico y el potencial osmótico:

$$\Psi_P = \text{potencial hídrico de xilema } (\Psi_\pi) - \text{potencial osmótico a turgor cero } (\Psi_\pi).$$

3.1.6.2. Parámetros de intercambio gaseoso

Las medidas de intercambio gaseoso fueron realizadas coincidiendo con los muestreos de los parámetros de relaciones hídricas. Se midió simultáneamente la tasa de fotosíntesis neta (A), conductancia estomática (g_s) y tasa de transpiración (E).

Las medidas fueron realizadas a primera hora de la mañana, entre las 9:00 y las 11:00 a.m. utilizando un equipo LICOR LI-6400. Se eligieron hojas totalmente expandidas. La temperatura de la cámara se mantuvo entre 28 y 32 °C, el déficit de presión de vapor de la hoja a ± 0.5 y la humedad relativa de la cámara a 30-40 % durante las medidas. La tasa de flujo molar de aire en el interior de la cámara fue de 300 mol·mol⁻¹. Todas las medidas se realizaron a concentración fija de CO₂ similar a la del ambiente (370 $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$), conseguido mediante un cartucho de 12 g CO₂ puro licuado a alta presión que se añadió a la consola y controlada automáticamente por un inyector de CO₂ instalado dentro de la consola LICOR-6400. La densidad del flujo de fotones fotosintéticos fue de 1600 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, obtenida por una fuente de luz roja/azul (6400-02B LED) añadida a la cámara foliar, por encima de la intensidad de luz de saturación para la fotosíntesis en cítricos (Syvertsen, 1984).

3.1.6.3. Composición mineral

Se tomaron todas las hojas, raíces y tallos, separando los tallos en tallo del patrón y tallo de la variedad.

Las muestras se recogieron en bolsas de material poroso, para su transporte al laboratorio.

3.1.6.3.1. Preparación de las muestras

Para el análisis del contenido mineral, las muestras se lavaron con agua destilada. El lavado y secado se realizó según el método de Steyn (1957) modificado: se parte de cinco envases de polietileno, en el primero de ellos se colocan 750 mL de solución de detergente no iónico al 0.1 %, y 750 mL de agua destilada en el segundo, tercero y cuarto, el quinto se utilizó para recoger las muestras húmedas. Se esponjearon cuidadosamente las muestras en la solución detergente, enjuagando ambos lados; posteriormente, se enjuagaron 3 veces en agua destilada. Después se secaron en la estufa a 65 °C de aire durante 48 horas.

Una vez seco el material vegetal, se procedió a su molienda con un molino IKA Mod. A10 a 18.000 r.p.m. Las muestras se almacenaron en envases de plástico guardados en desecadores con el fin de impedir la rehidratación de las mismas. Del total de las raíces de las plantas, solo se muestrearon y analizaron raíces fibrosas.

3.1.6.3.2. Determinación de K^+ , Na^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} y P

Tras la preparación de las muestras se dio paso a la acenización de las mismas, realizada por la vía seca, ya que no se añaden reactivos y por lo tanto, la contaminación es mínima.

Para ello se pesaron aproximadamente 0.25 g de materia seca en crisoles de cerámica y a continuación se introdujeron en un horno mufla programable. Se realizó una rampa de temperatura hasta alcanzar los 500 °C en 4 horas, para evitar la pérdida de fósforo. Se disolvieron las cenizas en 5 mL de HNO_3 0.7 N, en el caso de las hojas y en 5 mL de HCl 2 N para las raíces. Se aplicó calor para ayudar a disolver los componentes menos solubles y por último se filtraron y se recogieron en un matraz aforado de 25 mL, a través de un papel de filtro lavado al ácido, enrasando hasta completar los 25 mL con agua osmotizada.

La concentración de Na^+ , K^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+} se determinó utilizando un espectrofotómetro de plasma por acoplamiento inductivo Varian Vista-MPX radial. Mediante esta técnica también se determinó el contenido de P total en la planta.

3.1.6.3.3. Nitrógeno

Para la determinación del contenido de nitrógeno en hoja siguió el método semi-micro de Kjeldahl. Se añadieron a un tubo Kjeldahl 300 mg de muestra, 6 mL de H_2SO_4 96 % y aproximadamente 2 g de catalizador (para acelerar la digestión). Seguidamente se introdujo el tubo en un digestor durante 1 hora hasta que la mezcla quedó transparente. A continuación se añadió 100 mL de agua bidestilada y se colocó el tubo en el destilador (BÜCHI K-314), se completó hasta un volumen total de 140 mL con NaOH. El destilado se recoge en una disolución de H_3BO_3 3 % e indicador y se valora en un valorador automático (CRISON TITROMATIC 2S) con HCl 0.05 N hasta alcanzar un pH de 5.30.

3.1.6.3.4. Cloruro

La determinación de cloruro se realizó mediante el método de Guillian (1971). A 50 mg de materia seca, se le adicionaron 10 mL de agua bidestilada. La mezcla de agitó y se centrifugó a 5000 r.p.m. durante 5 minutos en una centrífuga (HERAEUS BIOFUGUE STRATOS). A continuación se filtró y del filtrado se tomaron 500 μL , donde se determinó la concentración de cloruro mediante valoración con un electrodo de plata empleando un analizador de cloruros (Sherwood MKII Chloride Analyzer 926).

3.1.6.4. Velocidad de absorción específica (VAE)

Representa la eficiencia de absorción de las plantas calculada en relación a una medida del tamaño de la raíz (peso seco, longitud, etc.), en nuestro caso, peso seco. Se define como la velocidad de absorción del nutriente por una planta respecto al tiempo, expresado por unidad del tamaño total de la raíz.

$$VAE = \frac{1}{R} \cdot \frac{dN}{dt}$$

Sus dimensiones son $\text{M} \cdot \text{M}^{-1} \cdot \text{T}^{-1}$ y se puede expresar en $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$. El valor medio en el intervalo de t_1 a t_2 , cuando los pares de medidas son (R_1, N_1) y (R_2, N_2) es aproximadamente:

$$VAE = \frac{N_2 - N_1}{t_2 - t_1} \cdot \frac{\ln R_2 - \ln R_1}{R_2 - R_1}$$

Siendo N el contenido de un nutriente mineral en la planta y R la masa seca de la raíz.

3.1.6.5. Transporte desde la raíz a la parte aérea

Fue determinado a partir de la ecuación:

$$T_j = \frac{M_{A2} - M_{A1}}{t_2 - t_1} \cdot \frac{\ln P_{R2} - \ln P_{R1}}{P_{R2} - P_{R1}}$$

Siendo T_j el transporte de un ion cualquiera j desde la raíz a la parte aérea. La diferencia $M_{A2} - M_{A1}$, representa la variación en el contenido del ion j en la parte aérea en el intervalo de tiempo considerado (desde t_1 a t_2) y $P_{R2} - P_{R1}$, indica el cambio en peso seco experimentado por la raíz en el mismo intervalo de tiempo.

3.1.6.6. Absorción por la parte aérea

Se calcula de forma similar al transporte desde la raíz mediante la formula:

$$A_j = \frac{M_{A2} - M_{A1}}{t_2 - t_1} \cdot \frac{\ln P_{A2} - \ln P_{A1}}{P_{A2} - P_{A1}}$$

Siendo A_j la absorción del ion j por la parte aérea. La diferencia $M_{A2} - M_{A1}$, representa la variación en el contenido del ion j en la parte aérea en el intervalo de tiempo considerado (desde t_1 a t_2) y $P_{A2} - P_{A1}$, es el cambio en peso seco experimentado por esta parte de la planta en el mismo intervalo temporal.

3.1.6.7. Alocación de nutrientes relativa a la biomasa (ARB)

Representa la proporción de los distintos elementos minerales relativa a la biomasa en cada órgano de la planta. Un cociente igual a 1 en cualquier parte de la planta indica que la alocación del elemento mineral objeto de estudio es igual a la de biomasa. Si ARB es inferior a 1 existe dilución del nutriente respecto a la biomasa y por el contrario si ARB es mayor que 1, hay concentración respecto a la biomasa. Este parámetro se calcula a partir de la siguiente expresión:

$$ARB = \frac{\% N}{\% M}$$

Siendo % N la cantidad relativa del nutriente en el órgano de la planta estudiado y % M la biomasa relativa en él.

3.2. EXPERIMENTO DE CAMPO

3.2.1. Localización y descripción de la parcela

El experimento en campo se realizó durante 3 años consecutivos, desde 2004 hasta 2006, en una parcela de 20.000 m² completamente vallada, situada en los terrenos de la comunidad de regantes del Campo de Cartagena en Torre Pacheco, dentro de la zona geográfica denominada “campo de Cartagena” en la Región de Murcia. Su latitud norte es de 37° 45′ 16″ y su longitud es de 0° 59′ 16″; su altitud es de 30 m y dista unos 10 Km en línea recta del Mar Menor.

Los suelos del campo de Cartagena según la Soil Survey Staff Division U.S.D.A. pueden incluirse dentro de la clase Aridosol. Su textura es franca, con salinidad ligera, notablemente calizos, bajos niveles de materia orgánica, nitrógeno y fósforo asimilable. Nivel medio en potasio asimilable, con capacidad de cambio catiónico (C.C.C.) media.

El análisis del suelo (Tablas 3.2 y 3.3) muestra que el suelo es de textura franco-arcillo-arenosa y adecuada para el cultivo de cítricos. No es salino, con carbonato activo total muy alto, con materia orgánica muy baja y un pH ligeramente alcalino. El nivel de fósforo asimilable es muy bajo, el potasio asimilable y el sodio soluble presentan un valor medio, el cloruro bajo y el sulfato muy bajo. La capacidad de cambio catiónica es baja.

El relieve es de llanura lisa con una pendiente general del 1 %. Su orientación es sureste. Tiene un buen desagüe, con drenaje regular, sin síntomas de erosión ni truncamiento del perfil. No posee capa freática.

La vegetación natural era esteparia que fue eliminada por cultivos de labor intensiva con barbecho semillado (Ministerio de Agricultura, 1981).

Tabla 3.2. Análisis de suelo de la parcela de Torre Pacheco donde se realizó el ensayo.

Concentración mmol·Kg ⁻¹					
P asimilable	K ⁺ asimilable	Na ⁺ soluble	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	C.C.C.
0.39	8.20	3.20	3.50	2.32	86.00
C.E (dS·m ⁻¹)	Materia orgánica %		CaCO ₃ activo %		
0.30	0.53		0.71		

3.2.2. Condiciones climáticas durante el ensayo

En la figura 3.2. se observa las características climáticas de la parcela durante los tres años que se llevó a cabo el ensayo (2004-2006) Los datos provienen del Servicio de Información Agronómica de Murcia (SIAM) de la estación climática de Torre Blanca en el término municipal de Torre Pacheco.

La temperatura media anual fue de 15.7 °C, con una máxima absoluta de 35.8 °C y una mínima de -3.6 °C, con una media de las máximas de 20.6 °C y 10.7 °C de las mínimas. La pluviometría media anual es de 300 mm y la humedad relativa media es de 72.5 %. La ETo es de 1240 mm y el balance hídrico anual es negativo con un valor de 1000 a 1200 mm.

Tabla 3.3. Características físicas del perfil del suelo

Profundidad (cm)	% Arena	% Limo	% Arcilla	Tipo de suelo
0-20	54.6	15.3	30.1	Franco-arcillo-arenoso
20-40	56.7	16.8	26.5	Franco-arcillo-arenoso
40-60	59.8	15.5	24.7	Franco-arcillo-arenoso
60-80	64.4	13.2	22.5	Franco-arcillo-arenoso
80-100	51.3	21.3	27.5	Franco-arcillo-arenoso
100-120	60.9	17.5	21.7	Franco-arcillo-arenoso

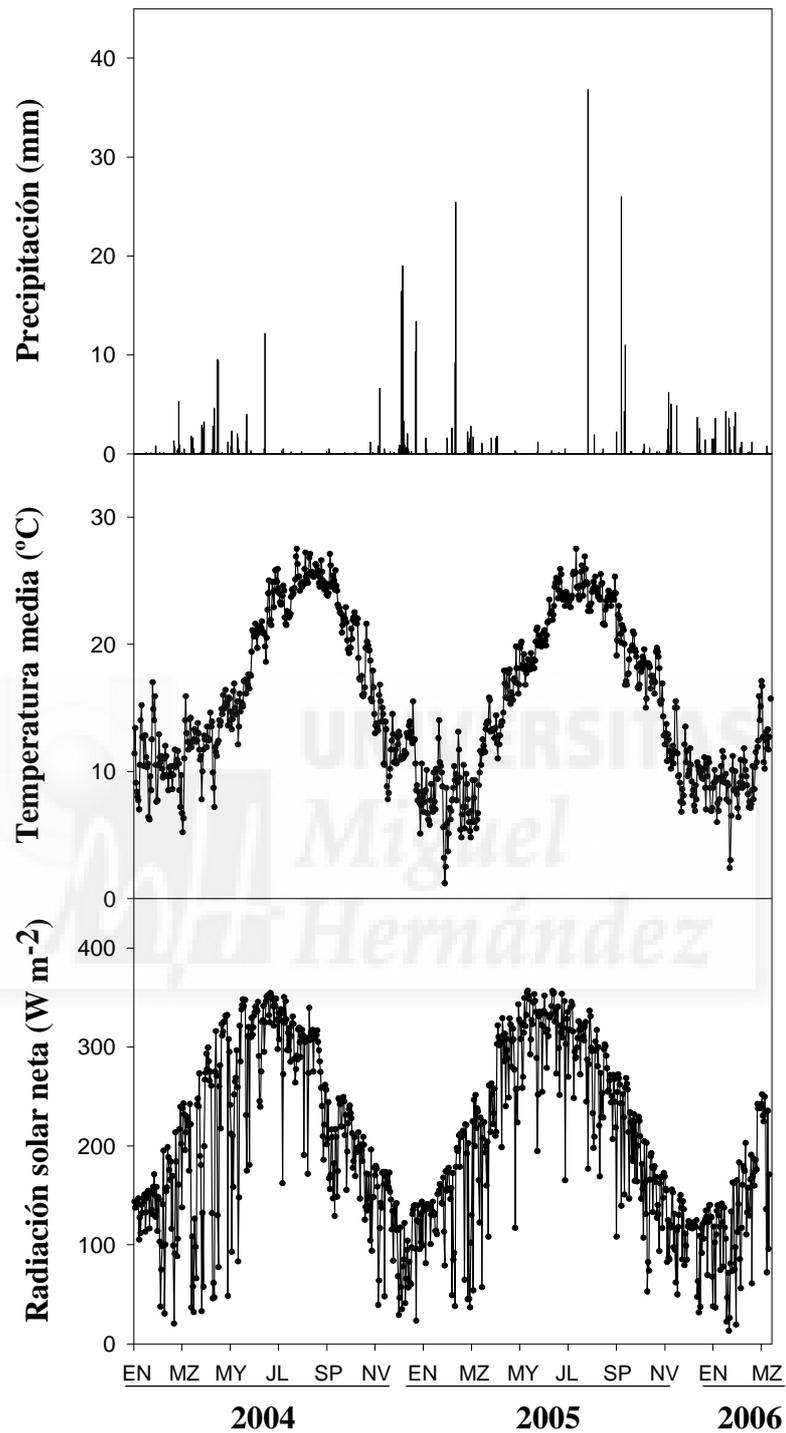


Figura 3.2. Datos climáticos de la parcela durante los años del experimento. Estación de Torre Blanca ubicada en Torre Pacheco (SIAM).

3.2.3. Calidad del agua de riego empleada

El agua de riego procede del trasvase Tajo-Segura (Tabla 3.4). Su conductividad eléctrica indica que se trata de un agua buena para el riego de cítricos. Su R.A.S. = 1.6 y su R.A.S._{ajdo} = 3.36 expresan un escaso poder alcalinizante del agua. El carbonato sódico residual, C.S.R. = -9.2, tiene un valor recomendable para el riego. Su dureza es de 54 (°Fr), lo que determina el agua como dura. Su uso es aconsejable por su contenido en Ca²⁺ para corregir suelos sódicos. Su contenido en sodio, cloruros y sulfatos es bueno.

3.2.4. Material vegetal

En este experimento se estudió el comportamiento en campo en árboles de 11 años de edad de la variedad de naranjo Lane late (*Citrus sinensis* (L.) Osb.) injertada sobre citrange Carrizo (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck x *Poncirus trifoliata* (L.)) y mandarina Cleopatra (*Citrus reticulata* Blanco), dos de los patrones más importantes de la citricultura española.

3.2.5. Diseño experimental

3.2.5.1. Tratamientos

Se realizó un diseño factorial con 2 patrones diferentes y 4 tratamientos de riego (0 mM NaCl + 100% N, 0 mM + 140% N, 30 mM NaCl + 100% N y 30 mM NaCl + 140% N), consistiendo la suplementación nitrogenada en la aplicación de un 40 % de NO₃NH₄ superior a la correspondiente según el mes de cultivo.

Los tratamientos fueron aplicados de acuerdo con un diseño factorial en bloques al azar (3 bloques) con 3 árboles por bloque y por tratamiento. Por eso, cada tratamiento consistió en 9 árboles uniformes.

Tabla 3.4. Análisis de agua del trasvase Tajo-Segura empleada en el riego de la parcela.

Concentración (mmol·L ⁻¹)							
Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	HCO ₃ ⁻	CO ₃ ²⁻	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺
3.00	4.69	1.80	0.00	3.91	0.17	1.80	3.70
pH	C.E. (dS·m ⁻¹)		Dureza total (° Fr)		Sólidos disueltos (g·L ⁻¹)		
8.99	1.00		55		0.68		

El tratamiento salino empezó en marzo del 2004 por adición de NaCl al agua de riego hasta alcanzar una concentración de 30 mM.

El sistema era bifactorial, con dos niveles salinos (0 mM y 30 mM de NaCl) y dos niveles de nitrógeno (100% y 140% fertilización N) en tres bloques al azar con 3 árboles por bloque. La fertilización extra de N se realizó mediante un aporte de NH_4NO_3 .

3.2.5.2. Riego aplicado

Para aplicar el riego y la fertilización se utilizó una línea porta-goteros por fila de árboles con 3 emisores autocompensantes de $4 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$ por árbol, separados 0.75 cm. Los ramales portagoteros eran de PE de baja densidad de 16 mm de diámetro.

Para determinar la dosis de agua de los tratamientos, se siguieron las indicaciones del programa de asesoramiento en riegos del SIAM (Servicio de Información Agronómica de Murcia) de la Consejería Agricultura y Agua, para lo cual se facilitaron los siguientes datos previos: situación de la parcela, clase y tipo de cultivo, marco de plantación, textura y C.E. del agua de riego. Se calculó la ETo por el método de Penman-Monteith. Se consideró un coeficiente de uniformidad del 90 %.

Para verificar que se estaba regando de forma adecuada, se instalaron tres juegos de tensiómetros en la parcela. En base a las lecturas de estos tensiómetros, las cantidades de agua aplicadas eran corregidas semanalmente.

3.2.5.3. Fertilización

La fertilización de la parcela consistió en aportes semanales de Nitrato Amónico (NH_4NO_3), Nitrato Potásico (KNO_3), Fosfato Monoamónico ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$) y Quelato de Hierro (EDDHAFe), totalizando anualmente 478 gr N/árbol, 251 gr K_2O /árbol y 148 gr P_2O_5 /árbol. La aplicación de los fertilizantes al agua de riego se realizó teniendo en cuenta que la concentración de estos no superara $1 \text{ gr}\cdot\text{L}^{-1}$. También se puso especial interés en mantener las concentraciones adecuadas a la hora de mezclar fertilizantes en la cuba de abonado para evitar precipitaciones.

En primavera se aplicaron correctores de Zn y Mn vía foliar.

La fertilización se añadió al agua de riego mediante inyectoras Soci S-científica de 200 litros·hora⁻¹ de caudal máximo y con una potencia de 0.18 Kw. El autómata, Maines 23, controlaba las bombas de riego, inyectores y agitadores de las cubas. Se le introducía un programa para controlar el riego, donde se especificaba el día, la hora así como el tiempo de riego, que se dividía en pre-riego, abonado y post-riego, normalmente en relación 1/4-2/4-1/4.

La tabla 3.5 recoge las cantidades aportadas por meses, así como el suplemento adicional de NH₄NO₃.

3.2.6. Labores de cultivo

En los meses de julio y agosto se realizaron 3 tratamientos contra el minador (*Phyllocnitis citrella Stainton*), y cóccidos con abamectina y aceite mineral de verano en atomización. En primavera se pulverizó en forma preventiva contra *Phytophthora sp.* La presencia de caracoles se controló mediante metaldehído granulado en aplicación cebo.

El sistema de cultivo fue de mínimo laboreo eliminando las malas hierbas con herbicidas. En primavera se trató contra malas hierbas con simazina en preemergencia, repasando rodales con diquat + paracuat. En verano se trató contra hierbas perennes con glifosfato en ULV.

Tabla 3.5. Programa de fertilización aplicado durante los tres años del experimento.

Meses	Fertilizante aplicado (gr/árbol)				Suplemento Nitrogenado (140% N)
	Árboles control nitrógeno (100% N)				
	NH ₄ NO ₃	KNO ₃	NH ₄ H ₂ PO ₄	EDDHA-Fe	NH ₄ NO ₃
Enero	0	0	48	0	0
Febrero	57	40	24	0	26
Marzo	146	81	0	8	69
Abril	146	81	0	8	69
Mayo	167	81	0	8	78
Junio	112	53	0	5	53
Julio	146	53	40	0	69
Agosto	146	53	40	8	69
Septiembre	112	40	0	5	65
Octubre	45	40	0	3	21
Noviembre	44	24	48	0	21
Diciembre	0	0	48	0	0

La poda aplicada fue de mantenimiento, eliminando chupones y aclarando ramas mal situadas, muy espesas y resacas.

3.2.7. Determinaciones

3.2.7.1. Suelo

3.2.7.1.1. Análisis granulométrico

Al comienzo del periodo de estudio se llevó a cabo un análisis completo de las propiedades granulométricas del suelo, con el fin de caracterizar lo mejor posible el suelo cultivado. Para ello, se extrajeron muestras de suelo a 25 cm del primer gotero del árbol y en el perfil 0-100 cm cada 20 cm.

Para el análisis de la textura del suelo se utilizó el Sistema Internacional de la ISSS (Sociedad Internacional de la Ciencia del Suelo, Attemberg), (B.O.E., marzo, 1976) y el triángulo estándar de clasificación de suelos por texturas del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (López-Ritas y col., 1985).

3.2.7.2. Relaciones hídricas de la planta

3.2.7.2.1. Potencial hídrico del xilema

Para la determinación del potencial hídrico de xilema se ha utilizado el método de la cámara de presión (Soil Moisture Equip. Corp. Mod) siguiendo el procedimiento descrito por Schölander y col. (1965). Las medidas se realizaron en días soleados, utilizándose hojas del tercio medio del árbol, completamente desarrolladas, sanas y pertenecientes a la brotación de la primavera inmediatamente anterior, así como orientadas al sol y procurando que estuvieran todas a la misma altura. Las hojas seleccionadas se taparon con papel de celofán cubierto de papel aluminio previamente a la realización de la medida durante dos horas, tomando una hoja por árbol y haciendo la media con seis árboles de cada tratamiento (dos árboles por bloque).

Finalmente, las mediciones se llevaban a cabo a medio día (12:00 h), situando la cámara de presión cerca de donde se encontraban los árboles muestreados, por lo que el intervalo de tiempo transcurrido entre el corte del pecíolo de la hoja y dicha medición fue muy breve, asegurando de este modo la fiabilidad de los datos obtenidos.

3.2.7.2.2. Contenido relativo de agua de las hojas

Para su determinación, se tomaron hojas del tercio medio del árbol, completamente desarrolladas, sanas y pertenecientes a la brotación de la primavera inmediatamente anterior y en la misma orientación. Las hojas se cogieron durante las primeras horas de la mañana, cortando la parte superior del pecíolo mediante una cuchilla, e inmediatamente con unas pinzas metálicas cada una de las hojas se colocó en una bolsa de plástico con cierre hermético, que fue pesada previamente, y envueltas en papel de aluminio para minimizar la evaporación y las fluctuaciones de temperatura. Las hojas se transportaron al laboratorio en un recipiente isotérmico.

Posteriormente en el laboratorio se determinó el peso fresco de hoja mediante una balanza de precisión. Seguidamente, las hojas se colocaron en vasos de precipitado con los pecíolos sumergidos en agua destilada, donde se mantuvieron durante 24 horas en oscuridad y a 4 °C hasta su completa saturación (Torrecillas y col., 1996) para evitar la degradación de las hojas y disminuir el proceso de respiración. Una vez saturadas se pesaron de nuevo, para hallar el peso a plena turgencia. Por último se secó la hoja en una estufa a 100 °C durante 24 horas. El CRA se calculó mediante la siguiente ecuación, Slavik (1974):

$$CRA = \frac{P_f - P_s}{P_t - P_s} \times 100$$

Siendo P_f el peso fresco, P_s el peso seco y P_t el peso a plena turgencia.

3.2.7.2.3. Potenciales osmótico y de turgor

Para el análisis del potencial osmótico (Ψ_π) se tomó una hoja del tercio medio del árbol, totalmente expandida, con un total de seis árboles de cada tratamiento (dos árboles por bloque), se limpiaron cuidadosamente para eliminar el polvillo de la superficie de la hoja. A continuación se guardó en una bolsa de plástico envuelta en papel de aluminio y se congeló a -20 °C.

Para determinar el potencial osmótico a plena turgencia (Ψ_π^{100}), se cogieron hojas similares a las utilizadas para el Ψ_π . Seguidamente, se llevaron al laboratorio, donde se colocaron en vasos de precipitado, con el pecíolo sumergido en agua destilada,

donde se mantuvieron durante 24 horas en oscuridad a 4 °C. Una vez hidratadas, las muestras se congelaron a -20 °C.

Para la medida, tanto del Ψ_{π} como del Ψ_{π}^{100} , las muestras se descongelaron de manera gradual a temperatura ambiente. Seguidamente, se introdujo la hoja, previamente cortada en varios trozos, en una jeringuilla hipodérmica de 5 mL donde se extrajo toda la savia celular, que fue recogida en viales de 1.5 mL. Inmediatamente, se determinó la osmolalidad de una alícuota de 10 μ L, que fue medida en un osmómetro (Model 5100B, Wescor, Logan, Utah). El potencial osmótico fue calculado multiplicando por el factor de conversión (-0.002437) y asumiendo que 40 μ mol.g⁻¹ de H₂O corresponde a 0.1 MPa (Rodrigues y col., 1993).

3.3.7.2.4. *Potencial de Turgor*

El potencial de turgor celular (Ψ_p) se calculó por diferencia entre el potencial hídrico y el potencial osmótico.

$$\Psi_p = \text{potencial hídrico de xilema } (\Psi_{\pi}) - \text{potencial osmótico a turgor cero } (\Psi_{\pi}).$$

3.2.7.3. *Parámetros de intercambio gaseoso*

Las medidas de intercambio gaseoso fueron realizadas coincidiendo con los muestreos de los parámetros de relaciones hídricas. Las medidas se realizaron a primera hora de la mañana, entre las 9:00 y las 11:00 a.m. durante días soleados con un equipo LICOR LI-6400. Se eligieron hojas del tercio medio del árbol, completamente desarrolladas, sanas y pertenecientes a la brotación de la primavera inmediatamente anterior, así como orientadas al sol y procurando que estuvieran todas a la misma altura. Se midió simultáneamente la tasa de fotosíntesis neta (A), conductancia estomática (g_s) tasa de transpiración (E) y concentración de CO₂ intercelular (C_i). La temperatura de la cámara se mantuvo entre 28 °C y 32 °C, el déficit de presión de vapor de la hoja a ± 0.5 y la humedad relativa de la cámara a 30-40 % durante las medidas. La temperatura de la hoja se midió con un termopar sostenido en el fondo de la cámara foliar. La tasa de flujo molar de aire en el interior de la cámara fue de 300 mol.mol⁻¹. Todas las medidas se realizaron a concentración de CO₂ ambiente (370 μ mol.mol⁻¹), un cartucho de 12 gramos CO₂ puro licuado a alta presión que se añadió a la consola y controlada automáticamente por un inyector de CO₂ instalado dentro de la consola LI-6400. Las

medidas también fueron tomadas con un flujo de fotones fotosintéticos (PPFD) de 1600 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ por encima de la intensidad de luz de saturación para la fotosíntesis en cítricos (Sinclair y Allen, 1982; Syvertsen, 1984) utilizando una fuente de luz roja/azul (6400-02B LED) añadida a la cámara foliar, simulando la intensidad de la radiación solar en nuestras condiciones en campo en días despejados y a la misma hora. Los cálculos de los parámetros de intercambio gaseoso se calcularon automáticamente por el programa interno del LI-6400 basado en las ecuaciones de Von Caemmerer y Farquhar (1981).

3.2.7.4. Clorofilas

El contenido en clorofila en hojas se determinó utilizando un medidor de clorofila portátil SPAD-502. Los valores SPAD se basan en el principio de que parte de la luz que llega a la hoja es absorbida por la clorofila y el resto que se refleja entra en contacto con la celda detectora del SPAD-502 y es convertida en una señal eléctrica. La cantidad de luz captada por la celda es inversamente proporcional a la cantidad de luz utilizada por la clorofila, la señal es procesada, y la absorbancia es cuantificada en valores dimensionales que van de 0 a 199, por lo que las unidades SPAD serán siempre las mismas de acuerdo con el tono verde de las hojas (Krugh y col., 1994).

La lectura de los valores SPAD se realizaron *in vivo* e *in situ* sobre la superficie superior de cinco hojas por árbol, con un total de seis árboles por tratamiento. Para la medida se eligieron hojas del tercio medio del árbol, completamente desarrolladas, sanas y pertenecientes a la brotación de la primavera inmediatamente anterior, así como orientadas al sol y procurando que estuvieran todas a la misma altura. La medida se realizaba siempre en la parte próxima al nervio central de la hoja.

3.2.7.5. Fluorescencia de clorofilas

La actividad del fotosistema II se midió *in vivo* e *in situ* sobre la superficie superior de cuatro hojas por árbol, con un total de seis árboles por tratamiento, utilizando un fluorómetro de fluorescencia continua portátil FIM 1500 (Fluorescence Induction Monitor 1500: Analytical Development Company Ltd., Herts, UK). A cada hoja se le colocó una pinza con un orificio de 5 mm el cual se cerró durante 30 minutos para adaptar a oscuridad cada disco de hoja, con el objeto de desacoplar la transferencia de electrones del fotosistema II, de esta manera una gran parte de la energía captada por la

clorofila activa se emite en forma de fluorescencia. Pasados los treinta minutos se abrió el orificio al mismo tiempo que se exponía este segmento de hoja a luz de 650 nm con una intensidad de luz de $900 \mu\text{moles}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ durante 5 segundos, y se registró la emisión de fluorescencia desde 10 μs a 5 s de iniciada la medición con el detector de fluorescencia FIM 1500.

Los datos se almacenaron en el FIM 1500 y luego se transfirieron a la computadora para obtener los siguientes parámetros: fluorescencia mínima (F_o), fluorescencia máxima (F_m), eficiencia fotoquímica (F_v/F_m).

3.2.7.6. Composición mineral

Durante el ensayo se realizaron análisis foliares periódicos. Se tomaron dos tipos de hojas: hojas viejas, procedentes de la brotación de primavera, y hojas jóvenes procedentes de la última brotación, para realizar un seguimiento de la acumulación de los iones Cl^- y Na^+ en la planta, así como para estudiar posibles carencias nutricionales de los macro y micronutrientes.

Las muestras se tomaron de los brotes vegetativos orientados en la dirección de los cuatro puntos cardinales. Las hojas de la brotación de primavera se reconocen porque son más estrechas, puntiagudas y lanceoladas que las correspondientes a las brotaciones de verano u otoño.

Las muestras se recogieron en bolsas de material poroso, para su transporte al laboratorio.

3.2.7.6.1. Preparación de las muestras

Para el análisis del contenido mineral, las muestras se lavaron con agua destilada. El lavado y secado se realizó según el método de Steyn (1957) modificado: se parte de cinco envases de polietileno, en el primero de ellos se colocan 750 mL de solución de detergente no iónico al 0.1 %, y 750 mL de agua destilada en el segundo, tercero y cuarto, el quinto se utilizó para recoger las muestras húmedas. Se esponjearon cuidadosamente las hojas en la solución detergente, enjuagando ambos lados; posteriormente, se enjuagaron 3 veces en agua destilada. Después se secaron en la estufa a 65 °C de aire durante 48 horas. Una vez seco el material vegetal, se procedió a su molienda con un molinillo de aspas IKA Modelo A10 a 18.000 r.p.m. y

posteriormente se tamizaron a través de un tamiz con tamaño de poro de 0.5 mm. Las muestras se almacenaron en envases de plástico guardados en desecadores con el fin de impedir la rehidratación de las mismas.

3.2.7.6.2. Determinación de K^+ , Na^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} y P

Tras la preparación de las muestras se dio paso a la acenización de las mismas, realizada por la vía seca, ya que no se añaden reactivos y por lo tanto, la contaminación es mínima.

Para ello se pesaron aproximadamente 0.25 g de materia seca en un crisol de porcelana y a continuación se introdujeron en un horno de mufla con una temperatura máxima de 550 °C durante 150 minutos. Se dejaron enfriar y se disolvieron las cenizas obtenidas en 5 mL de HNO_3 0.7 N, se aplicó calor para ayudar a disolver los componentes menos solubles y por último se filtraron y se recogieron en un matraz aforado de 25 mL, a través de un papel de filtro lavado al ácido, enrasando hasta completar los 25 mL con agua osmotizada.

La concentración de Na^+ , K^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+} se determinó utilizando un espectrofotómetro de plasma por acoplamiento inductivo Varian Vista-MPX radial.

3.2.7.6.3. Nitrógeno

Para la determinación del contenido de nitrógeno en hoja siguió el método semi-micro de Kjeldahl descrito en el apartado 3.1.6.3.3.

3.2.7.6.4. Cloruro

La determinación de cloruro se realizó mediante el método de Guillian (1971) descrito en el apartado 3.1.6.3.4.

3.2.7.7. Nitratos en el agua de riego

La determinación de los nitratos en la solución del suelo se llevo a cabo mediante un espectrofotómetro UV (modelo UV-2401 PC, Shimadzu, Columbia, MD).

Se realizaron las medidas en cubetas de cuarzo de 1 mL utilizando dos longitudes de onda: 220 nm para obtener la lectura de NO_3^- y 275 nm para determinar la interferencia debida a la materias orgánicas presentes en el agua de riego, ya que estas

también pueden absorber a 220 nm. Para obtener la absorbancia debida a los NO_3^- se restó dos veces la absorbancia leída a 275 nm de la lectura a 220 nm.

Finalmente, los resultados obtenidos se extrapolaron de la curva de calibrado obtenida a partir de soluciones patrón.

3.2.7.8. Prolina

La determinación del contenido de prolina se realizó siguiendo el método de Bates y col. (1973). La muestra en fresco fue congelada inmediatamente con nitrógeno líquido y triturada con un mortero. Seguidamente se pesó 50 mg y se le añadió 5 mL de ácido 5-sulfosalicílico al 3 %, tras lo cual las muestras fueron almacenadas en un congelador de $-20\text{ }^\circ\text{C}$ durante un tiempo superior a 12 horas. Pasado ese tiempo, se agitaron durante dos horas a $30\text{ }^\circ\text{C}$, utilizando un agitador automático. El extracto se centrifugó a 4.000 r.p.m. durante 35 minutos a $4\text{ }^\circ\text{C}$. Se tomó una alícuota del sobrenadante de 0.25 mL y se le añadió 0.25 mL de ácido acético glacial y 0.25 mL de ninhidrina ácida recién preparada. A continuación esta mezcla se calentó a $100\text{ }^\circ\text{C}$ en un baño durante una hora para provocar el desarrollo del color. Posteriormente se dejó enfriar en un baño con hielo y se extrajo el cromóforo añadiendo a la mezcla 8 mL de tolueno. Por último, la muestra se cuantificó en un espectrofotómetro (modelo UV-2401 PC, Shimadzu, Columbia, MD) a 520 nm. La curva estándar se realizó con prolina.

La ninhidrina ácida consistió en una disolución de 2.5 gr de ninhidrina en 60 mL de ácido acético glacial y 20 mL de ácido fosfórico a 6 M.

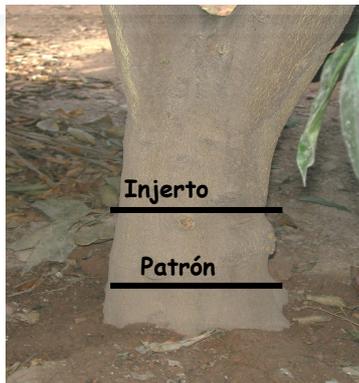
3.2.7.9. Desarrollo vegetativo

Siguiendo los métodos expuestos por Ortiz-Marcide (1978), se midió el diámetro de los troncos a 5-7 cm por encima, y por debajo de la unión del injerto (Fotografía 3.2). Las medidas se realizaron con cinta métrica flexible de 1 m de lectura ± 1 mm. Las medidas de crecimiento se realizaron trimestralmente durante los años 2004, 2005 y 2006.

Respecto a la parte aérea, se determinó el perímetro ecuatorial de la copa a una altura de 1.5 m con cinta métrica de 25 m y lectura ± 1 cm y la altura se midió con una escuadra regulable. Con estos parámetros se calculó el volumen de copa en m^3 , mediante la fórmula Volumen (m^3) = $0.5238 \times \text{Altura} \times \text{Diámetro}^2$, publicada por Turrel (1961).

En los perímetros de tronco y de copa se calculó el crecimiento entre los años 2004 y 2006 mediante la fórmula:

$$P (\%) = \frac{(P_{2006} - P_{2004}) \times 100}{P_{2004}}$$



Fotografía 3.2. *Detalle de las zonas del tronco en las que se realiza la medida de perímetro de tronco.*

3.2.7.10. Parámetros productivos

3.2.7.10.1. Calidad del fruto

Con objeto de tener una muestra representativa de frutos para el análisis de su calidad en el momento de la cosecha, se tomaron, en el instante de la misma, 9 frutos por árbol de todas las orientaciones posibles y posiciones del árbol, y de dos árboles por bloque, constituyendo un total de 6 repeticiones por combinación.

Las muestras de frutos se transportaron etiquetadas en sacos de malla, a una cámara frigorífica de laboratorio para su posterior procesado y análisis.

Para el seguimiento de la evolución de los parámetros de calidad de los frutos realizado en el año 2005 se tomaron muestras al azar de seis frutos por árbol (de cada uno de los seis árboles de cada variedad) durante los meses de octubre, noviembre, diciembre, enero, febrero y marzo de ese mismo año.

En estos frutos se determinaron los parámetros de calidad del fruto tanto físicos como químicos, siguiendo los criterios de Porras (1993) y Conesa (1999).

Peso

Se procedió a pesar cada fruto individual en una balanza de pesos equilibrados, con una precisión de ± 1 gramo. El peso medio se obtuvo dividiendo la suma de los pesos unitarios por el número total de los frutos.

Tamaño

Se midió el diámetro ecuatorial (D) y el longitudinal (L) de cada fruto, con un calibrador Digimatic digital de Mitutoyo CD-15D, con apreciación de 0.01 mm. Los valores medios de diámetro ecuatorial y longitudinal vienen expresados por la media aritmética de la muestra.

Color externo ó de corteza

El color de la corteza se determinó utilizando un colorímetro Minolta CR-300 de reflexión en el espacio de color HunterLab, realizando tres lecturas en la corteza de la zona ecuatorial (Porras, 1993; Conesa, 1999) de cada uno de los seis frutos para el color externo, constituyendo cada una de las 18 medidas una repetición.

Los fundamentos de este método colorimétrico han sido previamente descritos por Hunter (1967).

El parámetro a expresa la variación del verde al rojo; los valores negativos corresponden al verde, los próximos al cero a colores grises y los valores positivos al naranja y rojo (-60 verde, +60 rojo). El parámetro b expresa la variación del azul al amarillo (-60 azul, +60 amarillo).

Los índices que se utilizaron para caracterizar el color de la corteza fueron:

- El *índice de color*, propuesto por Jiménez-Cuesta y col. (1981), que se expresa como $I_c = 1000 \cdot a/L \cdot b$. Los valores negativos del índice de color corresponden a los negativos de la variable a, es decir, cuando indica tonos verdes.
- *Luminosidad*, L, siendo el valor 100 para el blanco y 0 para el negro.

Espesor de corteza

De una de las dos mitades del fruto se midió el espesor de corteza en un punto al azar con el calibrador digital descrito anteriormente. Se calculó el índice de espesor de la corteza descrito como:

$$I_e = \frac{2 \times \text{Espesor}}{\text{Diámetro}} \times 100$$

Corteza y Pulpa

La corteza y la pulpa se pesaron y se expresaron como porcentaje de peso con relación al peso total del fruto:

$$\% \text{ Pulpa} = \frac{\text{Peso Pulpa}}{\text{Peso Fruto}} \times 100$$

$$\% \text{ Corteza} = \frac{\text{Peso Corteza}}{\text{Peso Fruto}} \times 100$$

Zumo

La extracción del zumo se realizó manualmente, por medio de un exprimidor Lomi, mod. 4, 220 V. Se separó el zumo de la pulpa mediante el tamizado a través de una muselina de nylon de 1 μm . De esta forma se obtuvieron dos fracciones de zumo, el denominado filtrado, que es aquel que pasa a través de la muselina por gravedad, y el sifonado, que es el que queda retenido por la pulpa, que se separó de esta por presión natural. La suma del volumen filtrado y del sifonado da el volumen total de zumo. Para las posteriores determinaciones en zumo se utilizó el zumo filtrado, por mantener todas las características y no haber sufrido modificaciones ya que apenas llegó a tener contacto con la pulpa ni sufrió acción mecánica ni manual.

Densidad del zumo

La medida de la densidad se realizó mediante la lectura en un densímetro marca PROTON, con rango de 1.0 a 1.1, el cual se sumergía en una probeta de 250 mL totalmente llena de zumo filtrado. Posteriormente se sumergió en la misma probeta durante unos minutos un termómetro para medir la temperatura y expresar los datos corregidos a 15 °C, de acuerdo con la tabla 3.6. Con el dato de densidad se expresó el zumo como porcentaje en peso con relación al peso total del fruto.

$$\% \text{ Zumo} = \frac{V_{\text{total}} (\text{mL}) \times \text{Densidad} (\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})}{\text{Peso}} \times 100$$

Acidez total valorable

El ácido predominante en el zumo de los cítricos es el ácido cítrico, aunque también hay algo de ácido málico. La determinación de la acidez del zumo trata de fijar la riqueza en ácidos expresándola en el número de gramos contenidos en un litro del mismo. La determinación se hace por volumetría, es decir, neutralizando la solución ácida mediante un álcali, en nuestro caso se utilizó NaOH 0.1 N y fenolftaleína como indicador. A un vaso de vidrio se añadió una alicota de zumo filtrado, al que se adicionaron 2 o 3 gotas de fenolftaleína y un poco de agua destilada para limpiar las paredes del vaso de posibles gotas de zumo que hayan podido quedar adheridas a las paredes. El cambio de color de la fenolftaleína, indica el final de la reacción de neutralización. La disolución se mantuvo en agitación durante todo el tiempo.

La acidez se calcula en $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ por la fórmula:

$$\text{Acidez } (\text{g}\cdot\text{L}^{-1}) = \frac{V \times 0.1 \times 192}{3 \times V_1}$$

Donde V es el volumen en mL de NaOH 0.1 N empleados en la valoración y V_1 es el volumen de zumo empleado en la disolución. Se emplearon 5 mL de zumo.

Sólidos solubles totales

La concentración en sólidos solubles del zumo se expresó en grados Brix. La relación entre sólidos solubles y azúcares se encuentra en que una solución de sacarosa al 1 % y a 20 °C tiene un grado Brix. La medición se hace en escala refractométrica, cuyos valores de índice de refracción se corresponden con valores de grados Brix. El zumo además de sacarosa, tiene otros azúcares, ácidos y sales. Un grado Brix no equivale exactamente a una concentración de sólidos disueltos de $1\text{g}\cdot 100\text{mL}^{-1}$, pero el valor obtenido es un índice comercial aproximado de esta concentración, que se acepta convencionalmente.

Tabla 3.6. Corrección de la densidad del zumo referida a 15 °C.

Temperatura ° C	Corrección	Observaciones
13	0.0005	A restar de la lectura del Densímetro
14	0.0002	
15	0.0000	
16	0.0002	
17	0.0005	
18	0.0007	A sumar a la lectura del densímetro
19	0.0010	
20	0.0012	
21	0.0015	
22	0.0017	
23	0.0020	
24	0.0022	
25	0.0025	

Para la determinación de los grados Brix se utilizó un refractómetro digital ATAGO de lectura automática referida a 20 °C. El calibrado de este aparato se realiza con agua destilada a 20 °C (temperatura de medida de las muestras) ajustando a 0 grados Brix.

Índice de Madurez (IM)

El método analítico ha sustituido al examen organoléptico de la madurez de los frutos de cítricos a causa de la imprecisión de éste. La coloración de la corteza del fruto es, no solamente insuficiente, sino a veces errónea. La coloración de la pulpa como indicador para fijar la madurez de los frutos es también poco significativa. Por lo tanto, se adoptó como parámetro indicativo de la madurez de los frutos el cociente entre los sólidos solubles totales y la acidez del zumo.

$$IM = \frac{\text{Sólidos solubles totales} \times 10}{\text{Acidez}}$$

Contenido en ácido ascórbico

El zumo recién extraído se congeló y a partir de él se llevó a cabo la determinación del contenido de vitamina C. El contenido de ácido ascórbico del zumo se determinó mediante HPLC Merk-Hitachi, utilizando una columna Chromsil C18 (10 µm) (0.4 cm diámetro x 25 cm largo) acoplada a un detector UV-VIS (245 nm). Como fase móvil se utilizó di-amonio hidrógeno fosfato (20 g·L⁻¹) ajustando su pH a 2.8 con ácido ortofosfórico. La columna se mantuvo a temperatura constante de 25 °C y el flujo isocrático fue de 0.9 mL·min⁻¹. Las determinaciones se realizaron por triplicado y el contenido se expresó en mg·L⁻¹.

3.2.7.10.2. Producción

Durante la recolección de los frutos de las campañas 2004/2005 y 2005/2006 se pesó y contó todos los frutos de cada árbol, así como se midió el peso individual de cada fruto. Los pesajes se realizaron con una báscula manual de 50 kg con precisión de ± 0.25 kg. La recolección se llevó a cabo entre la última semana de febrero y la primera de marzo.

3.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico de los diferentes experimentos se realizó mediante el análisis de la varianza de un sistema factorial utilizando el programa estadístico Statgraphics 5.1. Plus, considerando un máximo de dos factores en cada experimento. En este caso, los efectos de los dos factores estudiados se investigan de forma simultánea. Los efectos diferenciales de un factor sobre otro reciben el nombre de interacción. La presencia de interacciones en un análisis de la varianza incrementa el rango de validez del experimento. Incluso si no se detectan interacciones, en los experimentos factoriales los resultados son más ampliamente aplicables, puesto que se ha demostrado que los efectos principales de los tratamientos se mantienen para un rango más grande de condiciones (Little y Hills, 1976).

Cuando se observaron diferencias significativas las medias se compararon utilizando la prueba de rango múltiple de Duncan. Esta prueba es la más ampliamente utilizada entre diversas pruebas de rango múltiple disponibles. Evita la comisión de errores inherentes al empleo discriminado de la prueba MDS. Esta prueba se utiliza más apropiadamente cuando diversos tratamientos no relacionados se incluyen en un experimento (Little y Hills, 1976).

Otra herramienta utilizada en este trabajo ha sido el estudio de correlación y regresión entre dos variables. La forma lineal es el tipo más sencillo de relación encontrada entre dos variables. Incluso si existen desviaciones pronunciadas de la linealidad para valores extremos de X e Y. En los casos en los que una recta no aportó suficiente información y fue necesario utilizar una curva, se utilizó el programa estadístico SigmaPlot 2000 y se seleccionaron diferentes curvas, especialmente polinómicas. Para determinar cual es la curva que mejor se ajusta a los datos se utilizó el método Schwartz'z Bayesian Criterion (SBC), eligiendo la curva que obtenga el menor valor de SBC (Litell y col., 1996):

$$SBC = n \times \ln \left(\frac{SSE}{n} \right) + \ln(n) \times P$$

Siendo:

“n” el número de observaciones en el modelo.

“P” el número de parámetros.

“SSE” la suma de cuadrados del error de la regresión obtenida.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. RESPUESTA FISIOLÓGICA A LA SALINIDAD DE PLÁNTULAS DE CITRANGE CARRIZO Y MANDARINO CLEOPATRA, Y DE LA VARIEDAD LANE LATE SOBRE AMBOS PATRONES

4.1.1. Concentración de iones salinos

4.1.1.1. Cloruro

Los niveles de cloruro encontrados en las raíces de las plantas de los tratamientos control representaron aproximadamente el triple de los encontrados en tallos u hojas de las mismas, independientemente de la combinación estudiada (Tabla 4.1 y Figuras 4.1, 4.2, 4.3 y 4.4). En este sentido, la raíz actúa como barrera para el paso de Cl⁻ hacia la parte aérea, incluso cuando los niveles de Cl⁻ en el medio radicular son bajos. Al aumentar la concentración de NaCl en el medio los niveles de Cl⁻ se incrementaron en los distintos órganos y fueron aumentando con el tiempo de exposición a los mismos.

Tabla 4.1. Efecto de la salinidad y del patrón sobre la composición en cloruro en los diferentes órganos de la planta al final del experimento.

Factores		Cloruro (%)			
		Hoja	Raíz	Tallo patrón	Tallo variedad
Combinación	Carrizo	0.902b	1.385b	0.463	-
	Cleopatra	0.296a	1.459b	0.377	-
	LL/Carrizo	0.951b	1.247ab	0.487	0.744
	LL/Cleopatra	0.518a	1.021a	0.549	0.377
Sal (mM NaCl)	0	0.232a	0.748a	0.223a	0.253a
	20	0.466a	1.255b	0.426b	0.474ab
	40	0.850b	1.569c	0.558c	0.706bc
	60	1.120b	1.539bc	0.670c	0.811c
Anova					
Combinación		19 ***	4 *	ns	35 ***
Dosis Sal		30 ***	14 ***	19 ***	16 ***
Dosis Sal x combinación		3 *	ns	ns	ns

*, *** y 'ns' indican diferencias significativas a $P < 0.05$, $P < 0.001$ y no significativas respectivamente. Para cada columna, valores diferentes indican diferencias significativas al 95% según el test de Rango múltiple de Duncan.

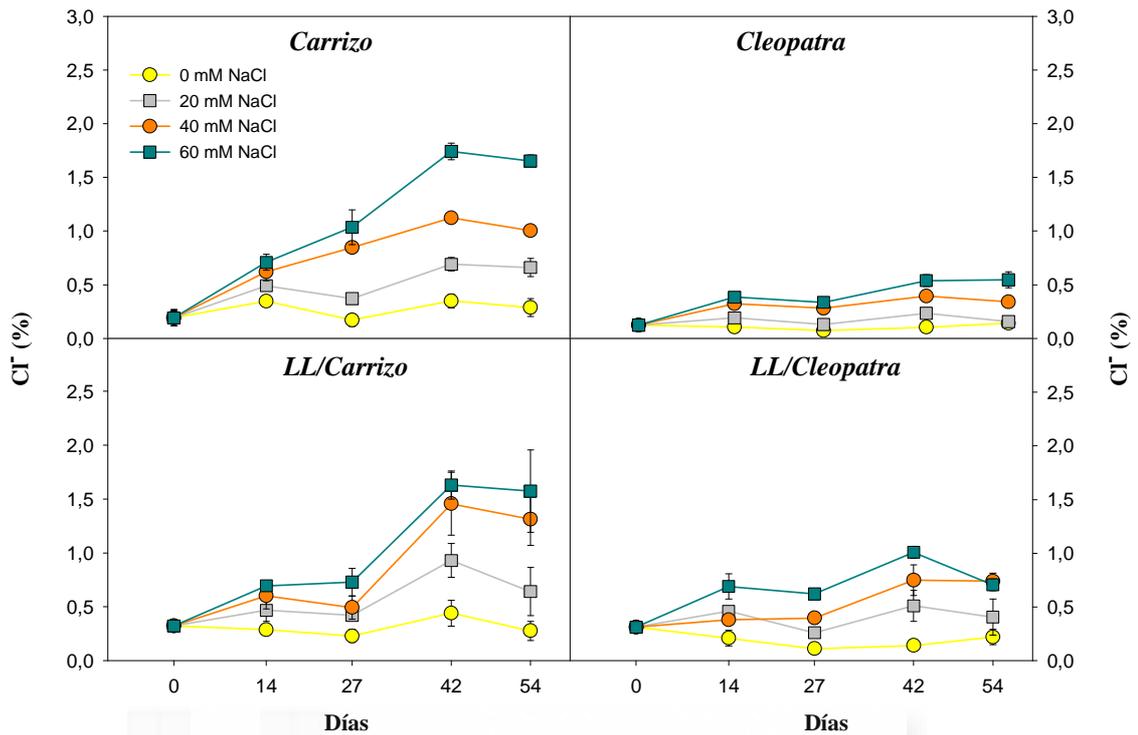


Figura 4.1. Evolución de la concentración de cloruro en la hoja en el transcurso del periodo experimental.

La raíz fue el órgano que mayor concentración de Cl^- alcanzó cuando se aplicaron los tratamientos salinos, indicando nuevamente su papel de barrera en la entrada de Cl^- en la planta cuando las concentraciones de Cl^- en el medio son elevadas.

La acumulación de Cl^- en los diferentes órganos fue muy diferente dependiendo de la combinación. Las raíces de los patrones Carrizo y Cleopatra acumularon niveles similares de Cl^- aunque en la combinación Lane late/Cleopatra se encontraron niveles inferiores de Cl^- a los del resto de las combinaciones (Figura 4.4). Moya y col. (1999) mostraron que la absorción de Cl^- por la raíz y la concentración del mismo en la savia del xilema eran muy similares en especies sensibles y tolerantes, y por tanto más que diferencias en las propiedades de permeabilidad, es el tamaño del sistema radicular uno de los factores determinantes de la cantidad de Cl^- que puede ser absorbido. Sin embargo, la resistencia a Cl^- no solo depende del sistema radicular sino también de las propiedades de la parte aérea ya que tiende a acumularse en las hojas de los cítricos y esta acumulación es función de la edad, posición y del genotipo (Chapman, 1968; Walker y col., 1982; Bañuls y col., 1997).

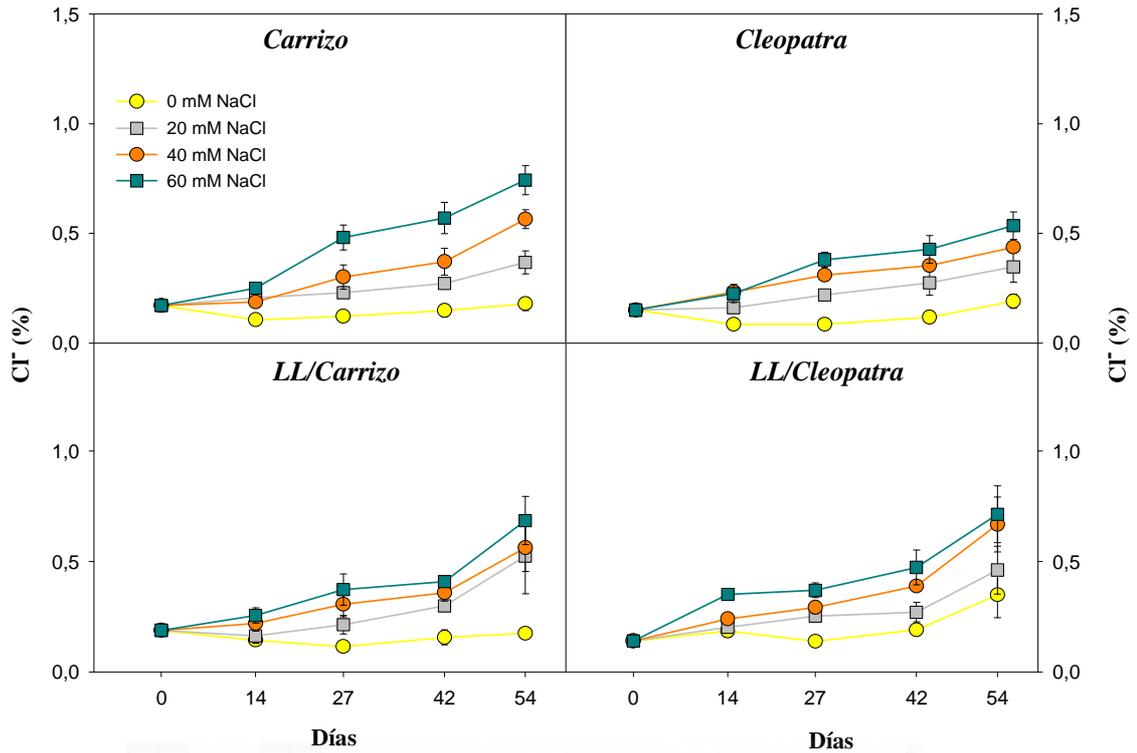


Figura 4.2. Evolución de la concentración de cloruro en el tallo del patrón en el transcurso del periodo experimental.

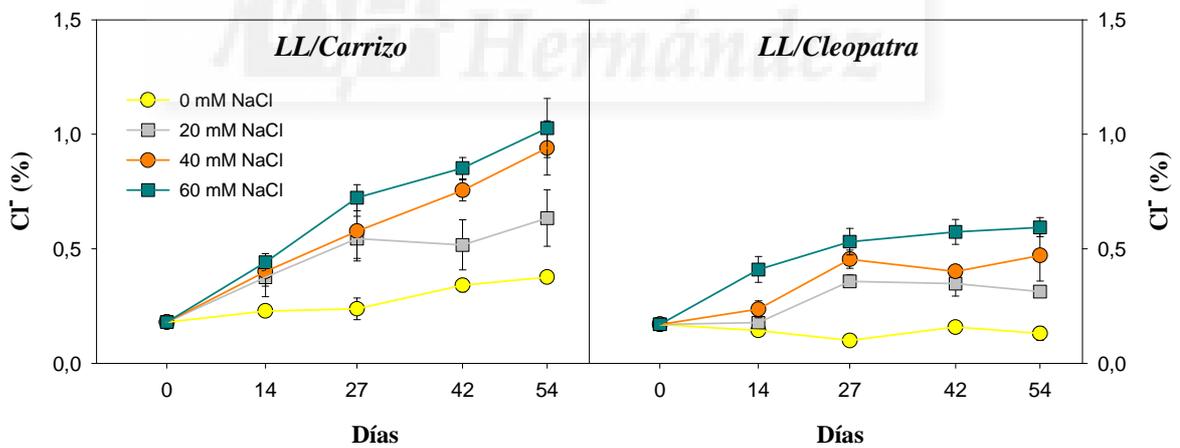


Figura 4.3. Evolución de la concentración de cloruro en el tallo de la variedad en el transcurso del periodo experimental.

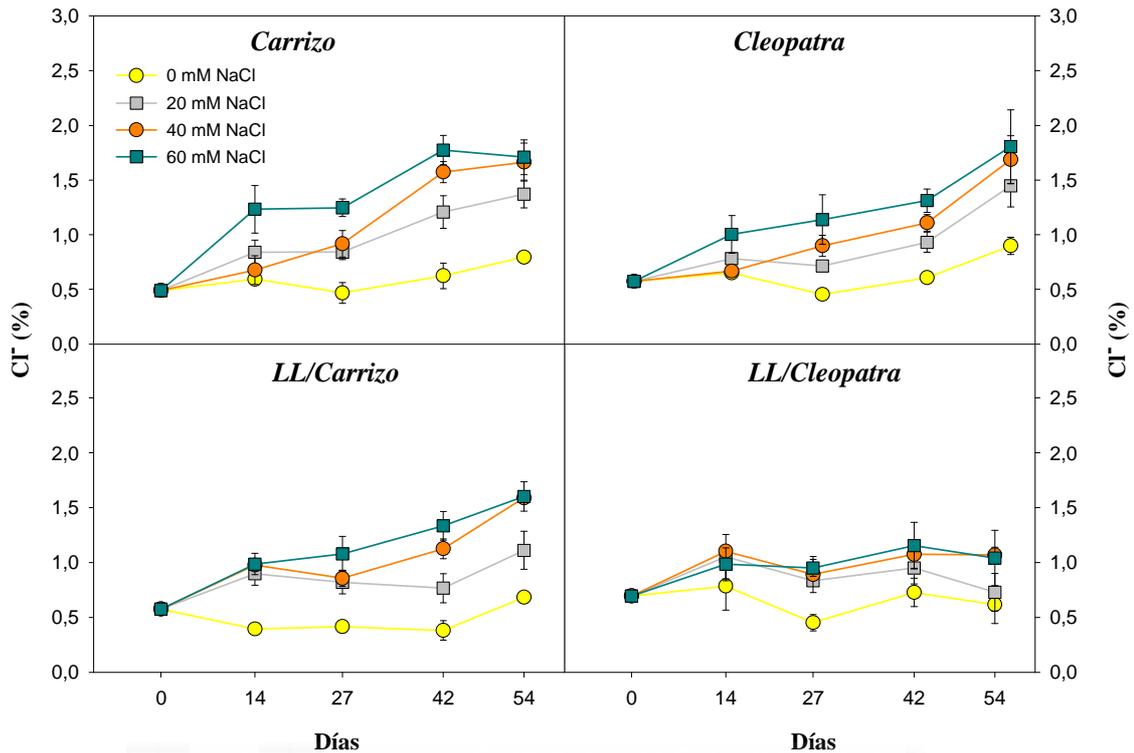


Figura 4.4. Evolución de la concentración de cloruro en la raíz en el transcurso del periodo experimental.

La capacidad para excluir Cl^- de la parte aérea depende principalmente de las características físicas de la raíz (Moya y col., 1999; García-Sánchez y col., 2005; Prior y col., 2007). En este experimento, Cleopatra transporta menos Cl^- a la parte aérea ya que los niveles encontrados en el tallo del patrón (Figura 4.2), el tallo de la variedad (Figura 4.3) y sobre todo en las hojas (Figura 4.1) siguen siendo inferiores en este patrón.

Al final del experimento, Carrizo llegó a acumular en hojas aproximadamente el triple de Cl^- que Cleopatra en las combinaciones sin injertar y un poco menos en las injertadas (Tabla 4.1 y Figura 4.5). Todo esto indica un diferente comportamiento en la exclusión de Cl^- en ambos patrones. Tanto Carrizo como Cleopatra absorben cantidades similares de Cl^- en raíz, sin embargo mientras Cleopatra es capaz de limitar el transporte del mismo hacia los órganos fotosintéticamente activos para evitar dañarlos, Carrizo no presenta este mecanismo por lo que acumula grandes cantidades de Cl^- en tallo y principalmente en hoja.

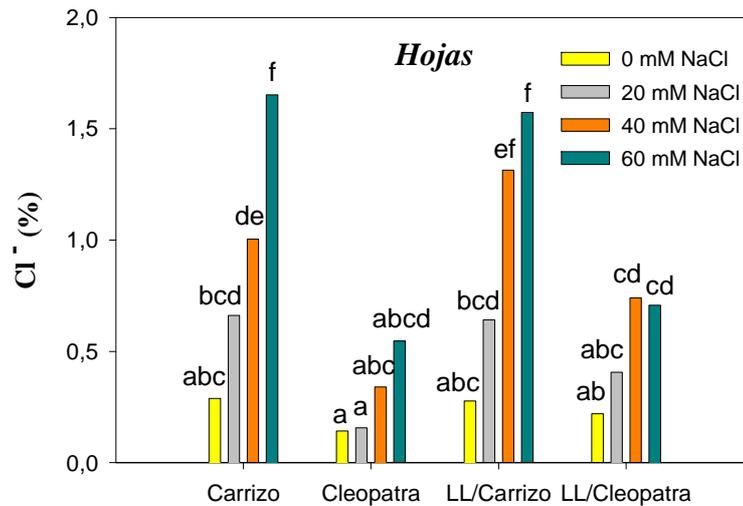


Figura 4.5. Niveles de cloruro en hoja para las diferentes combinaciones al final del periodo experimental.

La mayor acumulación de Cl^- en Carrizo que en Cleopatra hace pensar que la fuerza conductora para la absorción de Cl^- está limitada respecto a Carrizo. Esta fuerza conductora parece estar directamente relacionada en cítricos con la absorción de agua y con la transpiración (Castle y Krezdorn, 1975; Syvertsen y col., 1989; Walker y col., 1990; Storey, 1995; Moya y col., 1999, Syvertsen y col., 2008) ya que en ambos patrones se han encontrado correlaciones positivas del Cl^- en hoja con el agua absorbida por un lado y con la transpiración por otro (Moya y col., 1999). La estrategia de Cleopatra parece estar relacionada con un ritmo de crecimiento moderado ya que este patrón es de lento crecimiento (Wutscher, 1979), con características fotosintéticas, anatómicas y fisiológicas, incluyendo la velocidad de transpiración, de una planta poco vigorosa (Romero-Aranda y col., 1998; Moya y col., 1999). El vigor de las plantas, en general aumenta y/o acelera los daños producidos por la salinidad (Moya y col., 2002).

La tolerancia de los cítricos a la salinidad se ha relacionado estrechamente con la capacidad del patrón para excluir Cl^- . Su absorción bajo condiciones salinas está mediada por relaciones morfológicas entre la parte aérea y la raíz (Altman, 1973; Storey, 1995; Moya y col., 1999). Tanto Carrizo como Cleopatra acumulan Cl^- en un caso y Na^+ en otro. Sin embargo, los daños asociados a la salinidad se asocian más con la acumulación de Cl^- que Na^+ en hoja (Cooper y col., 1952; Walker y Douglas, 1983;

Bañuls y col., 1997; Romero-Aranda y col., 1998). La mayor acumulación de Cl⁻ en hoja en Carrizo que en Cleopatra (Figura 4.5) podría ser la responsable de la mayor disminución de los parámetros de intercambio gaseoso debido a la salinidad observados en Carrizo (López-Climent y col., 2008).

4.1.1.2. Sodio

Las concentraciones de sodio encontradas en los tratamientos control de hoja y raíz son aproximadamente el doble de las de los tallos, independientemente de la combinación estudiada (Figuras 4.6, 4.7, 4.8 y 4.9). En general, al aumentar la concentración de NaCl en el medio se observa un incremento de la concentración de sodio, que aumentaba con el tiempo de aplicación de los tratamientos. A partir de las dos primeras semanas desde la aplicación de los tratamientos, los diferentes niveles salinos marcaron grandes diferencias en los niveles de Na⁺ en todos los órganos aunque fueron más evidentes en hoja y raíz (Tabla 4.2).

Tabla 4.2. Efecto de la salinidad y del patrón sobre la composición en sodio en los diferentes órganos de la planta al final del experimento.

Factores		Sodio (%)			
		Hoja	Raíz	Tallo patrón	Tallo variedad
Combinación	Carrizo	0.380a	0.571b	0.227ab	-
	Cleopatra	0.755b	0.402a	0.179a	-
	LL/Carrizo	0.626ab	0.630b	0.216ab	0.188
	LL/Cleopatra	0.827b	0.393a	0.201b	0.222
Sal (mM NaCl)	0	0.236a	0.274a	0.127a	0.134a
	20	0.517b	0.453b	0.186b	0.197b
	40	0.763c	0.550b	0.238c	0.220bc
	60	1.074d	0.718c	0.273d	0.271c
Anova					
Combinación		31 ***	22 ***	2 *	8 *
Dosis Sal		42 ***	53 ***	39 ***	8 ***
Dosis Sal x combinación		2 *	ns	ns	ns

*, *** y 'ns' indican diferencias significativas a P<0.05, P<0.001 y no significativas respectivamente. Para cada columna, valores diferentes indican diferencias significativas al 95% según el test de Rango múltiple de Duncan.

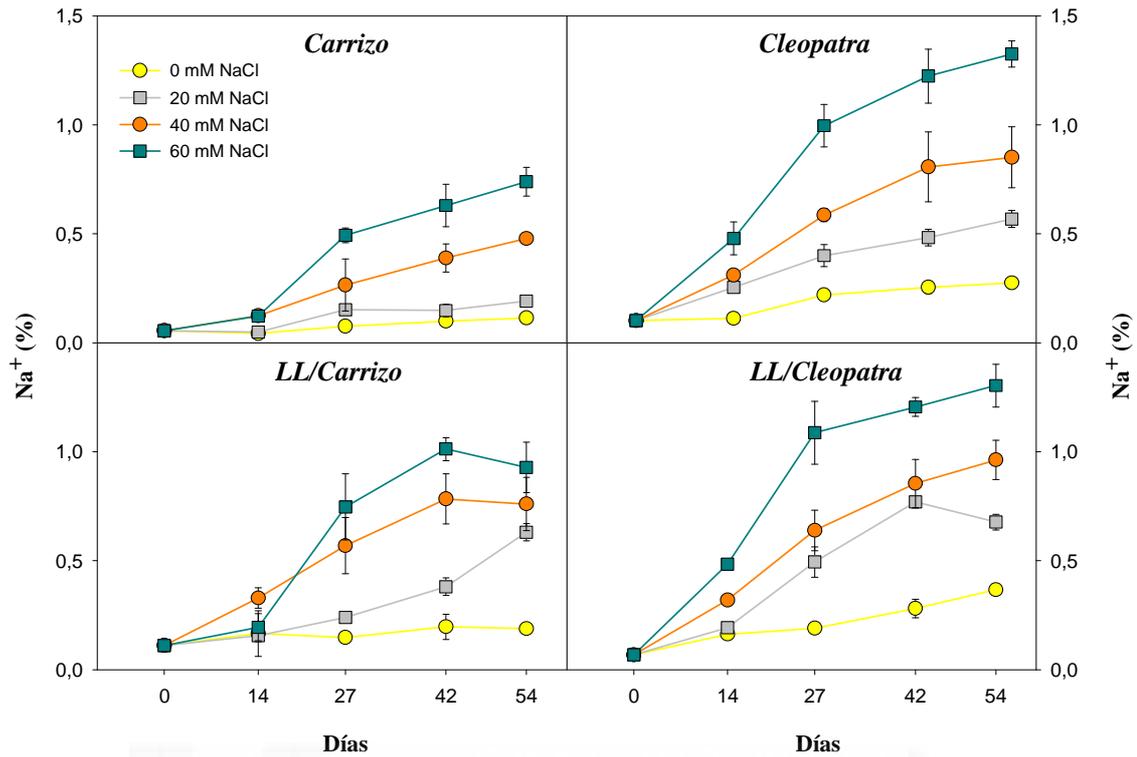


Figura 4.6. Evolución de la concentración de sodio en la hoja en el transcurso del periodo experimental.

Por otra parte, al aplicar los diferentes tratamientos salinos, el órgano que mayor cantidad de sodio acumuló fue la hoja con casi cinco veces la concentración de Na^+ para el tratamiento 60 mM NaCl respecto al control al final del experimento (Tabla 4.2). Sin embargo, en estas condiciones las raíces no llegaron a acumular tres veces los niveles del control y los tallos tan solo llegaron al doble de los mismos.

Diferentes estudios de salinidad en cítricos indican que los niveles de Na^+ en la planta pueden ser modulados por el patrón (Bañuls y col., 1990; García-Legaz y col., 1992, 1993; Bañuls y Primo-Millo, 1995; García-Sánchez y col., 2002b) y por la variedad (Cooper y col., 1952; Lloyd y col., 1989, 1990; Levy y Shalhevet, 1990).

En nuestro experimento el efecto de la aplicación de la salinidad en las concentraciones de Na^+ fue muy diferente dependiendo de la combinación y del órgano estudiado. En hojas, Cleopatra acumuló aproximadamente el doble de sodio que Carrizo tanto en las combinaciones injertadas como sin injertar aunque en esta última el efecto fue más acusado (Figura 4.6).

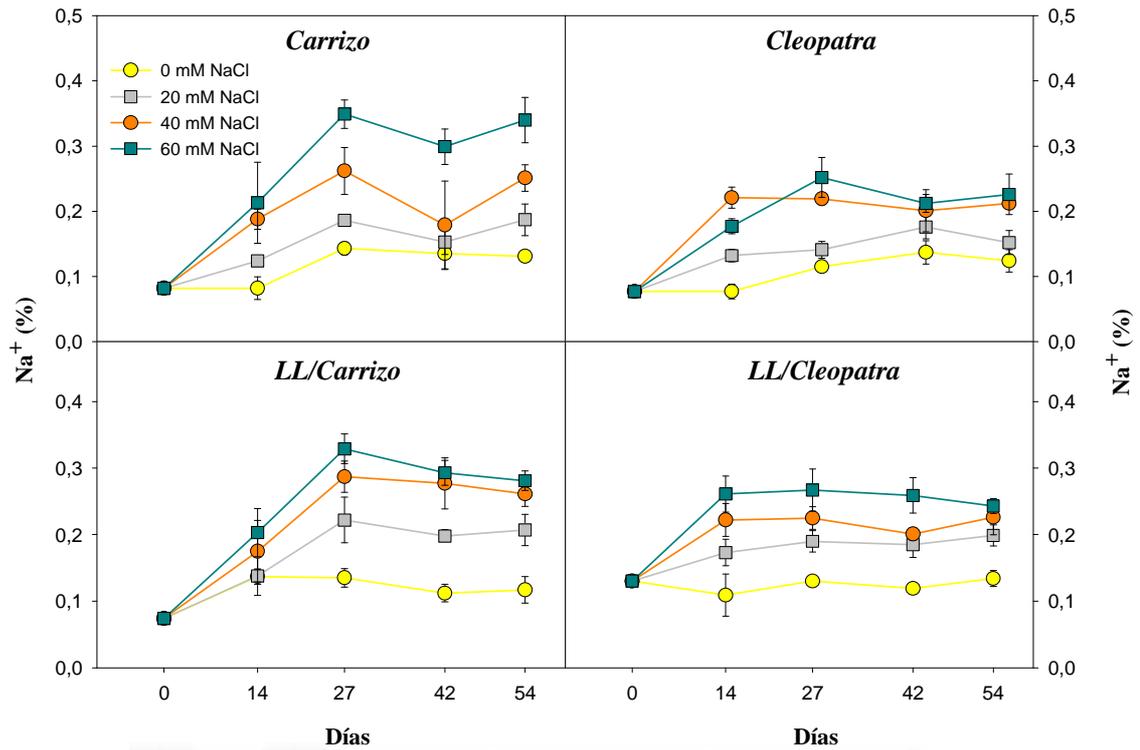


Figura 4.7. Evolución de la concentración de sodio en el tallo del patrón en el transcurso del periodo experimental.

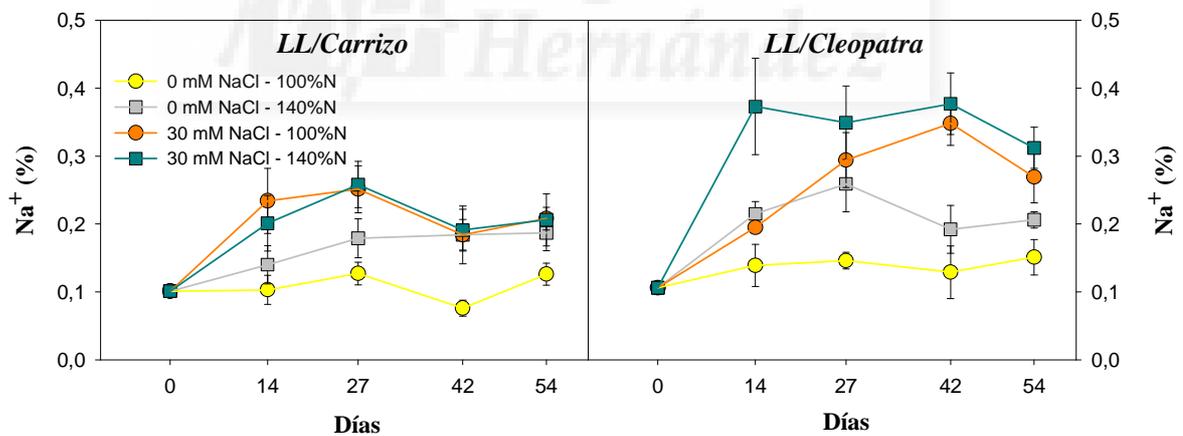


Figura 4.8. Evolución de la concentración de sodio en el tallo de la variedad en el transcurso del periodo experimental.

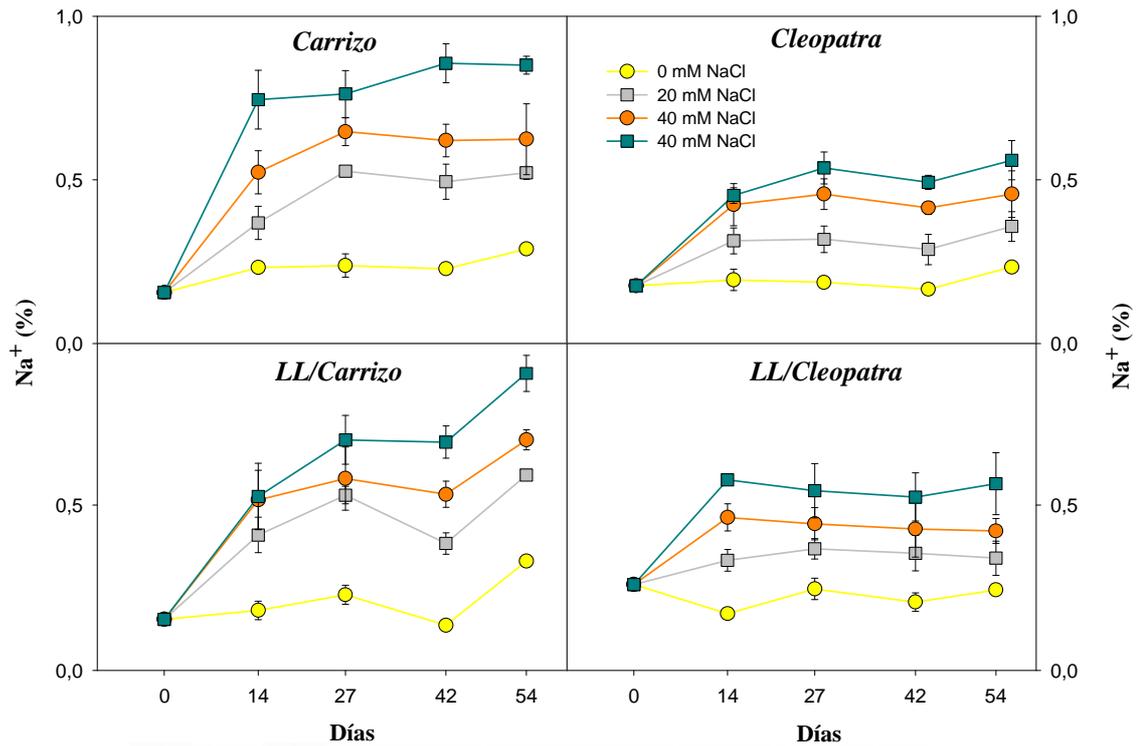


Figura 4.9. Evolución de la concentración de sodio en la raíz en el transcurso del periodo experimental.

En las combinaciones injertadas, el tallo de la variedad también acumuló mayor concentración de Na^+ en la combinación Lane late/Cleopatra que sobre Carrizo (Figura 4.8). Por el contrario también se observaron concentraciones de Na^+ significativamente mayores en Carrizo que en Cleopatra en la raíz y similares en el tallo del patrón (Figuras 4.7 y 4.9). Esto indica que, el Na^+ que absorben las raíces de Carrizo permanece en primer lugar en ellas, evitando su transporte a la parte aérea.

Cuando la raíz se satura, el Na^+ absorbido se acumula principalmente en el tallo del patrón y finalmente pasa a la parte aérea (hojas y tallo de la variedad en Lane late/Carrizo). Por el contrario, el Na^+ absorbido por las raíces de Cleopatra prácticamente no permanece ni en la raíz ni en el tallo del patrón y lo transporta hasta la parte aérea (hojas y tallo de la variedad en Lane late/Cleopatra) para posteriormente eliminarlo cuando la hoja caiga al suelo.

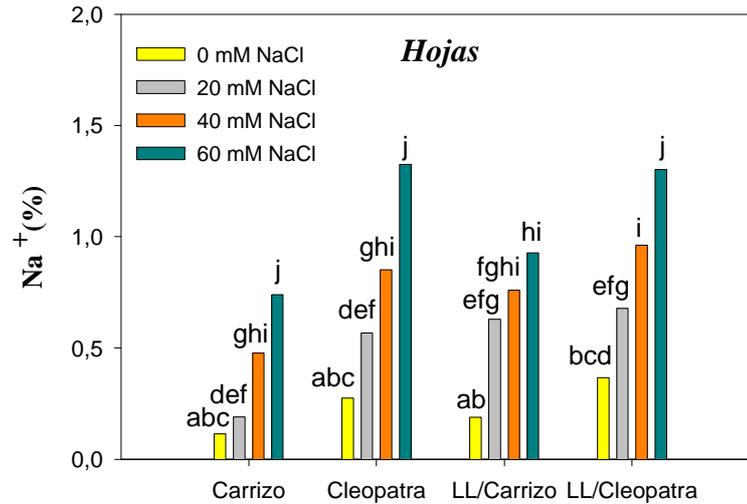


Figura 4.10. Niveles de sodio en hoja para las diferentes combinaciones al final del periodo experimental.

Estos resultados confirman que Carrizo es un buen excluidor de Na⁺ tal y como se ha visto en experimentos de invernadero usando plantas injertadas de naranjo Valencia (Bañuls y col., 1997) como en plantas no injertadas (Zekri y Parson, 1992) o en condiciones de campo y árboles adultos de pomelo Star Ruby (García-Sánchez y col., 2003). Nuestros datos sugieren que el mecanismo de exclusión de Na⁺ depende de la acumulación mayoritaria en la raíz ya que Carrizo acumuló una mayor concentración de Na⁺ en raíz y menos en hoja que Cleopatra, mostrando que puede excluir parcialmente el Na⁺ de las hojas acumulándolo en las raíces. Un mecanismo similar se ha observado previamente en *Poncirus trifoliata* (Walker, 1986) y sus híbridos Swingle citrumelo y Carrizo citrange (Sykes, 1992).

Al final del experimento se observa que las combinaciones injertadas acumularon significativamente más Na⁺ en hoja que sus correspondientes patrones sin injertar mientras que no hubo diferencias significativas entre las dos combinaciones injertadas (Tabla 4.2 y Figura 4.10). Las complejas interacciones patrón-variedad regulan las concentraciones de Na⁺ en las hojas de los cítricos (Lloyd y col., 1990; Murkute y col., 2005).

4.1.2. Relaciones hídricas

En el transcurso del periodo experimental, el potencial hídrico de xilema (Ψ_x) se mantuvo en valores comprendidos entre -0.5 y -0.7 MPa en los tratamientos control (Figura 4.11). En general, tanto los patrones Carrizo y Cleopatra, como la variedad Lane late injertada sobre cada uno de ellos, mostraron valores similares de Ψ_x . Al final del periodo experimental solamente el valor de Ψ_x de Lane late/Cleopatra fue significativamente mayor que el Ψ_x de Cleopatra (Tabla 4.3).

La aplicación de riego salino provocó una disminución lineal del potencial hídrico de las hojas (Tabla 4.3), siendo esta reducción significativa cuando el incremento de salinidad fue de 20 mM de NaCl en el punto de mayor estrés (Tabla 4.3). Después de 55 días de aplicación de los tratamientos salinos, los valores de Ψ_x se mantuvieron por encima de los -1.0 MPa en todos los tratamientos y combinaciones.

Tabla 4.3. *Parámetros de potencial hídrico, potencial osmótico, potencial de turgor y de contenido relativo en agua en hoja en la última fecha del experimento.*

Factores		Ψ_x (MPa)	Ψ_{π} (MPa)	Ψ_{π}^{100} (MPa)	Ψ_p (MPa)	CRA (%)
Combinación	Carrizo	-0.78ab	-4.12a	-2.47b	3.33	87.76a
	Cleopatra	-0.86a	-3.86ab	-2.73a	2.99	89.65b
	LL/Carrizo	-0.74b	-3.64b	-2.62ab	2.88	87.32a
	LL/Cleopatra	-0.73b	-3.66b	-2.57ab	2.93	87.55a
Sal (mM NaCl)	0	-0.63c	-3.30c	-2.29c	2.66a	88.84b
	20	-0.74b	-3.62bc	-2.48b	2.85a	88.02ab
	40	-0.84a	-3.88b	-2.65b	3.03a	88.12ab
	60	-0.90a	-4.47a	-2.97a	3.59b	87.30a
Anova						
Combinación		5 **	4 *	4 *	ns	3 *
Dosis Sal		16 ***	18 ***	26 ***	8 ***	9 ***
Dosis Sal x combinación		ns	ns	ns	ns	ns

*, **, *** y 'ns' indican diferencias significativas a $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$ y no significativas respectivamente. Para cada columna, valores diferentes indican diferencias significativas al 95% según el test de Rango múltiple de Duncan.

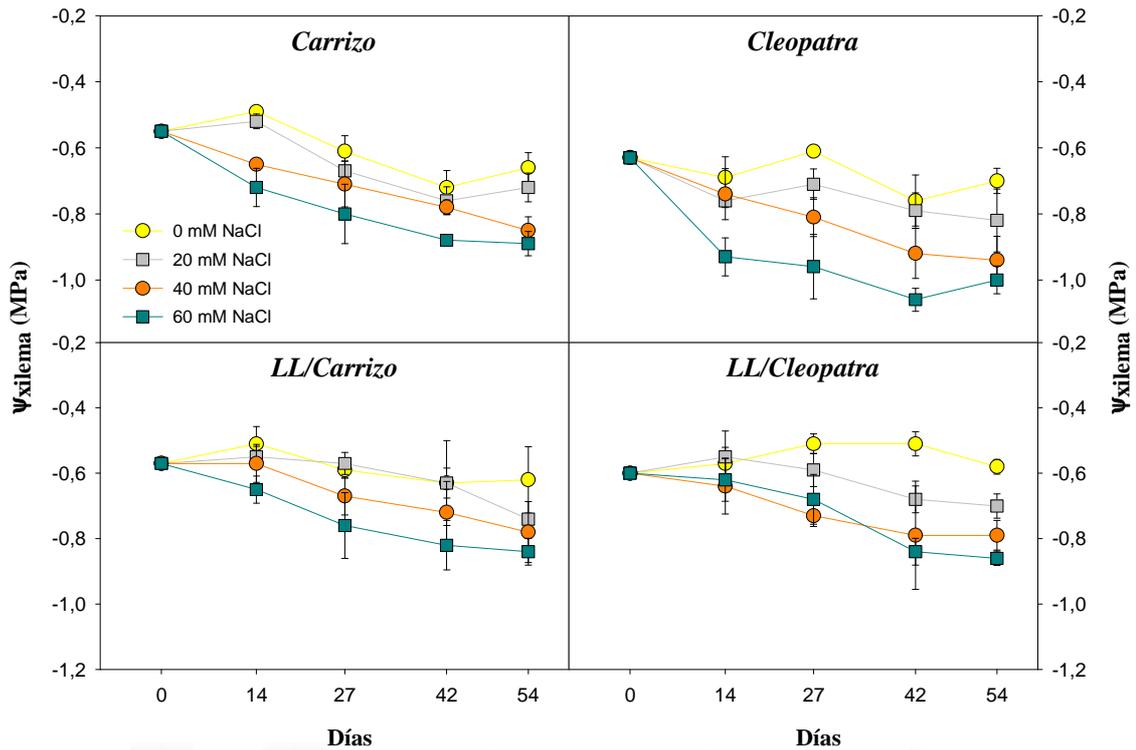


Figura 4.11. Evolución del potencial hídrico de xilema (Ψ_x) medido al mediodía durante el periodo experimental. Cada punto representa la media de 4 repeticiones por tratamiento \pm ES.

Aunque el potencial osmótico (Ψ_π) disminuyó hasta el final del experimento en los tratamientos control, esta disminución fue más acusada para los tratamientos salinos (Figura 4.12). Después de 55 días de riego con los tratamientos salinos, Ψ_π disminuyó significativamente con la salinidad (Tabla 4.3). Solamente el patrón Carrizo mostró unos valores de Ψ_π significativamente menores que Lane late injertado sobre Carrizo.

Por otro lado, el turgor (Ψ_p) fue incrementándose durante el experimento en todos los tratamientos (Figura 4.13) y al final de experimento solamente las plantas sometidas a una concentración de 60 mM de NaCl mostraron valores de turgor significativamente mayores que en los demás tratamientos (Tabla 4.3).

Aunque la salinidad disminuye el agua contenida en las células de la hoja y los potenciales osmóticos, la mayoría de los estudios sobre estrés salino en cítricos indican que éstas mantienen los valores de turgor (Walker y col., 1983, Lloyd y col., 1987a, 1987b), mediante un rápido ajuste osmótico y con una alta eficiencia (Maas, 1992).

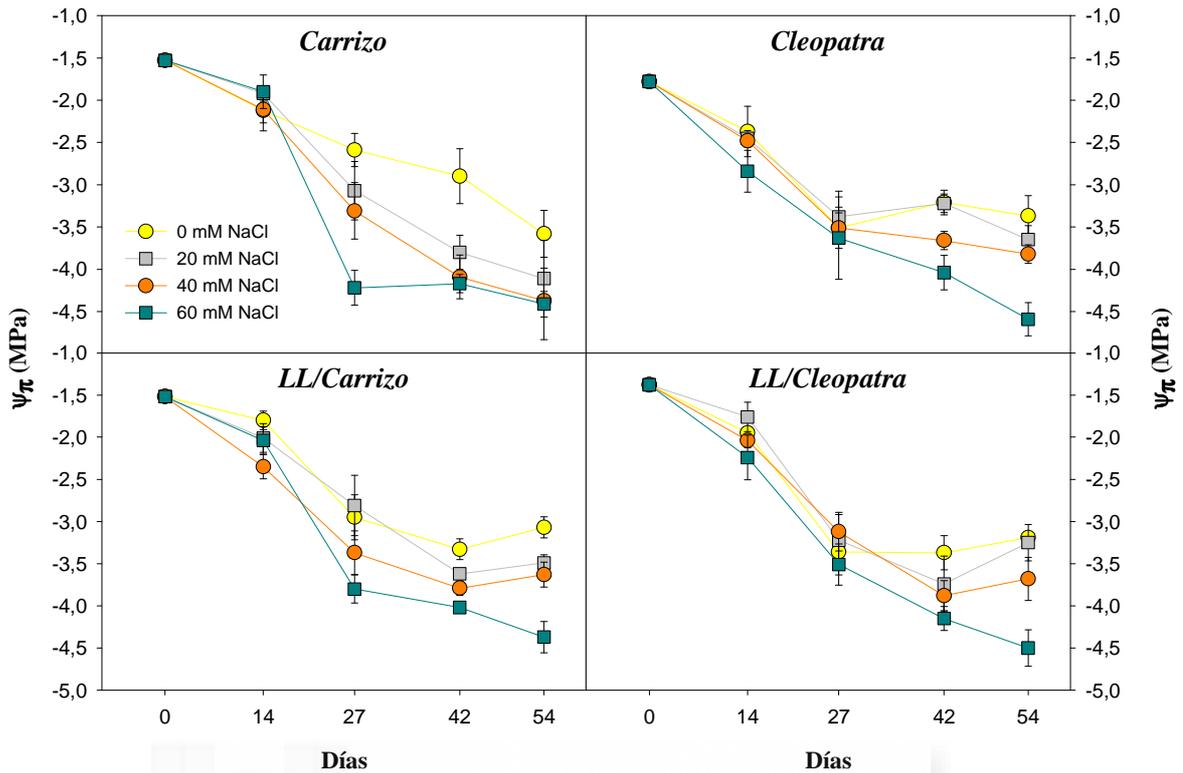


Figura 4.12. Evolución del potencial osmótico (Ψ_{π}) durante el periodo experimental. Cada punto representa la media de 4 repeticiones por tratamiento \pm ES.

Este efecto está promovido por la acumulación foliar de Na^+ y Cl^- que permite a las hojas de los cítricos alcanzar valores normales o incluso mayores de presión de turgor (Lloyd y col., 1987a, 1987b, 1990; Behboudian y col., 1986; Zekri y Parsons, 1990b; Lloyd y Howie, 1989b; Romero-Aranda y col., 1998; García-Sánchez y Syvertsen, 2006; Pérez-Pérez y col., 2007).

En este experimento, las hojas de Carrizo acumularon significativamente más Cl^- que las hojas de Cleopatra y por el contrario, Cleopatra acumuló más Na^+ que Carrizo. Esta mayor acumulación de Na^+ y Cl^- podría ser la responsable del ajuste osmótico para que finalmente se mantengan constantes o incrementen los valores de presión de turgor. De hecho se observaron correlaciones negativas entre Ψ_x y Ψ_{π} con los niveles de Na^+ y Cl^- en las diferentes partes de la planta estudiadas y una correlación positiva con el turgor (Tabla 4.4).

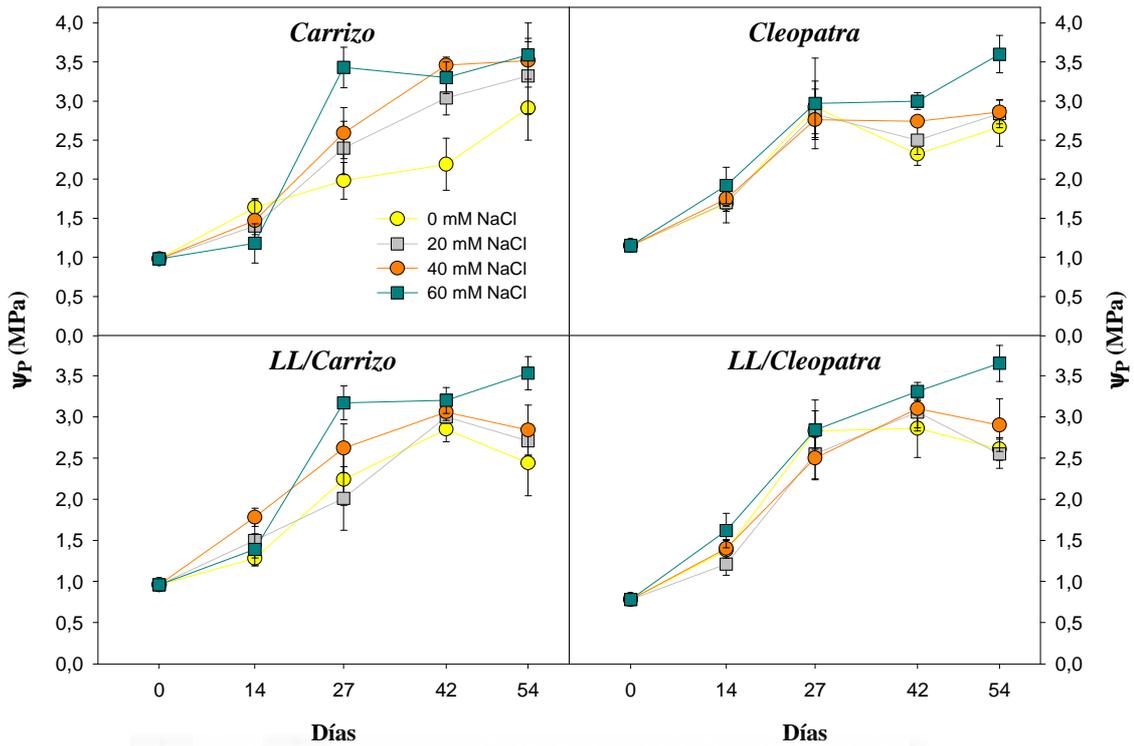


Figura 4.13. Evolución del potencial de turgor (Ψ_p) durante el periodo experimental. Cada punto representa la media de 4 repeticiones por tratamiento \pm ES.

Tabla 4.4. Coeficientes de correlación de Pearson entre los parámetros de relaciones hídricas y los niveles de Na^+ y Cl^- en la planta al finalizar el experimento.

		Ψ_x	Ψ_π	Ψ_p
Na^+	Hoja	-0.52 ***	-0.40 ***	0.25 *
	Raíz	-0.50 ***	-0.45 ***	0.38 **
	Tallo patrón	-0.48 ***	-0.43 ***	0.30 *
	Tallo variedad	-0.58 ***	-0.54 **	0.37 *
Cl^-	Hoja	ns	-0.40 **	0.25 *
	Raíz	-0.52 ***	-0.38 **	0.25 *
	Tallo patrón	-0.34 ***	-0.39 **	0.49 *
	Tallo variedad	-0.54 ***	-0.46 **	ns

*, **, *** y 'ns' indican diferencias significativas a $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$ y no significativas respectivamente.

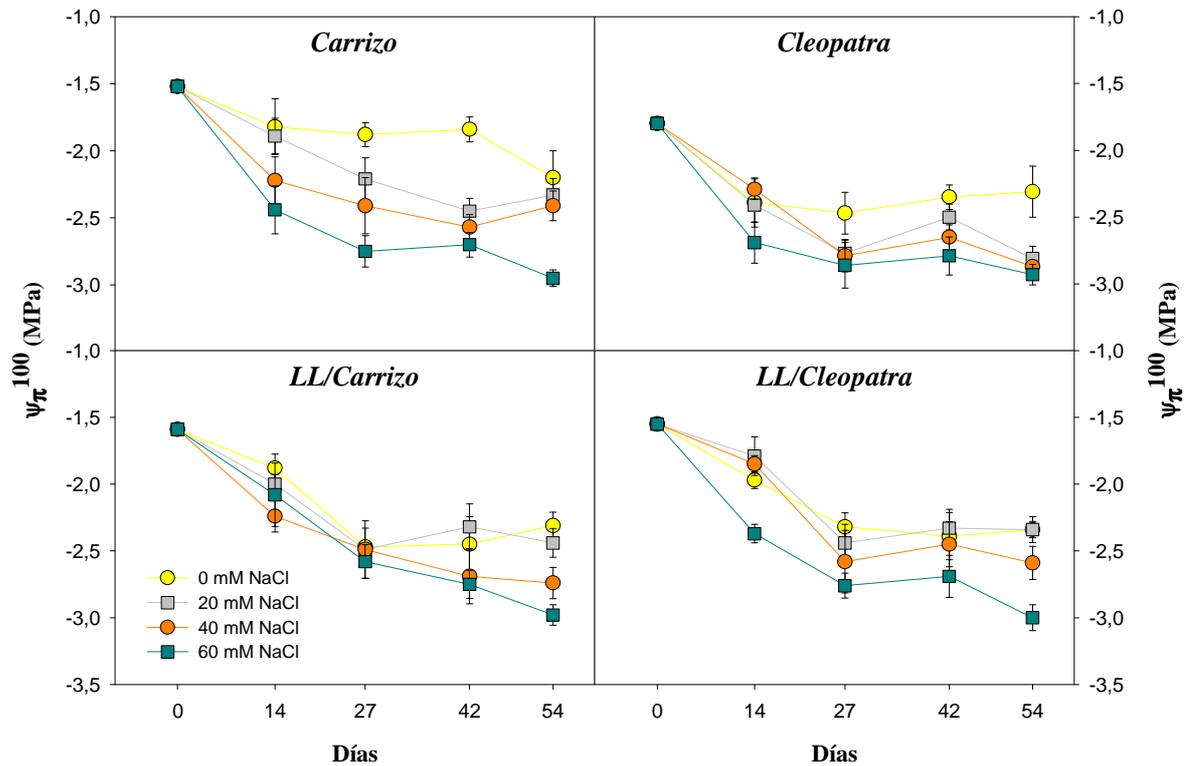


Figura 4.14. Evolución del potencial osmótico a plena turgencia (Ψ_{π}^{100}) durante el periodo experimental. Cada punto representa la media de 4 repeticiones por tratamiento \pm ES.

En general, los valores de potencial osmótico a plena turgencia (Ψ_{π}^{100}) fueron disminuyendo en todos los tratamientos durante el desarrollo del experimento (Figura 4.14). Sin embargo, a partir de los 28 días de la aplicación de los diferentes tratamientos salinos, esta tendencia fue cada vez menos acusada, excepto en las plantas sometidas a una concentración de 60 mM de NaCl en las cuales el Ψ_{π}^{100} continuó disminuyendo. Por otro lado, en Cleopatra se observaron valores de Ψ_{π}^{100} significativamente más elevados que en Carrizo (Tabla 4.3).

Finalmente, el riego con aguas salinas provocó un descenso del contenido relativo en agua en hoja (CRA) en la primera parte del experimento tanto para los tratamientos control como para los salinos (Figura 4.15). Sin embargo, a partir de este momento los valores de CRA tendieron a estabilizarse para todas las combinaciones estudiadas. Al finalizar el experimento, tras 55 días bajo los tratamientos salinos, solo el tratamiento con 60 mM NaCl tuvo valores significativamente más bajos que el resto de tratamientos (Tabla 4.3).

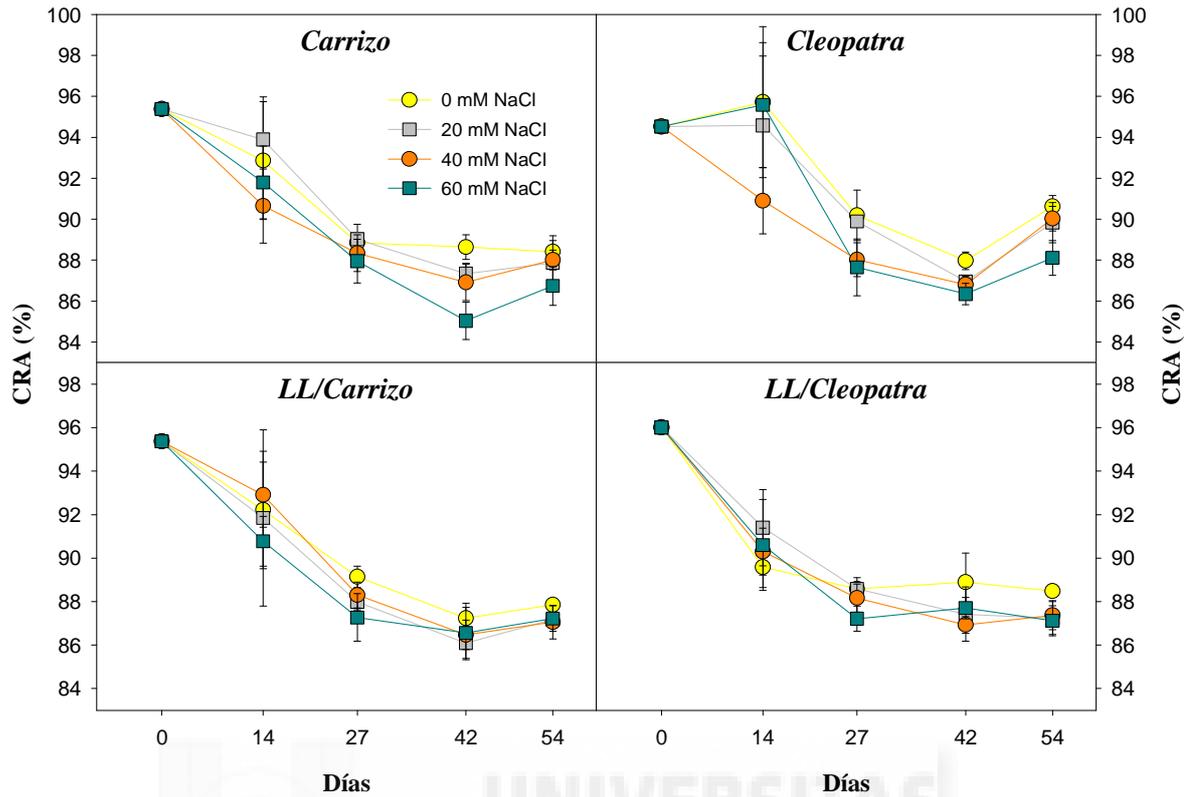


Figura 4.15. Evolución CRA durante el periodo experimental. Cada punto representa la media de 4 repeticiones por tratamiento \pm ES.

Por otra parte, el contenido relativo de agua del patrón Cleopatra fue significativamente más elevado que el de Carrizo y al injertar la variedad Lane late sobre el patrón Cleopatra disminuyó el CRA de las hojas de la variedad.

4.1.3. Parámetros de intercambio gaseoso

Al finalizar el experimento, el patrón citrange Carrizo, el más vigoroso de los dos utilizados, obtuvo, con independencia del tratamiento aplicado, valores significativamente mayores que Cleopatra en los diferentes parámetros de intercambio gaseoso comparados. Por otro lado, cuando los diferentes patrones fueron comparados con sus homólogos injertados, solamente en Carrizo se pudieron apreciar valores más elevados de fotosíntesis (*A*) y de transpiración (*E*) que en Lane late/Carrizo (Tabla 4.5).

Las bajas tasas de asimilación de CO₂ observadas en el experimento (Figura 4.16) son típicas de los cítricos (Kriedemann, 1968, 1971; Syvertsen, 1984), lo cual puede atribuirse a una reducción de CO₂ desde los espacios intercelulares hasta los cloroplastos debido a la amplia suberificación de la pared celular (Kriedemann, 1971). Esta situación puede producir una elevada disminución de los niveles de oxígeno (Lloyd y col., 1987a), inhibiéndose sustancialmente incluso cuando se satura la asimilación de CO₂, por tanto en naranja la asimilación puede estar limitada por la actividad de la Rubisco cuando las concentraciones de CO₂ son muy elevadas.

Tabla 4.5. Parámetros de intercambio gaseoso *A* ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), *E* ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), g_s ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) y *A/E* ($\text{mmol CO}_2 \text{ mmol H}_2\text{O}^{-1}$) al final del periodo experimental. Cada valor corresponde a la media de 4 repeticiones por tratamiento.

Factores		<i>A</i>	<i>E</i>	g_s	<i>A/E</i>
Combinación	Carrizo	9.40b	2.84c	0.133c	3.43
	Cleopatra	6.74a	1.69ab	0.088b	3.32
	LL/Carrizo	6.82a	2.02b	0.106bc	3.69
	LL/Cleopatra	5.93a	1.46a	0.071a	3.82
Sal (mM NaCl)	0	9.18b	2.67c	0.149c	3.68
	20	7.91b	2.14b	0.103b	3.93
	40	6.44a	1.72ab	0.083ab	3.67
	60	5.37a	1.47a	0.063a	3.58
Anova					
Combinación		15 ***	19 ***	13 ***	ns
Dosis Sal		19 ***	14 ***	10 ***	ns
Dosis Sal x combinación		ns	ns	ns	ns

*** y 'ns' indican diferencias significativas a $P < 0.001$ y no significativas respectivamente. Para cada columna, valores diferentes indican diferencias significativas al 95% según el test de Rango múltiple de Duncan.

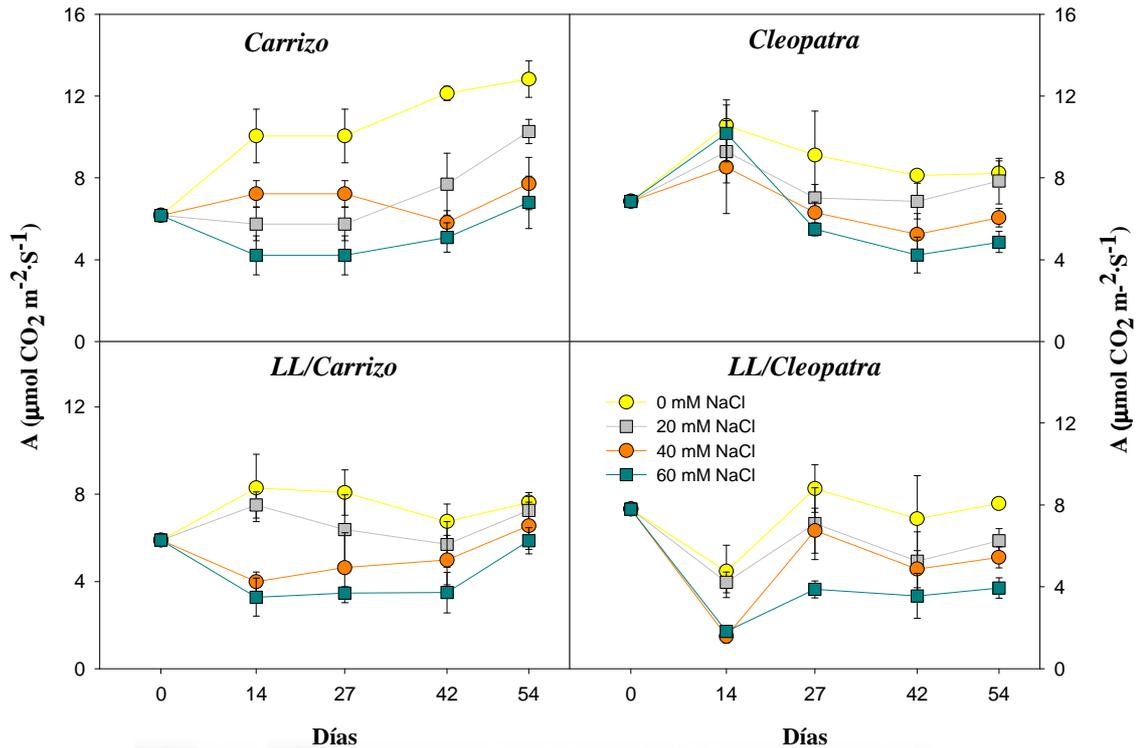


Figura 4.16. Evolución de de la tasa de fotosíntesis (A) durante el periodo experimental. Cada punto representa la media de 4 repeticiones por tratamiento \pm ES.

La aplicación de NaCl produjo, con independencia de la combinación ensayada, una disminución generalizada de los parámetros de intercambio gaseoso (Figuras 4.16, 4.17 y 4.18), siendo necesaria la aplicación de una concentración de 40 mM de NaCl para que se produjera una disminución significativa de A y tan solo de 20 mM para que disminuyeran E y la conductancia estomática (g_s) (Tabla 4.5).

El descenso de la asimilación de CO_2 , la conductancia estomática y el potencial hídrico en las hojas de las plantas de cítricos sometidos a riego salino se asocia principalmente con una acumulación de Cl^- en las hojas (Walker y col., 1982; Lloyd y col., 1989; Bañuls y Primo-Millo, 1992; García-Legaz y col., 1993; Romero-Aranda y col., 1998; García-Sánchez y col., 2002; Gimeno y col., 2009) o de Na^+ (Behboudian y col., 1986; Bañuls y Primo-Millo, 1992; García Legaz y col., 1993; Walker y col., 1993). En este experimento el patrón Cleopatra acumuló una mayor concentración de Na^+ en las hojas, mientras que Carrizo acumuló más Cl^- .

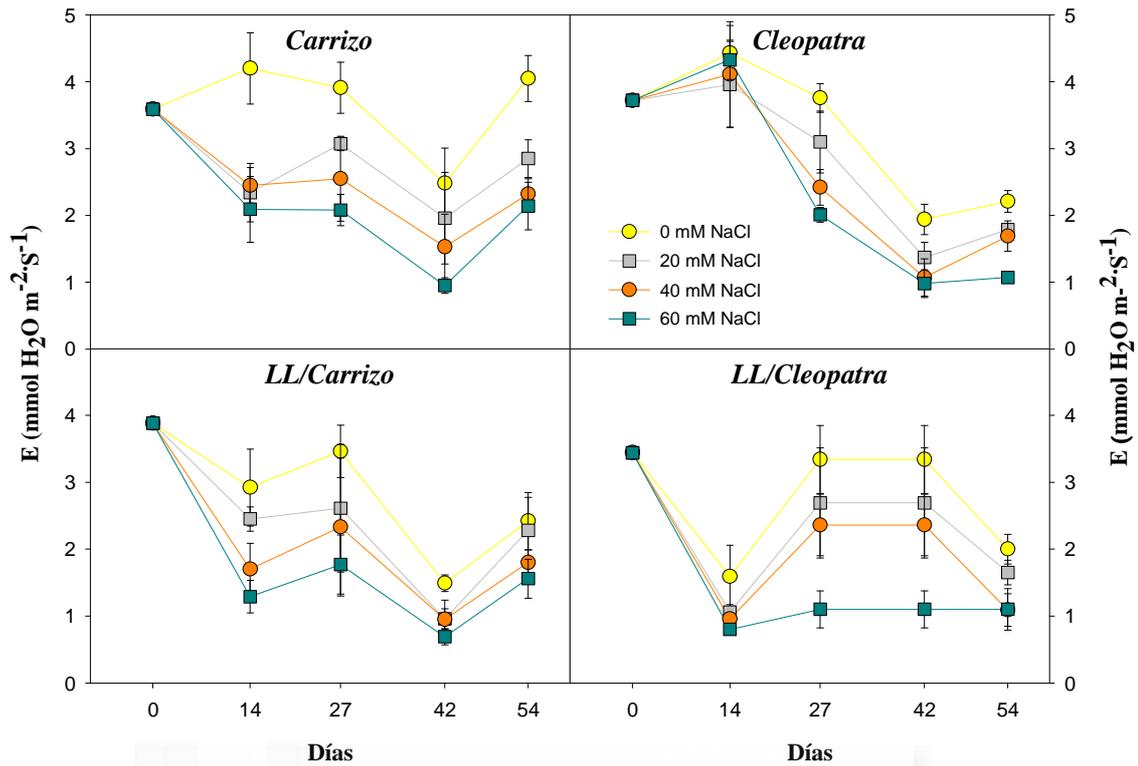


Figura 4.17. Evolución de de la tasa de transpiración (E) durante el periodo experimental. Cada punto representa la media de 4 repeticiones por tratamiento \pm ES.

Los parámetros de intercambio gaseoso A , E y g_s , estuvieron negativamente correlacionados con los niveles de Na^+ y Cl^- en la planta aunque fueron principalmente los niveles de Na^+ en hoja los que mayores correlaciones presentaron (Tabla 4.6). La figura 4.19 muestra como para valores de Na^+ inferiores a 0.2 % un leve incremento de los niveles de Na^+ en hoja produjeron disminuciones importantes de A , mientras que a partir de ese valor umbral de Na^+ , la disminución es mucho menor y permanece prácticamente lineal hasta concentraciones de Na^+ próximas a 1.4 %.

En este sentido, las hojas de los cítricos que sobreviven a la defoliación que produce la salinidad pueden soportar altos valores de Na^+ o de Cl^- sin disminución de la fotosíntesis (Syvertsen y col., 1988; Romero-Aranda y Syvertsen, 1996) mediante una mejora de las relaciones hídricas.

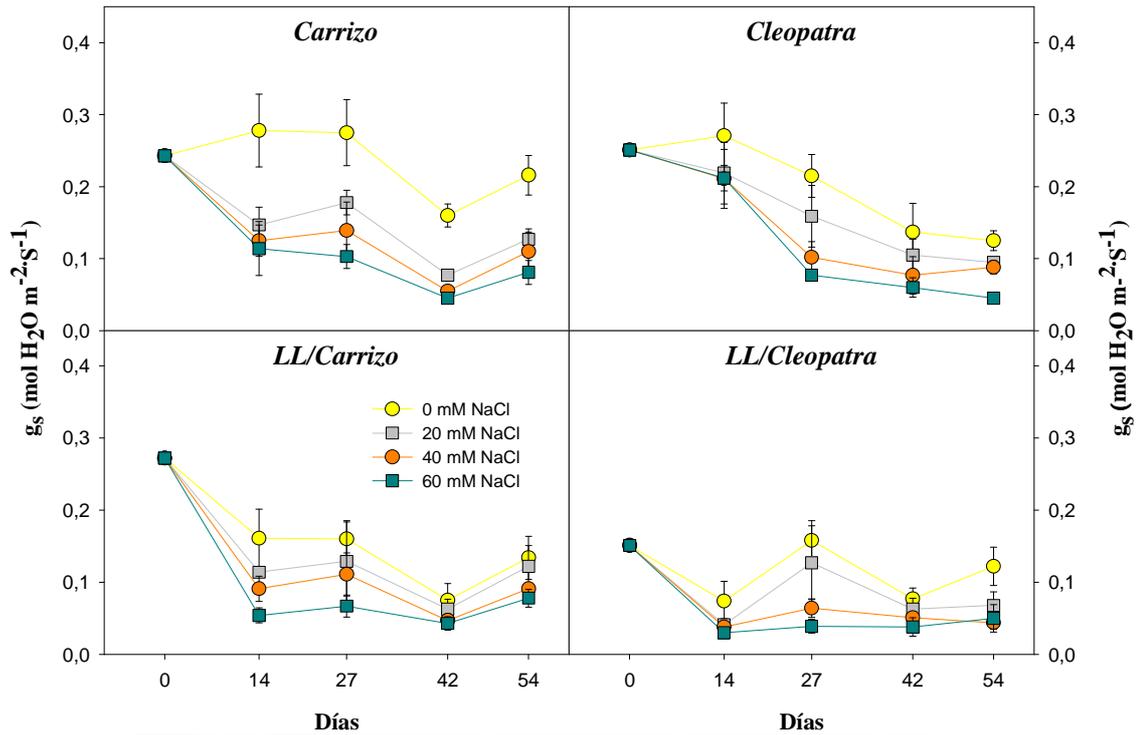


Figura 4.18. Evolución de la conductancia estomática (g_s) durante el periodo experimental. Cada punto representa la media de 4 repeticiones por tratamiento \pm ES.

Tabla 4.6. Coeficientes de correlación de Pearson entre los parámetros de intercambio gaseoso y los niveles de Na^+ y Cl^- en la planta al finalizar el experimento.

		<i>A</i>	<i>E</i>	g_s
Na^+	Hoja	-0.68 ***	-0.65 ***	-0.63 ***
	Raíz	ns	ns	ns
	Tallo patrón	-0.42 ***	-0.30 **	-0.41 ***
	Tallo variedad	-0.57 ***	-0.50 **	-0.49 **
Cl^-	Hoja	ns	ns	-0.25 *
	Raíz	ns	ns	-0.25 *
	Tallo patrón	-0.49 ***	-0.46 **	-0.49 ***
	Tallo variedad	ns	ns	ns

*, **, *** y 'ns' indican diferencias significativas a $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$ y no significativas respectivamente.

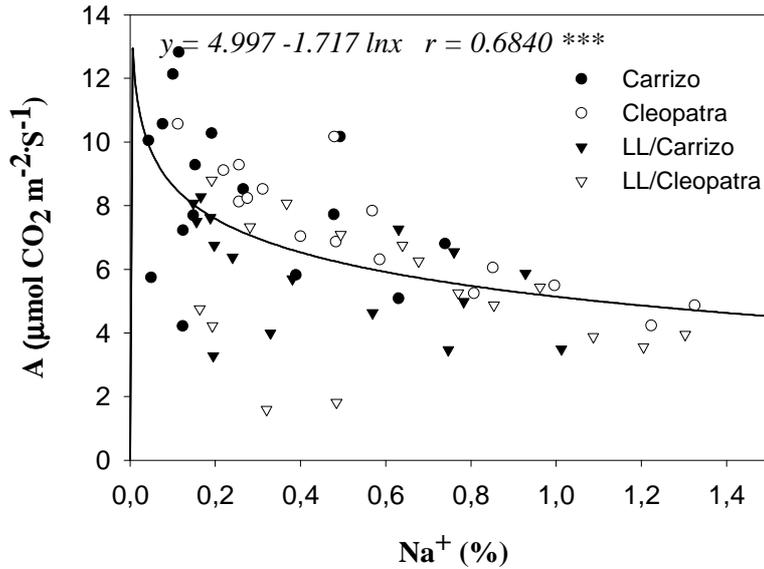


Figura 4.19. Relación entre acumulación foliar de sodio y la tasa de fotosíntesis. Cada punto corresponde a la media de 4 repeticiones por tratamiento.

Independientemente de la capacidad para excluir sal, los tratamientos salinos redujeron la fotosíntesis, transpiración y conductancia estomática en ambos patrones incluso cuando sobre estos se injertaba la variedad Lane late (Figuras 4.16, 4.17 y 4.18), posiblemente porque ambos patrones acumularon iones salinos, Na^+ en Cleopatra y Cl^- en Carrizo. Algunos estudios demuestran que la magnitud de la reducción de asimilación de CO_2 y la conductancia estomática depende del patrón (Lloyd y col., 1987b, 1990). En patrones acumuladores, la reducción de la asimilación de CO_2 está relacionada con altos niveles de cloruro mientras que en patrones excluidores está relacionada con una pérdida del turgor de la hoja (Walker y col., 1982). En nuestro caso, en Cleopatra (un patrón excluidor de sal) no se produjo una pérdida de turgor con los tratamientos salinos (Figura 4.13) por lo que otros procesos diferentes podrían ser los responsables de esta bajada en los valores de intercambio gaseoso.

Por otra parte, una elevada correlación ($r = 0.89$, $P < 0.01$) encontrada en el experimento entre A y la conductancia estomática sugiere que los efectos osmóticos en la apertura de los estomas podría contribuir a la disminución de A observada en el experimento (Medrano y col., 2002; Rivelli y col., 2002; Moya y col., 2003; Paranychianakis y Chartzoulakis, 2005).

La bibliografía (Boyer, 1976; Matthews y Boyer, 1984) describe a los potenciales hídricos bajos como parcialmente responsables tanto del cierre estomático como de reducciones no estomáticas en la fotosíntesis. En nuestro ensayo, el descenso observado del potencial hídrico parece una causa improbable de causar el cierre estomático, ya que el turgor permaneció en valores superiores al control en todos los tratamientos salinos (Figura 4.13). En este sentido, se acepta ampliamente que el cierre estomático no se debe a la pérdida de turgor, sino que es una respuesta a la salinidad (Munns, 1993).

Así mismo, la disminución de la asimilación de CO₂ en cítricos ha sido también asociada con cambios de las propiedades anatómicas de las hojas, principalmente un incremento del espesor de las hojas y una baja relación área/volumen de las células del mesófilo (Syvertsen y col., 1995; Romero-Aranda y col., 1997), reduciendo los espacios de aire intercelular y en consecuencia la difusión de CO₂ a los cloroplastos (Zekri y Parsons, 1990a; Paranychianakis y Chartzoulakis, 2005) produciendo por tanto una disminución de la fotosíntesis (Bongi y Loreto, 1989). Sin embargo, el cociente *Ci/Ca* no se vio afectado en las plantas salinizadas (Figura 4.20), lo que indica que se mantuvieron altos niveles de CO₂ en los cloroplastos, por lo que la reducción en los espacios de aire intercelular no fue el factor limitante en nuestro ensayo. Por tanto, la reducción en la fotosíntesis por la salinidad de las distintas combinaciones ensayadas puede atribuirse tanto a la reducción en la conductancia estomática, como a limitaciones bioquímicas, fundamentalmente derivadas de la toxicidad de Na⁺ y Cl⁻ (Bañuls y Primo-Millo, 1992; Bañuls y col., 1997; Lloyd y col., 1990; Fisarakis y col., 2001).

La transpiración se reduce por el estrés salino en muchas especies de plantas (Lea-Cox y Syvertsen, 1993; Moya y col., 1999). Esos descensos en la transpiración se atribuyen a una reducida capacidad de la raíz para transportar agua (Hagemeyer y Waisel, 1989), a incrementos en la resistencia estomática y a cambios anatómicos y morfológicos que ocurren en las hojas de las plantas que crecen en condiciones de salinidad (Flowers y Yeo, 1989).

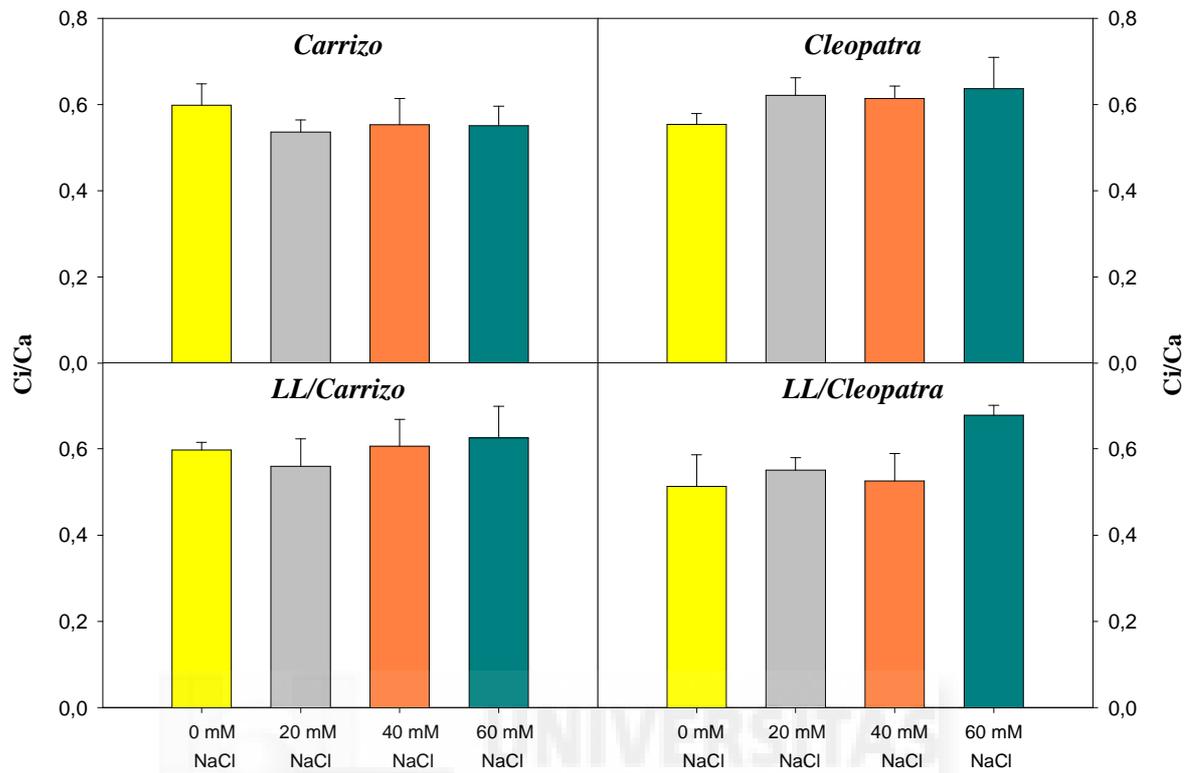


Figura 4.20. Valores del cociente entre la concentración de CO₂ ambiental y la concentración de CO₂ intercelular (Ci/Ca) para las diferentes combinaciones al final del periodo experimental. Cada valor representa la media de 4 repeticiones por tratamiento ± ES.

4.1.4. Estado nutricional del cultivo

4.1.4.1. Nitrógeno

Estudiando los tratamientos control de todas las combinaciones se observa que el patrón citrange Carrizo fue la combinación con el mayor nivel de nitrógeno en hoja (Figura 4.21).

Por otra parte, las concentraciones de nitrógeno encontradas en hoja en todos los tratamientos control fueron aumentando a medida que progresaba el experimento hasta aproximadamente la mitad del experimento, momento a partir del cual se mantuvieron prácticamente constantes (Figura 4.21).

Por otra parte, la aplicación de los distintos tratamientos salinos disminuyó los niveles de nitrógeno encontrados en las hojas de todas las combinaciones estudiadas (Tabla 4.7).

Tabla 4.7. Efecto de la salinidad y el patrón sobre la concentración en nitrógeno total (%) en la hoja de la planta al final del experimento.

Factores		N Total (%)
Combinación	Carrizo	3.21
	Cleopatra	3.04
	LL/Carrizo	3.23
	LL/Cleopatra	2.85
Sal (Mm NaCl)	0	3.47c
	20	3.15b
	40	2.92ab
	60	2.78a
Anova		
Combinación		ns
Dosis Sal		7 ***
Dosis Sal x combinación		ns

*** y 'ns' indican diferencias significativas a $P < 0.001$ y no significativas respectivamente. Para cada columna, valores diferentes indican diferencias significativas al 95% según el test de Rango múltiple de Duncan.

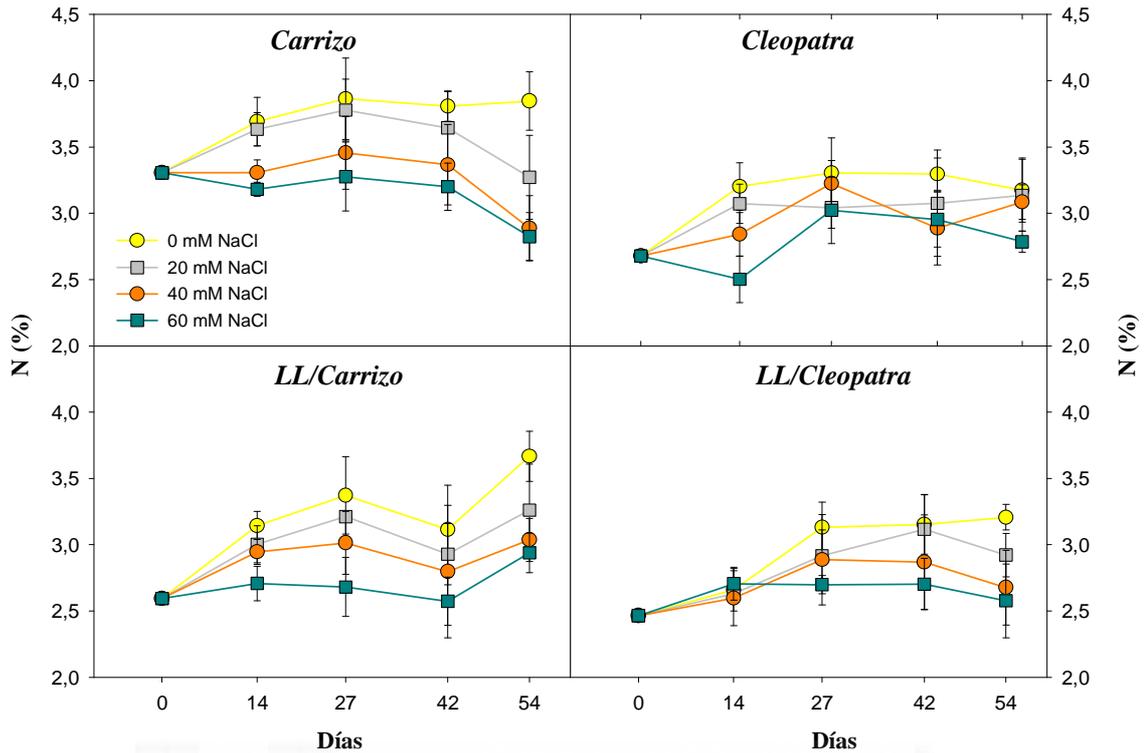


Figura 4.21. Evolución de la concentración de nitrógeno en la hoja en el transcurso del periodo experimental.

Esta disminución se hizo evidente desde el inicio del experimento tanto en el patrón Carrizo como en Lane late/Carrizo, evidenciándose más tarde en las plantas de Cleopatra (Figura 4.21). La bibliografía muestra como la salinidad disminuye los niveles de NO_3^- en hojas de cítricos (Bañuls y col., 1990; Bar y col., 1997; Cerezo y col., 1997; Abdelgadir y col., 2004) aunque las causas de esta disminución no están claras. Por una parte, Lea-Cox y Syvertsen (1993) apuntan que la menor absorción de NO_3^- en condiciones salinas se debe más a la reducción de la transpiración que a la concentración de iones Cl^- .

Sin embargo, otros autores concluyen que la disminución de NO_3^- se debe a la acumulación de cloruro debido a la inhibición en la absorción de NO_3^- por Cl^- (Cerezo y col., 1997; Abdelgadir y col., 2004) ya que excepto en algunas especies de plantas un aumento en la absorción y acumulación de Cl^- lleva acompañado una disminución de la concentración de nitrato en la parte aérea (Gorham y col., 1988). En este sentido, resultados encontrados por el equipo del Dr. Legaz muestran una menor absorción de N en plantas de Clementina de Nules al aumentar la salinidad y por el contrario, menor

absorción de Cl^- al aumentar los niveles de NO_3^- en el medio (datos no publicados). En todo caso, la disminución de nitrógeno en los tejidos de la planta producida por la absorción del ión cloruro provoca efectos asociados a la deficiencia en este elemento: reducción del crecimiento, de la producción, etc. (Primo-Millo y col., 2000). En este experimento la disminución de los niveles de nitrógeno en hoja pudo deberse a ambos factores ya que la salinidad disminuyó significativamente los valores de transpiración (Tabla 4.5) así como también aumentó considerablemente los valores de Cl^- en hojas, principalmente en Carrizo y Lane late/Carrizo (Tabla 4.1). Leidi y col. (1992) encontraron que el efecto competitivo entre Cl^- y NO_3^- es más acusado en las plantas sensibles a la salinidad que en las tolerantes.

4.1.4.2. Potasio

Las hojas de todas las combinaciones fueron los órganos que mayor cantidad de potasio acumularon, seguidas de raíces, mientras que el tallo de la variedad y principalmente el tallo del patrón mostró los niveles de K^+ más bajos de la planta (Tabla 4.8 y Figura 4.22).

Tabla 4.8. Efecto de la salinidad y del patrón sobre la composición en potasio en los diferentes órganos de la planta al final del experimento.

Factores		Potasio (%)			
		Hoja	Raíz	Tallo patrón	Tallo variedad
Combinación	Carrizo	2.152c	1.783b	0.833c	-
	Cleopatra	1.815b	1.061a	0.564b	-
	LL/Carrizo	1.874b	2.157c	0.403a	1.025
	LL/Cleopatra	1.504a	0.828a	0.338a	1.013
Sal (mM NaCl)	0	1.848	1.726b	0.576	0.930
	20	1.781	1.520ab	0.507	1.007
	40	1.779	1.308a	0.495	1.065
	60	1.837	1.275a	0.560	1.073
Anova					
Combinación		16 ***	52 ***	78 ***	ns
Dosis Sal		ns	6 **	ns	ns
Dosis Sal x combinación		ns	ns	ns	ns

, * y 'ns' indican diferencias significativas a $P < 0.01$, $P < 0.001$ y no significativas respectivamente. Para cada columna, valores diferentes indican diferencias significativas al 95% según el test de Rango múltiple de Duncan.

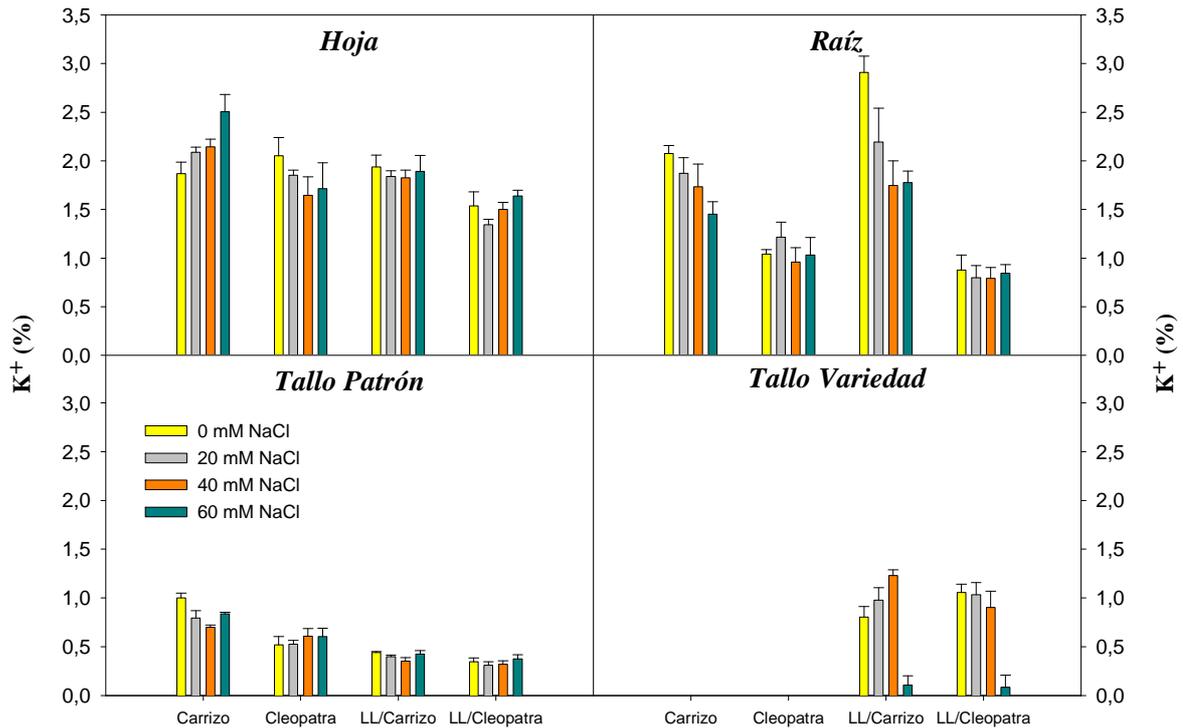


Figura 4.22. Niveles de potasio en hoja, tallo del patrón, tallo de la variedad y raíz para las diferentes combinaciones al final del periodo experimental.

En general se observa una mayor acumulación de potasio en las plantas de Carrizo que en las de Cleopatra tanto en hojas como en raíces o tallos (Tabla 4.8 y Figura 4.22). Por otra parte, las plantas injertadas con Lane late también disminuyeron significativamente los niveles de K⁺ en hoja y en el tallo del patrón con respecto a sus respectivos patrones.

Al aumentar la concentración de NaCl en la disolución de riego, disminuyó la concentración de K⁺ en las combinaciones de Carrizo. Esta disminución sólo se observa, sin embargo, en la raíz y para concentraciones de NaCl superiores a 40 mM (Tabla 4.8).

La disminución de la concentración de K⁺ observada en hojas de cítricos por la salinidad ha sido descrita ampliamente en la literatura (Marschner y col., 1981; Watat y col., 1983, Silberbush y Ben-Asher, 1989, Ruiz y col., 1997) siendo este efecto diferente en función de la especie e incluso entre variedades (Wrona y Epstein, 1985). Esta disminución puede deberse al antagonismo del Na⁺ y K⁺ por los sitios de absorción en las raíces (Walker y col., 1983; Silberbush y Ben-Asher, 1989; Gimeno y col., 2009),

al efecto del Na⁺ en el transporte al xilema o a la inhibición de los procesos de absorción (Zekri y Parson, 1990b; Hu y Schimdhalter, 2005).

Otros investigadores consideran que una alta concentración de Na⁺ no sólo inhibe la absorción de nutrientes directamente por interferencia con transportadores en la membrana plasmática de la raíz, tales como los canales selectivos de K⁺, sino también por la inhibición del crecimiento de la raíz a causa del efecto osmótico del Na⁺ y a los efectos adversos del Na⁺ en la estructura del suelo (Tester y Davenport, 2003)

Por otra parte, el hecho de que las hojas de las combinaciones de Carrizo presentasen niveles de potasio iguales o superiores a los tratamientos control (Figura 4.22) sugiere que estas plantas presentaron una mayor selectividad del potasio frente al sodio en su transporte a la parte aérea.

4.1.4.3. Calcio

Las hojas fueron los órganos que mayores niveles de Ca²⁺ acumularon seguidos por las raíces y finalmente por los tallos (Tabla 4.9 y Figura 4.23).

Tabla 4.9. Efecto de la salinidad y del patrón sobre la composición en calcio en los diferentes órganos de la planta al final del experimento.

Factores	Calcio (%)				
	Hoja	Raíz	Tallo patrón	Tallo variedad	
Combinación	Carrizo	2.53b	1.48c	0.85b	-
	Cleopatra	1.96a	1.26ab	1.04c	-
	LL/Carrizo	1.95a	1.37bc	0.70a	1.13
	LL/Cleopatra	1.77a	1.13a	1.13c	1.00
Sal (mM NaCl)	0	2.08	1.43b	0.94	1.11
	20	2.01	1.34ab	0.87	1.06
	40	1.94	1.28ab	0.93	1.03
	60	2.17	1.20a	0.98	1.05
Anova					
Combinación	14 ***	9 ***	18 ***	7 *	
Dosis Sal	ns	4 *	ns	ns	
Dosis Sal x combinación	ns	ns	ns	ns	

*, *** y 'ns' indican diferencias significativas a P<0.05, P<0.001 y no significativas respectivamente. Para cada columna, valores diferentes indican diferencias significativas al 95% según el test de Rango múltiple de Duncan.

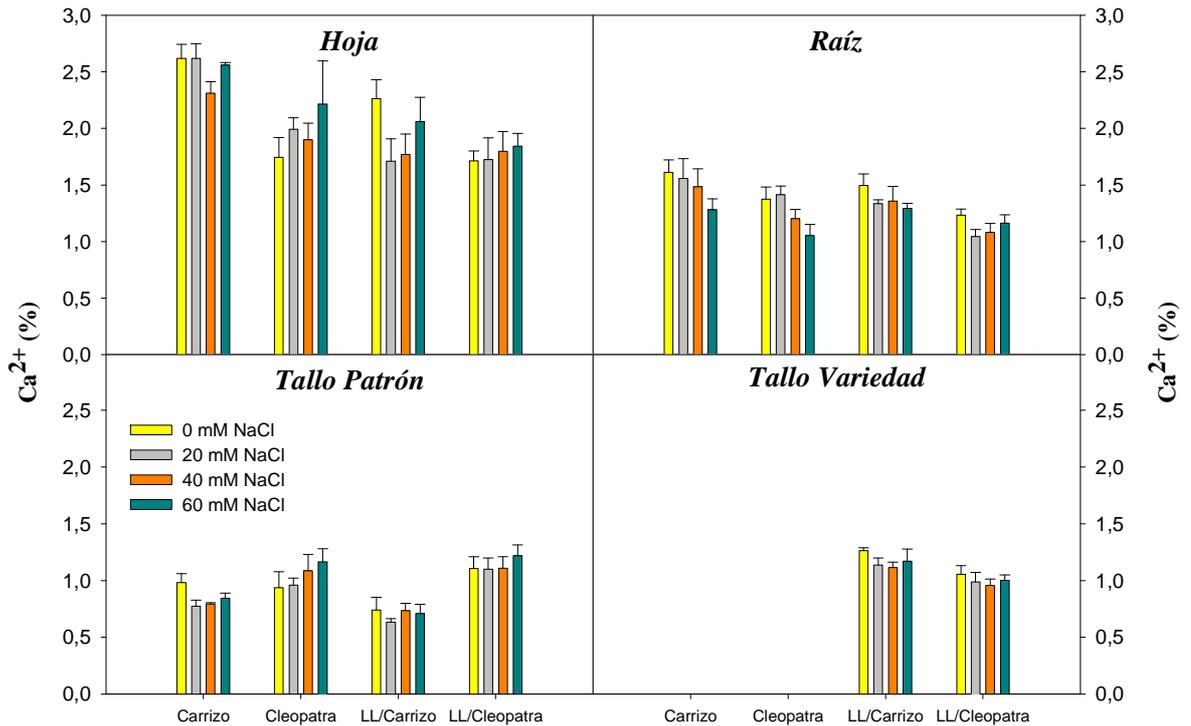


Figura 4.23. Niveles de calcio en hoja, tallo del patrón, tallo de la variedad y raíz para las diferentes combinaciones al final del periodo experimental.

Aunque la absorción de Ca^{2+} parece estar controlada metabólicamente, a bajas concentraciones su absorción parece ser un transporte pasivo dependiente del flujo de agua (Kirkby y Pilbeam, 1984). Por ello la mayor acumulación de este elemento se produce en hojas debido a su alta tasa de transpiración con relación al tallo u otros órganos como las raíces. Además, la movilidad del calcio dentro de la planta es relativamente baja ya que cuando se transporta vía xilema se fija como pectato cálcico en la pared celular, como fitato cálcico en las membranas y como oxalato en la vacuola, y la removilización entre los diferentes órganos es muy baja ya que el calcio prácticamente no es transportado vía floema.

Con respecto al comportamiento de las diferentes combinaciones, Carrizo acumuló más Ca^{2+} en hojas y raíces que cualquier otra combinación mientras que el tallo del patrón Cleopatra acumuló más Ca^{2+} tanto en plantas injertadas como sin injertar (Tabla 4.9).

En cuanto al efecto encontrado por la aplicación de los tratamientos salinos, se observa que solamente a partir de dosis 40 mM NaCl disminuyeron significativamente

las concentraciones de Ca^{2+} en la raíz (Tabla 4.9), mientras que en hojas y tallos no se observa un efecto significativo de la sal sobre las concentraciones de Ca^{2+} . En la bibliografía encontramos que los efectos de la salinidad en la concentración de este ión varían enormemente dando lugar a resultados aparentemente contradictorios, consecuencia de las diferentes condiciones experimentales empleadas, como la edad de las plantas, árboles injertados y sin injertar, tipo de suelo, fertilización, etc. Así, diversos autores observaron que la concentración de Ca^{2+} aumentaba con los tratamientos salinos (El-Azab y col., 1974; Nieves y col., 1990; Zekri, 1993). Sin embargo, Bañuls y col. (1990) y Ruiz y col. (1999) observaron, al igual que lo encontrado en este experimento, una disminución en la concentración de este ión con la salinidad. Esta disminución puede deberse a un efecto antagónico entre Cl^- y Ca^{2+} tal y como sugieren Moya y col. (2000) en un estudio de cítricos bajo condiciones salinas con los patrones Cleopatra y Carrizo. Además de la menor absorción de Ca^{2+} por efecto del Cl^- , la absorción excesiva de iones Na^+ puede desplazar a los iones Ca^{2+} del apoplasto de la hoja causando una necrosis marginal característica de la toxicidad por Na^+ (Zid y Grignon, 1985). Los altos niveles de Na^+ producen deficiencias de K^+ y Ca^{2+} que a su vez inducen deficiencias de Mg^{2+} (Bañuls y col., 1990; Grattan y Grieve, 1992). Un aspecto especialmente importante en el estudio nutricional en condiciones salinas es la relación $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ presente en el medio radicular ya que cuando la relación es demasiado grande, se absorben cantidades excesivas de Na^+ y Cl^- por la raíz y se transportan a las hojas donde causan necrosis y abscisión.

4.1.4.4. Magnesio

Al igual que ocurrió con potasio y calcio, los órganos que mayores niveles de Mg^{2+} acumularon fueron las hojas, seguidos por las raíces y finalmente por los tallos (Tabla 4.10 y Figura 4.24).

Los niveles de Mg^{2+} en las raíces no se modificaron en relación a las diferentes combinaciones, sin embargo, aunque en las hojas de los patrones Carrizo y Cleopatra no se encontraron diferentes niveles de Mg^{2+} , sí los hubo entre hojas de Carrizo y su correspondiente injerto de Lane late que acumuló mayores niveles de Mg^{2+} en hojas, pero sin llegar a ser este efecto significativo (Tabla 4.10).

Por otra parte el tallo del patrón sin injertar presentó mayores concentraciones de Mg^{2+} que cuando estaba injertado, independientemente si se trataba de Carrizo o

Cleopatra (Figura 4.24). Al parecer, los patrones Carrizo y Cleopatra no muestran diferente comportamiento en la absorción de este elemento, sin embargo, una vez injertados, el transporte de Mg^{2+} en el tallo del patrón hacia el tallo de la variedad es mayor en Carrizo que en Cleopatra, acumulando por tanto menores concentraciones de Mg^{2+} . Sin embargo, una vez ha llegado el Mg^{2+} al tallo de la variedad en Lane late/Carrizo, éste no transporta en la misma medida este Mg^{2+} hacia las hojas, acumulando mayor cantidad que el tallo de la variedad sobre Cleopatra.

Tabla 4.10. Efecto de la salinidad y del patrón sobre la composición en magnesio en los diferentes órganos de la planta al final del experimento.

Factores		Magnesio (%)			
		Hoja	Raíz	Tallo patrón	Tallo variedad
Combinación	Carrizo	0.394	0.279	0.152c	-
	Cleopatra	0.425	0.295	0.166d	-
	LL/Carrizo	0.445	0.297	0.089a	0.238
	LL/Cleopatra	0.408	0.317	0.139b	0.177
Sal (mM NaCl)	0	0.417	0.310	0.135	0.199
	20	0.412	0.305	0.131	0.187
	40	0.409	0.295	0.136	0.222
	60	0.435	0.278	0.144	0.224
Anova					
Combinación		ns	ns	60 ***	28 ***
Dosis Sal		ns	ns	ns	ns
Dosis Sal x combinación		ns	ns	ns	ns

*** y 'ns' indican diferencias significativas a $P < 0.001$ y no significativas respectivamente. Para cada columna, valores diferentes indican diferencias significativas al 95% según el test de Rango múltiple de Duncan.

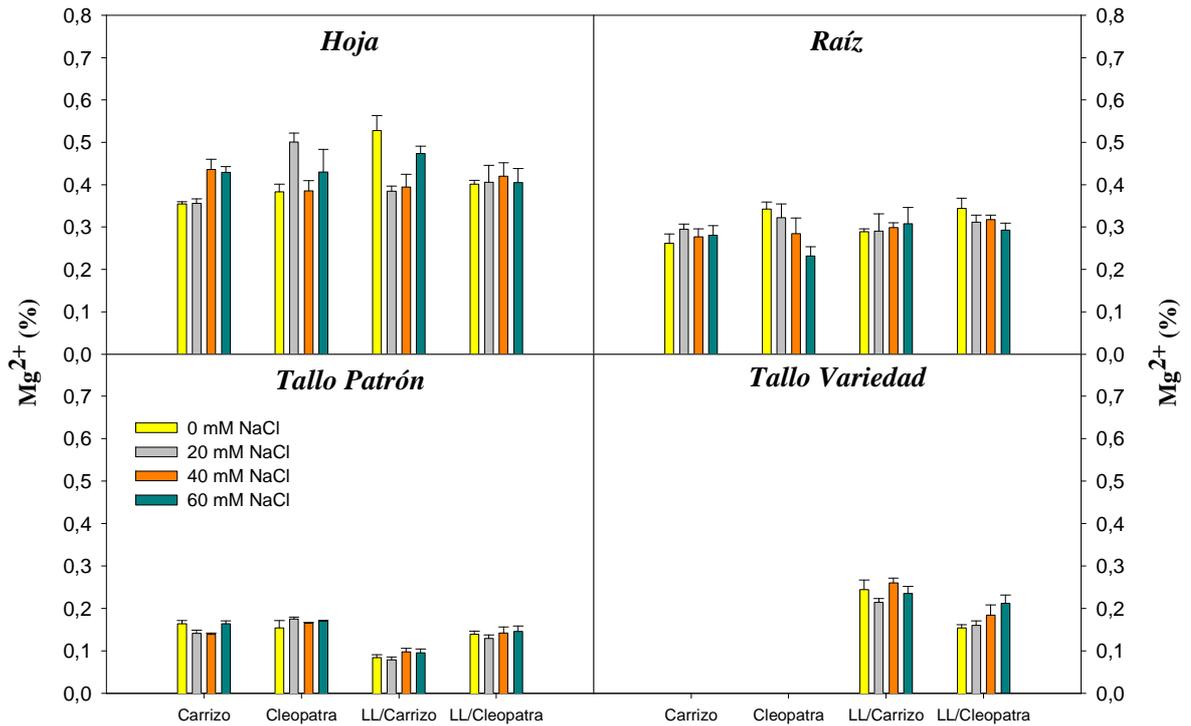


Figura 4.24. Niveles de magnesio en hoja, tallo del patrón, tallo de la variedad y raíz para las diferentes combinaciones al final del periodo experimental.

Por otra parte, las concentraciones de Mg²⁺ no se vieron alterados por la aplicación de niveles crecientes de sal ya que no se observaron diferencias en ninguna de las partes de la planta. Algunos estudios de salinidad en cítricos han encontrado deficiencias de Mg²⁺ inducidos a su vez por las deficiencias de K⁺ y Ca²⁺ provocadas por los altos niveles de Na⁺ acumulados en condiciones de salinidad (Bañuls y col., 1990; Grattan y Grieve, 1992). Sin embargo, a pesar de los altos niveles de Na⁺ encontrados principalmente en Carrizo con los tratamientos de salinidad aplicados, éstos no produjeron deficiencias de Mg²⁺ en las hojas según los niveles encontrados en cítricos de la zona por del Amor y col. (1984).

4.1.4.5. Fósforo

El fósforo hallado en las raíces de todas las combinaciones estudiadas fue aproximadamente el triple del encontrado en las hojas y cuatro veces superior al de los tallos (Tabla 4.11 y Figura 4.25).

Las hojas del patrón Carrizo tuvieron niveles de P significativamente superiores a las del patrón Cleopatra, probablemente debido a la mayor acumulación en éste último en el tallo (Tabla 4.11). Por otra parte podemos observar que en general no existieron diferencias entre plantas injertadas y sin injertar, tan solo la hoja del patrón Cleopatra tuvo menores niveles de fósforo que su homólogo injertado con Lane late. Por el contrario el tallo del patrón Carrizo acumuló más fósforo sin injertar que injertado con Lane late (Tabla 4.11).

Tabla 4.11. Efecto de la salinidad y del patrón sobre la composición en fósforo en los diferentes órganos de la planta al final del experimento.

Factores		Fósforo (%)			
		Hoja	Raíz	Tallo patrón	Tallo variedad
Combinación	Carrizo	0.126b	0.484c	0.098b	-
	Cleopatra	0.104a	0.399ab	0.114c	-
	LL/Carrizo	0.139b	0.447bc	0.069a	0.104
	LL/Cleopatra	0.130b	0.336a	0.109b	0.103
Sal (mM NaCl)	0	0.139b	0.456	0.084a	0.099
	20	0.122ab	0.407	0.100ab	0.107
	40	0.116a	0.397	0.099ab	0.099
	60	0.122ab	0.406	0.106b	0.108
Anova					
Combinación		10 ***	6 **	27 ***	ns
Dosis Sal		4 *	ns	6 **	ns
Dosis Sal x combinación		ns	ns	ns	ns

*, **, *** y 'ns' indican diferencias significativas a $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$ y no significativas respectivamente. Para cada columna, valores diferentes indican diferencias significativas al 95% según el test de Rango múltiple de Duncan.

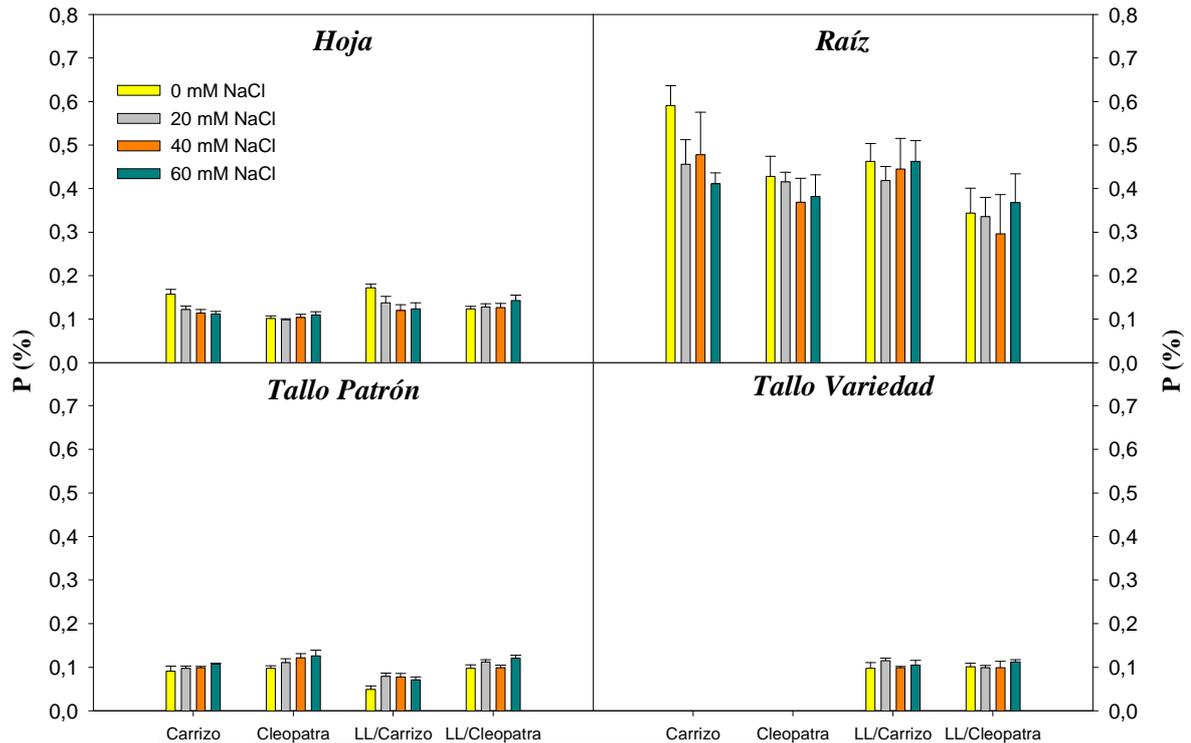


Figura 4.25. Niveles de fósforo en hoja, tallo del patrón, tallo de la variedad y raíz para las diferentes combinaciones al final del periodo experimental.

La influencia de la salinidad en los niveles de fósforo de los diferentes órganos de la planta, fue diferente dependiendo del órgano en cuestión. Mientras que en las raíces y en los tallos de la variedad el nivel de fósforo no se vio alterado por el incremento de la concentración salina aplicada, éste disminuyó significativamente en las hojas y aumentó en el tallo del patrón (Tabla 4.11), aunque estas diferencias no fueron demasiado grandes por lo que parece que este elemento no estuvo muy influenciado por la aplicación de salinidad. Los resultados obtenidos concuerdan con la hipótesis de que en la mayoría de los casos la salinidad disminuye la concentración de P en el tejido de las plantas (Sharpley y col., 1992), si bien la salinidad incrementa ó bien no tiene efecto sobre la absorción de P por las raíces (Grattan y Grieve, 1999).

4.1.5. Absorción y utilización de sodio y cloruro

4.1.5.1. Velocidad de absorción específica

Se calculó la velocidad de absorción específica (VAE) de Na^+ y Cl^- en el período experimental. Este parámetro representa la eficiencia de absorción de las raíces calculada en relación al peso seco de raíz. Después de 55 días de exposición de las raíces a las condiciones de salinidad impuestas por los diferentes tratamientos salinos, se observó un incremento de la absorción tanto de Na^+ como de Cl^- por las raíces al aumentar el nivel salino del medio (Tabla 4.12 y Figura 4.26).

En general, la velocidad de absorción de Cl^- fue superior a la de Na^+ en los tratamientos salinos. En cuanto al comportamiento de cada una de las combinaciones, se observó que el patrón Carrizo absorbía Cl^- y Na^+ a mayor velocidad que el Cleopatra y a su vez, ambos patrones sin injertar absorbieron Cl^- y Na^+ a mayor velocidad que sus correspondientes homólogos injertados sobre Lane late. Por tanto se observa cómo la variedad ejerció un efecto de restricción de la absorción de los iones salinos.

Tabla 4.12. *Velocidad de absorción específica (VAE) ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$) de los iones minerales Cl^- y Na^+ al final del experimento.*

Factores		Cl^-	Na^+
Combinación	Carrizo	0.406	0.341
	Cleopatra	0.361	0.300
	LL/Carrizo	0.287	0.215
	LL/Cleopatra	0.185	0.220
Sal (mM NaCl)	0	0.073	0.061
	20	0.372	0.268
	40	0.413	0.329
	60	0.475	0.416

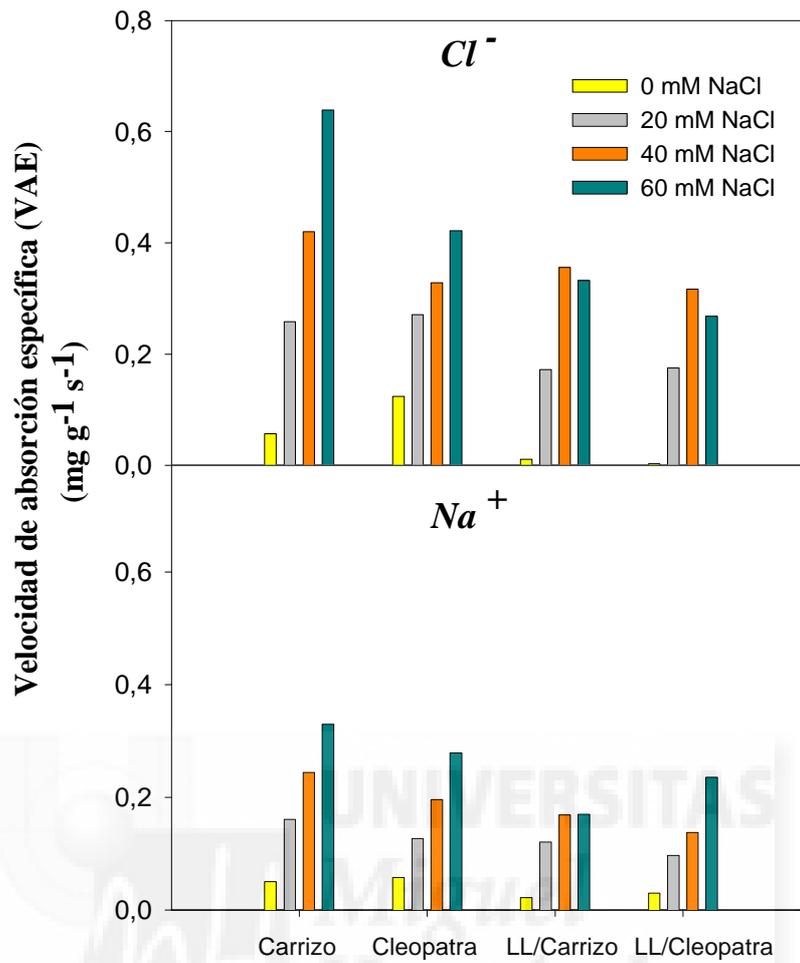


Figura 4.26. Velocidad de absorción específica (VAE) de Cl^- y Na^+ para las diferentes combinaciones al final del periodo experimental.

4.1.5.2. Velocidad de transporte

Igualmente se calculó la velocidad de transporte de los iones salinos Na^+ y Cl^- desde la raíz a la parte aérea durante el periodo experimental. Al igual que lo observado en la absorción de Na^+ y Cl^- por las raíces, el transporte de estos elementos a la parte aérea aumentó con el nivel salino del tratamiento aplicado (Tabla 4.13 y Figura 4.27). Por otra parte, estudiando el efecto de la combinación sobre el transporte a la parte aérea de estos iones se observa un comportamiento diferente en Carrizo y Cleopatra ya que el primero transportó Cl^- más rápidamente que el segundo mientras que Cleopatra transportó Na^+ a la parte aérea más rápidamente que Carrizo. En términos globales, en Carrizo la velocidad de transporte de Cl^- fue mayor que la de Na^+ y lo contrario ocurrió en Cleopatra. Cuando se estudió el efecto del injerto en el transporte de estos dos iones se observa que la variedad Lane late limitó más el transporte tanto de Cl^- como de Na^+ hacia la parte aérea cuando estaba sobre Carrizo que cuando el patrón era Cleopatra (Tabla 4.13). Por tanto se observa nuevamente cómo la variedad ejerció un efecto de restricción del transporte de Na^+ y Cl^- a la parte aérea y como a su vez este efecto dependía del patrón estudiado.

Tabla 4.13. Velocidad de transporte de Cl^- y Na^+ desde la raíz a la parte aérea ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$) al final del experimento.

Factores		Cl^-	Na^+
Combinación	Carrizo	0.237	0.183
	Cleopatra	0.115	0.239
	LL/Carrizo	0.167	0.100
	LL/Cleopatra	0.107	0.189
Sal (mM NaCl)	0	0.118	0.104
	20	0.216	0.233
	40	0.317	0.296
	60	0.474	0.379

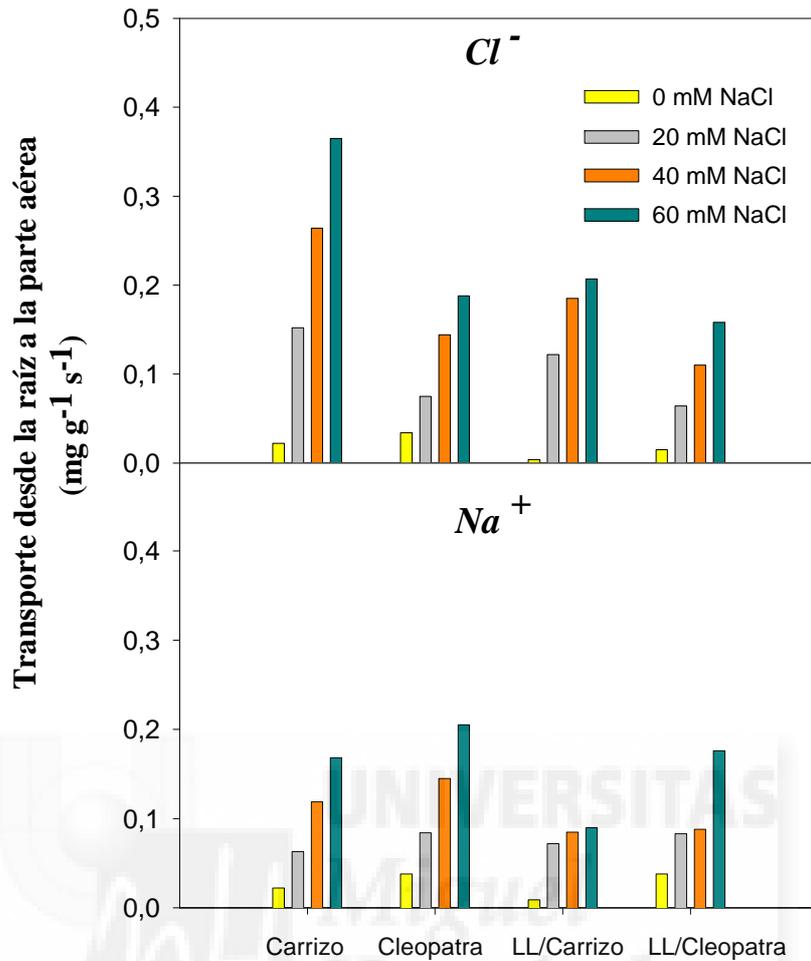


Figura 4.27. Velocidad de transporte de Cl^- y Na^+ de la raíz a la parte aérea para las diferentes combinaciones al final del periodo experimental.

El principal mecanismo fisiológico asociado a la tolerancia de los cítricos a la salinidad consiste en su capacidad para excluir Cl^- y/o Na^+ de la región aérea ya que en cítricos no hay evidencias que indiquen que la compartimentación de estos iones en las vacuolas o su redistribución en los tejidos leñosos sean mecanismos asociados con la tolerancia a la salinidad (Storey y Walker, 1987). En este sentido, el patrón tiene una importancia fundamental ya que estos difieren en su capacidad para restringir el Cl^- y/o Na^+ que llega hasta la variedad (Cerdá y col., 1977; Bañuls y col., 1990; Zekri, 1991). Por tanto, tal y como se ha observado en este experimento, tanto el patrón como la variedad están implicados en los procesos que regulan el transporte de los iones salinos a la parte aérea de la planta.

4.1.5.3. Absorción por la parte aérea

Durante el período experimental se calculó la velocidad de absorción de Cl^- y Na^+ de la parte aérea. Nuevamente se observó una mayor absorción de iones Cl^- y Na^+ por la parte aérea al aumentar el nivel salino del medio (Tabla 4.14).

Por otro lado, de nuevo se apreció un comportamiento diferente de los dos patrones en la absorción de los iones salinos por la parte aérea. La parte aérea de Carrizo absorbió Cl^- más rápidamente que la de Cleopatra mientras que la parte aérea de Cleopatra absorbió Na^+ más rápido que Carrizo.

La velocidad de absorción de Cl^- por la parte aérea fue mayor que la de Na^+ en Carrizo mientras que en Cleopatra ocurrió lo contrario, la velocidad de absorción de Na^+ por la parte aérea fue mayor que la de Cl^- . Por otra parte, las plantas injertadas sobre el patrón Carrizo aumentaron la absorción de Cl^- por la parte aérea mientras que no hubo diferencias entre plantas injertadas y sin injertar de Cleopatra. Aunque el transporte hacia la variedad de Cl^- y Na^+ está regulado en primer lugar por el patrón, tanto la variedad como el patrón pueden influir en la acumulación de estos iones en las hojas (Nieves y col., 1992; Bañuls y Primo-Millo, 1995). Sin embargo, otros autores indican que la acumulación de Cl^- en la parte aérea está controlada por el patrón y la de Na^+ por la variedad (Behboudian y col., 1986).

Tabla 4.14. *Velocidad de absorción por la parte aérea ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$) al final del experimento de los iones minerales Cl^- y Na^+ .*

Factores		Cl^-	Na^+
Combinación	Carrizo	1.02	0.92
	Cleopatra	0.37	1.92
	LL/Carrizo	0.96	0.90
	LL/Cleopatra	0.69	2.00
Sal (mM NaCl)	0	0.51	1.18
	20	0.61	1.51
	40	0.82	1.74
	60	0.99	1.82

4.1.5.4. Alocación de Na⁺ y Cl⁻ relativa a la biomasa

Este parámetro representa la proporción de los elementos estudiados, Na⁺ y Cl⁻, relativa a la biomasa en cada órgano de la planta. La alocación de Cl⁻ y Na⁺ estudiada para cada uno de los órganos de la planta se calculó al finalizar el experimento.

Los resultados mostraron un efecto de concentración de Na⁺ respecto a su biomasa (ARB>1) tanto en hoja como en raíz independientemente del tratamiento salino o la combinación, mientras que tanto en el tallo del patrón como en el de la variedad, la proporción de Na⁺ en relación a su peso indicaba una dilución de dicho elemento (ARB<1) (Tabla 4.15).

Por otra parte, la salinidad produjo un efecto significativo tanto en los tallos como en las hojas de las plantas estudiadas (Tabla 4.15 y Figuras 4.28 y 4.29).

Tabla 4.15. Alocación de Na⁺ relativa a la biomasa (ARB) en los diferentes órganos de la planta al final del experimento.

Factores	ARB Na ⁺				
	Hoja	Raíz	Tallo patrón	Tallo variedad	
Combinación	Carrizo	0.92a	1.60c	0.65b	-
	Cleopatra	1.92c	1.12a	0.51a	-
	LL/Carrizo	1.41b	1.43b	0.52a	0.44
	LL/Cleopatra	2.00c	1.00a	0.55a	0.59
Sal (mM NaCl)	0	1.18a	1.35	0.66c	0.61b
	20	1.51ab	1.34	0.55b	0.54ab
	40	1.74b	1.28	0.56b	0.48ab
	60	1.82b	1.18	0.45a	0.42a
Anova					
Combinación		23 ***	27 ***	7 *	13 **
Dosis Sal		3 *	ns	13 **	4 *
Dosis Sal x combinación		Ns	ns	ns	ns

*, **, *** y 'ns' indican diferencias significativas a P<0.05, P<0.01, P<0.001 y no significativas respectivamente. Para cada columna, valores diferentes indican diferencias significativas al 95% según el test de Rango múltiple de Duncan.

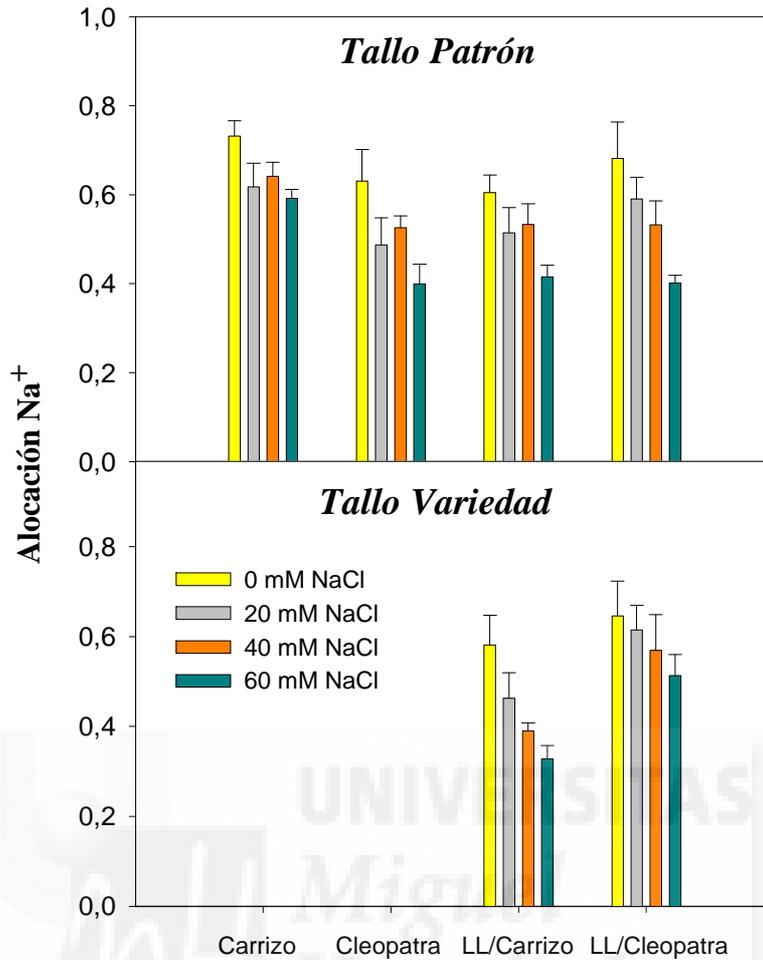


Figura 4.28. Alocación de Na^+ relativa a la biomasa (ARB) en los tallos para las diferentes combinaciones al final del periodo experimental.

Sin embargo la raíz no modificó el valor de ARB para Na^+ con el tratamiento salino indicando que a pesar de ser el órgano utilizado por la planta para absorber Na^+ de la disolución del suelo, es simplemente un órgano de tránsito, no acumulando más Na^+ que materia seca. Por el contrario, tanto el tallo del patrón como el de la variedad se mostraron como órganos que facilitan el paso de Na^+ hacia las hojas, disminuyendo el valor de ARB para Na^+ al aumentar la salinidad. Por último las hojas fueron los órganos que acumularon el Na^+ absorbido por la planta.

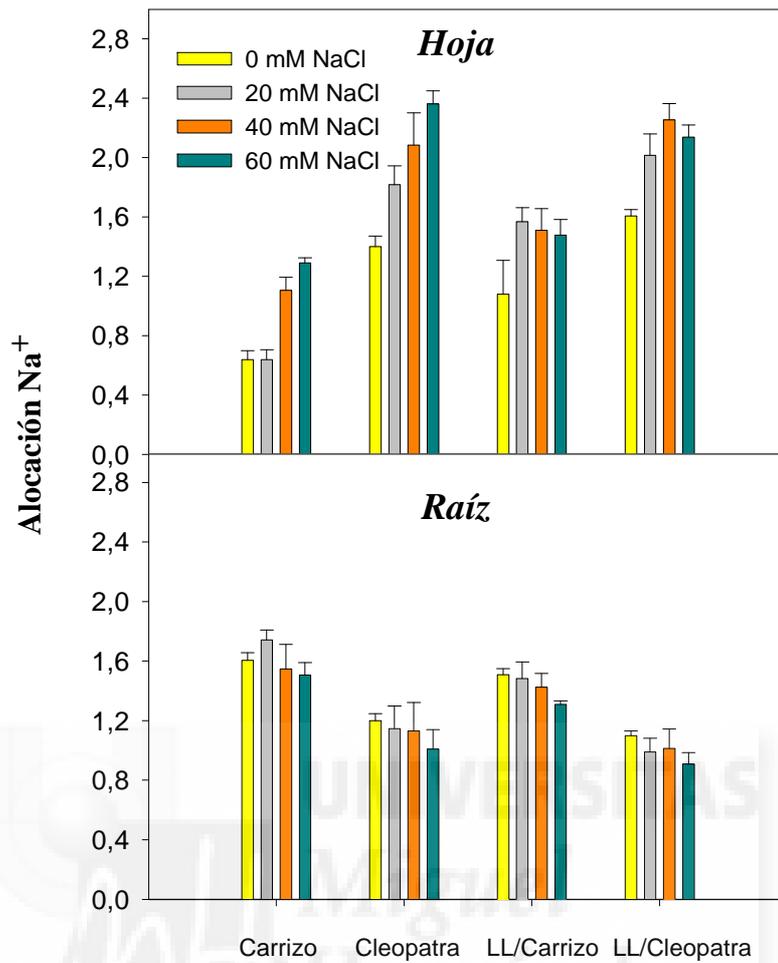


Figura 4.29. *Alocación de Na⁺ relativa a la biomasa (ARB) en hoja y raíz para las diferentes combinaciones al final del periodo experimental.*

Al considerar el efecto de la combinación se observa que Cleopatra tuvo valores significativamente más altos que Carrizo en hoja, independientemente de si eran plantas injertadas o no (Tabla 4.15). Sin embargo tanto en la raíz como en el tallo del patrón, la alocación de Na⁺ en Cleopatra era inferior a la de Carrizo.

Estos resultados muestran como Cleopatra es menos restrictivo que Carrizo en la acumulación de Na⁺ en las hojas. En cuanto al efecto de la variedad, solo se observa un incremento en ARB de Na⁺ en las hojas y una disminución en el tallo del patrón de las plantas injertadas sobre Carrizo en relación a las no injertadas (Tabla 4.15).

Los valores encontrados para la alocación de Cl⁻ muestran que la raíz fue el único órgano en el que la proporción de este elemento era mayor que la de biomasa

(Figuras 4.30 y 4.31). La salinidad incrementó significativamente los valores de ARB para Cl⁻ en hoja y los disminuyó en raíz aunque estos efectos solo fueron significativos para incrementos en el nivel salino de 40 mM NaCl (Tabla 4.16). Por tanto, las hojas se mostraron nuevamente como el órgano donde se acumuló el Cl⁻ absorbido por la planta mientras que tanto el tallo del patrón como el de la variedad se comportaron como órganos de tránsito para el Cl⁻.

Al contrario de lo observado en los valores encontrados para Na⁺, los datos de ARB en Cl⁻ mostraron que Carrizo tuvo valores significativamente más altos que Cleopatra en hoja y en el tallo de la variedad (Tabla 4.16). Por tanto, Carrizo se mostró menos restrictivo que Cleopatra en la acumulación de Cl⁻ en las hojas. Sin embargo tanto en la raíz como en el tallo del patrón, la alocaión de Cl⁻ en Cleopatra y Carrizo fue similar.

Tabla 4.16. *Alocación de Cl⁻ relativa a la biomasa (ARB) en los diferentes órganos de la planta al final del experimento.*

Factores	ARB Cl ⁻				
	Hoja	Raíz	Tallo patrón	Tallo variedad	
Combinación	Carrizo	1.02c	1.71b	0.54a	-
	Cleopatra	0.37a	1.91b	0.53a	-
	LL/Carrizo	0.86bc	1.46a	0.49a	0.87
	LL/Cleopatra	0.69b	1.46a	0.72b	0.57
Dosis Sal	0 mM NaCl	0.51a	1.89c	0.54	0.70
	20 mM NaCl	0.61ab	1.69bc	0.53	0.74
	40 mM NaCl	0.82bc	1.57ab	0.61	0.67
	60 mM NaCl	0.99c	1.40a	0.60	0.77
Anova					
Combinación	30 ***	14 **	5 *	29 ***	
Dosis Sal	18 **	13 **	ns	ns	
Dosis Sal x combinación	ns	ns	ns	ns	

*, **, *** y 'ns' indican diferencias significativas a P<0.05, P<0.01, P<0.001 y no significativas respectivamente. Para cada columna, valores diferentes indican diferencias significativas al 95% según el test de Rango múltiple de Duncan.

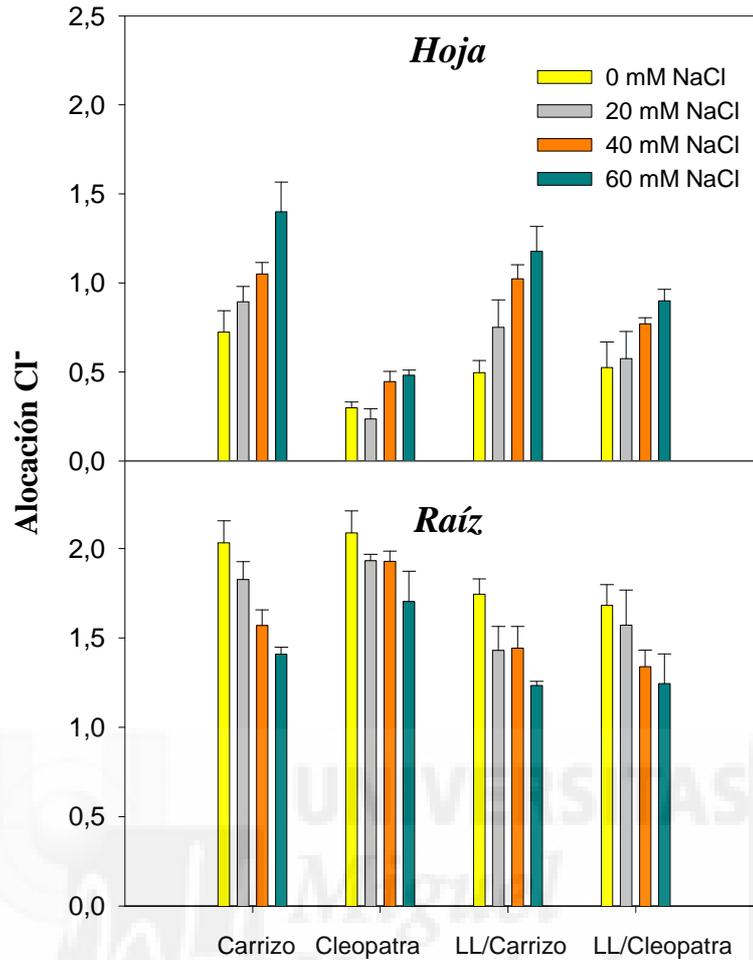


Figura 4.30. *Alocación de Cl⁻ relativa a la biomasa (ARB) en hoja y raíz para las diferentes combinaciones al final del periodo experimental.*

Cuando se estudiaron plantas injertadas se observa que solamente la variedad injertada sobre Cleopatra aumentó la alocación de Cl⁻ en las hojas y en el tallo del patrón mientras que este parámetro disminuyó en la raíz de ambos patrones de las plantas injertadas en relación a las no injertadas.

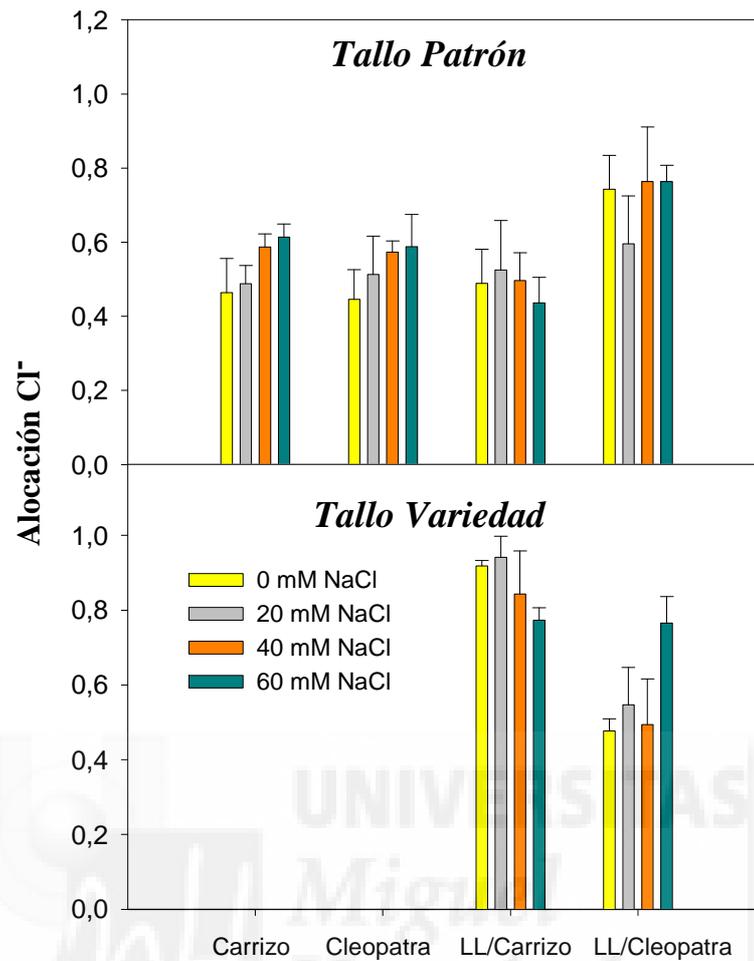


Figura 4.31. Alocación de Cl⁻ relativa a la biomasa (ARB) en los tallos para las diferentes combinaciones al final del periodo experimental.

4.2. RESPUESTA A LA SALINIDAD Y AL APORTE EXTRA DE ABONO NITROGENADO DE ÁRBOLES DE CITRANGE CARRIZO Y MANDARINO CLEOPATRA INJERTADOS SOBRE NARANJO LANE LATE

4.2.1. Salinidad del agua de riego

Con objeto de medir los niveles de salinidad asociada a la aplicación de los distintos tratamientos se determinó periódicamente la conductividad eléctrica de las soluciones obtenidas de las sondas de succión, así como su contenido en cloruro, sodio y nitratos.

La figura 4.32 muestra la evolución de la conductividad eléctrica de la solución del suelo (CE_{ss}) a lo largo del ensayo. No se observó, con independencia del tratamiento y de la profundidad, una gran variación de la media de la conductividad eléctrica en el periodo de tiempo que duró el ensayo (2004-2006), como evidencia el relativamente bajo valor del coeficiente de variación, que en ningún caso superó el 19 %. La CE_{ss} creció en el periodo de primavera-verano, tanto en el año 2004 como en el 2005 (Figura 4.32). La alta correlación encontrada entre la CE_{ss} obtenida en los tratamientos salinos (30 mM NaCl) y no salinos (0 mM NaCl) con las temperaturas medias mensuales ($r = 0.90$, $P < 0.001$ y $r = 0.91$, $P < 0.001$ respectivamente), evidencia una alta influencia de la demanda evapotranspiratoria en la variación temporal de la conductividad.

A lo largo del ensayo se observaron diferencias entre los valores medios de CE_{ss} medidos a diferente profundidad de obtención de la muestra. Los valores de CE_{ss} más altos, en todos los tratamientos, se encontraron, en general, a 90 cm de profundidad (Figura 4.33). Esto fue causado, posiblemente, por el lavado o desplazamiento de las sales provocado por el movimiento del agua en el perfil.

La CE_{ss} de los tratamientos no salinos osciló entre 1.80 y 2.40 dS·m⁻¹ a 30 cm de profundidad, mientras que a 90 cm estos valores oscilaron entre 2.26 y 2.89 dS·m⁻¹ (Figura 4.32). La aplicación de la solución salina de fertirriego (CE = 4 dS·m⁻¹) supuso un aumento en la CE_{ss} hasta 5.50 dS·m⁻¹ a 30 cm de profundidad, alcanzándose a 90 cm valores máximos de 6.97 dS·m⁻¹ (Figura 4.32).

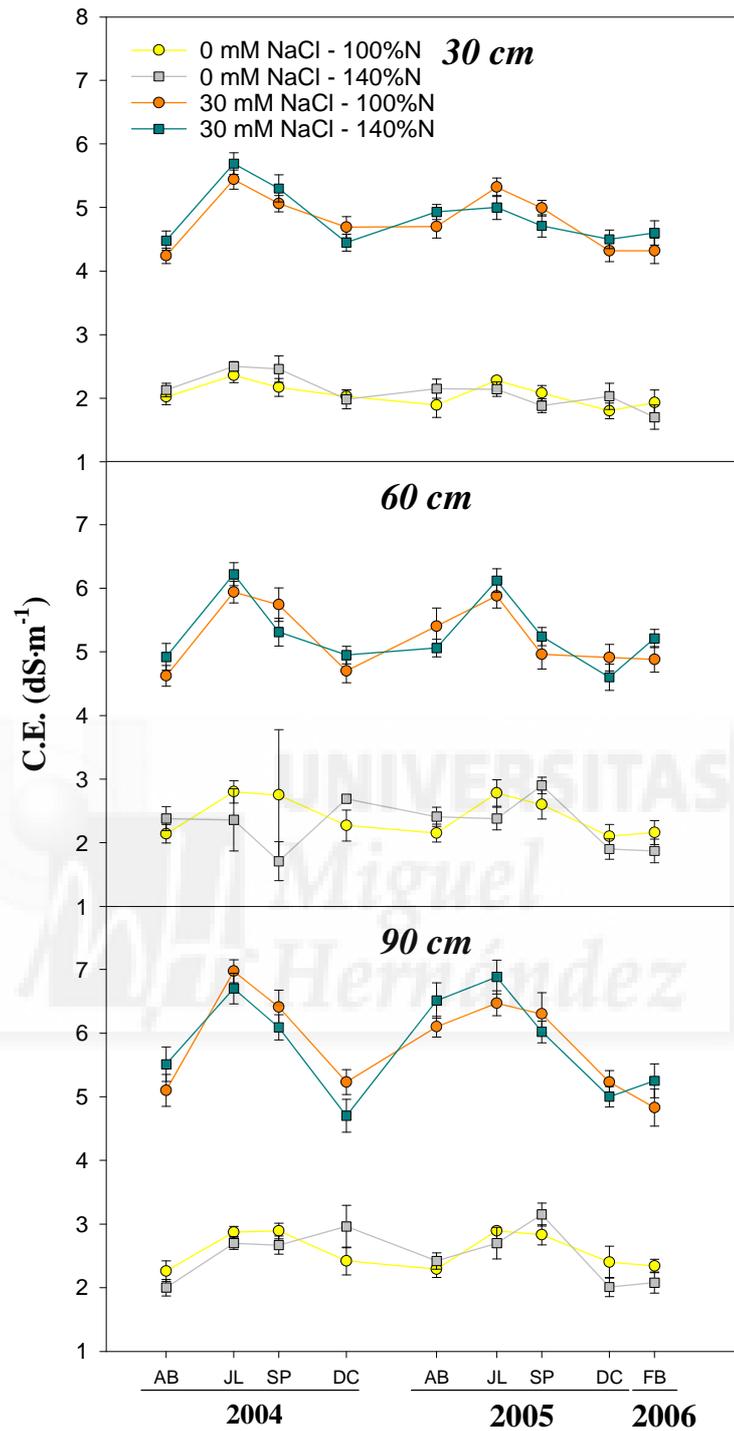


Figura 4.32. Evolución de la C.E.s recogida en las sondas de succión para los distintos tratamientos y a diferente profundidad lo largo de los años 2004, 2005 y 2006. Cada valor corresponde a la media de 4 repeticiones por tratamiento \pm ES.

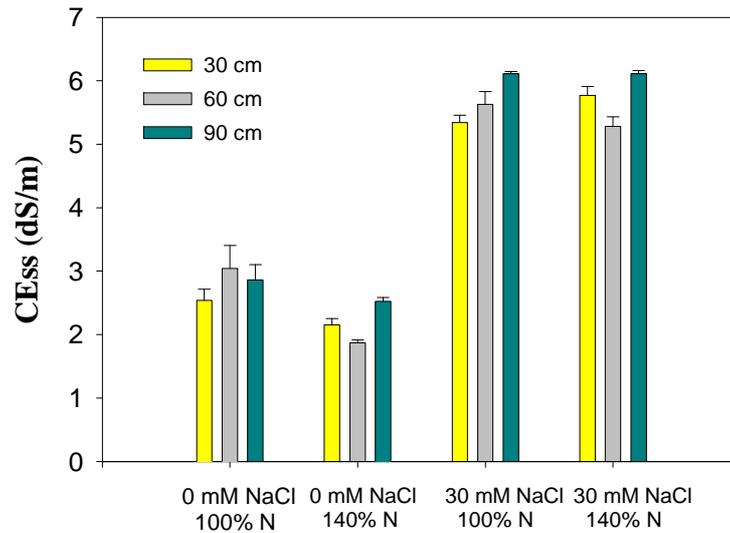


Figura 4.33. Valores medios de CEss recogida en las sondas de succión medidas para los distintos tratamientos y a diferente profundidad a lo largo de los años 2004, 2005 y 2006. Cada valor corresponde a la media de 4 repeticiones por tratamiento \pm ES.

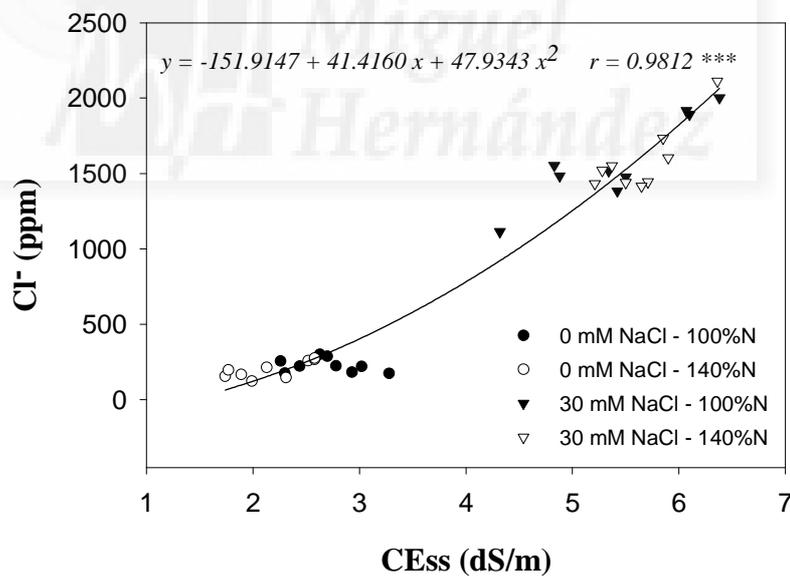


Figura 4.34. Relación entre la CEss y la concentración de cloruros en la solución del suelo para los distintos tratamientos a lo largo de los años 2004, 2005 y 2006 sin diferenciar profundidades. Cada valor corresponde a la media de 4 repeticiones por tratamiento \pm ES.

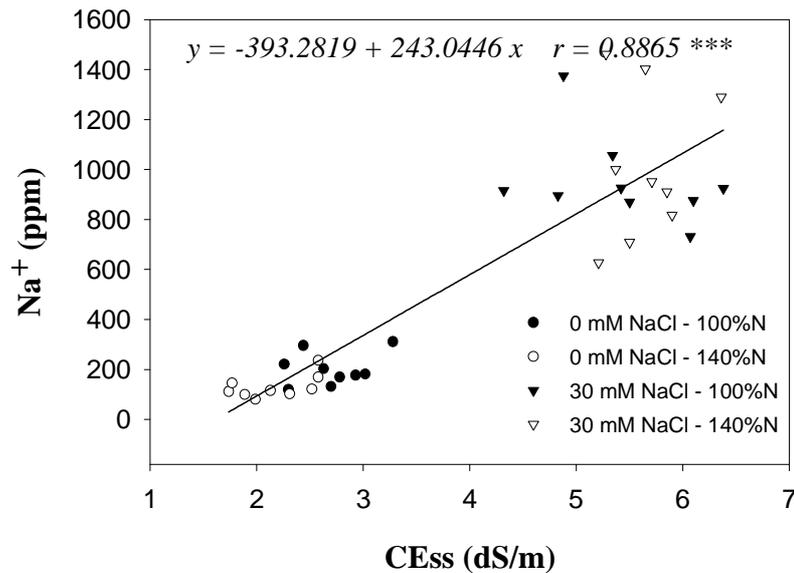


Figura 4.35. Relación entre la CE_{ss} y la concentración de sodio en la solución del suelo para los distintos tratamientos a lo largo de los años 2004, 2005 y 2006 sin diferenciar profundidades. Cada valor corresponde a la media de 4 repeticiones por tratamiento \pm ES.

Por otra parte, la dosis alta de nitrógeno (140% N) no aumentó de forma apreciable la conductividad eléctrica de la solución del suelo (Figura 4.33).

Con la finalidad de conocer la relación existente entre la CE_{ss} de los tratamientos salinos y las concentraciones de los iones salinos Cl⁻ y Na⁺ (ppm) medidos en sonda de succión, se ha realizado un análisis de regresión entre los distintos parámetros, con independencia de cada tratamiento y profundidades. El análisis realizado ha puesto de manifiesto que los valores de la conductividad eléctrica se han correlacionado con las las concentraciones de Cl⁻ ($r = 0.9812$, $P < 0.001$) y Na⁺ ($r = 0.8865$, $P < 0.05$), de forma significativa (Figuras 4.34 y 4.35).

En la figura 4.36 se representa la concentración media de nitratos en la solución del suelo a lo largo de todo el ensayo. Las mayores concentraciones de nitratos se produjeron en los tratamientos suplementarios de nitrógeno (140% N). Mientras en el tratamiento combinado de S+N (30 mM NaCl + 140% N) no hay diferencias de concentración de nitratos en función de la profundidad de obtención de la muestra (Figura 4.36), en el tratamiento de nitrógeno suplementario las concentraciones mayores

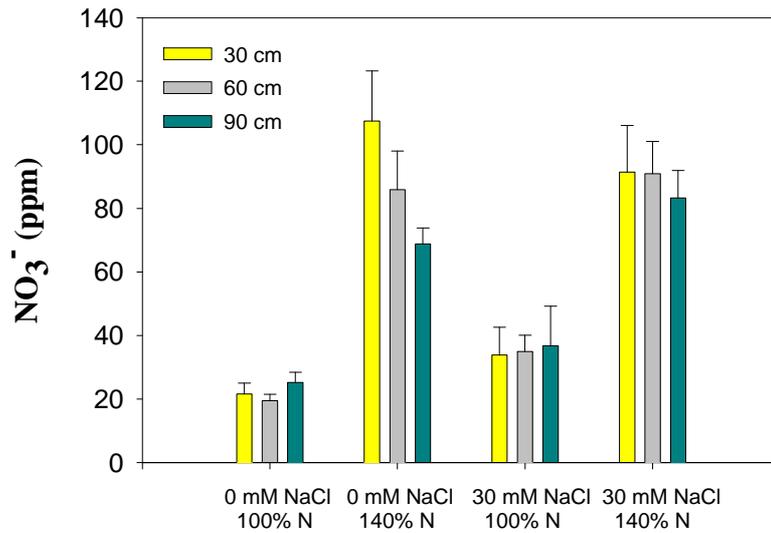


Figura 4.36. Concentración media de nitratos en la solución del suelo recogida en las sondas de succión medidas en los árboles sobre patrón Carrizo para los distintos tratamientos a lo largo de los años 2004, 2005 y 2006. Cada valor corresponde a la media de 4 repeticiones por tratamiento \pm ES.

de nitratos se encuentran a 30 cm de profundidad, disminuyendo a los 90 cm, lo que indica la asimilación correcta de nitrógeno por las raíces de la planta.

A pesar de la dificultad de cuantificar los distintos términos que integran el balance de nitrógeno, entre los que se encuentran los aportes al suelo por la mineralización de la materia orgánica, agua de riego y abonado (Espada, 2002), nuestros resultados indican una menor absorción radicular de NO_3^- en condiciones salinas, como se evidencia cuando comparamos los niveles de nitratos a 60 y 90 cms de profundidad frente al tratamiento salino (Figura 4.36).

En este sentido, se ha observado con anterioridad que soluciones de suelo con altas relaciones $\text{Cl}^-/\text{NO}_3^-$ causan una menor asimilación de N-nítrico (Cadahia y col., 2005) por competencia iónica y por inhibición de la nitrato reductasa (López-Berenguer y col., 2006).

4.2.2. Concentración de iones salinos

4.2.2.1. Cloruro

Los árboles salinizados sobre citrange Carrizo presentaron desde el comienzo del experimento un incremento progresivo en los niveles de Cl^- en hoja joven y hoja adulta (Figura 4.37). Por el contrario, en los árboles sobre mandarina Cleopatra, el patrón tolerante, no se alcanzaron diferencias significativas en la acumulación foliar de cloruro entre tratamientos salinos (30 mM NaCl) y no salinos (0 mM NaCl) hasta las fechas finales del ensayo (Figura 4.37). Así mismo, el análisis mineral llevado a cabo en raíces en el mes de noviembre de 2005, mostró una mayor acumulación de cloruro en las raíces de los árboles sobre citrange Carrizo con respecto a aquellas sobre mandarina Cleopatra (Figura 4.38), confirmando que mandarina Cleopatra presenta un mecanismo más restrictivo que Carrizo para la absorción de Cl^- por la raíz (Ream y Furr, 1976; Walker y Douglas, 1983; Moya y col., 2002; López-Climent y col., 2008). Resultados similares fueron observados en el experimento llevado a cabo en condiciones de invernadero.

En los árboles sobre citrange Carrizo sometidos a riego salino, las hojas adultas presentaron en general niveles de Cl^- superiores a las hojas jóvenes (Figura 4.37), resultados que concuerdan con los obtenidos por Sykes (1985a), Syvertsen y col. (1988), Colmer y col. (1995) y Paranychianakis y Chartzoulakis (2005). Esto parece responder a dos procesos, por una parte el flujo del xilema y su concentración, conducen a una acumulación mayor en las hojas viejas y por otra parte es debido a la rápida expansión de las células de las hojas jóvenes que produce en éstas un efecto de dilución (Greenway y Munns, 1980; Yeo y Flowers, 1983). La vida prolongada de hojas viejas es esencial bajo condiciones salinas, por actuar como sumidero para la acumulación de iones, tamponando acumulaciones potencialmente tóxicas en las hojas más jóvenes.

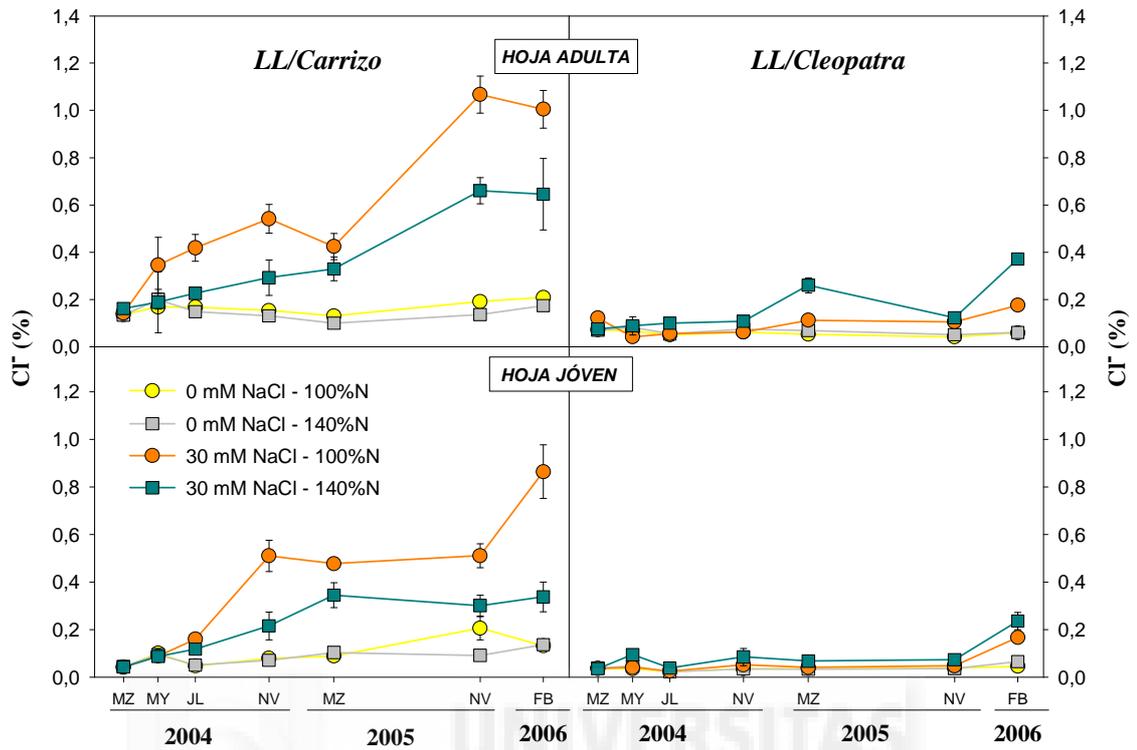


Figura 4.37. Evolución del contenido en cloruro en hojas adultas y jóvenes para los distintos tratamientos y combinaciones a lo largo de los años 2004, 2005 y 2006. Cada valor corresponde a la media de 6 repeticiones por tratamiento \pm ES.

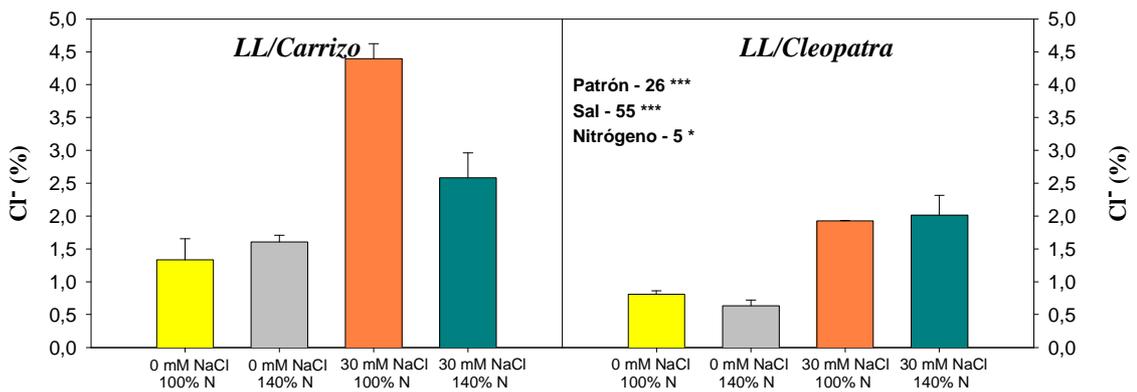


Figura 4.38. Concentración de cloruro en las raíces en los diferentes tratamientos y combinaciones en noviembre de 2005. Cada valor corresponde a la media de 6 repeticiones por tratamiento \pm ES.

A pesar de las altas concentraciones de cloruro que presentaban las hojas adultas sobre citrange Carrizo en la fase final del experimento (Tabla 4.17), no se observaron síntomas de daño foliar, lo cual pudo deberse a una buena compartimentación del Cl⁻ en las vacuolas de las células a fin de proteger los sistemas enzimáticos del citoplasma y contribuyendo de esta forma al ajuste osmótico (Lloyd y col., 1989).

Tabla 4.17. Efecto del patrón y del tratamiento sobre la acumulación de cloruro en hojas adultas en momentos puntuales de los años 2004, 2005 y 2006.

Factores Principales		Cl (%)			
		Julio 2004	Marzo 2005	Noviembre 2005	Marzo 2006
Patrón	Carrizo	0.240	0.246	0.513	0.508
	Cleopatra	0.065	0.123	0.080	0.166
Salinidad	0 mM NaCl	0.105	0.087	0.104	0.125
	30 mM NaCl	0.199	0.281	0.489	0.549
Nitrógeno	100% N	0.172	0.180	0.351	0.361
	140% N	0.132	0.189	0.242	0.312
Carrizo	0 mM NaCl	0.157b	0.115a	0.163a	0.190ab
	30 mM NaCl	0.322c	0.377b	0.864b	0.825c
Cleopatra	0 mM NaCl	0.052a	0.060a	0.045a	0.059a
	30 mM NaCl	0.077a	0.186a	0.113a	0.273b
Carrizo	100% N	0.292c	0.277	0.629	0.606c
	140% N	0.187b	0.214	0.397	0.409bc
Cleopatra	100% N	0.053a	0.082	0.073	0.116a
	140% N	0.076a	0.164	0.086	0.216ab
0 mM NaCl	100% N	0.109	0.091	0.116ab	0.133
	140% N	0.101	0.084	0.093a	0.116
30 mM NaCl	100% N	0.236	0.268	0.586c	0.590
	140% N	0.162	0.294	0.391bc	0.508
Anova	Patrón	50 ***	33 ***	45 ***	30 ***
	Salinidad	15 ***	34 ***	35 ***	47 ***
	Nitrógeno	ns	ns	ns	ns
	Patrón x Sal	29 ***	44 ***	83 ***	30 ***
	Patrón x N	16 ***	ns	ns	6 **
	Sal x N	ns	ns	6 **	ns

*, **, *** y 'ns' indican diferencias significativas a $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$ y no significativas, respectivamente. Para cada columna, letras iguales indican que no existen diferencias significativas al 95% según el test de Duncan. Las interacciones que no aparecen no son significativas para los parámetros estudiados en la tabla.

En cuanto al efecto de la adición de nitrógeno a los tratamientos salinos sobre la acumulación de iones Cl^- , se observa que en el tratamiento S+N (30 mM NaCl + 140% N), disminuyó ligeramente la concentración de Cl^- en hojas y raíces de la combinación Lane late/citrango Carrizo con respecto a los tratamientos salinos sin nitrógeno adicional (30 mM NaCl + 100% N) pero sin llegar a ser este efecto significativo (Tablas 4.17 y 4.18 y Figuras 4.37 y 4.38). Una posible explicación para la disminución de la concentración de Cl^- en los tejidos de la combinación Lane late/citrango Carrizo podría atribuirse al antagonismo que existe entre el Cl^- y el NO_3^- en la absorción por la raíz.

Tabla 4.18. Efecto del patrón y del tratamiento sobre la acumulación de cloruro en hojas jóvenes en momentos puntuales de los años 2004, 2005 y 2006.

Factores Principales		Cl ⁻ (%)			
		Julio 2004	Marzo 2005	Noviembre 2005	Marzo 2006
Patrón	Carrizo	0.094	0.254	0.278	0.368
	Cleopatra	0.028	0.139	0.045	0.129
Salinidad	0 mM NaCl	0.037	0.071	0.092	0.095
	30 mM NaCl	0.086	0.321	0.230	0.401
Nitrógeno	100% N	0.064	0.182	0.199	0.302
	140% N	0.058	0.211	0.124	0.195
Carrizo	0 mM NaCl	0.049b	0.096ab	0.149b	0.134a
	30 mM NaCl	0.139c	0.411c	0.406c	0.601b
Cleopatra	0 mM NaCl	0.024a	0.046a	0.035a	0.056a
	30 mM NaCl	0.032ab	0.053a	0.054a	0.202a
Carrizo	100% N	0.103	0.283b	0.359c	0.498b
	140% N	0.085	0.225b	0.197b	0.238a
Cleopatra	100% N	0.026	0.080a	0.039a	0.106a
	140% N	0.031	0.197ab	0.050a	0.151a
0 mM NaCl	100% N	0.036	0.063	0.121a	0.089
	140% N	0.037	0.079	0.063a	0.102
30 mM NaCl	100% N	0.093	0.300	0.276ab	0.516
	140% N	0.078	0.342	0.185b	0.287
Anova	Patrón	45 ***	42 ***	53 ***	17 ***
	Salinidad	16 ***	44 ***	19 ***	26 ***
	Nitrógeno	ns	ns	ns	ns
	Patrón x Sal	64 ***	85 ***	37 ***	20 ***
	Patrón x N	ns	7 **	17 ***	6 **
	Sal x N	ns	ns	3 *	ns

*, **, *** y 'ns' indican diferencias significativas a $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$ y no significativas, respectivamente. Para cada columna, letras iguales indican que no existen diferencias significativas al 95% según el test de Duncan. Las interacciones que no aparecen no son significativas para los parámetros estudiados en la tabla.

Este efecto del aporte extra de nitrógeno sobre la reducción en la acumulación foliar de cloruro ha sido también descrito por diversos autores (Bernstein y col., 1974; Kafkafi y col., 1982; Feigin y col., 1987; Martinez y Cerdá, 1989; Gimeno y col., 2009).

4.2.2.2. Sodio

La figura 4.39 muestra la evolución de la concentración de sodio en la hoja joven y adulta encontrada en naranjo Lane late sobre los dos patrones citrange Carrizo y mandarina Cleopatra en función de los tratamientos aplicados.

Las hojas adultas de los árboles regados con 30 mM de NaCl presentaron, en general, mayor acumulación de sodio que las hojas jóvenes (Figura 4.39), presentando las primeras, en la fecha final del ensayo y con independencia del patrón empleado, concentraciones de Na⁺ próximas a 0.21 %, mientras que las hojas jóvenes presentaron concentraciones de Na⁺ próximas a 0.13 %. Esta acumulación preferencial de los iones Na⁺ en hojas adultas con respecto a las jóvenes resulta crucial para la tolerancia a la salinidad de las plantas glicofitas, y puede deberse a la mayor velocidad de crecimiento de las hojas jóvenes, así como a su menor tasa de transpiración (Paranychianakis y Chartzoulakis, 2005).

En cualquier caso, los niveles de sodio en hojas adultas de ambas combinaciones no llegaron a alcanzar los niveles establecidos por del Amor y col. (1984) como tóxicos para cítricos (0.3-0.5 % en peso seco). En este sentido, es posible que el elevado carácter calizo del suelo en la zona donde se llevó a cabo el ensayo (campo de Cartagena) haya podido limitar la absorción de sodio por un antagonismo Ca²⁺/ Na⁺ (Zekri y Parsons, 1990b; Bañuls y col., 1991; Ebert y col., 2002).

La concentración de Na⁺ aumentó en hojas y raíces en los arboles injertados sobre ambos patrones y en todos los tratamientos con NaCl (Tablas 4.19 y 4.20 y Figura 4.40). Este incremento fue mayor en raíz que en hoja (Figuras 4.39 y 4.40), lo que sugiere que, en las condiciones en la que se llevó a cabo el ensayo, ambos patrones fueron capaces de acumular altas concentraciones de estos iones en las raíces evitando así su transporte hacia la parte aérea del árbol.

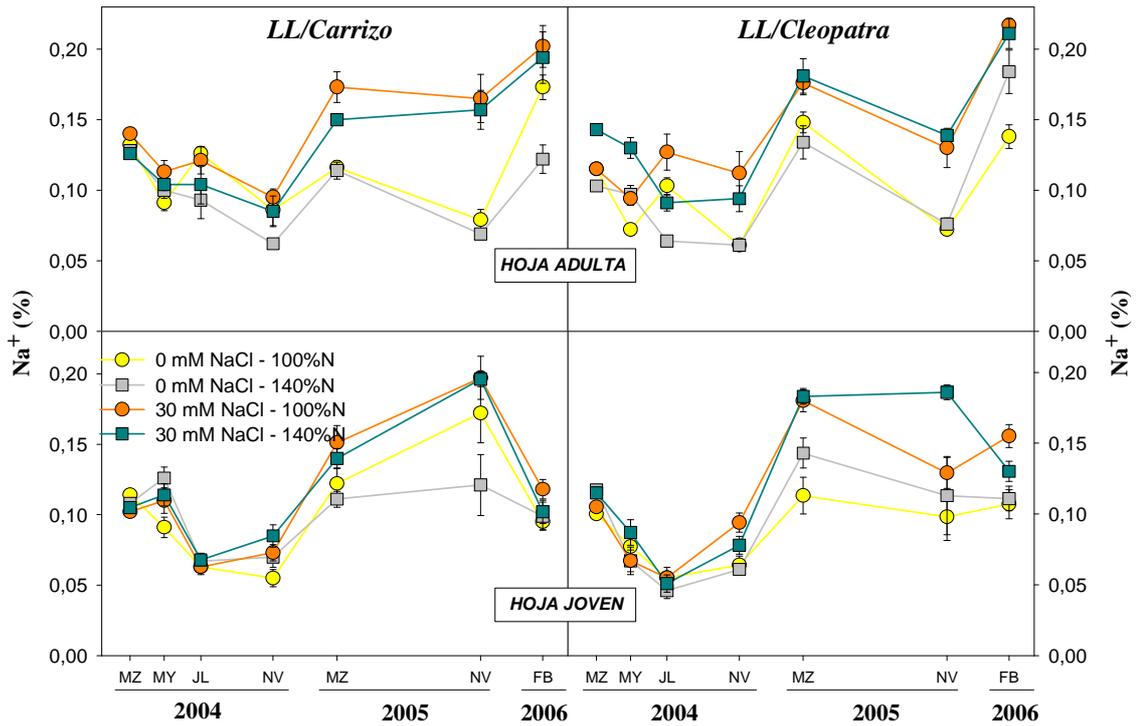


Figura 4.39. Evolución del contenido en sodio en hojas adultas y jóvenes para los distintos tratamientos y combinaciones a lo largo de los años 2004, 2005 y 2006. Cada valor corresponde a la media de 6 repeticiones por tratamiento \pm ES.

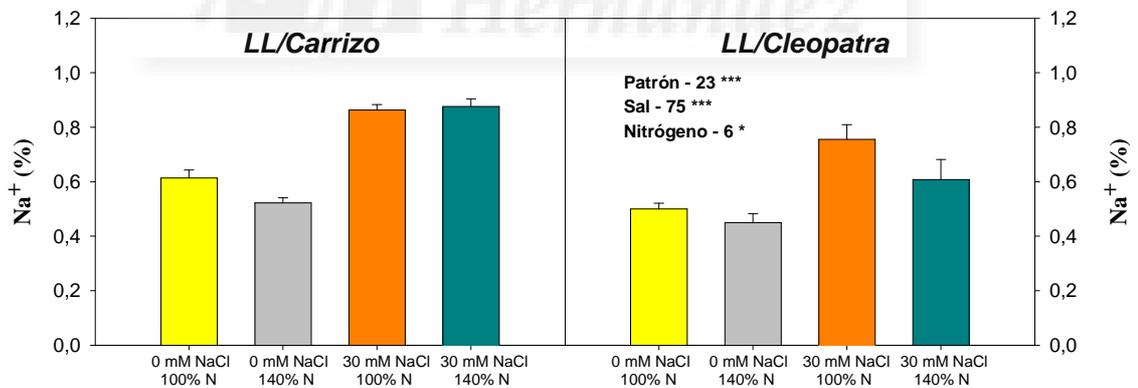


Figura 4.40. Concentración de sodio en las raíces en los diferentes tratamientos y combinaciones en noviembre de 2005. Cada valor corresponde a la media de 6 repeticiones por tratamiento \pm ES.

En nuestro experimento, los árboles de las combinaciones Lane late/citrango Carrizo y Lane late/mandarino Cleopatra sometidos a riego salino presentaron niveles muy parecidos de Na⁺ en hoja adulta (Tabla 4.19).

El patrón citrango Carrizo ha sido señalado como un buen excluidor de Na⁺ (Bañuls y Primo-Millo, 1995; Levy y col., 1999) por lo que los resultados obtenidos indican que, en las condiciones edafoclimáticas en las que llevó a cabo el ensayo, la habilidad de las raíces de Carrizo para restringir el transporte de Na⁺ hacia la parte aérea de los árboles se vió limitada.

Tabla 4.19. Efecto del patrón y del tratamiento sobre la acumulación de sodio en hojas adultas en momentos puntuales de los años 2004, 2005 y 2006.

Factores Principales		Na ⁺ (%)			
		Julio 2004	Marzo 2005	Noviembre 2005	Marzo 2006
Patrón	Carrizo	0.111	0.138	0.117	0.173
	Cleopatra	0.096	0.160	0.104	0.187
Salinidad	0 mM NaCl	0.097	0.128	0.074	0.154
	30 mM NaCl	0.110	0.170	0.148	0.206
Nitrógeno	100% N	0.119	0.153	0.111	0.182
	140% N	0.088	0.145	0.110	0.178
Carrizo	0 mM NaCl	0.110	0.115a	0.074a	0.147a
	30 mM NaCl	0.112	0.161c	0.161b	0.198b
Cleopatra	0 mM NaCl	0.083	0.141b	0.074a	0.161a
	30 mM NaCl	0.109	0.178c	0.134c	0.214b
Carrizo	100% N	0.123bc	0.145	0.122	0.188
	140% N	0.099b	0.132	0.113	0.158
Cleopatra	100% N	0.115bc	0.162	0.101	0.177
	140% N	0.077a	0.158	0.107	0.197
0 mM NaCl	100% N	0.115bc	0.132	0.075	0.155
	140% N	0.078a	0.124	0.072	0.153
30 mM NaCl	100% N	0.124c	0.174	0.148	0.210
	140% N	0.097ab	0.165	0.148	0.202
Anova	Patrón	6 *	12 **	4 *	ns
	Salinidad	ns	46 ***	113 ***	31 ***
	Nitrógeno	23 ***	ns	ns	ns
	Patrón x Sal	ns	19 ***	45 ***	11 ***
	Patrón x N	9 ***	ns	ns	ns
	Sal x N	8 ***	ns	ns	ns

*, **, *** y 'ns' indican diferencias significativas a P<0.05, P<0.01, P<0.001 y no significativas, respectivamente. Para cada columna, letras iguales indican que no existen diferencias significativas al 95% según el test de Duncan. Las interacciones que no aparecen no son significativas para los parámetros estudiados en la tabla.

García-Sánchez y col. (2002b) en ensayos llevados a cabo en invernadero con los patrones citrange Carrizo y mandarina Cleopatra y con niveles de salinidad de 0, 30, 60 y 90 mM encontraron que en los tratamientos con 90 mM las hojas de ambos patrones presentaron niveles similares de sodio en hoja y raíz.

Finalmente, la aplicación extra de NH_4NO_3 a la solución salina causó una disminución de la concentración de Na^+ en las raíces de los árboles injertados sobre mandarina Cleopatra (Figura 4.40). Sin embargo, no se encontraron, en general, diferencias significativas sobre los niveles de Na^+ en hoja entre los árboles de tratamientos S+N y S (Tablas 4.19 y 4.20 y Figura 4.39).

Tabla 4.20. Efecto del patrón y del tratamiento sobre la acumulación de sodio en hojas jóvenes en momentos puntuales de los años 2004, 2005 y 2006.

Factores Principales		Na^+ (%)			
		Julio 2004	Marzo 2005	Noviembre 2005	Marzo 2006
Patrón	Carrizo	0.065	0.131	0.171	0.104
	Cleopatra	0.052	0.155	0.132	0.125
Salinidad	0 mM NaCl	0.058	0.122	0.126	0.103
	30 mM NaCl	0.059	0.164	0.177	0.126
Nitrógeno	100% N	0.059	0.141	0.149	0.119
	140% N	0.058	0.144	0.154	0.110
Carrizo	0 mM NaCl	0.065	0.117a	0.147ab	0.097a
	30 mM NaCl	0.066	0.145b	0.196c	0.110a
Cleopatra	0 mM NaCl	0.051	0.128ab	0.105a	0.108a
	30 mM NaCl	0.053	0.182c	0.158b	0.143b
Carrizo	100% N	0.063bc	0.137	0.185c	0.107ab
	140% N	0.067c	0.126	0.158b	0.100a
Cleopatra	100% N	0.055a	0.146	0.114a	0.131c
	140% N	0.049ab	0.136	0.150ab	0.119bc
0 mM NaCl	100% N	0.059	0.118	0.135	0.101a
	140% N	0.057	0.127	0.117	0.104a
30 mM NaCl	100% N	0.059	0.165	0.163	0.137b
	140% N	0.060	0.162	0.190	0.116a
Anova	Patrón	14 ***	11 **	ns	16 ***
	Salinidad	ns	33 ***	6 *	17 ***
	Nitrógeno	ns	ns	ns	ns
	Patrón x Sal	ns	17 ***	3 *	13 ***
	Patrón x N	6 **	ns	3 *	4 *
	Sal x N	ns	ns	ns	6 **

*, **, *** y 'ns' indican diferencias significativas a $p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$ y no significativas, respectivamente. Para cada columna, letras iguales indican que no existen diferencias significativas al 95% según el test de Duncan. Las interacciones que no aparecen no son significativas para los parámetros estudiados en la tabla.

4.2.3. Relaciones hídricas

4.2.3.1. Potencial hídrico y contenido relativo de agua

El potencial hídrico foliar es un buen indicador del estado hídrico de la planta y ha sido propuesto para el manejo y control del riego en cítricos por diferentes autores (Levy, 1980; Syvertsen y col., 1981). En la figura 4.41 se presenta la evolución estacional del potencial hídrico del xilema (Ψ_x) durante los años 2004 y 2006.

El potencial hídrico del xilema medido al mediodía (Ψ_x) osciló entre -0.17 y -1.64 MPa para los tratamientos control de ambos patrones, observándose una evolución del Ψ_x en función del clima. Así, a lo largo del experimento, se produjo una bajada generalizada de los valores de Ψ_x en todos los tratamientos que se mantuvo hasta la cosecha (Figura 4.41). El inicio de la bajada correspondió con el aumento de las temperaturas (Figura 3.2) y con la fase II del desarrollo del fruto, en la que debido a la carga de frutos el árbol se encuentra más estresado hídricamente ya que la mayoría de los recursos hídricos los destina al aumento de tamaño del fruto.

El riego con aguas salinas provocó, con excepción de noviembre de 2005, un descenso de los valores de Ψ_x y del contenido relativo en agua en hoja (CRA) con respecto a los tratamientos no salinos (Tabla 4.21 y Figuras 4.41 y 4.42). Sin embargo, después de tres años de ensayo, los valores de Ψ_x se mantuvieron próximos a -1 MPa en los dos tratamientos salinos y en ambos patrones. No se observó, por tanto a lo largo del ensayo condición alguna de déficit hídrico en los árboles sometidos a riego salino, estando los valores de Ψ_x dentro de los valores establecidos por diferentes autores para cítricos bien regados (Elfving y col., 1972; Smart y Barrs, 1973; Cohen y Cohen, 1983; Castel y Buj, 1990). Por otra parte, el hecho de que ambos patrones, con diferente tolerancia a la salinidad, presenten, en estas condiciones de ensayo, valores parecidos de Ψ_x indica que, en estas condiciones de ensayo, y a niveles de salinidad de 30 mM NaCl, no se ponen de manifiesto las diferentes eficiencias en la extracción de agua en el suelo de ambos patrones.

En referencia a noviembre de 2005, la carencia de lluvias y de escasez de agua para el riego en esas fechas provocó que los árboles no salinizados sobre citrange Carrizo presentaran un descenso significativo de Ψ_x y CRA con respecto a los árboles salinizados (Tabla 4.21).

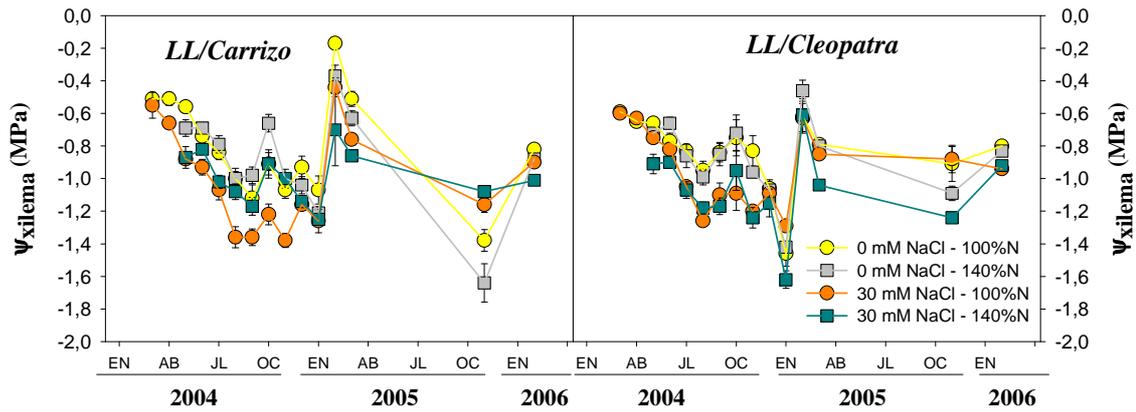


Figura 4.41. Evolución estacional del potencial hídrico de xilema medido al mediodía para 2004, 2005 y 2006. Cada punto representa la media de 6 repeticiones por tratamiento \pm ES.

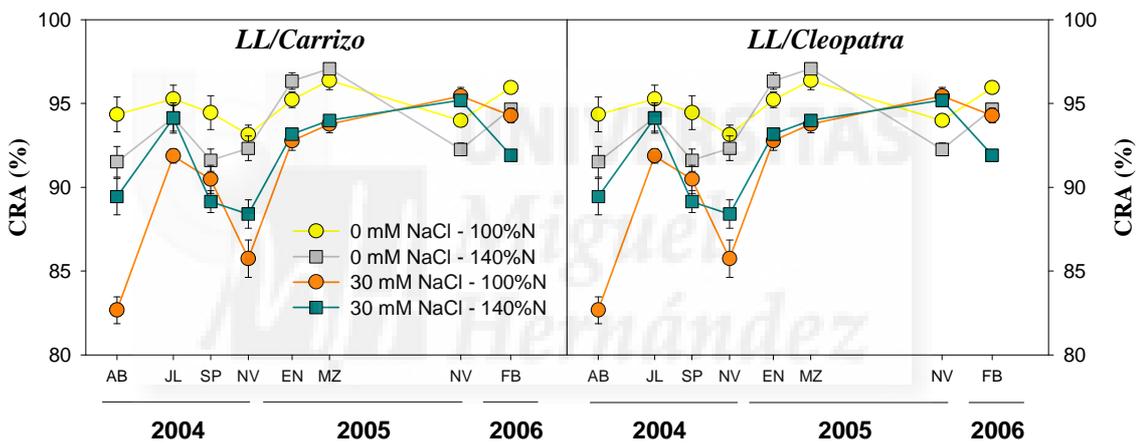


Figura 4.42. Evolución estacional del contenido relativo de agua (CRA) medido al mediodía para 2004, 2005 y 2006. Cada punto representa la media de 6 repeticiones por tratamiento \pm ES.

Es posible que los árboles salinizados sobre citrange Carrizo no acusaran significativamente este recorte hídrico debido a estar previamente adaptados a un ligero estrés a lo largo del ensayo.

Por otra parte, la mayor sensibilidad de los árboles sobre citrange Carrizo que sobre mandarina Cleopatra al estrés hídrico en esas fechas podría ser explicada teniendo en cuenta las características específicas de uno y otro patrón, ya que existen claras diferencias en la morfología de las raíces de los mismos.

En este sentido, Syvertsen (1981) señaló que los patrones vigorosos, como citrange Carrizo tienden a dar mayores conductividades hidráulicas en condiciones de riego normales que los menos vigorosos, como mandarina Cleopatra. Además, el sistema radicular de los primeros posee raíces más finas, que tienden a concentrarse en un pequeño volumen de suelo (Syvertsen y Graham, 1985), lo que provoca que se desarrolle un estrés hídrico rápidamente. En cambio, Cleopatra posee un sistema radicular más ramificado y profundo, explorando más volumen de suelo, lo que le permite mantener un mejor estado hídrico en la planta en condiciones de carencia hídrica (Hearn y Hutchison, 1977; Davies y Albrigo, 1994; Romero y col., 2006).

Tabla 4.21. Valores medios de los parámetros de potencial hídrico del xilema (Ψ_x), y del contenido relativo de agua (CRA) durante los momentos más representativos de cada periodo de 2004, 2005 y 2006.

Factores Principales		Julio 2004		Marzo 2005		Noviembre 2005		Marzo 2006	
		Ψ_x (MPa)	CRA (%)	Ψ_x (MPa)	CRA (%)	Ψ_x (MPa)	CRA (%)	Ψ_x (MPa)	CRA (%)
Patrón	Carrizo	-0.91	93.8	-0.69	95.3	-1.31	94.2	-0.90	94.2
	Cleopatra	-0.97	95.6	-0.87	93.5	-1.03	95.7	-0.87	93.4
Salinidad	0 mM NaCl	-0.84	95.4	-0.68	96.0	-1.25	94.5	-0.83	94.7
	30 mM NaCl	-1.04	94.0	-0.88	92.7	-1.09	95.4	-0.94	92.9
Nitrógeno	100% N	-0.92	94.6	-0.73	94.3	-1.08	95.5	-0.87	94.3
	140% N	-0.96	94.8	-0.83	94.5	-1.26	94.4	-0.91	93.3
Carrizo	0 mM NaCl	-0.80b	94.7b	-0.57c	96.7d	-1.51a	93.1a	-0.85b	95.3c
	30 mM NaCl	-1.01a	93.0a	-0.81b	93.9b	-1.12b	95.3b	-0.96a	93.1ab
Cleopatra	0 mM NaCl	-0.87b	96.2c	-0.80b	95.3c	-1.00b	95.9b	-0.82b	94.0b
	30 mM NaCl	-1.08a	95.0bc	-0.95a	91.6a	-1.06b	95.5b	-0.93a	92.8a
Carrizo	100% N	-0.86	93.6a	-0.63c	95.1	-1.27ab	94.7ab	-0.86b	95.1b
	140% N	-0.95	94.1ab	-0.75b	95.5	-1.36a	93.7a	-0.95a	93.3a
Cleopatra	100% N	-0.99	95.6b	-0.82ab	93.4	-0.89c	96.4c	-0.87b	93.4a
	140% N	-0.96	95.5b	-0.92a	93.5	-1.16b	95.1b	-0.88b	93.3a
0 mM NaCl	100% N	-0.84	95.6	-0.65c	96.5c	-1.14ab	95.0ab	-0.81	95.2c
	140% N	-0.84	95.3	-0.72bc	95.6c	-1.36a	94.0a	-0.86	94.1b
30 mM NaCl	100% N	-1.01	93.5	-0.81b	92.0a	-1.02b	96.0b	-0.92	93.4ab
	140% N	-1.08	94.4	-0.95c	93.5b	-1.16ab	94.8a	-0.97	95.5a
Anova	Patrón	ns	12 **	50 ***	18 ***	20 ***	22 ***	ns	6 *
	Salinidad	19 ***	8 **	57 ***	58 ***	8 **	7 *	41 ***	27 ***
	Nitrógeno	ns	ns	17 ***	ns	7 *	12 **	7 *	8 **
	Patrón x Sal	7 ***	7 ***	28 ***	26 ***	19 ***	17 ***	13 ***	10 ***
	Patrón x N	ns	4 *	10 ***	ns	9 **	10 ***	3 *	5 **
	Sal x N	ns	ns	12 ***	18 ***	3 *	4 *	ns	11 ***

*, **, *** y 'ns' indican diferencias significativas a $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$ y no significativas, respectivamente. Para cada columna, letras iguales indican que no existen diferencias significativas al 95% según el test de Duncan. Las interacciones que no aparecen no son significativas para los parámetros estudiados en la tabla.

Finalmente, la fertilización nitrogenada suplementaria disminuyó ligeramente los valores de Ψ_x respecto a los tratamientos sin nitrógeno debido a los efectos osmóticos agregados sobre la absorción de agua, si bien este efecto únicamente fue significativo en los árboles sobre citrange Carrizo y a partir de marzo de 2005 (Tabla 4.21).

4.2.3.2. Potencial osmótico y de turgor

El potencial osmótico (Ψ_π) y el potencial osmótico a plena turgencia (Ψ_π^{100}) disminuyeron a lo largo del experimento para todos los tratamientos (Figura 4.43), no observándose un efecto claro del patrón empleado sobre ambos parámetros (Tabla 4.22).

Por otra parte, la salinidad tuvo un efecto diferente sobre el Ψ_π dependiendo de la fecha del ensayo. Así, durante la primera parte del ensayo los tratamientos salinos se mantuvieron con potenciales osmóticos similares a los tratamientos no salinos (Tabla 4.22 y Figura 4.43). Esta ausencia inicial de respuesta del Ψ_π a la salinidad provocó durante este tiempo y sobre ambos patrones una pérdida significativa de turgor en hoja con respecto a los tratamientos no salinos (Tabla 4.22 y Figura 4.43).

El potencial osmótico de los tratamientos salinos descendió a partir de enero de 2005, exceptuando el mes de noviembre de 2005 (Figura 4.43). Este descenso del Ψ_π aumentó el potencial de turgencia (Ψ_p) (Tabla 4.22), ayudando a mantener un buen estado hídrico de los árboles. En ambos patrones el descenso del Ψ_π por la salinidad vino acompañado de un descenso simultáneo del Ψ_π^{100} (Tabla 4.22), sugiriendo que se produjeron procesos de ajuste osmótico. En este sentido, numerosos estudios indican que en cítricos la turgencia de los tratamientos salinos se mantiene en niveles similares a los de las plantas no salinizadas y que la acumulación de iones Cl^- y Na^+ en las hojas contribuye a los procesos de ajuste osmótico en condiciones de salinidad (Walker y col., 1993; Ruiz, 1996; García-Sánchez y Syvertsen, 2006; Pérez-Pérez y col., 2007).

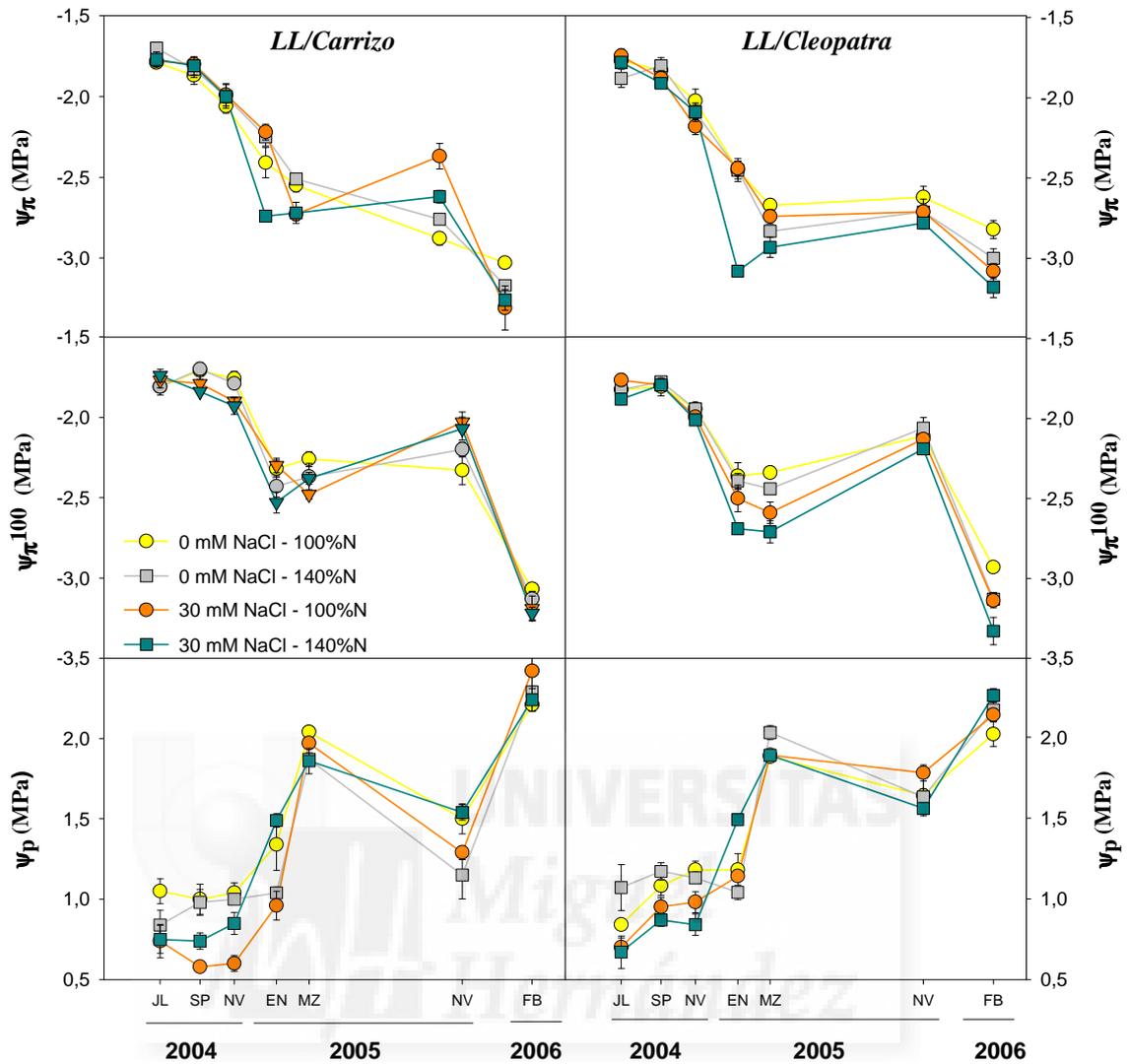


Figura 4.43. Evolución del potencial osmótico (Ψ_{π}), potencial osmótico a plena turgencia (Ψ_{π}^{100}) y potencial de turgor (Ψ_p) en los diferentes tratamientos y combinaciones a lo largo de los años 2004, 2005 y 2006. Cada valor corresponde a la media de 6 repeticiones por tratamiento \pm ES.

En noviembre de 2005, la carencia de lluvias y de escasez de agua para el riego en esas fechas provocó un cierto grado de estrés hídrico en los árboles no salinizados sobre citrange Carrizo (Tabla 4.21), observándose en estos árboles un descenso simultáneo de Ψ_{π} y Ψ_{π}^{100} con respecto a los árboles sobre citrange Carrizo de tratamientos salinos (Tabla 4.22). Esto sugiere una acumulación activa de osmolitos como un mecanismo de respuesta al déficit hídrico experimentado por estos árboles.

Tabla 4.22. Efecto del patrón y del tratamiento sobre el potencial osmótico (Ψ_{π}), potencial osmótico a plena turgencia (Ψ_{π}^{100}) y potencial de turgencia (Ψ_P) en momentos puntuales de los años 2004, 2005 y 2006.

Factores Principales		Julio 2004			Marzo 2005			Noviembre 2005			Marzo 2006		
		(MPa)			(MPa)			(MPa)			(MPa)		
		Ψ_{π}	Ψ_{π}^{100}	Ψ_P	Ψ_{π}	Ψ_{π}^{100}	Ψ_P	Ψ_{π}	Ψ_{π}^{100}	Ψ_P	Ψ_{π}	Ψ_{π}^{100}	Ψ_P
Patrón	Carrizo	-1.76	-1.78	0.84	-2.63	-2.37	1.94	-2.66	-2.16	1.37	-3.19	-3.15	2.29
	Cleopatra	-1.79	-1.82	0.82	-2.79	-2.52	1.92	-2.71	-2.12	1.65	-3.02	-3.13	2.15
Salinidad	0 mM NaCl	-1.79	-1.82	0.95	-2.64	-2.35	1.96	-2.74	-2.18	1.48	-3.01	-3.07	2.17
	30 mM NaCl	-1.77	-1.79	0.72	-2.78	-2.54	1.90	-2.62	-2.11	1.54	-3.21	-3.22	2.26
Nitrógeno	100% N	-1.77	-1.79	0.83	-2.67	-2.42	1.95	-2.64	-2.15	1.55	-3.06	-3.08	2.20
	140% N	-1.78	-1.82	0.83	-2.75	-2.48	1.91	-2.72	-2.13	1.47	-3.15	-3.20	2.24
Carrizo	0 mM NaCl	-1.75	-1.81	0.94b	-2.53c	-2.31c	1.96	-2.82a	-2.27a	1.32	-3.10b	-3.10bc	2.25ab
	30 mM NaCl	-1.78	-1.75	0.74a	-2.72b	-2.43b	1.91	-2.49c	-2.05b	1.41	-3.29a	-3.21a	2.33b
Cleopatra	0 mM NaCl	-1.83	-1.82	0.95b	-2.74b	-2.39bc	1.95	-2.67b	-2.09b	1.64	-2.91c	-3.03c	2.10a
	30 mM NaCl	-1.76	-1.82	0.69a	-2.84a	-2.65a	1.89	-2.75ab	-2.16ab	1.67	-3.13b	-3.24a	2.20ab
Carrizo	100% N	-1.79	-1.79	0.89	-2.64b	-2.37b	2.00c	-2.62	-2.18	1.39	-3.17a	-3.13ac	2.31b
	140% N	-1.73	-1.78	0.80	-2.61b	-2.38b	1.87a	-2.69	-2.14	1.35	-3.21a	-3.18a	2.27ab
Cleopatra	100% N	-1.76	-1.79	0.77	-2.71b	-2.47ab	1.89ab	-2.66	-2.12	1.71	-2.95b	-3.03b	2.08a
	140% N	-1.83	-1.85	0.87	-2.88a	-2.58a	1.96bc	-2.75	-2.13	1.59	-3.09ab	-3.23a	2.21ab
0 mM NaCl	100% N	-1.78	-1.82	0.94	-2.61c	-2.30	1.96	-2.75a	-2.12	1.57	-2.93b	-3.00c	2.12
	140% N	-1.79	-1.82	0.95	-2.67bc	-2.41	1.95	-2.74a	-2.13	1.39	-3.08a	-3.13b	2.23
30 mM NaCl	100% N	-1.76	-1.76	0.72	-2.74ab	-2.53	1.93	-2.54b	-2.08	1.53	-3.20a	-3.17ab	2.28
	140% N	-1.78	-1.81	0.71	-2.82a	-2.55	1.87	-2.70a	-2.13	1.55	-3.22a	-3.27a	2.25
Anova	Patrón	ns	ns	ns	25 ***	16 ***	ns	ns	ns	18 ***	13 ***	ns	7 *
	Salinidad	ns	ns	12 ***	22 ***	ns	ns	5 *	ns	ns	18 ***	16 ***	ns
	Nitrógeno	ns	ns	ns	4 *	ns	ns	ns	ns	ns	ns	9 **	ns
	Patrón x Sal	ns	ns	4 **	13 ***	14 ***	ns	9 ***	11 **	ns	9 **	5 **	3 *
	Patrón x N	ns	ns	ns	11 **	4 *	12 **	ns	ns	ns	4 *	4 *	3 *
	Sal x N	ns	ns	ns	5 **	ns	ns	3 *	ns	ns	6 **	9 ***	ns

*, **, *** y 'ns' indican diferencias significativas a $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$ y no significativas, respectivamente. Para cada columna, letras iguales indican que no existen diferencias significativas al 95% según el test de Duncan. Las interacciones que no aparecen no son significativas para los parámetros estudiados en la tabla.

Entre los osmolitos que pudieron actuar en el mecanismo de ajuste osmótico experimentado por los árboles no salinizados sobre citrange Carrizo en la fecha de noviembre de 2005 cabe señalar la acumulación observada de prolina (Tabla 4.23). La prolina es considerada un soluto osmocompatible, ya que contribuye al ajuste osmótico celular, manteniendo un gradiente de potencial hídrico, lo que permite absorber agua y mantener la turgencia celular.

Tabla 4.23. *Influencia de los distintos tratamientos aplicados sobre la concentración de prolina en hoja en el mes de noviembre de 2005.*

Factores principales		Prolina (mg.g ⁻¹ PS hoja)
Patrón	Carrizo	40.8
	Cleopatra	32.2
Salinidad	0 mM NaCl	39.0
	30 mM NaCl	34.0
Nitrógeno	100% N	34.2
	140% N	38.9
Carrizo	0 mM NaCl	48.3b
	30 mM NaCl	33.4a
Cleopatra	0 mM NaCl	29.8a
	30 mM NaCl	34.7a
Carrizo	100% N	40.0b
	140% N	41.6b
Cleopatra	100% N	28.5a
	140% N	38.0b
Anova	Patrón	30 ***
	Salinidad	5 *
	Nitrógeno	4 *
	Patrón x Sal	21 ***
	Patrón x N	40 ***

* y *** indican diferencias significativas a $P < 0.05$ y $P < 0.001$ respectivamente. Para cada columna, letras iguales indican que no existen diferencias significativas al 95% según el test de Duncan. Las interacciones que no aparecen no son significativas para los parámetros estudiados en la tabla.

Una acumulación de prolina frecuentemente se ha vinculado con una mayor tolerancia al estrés por sales y/o por sequía (Syvertsen, 1984; Kuznetsov y Schevyakova, 1999; Ashraf y Foolad, 2007; García-Sánchez y col., 2007). La prolina además de jugar un papel importante en el ajuste osmótico, funciona como soluto osmoprotector del citoplasma y retrasa la pérdida del turgor de las células del mesófilo de las hojas (Andrade y col., 1995; Nolte y col., 1997; Larcher, 2003).

En cuanto al efecto del aporte extra de nitrógeno sobre los parámetros de potencial osmótico, se observó, en los árboles sobre ambos patrones, un ligero descenso del Ψ_{π} con respecto a los tratamientos no nitrogenados, si bien éste efecto no llegó a ser significativo en la mayor parte del ensayo (Tabla 4.22).

Por otra parte, los árboles de tratamientos S+N presentaron valores similares de Ψ_{π} y Ψ_{π}^{100} con respecto a los tratamientos salinos sin nitrógeno (Tabla 4.22). Esto sugiere que el proceso de ajuste osmótico que tuvo lugar en condiciones de salinidad se debió probablemente a la acumulación de iones salinos Na^+ y Cl^- y en menor medida a la síntesis de solutos orgánicos.

4.2.4. Niveles de clorofilas en hoja (SPAD)

La evolución del contenido en clorofilas (valores SPAD) presentó, con independencia del tratamiento aplicado, fluctuaciones a lo largo del desarrollo, con valores máximos en los meses de verano (octubre) y un descenso en la etapa final del ensayo, correspondiente al periodo de senescencia de la hoja (Figura 4.44). Simpson y col. (1976) señalan la disminución del contenido en clorofilas como una de las características de la senescencia.

Las hojas de ambos patrones presentaron, salvo en julio de 2004, valores SPAD similares (Tabla 4.24), teniendo ambos patrones un comportamiento similar en los procesos de síntesis y degradación de clorofilas.

La salinidad redujo desde el inicio del ensayo los niveles de clorofilas en hoja, siendo este efecto más acusado en los árboles sobre citrange Carrizo que en aquellos sobre mandarina Cleopatra, observándose al final del ensayo una reducción de los valores SPAD del orden del 13 % y del 8 % respectivamente (Tabla 4.24).

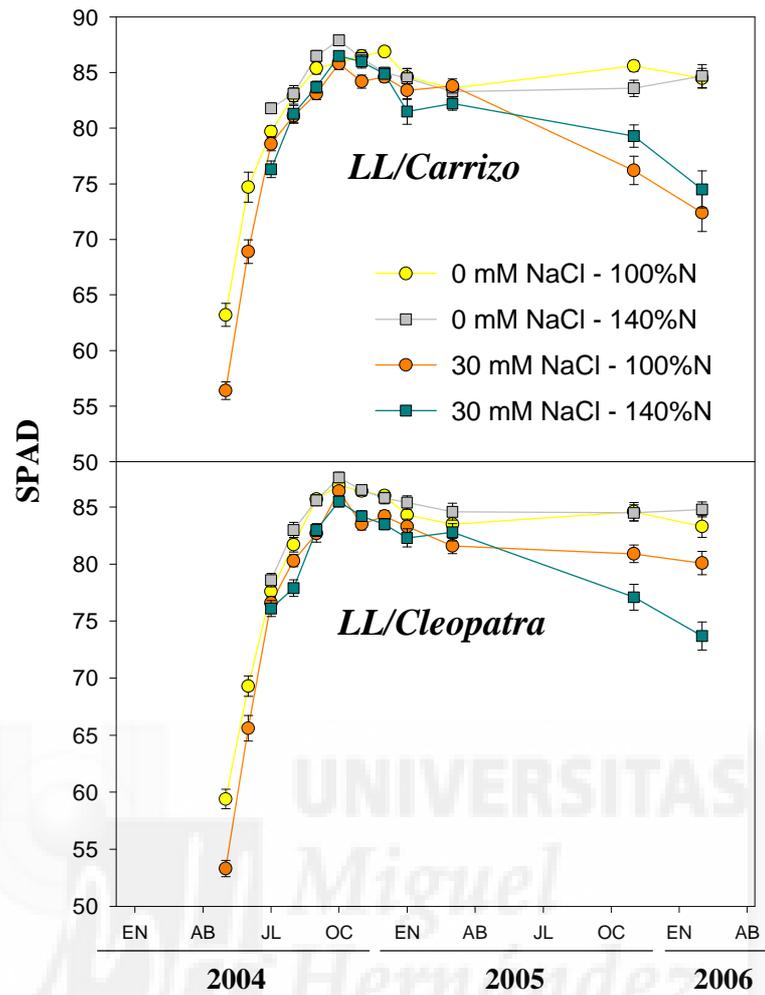


Figura 4.44. Evolución de los niveles SPAD en los diferentes tratamientos y combinaciones a lo largo de los años 2004, 2005 y 2006. Cada valor corresponde a la media de 30 repeticiones por tratamiento \pm ES.

La reducción en los niveles de clorofilas en hoja por efecto de la salinidad ha sido también observada previamente en cítricos por diversos autores (Syvertsen y col., 1988; Nieves y col., 1991b; García-Legaz y col., 1993, Melgar y col., 2007). Este efecto ha sido relacionado con la toxicidad causada por acumulación de iones salinos en las hojas (Ali y col., 2004) a través de la inhibición en la biosíntesis de clorofilas y/o la degradación de las clorofilas (Rao y col., 1981). En este sentido se ha encontrado en nuestro ensayo una correlación negativa entre la acumulación foliar de Na^+ y los niveles SPAD medidos en hoja ($r = 0.67$, $P < 0.001$).

Es posible que en los árboles de la combinación Lane late/citrango Carrizo la reducción de los niveles de clorofilas esté también influenciada por la disminución de la concentración de Mn observada en hojas adultas (El-Desouki y Atawia, 1998). En las hojas de estos árboles se ha encontrado una correlación negativa entre la acumulación foliar de Mn y los niveles SPAD medidos en hoja ($r = 0.55$, $P < 0.01$).

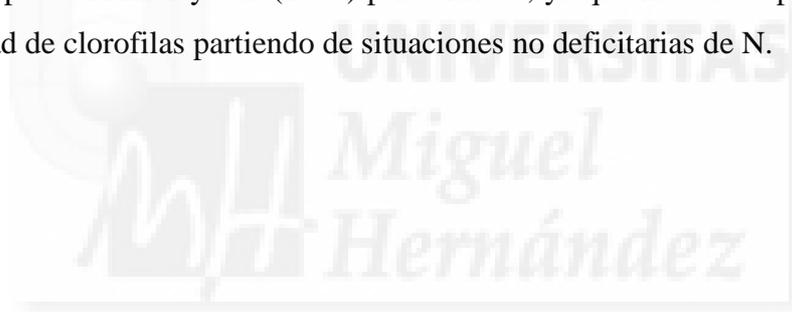
Tabla 4.24. *Influencia de los distintos tratamientos aplicados sobre el contenido de Clorofilas (SPAD) en hojas de naranjo Lane late injertado sobre citrango Carrizo y mandarino Cleopatra a lo largo de los años 2004, 2005 y 2006.*

Factores Principales		SPAD			
		Julio 2004	Marzo 2005	Noviembre 2005	Marzo 2006
Patrón	Carrizo	79.1	83.2	81.2	79.0
	Cleopatra	77.2	83.1	81.8	80.5
Salinidad	0 mM NaCl	79.4	83.7	84.6	84.3
	30 mM NaCl	76.9	82.6	78.4	75.2
Nitrógeno	100% N	78.1	83.1	81.8	80.1
	140% N	78.2	83.2	81.1	79.4
Carrizo	0 mM NaCl	80.8c	83.4ab	84.6b	84.6c
	30 mM NaCl	77.5ab	83.0ab	77.7a	73.5a
Cleopatra	0 mM NaCl	78.1b	84.1b	84.6b	84.0c
	30 mM NaCl	76.4a	82.2a	79.0a	76.9b
0 mM NaCl	100% N	78.7b	83.5	85.1	83.9
	140% N	80.2c	84.0	84.1	84.7
30 mM NaCl	100% N	77.6b	82.7	78.6	76.2
	140% N	76.2a	82.5	78.2	74.1
Anova	Patrón	19 ***	ns	ns	ns
	Salinidad	37 ***	6 *	91 ***	109 ***
	Nitrógeno	ns	ns	ns	ns
	Patrón x Sal	20 ***	3 *	31 ***	40 ***
	Sal x N	16 ***	ns	ns	ns

*, *** y ns indican diferencias significativas a $P < 0.05$, $P < 0.001$ y no significativas, respectivamente. Para cada columna, letras iguales indican que no existen diferencias significativas al 95% según el test de Duncan. Las interacciones que no aparecen no son significativas para los parámetros estudiados en la tabla.

Finalmente, la fertilización nitrogenada adicional no tuvo, en general, un efecto significativo sobre los valores SPAD obtenidos en hojas (Tabla 4.24). Así mismo, se observa que, en general, las hojas de los tratamientos S+N presentaron niveles de clorofilas similares a las hojas de los tratamientos salinos sin nitrógeno adicional (Tabla 4.24).

El N es un componente que integra la clorofila y es la base para la síntesis de proteínas, por lo que era de esperar que la dosis alta de nitrógeno tuviese un efecto positivo sobre los niveles foliares de clorofilas tal y como ha sido observado previamente por Bondada y Syvertsen (2003) en ensayos en invernadero con plantones de mandarina Cleopatra y por Iglesias y col. (2004) en árboles de naranjo Navelina sobre citrange Carrizo y mandarina Cleopatra. Es posible que la ausencia de efectos significativos de la fertilización nitrogenada se deba a que los niveles foliares de nitrógeno a lo largo del ensayo se encuentran dentro de valores considerados como normales por del Amor y col. (1984) para cítricos, ya que no cabe esperar que aumente la cantidad de clorofilas partiendo de situaciones no deficitarias de N.



4.2.5. Fluorescencia de clorofilas

En la figura 4.45 se muestran los valores de la relación Fv/Fm a lo largo del ensayo en los árboles injertados sobre ambos patrones. La eficiencia fotoquímica máxima determinada por la relación Fv/Fm osciló, con independencia del tratamiento aplicado, entre un mínimo de 0.685 y un máximo de 0.843. Esto sugiere una regulación de la actividad fotoquímica del fotosistema II en función de las condiciones ambientales de iluminación y temperatura.

Los árboles sobre mandarino Cleopatra presentaron, en general y con independencia del tratamiento aplicado, valores superiores de Fv/Fm respecto a los árboles sobre citrange Carrizo (Tabla 4.25). Resultados similares fueron también observados con anterioridad por Bleda y col. (2001) en ensayos llevados a cabo en invernadero sobre los patrones citrange Carrizo y mandarino Cleopatra.

La salinidad disminuyó, en general, la relación Fv/Fm con respecto a los árboles de tratamientos no salinos (Tabla 4.25), siendo el valor medio de la relación Fv/Fm , a lo largo del experimento de 0.784 en los tratamientos no salinos y de 0.772 en los tratamientos salinos. La disminución de la eficiencia fotoquímica máxima (Fv/Fm), se toma usualmente como indicador de alteración en el aparato fotosintético, a nivel de su conversión cuántica y transporte de electrones (Lichtenthaler y Burkart, 1999), resultando una disminución de la actividad fotosintética en la planta. En este sentido, se observó en nuestro ensayo una correlación positiva entre A y la relación Fv/Fm ($r = 0.83$, $P < 0.001$), lo que apoya la idea señalada por diversos autores respecto a un mecanismo común subyacente a ambos procesos (Scarascia-Mugnozza y col., 1996; García-Plazaola y col., 1997).

Este efecto de los niveles planteados de salinidad sobre la eficiencia fotoquímica máxima del $FS II$ fue relativamente más acusado en los árboles sobre citrange Carrizo, observándose una reducción de la relación Fv/Fm en los tratamientos salinos de un 6.3 % en los árboles sobre citrange Carrizo y un 1.8 % en los árboles sobre mandarino Cleopatra (Tabla 4.25). Este mayor descenso de la relación Fv/Fm en los árboles sobre citrange Carrizo con respecto a Cleopatra por efecto de la sal ha sido también señalado por López-Climent y col. (2008).

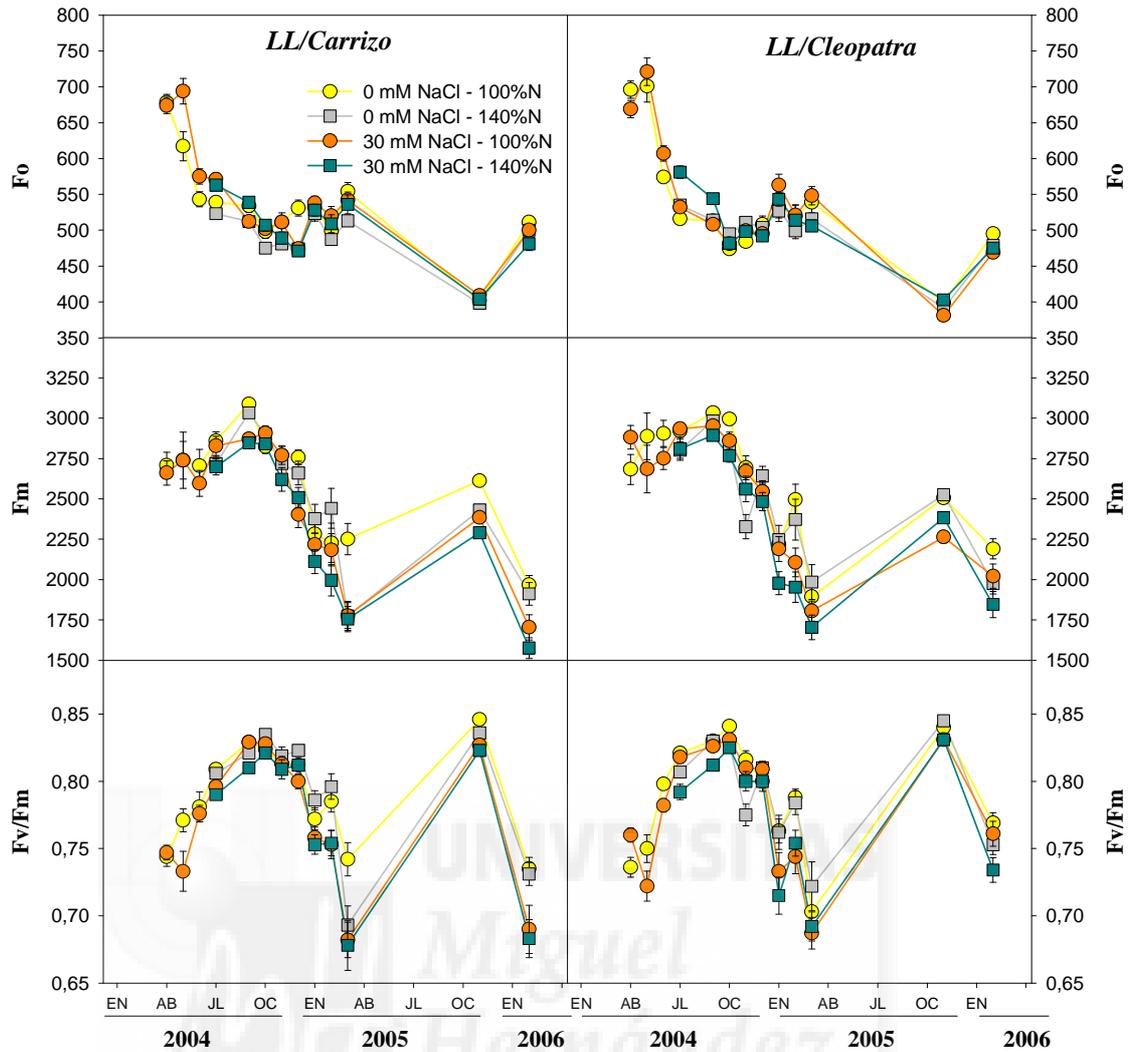


Figura 4.45. Evolución estacional de F_0 , F_m y F_v/F_m en hojas durante los años 2004, 2005 y 2006. Cada valor corresponde a la media de 24 repeticiones por tratamiento \pm ES.

Por otra parte, el descenso observado de la relación F_v/F_m vino acompañado de un descenso generalizado de la fluorescencia máxima (F_m), manteniéndose la fluorescencia inicial (F_0) a niveles superiores o similares con respecto a los tratamientos no salinos (Tabla 4.25 y Figura 4.45). Esto indica que, por efecto de la sal y en el momento de la medida, la disminución de F_v/F_m vino dada por un cierto grado de inactivación de los centros de reacción del *FS II* (fotoinactivación), mecanismo que puede representar una estrategia fotoprotectiva de aclimatación en situaciones de estrés (Anderson y col., 1997).

Tabla 4.25. Valores medios de los parámetros de F_0 , F_m y F_v/F_m en hojas durante los momentos más representativos de cada periodo de 2004, 2005 y 2006. Cada valor corresponde a la media de 24 repeticiones por tratamiento.

Factores Principales		Julio 2004			Marzo 2005			Noviembre 2005			Marzo 2006		
		F_0	F_m	F_v/F_m	F_0	F_m	F_v/F_m	F_0	F_m	F_v/F_m	F_0	F_m	F_v/F_m
Patrón	Carrizo	550	2867	0.805	536	1890	0.699	403	2429	0.833	498	1790	0.710
	Cleopatra	539	2941	0.815	527	1847	0.701	394	2420	0.837	480	2008	0.754
Salinidad	0 mM NaCl	529	2909	0.816	530	1976	0.715	398	2519	0.842	496	2011	0.747
	30 mM NaCl	561	2900	0.804	533	1761	0.685	399	2330	0.828	481	1787	0.717
Nitrógeno	100% N	536	3022	0.821	546	1932	0.704	398	2442	0.836	494	1971	0.739
	140% N	553	2787	0.798	518	1805	0.696	399	2408	0.834	484	1827	0.725
Carrizo	0 mM NaCl	533a	2855	0.811b	534	2013c	0.718b	400bc	2521b	0.841c	505c	1940b	0.733b
	30 mM NaCl	568b	2880	0.799a	539	1767ab	0.680a	407c	2337a	0.825a	490b	1640a	0.687a
Cleopatra	0 mM NaCl	524a	2962	0.821c	527	1939bc	0.712b	395ab	2516b	0.842c	487b	2083c	0.761c
	30 mM NaCl	554b	2920	0.808ab	527	1755a	0.690ab	392a	2324a	0.831b	472a	1934b	0.747bc
Carrizo	100% N	549b	3018c	0.817c	548c	2014b	0.712	406c	2498b	0.837b	505c	1836ab	0.713
	140% N	552b	2670b	0.793a	525ab	1766a	0.686	401bc	2360a	0.830a	491b	1744a	0.707
Cleopatra	100% N	523a	2681b	0.826d	543bc	1850ab	0.695	390a	2385a	0.836b	482ab	2105c	0.765
	140% N	555b	2444a	0.804b	511a	1844ab	0.707	397ab	2455b	0.838b	477a	1911b	0.743
0 mM NaCl	100% N	521a	3025b	0.826d	546b	2072b	0.723b	400	2559c	0.843	503b	2079c	0.752c
	140% N	536ab	2792a	0.806b	515a	1880a	0.708ab	395	2478b	0.840	489a	1944bc	0.742bc
30 mM NaCl	100% N	551b	3018b	0.816c	545b	1791a	0.685a	395	2324a	0.829	484a	1862b	0.725ab
	140% N	571c	2783a	0.791a	521a	1730a	0.685a	403	2337a	0.827	478a	1711a	0.708a
Anova	Patrón	4 *	ns	14 ***	ns	ns	ns	12 ***	ns	6 *	17 ***	19 ***	32 ***
	Salinidad	35 ***	ns	23 ***	ns	12 ***	8 **	ns	13 ***	91 ***	12 ***	21 ***	15 ***
	Nitrógeno	10 **	27 ***	80 ***	12 ***	4 *	ns	ns	ns	ns	5 *	8 **	ns
	Patrón x Sal	12 ***	ns	8 ***	ns	4 **	3 *	5 **	24 ***	33 ***	9 ***	14 ***	17 ***
	Patrón x N	6 ***	10 ***	27 ***	5 **	3 *	ns	6 **	6 ***	4 **	7 ***	9 ***	ns
	Sal x N	14 ***	9 ***	31 ***	4 **	6 ***	3 *	ns	27 ***	ns	5 **	9 ***	5 **

*, **, *** y 'ns' indican diferencias significativas a $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$ y no significativas, respectivamente. Para cada columna, letras iguales indican que no existen diferencias significativas al 95% según el test de Duncan. Las interacciones que no aparecen no son significativas para los parámetros estudiados en la tabla.

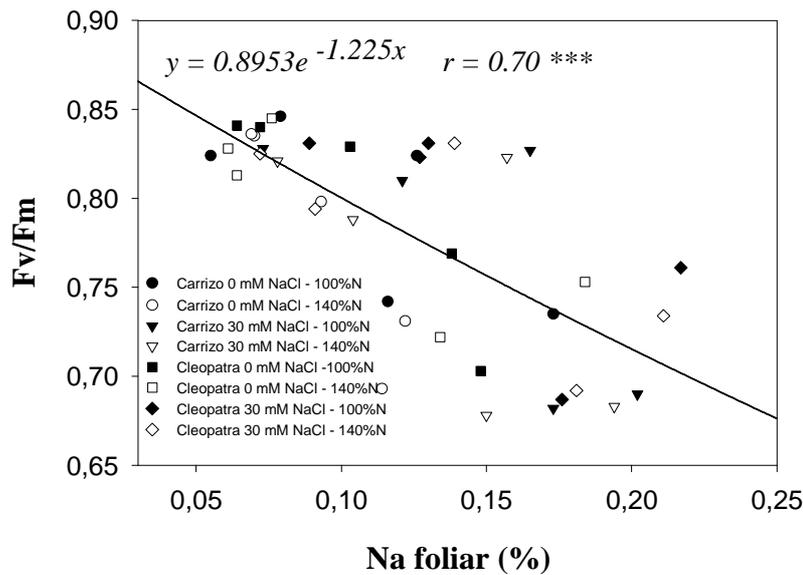


Figura 4.46. Relación entre la acumulación foliar de sodio y la eficiencia fotoquímica máxima (Fv/Fm) en hojas. Cada punto corresponde a la media de 24 repeticiones por tratamiento, realizadas desde marzo 2004 a febrero 2006.

Se ha encontrado en nuestro ensayo una correlación negativa significativa entre la acumulación foliar de Na^+ y la relación Fv/Fm ($r = 0.70$, $P < 0.001$) (Figura 4.46), indicando un papel preponderante el ión Na^+ en la disminución observada de la eficiencia fotoquímica máxima del $FS II$. Esta sensibilidad de la fluorescencia de las clorofilas a la acumulación foliar de iones Na^+ ha sido descrita con anterioridad por Downton y Millhouse (1985) en ensayos llevados a cabo en invernadero con plántones de *Citrus macrophylla*.

En cuanto al efecto de la fertilización nitrogenada suplementaria sobre la eficiencia fotoquímica máxima del $FS II$, los árboles de ambos patrones no presentaron, en general, diferencias significativas en la relación Fv/Fm independientemente de la concentración de nitrógeno en hoja (Tabla 4.25). Sanclemente y Peña (2008), en ensayos realizados con plantas de Onagraceae encontraron una tendencia general a aumentar la eficiencia fotosintética a medida que aumenta la concentración de nitrógeno. Una posible explicación para la ausencia general de respuesta de la eficiencia fotoquímica máxima del $FS II$ a la fertilización nitrogenada puede estar en que el nitrógeno es un factor importante en la eficiencia fotosintética de las plantas pero, especialmente, partiendo de condiciones de déficit de nitrógeno.

4.2.6. Parámetros de intercambio gaseoso

Los parámetros de intercambio gaseoso presentaron una dinámica estacional caracterizada por valores bajos de fotosíntesis (A), conductancia estomática (g_s) y transpiración (E), en ambos patrones, a principios de año (enero-junio) (Figura 4.47), mientras que durante el verano, dichos valores fueron aumentando progresivamente hasta alcanzar valores máximos entre septiembre y octubre (Figura 4.47). Este comportamiento también ha sido descrito por otros autores en árboles de naranjo Lane late (Pérez-Pérez y col., 2008a).

Es posible que el aumento en los niveles de intercambio gaseoso en los meses de verano sea ocasionado por factores ambientales y cambios en la fenología de la planta (desarrollo del fruto). A finales de verano (septiembre-octubre) finaliza prácticamente el periodo de crecimiento del fruto y empiezan los procesos de maduración, requiriendo elevadas concentraciones de carbohidratos. En este sentido, algunos autores han encontrado que una elevada carga productiva y los procesos de maduración aumentan la tasa de fotosíntesis (Borras y col., 1984; Syvertsen y col., 2003). El descenso de los parámetros de intercambio gaseoso observado a partir de noviembre puede asociarse al descenso del DPV, de la temperatura ambiente y de la radiación (Khan y col., 1994), aunque también es posible que el estado fenológico haya influido en esta respuesta.

La salinidad no tuvo efectos significativos en la capacidad fotosintética de los árboles hasta junio de 2004 (Figura 4.47), momento en el que la acumulación foliar de iones salinos comienza a ser importante (Figuras 4.37 y 4.39). Al final del ensayo se observó una reducción de A próxima al 45 % en los árboles sobre citrange Carrizo y de un 23 % en aquellos sobre mandarina Cleopatra (Tabla 4.26). Esto indica, por tanto, una mayor sensibilidad a la salinidad del aparato fotosintético en los árboles sobre citrange Carrizo. Este diferente comportamiento en la reducción de la fotosíntesis por la salinidad en los patrones ha sido encontrado, entre otros, por Lloyd y col. (1987b, 1990).

Por otra parte, el descenso de A por efecto de la salinidad en la combinación Lane late/Carrizo vino acompañado, en general, de un descenso paralelo de la conductancia estomática y en menor medida de la transpiración (Tabla 4.26 y Figura 4.47).

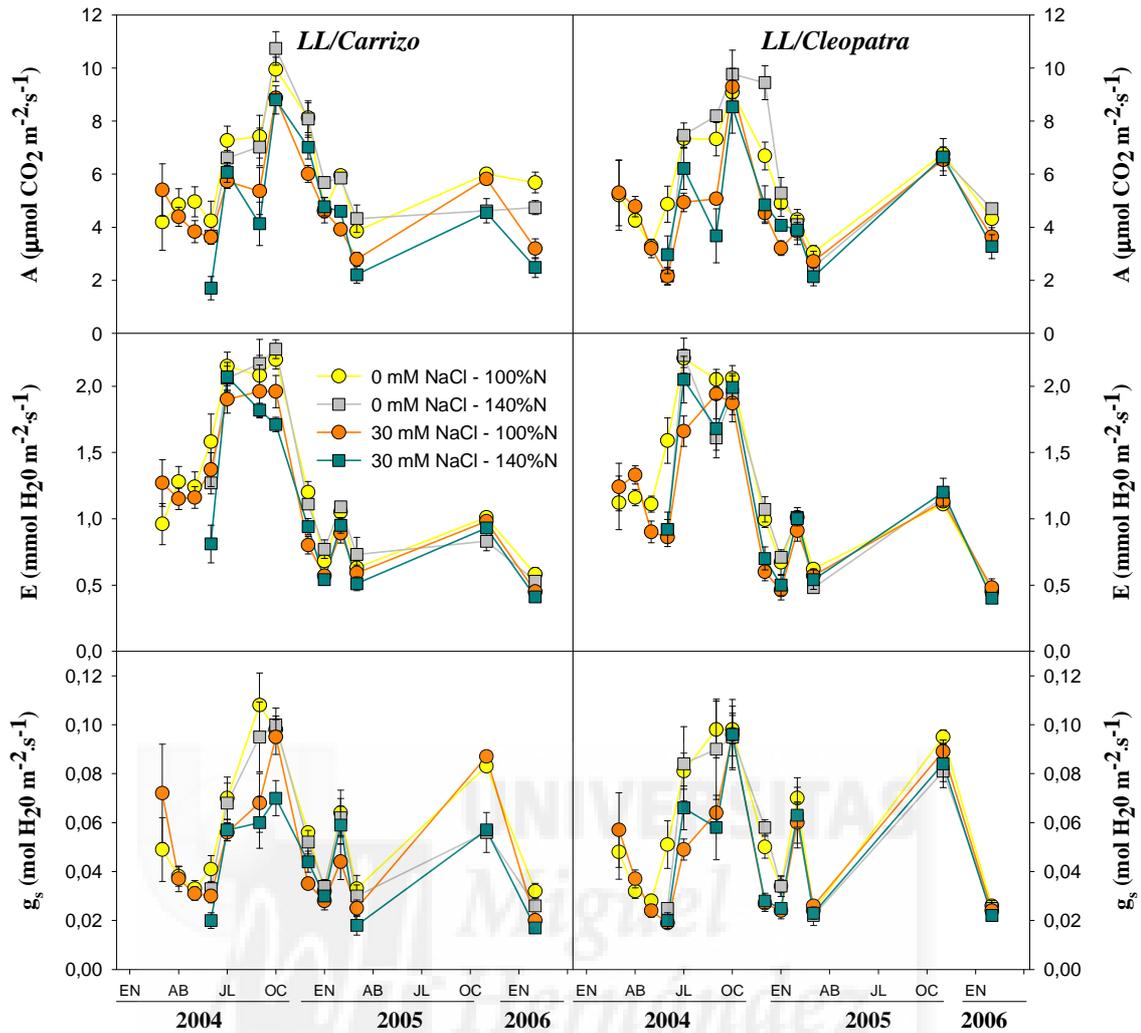


Figura 4.47. Evolución estacional de la tasa de fotosíntesis (A), tasa de transpiración (E) y conductancia estomática (g_s) a primera hora de la mañana (9:00-11:00 h), durante los años 2004, 2005 y 2006. Cada valor corresponde a la media de 6 repeticiones por tratamiento \pm ES.

En los árboles sobre mandarina Cleopatra no se observó, con la excepción de julio de 2004, un efecto de la salinidad sobre g_s y E. La disminución de la transpiración debido a la salinidad observada solamente en citrange Carrizo pudo ser debida a las propiedades del sistema radicular de este patrón. En este sentido se sabe que el estrés por NaCl disminuye en gran medida la transpiración (Behboudian y col., 1986; Lloyd y Howie, 1989b) y la conductividad hidráulica de la raíz (Lloyd y Howie, 1989a; Swietlik, 1989; Syvertsen y Yelenosky, 1988; Zekri y Parsons, 1989; Zekri, 1991) afectando menos a patrones tolerantes a la salinidad (Zekri y Parsons, 1989).

Tabla 4.26. Valores medios de los parámetros de intercambio gaseoso A ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), E ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) y g_s ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), durante los momentos más representativos de cada periodo de 2004, 2005 y 2006. Cada valor corresponde a la media de 6 repeticiones por tratamiento.

Factores Principales		Julio 2004			Marzo 2005			Noviembre 2005			Marzo 2006		
		A	E	g_s	A	E	g_s	A	E	g_s	A	E	g_s
Patrón	Carrizo	6.85	2.15	0.067	3.29	0.62	0.026	5.52	0.94	0.071	4.02	0.49	0.024
	Cleopatra	6.63	2.13	0.081	2.62	0.55	0.024	6.64	1.15	0.087	3.98	0.45	0.024
Salinidad	0 mM NaCl	7.46	2.27	0.087	3.43	0.62	0.027	6.00	1.03	0.079	4.86	0.50	0.027
	30 mM NaCl	6.02	2.01	0.061	2.48	0.55	0.023	5.89	1.06	0.080	3.14	0.43	0.021
Nitrógeno	100% N	6.43	1.99	0.070	3.10	0.60	0.027	6.29	1.06	0.089	4.21	0.49	0.026
	140% N	7.04	2.29	0.078	2.81	0.56	0.023	5.60	1.03	0.070	3.80	0.45	0.022
Carrizo	0 mM NaCl	7.04bc	2.14ab	0.073ab	4.08b	0.68	0.031b	5.32	0.92	0.070	5.21b	0.55b	0.029c
	30 mM NaCl	6.65b	2.16ab	0.061a	2.50a	0.55	0.022a	5.19	0.96	0.072	2.84a	0.43a	0.018a
Cleopatra	0 mM NaCl	7.87c	2.39b	0.100b	2.77a	0.56	0.023a	6.67	1.13	0.088	4.51b	0.46a	0.026bc
	30 mM NaCl	5.39a	1.87a	0.062a	2.46a	0.55	0.025a	6.60	1.17	0.087	3.45a	0.44a	0.023ab
Carrizo	100% N	6.84	2.07	0.069	3.32	0.61	0.029	5.92b	1.00b	0.085b	4.44	0.51b	0.026
	140% N	6.86	2.23	0.065	3.26	0.62	0.024	4.59a	0.88a	0.057a	3.61	0.47a	0.021
Cleopatra	100% N	6.03	1.92	0.072	2.87	0.60	0.025	6.66c	1.12c	0.092b	3.98	0.46a	0.025
	140% N	7.22	2.35	0.090	2.36	0.51	0.023	6.62c	1.18c	0.083b	3.98	0.43a	0.023
0 mM NaCl	100% N	7.36bc	2.19b	0.083ab	3.44b	0.63	0.028	6.39	1.06	0.089b	5.00	0.51b	0.029c
	140% N	7.56c	2.34b	0.090b	3.41b	0.61	0.026	5.60	0.99	0.069a	4.72	0.50b	0.026bc
30 mM NaCl	100% N	5.51a	1.80a	0.057a	2.75ab	0.58	0.025	6.19	1.06	0.088b	3.42	0.46ab	0.022ab
	140% N	6.53b	2.23b	0.065ab	2.21a	0.52	0.021	5.60	1.06	0.071a	2.87	0.40a	0.019a
Anova	Patrón	ns	ns	ns	7 **	ns	ns	28 ***	28 ***	19 ***	ns	ns	ns
	Salinidad	18 ***	5 *	8 **	14 ***	ns	ns	ns	ns	ns	37 ***	6 *	13 ***
	Nitrógeno	ns	7 *	ns	ns	ns	ns	7 *	ns	25 ***	ns	ns	ns
	Patrón x Sal	10 ***	3 *	4 *	10 ***	ns	3 *	ns	ns	ns	15 ***	4 **	6 **
	Patrón x N	ns	ns	ns	ns	ns	ns	16 ***	12 ***	20 ***	ns	4 **	ns
	Sal x N	8 ***	5 **	3 *	5 **	ns	ns	ns	ns	6 **	ns	3 *	5 **

*, **, *** y 'ns' indican diferencias significativas a $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$ y no significativas, respectivamente. Para cada columna, letras iguales indican que no existen diferencias significativas al 95% según el test de Duncan. Las interacciones que no aparecen no son significativas para los parámetros estudiados en la tabla.

En cuanto al efecto de la salinidad sobre el cierre estomático observado en los árboles de la combinación Lane late/citrango Carrizo, Hsiao (1973) señala que los estomas permanecen abiertos en un amplio intervalo de potenciales, decreciendo la conductancia estomática cuando el potencial hídrico decrece hasta un nivel umbral. Dado que, estos árboles, presentaron un buen estado hídrico (Tabla 4.21) y no se observó correlación significativa entre los niveles de Cl^- en hojas de citrango Carrizo y los valores medidos de conductancia estomática, es posible que este cierre esté determinado por la existencia de una comunicación química entre la raíz y la parte aérea, en la que intervendría el ácido abscísico (ABA), sintetizado en las raíces (Bañuls y col., 1997), provocando los cambios estomáticos (Gómez-Cadenas y col., 1998; Viswanathan y Zhu, 2003) observados en los árboles sobre Carrizo.

Tabla 4.27. Valores medios del cociente CO_2 interno-externo (C_i/C_a) durante los momentos más representativos de cada periodo de 2004, 2005 y 2006.

Factores Principales		C_i/C_a			
		Julio 2004	Marzo 2005	Noviembre 2005	Marzo 2006
Patrón	Carrizo	0.440	0.428	0.611	0.349
	Cleopatra	0.501	0.404	0.599	0.313
Salinidad	0 mM NaCl	0.466	0.362	0.594	0.325
	30 mM NaCl	0.476	0.471	0.615	0.336
Nitrógeno	100% N	0.485	0.395	0.638	0.344
	140% N	0.457	0.437	0.572	0.318
Carrizo	100% N	0.429	0.427	0.647b	0.329
	140% N	0.452	0.430	0.574a	0.369
Cleopatra	100% N	0.541	0.364	0.628b	0.359
	140% N	0.462	0.444	0.569a	0.266
0 mM NaCl	100% N	0.472	0.370a	0.629c	0.364
	140% N	0.460	0.353a	0.559a	0.287
30 mM NaCl	100% N	0.498	0.420ab	0.646c	0.324
	140% N	0.454	0.521b	0.584b	0.348
Anova	Patrón	ns	ns	ns	ns
	Salinidad	ns	6 *	8 **	ns
	Nitrógeno	ns	ns	81 ***	ns
	Patrón x N	ns	ns	24 ***	ns
	Sal x N	ns	3 *	28 ***	ns

*, **, *** y 'ns' indican diferencias significativas a $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$ y no significativas, respectivamente. Para cada columna, letras iguales indican que no existen diferencias significativas al 95% según el test de Duncan. Las interacciones que no aparecen no son significativas para los parámetros estudiados en la tabla.

En este sentido, se ha observado, en estos árboles, una correlación significativa ($r = 0.85$, $P < 0.01$) entre A y la conductancia estomática.

Cabe señalar también que, la concentración de CO_2 en los espacios intercelulares de la hoja, calculada a través del cociente CO_2 interno-externo (C_i/C_a) se mantuvo a niveles superiores o similares a los tratamientos control (Tabla 4.27). Esto indica que el cierre estomático observado en los árboles sobre Carrizo no fue suficiente para restringir completamente la difusión de CO_2 a los cloroplastos.

Por tanto, es probable que en los árboles de la combinación Lane late/citrango Carrizo la reducción de A observada en los tratamientos salinos esté motivada más por factores no estomáticos asociados a la toxicidad causada por la acumulación de iones salinos en las hojas (Lloyd y col., 1987a, García-Sánchez y col., 2006) que por factores estomáticos.

Numerosos trabajos describen al ión cloruro como un factor preponderante en la disminución de la eficiencia fotosintética con la salinidad (Walker y col., 1982; Bañuls y Primo-Millo, 1992; García-Legaz y col., 1993; Romero-Aranda y col., 1998; García-Sánchez y col., 2002; Gimeno y col., 2009). Sin embargo, no se observa, en los árboles sobre Carrizo, correlación significativa entre A y la acumulación foliar de iones Cl^- . Esto puede deberse a que la inhibición de la fotosíntesis en cítricos a causa de altas concentraciones de Cl^- parece estar asociada a una alta velocidad de acumulación de Cl^- en las hojas (Levy y Syvertsen, 2004), lo cual no ocurrió en nuestro ensayo (Figura 4.37). Además, el hecho de que en las hojas de la combinación Lane late/Carrizo no se observase, al final del ensayo, síntomas de daño foliar, sugiere que dichos árboles presentaron una buena capacidad para mantener niveles citoplasmáticos de cloruro bajos (Lloyd y col., 1989), compartimentando los iones cloruro en el interior de las vacuolas y limitando el nivel de llegada al simplasto.

Por otra parte, la correlación negativa encontrada entre los valores de la fotosíntesis en hoja y los niveles de Na^+ de las hojas de los árboles sobre ambos patrones (Figura 4.48), sugiere un importante papel de este ión en la reducción de la tasa neta de asimilación de CO_2 .

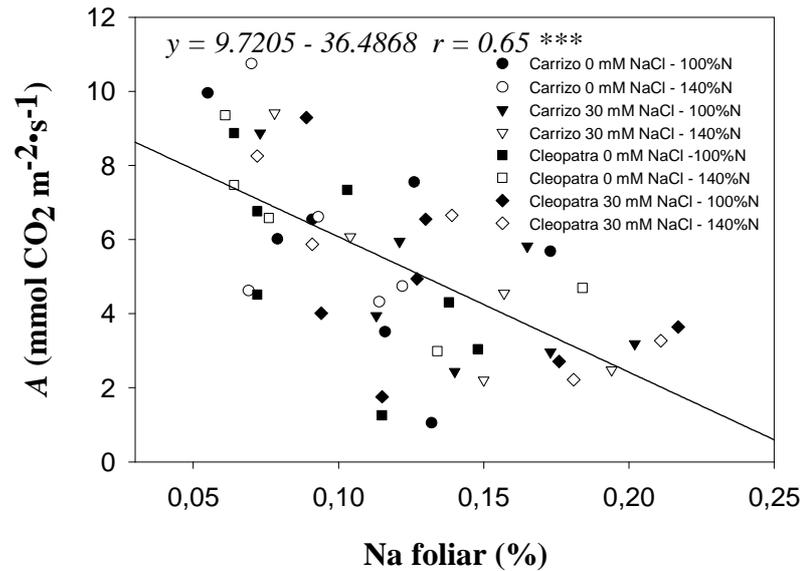


Figura 4.48. *Relación entre acumulación foliar de sodio y la tasa de fotosíntesis. Cada punto corresponde a la media de 6 repeticiones por tratamiento realizadas desde marzo 2004 a febrero 2006.*

Diversos autores, tales como Syvertsen y col. (1988), Lloyd y col. (1987b) y Lloyd y Howie (1989b), también han encontrado una mayor sensibilidad del aparato fotosintético a los iones Na⁺ que a los iones Cl⁻.

Bajo estrés salino, el aparato fotosintético, especialmente el cloroplasto, puede ser dañado por el sodio, ya que puede provocar la peroxidación de lípidos en el cloroplasto, dañando la ultraestructura y las funciones de los cloroplastos (Hernández y col., 1995), así como producir especies reactivas de oxígeno (ROS) (Vaidyanathan y col., 2003) alterando la función de los pigmentos fotosintéticos (Demiral y Türkan, 2005).

En cuanto al efecto de la salinidad sobre el descenso de la asimilación neta de CO₂ (A) observado en los árboles de la combinación Lane late/mandarino Cleopatra cabría atribuirle a factores no estomáticos relacionados con la acumulación de Na⁺ en hoja.

Por otra parte, los bajos niveles de potasio encontrados en las hojas de los tratamientos salinos pudieron haber contribuido también a alterar la capacidad fotosintética de las hojas de ambas combinaciones. En este sentido, se ha encontrado en nuestro ensayo una correlación positiva entre A y la relación Na/K ($r = 0.83$,

$P < 0.001$), lo que indica que los bajos niveles de potasio en hoja pudo incrementar los efectos negativos inducidos por la sal en el proceso fotosintético. Gething (1994) encontró un importante papel del potasio en la activación de enzimas implicadas en determinados procesos metabólicos de la fotosíntesis.

En el mes de noviembre de 2005, no se observó, sin embargo, un efecto significativo de la salinidad sobre los parámetros de intercambio gaseoso (Tabla 4.26). En los árboles sobre citrange Carrizo cabría atribuirse este hecho a que el estrés hídrico experimentado en esas fechas por los árboles de tratamientos no salinos (Tabla 4.21) provocó que A y g_s bajasen hasta niveles similares a los de los árboles de tratamientos salinos, tal y como sugiere la correlación negativa encontrada en esas fechas entre A y el potencial hídrico de los árboles sobre citrange Carrizo ($r = 0.62$, $P < 0.001$). En los árboles sobre mandarina Cleopatra la ausencia de estrés hídrico experimentado por árboles de los tratamientos no salinos (Tabla 4.21) explicaría que A no se viese afectada por la salinidad en esas fechas.

En cuanto al efecto del aporte extra de N sobre los parámetros de intercambio gaseoso, salvo las fechas de julio de 2004 y noviembre de 2005, la fertilización nitrogenada no tuvo un efecto significativo sobre los parámetros de intercambio gaseoso (Tabla 4.26). Así, mientras en julio de 2004 se observa en los árboles de naranjo Lane late sobre ambos patrones un incremento de los parámetros A , E y g_s por efecto del suplemento de nitrógeno, en noviembre de 2005 se produce, sin embargo, en los árboles sobre citrange Carrizo, un descenso de dichos parámetros fotosintéticos por efecto de la fertilización nitrogenada adicional (Tabla 4.26). En este sentido, Bondada y Syvertsen (2003) en ensayos realizados en invernadero con plántones de mandarina Cleopatra, encontraron que la asimilación de CO_2 (A) no se incrementa a concentraciones elevadas de N en hoja. Se sabe que las hojas de cítricos pueden acumular altas concentraciones de N, pero la asimilación neta de CO_2 no aumenta cuando el nitrógeno en hoja se encuentra por encima del 2.5 % e incluso decrece (Lea-Cox y Syvertsen, 1996; Romero-Aranda y Syvertsen, 1996). Esto se relaciona con la presencia de grandes gránulos de almidón que puede alterar la estructura de los cloroplastos y su función (Bondada y Syvertsen, 2003).

Finalmente, los árboles de tratamientos S+N presentaron, en general, valores de A similares a los árboles de los tratamientos salinos sin nitrógeno (Tabla 4.26). El hecho

de que el suplemento de nitrógeno adicional reduzca los niveles de Cl^- en hoja, y no consiga recuperar la actividad fotosintética de los árboles con respecto a los tratamientos no salinos (Tabla 4.26), indica que, en nuestro ensayo, la reducción observada de *A* no estuvo determinada principalmente por la acumulación de cloruro en hoja. Iglesias y col. (2004), en ensayos sobre plántones de naranjo Navelina injertados sobre citrange Carrizo y mandarino Cleopatra, encontraron que el suplemento de nitrógeno incrementaba la actividad fotosintética de las plantas, si bien este efecto no estaba motivado por una reducción de la concentración de cloruro en hojas.



4.2.7. Estado nutricional del cultivo

4.2.7.1. Nitrógeno

La concentración de nitrógeno en las hojas durante el desarrollo del experimento fue diferente según la edad de la hoja. Así, mientras que las hojas adultas presentaron niveles de N relativamente estables con independencia del tratamiento aplicado, en las hojas jóvenes su concentración varió significativamente a través de los meses de muestreo, mostrando una tendencia a disminuir con el avance del desarrollo de los frutos.

Tabla 4.28. Efecto del patrón y del tratamiento sobre la acumulación de nitrógeno en hojas adultas en los momentos más representativos de los años 2004, 2005 y 2006.

Factores Principales		N (%)			
		Julio 2004	Marzo 2005	Noviembre 2005	Marzo 2006
Patrón	Carrizo	2.68	2.17	2.45	2.17
	Cleopatra	2.68	2.07	2.28	2.21
Salinidad	0 mM NaCl	2.70	2.14	2.44	2.22
	30 mM NaCl	2.67	2.10	2.30	2.16
Nitrógeno	100% N	2.68	2.13	2.33	2.16
	140% N	2.68	2.12	2.41	2.22
Carrizo	0 mM NaCl	2.75c	2.17b	2.53c	2.18a
	30 mM NaCl	2.62a	2.18b	2.38b	2.16a
Cleopatra	0 mM NaCl	2.65ab	2.12b	2.35b	2.26b
	30 mM NaCl	2.62bc	2.02a	2.22a	2.17a
Carrizo	100% N	2.70	2.17	2.45b	2.14a
	140% N	2.67	2.18	2.45b	2.20ab
Cleopatra	100% N	2.67	2.08	2.21a	2.19ab
	140% N	2.69	2.05	2.36b	2.24b
0 mM NaCl	100% N	2.70	2.15	2.45b	2.20
	140% N	2.69	2.13	2.43b	2.23
30 mM NaCl	100% N	2.67	2.10	2.22a	2.12
	140% N	2.67	2.10	2.38b	2.21
Anova	Patrón	ns	23 ***	22 ***	6 *
	Salinidad	ns	ns	15 ***	6 *
	Nitrógeno	ns	ns	Ns	8 **
	Patrón x Sal	5 **	12 ***	11 ***	5 **
	Patrón x N	ns	ns	8 ***	4 *
	Sal x N	ns	ns	6 **	ns

*, **, *** y 'ns' indican diferencias significativas a $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$ y no significativas, respectivamente. Para cada columna, letras iguales indican que no existen diferencias significativas al 95% según el test de Duncan. Las interacciones que no aparecen no son significativas para los parámetros estudiados en la tabla.

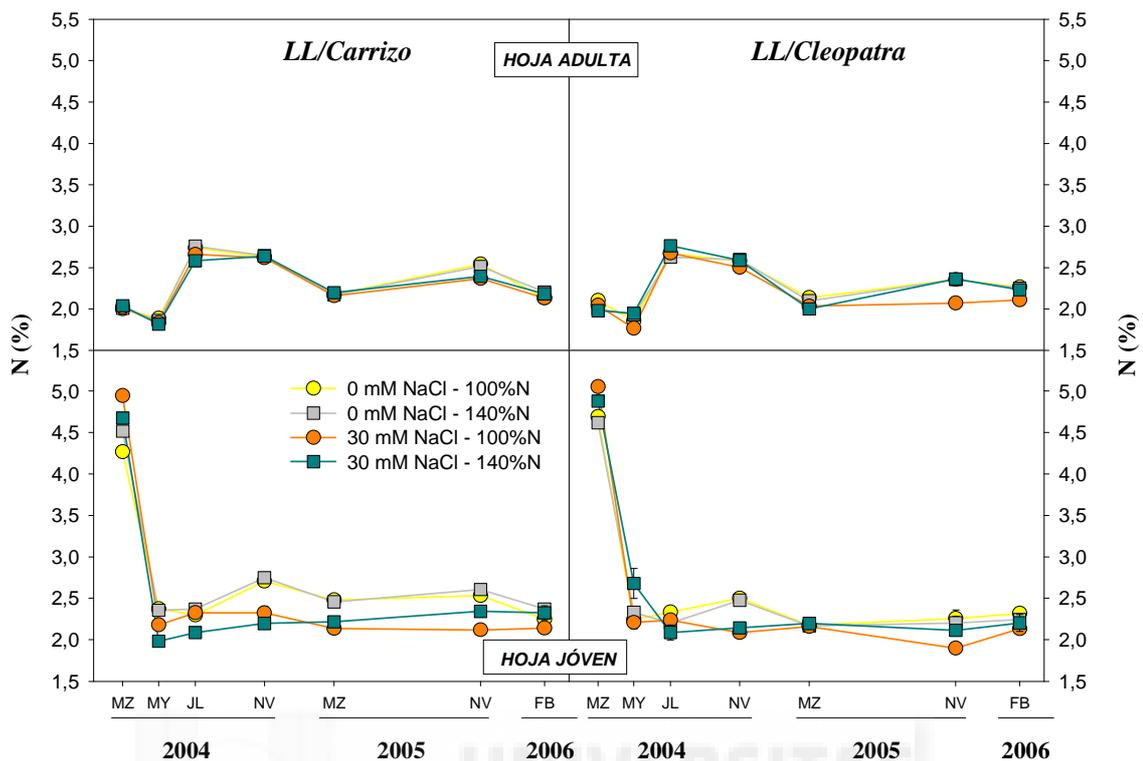


Figura 4.49. Evolución del contenido en nitrógeno en hojas adultas y jóvenes para los distintos tratamientos y combinaciones a lo largo de los años 2004, 2005 y 2006. Cada valor corresponde a la media de 6 repeticiones por tratamiento \pm ES.

La menor concentración de nitrógeno se encontró en el mes de mayo en ambos tipos de hojas, difiriendo significativamente con respecto a los otros meses de muestreo (Figura 4.49).

En el mes de julio, las hojas adultas presentaron la concentración de nitrógeno más elevada, mientras que las hojas jóvenes la alcanzaron en marzo.

Los rangos de concentración de N fueron bastante parecidos en hojas jóvenes y adultas, variando éstos a lo largo del ensayo entre 1.90 % y 3.14 % en hojas jóvenes y entre 1.76 % y 2.84 % en hojas adultas (Figura 4.49). Los valores obtenidos se encuentran dentro del intervalo óptimo de referencia establecido por del Amor y col. (1984) para naranjo en esta zona geográfica, sin apreciarse visualmente síntomas de carencia en ningún tratamiento.

El riego con aguas salinas redujo, a lo largo del todo el ensayo, los niveles de N en hojas adultas y jóvenes de los árboles sobre mandarino Cleopatra con respecto a los tratamientos no salinos (Tablas 4.28 y 4.29). En los árboles sobre citrange Carrizo este efecto fue más significativo en las hojas jóvenes, mientras que en las hojas adultas la salinidad no produjo cambios en la concentración foliar de N en los meses de marzo de 2005 y 2006 (Tablas 4.28 y 4.29). Esto sugiere que en condiciones salinas el patrón mandarino Cleopatra presentó mayor capacidad de movilización de N desde las hojas adultas a las hojas en desarrollo que citrange Carrizo.

Esta disminución de la concentración de N en la planta en condiciones salinas, ha sido asociada a un efecto antagonista de los iones cloruro en la absorción de NO_3^- por la raíz (Bañuls y col., 1990; Bar y col., 1997; Cerezo y col., 1997; Abdelgadir y col. 2004), el cual es atribuido por Marschner (1986) a una competición por los puntos de unión de la plasmamembrana. Sin embargo, la figura 4.50 muestra que las raíces de la combinación Lane late/mandarino Cleopatra presentaron niveles similares de NO_3^- en los tratamientos control (0 mM NaCl + 100% N) y salino (30 mM NaCl + 100% N) pero no así en Lane late/citrangle Carrizo, lo cual sugiere que la reducción de los niveles de N en hoja por salinidad se debe a una reducción en la absorción de NO_3^- por la raíz y/o a la reducción en el flujo de NO_3^- desde la raíz a la parte aérea de la planta.

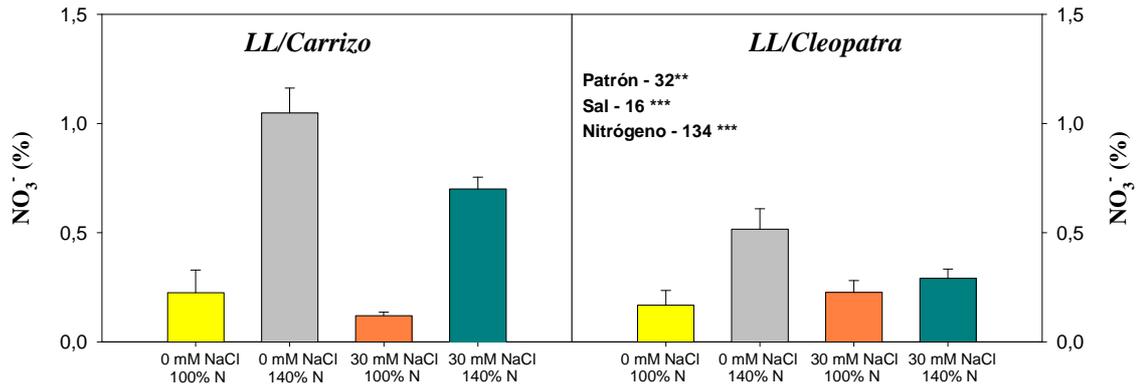


Figura 4.50. Concentración de NO_3^- en las raíces en los diferentes tratamientos y combinaciones en noviembre de 2005. Cada valor corresponde a la media de 6 repeticiones por tratamiento \pm ES.

Tabla 4.29. Efecto del patrón y del tratamiento sobre la acumulación de nitrógeno en hojas jóvenes en los momentos más representativos de los años 2004, 2005 y 2006.

Factores Principales		N (%)			
		Julio 2004	Marzo 2005	Noviembre 2005	Marzo 2006
Patrón	Carrizo	2.27	2.32	2.40	2.27
	Cleopatra	2.22	2.38	2.12	2.22
Salinidad	0 mM NaCl	2.30	2.49	2.40	2.30
	30 mM NaCl	2.18	2.21	2.12	2.20
Nitrógeno	100% N	2.30	2.38	2.20	2.21
	140% N	2.19	2.33	2.32	2.29
Carrizo	0 mM NaCl	2.33	2.47b	2.57c	2.31
	30 mM NaCl	2.21	2.18a	2.23b	2.23
Cleopatra	0 mM NaCl	2.27	2.51b	2.23b	2.28
	30 mM NaCl	2.16	2.25a	2.01a	2.17
Carrizo	100% N	2.31	2.31	2.33bc	2.19
	140% N	2.23	2.34	2.47c	2.35
Cleopatra	100% N	2.28	2.44	2.08a	2.22
	140% N	2.15	2.32	2.16ab	2.22
0 mM NaCl	100% N	2.31b	2.50	2.39b	2.28
	140% N	2.29b	2.48	2.41b	2.31
30 mM NaCl	100% N	2.28b	2.25	2.01a	2.13
	140% N	2.09a	2.18	2.23b	2.26
Anova	Patrón	ns	ns	34 ***	ns
	Salinidad	7 *	43 ***	34 ***	ns
	Nitrógeno	6 *	ns	6 *	ns
	Patrón x Sal	ns	15 ***	21 ***	ns
	Patrón x N	ns	ns	7 ***	ns
	Sal x N	6 **	ns	8 ***	ns

*, **, *** y 'ns' indican diferencias significativas a $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$ y no significativas, respectivamente. Para cada columna, letras iguales indican que no existen diferencias significativas al 95% según el test de Duncan. Las interacciones que no aparecen no son significativas para los parámetros estudiados en la tabla.

Finalmente, el suplemento nitrogenado adicional incrementó, al final del ensayo, los niveles de N en hoja, tanto adulta como joven, pero sin llegar a ser este efecto significativo (Tablas 4.28 y 4.29). También se observó en los meses finales del ensayo un ligero incremento de los niveles de N en hoja en los tratamientos S+N con respecto a los tratamientos salinos sin nitrógeno (Tablas 4.28 y 4.29).

Hammami y col. (2009), en ensayos realizados en condiciones de campo con árboles de mandarina Cleopatra injertados sobre naranjo amargo, encuentran una respuesta lineal entre la tasa de N aplicada y el contenido de N en hoja. Sin embargo, se ha observado que en cítricos, la mayor eficiencia en la fertilización nitrogenada se observa bajo condiciones de déficit de nitrógeno (Lea-Cox y Syvertsen, 1996; Scholberg y col., 2002). Por tanto, es posible que, dado los óptimos niveles de N encontrados en hoja, independientemente del tratamiento aplicado, se produjese una cierta lixiviación de nitratos fuera del alcance de las raíces.



4.2.7.2. Potasio

Las hojas jóvenes tanto de Carrizo como de Cleopatra presentaron valores de K⁺ muy superiores a los encontrados en hojas adultas (Tablas 4.30 y 4.31 y Figura 4.51), lo cual está de acuerdo con el modelo de Wolf y col. (1991) que encontraron un gradiente positivo de K⁺ desde los tejidos más viejos hacia los más jóvenes.

Tabla 4.30. Efecto del patrón y del tratamiento sobre la acumulación de potasio en hojas adultas en los momentos más representativos de los años 2004, 2005 y 2006.

Factores Principales		K ⁺ (%)			
		Julio 2004	Marzo 2005	Noviembre 2005	Marzo 2006
Patrón	Carrizo	1.07	0.34	0.53	0.25
	Cleopatra	1.10	0.36	0.55	0.34
Salinidad	0 mM NaCl	1.10	0.36	0.64	0.33
	30 mM NaCl	1.08	0.33	0.44	0.26
Nitrógeno	100% N	1.11	0.36	0.56	0.30
	140% N	1.06	0.33	0.52	0.29
Carrizo	0 mM NaCl	1.15ab	0.35	0.64b	0.29b
	30 mM NaCl	1.00a	0.32	0.42a	0.21a
Cleopatra	0 mM NaCl	1.16b	0.38	0.64b	0.37c
	30 mM NaCl	1.05b	0.34	0.46a	0.32bc
Carrizo	100% N	1.04a	0.33a	0.54	0.26
	140% N	1.11ab	0.35ab	0.53	0.23
Cleopatra	100% N	1.19b	0.40b	0.58	0.35
	140% N	1.02a	0.32a	0.51	0.34
0 mM NaCl	100% N	1.07	0.37	0.70c	0.32b
	140% N	1.08	0.36	0.58b	0.33b
30 mM NaCl	100% N	1.15	0.36	0.42a	0.28ab
	140% N	1.05	0.30	0.46a	0.24a
Anova	Patrón	ns	ns	ns	25 ***
	Salinidad	ns	ns	67 ***	12 **
	Nitrógeno	ns	ns	ns	ns
	Patrón x Sal	3 *	ns	21 ***	13 ***
	Patrón x N	3 *	4 *	ns	ns
	Sal x N	ns	ns	36 ***	3 *

*, **, *** y 'ns' indican diferencias significativas a P<0.05, P<0.01, P<0.001 y no significativas, respectivamente. Para cada columna, letras iguales indican que no existen diferencias significativas al 95% según el test de Duncan. Las interacciones que no aparecen no son significativas para los parámetros estudiados en la tabla.

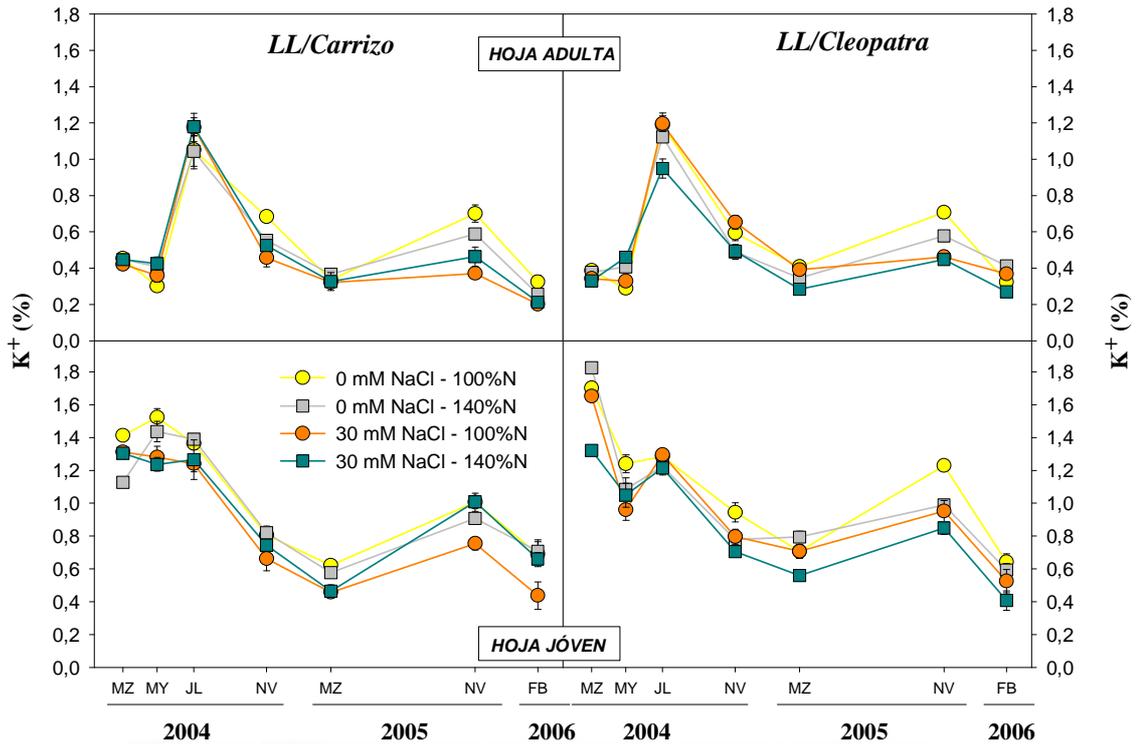


Figura 4.51. Evolución del contenido en potasio en hojas adultas y jóvenes para los distintos tratamientos y combinaciones a lo largo de los años 2004, 2005 y 2006. Cada valor corresponde a la media de 6 repeticiones por tratamiento \pm ES.

Los niveles de K^+ en hojas adultas oscilaron, salvo la fecha de julio de 2004, e independientemente del patrón empleado, entre 0.20 % y 0.70 % (Figura 4.51). Los valores obtenidos fueron inferiores al intervalo óptimo establecido por del Amor y col. (1984) para cítricos, a pesar del adecuado nivel de potasio en la solución nutritiva (Tabla 3.5). En este sentido, es posible que el alto contenido calizo y la textura fuerte del suelo de la parcela donde se llevó a cabo el ensayo hayan favorecido la inmovilización del potasio y dificultado su absorción por las raíces (del Amor y col., 1984).

La aplicación del riego salino disminuyó la concentración de K^+ en las hojas adultas y jóvenes, no observándose un efecto claro del patrón empleado en este sentido (Tablas 4.30 y 4.31). Las raíces presentaron también una disminución de los niveles de K^+ con respecto a los tratamientos no salinos, si bien este efecto sólo resultó significativo en los árboles sobre mandarino Cleopatra (Figura 4.52).

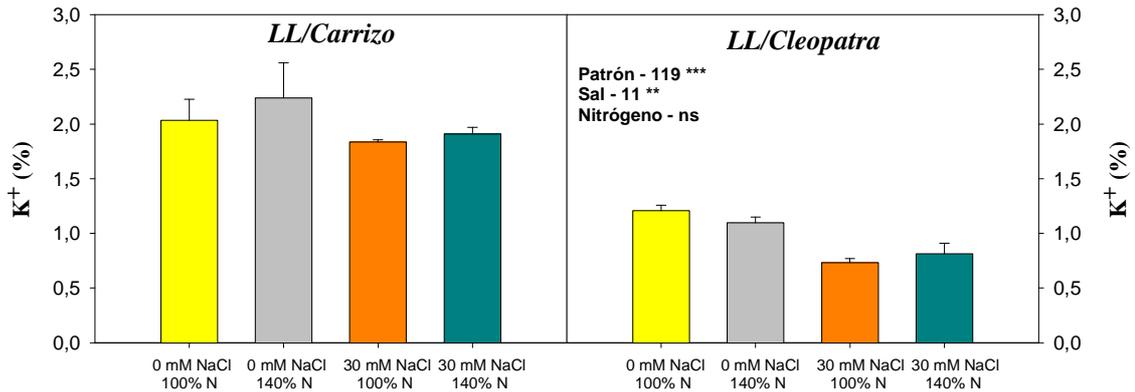


Figura 4.52. Concentración de potasio en las raíces en los diferentes tratamientos y combinaciones en noviembre de 2005. Cada valor corresponde a la media de 6 repeticiones por tratamiento \pm ES.

Tabla 4.31. Efecto del patrón y del tratamiento sobre la acumulación de potasio en hojas jóvenes en los momentos más representativos de los años 2004, 2005 y 2006.

Factores Principales		K ⁺ (%)			
		Julio 2004	Marzo 2005	Noviembre 2005	Marzo 2006
Patrón	Carrizo	1.31	0.53	0.92	0.62
	Cleopatra	1.25	0.69	1.00	0.54
Salinidad	0 mM NaCl	1.32	0.67	1.03	0.66
	30 mM NaCl	1.25	0.55	0.89	0.51
Nitrógeno	100% N	1.30	0.62	0.99	0.57
	140% N	1.27	0.60	0.94	0.59
Carrizo	0 mM NaCl	1.38	0.60b	0.96a	0.70c
	30 mM NaCl	1.25	0.46a	0.88a	0.55ab
Cleopatra	0 mM NaCl	1.25	0.75c	1.11b	0.62bc
	30 mM NaCl	1.25	0.63b	0.90a	0.47a
0 mM NaCl	100% N	1.32	0.66b	1.12b	0.67b
	140% N	1.31	0.68b	0.95a	0.65b
30 mM NaCl	100% N	1.27	0.58ab	0.85a	0.48a
	140% N	1.24	0.51a	0.93a	0.53ab
Anova	Patrón	ns	34 ***	4 *	ns
	Salinidad	ns	21 ***	ns	10 **
	Nitrógeno	ns	ns	ns	ns
	Patrón x Sal	ns	18 ***	3 *	4 *
	Sal x N	ns	4 *	4 *	3 *

*, **, *** y 'ns' indican diferencias significativas a $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$ y no significativas, respectivamente. Para cada columna, letras iguales indican que no existen diferencias significativas al 95% según el test de Duncan. Las interacciones que no aparecen no son significativas para los parámetros estudiados en la tabla.

Hay gran cantidad de datos que indican que en ambientes con alto nivel de Na^+ se produce una disminución de los niveles de K^+ en la planta, sin que pueda establecerse claramente una relación causal entre ambos fenómenos, habiéndose atribuido a un efecto competitivo a nivel de absorción entre Na^+ y K^+ (Ruiz y col., 1997; García y col., 2002; Gimeno y col., 2009) o a una mayor exclusión de K^+ al medio por el sistema radicular (Zekri y Parson, 1990b). Es posible que el hecho de que no se observara un efecto significativo de la salinidad sobre la concentración foliar de K^+ hasta la segunda mitad del ensayo (Tablas 4.30 y 4.31) pueda explicarse por el tiempo que tardó la raíz en alcanzar un nivel crítico de Na^+ o de $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (Francois, 1984; Subbarao y col., 1990; Izzo y col., 1991; Graifenberg y col., 1995; Pérez-Alfocea y col., 1996).

Finalmente, la fertilización nitrogenada suplementaria no tuvo efecto significativo sobre los niveles de K^+ en hoja (Tablas 4.30 y 4.31).

4.2.7.3. Calcio

Al contrario que lo observado con el K^+ en hojas, los niveles de Ca^{2+} en hoja joven fueron muy inferiores a los hallados en las hojas adultas (Tablas 4.32 y 4.33 y Figura 4.53). Sin embargo, estas concentraciones fueron incrementándose con el tiempo hasta valores que paulatinamente fueron aproximándose a los encontrados en hojas adultas. El mayor aumento de la concentración de Ca^{2+} en hojas adultas es atribuible a presentar éstas mayores tasas de transpiración y, por tanto, recibiendo iones a través del xilema y/o translocación desde los tejidos más jóvenes.

Al final del ensayo los árboles injertados sobre Cleopatra tuvieron niveles de Ca^{2+} en hoja adulta significativamente mayores que los injertados sobre Carrizo (Tabla 4.32). En las hojas jóvenes no se observa, sin embargo, un efecto claro del patrón en la acumulación foliar de Ca^{2+} (Tabla 4.33). En cualquier caso, los niveles de Ca^{2+} en hojas adultas se encontraron siempre dentro de los valores establecidos por del Amor y col. (1984) como normales.

Los contenidos de Ca^{2+} en hoja disminuyeron ligeramente por la salinidad (Tablas 4.32 y 4.33), siendo este efecto más acusado en hojas jóvenes que en hojas adultas. Esto se explica porque las sales de sodio no solo reducen la disponibilidad de calcio, sino que también reducen su transporte y movilidad a las partes en desarrollo de la planta (Grattan y Grieve, 1999).

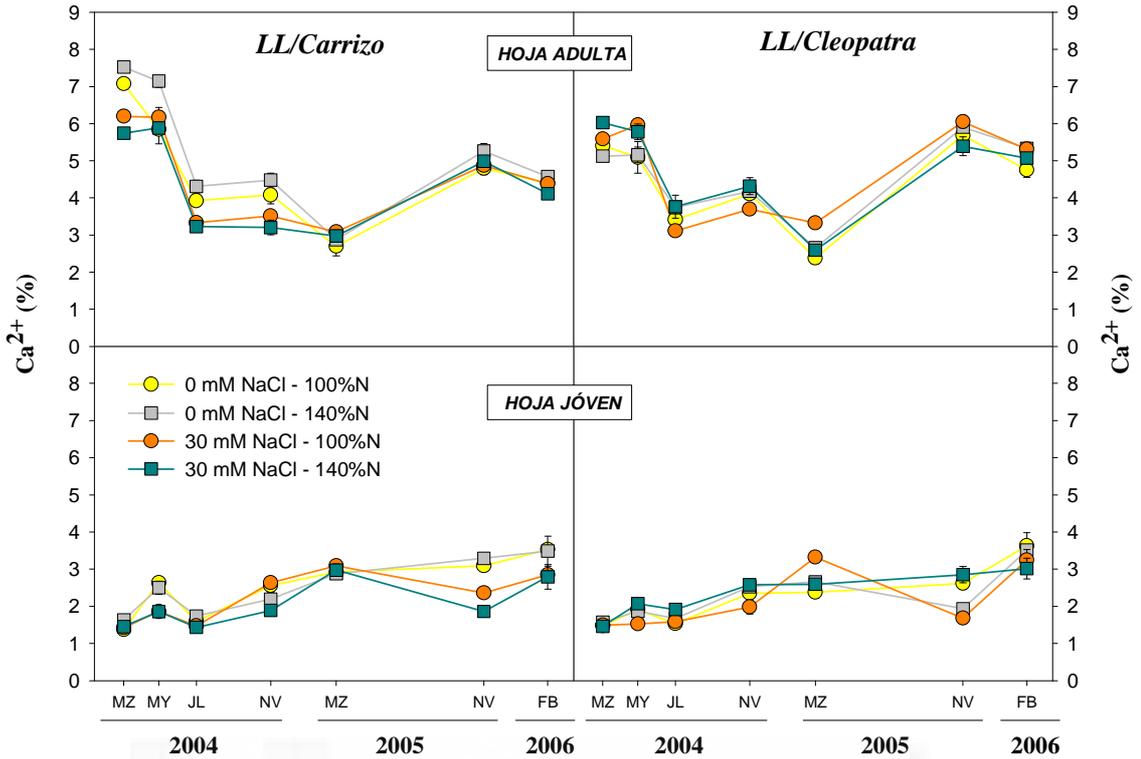


Figura 4.53. Evolución del contenido en calcio en hojas adultas y jóvenes para los distintos tratamientos y combinaciones a lo largo de los años 2004, 2005 y 2006. Cada valor corresponde a la media de 6 repeticiones por tratamiento \pm ES.

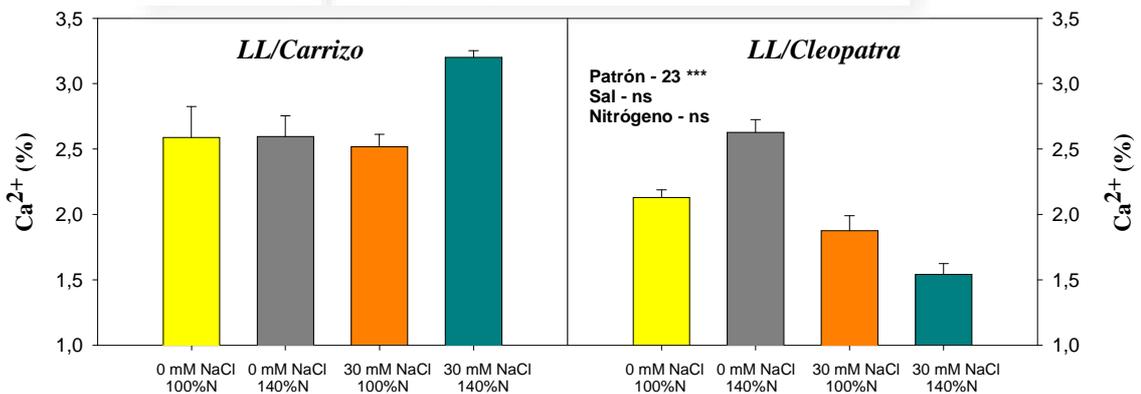


Figura 4.54. Concentración de calcio en las raíces en los diferentes tratamientos y combinaciones en noviembre de 2005. Cada valor corresponde a la media de 6 repeticiones por tratamiento \pm ES.

Por otra parte, se observó un efecto diferente de la salinidad sobre la concentración de Ca^{2+} en los tejidos de la planta según el patrón empleado. Así, en los árboles sobre mandarino Cleopatra se registró un descenso de las concentraciones de Ca^{2+} en raíces de tratamientos salinos, mientras que en hoja se mantuvieron en niveles similares a los tratamientos no salinos (Tablas 4.32 y 4.33 y Figura 4.54). Sin embargo, en Carrizo, en condiciones de salinidad, las raíces presentaron concentraciones de Ca^{2+} superiores con respecto a los tratamientos no salinos (Figura 4.54), observándose únicamente un ligero descenso de las concentraciones de calcio en hojas jóvenes.

Tabla 4.32. Efecto del patrón y del tratamiento sobre la acumulación de calcio en hojas adultas en los momentos más representativos de los años 2004, 2005 y 2006.

Factores Principales		Ca^{2+} (%)			
		Julio 2004	Marzo 2005	Noviembre 2005	Marzo 2006
Patrón	Carrizo	3.70	2.91	4.98	4.37
	Cleopatra	3.51	2.74	5.76	5.12
Salinidad	0 mM NaCl	3.85	2.65	5.41	4.77
	30 mM NaCl	3.36	2.99	5.33	4.72
Nitrógeno	100% N	3.45	2.87	5.35	4.71
	140% N	3.76	2.77	5.39	4.77
Carrizo	0 mM NaCl	4.12b	2.78ab	5.03	4.49
	30 mM NaCl	3.28a	3.03b	4.93	4.25
Cleopatra	0 mM NaCl	3.58a	2.52a	5.80	5.04
	30 mM NaCl	3.44a	2.96b	5.72	5.10
0 mM NaCl	100% N	3.67bc	2.54a	5.24	4.58
	140% N	4.03c	2.77a	5.59	4.96
30 mM NaCl	100% N	3.22a	3.21b	5.46	4.85
	140% N	3.50ab	2.78a	5.19	4.59
Anova	Patrón	ns	ns	32 ***	45 ***
	Salinidad	14 ***	8 **	ns	ns
	Nitrógeno	6 *	ns	ns	ns
	Patrón x Sal	8 **	3 *	ns	ns
	Sal x N	6 **	6 **	ns	ns

*, **, *** y 'ns' indican diferencias significativas a $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$ y no significativas, respectivamente. Para cada columna, letras iguales indican que no existen diferencias significativas al 95% según el test de Duncan. Las interacciones que no aparecen no son significativas para los parámetros estudiados en la tabla.

El incremento de la concentración de calcio en la raíz encontrado en los árboles de Carrizo sometidos a tratamiento salino pudo paliar el daño causado por la acumulación de cloruro en los tejidos de la planta (Durán y col., 2003). Neumann y col. (1994) señalan que el calcio mantiene la conductividad hidráulica de la raíz, mitigando el daño foliar y la defoliación (Zekri y Parsons, 1992; Bañuls y col., 1997). Además Kent y Laüchi (1985) encontraron que una alta concentración de calcio en la raíz mejoraba los efectos negativos de la salinidad en el crecimiento de la raíz y sus funciones.

Finalmente, la dosis de nitrógeno adicional no tuvo, en general, un efecto significativo relevante sobre los niveles de Ca^{2+} en hoja con respecto a los tratamientos no nitrogenados (Tablas 4.32 y 4.33).

Tabla 4.33. Efecto del patrón y del tratamiento sobre la acumulación de calcio en hojas jóvenes en los momentos más representativos de los años 2004, 2005 y 2006.

Factores Principales		Ca^{2+} (%)			
		Julio 2004	Marzo 2005	Noviembre 2005	Marzo 2006
Patrón	Carrizo	1.56	2.96	2.65	3.16
	Cleopatra	1.67	2.74	2.27	3.35
Salinidad	0 mM NaCl	1.63	2.71	2.73	3.54
	30 mM NaCl	1.60	2.99	2.19	2.97
Nitrógeno	100% N	1.54	2.93	2.43	3.31
	140% N	1.69	2.77	2.48	3.20
Carrizo	0 mM NaCl	1.67b	2.90b	3.19b	3.51b
	30 mM NaCl	1.45a	3.03b	2.11a	2.82a
Cleopatra	0 mM NaCl	1.60ab	2.52a	2.27a	3.57b
	30 mM NaCl	1.75b	2.96b	2.26a	3.13ab
Carrizo	100% N	1.53a	3.00	2.72	3.19
	140% N	1.59a	2.92	2.58	3.14
Cleopatra	100% N	1.56a	2.85	2.15	3.44
	140% N	1.79b	2.62	2.39	3.26
0 mM NaCl	100% N	1.56	2.65a	2.85b	3.58c
	140% N	1.70	2.77a	2.61b	3.50bc
30 mM NaCl	100% N	1.52	3.21b	2.02a	3.05ab
	140% N	1.67	2.78a	2.36ab	2.90a
Anova	Patrón	ns	ns	5 *	ns
	Salinidad	ns	7 *	9 **	10 **
	Nitrógeno	6 *	ns	ns	ns
	Patrón x Sal	5 **	4 *	10 ***	4 *
	Patrón x N	4 *	ns	ns	ns
	Sal x N	ns	5 **	4 *	3 *

*, **, *** y 'ns' indican diferencias significativas a $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$ y no significativas, respectivamente. Para cada columna, letras iguales indican que no existen diferencias significativas al 95% según el test de Duncan. Las interacciones que no aparecen no son significativas para los parámetros estudiados en la tabla.

4.2.7.4. Magnesio

Los niveles de magnesio en las hojas adultas oscilaron entre 0.23 y 0.47 %, mientras que en hojas jóvenes estos valores estuvieron comprendidos entre 0.14 y 0.35 % (Figura 4.55). Por tanto, a pesar del marcado carácter calizo de los suelos donde se realizó el ensayo, las hojas presentaron niveles de magnesio en hoja adecuados para el óptimo crecimiento de los cultivos según el intervalo de referencia establecido por del Amor y col. (1984).

Tabla 4.34. Efecto del patrón y del tratamiento sobre la acumulación de magnesio en hojas adultas en los momentos más representativos de los años 2004, 2005 y 2006.

Factores Principales		Mg ²⁺ (%)			
		Julio 2004	Marzo 2005	Noviembre 2005	Marzo 2006
Patrón	Carrizo	0.32	0.28	0.43	0.34
	Cleopatra	0.26	0.29	0.38	0.35
Salinidad	0 mM NaCl	0.29	0.28	0.40	0.34
	30 mM NaCl	0.29	0.30	0.41	0.35
Nitrógeno	100% N	0.29	0.28	0.39	0.33
	140% N	0.30	0.30	0.42	0.36
Carrizo	0 mM NaCl	0.32	0.27	0.42bc	0.34
	30 mM NaCl	0.33	0.29	0.44c	0.34
Cleopatra	0 mM NaCl	0.26	0.28	0.39ab	0.35
	30 mM NaCl	0.26	0.30	0.38a	0.36
Carrizo	100% N	0.32	0.28a	0.42b	0.34a
	140% N	0.32	0.28a	0.43b	0.34a
Cleopatra	100% N	0.25	0.27a	0.36a	0.33a
	140% N	0.27	0.31b	0.41b	0.38b
0 mM NaCl	100% N	0.29	0.27a	0.41ab	0.33
0 mM NaCl	140% N	0.29	0.29ab	0.40a	0.36
30 mM NaCl	100% N	0.29	0.28a	0.37a	0.34
30 mM NaCl	140% N	0.30	0.31b	0.44b	0.37
Anova	Patrón	51 ***	ns	14 ***	ns
	Salinidad	ns	5 *	ns	ns
	Nitrógeno	ns	6 *	7 *	9 **
	Patrón x Sal	ns	ns	5 **	ns
	Patrón x N	ns	4 *	8 ***	8 ***
	Sal x N	ns	4 *	5 **	ns

*, **, *** y 'ns' indican diferencias significativas a P<0.05, P<0.01, P<0.001 y no significativas, respectivamente. Para cada columna, letras iguales indican que no existen diferencias significativas al 95% según el test de Duncan. Las interacciones que no aparecen no son significativas para los parámetros estudiados en la tabla.

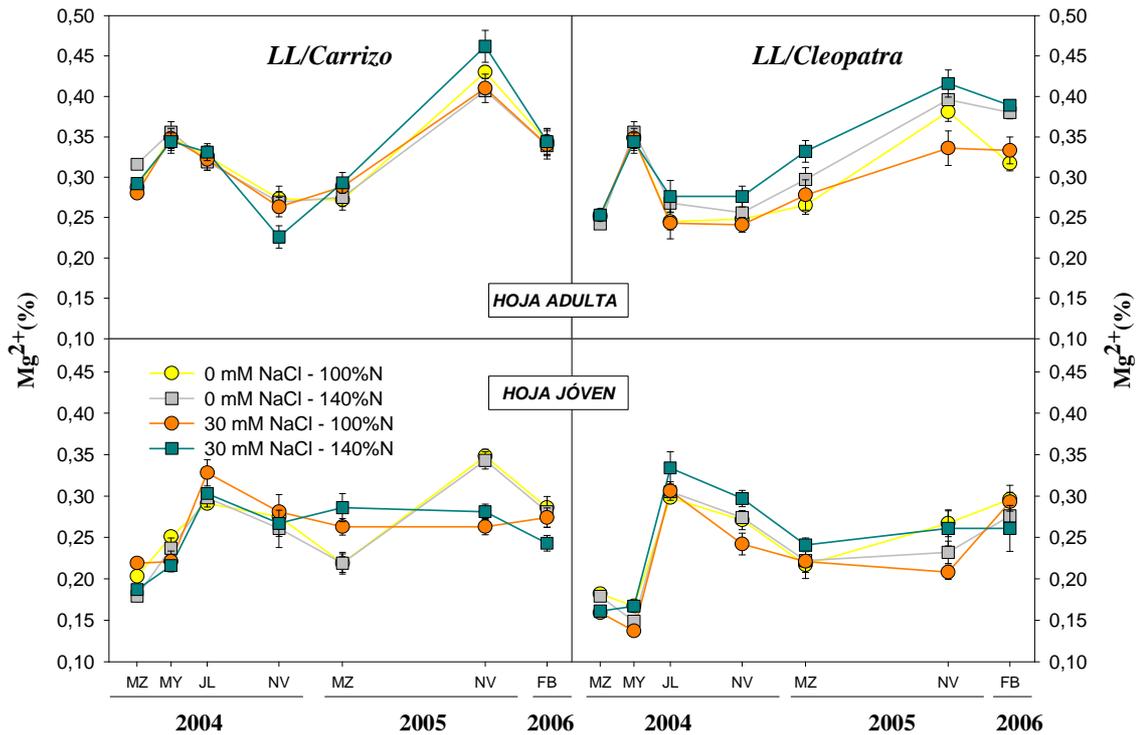


Figura 4.55. Evolución del contenido en magnesio en hojas adultas y jóvenes para los distintos tratamientos y combinaciones a lo largo de los años 2004, 2005 y 2006. Cada valor corresponde a la media de 6 repeticiones por tratamiento \pm ES.

Las hojas de los árboles sobre citrange Carrizo presentaron, en general, concentraciones de magnesio ligeramente superiores a las hojas de los árboles sobre mandarina Cleopatra, siendo este efecto únicamente significativo en momentos puntuales del ensayo (Tablas 4.34 y 4.35 y Figura 4.55). Ensayos realizados en invernadero muestran que Carrizo y Cleopatra no muestran diferente comportamiento en la absorción de este elemento, si embargo, una vez injertados, el transporte de Mg^{2+} a la parte aérea es mayor en Carrizo que en Cleopatra.

Por otra parte, los contenidos de Mg^{2+} en hoja se incrementaron ligeramente por efecto de la salinidad, si bien este efecto dependió tanto de la edad de la hoja como del patrón empleado. Este efecto se observó en hojas adultas de Cleopatra (Tabla 4.34) y en hojas jóvenes de Carrizo (Tabla 4.35). Estos resultados concuerdan con los señalados por diversos autores de que los incrementos de salinidad no siempre van asociados con un descenso foliar de Mg^{2+} (Nieves y col., 1990; Alva y Syvertsen, 1991; Grattan y Grieve, 1999; Gimeno y col., 2009).

Finalmente, los árboles sometidos a tratamientos nitrogenados suplementarios presentaron mayores concentraciones de magnesio en las hojas adultas de los árboles injertados sobre mandarina Cleopatra con respecto a los tratamientos no nitrogenados (Tabla 4.34). En hojas jóvenes, no se encontraron por el contrario, variaciones en los niveles de este elemento en la hoja (Tabla 4.35).

Tabla 4.35. Efecto del patrón y del tratamiento sobre la acumulación de magnesio en hojas jóvenes en los momentos más representativos de los años 2004, 2005 y 2006.

Factores Principales		Mg ²⁺ (%)			
		Julio 2004	Marzo 2005	Noviembre 2005	Marzo 2006
Patrón	Carrizo	0.30	0.25	0.31	0.27
	Cleopatra	0.31	0.22	0.24	0.28
Salinidad	0 mM NaCl	0.30	0.22	0.30	0.28
	30 mM NaCl	0.31	0.25	0.25	0.27
Nitrógeno	100% N	0.30	0.23	0.27	0.29
	140% N	0.31	0.24	0.28	0.27
Carrizo	0 mM NaCl	0.29	0.22a	0.35c	0.28
	30 mM NaCl	0.31	0.27b	0.27b	0.26
Cleopatra	0 mM NaCl	0.30	0.22a	0.25ab	0.29
	30 mM NaCl	0.32	0.23a	0.23a	0.28
0 mM NaCl	100% N	0.29	0.22a	0.31b	0.29
0 mM NaCl	140% N	0.30	0.22a	0.29b	0.28
30 mM NaCl	100% N	0.31	0.24ab	0.24a	0.28
30 mM NaCl	140% N	0.32	0.26b	0.27ab	0.25
Anova	Patrón	ns	6 *	35 ***	ns
	Salinidad	5 *	13 ***	15 ***	ns
	Nitrógeno	ns	ns	ns	5 *
	Patrón x Sal	ns	9 ***	23 ***	ns
	Sal x N	ns	5 **	4 *	ns

*, **, *** y 'ns' indican diferencias significativas a P<0.05, P<0.01, P<0.001 y no significativas, respectivamente. Para cada columna, letras iguales indican que no existen diferencias significativas al 95% según el test de Duncan. Las interacciones que no aparecen no son significativas para los parámetros estudiados en la tabla.

4.2.7.5. Fósforo

Las hojas jóvenes presentaron, a lo largo del ensayo, concentraciones de fósforo superiores a las hojas adultas (Tablas 4.36 y 4.37 y Figura 4.56). Esta mayor concentración de fósforo en hojas jóvenes se debió posiblemente a que parte del P inicialmente absorbido, es translocado vía floema desde las hojas maduras de la planta hacia las hojas en formación, como sugiere Biddulph (1961). En cualquier caso, los niveles de P en hoja adulta se encontraron dentro de los valores establecidos como normales por del Amor y col. (1984).

Tabla 4.36. Efecto del patrón y del tratamiento sobre la acumulación de fósforo en hojas adultas en los momentos más representativos de los años 2004, 2005 y 2006.

Factores Principales		P (%)			
		Julio 2004	Marzo 2005	Noviembre 2005	Marzo 2006
Patrón	Carrizo	0.133	0.098	0.129	0.101
	Cleopatra	0.133	0.085	0.105	0.097
Salinidad	0 mM NaCl	0.133	0.095	0.121	0.102
	30 mM NaCl	0.132	0.087	0.114	0.096
Nitrógeno	100% N	0.132	0.091	0.117	0.102
	140% N	0.134	0.092	0.117	0.096
Carrizo	0 mM NaCl	0.133	0.103c	0.129c	0.104b
	30 mM NaCl	0.133	0.093b	0.129c	0.099b
Cleopatra	0 mM NaCl	0.134	0.088ab	0.122b	0.100b
	30 mM NaCl	0.132	0.081a	0.099a	0.093a
Carrizo	100% N	0.128	0.094bc	0.132	0.102
	140% N	0.138	0.102c	0.126	0.100
Cleopatra	100% N	0.136	0.088ab	0.103	0.095
	140% N	0.130	0.082a	0.108	0.099
Anova	Patrón	ns	23 ***	48 ***	6 *
	Salinidad	ns	9 **	4 *	11 **
	Nitrógeno	ns	ns	ns	ns
	Patrón x Sal	ns	11 ***	20 ***	6 **
	Patrón x N	ns	9 ***	ns	ns

*, **, *** y 'ns' indican diferencias significativas a $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$ y no significativas, respectivamente. Para cada columna, letras iguales indican que no existen diferencias significativas al 95% según el test de Duncn. Las interacciones que no aparecen no son significativas para los parámetros estudiados en la tabla.

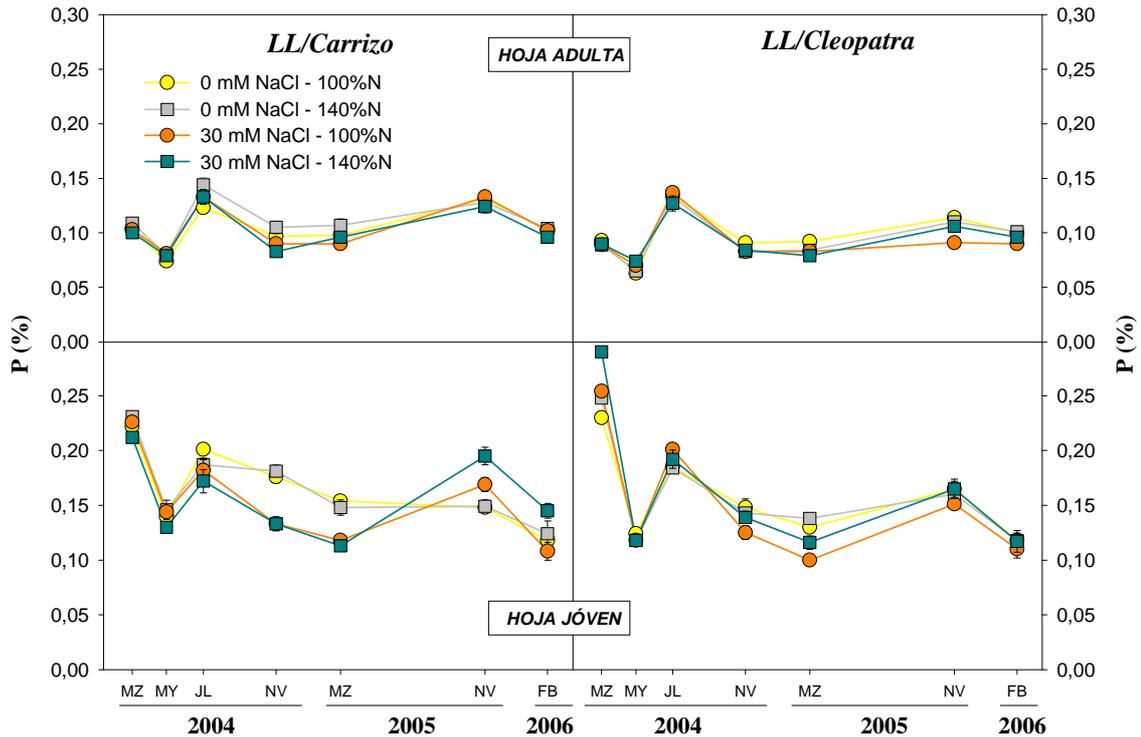


Figura 4.56. Evolución del contenido en fósforo en hojas adultas y jóvenes para los distintos tratamientos y combinaciones a lo largo de los años 2004, 2005 y 2006. Cada valor corresponde a la media de 6 repeticiones por tratamiento \pm ES.

Por otra parte, los árboles sobre citrange Carrizo presentaron los mayores contenidos de P en hoja adulta, no encontrándose diferencias sin embargo, en hojas jóvenes (Tablas 4.36 y 4.37). Esto puede ser atribuido a la diferente capacidad que presentan ambos patrones para absorber agua y nutrientes minerales así como a diferencias en las características físicas del sistema radicular, tal y como señalan Castle y Krezdorn (1975).

Con respecto a la influencia de la salinidad en los niveles de P en hoja, se observó que esta dependió tanto del patrón empleado (Grattan y Grieve, 1994) como de la edad de la hoja. Así, en hojas adultas se registraron descensos de los niveles de P en los árboles sobre mandarino Cleopatra, no viéndose afectados en aquellos sobre citrange Carrizo (Tabla 4.36). En hojas jóvenes, se observó, en este mismo sentido, un mayor efecto de la salinidad en los árboles sobre Carrizo y en menor medida en Cleopatra (Tabla 4.37).

Así mismo, las raíces de ambos patrones presentaron menores niveles de P en los tejidos de las mismas en los tratamientos salinos con respecto a los no salinos (Figura 4.57). El descenso de la concentración de P en los tejidos de la planta por efecto de la salinidad (Tablas 4.36 y 4.37) ha sido también señalado previamente por Sharpley y col. (1992).

Tabla 4.37. Efecto del patrón y del tratamiento sobre la acumulación de fósforo en hojas jóvenes en momentos puntuales de los años 2004, 2005 y 2006.

Factores Principales		P (%)			
		Julio 2004	Marzo 2005	Noviembre 2005	Marzo 2006
Patrón	Carrizo	0.186	0.133	0.165	0.123
	Cleopatra	0.190	0.121	0.160	0.116
Salinidad	0 mM NaCl	0.189	0.143	0.156	0.119
	30 mM NaCl	0.187	0.112	0.170	0.120
Nitrógeno	100% N	0.192	0.126	0.158	0.113
	140% N	0.184	0.129	0.167	0.126
Carrizo	0 mM NaCl	0.194c	0.151c	0.149a	0.121
	30 mM NaCl	0.177a	0.116a	0.182b	0.126
Cleopatra	0 mM NaCl	0.184ab	0.134b	0.163a	0.118
	30 mM NaCl	0.197c	0.108a	0.158a	0.114
Carrizo	100% N	0.191	0.136	0.159	0.113a
	140% N	0.180	0.131	0.172	0.134b
Cleopatra	100% N	0.193	0.115	0.158	0.114a
	140% N	0.188	0.127	0.162	0.117a
0 mM NaCl	100% N	0.193	0.142	0.157a	0.118
	140% N	0.185	0.143	0.155a	0.121
30 mM NaCl	100% N	0.192	0.109	0.160a	0.109
	140% N	0.182	0.114	0.180b	0.131
Anova	Patrón	ns	11 **	ns	ns
	Salinidad	ns	70 ***	6 *	ns
	Nitrógeno	ns	ns	ns	5 *
	Patrón x Sal	3 *	28 ***	8 ***	ns
	Patrón x N	ns	ns	ns	3 *
	Sal x N	ns	ns	4 **	ns

*, **, *** y 'ns' indican diferencias significativas a $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$ y no significativas, respectivamente. Para cada columna, letras iguales indican que no existen diferencias significativas al 95% según el test de Duncan. Las interacciones que no aparecen no son significativas para los parámetros estudiados en la tabla.

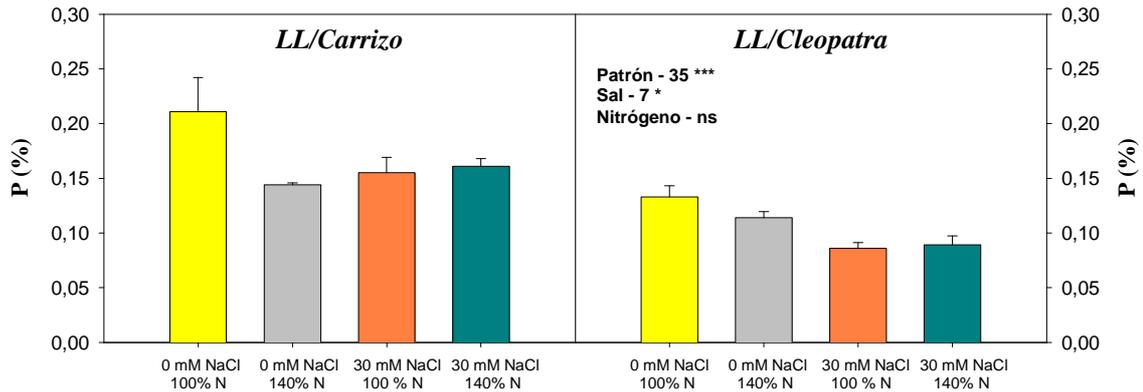


Figura 4.57. Concentración de fósforo en las raíces en los diferentes tratamientos y combinaciones en noviembre de 2005. Cada valor corresponde a la media de 6 repeticiones por tratamiento \pm ES.

En cuanto a los factores que pudieron intervenir en esta interacción observada entre la salinidad y el contenido de P en el tejido de las plantas, la mayoría de los ensayos realizados sobre suelo, señalan un descenso en la disponibilidad de P, no sólo a causa del aumento de la fuerza iónica en la misma provocada por el incremento en la concentración de sales (Grattan y Grieve, 1999), sino también por la baja solubilidad de los minerales de Ca-P en condiciones de salinidad. Es posible que el carácter calizo de los suelos donde se llevó a cabo el ensayo fuese un factor importante en nuestro ensayo, tal y como sugieren Sharpley y col. (1992). Por otro lado, también se ha descrito en la bibliografía (Champagnol, 1979) un efecto antagonista entre los iones Cl^- y los iones H_2PO_4^- presentes en la solución del suelo.

Finalmente, algunos estudios muestran que un exceso de nitrógeno (en forma de nitrato) frente al fósforo provoca una deficiente absorción de este último elemento. Sin embargo, el aporte extra de N no repercutió de forma significativa sobre los niveles de P en las hojas y raíces (Tablas 4.36 y 4.37 y Figura 4.57), probablemente porque no se alcanzaron concentraciones de NO_3^- suficientes en la solución del suelo (Figura 4.36) para interferir eficazmente la absorción de H_2PO_4^- .

4.2.7.6. Microelementos

En la tabla 4.38 se presentan las concentraciones de B, Fe, Mn, Cu y Zn en las hojas adultas de la variedad Lane late correspondiente al último muestreo realizado. Al comparar los niveles de micronutrientes obtenidos en las hojas adultas con los valores estándar establecidos por del Amor y col. (1984), se encontró que, salvo los contenidos en Fe, dichos niveles estuvieron dentro de los valores catalogados como normales para cítricos en condiciones de ensayo similares. El bajo nivel de Fe encontrado en hojas adultas pudo estar causado por el tipo de suelo donde se llevó a cabo el ensayo (calcáreo), ya que el déficit en hierro está ligado a los suelos calizos, si bien no se observaron síntomas destacados de clorosis en las hojas a lo largo del ensayo.

Tabla 4.38. Efecto del patrón y del tratamiento sobre la acumulación de micronutrientes (en ppm) en hojas adultas en el mes de Marzo de 2006.

Factores Principales		B	Fe	Mn	Cu	Zn
Patrón	Carrizo	76.5	50.8	30.6	10.4	41.1
	Cleopatra	93.1	53.8	36.6	9.2	39.3
Salinidad	0 mM NaCl	85.1	49.3	34.5	10.8	45.8
	30 mM NaCl	84.5	55.4	32.7	8.8	34.6
Nitrógeno	100% N	88.6	54.3	32.8	9.9	40.1
	140% N	81.0	50.4	34.3	9.7	40.2
Carrizo	0 mM NaCl	66.2a	48.9a	34.1b	10.8a	47.8b
	30 mM NaCl	86.8b	52.7ab	26.9a	10.1b	34.4a
Cleopatra	0 mM NaCl	104.1c	49.6a	34.8bc	10.8b	43.7b
	30 mM NaCl	82.1b	58.0b	38.4c	7.5a	34.8a
Carrizo	100% N	76.3a	53.9	28.5a	10.6	40.3
	140% N	76.6a	47.8	32.5ab	10.3	41.9
Cleopatra	100% N	100.8b	54.6	37.1b	9.2	39.9
	140% N	85.4ab	53.0	36.1b	9.1	38.6
0 mM NaCl	100% N	86.7	50.3a	33.9	10.7	48.4d
	140% N	83.6	48.2a	35.1	10.9	43.1c
30 mM NaCl	100% N	90.6	58.2b	31.8	9.0	31.9a
	140% N	78.4	52.6ab	33.6	8.5	37.3b
Anova	Patrón	8 **	ns	13 **	8 **	ns
	Salinidad	ns	9 **	ns	19 ***	38 ***
	Nitrógeno	ns	ns	ns	ns	ns
	Patrón x Sal	11 ***	4 *	11 ***	14 ***	14 ***
	Patrón x N	4 *	ns	5 **	ns	ns
	Sal x N	ns	4 *	ns	ns	20 ***

** , *** y 'ns' indican diferencias significativas a $P < 0.05$, $P < 0.01$ y no significativas, respectivamente. Para cada columna, letras iguales indican que no existen diferencias significativas al 95% según el test de Duncan. Las interacciones que no aparecen no son significativas para los parámetros estudiados en la tabla.

Los árboles sobre mandarino Cleopatra presentaron concentraciones más altas en hoja de B, Mn y Fe que los árboles sobre citrange Carrizo, mientras que por el contrario, fueron los árboles sobre Carrizo los que presentaron niveles foliares de Cu más altos (Tabla 4.38).

La salinidad tuvo un efecto diferente sobre la acumulación foliar de los diferentes microelementos. Así, mientras las concentraciones de Cu y Zn disminuyeron en las hojas adultas de los árboles sobre ambos patrones (Tabla 4.38), otros elementos, tales como el Fe y B incrementaron sus concentraciones en las hojas (Tabla 4.38). Por otra parte, se observó un comportamiento desigual de la salinidad sobre la concentración de Mn en las hojas adultas según el patrón empleado. Así, el Mn disminuyó en citrange Carrizo, mientras que aumentó en mandarino Cleopatra, con el (Tabla 4.38).

Page y col. (1990) señalan que en suelos salinos disminuye la solubilidad de los micronutrientes, experimentando a menudo las plantas que se desarrollan en estas condiciones deficiencias en estos elementos. Sin embargo, en nuestro ensayo no se observaron síntomas de carencia de los microelementos, estando los niveles foliares dentro de los valores establecidos como normales por del Amor y col. (1984).

Finalmente, a pesar de que diversos autores (Intrigliolo y col., 1993; Zaided y col., 2006) describen el incremento foliar de Fe, Mn y Zn con el incremento de la dosis de nitrógeno, en nuestro ensayo no se observó efecto significativo alguno del suplemento nitrogenado sobre el Fe y Mn, mientras que en el caso del Zn este incremento señalado únicamente se produjo en las hojas del patrón citrange Carrizo (Tabla 4.38).

4.2.8. Desarrollo vegetativo

Los árboles injertados sobre el patrón mandarino Cleopatra alcanzaron un crecimiento significativamente mayor que aquellos sobre citrange Carrizo, observándose en los primeros, valores superiores de porcentaje de crecimiento acumulado del área de la sección transversal del tronco del patrón y de la variedad, así como sobre el volumen de copa (Tabla 4.39).

Los árboles sobre mandarino Cleopatra, en general, son menos vigorosos que aquellos injertados sobre Carrizo (Crescimanno y col., 1981). Es posible que en nuestro ensayo, el menor crecimiento de los árboles sobre Carrizo pueda haberse debido a una pobre adaptación de este patrón a las condiciones edafoclimáticas características de la zona, señalando en este sentido Tucker y col. (1995) y Durón (1999) la sensibilidad del patrón citrange Carrizo a los suelos calcáreos.

Tabla 4.39. Porcentaje de crecimiento del área de sección transversal del tronco del patrón y de la variedad entre los años 2004 y 2006, así como del volumen de copa. Cada valor corresponde a la media de 9 árboles por tratamiento.

Factores Principales		Patrón (%)	Variedad (%)	Copa (%)
Patrón	Carrizo	15.66	12.74	33.34
	Cleopatra	24.91	18.70	40.38
Salinidad	0 mM NaCl	18.69	17.23	43.90
	30 mM NaCl	21.88	14.22	29.82
Nitrógeno	100% N	18.87	16.01	32.69
	140% N	21.70	15.44	41.03
Carrizo	0 mM NaCl	13.94a	15.35b	37.72a
	30 mM NaCl	17.38ab	10.13a	28.96b
Cleopatra	0 mM NaCl	23.44bc	19.10b	40.18a
	30 mM NaCl	26.39c	18.31b	40.69a
Carrizo	100% N	13.33a	12.36	26.68a
	140% N	17.99ab	13.12	39.99b
Cleopatra	100% N	24.41bc	19.65	38.69b
	140% N	25.42c	17.76	42.07b
0 mM NaCl	100% N	18.73	18.50	37.35b
	140% N	18.64	16.96	50.44c
30 mM NaCl	100% N	19.00	13.52	28.02a
	140% N	24.76	14.92	31.62ab
Anova	Patrón	17 ***	16 ***	5 *
	Salinidad	3 *	4 *	21 ***
	Nitrógeno	ns	ns	7 **
	Patrón x Sal	6 **	8 ***	9 ***
	Patrón x N	6 ***	ns	4 *
	Sal x N	ns	ns	10 ***

*, **, *** y 'ns' indican diferencias significativas a $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$ y no significativas, respectivamente. Para cada columna, letras iguales indican que no existen diferencias significativas al 95% según el test de Duncan. Las interacciones que no aparecen no son significativas para los parámetros estudiados en la tabla.

El mayor vigor acumulado de los árboles sobre mandarina Cleopatra ha sido también observado con anterioridad por Sánchez-Baños y col. (2001) en ensayos con pomelo Star Ruby realizados en el campo de Cartagena.

Con respecto al efecto de la salinidad se produjo un descenso tanto del porcentaje de crecimiento del área de sección transversal del tronco de la variedad como del volumen de copa con respecto a los árboles de tratamientos no salinos. Sin embargo, se incrementó ligeramente el área de sección transversal del tronco del patrón (Tabla 4.39). En este sentido, la parte aérea de los cítricos se ha descrito como más sensible a la salinidad que el crecimiento y desarrollo del sistema radicular (Delane y col., 1982; Weimberg y col., 1984).

En cuanto al efecto del patrón, la salinidad afectó al crecimiento de forma diferente en función del patrón empleado. Los árboles injertados sobre Cleopatra no mostraron diferencias significativas en cuanto a los parámetros de desarrollo vegetativo estudiados, mientras que en Carrizo la salinidad provocó una reducción del área de sección transversal del tronco del injerto y del volumen de copa. Este resultado confirma la peor adaptación a la salinidad del patrón citrange Carrizo citada por Fernández-Ballester y col. (2003) entre otros, que debe utilizar una buena proporción de fotoasimilados para compensar el bajo potencial osmótico que prevalece en el suelo (Greenway y Munns, 1980; Pasternak, 1987) en detrimento del desarrollo de la parte aérea de la planta.

El tratamiento nitrogenado incrementó el volumen de copa (Tabla 4.39), aunque no llegó a afectar de forma significativa a la sección transversal del tronco y patrón, siendo los árboles injertados sobre Carrizo los que tuvieron un mayor efecto del nitrógeno adicional sobre el volumen de copa.

Finalmente, los árboles sometidos a tratamientos S+N presentaron, en general, valores de crecimiento similares a los árboles de tratamientos salinos sin nitrógeno adicional (Tabla 4.39), no consiguiendo el nitrógeno adicional paliar el efecto negativo de la salinidad sobre la parte aérea de la planta.

4.2.9. Producción

Los árboles sobre los dos patrones presentaron, con independencia del tratamiento aplicado, un comportamiento productivo similar en ambos años de cosecha, no encontrándose en el primer año diferencias significativas en el número total de frutos producidos o en el peso medio de los mismos (Tabla 4.40). En el segundo año de cosecha los árboles sobre citrange Carrizo produjeron los frutos de mayor peso, mientras que los árboles sobre mandarina Cleopatra produjeron la mayor cantidad de frutos. Sánchez-Baños y col. (2001) y García-Sánchez y col. (2006) tampoco encontraron diferencias significativas en el rendimiento productivo de ambos patrones en ensayos llevados a cabo sobre pomelo Star Ruby y mandarina Clemenules respectivamente en la misma parcela donde se realizó nuestro ensayo.

Diversos estudios describen al patrón citrange Carrizo como inductor de mayor productividad con respecto a mandarina Cleopatra (Recupero y col., 1983; Roose y col., 1989; Economides y Gregoriou, 1993; García-Sánchez, 2001). El similar comportamiento productivo de Carrizo fue resultado del menor volumen de copa de los árboles sobre este patrón, consecuencia a su vez de la pobre capacidad de adaptación del patrón a las condiciones edafoclimáticas de la zona.

El riego con aguas salinas redujo la producción acumulada un 19 % con respecto a los tratamientos no salinos, no observándose diferencias significativas entre ambos patrones en los años 2005 y 2006. Sin embargo, esta reducción del peso de cosecha si estuvo asociada a factores diferentes según el patrón empleado. Así, en los árboles sobre citrange Carrizo la reducción en la producción se debió sobre todo a una disminución el número de frutos por árbol más que a las diferencias en peso por fruta individual (Tabla 4.40). En los árboles sobre mandarina Cleopatra el descenso del peso de cosecha por la salinidad fue causado por una disminución en el peso medio de los frutos (Tabla 4.40).

Tabla 4.40. Influencia de los distintos tratamientos aplicados sobre los diferentes parámetros de producción en naranjo Lane late para las campañas 2005 y 2006.

Factores Principales		Producción (Kg/ árbol)			Nº Frutos / árbol			Peso medio de fruto (g/fruto)		
		2005	2006	Total	2005	2006	Total	2005	2006	Total
Patrón	Carrizo	59.7	77.0	136.7	295	329	623	207	237	222
	Cleopatra	63.3	83.0	146.3	310	366	685	202	219	211
Salinidad	0 mM NaCl	67.1	88.1	155.2	327	370	697	204	239	221
	30 mM NaCl	54.9	70.9	125.8	278	326	611	206	218	212
Nitrógeno	100% N	59.5	80.8	140.2	290	360	659	205	221	213
	140% N	62.5	78.2	140.8	315	335	649	204	235	220
Carrizo	0 mM NaCl	65.5b	87.0b	152.5b	334b	370b	704b	198a	239b	218b
	30 mM NaCl	53.9a	67.0a	120.9a	256a	289a	542a	216b	236b	226b
Cleopatra	0 mM NaCl	68.7b	89.2b	157.9b	320b	370b	690b	210ab	239b	224b
	30 mM NaCl	56.0a	74.7a	130.7a	299ab	362b	679b	195a	200a	197a
Carrizo	100% N	59.4	79.4	138.9	301	346	647	201	234b	218
	140% N	60.0	74.5	134.6	289	313	599	213	240b	226
Cleopatra	100% N	59.6	82.1	141.6	279	375	671	209	208a	209
	140% N	65.1	81.9	146.9	341	358	699	195	230ab	213
0 mM NaCl	100% N	66.2bc	93.6c	159.8	315	390	705	205	240b	223
	140% N	68.0c	82.6bc	150.5	339	350	689	202	237b	220
30 mM NaCl	100% N	52.8a	67.9a	120.6	265	331	613	205	202a	204
	140% N	57.1ab	73.9ab	131.0	291	321	609	206	233b	219
Anova	Patrón	ns	ns	ns	ns	5 *	ns	ns	5 *	4 *
	Salinidad	14 ***	17 ***	22 ***	6 *	ns	6 *	ns	7 *	ns
	Nitrógeno	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Patrón x Sal	5 **	6 ***	8 ***	ns	4 *	5 **	3 *	6 **	7 ***
	Patrón x N	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	3 *	ns
	Sal x N	5 **	7 ***	ns	ns	ns	ns	ns	5 **	ns

*, **, *** y 'ns' indican diferencias significativas a $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$ y no significativas, respectivamente. Para cada columna, letras iguales indican que no existen diferencias significativas al 95% según el test de Duncan. Las interacciones que no aparecen no son significativas para los parámetros estudiados en la tabla.

La reducción de la producción debido al menor número de frutos ha sido ampliamente descrita en la bibliografía en diversas especies de cítricos (naranja Valencia late, pomelo Marsh, limón Verna, naranjo Shamouti, mandarino Clemenules, mandarino Satsuma, naranja Navelina y limón Fino) y se ha atribuido a una caída anormal de los frutos debido al estrés salino (Francois y Clark, 1980; Metochis, 1989; Nieves y col., 1990, 1991a; Dasberg y col., 1991; Primo-Millo y col., 2000; Morinaga y Sykes, 2001; García-Sánchez y col., 2002a). El hecho de que en los árboles sobre mandarino Cleopatra esta reducción se del peso de cosecha se deba a la disminución del peso de los frutos, permaneciendo el número de frutos inalterado podría relacionarse con un importante papel de los iones Cl^- en la floración, cuajado y abscisión de frutos. En este sentido, en el segundo año de cosecha, una vez que los niveles de cloruro en hojas de Carrizo alcanzaron valores importantes se ha encontrado sobre este patrón una correlación negativa entre el número de frutos recolectado y la concentración foliar de Cl^- ($r = 0.55$, $P < 0.01$).

En cuanto al efecto del aporte extra de nitrógeno sobre la producción, la fertilización nitrogenada no tuvo efecto significativo sobre el peso de cosecha (Tabla 4.40). Tampoco se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos S+N y salino sin nitrógeno en relación al rendimiento productivo de los árboles (Tabla 4.40). De acuerdo con Chapman (1968), el nitrógeno es el fertilizante que los cítricos requieren en mayores cantidades. Sin embargo, mientras diversos investigadores señalan que incrementos en la dosis de nitrógeno están asociados con un incremento en el rendimiento de diferentes especies de cítricos (Calver, 1970; Jones y col., 1970), otros autores no encuentran efectos significativos en este sentido (Smith y Rasmussen, 1961; Futch y Alva, 1994). Schumann y col. (2003) encontraron una respuesta cuadrática significativa de la producción nitrogenada, produciéndose respuestas decrecientes a partir de 190-240 $\text{Kg N}\cdot\text{Ha}^{-1}\cdot\text{año}^{-1}$. Estos resultados son concordantes con los obtenidos en California por Embleton y Jones (1977), y en Florida por Dasberg y col. (1983), Tucker y col. (1995) y Morgan y col. (2006), entre otros. Alva y col. (2006) concluyen que dosis superiores a 170 $\text{Kg N}\cdot\text{Ha}^{-1}\cdot\text{año}^{-1}$ no deberían aplicarse en pomelos adultos. Para He y col (2003) la aplicación de N no debería superar en naranjos la dosis de 224 $\text{Kg}\cdot\text{Ha}^{-1}\cdot\text{año}^{-1}$. Es decir, la mayoría de trabajos actuales sitúan el óptimo del abonado nitrogenado en torno a 500 grs N/árbol·año, cifra a partir de la cual no es razonable esperar respuestas positivas en la producción.

La dosis aplicada en nuestro trabajo fue de 478 grs N/árbol·año, lo que explica la falta de respuesta productiva obtenida con el abonado nitrogenado suplementario, ya que este eleva la dosis suministrada a 672 grs N/árbol·año.

Bielorai y col. (1988) intentaron paliar la reducción de cosecha producida por aguas de elevada salinidad en naranjos Shamouti mediante aportes adicionales de N y K, sin obtener efecto positivo, En general, la interacción entre el crecimiento y la producción de especies cítricas, el uso de aguas salinas y la absorción de N es difícil de interpretar (Grattan y Grieve, 1992), habiéndose sugerido que las respuestas positivas sólo se producen cuando las concentraciones foliares de nitrógeno se encuentran en niveles deficitarios, lo cual no ocurrió en nuestro ensayo.



4.2.10. Calidad del fruto

4.2.10.1. Tamaño del fruto, espesor de corteza e índice de forma

Los árboles de la combinación Lane late/citrange Carrizo produjeron en el segundo año de cosecha frutos de mayor tamaño que aquellos de la combinación Lane late/mandarino Cleopatra (Tabla 4.41), quizás debido a la menor producción de los árboles sobre Carrizo (Tabla 4.40) lo que lleva a frutos de mayor calibre (González-Martínez y col., 2007). El patrón mandarino Cleopatra disminuye el tamaño de la fruta, mientras que citrange Carrizo produce un tamaño de fruta de intermedio a grande (Breedt y col. 1996; Castle y Gmitter, 1999).

Así mismo, los frutos de la combinación Lane late/citrange Carrizo presentaron también en este segundo año un menor índice de espesor de corteza que aquellos de la combinación Lane late/mandarino Cleopatra (Tabla 4.41). Estos resultados son concordantes con los obtenidos por diversos autores (González-Sicilia, 1960; Cohen y Reitz, 1963; Levy y Mendel, 1982; Forner, 1985; Russo, 1985) en el sentido de que los frutos de los árboles sobre citrange Carrizo son de mayor tamaño y con menor grosor de corteza que los frutos de árboles sobre mandarino Cleopatra.

Por otra parte, la salinidad disminuyó el tamaño de los frutos en el segundo año de cosecha, no observándose efecto significativo en el primer año del ensayo, aunque sí sobre el índice de forma de los mismos (Tabla 4.41). Este descenso del tamaño de los frutos se debió a un descenso tanto del diámetro como de la altura de los mismos en los árboles injertados sobre mandarino Cleopatra, mientras que en los árboles injertados sobre citrange Carrizo únicamente se redujo el diámetro de los frutos (Tabla 4.41).

El descenso del diámetro de los frutos con la salinidad ha sido señalado por Morinaga y Sykes (2001) y por Boman (2004) en ensayos realizados con mandarino Satsuma y naranjo Valencia respectivamente. Cerdá y col. (1986) observaron también una reducción del tamaño (peso, altura y diámetro) de los frutos de limón Verna injertado sobre mandarino Cleopatra por efecto de la sal.

Tabla 4.41. Influencia de los distintos tratamientos aplicados sobre el tamaño e índice de espesor de corteza de frutos de Lane late injertado sobre citrange Carrizo y mandarina Cleopatra en las campañas 2005 y 2006.

Factores principales		2005				2006			
		Diámetro (mm)	Altura (mm)	I. Forma	I. Espesor Corteza (mm)	Diámetro (mm)	Altura (mm)	I. Forma	I. Espesor Corteza (mm)
Patrón	Carrizo	77.5	71.7	0.93	13.19	78.7	79.1	1.01	11.58
	Cleopatra	78.3	72.2	0.92	13.66	76.8	76.8	1.00	12.77
Salinidad	0 mM NaCl	78.2	72.7	0.93	14.61	79.9	80.2	1.01	12.30
	30 mM NaCl	77.7	71.3	0.92	12.23	75.6	75.7	1.00	12.05
Nitrógeno	100% N	79.7	73.5	0.92	13.67	77.2	77.0	1.00	11.65
	140% N	76.2	70.5	0.93	13.17	78.3	78.9	1.01	12.70
Carrizo	0 mM NaCl	76.7	71.4	0.93b	14.47b	79.9c	79.8b	1.01	11.80
	30 mM NaCl	78.4	72.1	0.92a	11.90a	77.6b	78.3b	1.01	11.37
Cleopatra	0 mM NaCl	79.7	74.0	0.93b	14.76b	79.9c	80.5b	1.01	12.80
	30 mM NaCl	76.9	70.5	0.92a	12.56a	73.6a	73.2a	0.99	12.74
Carrizo	100% N	77.9b	72.2b	0.93	13.71	78.0	77.4a	1.00	10.82a
	140% N	77.2ab	71.3ab	0.92	12.67	79.5	80.7b	1.02	12.34b
Cleopatra	100% N	81.5c	74.9c	0.92	13.63	76.5	76.7a	1.00	12.48b
	140% N	72.1a	69.7a	0.93	13.68	77.1	77.0a	1.00	13.06b
0 mM NaCl	100% N	78.7bc	73.2b	0.93b	15.14c	79.7	80.1c	1.02b	11.35a
	140% N	77.7b	72.2b	0.93b	14.08b	80.1	80.3c	1.00ab	13.23b
30 mM NaCl	100% N	80.7c	73.8b	0.91a	12.20a	74.8	74.0a	0.99a	11.94a
	140% N	74.6a	68.8a	0.92b	12.27a	76.5	77.5b	1.01b	12.17a

*, **, *** y 'ns' indican diferencias significativas a $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$ y no significativas, respectivamente. Para cada columna, letras iguales indican que no existen diferencias significativas al 95% según el test de Duncan. Las interacciones que no aparecen no son significativas para los parámetros estudiados en la tabla.

Otros autores tales como Levy y col. (1979) y Francois y Clark (1980) no observaron, sin embargo, un efecto significativo de la sal sobre el tamaño de los frutos.

La salinidad también disminuyó, en el primer año de cosecha, el índice de espesor de corteza de los frutos con respecto a los frutos del tratamiento no salino (Tabla 4.41), no observándose, sin embargo, un efecto significativo de la sal sobre este parámetro en el segundo año. La disminución del índice de espesor de corteza por la salinidad ha sido descrita previamente por Francois y Clark (1980) en naranja Valencia sobre mandarina Cleopatra y por Primo-Millo y col. (2000) en naranjo Navelina y Clementina de Nules. Sin embargo, otros trabajos en limón Verna y pomelo Star Ruby muestran un aumento del espesor de corteza con la salinidad (Nieves y col., 1991a; García-Sánchez y col., 2003).

El aporte extra de nitrógeno no tuvo un efecto definido sobre el tamaño de los frutos y del índice de espesor de corteza (Tabla 4.41). Así, mientras en el primer año la fertilización nitrogenada redujo significativamente el tamaño de los frutos de la combinación Lane late/mandarina Cleopatra (Tabla 4.41), en el segundo año, la fertilización nitrogenada produjo un aumento general del tamaño de los frutos de árboles injertados sobre ambos patrones, si bien este incremento solamente llegó a ser significativo en los frutos de la combinación Lane late/citrango Carrizo (Tabla 4.41). En condiciones normales, el aporte adicional de nitrógeno produce frutos de menor tamaño (Koo y Reese, 1977; Hernández, 1981; Legaz y col., 1991; Pomares y col., 1993, Mattos y col., 2005).

En cuanto al índice de espesor de corteza de los frutos, la fertilización nitrogenada adicional produjo en el segundo año y en los frutos de los árboles injertados sobre citrango Carrizo un incremento del espesor con respecto a los tratamientos no salinos (Tabla 4.41). Este incremento del índice de espesor de corteza con dosis altas de nitrógeno ha sido observado anteriormente en cítricos por diversos autores (Ortiz-Marcide, 1978; Primo-Millo y Legaz, 1983; Koo y Smajstrla, 1985 y Zaied y col., 2006).

Finalmente, los frutos de tratamientos S+N presentaron una disminución del tamaño en el primer año de ensayo con respecto a los tratamientos salinos sin nitrógeno, mientras que en el segundo año se produjo el efecto contrario.

4.2.10.2. Índice de color externo de los frutos

En el primer año de cosecha se estudió la evolución del color de los frutos durante la maduración, presentando una evolución del índice de color (I.C.) externo de tipo exponencial (Figura 4.58) característico de los cítricos (Casas y Mallent, 1985; Porras, 1993; Pons, 1995; Porras y col., 1999).

El viraje del color verde al naranja característico de los frutos de naranjo se produjo en el mes de noviembre (Figura 4.58). Esto se explica porque durante el proceso de maduración del fruto (final de la fase II y toda la fase III de desarrollo del fruto), el color de la piel cambia drásticamente ya que los cloroplastos, que contienen carotenoides y clorofilas, se transforman en cromoplastos, que tienen solo carotenoides. Durante esta transición de cloroplastos a cromoplastos, los carotenoides se acumulan lentamente y después tiene lugar una acumulación masiva de carotenoides (Rodrigo y col., 2004).

Una vez producido el viraje de color, la variación del I.C. externo de los frutos fue relativamente pequeña (Figura 4.58), lo cual puede atribuirse a que a partir del momento del viraje de color la acumulación de carotenoides tiene lugar en las capas más profundas del flavedo, con lo que los mismos contribuyen muy poco a la coloración externa de los frutos (Eilati y col., 1969).

En cuanto al efecto del patrón empleado sobre el I.C. externo de los frutos, se observó que los frutos de la combinación Lane late/mandarino Cleopatra presentaron en ambas cosechas, y con independencia del tratamiento aplicado, mayores valores de I.C. externo (Tabla 4.42). Resultados similares han sido observados también con anterioridad por García-Sánchez y col. (2006) y Pérez-Pérez y col. (2008b) en ensayos sobre mandarino Clemenules y naranjo Lane late respectivamente. En cualquier caso, los frutos de ambas combinaciones presentaron en ambas cosechas índices de color externo superiores a 10 (Tabla 4.42), color naranja muy intenso según los estándares de color establecidos para cítricos (DOVG, 2006).

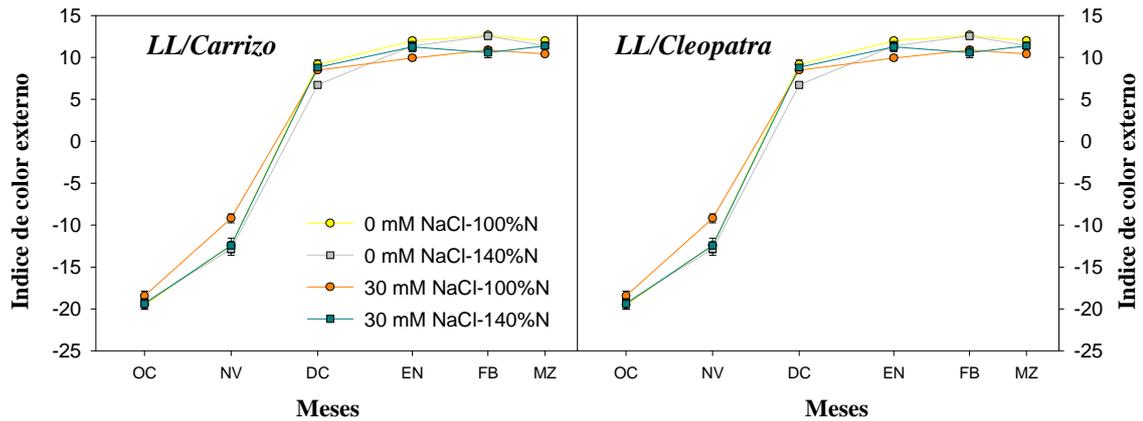


Figura 4.58. Evolución del índice de color de corteza en frutos de Lane late para los distintos tratamientos y combinaciones desde octubre 2004 hasta marzo 2005. Cada valor corresponde a la media de 6 frutos por tratamiento \pm ES.

El riego con aguas salinas provocó en ambos años de cosecha una disminución significativa en el índice de color externo de los frutos con respecto a los tratamientos no salinos (Tabla 4.42). Sin embargo, a pesar de esta disminución, los frutos de tratamientos salinos presentaron, en ambas cosechas, valores de I.C. externo superiores a 10 (Tabla 4.42), por lo que la calidad visual de los mismos no se vio alterada.

Finalmente, a pesar de que diversos investigadores señalan que las dosis crecientes de nitrógeno conducen a una intensificación del color verde de los frutos de cítricos (Legaz y col., 2000), los frutos obtenidos en los tratamientos nitrogenados presentaron valores de I.C. externo ligeramente superiores a los tratamientos no nitrogenados pero sin ser este efecto significativo (Tabla 4.42). En este sentido, Sala y col. (1992) indican que cuando el nitrógeno se aplica en la fase temprana o precoz del crecimiento del fruto es posible alcanzar la coloración característica de la variedad de forma natural.

Los frutos obtenidos en los tratamientos S+N presentaron valores de I.C. externo similares a los tratamientos S (Tabla 4.42).

Tabla 4.42. Influencia de los distintos tratamientos aplicados sobre el parámetro de índice de color de corteza del fruto en naranjo Lane late para las campañas 2005 y 2006.

Factores principales		Índice de color externo	
		2005	2006
Patrón	Carrizo	11.3	13.0
	Cleopatra	11.9	14.4
Salinidad	0 mM NaCl	12.2	14.6
	30 mM NaCl	11.1	12.8
Nitrógeno	100% N	11.7	13.4
	140% N	11.6	14.0
Carrizo	0 mM NaCl	11.7b	13.9b
	30 mM NaCl	10.9a	12.3a
Cleopatra	0 mM NaCl	12.6c	15.3c
	30 mM NaCl	11.2ab	13.5b
Carrizo	100% N	11.3	12.7a
	140% N	11.4	13.5ab
Cleopatra	100% N	12.1	14.3bc
	140% N	11.7	14.5c
0 mM NaCl	100% N	12.4	14.1b
	140% N	12.0	15.1c
30 mM NaCl	100% N	11.1	13.0a
	140% N	11.1	12.9a
Anova	Patrón	9 **	36 ***
	Salinidad	28 ***	55 ***
	Nitrógeno	ns	6 *
	Patrón x Sal	14 ***	27 ***
	Patrón x N	ns	7 ***
	Sal x N	ns	12 ***

*, **, *** y 'ns' indican diferencias significativas a $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$ y no significativas, respectivamente. Para cada columna, letras iguales indican que no existen diferencias significativas al 95% según el test de Duncan. Las interacciones que no aparecen no son significativas para los parámetros estudiados en la tabla.

4.2.10.3. Porcentaje de zumo y pulpa

Los datos obtenidos a lo largo del ensayo muestran, que independientemente del tratamiento aplicado, los frutos obtenidos en los árboles injertados sobre el patrón citrange Carrizo presentaron mayores porcentajes de zumo que aquellos obtenidos en los árboles injertados sobre mandarino Cleopatra (Tabla 4.43). Se observó también que en ambos casos se obtuvieron cantidades promedio de zumo por encima de 50 % v/v (Tabla 4.43), cantidades que se consideran aceptables para naranja.

El mayor contenido en zumo de los frutos sobre citrange Carrizo con respecto a aquellos sobre mandarino Cleopatra ha sido observado con anterioridad por García-Sánchez y col. (2003) y Romero y col. (2006) en ensayos sobre pomelo StarRuby y mandarino Clemenules respectivamente.

Tabla 4.43. *Influencia de los distintos tratamientos aplicados sobre la composición del fruto en naranjo Lane late para las campañas 2005 y 2006.*

Factores Principales		2005		2006	
		Zumo (%)	Pulpa (%)	Zumo (%)	Pulpa (%)
Patrón	Carrizo	56.8	6.4	55.0	7.0
	Cleopatra	54.9	6.1	51.3	7.6
Salinidad	0 mM NaCl	55.0	6.0	53.7	7.2
	30 mM NaCl	56.7	6.4	52.6	7.4
Nitrógeno	100% N	55.4	6.2	53.3	8.3
	140% N	56.2	6.2	52.9	6.3
Carrizo	0 mM NaCl	56.4b	6.3	56.1c	6.4a
	30 mM NaCl	57.1b	6.5	54.0b	7.5ab
Cleopatra	0 mM NaCl	53.5a	5.7	51.2a	7.9b
	30 mM NaCl	56.2b	6.4	51.3a	7.2ab
Carrizo	100% N	56.7b	6.0a	55.9c	7.8b
	140% N	56.8b	6.8b	54.1b	6.2a
Cleopatra	100% N	54.1a	6.4ab	50.7a	8.7b
	140% N	55.6b	5.7a	51.8a	6.4a
0 mM NaCl	100% N	54.6a	5.9	53.7	8.2b
	140% N	55.3ab	6.1	53.6	6.1a
30 mM NaCl	100% N	56.2bc	6.5	53.0	8.3b
	140% N	57.1c	6.4	52.3	6.4a
Anova	Patrón	29 ***	ns	48 ***	ns
	Salinidad	23 ***	ns	ns	ns
	Nitrógeno	6 *	ns	ns	31 ***
	Patrón x Sal	22 ***	ns	20 ***	ns
	Patrón x N	9 ***	3 *	21 ***	12 ***
	Sal x N	6 **	ns	ns	10 ***

*, **, *** y 'ns' indican diferencias significativas a P<0.05, P<0.01, P<0.001 no significativas, respectivamente. Para cada columna, letras iguales indican que no existen diferencias significativas al 95% según el test de Duncan. Las interacciones que no aparecen no son significativas para los parámetros estudiados en la tabla.

Otros trabajos no muestran diferencias en el porcentaje de zumo de naranja en estos dos patrones (Forner-Giner y col., 2003; Pérez-Zamora, 2004).

Por otra parte, los efectos de la salinidad en el porcentaje de zumo del fruto variaron en función del año de cosecha y del patrón empleado. En el primer año de cosecha la salinidad aumentó el porcentaje de zumo en los frutos sobre ambos patrones, si bien este efecto únicamente fue significativo en mandarino Cleopatra (Tabla 4.43). Incrementos en los niveles de zumo por efecto de la salinidad ha sido también descrito por Primo-Millo y col. (2000) en frutos de las variedades Navelina y Clementina de Nules.

En el segundo año de cosecha, se produjo, por el contrario, un descenso en el porcentaje de zumo en los frutos sobre citrange Carrizo por efecto de la sal (Tabla 4.43), no viéndose modificado el porcentaje de zumo en los frutos sobre mandarino Cleopatra (Tabla 4.43).

La salinidad no modificó de forma significativa el porcentaje de pulpa del fruto en ninguno de los dos años de cosecha (Tabla 4.43).

En cuanto al efecto de la fertilización nitrogenada adicional sobre el porcentaje de zumo de los frutos no se observó en nuestro ensayo un efecto definido del nitrógeno sobre el mismo (Tabla 4.43). Así, mientras en la cosecha de 2005 este aporte extra produjo un incremento del porcentaje de zumo en los frutos sobre mandarino Cleopatra (Tabla 4.43), en la cosecha de 2006 este suplemento adicional disminuyó el porcentaje de zumo en los frutos sobre citrange Carrizo, no viéndose afectado el contenido en zumo de los frutos sobre Cleopatra (Tabla 4.43).

La fertilización nitrogenada si tuvo, por el contrario, un efecto claro sobre el porcentaje de pulpa de los frutos, observándose que, salvo en los frutos sobre citrange Carrizo en la cosecha de 2005, ésta produjo una disminución general del porcentaje de pulpa en los frutos (Tabla 4.43).

Finalmente, los tratamientos S+N no produjeron, en general, efectos relevantes sobre los parámetros estudiados en este apartado, salvo en el segundo año de cosecha, en el cual se redujo el porcentaje de pulpa con respecto a los tratamientos salinos (Tabla 4.43).

4.2.10.4. Sólidos solubles totales, acidez e índice de madurez

Los frutos de la combinación Lane late/citrango Carrizo presentaron, en ambos años de cosecha, mayor contenido de sólidos solubles totales (SST) en comparación con aquellos de la combinación Lane late/mandarino Cleopatra (Tabla 4.44).

La acidez total (TA), así como la relación sólidos solubles totales (SST)/acidez total, que determina el índice de madurez (IM) de los frutos dependió tanto del año de cosecha como del patrón empleado (Tabla 4.44). En la cosecha de 2005, el patrón Carrizo produjo frutos con valores más elevados de índice de madurez que el mandarino Cleopatra. Sin embargo, en la cosecha de 2006 no se produjeron diferencias significativas en el índice de madurez de los frutos sobre ambos patrones (Tabla 4.44).

Tabla 4.44. *Influencia de los distintos tratamientos aplicados sobre los parámetros internos de calidad del fruto en naranjo Lane late para las campañas 2005 y 2006.*

Factores Principales		2005			2006		
		Sólidos solubles totales	Acidez	Índice de madurez	Sólidos solubles totales	Acidez	Índice de madurez
Patrón	Carrizo	12.8	11.3	11.5	12.5	10.0	12.3
	Cleopatra	12.2	11.4	10.9	11.4	9.0	12.7
Salinidad	0 mM NaCl	11.7	9.8	12.0	11.8	9.6	12.4
	30 mM NaCl	13.3	13.0	10.4	12.1	9.4	12.6
Nitrógeno	100% N	12.5	11.6	10.9	12.0	9.7	12.4
	140% N	12.6	11.1	11.6	11.9	9.3	12.6
Carrizo	0 mM NaCl	12.3b	9.9a	12.5c	12.7c	10.8c	11.9a
	30 mM NaCl	13.4c	12.8b	10.6a	12.2b	9.3b	12.7b
Cleopatra	0 mM NaCl	11.1a	9.6a	11.6b	10.8a	8.4a	13.0b
	30 mM NaCl	13.3c	13.1b	10.2a	12.0b	9.6b	12.5ab
Carrizo	100% N	13.3c	12.1	11.2	12.8c	10.4b	12.1
	140% N	12.4ab	10.6	11.9	12.1b	9.6a	12.5
Cleopatra	100% N	11.7a	11.2	10.5	11.3a	8.9a	12.8
	140% N	12.7bc	11.5	11.3	11.6ab	9.1a	12.7
0 mM NaCl	100% N	11.6	10.0	11.6	11.7	9.9	12.0a
	140% N	11.8	9.5	12.4	11.9	9.3	12.9b
30 mM NaCl	100% N	13.3	13.3	10.1	12.4	9.5	12.9b
	140% N	13.3	12.6	10.7	11.8	9.4	12.3ab
Anova	Patrón	12 ***	ns	6 *	28 ***	12 **	ns
	Salinidad	73 ***	95 ***	41 **	ns	ns	ns
	Nitrógeno	ns	ns	7 **	ns	ns	ns
	Patrón x Sal	40 ***	30 ***	14 ***	28 ***	21 ***	4 **
	Patrón x N	6 **	ns	ns	13 ***	6 **	ns
	Sal x N	ns	ns	ns	ns	ns	4 *

*, **, *** y 'ns' indican diferencias significativas a $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$ y no significativas, respectivamente. Para cada columna, letras iguales indican que no existen diferencias significativas al 95% según el test de Duncan. Las interacciones que no aparecen no son significativas para los parámetros estudiados en la tabla.

La bibliografía señala que el patrón citrange Carrizo induce una más temprana madurez de cosecha en los frutos con respecto a mandarino Cleopatra (Conesa, 1999; Forner-Giner y col., 2003; García-Sánchez y col., 2003). Esto es debido a que mandarino Cleopatra es un patrón con alta conductividad hidráulica, con lo que se produce una mayor dilución de los sólidos solubles totales y de la acidez en el fruto (Castle y Krezdorn, 1977; Davies y Albrigo, 1994). Es posible que el estrés hídrico que presentaron los árboles sobre citrange Carrizo en el mes de noviembre del segundo año de cosecha (Tabla 4.21) motivara un cierto retraso en la maduración de los frutos en la cosecha de 2006. Sin embargo, en el momento de la recolección los frutos sobre ambos patrones presentaron valores de IM superior a 10 (Tabla 4.44), lo que indica un estado de maduración óptimo de los mismos.

En cuanto al efecto de la salinidad sobre los niveles de SST, acidez total e IM en los frutos, cabe señalar un efecto diferente según el año de cosecha y el patrón empleado. Así, en la cosecha de 2005, la salinidad aumentó significativamente los niveles de SST y acidez total en los frutos de ambas combinaciones, si bien, el aumento en los niveles de sólidos solubles fue mayor en los frutos injertados sobre mandarino Cleopatra (Tabla 4.44). Se puede decir por tanto, que en este año de cosecha, los árboles sobre citrange Carrizo produjeron, en condiciones de salinidad, los frutos de mejor calidad comercial si se considera que los frutos que presentan los mayores contenidos de SST y acidez, se corresponden con los de mayor calidad de la fruta.

Este aumento global de los niveles de SST y acidez con la salinidad ha sido también observado por Bielewicz y col. (1978) en ensayos sobre pomelo Marsh seedless injertado sobre naranjo amargo, por Cerdá y col. (1986) en limón Verna sobre Cleopatra y por Dasberg (1991) en ensayos sobre naranja Shamouti.

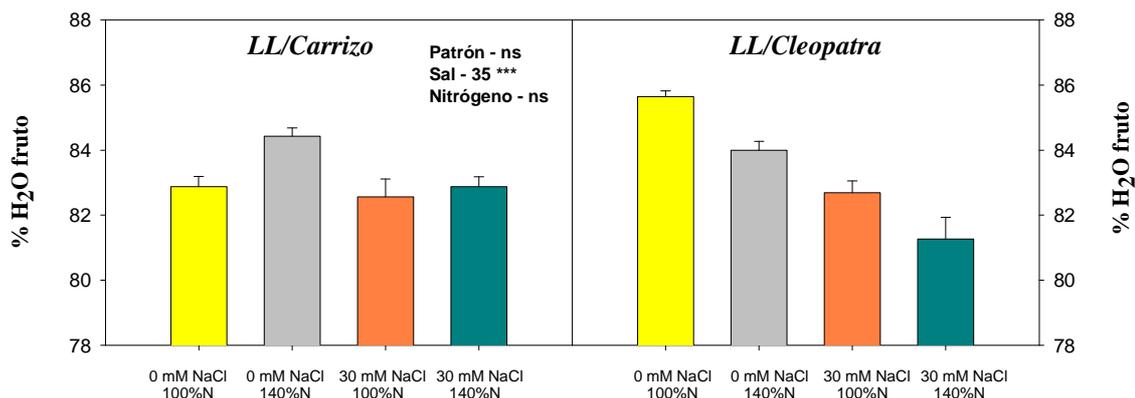


Figura 4.59. Porcentaje de agua del fruto en los diferentes tratamientos y combinaciones en el mes de marzo de 2005. Cada valor corresponde a la media de 9 árboles por tratamiento \pm ES.

El aumento de la concentración de sólidos solubles y acidez por efecto de la salinidad pudo deberse tanto a la síntesis de *novo* de osmolitos en el proceso de ajuste osmótico que se produce en los frutos por efecto de la salinidad (Hasegawa y col., 2000; García y col., 2002), como a un efecto de concentración en los frutos de los árboles sobre mandarina Cleopatra, ya que el porcentaje de agua de estos frutos fue menor (Figura 4.59).

Por otro lado, el mayor aumento de los niveles de acidez en el zumo con respecto a los SST debido a la salinidad, produjo en el año 2005, un retraso en la maduración de los frutos obtenidos en ambas combinaciones (Tabla 4.44). Resultados similares fueron obtenidos por Francois y Clark (1980) y Nieves y col. (1991a).

En cuanto a la cosecha de 2006, si bien la salinidad aumentó significativamente los niveles de SST y acidez total en los frutos de los árboles sobre mandarina Cleopatra, en los frutos de citrange Carrizo se produjo el efecto contrario (Tabla 4.44). Este hecho se debió probablemente a que el estrés hídrico que presentaron los árboles sobre Carrizo durante la fase III (Tabla 4.21) produjo, en los tratamientos no salinos, un aumento de los SST y de la acidez total, lo cual ha sido observado por diversos autores al aplicar un estrés hídrico en la fase III (Ginestar y Castel, 1996; González-Altozano y Castel, 2003).

El suplemento extra de nitrógeno tuvo un efecto diferente sobre la calidad interna del fruto en función del año de cosecha y del patrón empleado. Así, en la

cosecha de 2005, los árboles de ambas combinaciones sometidos a un suplemento nitrogenado extra produjeron frutos con mayores contenidos en SST y un índice de madurez ligeramente más elevado con respecto a los tratamientos no nitrogenados (Tabla 4.44). Nath y Mohan (1995), Sleem (2002) y Zaied y col. (2006) en ensayos sobre limón Assam y Washington Navel respectivamente, encontraron que aumentando la dosis de nitrógeno aplicado se incrementaban los valores de SST e índice de madurez, al mismo tiempo que se producía una disminución de la acidez total.

En la cosecha de 2006, los árboles sobre citrange Carrizo de los tratamientos nitrogenados produjeron frutos con menores niveles de SST y acidez total que aquellos de tratamientos no nitrogenados, sin que el índice de madurez presentara diferencias significativas (Tabla 4.44). En los árboles sobre mandarino Cleopatra, la fertilización nitrogenada extra no tuvo un efecto significativo importante en el año de 2006 (Tabla 4.44).

Finalmente, los frutos de los tratamientos S+N presentaron valores similares de SST, acidez total e índice de madurez que los frutos obtenidos en los tratamientos salinos sin nitrógeno (Tabla 4.44).

4.2.10.5. *Contenido en vitamina C*

Se determinó el contenido en ácido L-ascórbico (AA) en el zumo de los frutos y su evolución a lo largo del periodo de la primera cosecha (noviembre de 2004 a marzo de 2005).

Los valores de vitamina C observados a lo largo del período considerado, tanto en los tratamientos no salinos como salinos fluctuaron entre 24 y 71 mg ácido ascórbico/100 mL y entre 44 y 85 mg ácido ascórbico/100 mL respectivamente (Figura 4.60). En ambos tratamientos, y con independencia del patrón empleado, se produjo un incremento de los niveles de AA en el fruto paralelamente al aumento del índice de madurez de los frutos (Figura 4.60).

Tabla 4.45. *Influencia de los distintos tratamientos aplicados sobre el contenido de ácido L-ascórbico del fruto en naranjo Lane late en el mes de marzo de 2005.*

Factores principales		Vitamina C (mg/100 ml zumo) marzo 2005
Patrón	Carrizo	71.9
	Cleopatra	76.5
Salinidad	0 mM NaCl	68.4
	30 mM NaCl	80.1
Nitrógeno	100% N	73.1
	140% N	75.4
Carrizo	0 mM NaCl	65.8a
	30 mM NaCl	78.1c
Cleopatra	0 mM NaCl	70.9b
	30 mM NaCl	82.1c
0 mM NaCl	100% N	68.8a
	140% N	68.0a
30 mM NaCl	100% N	77.5b
	140% N	82.8c
Anova	Patrón	9 **
	Salinidad	60 ***
	Nitrógeno	ns
	Patrón x Sal	21 ***
	Sal x N	19 ***

, * y 'ns' indican diferencias significativas a $P < 0.01$, $P < 0.001$ y no significativas, respectivamente. Para cada columna, letras iguales indican que no existen diferencias significativas al 95% según el test de Duncan. Las interacciones que no aparecen no son significativas para los parámetros estudiados en la tabla.

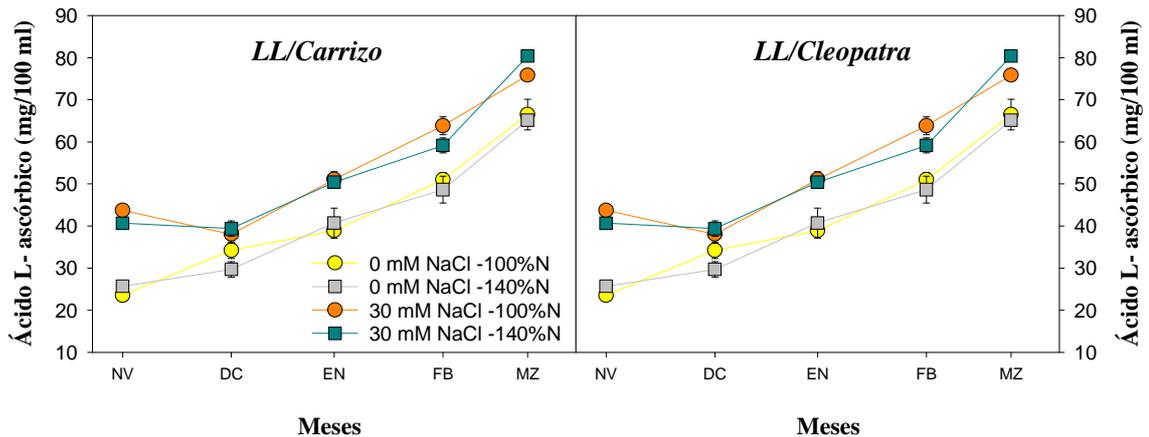


Figura 4.60. Evolución de los niveles ácido L-ascórbico en frutos de Lane late para los distintos tratamientos y combinaciones desde noviembre 2004 hasta marzo 2005. Cada valor corresponde a la media de 6 frutos por tratamiento \pm ES.

Los frutos de mandarina Cleopatra presentaron en la cosecha de 2005, independientemente del tratamiento aplicado, mayores niveles de AA que aquellos frutos de citrange Carrizo (Tabla 4.45). En cualquier caso, los valores de AA obtenidos en los frutos de ambos patrones estuvieron dentro de los valores típicos descritos por Pennisi (1985) para distintas especies de cítricos.

Por otra parte, los frutos de los tratamientos salinos presentaron, en ambos patrones, un incremento significativo en la concentración de AA con respecto a aquellos frutos de tratamientos no salinos (Tabla 4.45), mejorando por tanto la salinidad el valor nutricional de los frutos. Este incremento de los niveles de AA en el fruto por la salinidad ha sido también observado con anterioridad por Krauss y col. (2006) en ensayos sobre tomate y por Serio y col. (2004) en ensayos sobre posidonia. Este incremento no puede ser atribuido a un efecto de concentración. Una posible causa sería la activación por la salinidad de mecanismos metabólicos específicos inducidos, los cuales originan un aumento en el metabolismo de antioxidantes (Serio y col., 2004; Krauss y col., 2006), en particular de rutas metabólicas que implican ascorbato, glutatión y tocoferol (Serio y col., 2004). Tal incremento se considera como una de las estrategias comunes de defensa activadas por las plantas para mantener niveles bajos de las especies reactivas de oxígeno (Smirnov, 2000; Serio y col., 2004).

Finalmente, no se observó un efecto significativo del aporte extra de nitrógeno sobre los niveles de ácido L-ascórbico en el fruto (Tabla 4.45). Esta ausencia de

interacción entre la fertilización nitrogenada y los niveles de ácido L-ascórbico en el fruto ha sido señalada también por Karlidag y Ertan (2007) en cultivo de fresa. Por otra parte, Nagy (1980) observó en ensayos realizados sobre diversas especies de cítricos que altas dosis de fertilizante nitrogenado provocaban un descenso en los niveles de AA en el zumo de la fruta, lo cual podría ser debido a que el incremento del desarrollo foliar que conlleva este suplemento nitrogenado produjese una reducción de la cantidad de luz que incide sobre el fruto, afectando a los procesos metabólicos que conllevan la formación del ácido ascórbico (Lee y Kader, 2000). En cualquier caso, estas discrepancias observadas en la respuesta de los cultivos a la fertilización nitrogenada podrían explicarse por las diferencias en las condiciones de crecimiento en las que se llevaron a cabo los ensayos.

4.2.10.6. Contenido mineral del zumo

Los frutos obtenidos en ambas cosechas presentaron, independientemente del tratamiento aplicado, una concentración mineral en el zumo bastante más elevada que en las hojas. Esto se debe al hecho de que los frutos son fuertes sumideros de los nutrientes minerales.

Los árboles sobre el patrón citrange Carrizo produjeron, en ambas cosechas, los frutos con mayores concentraciones de cloruro y potasio en el zumo con respecto a los frutos de los árboles injertados sobre mandarino Cleopatra (Tabla 4.46), no observándose efecto significativo del patrón sobre las concentraciones de sodio, magnesio y calcio en el zumo.

En cuanto al efecto de la salinidad sobre la acumulación de elementos minerales en el zumo del fruto, este dependió del elemento mineral, del patrón empleado y del año de cosecha. En general, la salinidad aumentó la concentración de todos los elementos minerales estudiados. Esto se debió posiblemente a un efecto de acumulación de solutos para conseguir el ajuste osmótico de los frutos, tal y como se observa en la tabla 4.47.

Tabla 4.46. Influencia de los distintos tratamientos aplicados sobre la concentración mineral en zumo de frutos de naranjo Lane late injertado sobre citrange Carrizo y mandarino Cleopatra en los meses de marzo de 2005 y 2006.

Factores Principales		2005					2006				
		% Cl ⁻	% Na ⁺	% K ⁺	% Mg ²⁺	% Ca ²⁺	% Cl ⁻	% Na ⁺	% K ⁺	% Mg ²⁺	% Ca ²⁺
Patrón	Carrizo	150.2	3.3	1734.0	112.4	66.7	220.0	5.1	1558.2	96.0	56.5
	Cleopatra	67.9	2.3	1541.7	109.4	66.8	83.3	5.5	1412.4	96.8	27.9
Salinidad	0 mM NaCl	64.8	0.0	1479.5	102.4	61.5	90.0	0.3	1434.6	98.1	34.2
	30 mM NaCl	153.4	5.6	1796.1	119.1	72.1	213.3	10.3	1535.9	94.7	50.3
Nitrógeno	100% N	109.7	3.2	1711.8	111.8	68.1	144.8	5.3	1518.0	98.9	44.8
	140% N	108.5	2.5	1563.8	109.6	65.5	158.5	5.4	1452.6	93.9	39.6
Carrizo	0 mM NaCl	84.6b	0.0a	1622.2b	105.1a	63.5a	134.7b	0.0a	1462.0a	99.3	49.4c
	30 mM NaCl	215.8c	6.6b	1845.7c	119.8b	70.0b	305.3c	10.2b	1654.4b	92.7	63.6d
Cleopatra	0 mM NaCl	44.9a	0.0a	1336.9a	99.7a	49.4a	45.3a	0.5a	1407.3a	96.8	18.9a
	30 mM NaCl	91.0b	4.7b	1746.5c	118.4b	74.2b	121.3b	10.5b	1417.5a	96.8	37.0b
Carrizo	100% N	160.5	5.0	1819.9b	114.9	68.2	218.9	6.1	1597.6b	98.2	56.7c
	140% N	139.9	1.5	1648.1ab	109.9	65.3	221.1	4.1	1518.7bc	93.8	56.3c
Cleopatra	100% N	58.9	1.3	1603.7a	108.7	68.0	70.7	4.4	1438.3ab	99.6	32.9b
	140% N	77.0	3.4	1479.6a	109.4	65.6	95.9	6.6	1386.5a	94.0	23.0a
0 mM NaCl	100% N	63.8	0.0	1557.0b	106.0b	64.1	93.8	0.5	1452.4	99.2	34.6a
	140% N	65.8	0.0	1402.1a	98.8a	58.8	86.3	0.0	1416.9	96.9	33.7a
30 mM NaCl	100% N	155.6	6.4	1866.6d	117.7c	72.1	195.9	10.0	1583.6	98.6	55.0b
	140% N	151.2	4.9	1725.6c	120.5c	72.1	230.8	10.7	1488.3	90.9	45.5ab
Anova	Patrón	67 ***	ns	26 ***	ns	ns	187 ***	ns	19 ***	ns	225 ***
	Salinidad	78 ***	56 ***	71 ***	48 ***	31 ***	152 ***	90 ***	7 **	ns	71 ***
	Nitrógeno	ns	ns	15 ***	ns	ns	ns	ns	ns	6 *	7 **
	Patrón x Sal	92 ***	20 ***	28 ***	17 ***	13 ***	225 ***	30 ***	14 ***	ns	87 ***
	Patrón x N	ns	ns	5 **	ns	ns	ns	ns	7 ***	ns	32 ***
	Sal x N	ns	ns	18 ***	19 ***	ns	ns	ns	ns	ns	5 **

*, **, *** y 'ns' indican diferencias significativas a P<0.05, P<0.01, P<0.001 y no significativas, respectivamente. Para cada columna, letras iguales indican que no existen diferencias significativas al 95% según el test de Duncan. Las interacciones que no aparecen no son significativas para los parámetros estudiados en la tabla.

Los frutos de citrange Carrizo procedentes de árboles regados con aguas salinas presentaron en ambas cosechas niveles de cloruro aproximadamente el doble que los frutos de mandarina Cleopatra (Tabla 4.46), volviéndose a poner de manifiesto el carácter excluidor del ión cloruro del patrón mandarina Cleopatra. En este sentido, se encontró en ambas cosechas una elevada correlación entre la concentración del ión cloruro en hoja y zumo ($r = 0.80$, $P < 0.001$ y $r = 0.86$, $P < 0.001$ en 2005 y 2006 respectivamente). Esto sugiere que la determinación de Cl^- en zumo puede ser una buena herramienta para determinar las propiedades de exclusión de los iones salinos en los distintos patrones de cítricos (Levy y Shalhevet, 1990; García-Sánchez y col., 2003).

Tabla 4.47. Efecto del patrón y del tratamiento sobre el potencial osmótico (Ψ_π) del zumo en naranjo Lane late en los meses de marzo de 2005 y 2006.

Factores Principales		Ψ_π (MPa)	
		2005	2006
Patrón	Carrizo	-1.80	-1.54
	Cleopatra	-1.70	-1.44
Salinidad	0 mM NaCl	-1.57	-1.47
	30 mM NaCl	-1.93	-1.51
Nitrógeno	100% N	-1.77	-1.50
	140% N	-1.73	-1.48
Carrizo	0 mM NaCl	-1.70b	-1.61c
	30 mM NaCl	-1.90a	-1.48b
Cleopatra	0 mM NaCl	-1.45c	-1.34c
	30 mM NaCl	-1.95a	-1.53ab
Carrizo	100% N	-1.87a	-1.59a
	140% N	-1.74ab	-1.49b
Cleopatra	100% N	-1.68b	-1.41b
	140% N	-1.72ab	-1.47b
Anova	Patrón	11 **	15 ***
	Salinidad	145 ***	ns
	Nitrógeno	ns	ns
	Patrón x Sal	25 ***	36 ***
	Patrón x N	9 **	9 **

, * y 'ns' indican diferencias significativas a $P < 0.01$, $P < 0.001$ y no significativas, respectivamente. Para cada columna, letras iguales indican que no existen diferencias significativas al 95% según el test de Duncan. Las interacciones que no aparecen no son significativas para los parámetros estudiados en la tabla.

La acumulación de sodio en el zumo por efecto de la salinidad fue, similar en ambos patrones (Tabla 4.46).

Se observó también, en general, un incremento significativo de los niveles de K^+ y Ca^{2+} en el zumo por la salinidad en ambos años de cosecha (Tabla 4.46). Este incremento de la concentración de K^+ en el zumo del fruto por la salinidad ha sido también señalado por García-Sánchez y col. (2003) en ensayos sobre pomelo Star Ruby.

Finalmente, si bien en las hojas se observó un cierto efecto antagonista de los nitratos sobre la acumulación de cloruro en hojas (Tablas 4.17 y 4.18), en el fruto no se observó un efecto significativo del aporte extra de nitrógeno sobre la concentración de cloruro en el zumo (Tabla 4.46).



5. CONCLUSIONES

5.1. EXPERIMENTO DE INVERNADERO

1. Bajo los diferentes niveles de salinidad aplicados se observa que los patrones citrange Carrizo y mandarino Cleopatra absorben cantidades similares de Cl^- en raíz. Sin embargo, mientras Cleopatra es capaz de limitar el transporte del mismo hacia las hojas, Carrizo no presenta este mecanismo por lo que acumula grandes cantidades de Cl^- en el tallo y principalmente en la hoja.
2. El patrón citrange Carrizo se comportó como excluidor de Na^+ a través de su acumulación mayoritaria en la raíz y en menor medida en el tallo del patrón. Por el contrario, el Na^+ absorbido por las raíces de Cleopatra es transportado hasta la parte aérea.
3. Carrizo absorbe y transporta Cl^- a la parte aérea más rápidamente que Cleopatra, mientras que éste absorbe Na^+ más lentamente que Carrizo, pero lo transporta más rápidamente. La parte aérea de Carrizo absorbe Cl^- más rápidamente que Cleopatra y lo contrario ocurre con la absorción de Na^+ . Esto produce una mayor alocaión de Cl^- en hojas de Carrizo y de Na^+ en hojas de Cleopatra. Por otra parte, la variedad Lane late limitó más el transporte tanto de Cl^- como de Na^+ hacia la parte aérea cuando estaba injertado sobre Carrizo que cuando el patrón era Cleopatra.
4. Bajo las condiciones de salinidad impuestas, todas las combinaciones ensayadas consiguen, independientemente de su tolerancia a la salinidad, ajustarse osmóticamente, manteniendo valores adecuados de turgencia en hoja.
5. Los parámetros de intercambio gaseoso son mayores en Carrizo que en Cleopatra y la variedad Lane late sobre Carrizo disminuye estos parámetros respecto al patrón.
6. La salinidad reduce la fotosíntesis, transpiración y conductancia estomática en todas las combinaciones ensayadas, independientemente de la tolerancia del patrón a la salinidad. El descenso de la asimilación de CO_2 estuvo correlacionado, entre otros factores, con la acumulación foliar de sodio. No se observó correlación significativa entre los valores de A y el contenido de Cl^- en hoja.

Se observa también que la variedad Lane late, si bien reduce los valores globales de *A* en las combinaciones Lane late/citrango Carrizo con respecto a las plantas de Carrizo, consiguió aumentar la tolerancia a la salinidad del aparato fotosintético de las plantas de Carrizo en la parte final del ensayo.



5.2. EXPERIMENTO DE CAMPO

1. En las condiciones edafoclimáticas de la zona del campo de Cartagena, y con independencia del tratamiento aplicado, se confirma la marcada diferencia existente entre los patrones mandarino Cleopatra y citrange Carrizo en su capacidad de restringir el transporte de Cl^- hacia la parte aérea de los árboles. A pesar de que el patrón citrange Carrizo ha sido señalado como un buen excluidor de Na^+ , en las condiciones en que se llevó a cabo el ensayo no se puso de manifiesto el marcado efecto del patrón Carrizo restringiendo el transporte de Na^+ hasta la parte aérea.
2. El tratamiento S+N (30 mM NaCl + 140% N) consigue disminuir ligeramente los niveles de Cl^- en hojas y raíces de Lane late/citrangle Carrizo con respecto a los tratamientos S (30 mM NaCl + 100% N), pero sin llegar a ser este efecto significativo. La aplicación extra de NH_4NO_3 a la solución salina no tuvo, en general, efecto significativo sobre la concentración de Na^+ en hojas.
3. Los árboles de ambas combinaciones, alcanzaron en los tratamientos salinos valores de potencial hídrico del xilema inferiores a -1 MPa, valores establecidos como normales para cítricos bien regados.
4. Los árboles de ambas combinaciones regados con 30 mM NaCl consiguen ajustarse osmóticamente ya que la reducción del potencial osmótico logra que el potencial de turgor aumente bajo estas condiciones. La disminución del potencial osmótico responsable de este ajuste fue debida a la acumulación de iones Na^+ y Cl^- en hoja y en menor medida a la síntesis de solutos orgánicos.
5. La fertilización nitrogenada, reduce ligeramente los valores de Ψ_x en hoja de la combinación Lane late/citrangle Carrizo con respecto a los tratamientos sin nitrógeno. Sin embargo, la fertilización nitrogenada extra no tuvo efecto sobre el Ψ_π en las hojas.
6. Los parámetros de intercambio gaseoso se reducen bajo condiciones de salinidad en mayor grado en los árboles injertados sobre citrange Carrizo que en los del patrón mandarino Cleopatra. La reducción de la tasa neta de asimilación de CO_2 no vino determinada por limitaciones en la difusión de CO_2 a los cloroplastos, estando

determinada esta reducción principalmente por factores no estomáticos asociados principalmente a la acumulación de sodio en las hojas.

7. El efecto de la fertilización nitrogenada sobre los parámetros de intercambio gaseoso estudiados parece estar más determinado por el contenido de nitrógeno en hoja que por la disponibilidad de nitrógeno para los árboles.
8. La aplicación durante dos años de 30 mM NaCl provocó un descenso generalizado de la eficiencia fotoquímica del fotosistema II, dada por la relación F_v/F_m , siendo éste efecto más acusado en los árboles sobre patrón citrange Carrizo que en aquellos sobre mandarina Cleopatra. Esta disminución de la relación F_v/F_m vino dada por un incremento de la fluorescencia mínima (F_0), lo que indica un cierto grado de inactivación de los centros de reacción del fotosistema II.
9. La eficiencia fotoquímica máxima del fotosistema II, en las condiciones ensayadas, tampoco estuvo determinada por la disponibilidad de nitrógeno para los árboles.
10. La salinidad disminuye ligeramente las concentraciones de N y P fundamentalmente en hojas adultas en patrón Cleopatra mientras que en Carrizo este efecto se produce sobre todo en las hojas jóvenes. Esto indica que en condiciones salinas el patrón mandarina Cleopatra presenta mayor capacidad de movilización de N y P desde las hojas adultas a las hojas en desarrollo que citrange Carrizo. Por otra parte, los niveles de K^+ se reducen en ambos tipos de hojas y patrones, obteniéndose valores inferiores a los establecidos como normales para cítricos en la zona del campo de Cartagena.
11. El menor crecimiento observado en los árboles de la combinación Lane late/citrangle Carrizo en condiciones de salinidad provocó una producción anual y acumulada comparable a la obtenida por los árboles de la combinación Lane late/mandarina Cleopatra.
12. La fertilización nitrogenada aplicada no tiene efecto significativo sobre el comportamiento productivo. La mayoría de trabajos actuales sitúan el óptimo del abonado nitrogenado en torno a 500 grs N/árbol·año, cifra a partir de la cual no es razonable esperar respuestas positivas en la producción.

La dosis aplicada en nuestro trabajo fue de 478 grs N/árbol·año, lo que explica la falta de respuesta productiva obtenida con el abonado nitrogenado suplementario, ya que este eleva la dosis suministrada a 672 grs N/árbol·año.

13. Los frutos obtenidos de los árboles injertados sobre Carrizo son en general de mayor calidad comercial que aquellos sobre mandarina Cleopatra, presentando, en general frutos de un mayor tamaño, menor índice de espesor de corteza y mayor porcentaje de zumo que aquellos sobre mandarina Cleopatra. Por otra parte, analizados los distintos parámetros calidad interna del fruto, citrange Carrizo produce frutos con mayores contenidos de sólidos solubles totales. Cleopatra presenta por el contrario frutos con un mayor contenido de vitamina C y mayor índice de color externo. En cualquier caso, los frutos sobre ambos patrones presentaron en ambas cosechas índices de color externo superiores a 10, color naranja muy intenso según los estándares de color establecidos para cítricos.
14. La salinidad altera la calidad de los frutos obtenidos sobre ambos patrones, ya que al descenso del índice de espesor de corteza se suma un incremento en el porcentaje de zumo y de los niveles de SST, acidez y vitamina C. La maduración de los frutos de los tratamientos salinos experimenta un ligero retraso respecto a los controles, lo que se puede ser un factor interesante en variedades de maduración tardía como Lane Late. El índice de color externo de los frutos se reduce por efecto de la sal, que aún así siguen manteniéndose valores superiores a 10.
15. El efecto de la fertilización nitrogenada sobre la calidad de los frutos depende del patrón. En general consigue mejorar ligeramente la calidad comercial de los frutos obtenidos sobre mandarina Cleopatra, aumentando el porcentaje de zumo y los niveles de sólidos solubles totales. Sin embargo, en los frutos sobre citrange Carrizo produce un descenso del porcentaje de zumo y de los niveles de sólidos solubles totales y de la acidez total.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Abdelgadir, E.M, Oka, M. y Fujiyama, H. (2004).** Nitrogen nutrition of rice plants under salinity. *Biologia Plantarum*, 49: 99-104.
- Adams, W.W., Demmig-Adams, B., Winter, K. y Schreiber, U. (1990).** The ratio of variable to maximum chlorophyll fluorescence from photosystem II, measured in leaves at ambient temperature and at 77K, as an indicator of the photon yield of photosynthesis. *Planta*, 180: 166-174.
- Ahmad, N. (1978).** PhD thesis. University of Welles, Cardiff.
- Ali, Y., Aslam, Z., Ashraf, M.Y., y Tahir, G.R. (2004).** Effect of salinity on chlorophyll concentration, leaf area, yield and yield components of rice genotypes grown under saline environment. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 1(3): 221-225.
- Anderson, J.M., Park, Y.I. y Chow, W.S. (1997).** Photoinactivation and photoprotection of photosystem II in the nature. *Physiologia Plantarum*, 100: 214-223.
- Ali-Dinar, H.M., Ebert, G. y Lüdders, P. (1999).** Growth, chlorophyll content, photosynthesis and water relations in guava (*Psidium guajava* L.) under salinity and different nitrogen supply. *Gartenbauwissenschaft*, 64: 54-59.
- Allison, L., Brown, J. y Hayward, H. (1954).** Diagnóstico y rehabilitación de suelos salinos y sódicos. México. A.I.D, 172.
- Altman, A. (1973).** Passive and active components of chloride absorption in the bark and the wood of citrus roots. *Physiologia Plantarum*, 29: 163-168.
- Alva, A.K. y Syvertsen, J.P. (1991).** Soil and citrus tree nutrition are affected by salinized irrigation water. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 104: 135-138.
- Alva, A.K., Paramasivam, S., Obreza, T.A. y Schumann, A.W. (2006).** Nitrogen best management practice for citrus trees I. Fruit yield, quality, and leaf nutritional status. *Scientia Horticulturae*, 107: 233-244.
- Andrade, J.L., Larqué-Saavedra, A. y Trejo, C. (1995).** Proline accumulation in leaves of four cultivars of *Phaseolus vulgaris* (L.) with different drought resistance. *Journal of Experimental Botany*, 57: 149-157.
- Anjum, M.A. (2008).** Effect of NaCl concentrations in irrigation water on growth and polyamine metabolism in two citrus rootstocks with different levels of salinity tolerance. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30: 43-52.
- Ashraf, M. (1993).** Effect of sodium chloride on water relations and some organic osmotica in arid zone plant species *Melilotus indica* (L.) All. *Tropenlandwirt*, 94: 95-102.

- Ashraf, M. y Foolad, M.R. (2007).** Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*, 59(2): 206-212.
- Ayers, R.S. y Westcot, D.W. (1987).** La calidad del agua en la agricultura. Estudio FAO Riego y Drenaje n° 29, Revisión. 1 FAO. Roma.
- Bañuls, J., Legaz, F., y Primo-Millo, E. (1990).** Effect of salinity on uptake and distribution of chloride and sodium in some citrus scion-rootstock combinations. *Journal of Horticultural Science*, 65(6): 715-724.
- Bañuls J., Legaz, F. y Primo-Millo, E. (1991).** Salinity-calcium interactions on growth and ionic concentration of citrus plants. *Plant Soil*, 133: 39-46.
- Bañuls, J., y Primo-Millo, E. (1992).** Effects of chloride and sodium on gas exchange parameters and water relations of citrus plants. *Physiologia Plantarum*, 86: 115-123.
- Bañuls, J. y Primo-Millo, E. (1995).** Effects of salinity on some citrus scion-rootstock combinations. *Annals of Botany*, 76: 97-102.
- Bañuls, J., Serna, M.D., Legaz, F., Talón, M., y Primo-Millo, E. (1997).** Growth and gas exchange parameters of citrus plants stressed with different salts. *Journal of Plant Physiology*, 150: 194-199.
- Bar, Y., Apelbaum, A., Kafkafi, U. y Goren, R. (1997).** Relationship between chloride and nitrate and its effect on growth and mineral composition of avocado and citrus plants. *Journal of Plant Nutrition*, 20: 715-731.
- Bárceñas-Abogado, P., Tijerina-Chávez, L., Martínez-Garza, A., Becerril-Román, A.E., Larqué-Saavedra, A. y Colinas de León, M.T. (2002).** Respuesta de tres materiales del género *Hylocereus* a la salinidad sulfático-clorhídrica. *Terra*, 20(2): 123-127.
- Bates, L.S., Waldren, R.P. y Teare, L.D. (1973).** Rapid determination of the free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39: 205-208.
- Behboudian, M.H., Torökfalvy, E., y Walker, R.R. (1986).** Effects of salinity on ionic content, water relations and gas exchange parameters in some citrus scion-rootstock combinations. *Scientia Horticulturae*, 28: 105-116.
- Bernstein, L., Francois, L.E. y Clark, R.A. (1974).** Interactive effects of salinity and fertility on yields of grains and vegetables. *Agronomy Journal*, 66: 412-421.
- Biddulph, O. (1961).** The translocation of minerals in plant. En: E. Truog (Ed.) Mineral nutrition of plants. The University of Wisconsin Press. USA, 261-275.
- Bielorai, H., Shalhevet, Y. y Levy, Y. (1978).** Grapefruit response to variable salinity in irrigation water and soil. *Irrigation Science*, 1: 61-70.
- Bielorai, H., Dasberg, Y., Erner, Y. y Brum, M. (1988).** The effect of saline irrigation water on Shamouti orange production. *Proceedings of the Sixth International Citrus Congress*, Tel-Aviv (Israel), 2: 707-715.

- Bingham, F.T., Mahler, R.J., Parra, J. y Stolzy L.H. (1974).** Long-term effects of irrigation-salinity management on a Valencia orange orchard. *Soil Science*, 117: 369-377.
- Björkman, O. y Demmig, B. (1986).** Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescent characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta*, 170: 489-504.
- Bleda, F.J., Madrid Vicente, R., García-Lidón, A., Mateo Bernal, I., Gómez López, P., y Porras Castillo, I. (2001).** Fluorescencia de clorofila in vivo en patrones de cítricos y sus combinaciones bajo condiciones de estrés salino. *Información técnica económica agraria*, 97: 52-59.
- Blondel, L.V. (1974).** Influence des porte-greffe sur la qualité des fruits de citrus. *Fruits*, 29(4): 85-290.
- Boman, B.J. (2004).** Effects of salinity on 'Valencia' orange in a humid climate. *Proceedings of the International Society of Citriculture*, 2: 626-633.
- Bondada, B. y Syvertsen, J.P. (2003).** Leaf chlorophyll, net gas exchange and chloroplast ultrastructure in citrus leaves of different nitrogen status. *Tree Physiology*, 23: 553-559.
- Bongi, G. y Loreto, F. (1989).** Gas-exchange properties of Salt-stressed olive (*Olea europaea* L.) leaves. *Plant Physiology*, 90: 1408-1416.
- Borras, R., Tadeo, J.L. y Primo-Millo, E. (1984).** Seasonal carbohydrate changes in two sweet orange varieties of the Navel group. *Scientia Horticulturae*, 24: 143-149.
- Botella M.A., Martínez V., Pardines, J. y Cerdá A. (1997).** Salinity induced potassium deficiency in maize plants. *Journal of Plant Physiology*, 150: 200-205.
- Boyer, J.S. (1976).** Water deficits and photosynthesis. En: *Water Deficits and Plant Growth*, Vol. 4, T.T. Kozlowski (ed.), Academic Press, N.Y., 153-190.
- Breedt, H.J., Koekemoer, P.J.J. y Snyman, J.C. (1996).** Evaluation of rootstocks for grapefruit in South Africa. International Citrus Congress (8th: 1996: Sun City, South Africa), Sun City, South Africa, *International Society of Citriculture*, 1: 164-166.
- Bresler, E., McNeal, B.L. y Carter, D.L. (1982).** Saline and sodic soils: Principles-Dynamics-Modeling. Springer-Verlag, Berlín Heidelberg New York, 236.
- Brugnoli, E. y Lauteri, M. (1991).** Effects of salinity on stomatal conductance, photosynthetic capacity, and carbon isotope discrimination of salt-tolerant (*Gossypium hirsutum* L.) and salt-sensitive (*Phaseolus vulgaris* L.) C₃ non-halophytes. En: *Plant Physiology*, 95: 628-635.
- Butler, W.L. (1978).** Energy Distribution in the Photochemical. Apparatus of Photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology*, 29: 345-378.
- Butler, W.L. y Kitajima, M. (1975).** Fluorescence quenching in photosystem II of chloroplasts. *Biochim Biophys Acta*, 376:116-125.

- Cadahía, C., Segura, M.L. y Massaguer, A. (2005).** Fertirrigación de cultivos hortícolas. En: Carlos Cadahía. *Fertirrigación. Cultivos hortícolas, frutales y ornamentales*, 357-427.
- Caliandro, A., Cantore, V. y Musacchi, S. (2000).** Applicazione di acque salmastre su colture ortofrutticole in Italia. *Frutticoltura*, 7/8: 26-36.
- Calvert, D.V. (1970).** Response of temple orange to varying rates of nitrogen potassium and magnesium. *Proceedings of Florida State Horticultural Society*, 83: 10-15.
- Cánovas, J. (1986).** Calidad agronómica de las agua para riego. Ministerio de agricultura, pesca y alimentación. Madrid.
- Carlos, E.F. y Donadio, L.C. (1996).** Interstocks between `Pera` sweet orange and Rangpur Lime. *Proceedings of the International Society of Citriculture*, 1: 221-224.
- Carrasco, A. (1991).** Salinidad y calidad de aguas. En: Universidad de Chile. Manejo de suelos en huertos frutales. Santiago, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, 219-245. (*Publicaciones Misceláneas Agrícolas* N° 35).
- Carvajal, M., Martínez, V. y Alcaraz, C.F. (1999).** Physiological function of water channels as affected by salinity in roots of paprika pepper. *Physiologia Plantarum*, 105: 95-101.
- Casas, A. y Mallent, M.D. (1985).** Factores que influyen en el color de los frutos cítricos. 1ª reunión Nacional Propiedades Físico-químicas de Alimentos. Universidad Politécnica de Valencia.
- Casero, T. (1995).** La nutrición cálcica en frutales. *Fruticultura Profesional*, 71: 45-55.
- Castle, W.S. (1978).** Citrus root systems: their structure, function, growth and relationship performance. *Proceedings of the International Society of Citriculture*, 1: 62-69.
- Castle, W.S. (1987).** Citrus rootstocks. En: Rom, R.C. y R.C. Carlson (eds.). *Rootstocks for fruit crops*. John Wiley and Sons, New York. 361-369.
- Castle, W.S. (1995).** Rootstock as a fruit quality factor in citrus and deciduous tree crops. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 23: 383-394.
- Castle, W.S. y Krezdorn, A.H. (1975).** Effect of citrus rootstocks on root distribution and leaf mineral content of Orlando Tangelo trees. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 100: 1-4.
- Castle, W.S. y Krezdorn, A.H. (1977).** Soil water use and apparent root efficiencies of Citrus trees on four rootstocks. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 102: 403-406.
- Castel, J.R. y Buj, A. (1994).** Growth and evaporatranspiration of young, drip-irrigated Clementine trees. *Proceedings International Society of Citriculture*. Acireale, Italy (congress).

Castle, W.S., Tucker, D.P.H., Krezdorn, A.H. y Youtsey, C.O. (1993). Rootstocks for Florida citrus. *University of Florida Publication*, SP. 42.

Castle, W.S. y Gmitter, F.G. (1999). Rootstock and scion selection. En: Timmer, L.W. y L.W. Duncan (eds.). *Citrus health management*. University of Florida, aps Press, St. Paul, MN. 21-35.

Cerdá, A., Fernández, E.G. y Caro, M. (1977). The effects of sodium chloride in the irrigation water on the succulence of leaves of citrus rootstocks. *Anales de Edafología y Agrobiología*, 36: 393-398.

Cerdá, A., Fernández, F.G., Caro, M. y Guillén, M.G. (1979). Growth and mineral composition of two lemon varieties irrigated with saline waters. *Agrochimica*, 23: 387-396.

Cerdá, A., Caro, M., Fernández, F.G. y Guillén, M.G. (1986). Effect of irrigation water quality on Verna lemon response and soil salinity. *Agrochimica*, 30(3): 207-217.

Cerdá, A., Nieves, M. y Guillén, M.G. (1990). Salt tolerance of lemon trees as affected by rootstocks. *Irrigation Science*, 11: 245-249.

Cerezo, M.P., García-Agustín, P., Serna, M.D. y Primo-Millo, E. (1997). Kinetics of nitrate uptake by citrus seedlings and inhibitory effect of salinity. *Plant Science*, 126: 105-112.

C.E.R.M (2008). Armario Estadística de la Región de Murcia: Agricultura y Ganadería. Murcia.

Cerezo, M.P., García-Agustín y Primo-Millo, E. (1999). Influence of chloride and transpiration on net $^{15}\text{NO}_3$ uptake rate by citrus roots. *Annals of Botany*, 84:117-189.

Cermak, J. y Kucera, J. (1993). Extremely fast changes of xylem water flow in tall trees caused by atmospheric, soil and mechanic factors. En: Brochettes, J. Grace; Raschi, A. (eds.), *Water Transport in Plants under Climatic Stress*. Cambridge University Press, 181-190.

Champagnol, F. (1979). Relationships between phosphate nutrition of plants and salt toxicity. *Phosphorus in Agriculture*, 76: 35-43.

Chapman, H.D. (1968). The Mineral Nutrition of Citrus. En: W. Reuther, L.D. Batchelory H.J. Webber (Eds.). *The Citrus Industry*. Vol. II. *University of California, Division of agricultural Sciences*, 127-274.

Clausen, M., Luthen, H., Blatt, M. y Bottger, M. (1997). Auxin induced growth and its linkage to potassium channels. *Planta*, 201: 227-234.

Cohen, M. y Reitz, H. (1963). Rootstocks for Valencia orange and Ruby Red grapefruit: results of a trial initiated at Fort piece in 1950 on two soil types. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 76: 29-34.

Cohen, S. y Cohen, Y. (1983). Field studies of leaf conductance response to environmental variables in citrus. *Journal of Applied Ecology*, 20: 561-570.

- Colmer, T.D., Epstein, E. y Dvorak, J. (1995).** Differential solute regulation in leaf blades of various ages in salt-sensitive wheat and a salt-tolerant wheat x *Lophopyrum elongatum* (Host) A. Love amphiploid. *Plant Physiology*, 108: 1715–1724.
- Conesa, A. (1999).** Floración, fructificación, crecimiento y maduración de los pomelos (*Citrus paradisi maca*) Star Ruby y Río Red. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Madrid, 458.
- Cooper, W.C. (1961).** Toxicity and accumulation of salts in citrus trees on various rootstocks in Texas. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 74: 95-104.
- Cooper, W.C., Gorton, B.S. y Olson, E.O. (1952).** Ionic accumulation in citrus as influenced by rootstocks and scion and concentration of salts and boron in the substrate. *Plant Physiology*, 27: 191-203.
- Crescimanno, F., Deidda, P. y Frau, A.M. (1981).** Citrus rootstocks trial in Sardinia: Preliminary results on the performance of ten rootstocks for navel and 'Valencia' oranges and Marsh grapefruits. *Proceedings International Society of Citriculture*, 1: 119-123.
- D.O.V.G. (2006).** Condiciones mínimas de calidad para la comercialización de frutos cítricos en fresco. Orden del 4 de septiembre de 2006. *Conselleria de Agricultura, Pesca y Alimentación*. DOGV, nº 5346 de 14 de septiembre.
- Dasberg, S. (1987).** Nitrogen fertilization in citrus orchards. *Plant and Soil*, 100: 1.
- Dasberg, S., Bielorai, H. y Erner, Y. (1983).** Nitrogen fertigation of Shamouti oranges. *Plant and Soil*, 75: 41.
- Dasberg, S., Bielorai, A. Haimowitz, A. y Erner, Y. (1991).** The effect of saline irrigation water on “Shamouti “orange trees. *Irrigation Science*, 12: 205-211.
- Davies, F.S., y Albrigo, L.G. (1994).** Citrus. CAB International, Wallingford (UK), 254.
- Del Amor, F., León, A. y Torrecillas, A. (1984).** Guía práctica para el riego y la fertilización de cítricos. Obra social agrícola servicio de publicaciones de la Caja Rural Central, Sociedad *Cooperativa de Crédito Limitada* de Orihuela, 101.
- Delane, R., Greenway, H., Munns, R. y Gibbs, J. (1982).** Ion concentration and carbohydrate status of the elongating leaf tissue of *Hordeum vulgare* growing at high external NaCl. I. Relationship between solute concentration and growth. *Journal of Experimental Botany*, 33: 557-573.
- Demiral, T. y Türkan, L. (2005).** Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 53: 247-257.
- Downton, W.J.S. y Millhouse, J. (1985).** Chlorophyll fluorescence and water relations of salt stressed plants. *Plant Science Letters*, 37: 205-212.

- Dunn, D.C., Duncan, L.W., y Romeo, J.T. (1998).** Changes in arginine, PAL activity, and nematode behaviour in salinity-stressed citrus. *Phytochemistry*, 49: 413–417.
- Durán, Z.V.H., Martínez, R.A. y Aguilar R.J. (2003).** Salt tolerance of mango rootstock (*Mangifera indica* L. cv. Osteen). *Spanish Journal of Agricultural Research* 1: 67-79.
- Durón, N.L.J. (1999).** Establecimiento de huertas: En: Cítricos para el Noroeste de México. Durón N.L.J., B. Valdez G., J. H. Núñez M. y G. Martínez D. (eds). *Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias*. SAGAR. Hermosillo, Sonora. México, 21-56.
- Ebert, G., Eberle, J., Ali-Dinar, H. y Lüdders, P. (2002).** Ameliorating effects of $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ on growth, mineral uptake and photosynthesis of NaCl-stressed guava seedlings (*Psidium guajava* L.). *Scientia Horticulturae*, 93:125-135.
- Economides, C.V. (1977).** The influence of rootstocks in tree growth, yield and fruit quality of Valencia oranges in Cyprus. *Journal of Horticultural Science*, 52: 29-36.
- Economides, C.V. y Gregoriou, C. (1993).** Growth, yield and fruit quality of nucellar frost Marsh grapefruit on fifteen rootstocks in Cyprus. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 118: 326-329.
- Eilati, S., Monselise, S.P. y Budowski, P. (1969).** Seasonal development of external color and carotenoid content in the peel of ripening Shamouti orange. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 94: 346-348.
- El-Azab, E.M., Barakat, M.A., Minéis, F.A. e Ismael, A. (1974).** Effect of salt source on the nutritional status of Cleopatra mandarin and sour orange seedling. International Citrus Congress, 1973, Murcia-Valencia (Spain). *Proceedings International Society of Citriculture*, 1: 317-320.
- El-Desouki, S.A. y Atawia, J.R. (1998).** Growth performance of some citrus rootstocks under saline conditions. *Alexandria Journal of Agricultura Research*, 43: 231-254.
- Elfving, D.C., Kaufmann, M.R. y Hall, A.E. (1972).** Interpreting leaf water potential measurements with a model of the soil-plant-atmosphere continuum. *Plant Physiology*, 27: 161.
- Embleton, T.W., Reitz, H.J. y Jones, W.W. (1973).** Citrus fertilization. En: Reuther W., ed. *The Citrus Industry*, 3: 122.
- Embleton, T.W. y Jones, W.W. (1977).** Impact of research on California citrus fertilization. *Proceedings of the International Society of Citriculture*, 1: 1-5.
- Espada, J.L. (2002).** El nitrógeno en la fertilización razonada de frutales: producción, calidad de fruta y medioambiente. *Informaciones Técnicas*. D.G.T.-C.T.A., 119.
- Fainstein, R. (1997).** Análisis de suelo y succionadores. *Horticultura Internacional*.

- Feigin, A., Rylski, I., Meiri, A. y Shalhevet, J. (1987).** Response of melon and tomato plants to chloride-nitrate ratio in saline nutrient solutions. *Journal of Plant Nutrition*, 10: 1787-1794.
- Fernández-Ballester, G., García-Sánchez, F., Cerdá, A. y Martínez, V. (2003).** Tolerance of citrus rootstock seedlings to saline stress based on their ability to regulate ion uptake and transport. *Tree Physiology*, 23, 265–271.
- Fisarakis, I., Chartzoulakis, K. y Stavrakas, D. (2001).** Response of sultana vines (*V. Vinifera* L.) on six rootstocks to NaCl salinity exposure and recovery. *Agricultural Water Management*, 51: 13-27.
- Fischer, R.A. y Turner, N.C. (1978).** Plant productivity in the arid and semiarid zones. *Annual Review of Plant Physiology*, 29: 277-317.
- Flowers, J., Troke, P.F. y Yeo, A.R. (1977).** The mechanism of salt tolerance in halophytes. *Annual Review of Plant Physiology*, 28: 89-121.
- Flowers, T.J. y Yeo, A.R. (1989).** Effects of salinity on plant growth and crops yields. En: J.H. Cherry (Ed). *Environmental stress in plants*. Springer-Verlag, Berlín, Heidelberg, 101-119.
- Foguet, J.L., González, J.L., Stein, B.E. y Vinciguerra, J.L. (1987).** Ensayo de mandarinos como portainjerto para pomelo Redblush nuclear en suelo de replante. *Revista Industrial y Agrícola de Tucumán*, 64: 29-41.
- Forner, J.B. (1985).** Características de los patrones de agrios tolerantes a la tristeza. Generalitat Valenciana. Conselleria D´Agricultura I Pesca, 20.
- Forner, J.B. (1996).** Perspectivas en la utilización e patrones en citricultura. En: Ayuntamiento de Nules (Ed.), 1995. II Congreso de Citricultura de la Plana. 23-25 de marzo de 1995, Nules, Castellón. 29-41.
- Forner, J.B., Forner-Giner, M.A. y Alcaide, A. (2003).** Forner-Alcaide 5 and Forner-Alcaide 13: two new citrus rootstocks released in Spain. *HortScience*, 38(4): 629-630.
- Forner-Giner, M.A., Alcaide, A., Primo-Millo, E. y Corner, J.B. (2003).** Performance of `Navelina´ orange on 14 rootstocks in Northern Valencia (Spain). *Scientia Horticulturae*, 98: 223-232.
- Francois, L. (1984).** Salinity effects on germination, growth and yield of turnips. *HortScience*, 19: 82-84.
- Francois, L.E. y Clark, R.A. (1980).** Salinity effects on yield and fruit quality of Valencia orange. *Journal of the American Society Horticultural Science*, 105: 199-201.
- Futch, S.H. y Alva, A.K. (1994).** Effects of nitrogen rates on grapefruit production in southwest Florida. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 107: 32-34.
- Gallasch, P.T. y Dalton, G.S. (1989).** Selecting salt-tolerant citrus rootstocks. *Australian Journal of Agricultural Research*, 40: 137-144.

- García, M.R., Bernet, G.P., Puchades, J., Gómez, I., Carbonell, E.A. y Asins, M.J. (2002).** Reliable and easy screening technique for salt tolerance of citrus rootstocks under controlled environments. *Australian Journal of Agricultural Research*, 53: 653-662.
- García-Legaz, M.F., García-Lidón, A., Porrás Castillo, I. y Ortiz-Marcide, J. (1992).** Behaviour of different scion/stock combinations of lemons (*C. Limon* (L.) *Burm. F.*) against Cl^- and Na^+ ions. En: *Proceedings of the International Society of Citriculture*. Acireale, Italy, 397-399.
- García-Legaz, M.F., Ortiz, J.M., García-Lidón, A. y Cerdá, A. (1993).** Effect of salinity on growth, ion content and CO_2 assimilation rate in lemon varieties on different rootstocks. *Physiologia Plantarum*, 89: 427-433.
- García-Plazaola, J.I., Faria, T., Abadia, J., Abadia, A., Chaves, M.M. y Pereira, J.S. (1997).** Seasonal changes in xanthophyll composition and photosynthesis of cork oak (*Quercus suber* L.) leaves under Mediterranean climate. *Journal of Experimental Botany*, 48: 1667-1674.
- García-Sánchez, F. (2001).** Respuesta de los cítricos a la salinidad. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia.
- García-Sánchez, F., Carvajal, M., Porrás, I. y Martínez, V. (2002a).** Effects of salinity and rate of irrigation on yield, fruit quality and mineral composition of 'Fino 49' Lemon. *European Journal of Agronomy*, 19: 427-437.
- García-Sánchez, F., Jifón, J.L., Carvajal, M. y Syvertsen, J.P. (2002b).** Gas exchange, chlorophyll and nutrient contents in relation to Na^+ and Cl^- accumulation in 'Sunburst' mandarin grafted on different rootstocks. *Plant Science*, 162: 705-712.
- García-Sánchez, F., Carvajal, M., Cerdá, A. y Martínez, V. (2003).** Response of 'Star Ruby' grapefruit on two rootstocks to NaCl salinity. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 78(6): 859-865.
- García-Sánchez, F., Botía, P., Fernández-Ballester, G., Cerdá, A., Martínez, V. (2005).** Uptake, transport and concentration of chloride and sodium in three citrus rootstock seedlings. *Journal of Plant Nutrition*, 28: 1933-1945.
- García-Sánchez, F., Pérez-Pérez, J.G., Botía, P. y Martínez, V. (2006).** The response of young mandarin trees grown under saline conditions depends on the rootstock. *European Journal of Agronomy*, 24: 129-139.
- García-Sánchez, F. y Syvertsen, J.P. (2006).** Salinity tolerance of Cleopatra mandarin and Carrizo citrange citrus rootstock seedlings is affected by CO_2 enrichment during growth. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 131(1): 24-31.
- García-Sánchez, F., Syvertsen, J.P., Gimeno, V., Botía, P. y Pérez-Pérez, J.G. (2007).** Responses to flooding and drought stress by two citrus rootstock seedlings with different water-use efficiency. *Physiologia Plantarum*, 130(4): 532-542.

Gaxiola, R.A., Rao, R., Sherman, A., Grisafi, P., Alper, S.L. y Fink, G.R. (1999). The *Arabidopsis thaliana* proton transporters AtNHx 1 and Avp 1, can function in cation detoxification in yeast. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96: 1480-1485.

Gething, P.A. (1994). Actualidad del potasio. *Instituto Internacional de la potasa*, 3: 23-30.

Gimeno, V., Syvertsen, J.P., Nieves, M., Simón, I., Martínez, V. y García-Sánchez, F. (2009). Additional nitrogen fertilization affects salt tolerance of lemon trees on different rootstocks. *Scientia Horticulturae*, 121: 298-305.

Ginestar, C. y Castel, J.R. (1996). Responses of young clementine citrus trees to water stress during different phenological periods. *Journal of Horticultural Science*, 74(4): 551-559.

Gómez-Cadenas, A., Tadeo, F.R., Primo-millo, E. y Talón, M. (1998). Involvement of abscisic acid and ethylene in the responses of citrus seedlings to salt shock. *Physiologia plantarum*, 103: 475-484.

González-Altozano, P. y Castel, J.R. (2003). Riego deficitario controlado en 'Clementina de Nules'. II Efecto sobre el crecimiento vegetativo. *Spanish journal of Agricultural Research*, 1: 93-101.

González-Martínez, D., Melgares de Aguilar, J., Arqués, E. y Porras, I. (2007). Calidad del fruto de la clementina Marisol/ mandarina Cleopatra en cultivo ecológico. *XI Congreso Nacional de Ciencias Hortícolas*, 554-557.

González-Sicilia, E. (1960). "El cultivo de los agrios". Instituto nacional de Investigaciones Agronómicas. Madrid, 1-110.

Gorham, J., Tomar, O.S. y Jones, R.G.W. (1988). Salinity-induced changes in the chemical composition of *Leucaena leucocephala* and *Sesbania bispinosa*. *Journal of Plant Physiology*, 132: 678-684.

Graham, J.H. y Syvertsen, J.P. (1985). Host determinants of mycorrhizal dependency of citrus rootstock seedlings. *New Phytologist*, 113: 29-36.

Graifenberg, A., Giustiniani, L., Temperini, O. y Lipucci Di Paola, M. (1995). Allocation of Na, Cl, K and Ca within plant tissues in globe artichoke (*Cynara scolymus* L.) under saline-sodic conditions. *HortScience*, 63: 1-10.

Grattan, S.R. y Grieve, C.M. (1992). Mineral element acquisition and growth response of plants grown in saline environments. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 38: 275-300.

Grattan, S.R. y Grieve, C.M. (1994). Mineral nutrient acquisition and response by plants grown in saline environments. En: Pessarakli, M. (Ed.), *Handbook of Plant and Crop Stress*. Marcel Dekker, New York, 203-226.

Grattan, S.R. y Grieve, C.M. (1999). Salinity-mineral nutrient relations in horticultural crops. *Scientia Horticulturae*, 78: 127-157.

- Greenway, H. y Munns, R. (1980).** Mechanisms of salt tolerance in non-halophytes. *Annual Review of Plant Physiology*, 31: 149-190.
- Guilliam, M.G. (1971).** Rapid measurement of chloride in plant materials. *Soil Science Society of American Proceedings*, 35: 512-513.
- Hagemeyer, J. y Waisel, Y. (1989).** Influence of NaCl, Cd(NO₃)₂ and air humidity on transpiration of Tamarix aphylla. *Physiologia Plantarum*, 75: 280-284.
- Hammami, A., Ben Mimoun, M., Rezgui, S. y Hellali, R. (2009).** A new nitrogen and potassium fertilization management program for Clementine mandarin under mediterranean climate. *The Proceedings of the International Plant Nutrition Colloquium XVI*, Department of Plant Sciences, UC Davis.
- Harvey, D.M.R., Hall, J.L., Flowers, T.J. y Kent, B. (1981).** Quantitative ion localisation within Suaeda maritima leaf mesophyll cells. *Planta*, 151: 555-560.
- Hasegawa, P.M., Bressan, R.A., Zhu, J.K. y Bohnert, H.J. (2000).** Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 51: 463-499.
- Hearn, C.J. y Hutchinson, D.J. (1977).** The influence of “Robinson” and “Page” citrus hybrids on 10 rootstocks. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 90: 44-47.
- He, Z.L., Calvert, D.V., Alva, A. K., Banks, D.J. y Li, Y.C. (2003).** Thresholds of leaf nitrogen for optimum production and quality in grapefruit. *Soil Science Society of American Journal*, 67: 583-588.
- Hernández, J. (1981).** Effect of nitrogen, phosphorus and potassium on yield, fruit quality and nutritional status of Valencia late orange. *Proceedings of the International Society of Citriculture*, 2: 564.
- Hernández, J.A., Olmos, E., Corpas, F.J., Sevilla, F. y Del Rio, L.A. (1995).** Salt-induced oxidative stress in chloroplasts of pea plants. *Plant Science*, 105: 151-167.
- Horton, P., Ruban, A.V. y Walters, R.G. (1994).** Regulation of light harvesting in green plants (Indication by nonphotochemical quenching of chlorophyll fluorescence). *Plant Physiology*, 106: 415-420.
- Hsiao, T.C. (1973).** Plant Responses to Water Stress. *Annual Review of Plant Physiology*, 24: 519-570.
- Hunter, R.S. (1967).** Development of the citrus colorimeter. *Food Technology*, 21:100-105.
- Hu, Y. y Schimdhalter, U. (2005)** Drought and salinity: A comparison of their effects on mineral nutrition of plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 168: 541-549.

- Iglesias, D.J., Levy, Y., Gómez-Cadenas, A., Tadeo, F.R., Primo-Millo, E. y Talón, M. (2004).** Nitrate improves growth in salt-stressed citrus seedling through effects on photosynthetic activity and chloride accumulation. *Tree Physiology*, 24: 1027-1034.
- Intrigliolo, F., Fisichella, G., Tropea, M. y Giuffrida, A. (1993).** Influence of nitrogen nutrition on nutritional status and yield of Navelina orange. Optimization of plant nutrition, 439-444, Italy (C.F.Hort. Abst. 65 No. 11:10207).
- Iwakiri, T. y Nakahara., M. (1981).** Nitrogen fertilization programs in Satsuma mandarin groves in Japan. *Proceedings of the International Society of Citriculture*, 2: 571.
- Iyengar, E.R.R. y Reddy, M.P. (1996).** Photosynthesis in highly salt tolerant plants. En: Pesserkali, M. Ed.: *Handbook of photosynthesis*. Marshal Dekar, Baten Rose, USA, 897-909.
- Izzo, R., Navari-Izzo, F. y Quartacci, M.F. (1991).** Growth and mineral absorption in maize seedlings as affected by increasing NaCl concentrations. *Journal of Plant Nutrition*, 14: 687-699.
- Jiménez, M.S., González-Rodríguez, A.M., Morales, D., Cid, M.C., Socorro, A.R. y Caballero, M. (1997).** Evaluation of chlorophyll fluorescence as a tool salt stress detection in roses. *Photosynthetica*, 33: 291-301.
- Jiménez-Cuesta, M., Cuquerella, J. y Martínez-Jávega, J.M. (1981).** Determination of a color index for citrus fruit degreening. *Proceedings of the International Society of Citriculture*, 750-753.
- Jones, W.W., Embleton, T.W., Boswell, S.B. y Barnhart, E.L. (1970).** Nitrogen rate effect on lemon production quality and leaf nitrogen. *Journal of the American Society of Horticultural sciences*, 95: 40-49.
- Kafkafi, U. (1984).** Plant nutrition under saline conditions. En: Soil salinity under Irrigation (Eds. I. Shaingberg and J. Shalhevet), Springer-Verlag. Berlín, 319-331.
- Kafkafi, U., Valoras, N. y Letey, J. (1982).** Chloride interaction with nitrate and phosphate nutrition in tomato (*Lycopersicon esculentum* L.). *Journal of Plant Nutrition*, 5: 1369-1385.
- Kafkafi, U., Xu, G., Imas, P., Magen, H. y Tarchitzky, J. (2001).** Potassium and chloride in crops and soils: The role of potassium chloride fertilizer in crop nutrition. *IPI Research Topics*, 22: 220.
- Karlidag, H y Ertan, Y. (2007).** The effects of nitrogen fertilization on intercropped strawberry and broad bean. *Journal of Sustainable Agriculture*, 14: 61-74.
- Keller, C.P. y Volkenburg, E.V. (1996).** Osmoregulation by oat coleoptile protoplasts (Effect of auxin). *Plant Physiology*, 110: 1007-1016.
- Kent, L.M. y Laüchi, A. (1985).** Germination and seedling growth of cotton salinity-calcium interactions. *Plant, Cell and Environment*, 8: 155-159.

- Khan, M.G., Silverbush, M. y Lips, S.H. (1994).** Physiological studies on salinity and nitrogen interaction in alfalfa. II. Photosynthesis and transpiration. *Journal of Plant Nutrition*, 17: 669-682.
- Kirkby, E.A. y Pilbeam, D.J. (1984).** Calcium as a plant nutrient. *Plant, Cell and Environment*, 7: 397-405.
- Kirkpatrick, J.D. y Bitters, W.P. (1969).** Physiological and morphological response of various citrus rootstocks to salinity. En: *Proceedings of the First International Citrus Symposium*, University of California, Riverside. CA, USA, 391-399.
- Koo, R.C.J. y Reese, R.L. (1977).** Influence of nitrogen, potassium and irrigation on citrus fruit quality. En: International Citrus Congress, Riverside. *Proceedings, Riverside: International Society of Citriculture*, 34-38.
- Koo, R.C.J., Anderson, C.A., Stewart, I., Tucker, D.P., Calvert, D.V. y Wutscher, H.K. (1984).** Recommended fertilizers and nutritional sprays for citrus. *Agricultural Experimental Station*. University of Florida. Gainesville, Bulletin 536D.
- Koo, R.C.J. y Smajstrla, A.G. (1985).** Effects of trickle irrigation and fertigation on fruit production and juice quality of "Valencia" orange. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 97: 8-10.
- Krause, G.H. y Weis, E. (1984).** Chlorophyll fluorescence as a tool in plant physiology. II. Interpretation of fluorescence signal. *Photosynthesis research*, 5: 139-157.
- Krause, G.H. y Weis, E. (1988).** The photosynthetic apparatus and chlorophyll fluorescence. An introduction. Applications of Chlorophyll Fluorescence, Editors: Lichtenthaler Hk., Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. 3-11.
- Krauss, S., Schnitzler, W.H., Grassmann, J. y Woitke, M. (2006).** The influence of different electrical conductivity values in a simplified recirculating soilless system on inner and outer fruit quality characteristics of tomato. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 441-448.
- Kriedemann, P.E. (1968).** Some photosynthetic characteristics of citrus leaves. *Australian Journal of Biological Sciences*, 21: 895-905.
- Kriedemann, P.E. (1971).** Photosynthesis and transpiration as a function of gaseous diffusive resistances in orange leaves. *Physiologia Plantarum*, 24: 218-225.
- Krugh, B., Bichham, L. y Miles, D. (1994).** The solid-state chlorophyll meter, a novel instrument for rapidly and accurately determining the chlorophyll concentrations in seedling leaves. Maize genetics cooperation. *News Setter*, 68: 25-27.
- Kuznetsov, V. y Schevyakova, N. (1999).** Proline under stress: biological role, metabolism and regulation. *Russian Journal of Plant Physiology*, 46: 274-287.
- Laborem, E.G., Reyes, F. y Rangel, L. (1989).** Determinación de los factores de calidad en frutos de naranjos Valencia cosechados sobre diferentes patrones, ciclo 1983-1988. *Agronomía Tropical*, (4-6): 289-310.

- Larcher, W. (2003).** Physiological plant ecology. Ecophysiology and Stress functional groups. Fourth Edition. Ed. W. Larcher, Springer- Verlag, Berlín, SBP.
- Larcher, W., Wagner, J., y Thammathaworn, A. (1990).** Effects of superimposed temperature stress on in vivo chlorophyll fluorescence of *Vigna unguiculata* under saline stress. *Journal of Plant Physiology*, 136: 92-102.
- Läuchli, A. y Epstein, E. (1990).** Plant responses to saline and sodic conditions. En: Agricultural Salinity Assessment and Management (Tanji, K.K., ed.). *American Society of Civil Engineers*, ASCE Manual and Reports on Engineering Practice N°. 71, ASCE, New York, 113-137.
- Lea-Cox, J.D. y Syvertsen, J.P. (1993).** Salinity reduces water use and nitrate-N-use efficiency of citrus. *Annals of Botany*, 72: 47-54.
- Lea-Cox, J.D. y Syvertsen, J.P. (1996).** How nitrogen supply affects growth and nitrogen uptake, use efficiency, and loss from citrus seedlings. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 121: 105-114.
- Lee, S.K. y Kader, A.A. (2000).** Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biology and Technology*, 20: 207-220.
- Legaz, F., Barreda, D.G., Zaragoza, S. y Primo-Millo, E. (1981).** Interactions between water amounts and fertilizer applied through a drip irrigation system in Clementine and Satsuma mandarins. *Proceedings of the International Society of Citriculture*, 2: 595.
- Legaz, F., Ibáñez, D.G., Debarreda, D. y Primo-Millo, E. (1991).** Influence of irrigation and fertilization on productivity of the 'Navelate' sweet orange. *Proceedings of the International Society of Citriculture* (Tokyo), 2: 291-595.
- Legaz, F., Bañuls, J. y Primo-Millo, E. (2000).** Influencia del abonado en la calidad del fruto. *Levante Agrícola*, 39 (350): 12-18.
- Leidi, E.O., Silberbush, M., Soares, M.I.M. y Lips, S.H. (1992).** Salinity and nitrogen nutrition studies on peanut and cotton plants. *Journal of Plant Nutrition*, 15: 591-604.
- Leitsch, J., Schnettger, B., Critchley, C. y Krause, G.H. (1994).** Two mechanisms of recovery from photoinhibition in vivo: Reactivation of photosystem II related and unrelated to D1-protein turn over. *Planta*, 194: 15-21.
- Leidi, E.O. y Saiz, J.F. (1997).** Is salinity tolerance related to Na accumulation in Upland cotton (*Gossypium hirsutum*) seedlings?. *Plant and Soil*, 190: 67-75.
- Leigh, R.A., Ahmad, N. y Wyn Jones, R.G. (1981).** Assessment of glycinebetaine and proline compartmentation by analysis of isolated beet vacuoles. *Planta*, 153: 34-41.
- Levy, Y. (1980).** Effect of evaporative demand on water relations of *Citrus limon*. *Annals of Botany*, 46: 695-700.

- Levy, Y., Shalhevet, J. y Bielorai, H. (1979).** Effect of irrigation regime and water salinity on grapefruit quality. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 104: 356-359.
- Levy, Y. y Mendel, K. (1982).** Tree development, yield and fruit quality of two orange cultivars on three rootstocks in the Negew Region of Israel. *Journal of the American Society Horticultural Science*, 107: 1001-1004.
- Levy, Y. y Shalhevet, J. (1990).** Ranking the salt tolerance of citrus rootstocks by juice analysis. *Scientia Horticulturae*, 4: 89-98.
- Levy, Y., Shalhevet, J. y Lifshitz, J. (1992).** The effect of salinity on citrus rootstocks and scions. En: *Proceedings of the International Society of Citriculture*. Acireale, Italy, 391-396.
- Levy, Y. y Syvertsen, J.P. (2004).** Irrigation water quality and salinity effects in citrus trees. En: J. Janick (ed.). *Horticultural Reviews*, 30. Avi Pub., Westport, CT, 37-82.
- Lichtenthaler, H.K. y Burkart, S. (1999).** Photosynthesis and high light stress. *Bulgarian Journal Plant Physiology*, 25(3-4): 3-16.
- Litell, R.C., Milliken, G.A., Strout, W.W. y Wolfinger, R.D. (1996).** SAS System for Mixed Models, Cary NC: SAS Institute Inc, 663.
- Little, T.M. y Hills, F.J. (1976).** Métodos estadísticos para la investigación en la agricultura. Ed. Trillas, México.
- Lloyd, J., Kriedemann, P.E., y Syvertsen, J.P. (1987a).** Gas exchange, water relations and ion concentrations of leaves on salt-stressed Valencia orange *Citrus sinensis* (L.) Osbeck. *Australian Journal of Plant Physiology*, 14: 387-396.
- Lloyd, J., Syvertsen, J.P. y Kriedemann, P.E. (1987b).** Salinity effects on leaf water relations and gas exchange of 'Valencia' orange, *Citrus sinensis* [L.] Osbeck, on rootstocks with different salt exclusion characteristics. *Australian Journal of Plant Physiology*, 14: 605-617.
- Lloyd, J. y Howie, H. (1989a).** Salinity, stomatal responses and whole-tree hydraulic conductivity of orchard "Washington Navel" orange, *Citrus Sinensis* (L.) Osbeck. *Australian Journal of Plant Physiology*, 16: 169-179.
- Lloyd, J. y Howie, H. (1989b).** Response of orchard "Washington navel orange". *Citrus sinensis* L. Osbeck to saline irrigation Water I. Canopy characteristics and seasonal patterns in leaf osmotic potential, carbohydrates and ion concentrations. *Australian Journal of Agricultural Research*, 40: 359-369.
- Lloyd, J., Kriedemann, P.E. y Aspinall, D. (1989).** Comparative sensitivity of "Prior Lisbon" lemon and "Valencia" orange trees to foliar sodium and chloride concentrations. *Plant, Cell and Environment*, 12 : 529-540.
- Lloyd, J., Kriedemann, P.E. y Aspinall, D. (1990).** Contrasts between Citrus species in response to salinization: An analysis of photosynthesis and water relations for different rootstock scion combinations. *Physiologia Plantarum*, 78: 236-246.

- Longstreth, D.J. y Nobel, P.S. (1979).** Salinity effects on leaf anatomy. Consequences for photosynthesis. *Plant Physiology*, 63: 700-703.
- López-Berenguer, C., Carvajal, M., García-Viguera, C. y Alcaraz, C.F. (2006).** Nutritional and antioxidant response of broccoli plants to salt stress. *XI simposio ibérico sobre nutrición mineral de las plantas*. Julio 2006. Pamplona, 30.
- López-Climent, M.F., Arbona, V., Pérez-Clemente, R.M. y Gómez-Cadenas., A. (2008).** Relationship between salt tolerance and photosynthetic machinery performance in citrus. *Environmental and Experimental Botany*, 62: 176-184.
- López-Ritas, J. y López Melida, J. (1985).** El diagnóstico de suelos y plantas. Métodos de campo y laboratorio. Ed. Mundi-Prensa, 367.
- Loussert, R. (1992).** Portainjertos y variedades. En: Los agrios. Ediciones Mundi-Prensa, I, 4: 63-84.
- Luttge, U., Ball, E., y Tromballa, H.W. (1975).** Potassium independence of osmoregulated. oscillations of malate²⁻ levels in the cells of CAM-leaves. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen*, 167: 67-83.
- Maas, E.V. (1984).** Crop tolerance. *California Agricultura*, 38(10): 20-21.
- Maas, E.V. (1986).** Salt tolerance of plants. *Research in Agricultural and Applied*, 1: 12-26.
- Maas, E.V. (1990).** Crop salt tolerance. En: *Agricultural salinity assessment and managements*. K. K. Tanji ed. ASCE Manuals and Reports on Engineering Practice n° 71. Nueva York, 262-304.
- Maas, E.V. (1992).** Salinity and citriculture. *Proceedings of the International Society of Citriculture*, 3: 1290-1301.
- Maas, E.V. (1993).** Salinity and citriculture. *Tree Physiology*, 12: 195-216.
- Maas, E.V. y Hoffman, G.J. (1977).** Crop salt tolerance-current assessment. Journal of the Irrigation and Drainage Division, *Proceedings of the American Society of Civil Engineers*, 103(IR2): 115-134.
- Maathuis, F.J.M. y Amtmann, A. (1999).** K⁺ nutrition and Na⁺ toxicity: The basis of cellular K⁺/Na⁺ ratios. *Annals of Botany*, 84: 123-133.
- Maloh, T., Matsuhita, N. y Takahashi, E. (1988).** Salt tolerance of the reed plant *Phragmites communis*. *Physiologia Plantarum*, 72(1): 8-14.
- Marschner, H. (1986).** Mineral nutrition on higher plants. Academic Press. London, UK.
- Marschner, H., Kylin, A. y Kuiper, P.J.C. (1981).** Genotypic differences in the response of sugar beet plants to replacement of potassium by sodium. *Physiologia Plantarum*, 51(2), 239-244.

- Martínez, V. y Cerdá, A. (1989).** Influence of N source on rate of Cl, N, Na, and K uptake by cucumber seedlings grown in saline conditions. *Journal of Plant Nutrition*, 12: 971-983.
- Martínez-Serrano, J. (2008).** Evolución y perspectivas de la agricultura española. *Vida Rural*, 267: 16-18.
- Matthews, M.A. y Boyer, J.S. (1984).** Acclimation of photosynthesis to low leaf water potentials. *Plant Physiology*, 74: 161-166.
- Mattos, D., Quaggio, J.A. y Cantarella, H. (2005).** Nitrogen and potassium fertilization impacts fruit yield and quality of citrus. *Better Crops with Plant Food*, 89(2): 17-19.
- Maxwell, K. y Johnson, G.N. (2000).** Chlorophyll fluorescence. A practical guide. *Journal of Experimental Botany*, 51: 659-668.
- Medrano, H., Escalona, J.M., Bota, J., Gulias, J. y Flexas, J. (2002).** Regulation of photosynthesis to progressive drought: stomatal conductance as a reference parameter. *Annals of Botany*, 89: 895-905.
- Melgar, J.C., Syvertsen, J.P., Martínez, V. y García-Sánchez, F. (2007).** Leaf gas exchange, water relations, nutrient content and growth in citrus and olive seedlings under salinity. *Biologia Plantarum*, 52: 385-390.
- Mendoza, H. (2000).** Alcalinidad y salinidad: diagnóstico, efecto sobre la producción y soluciones. *1º Simposium Internacional Fertilización y control en frutales y viñas*. Santiago, Bioamérica, agosto.
- Metochis, C. (1989).** Water requirement, yield and fruit quality of grapefruit irrigated with high-sulphate water. *Journal of Horticultural Science*, 64: 733-737.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y alimentación. (1981).** Mapa de cultivos y aprovechamientos E1:50000. Madrid.
- Mishra, S.K., Subrahmanyam, D. y Singhal, G.S. (1991).** Interrelationship between salt and light stress on primary processes of photosynthesis. *Journal of Plant Physiology*, 138: 92-96.
- Mishra, A.N., Srivastava, A. y Strasser, R.J. (2001).** Utilization of fast chlorophyll fluorescence technique in assessing the salt/ion sensitivity of mung bean and Brassica seedlings. *Journal of Plant Physiology*, 158: 1173-1181.
- Morgan, K.T., Obreza, T.A. y Wheaton, T.A. (2006).** The basis for mature citrus nitrogen fertilization recommendations. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 119: 168-171.
- Morinaga, K. y Sykes, R.S. (2001).** Effect of salt and water stress on fruit quality, physiological responses, macro- and micro-element contents in leaves of Satsuma mandarin trees under greenhouse conditions. *Japan Agricultural Research Quarterly*, 35(1): 53-58.

- Moya, J.L., Primo-Millo, E. y Talón, M. (1999).** Morphological factors determining salt tolerant in citrus seedlings: The shoot to root ratio modulates passive root uptake of chloride ions and their accumulation in leaves. *Plant, Cell and Environment*, 22: 1425-1433.
- Moya, J.L., Romero-Aranda, R., Tadeo, F.R., Legaz, F., Primo-Millo, E. y Talón, M. (2000).** Efectos beneficiosos del calcio sobre el desarrollo y crecimiento bajo condiciones salinas de los patrones de cítricos carrizo y mandarina Cleopatra. *Levante Agrícola*, 39: 319-325.
- Moya, J.L., Tadeo, F.R., Gómez-Cárdenas, A., Primo-Millo, E. y Talón, M. (2002).** Transmissible salt tolerance traits identified through reciprocal grafts between sensitive Carrizo and tolerance Cleopatra citrus genotypes. *Journal of Plant Physiology*, 159: 991-998.
- Moya, J.L., Gómez-Cadenas, A., Primo-Millo, E. y Talón, M. (2003).** Chloride absorption in salt-sensitive Carrizo citrange and salt-tolerant Cleopatra mandarin citrus rootstocks is linked to water use. *Journal of Experimental Botany*, 54: 825-833.
- Munns, R. (1993).** Physiological processes limiting plant growth in saline soils: some dogmas and hypotheses. *Plant, Cell and Environment*, 16: 15-24.
- Munns, R., James, R.A. y Laüchli, A. (2006).** Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *Journal of Experimental Botany*, 57: 1025-1043.
- Munns, R. y Tester, M. (2008).** Mechanism of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59: 651-681.
- Murkute, A.A., Sharma, S. y Singh, S.K. (2005).** Citrus in terms of soil and water salinity: A review. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 64: 393-402.
- Nagy, S. (1980).** Vitamin C contents of citrus fruit and their products: a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28: 8-18.
- Nath, J.C. y Mohan, N.K. (1995).** Effect of nitrogen on growth, yield and quality of Assam lemon. *Annals of Agricultural Research, India (C.F. Horticultural Abstracts*, 65 N° 9:7204). 16: 434-437.
- Neilsen, D., Parchomchuk, P., Neilsen, G. y Hogue, E. (1998).** Using soil solution monitoring to determine the effects of irrigation management and fertigation on nitrogen availability in high-density apple orchards. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 123(4): 706-713.
- Neumann, P.M., Azaizeh, H., Leon, D. (1994).** Hardening of root cell walls: a growth inhibitory response to saline stress. *Plant, Cell and Environment*, 17: 303-309.
- Nieves, M., García, A., Cerdá, A. y Guillén, M.G. (1990).** Yield and mineral composition of 'Verna' lemon trees as affected by salinity and rootstock combination. *Journal of Horticultural Science*, 65: 359-366.
- Nieves, M., García, A. y Cerdá, A. (1991a).** Effects of salinity and rootstock on lemon fruit quality. *Journal of Horticultural Science*, 66: 127-130.

- Nieves, M., Cerdá, A. y Botella, M. (1991b).** Salt tolerance of two lemons scions measured by leaf chloride and sodium accumulation. *Journal of Plant Nutrition*, 14: 623-636.
- Nieves, M., Ruiz, D. y Cerdá, A. (1992).** Influence of rootstock-scion combination in lemon trees salt tolerance. *Proceedings International Society of Citriculture*. Acireale, Italy, 387-390.
- Nilsen, E.T. y Orcutt, D.M. (1996).** Physiology of plants under stress. Abiotic factors. John Wiley and Sons, INC, New York.
- Nolte, H.D., Hanson, A.D. y Gage, D.A. (1997).** Proline accumulation and methylation to proline betaine in Citrus : Implications for genetic engineering of stress resistance. . *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 122: 8-13.
- Obreza, T.A., y Rouse, R.E. (1993).** Fertilizer effects on early growth and yield of 'Hamlin' orange trees. *HortScience*, 28: 111-114.
- Öquist, G. (1987).** Environmental stress and photosynthesis. En: Progress in Photosynthesis. Research. Vol. IV. Biggins J. (Ed.). Martinus Nijhoff Publishers. Dordrecht, 1-10.
- Ortiz-Marcide, J.M. (1978).** Influencia del patrón y del injerto de los cítricos sobre el grosor de la corteza y del floema funcional sobre el vigor general del árbol. INIA. Madrid.
- Osmond, C.B., Anderson, J.M., Ball, M.C. y Egerton J.J.G. (1999).** Compromising efficiency: the molecular ecology of light resource utilisation in terrestrial plants. En: Scholes C, Baker M (eds.) *Advances in physiological plant ecology*. Blackwell, Oxford, 1-24.
- Page, A.L., Chang, A.C. y Adriano, D.C. (1990).** Deficiencies and toxicities of trace elements. *Agricultural Salinity Assessment and Management*, Chapter 7, ASCE Manuals and Reports on Eng. Practice N° 71, ASCE, 138-160.
- Paranychianakis, N.V, Chartzoulakis, K.S., y Angelakis, A.N. (2004).** Influence of rootstock, irrigation level and recycled water on water relations and leaf gas exchange of Soultanina grapevines. *Environmental and Experimental Botany*, 52(2): 185-198.
- Paranychianakis, N.V. y Chartzoulakis, K.S. (2005).** Irrigation of mediterranean crops with saline water: from physiology to management practices. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 106: 171-187.
- Pasternak, D. (1987).** Salt tolerance and crop production. A comprehensive approach. *Annual Review of Phytopathology*, 25: 271-291.
- Pennisi, L. (1985).** Utilizzazione industriale. En: *Trattato di Agrumicoltura*. Edagricole. Bologna, 496-511.
- Pérez-Alfocea, F., Balibrea, M.E., Santa Cruz, A. y Estañ, M.T. (1996).** Agronomical and physiological characterization of salinity tolerance in a commercial tomato hybrid. *Plant and Soil*, 180: 251-257.

- Pérez-Pérez, J.G., Syvertsen, J.P., Botía, P. y García-Sánchez, F. (2007).** Leaf water relations and net gas exchange responses of salinized Carrizo citrange seedlings during drought stress and recovery. *Annals of Botany*, 100: 335-345.
- Pérez-Pérez, J.G., Romero, P., Navarro, J.M. y Botía, P. (2008a).** Response of sweet orange cv 'Lane late' to deficit irrigation in two rootstocks. I: water relations, leaf gas exchange and vegetative growth. *Irrigation Science*, 26(5): 415-425.
- Pérez-Pérez, J.G., Romero, P., Navarro, J.M. y Botía, P. (2008b).** Response of sweet orange cv 'Lane late' to deficit irrigation strategy in two rootstocks. II: Flowering, fruit, growth, yield and fruit quality. *Irrigation Science*, 26(6): 519-529.
- Pérez-Zamora, O. (2004).** Leaf nutrient concentration, yield, production efficiency, juice quality and nutrimental indexes on Valencia orange grafted on citrus rootstocks. *Agrociencia*, 38: 141-154.
- Peynado, A. y Young, R. (1969).** Relation of salt tolerance to cold hardiness of Redblush grapefruit and Valencia orange trees on various rootstocks. En: *Proceedings of the First International Citrus Symposium*, University of California, Riverside, CA, USA, 1793-1802.
- Pizarro, F. (1996).** Riegos localizados de alta frecuencia (RLAF). Madrid. Ediciones Mundi-Prensa, 513.
- Pomares, F., Tarazona, F. y Estela, M. (1993).** Effect of different sources and application on citrus groves. *Agrochimica*, 37(3): 243-252.
- Pons, J. (1995).** Estímulo de la maduración de las mandarinas. Factores y técnicas agronómicas. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia, 144.
- Porras, I. (1993).** Crecimiento y maduración del pomelo (*Citrus paradisi Macf*) "Marsh" y "Redblush". Comparación con nuevas variedades. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Madrid, 227.
- Porras, I., García-Lidón, A., Párraga-Rosa, M.J., Erena, M. y Conesa, A. (1999).** Influencia de la temperatura en los distintos parámetros de color y madurez del pomelo Star Ruby sobre mandarino Cleopatra. *Levante Agrícola*, 38(4): 452-457.
- Prieto, D. y Angueira, C. (1996).** Calidad de agua para riego. Módulo II. En: Curso a distancia de "Métodos de riego". INTA- PROCADIS, Programa Clima y agua, 94.
- Primo-Millo, E. y Legaz, F. (1983).** Fertilización N-P-K en agrios. *Levante Agrícola*. Valencia, Nº 245.
- Primo-Millo, E., Legaz, F. y Talón, M. (2000).** Repercusión de la concentración de nitrato y la salinidad del agua de riego sobre la calidad del fruto de los cítricos. *Levante Agrícola*, 1^{er} trimestre, 18-26.
- Prior, L.D., Grieve, A.M., Bevington, K.B. y Slavich, P.G. (2007).** Long-term effects of saline irrigation water on Valencia orange trees: relationships between growth and yield, and salt levels in soil and leaves. *Australian Journal of Agricultural Research*, 58: 349-358.

- Rao, K.B., Panchaksharaiah, S., Janardhan, K.V. y Yardav, J.S.P. (1981).** Saline water irrigation and plant growth in vertisol. *Proceedings of the Hungoro-Indian Seminar on Salt Affected Soil*. Szabolc, J. (Ed.). Budapest, 129-138.
- Razeto, B. (1995).** La salinidad en frutales. *Revista Aconex (Chile)*, 9: 5-10.
- Razeto, B. (1999).** Para entender la fruticultura. Santiago. 373.
- Ream, C.L. y Furr, J.R. (1976).** Salt tolerance of some Citrus species, relatives, and hybrids tested as rootstocks. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 101: 265-267.
- Recupero, G.R., Russo, F. y Puglisi, A. (1983).** Prova di cinque portinnesti per l'arancio 'Washington Navel'. *Frutticoltura*, Vol. XLV, 11: 27-29.
- Reimann, C. y Breckle, S.W. (1995).** Salt tolerance and ion relations of *Salsola kali* L.: differences between ssp. *tragus* (L.) Nyman and ssp. *ruthenica* (Iljin) Soo. *The New Phytologist*, 130: 37-45.
- Rhoades, J.D. (1972).** Quality of water for irrigation. *Soil Science*, 113: 277-284.
- Richards, L.A. (1954).** Diagnóstico y rehabilitación de suelos salinos y sódicos. Manual de agricultura, N° 60. *Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de América*, 171.
- Rivelli, A.R., Lovelli, S. y Perniola, M. (2002).** Effects of salinity on gas exchange, water relations and growth of sunflower (*Helianthus annuus*). *Functional Plant Biology*, 29: 1405-1415.
- Robinson, S.P. y Downton, W.J.S. (1984).** Potassium, sodium, and chloride content of isolated intact chloroplasts in relation to ionic compartmentation in leaves. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 228: 197-206.
- Robinson, S.P. y Downton, W.J.S. (1985).** Potassium, sodium and chloride concentrations in leaves and isolated chloroplast of the halophyte *Suaeda australis* R. Br. *Australian Journal of Plant Physiology*, 12: 471-479.
- Robinson, M.F., Viery, A.A., Sanders, D. y Mansfield, T.A. (1997).** How can stomata contribute to salt tolerance?. *Annals of Botany*, 80: 387-393.
- Rodrigo, M.J., Marcos, J.F. y Zacarías, L. (2004).** Biochemical and molecular analysis of carotenoid biosynthesis in flavedo of orange (*Citrus sinensis* L.) during fruit development and maturation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 6274-6731.
- Rodrigues, M.L., Chaves, M.M., Wendler, R., David, M.M., Quick, W.P., Leegood, R.C., Stitt, M. y Pereira, J.S. (1993).** Osmotic adjustment in water stressed grapevine leaves in relation to carbon assimilation. *Australian Journal of Plant Physiology*, 20: 309-321.

- Rombolá, A.D., Zavalloni, C., Scudellari, D., Ceccaroli, A., Mazzanti, F., Marangoni, B. y Tagliavini, M. (2000).** La fertirrigazione del meieto nella fase d'allevamento: effetti di dose e nutrienti. *Rivista di Frutticoltura*, 6: 67-74.
- Romero, P., Navarro, J.M., Pérez-Pérez, J., García-Sánchez, F., Gómez-Gómez, A., Porras, I., Martínez, V. y Botía, P. (2006).** Deficit irrigation and rootstock and the water relations, vegetative development, yield, fruit quality and mineral nutrition of *Clemenules mandarin*. *Tree Physiology*, 26: 1537-1548.
- Romero-Aranda, R. y Syvertsen, J.P. (1996).** The influence of foliar-applied urea nitrogen and saline solutions on net gas exchange of citrus leaves. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 121: 501-506.
- Romero-Aranda, R., Bondada, B.R., Syvertsen, J.P. y Grosser, J.W. (1997).** Leaf characteristics and net gas exchange of diploid and autotetraploid citrus. *Annals of Botany*, 79: 153-160.
- Romero-Aranda, R., Moya, J.L., Tadeo, F.R., Legaz, F., Primo-Millo, E. y Talón, M. (1998).** Physiological and stomatal disturbances induced by chloride salts in sensitive and tolerant citrus: beneficial and detrimental effects of cations. *Plant, Cell and Environment*, 21: 1243-1253.
- Roose, M.L., Cole, D.A., Taquín, D. y Kupper, R.S. (1989).** Yield ad tree size of tour citrus cultivar son 21 rootstocks in California. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 114: 678-684.
- Ruiz, R. (1984).** Diagnóstico y estrategia para el control de problemas salinos. IPA La Platina, 23: 49-53.
- Ruiz, D. (1996).** Respuesta a la salinidad de portainjertos cítricos, aspectos fisiológicos. Tesis Doctoral.
- Ruiz, D., Martínez, V. y Cerdá, A. (1997).** Citrus response to salinity: growth and nutrient uptake. *Tree Physiology*, 17: 141-150.
- Ruiz, D., Martínez, V. y Cerdá, A. (1999).** Demarcating specific ion (NaCl, Cl⁻, Na⁺) and osmotic effects in the response of two citrus rootstocks to salinity. *Scientia Horticulturae*, 80: 213-224.
- Russo, F. (1985).** Tassonomia del genere Citrus e dei generi affini interessanti la coltivazione. In Trattato di Agrumicoltura. P. Spina (ed.). *Edagricole*. Bolonia, 1: 83-116.
- Sala, J.M., Cuñat, P., Collado, M. y Moncholi, V. (1992).** Effect on nitrogenous fertilization (quantity and nitrogen form) in precocity of colour change of Navelina oranges. *Proceedings of the International Society of Citriculture*, 2: 598-602.
- Sanclemente, M.A. y Peña, E.J. (2008).** Crecimiento y eficiencia fotosintética de *Ludwigia decurrens* Walter (Onagraceae) bajo diferentes concentraciones de nitrógeno. *Acta Biológica Colombiana*, 13(1): 175-186.

- Sánchez-Baños, M., García-Lidón, A., Porras, I., Botía, P., Martínez, V. y García-Sánchez, F. (2001).** Comportamiento del pomelo Star Ruby sobre dos patrones de cítricos en condiciones salinas del campo de Cartagena. *Levante Agrícola*, 358: 385-391.
- Savage, E.M. y Gadner, F.E. (1965).** The origin and history of Troyer and Carrizo citranges, *The Citrus Industry*, 26: 5.
- Scarascia-Mugnozza, G., De Angelis, P., Matteucci, G. y Valentini, R. (1996).** Long-term exposure to elevated [CO₂] in a natural *Quercus ilex* L. community: net photosynthesis and photochemical efficiency of PSII at different levels of water stress. *Plant, Cell and Environment*, 19: 643-654.
- Schölander, P., Hammel, H., Bradstreet, E. y Hemmingsen, E. (1965).** Sap pressure in vascular plants. *Science*, 148: 339-345.
- Scholberg, J.M.S., Parsons, L.R., Wheaton, T.A., Mc Neal, B.L. y Morgan, T. (2002).** Soil temperature, nitrogen concentration, and residence time affect nitrogen uptake efficiency in citrus. *Journal of Environmental Quality*, 31: 759-768.
- Schumann, A.W., A. Fares, A., Alva, A.K. y Paramasivam, S. (2003).** Response of "Hamlin" orange to fertilizer source, annual rate and irrigated area. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 116: 256-260.
- Serio, F., De Gara, L., Caretto, S., Leo, L. y Santamaría, P. (2004).** Influence of an increased NaCl concentration on yield and quality of cherry tomato grown in posidonia (*Posidonia oceánica* (L.) Delile). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84: 1885-1890.
- Shalhevet, J. y Levy, Y. (1990).** Citrus trees. En: Stewart, B.A., Nielsen, D.R. (Eds.), *Irrigation of Agricultural Crops*. Agronomy Monograph 30. *American Society of Agronomy*, Madison, WI, 951-986.
- Sharpley, A.N., Meisinger, J.J., Power, J.F. y Suarez, D.L. (1992).** Root extraction of nutrients associated with long-term soil management. En: Stewart, B. (Ed.). *Advances in Soil Science*. Springer, 19: 151-217.
- Shi, H. y Zhu, J.K. (2002).** Regulation of expression of the vacuolar Na⁺/H⁺ antiporter gene AtNHX1 by salt stress and abscisic acid. *Plant Molecular Biology*, 50: 543-550.
- Silberbush, M. y Ben-Asher J. (1989).** The effect of NaCl concentration on NO₃⁻, K⁺ and orthophosphate-P influx to peanut roots. *Scientia Horticulturae*, 39: 279-287.
- Simpson K.L., Lee T.C., Rodríguez, D.B. y Chichester C.O. (1976).** Metabolism in senescent and stored tissues. En: T.W. Goodwin (eds), *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments*, Vol. 1., Academia Press, London. 779-842.
- Sinclair, T.R. y Allen, L.H.Jr. (1982).** Carbon dioxide and water vapour exchange of leaves on field-growth citrus trees. *Journal of Experimental Botany*, 33: 1166-1175.
- Slavik, B. (1974).** Direct methods of water content determination. *Methods of studying plant water relations*. Ed. Slavik, B. Springer-Verlag, Berlín, 447.

- Sleem, M.A. (2002).** Fruit set and yield of Washington Navel orange trees in response to some treatments in newly reclaimed soils of Ismallia governorate. Ms. *Horticulture Department, Faculty of Agriculture, Zagazig University*. (Benha Branch).
- Smart, R. y Barks, L.A. (1973).** The effect of environment and irrigation interval on leaf water potential of four horticultural species. *Agricultural meteorology*, 12: 337.
- Smillie, R.M. y Nott, R. (1982).** Salt tolerance in crops plants monitored by chlorophyll fluorescence in vivo. *Plant Physiology*, 70: 1049-1054.
- Smirnoff, N. (2000).** Ascorbic acid: metabolism and functions of a multifaceted molecule. *Plant Biology*, 3(3): 229-235.
- Smith, P.F. y Rasmussen, G.K. (1961).** Effect of nitrogen source, rate and pH on the production and quality of Marsh grapefruit. *Florida State Horticultural Society*, 82: 20-25.
- Soler-Aznar, J. (2000).** Reconocimiento de variedades de cítricos en campo. Generalitat valenciana. Conselleria de Agricultura, pesca y Alimentación. *Serie Divulgación Técnica*.
- Steyn, W.J.A. (1957).** A statistical study of errors involved in the sampling and chemical analysis of soils and plants with particular reference to citrus and pineapples. Disertación de doctorado. Rhodes Univ. Grahamstown. Sudáfrica.
- Storey, R. (1995).** Salt tolerance, ion relations and the effect of root medium on the response of citrus to salinity. *Australian Journal of Plant Physiology*, 22: 101-104.
- Storey, R. y Walker, R.R. (1987).** Some effects of root anatomy on K, Na, Cl loading of citrus roots and leaves. *Journal of Experimental Botany*, 38: 1769-1780.
- Storey, R. y Walker, R.R. (1999).** Citrus and salinity. *Scientia Horticulturae*, 78: 39-81.
- Strasser, B.J. y Strasser, R.J. (1995).** Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: The JIP test. En: Mathis P ed. *Photosynthesis: from Light to Biosphere*. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, 5: 977-980.
- Strasser, R., Strivastava, A. y Tsimilli-Michael, M. (2000).** The fluorescence transient as a tool to characterise and screen photosynthetic samples. En: M. Junus, U. Parte y P. Mohantray (Eds.). *Probing photosynthesis: mechanisms regulation and adaptation*. 445-483.
- Subbarao, G., Johansen, C., Jana, M. y Kumar Rao, J. (1990).** Effects of the sodium/calcium ratio in modifying salinity response of pigeonpea (*Cajanus cajan*). *Journal of Plant Physiology*, 136: 439-443.
- Swietlik, D. (1989).** Pressure-induced water fluxes through root systems of sour orange seedling. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 114: 139-143.

- Sykes, S.R. (1985a).** Effects of seedling age and size on chloride accumulation by juvenile citrus seedlings treated with sodium chloride under glasshouse conditions. *Australian Journal of Experimental Botany*, 25(4): 943–953.
- Sykes, S.R. (1985b).** A glasshouse screening procedure for identifying citrus hybrids which restrict chloride accumulation in shoot tissues. *Australian Journal of Agricultural Research*, 36: 779-789.
- Sykes, S.R. (1992).** The inheritance of salt exclusion in woody perennial fruit species. *Plant and Soil*, 146: 123-129.
- Syvertsen, J.P. (1981).** Hydraulic conductivity of four commercial citrus rootstocks. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 106: 378-381.
- Syvertsen, J.P. (1984).** Partial acclimation in citrus leaves II. CO₂ assimilation and light, water and nitrogen use efficiency. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 109: 812-817.
- Syvertsen, J.P. y Smith, M.L. (1984).** Light acclimation in citrus leaves. I. Changes in the physical characteristics, chlorophyll, and nitrogen content. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 109: 807-812.
- Syvertsen, J.P. y Graham, J.H. (1985).** Hydraulic conductivity of roots, mineral nutrition, and leaf gas exchange of citrus rootstocks. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 110: 865-869.
- Syvertsen, J.P., Lloyd, J. y Kriedemann, P.E. (1988).** Salinity and drought stress effects on foliar ion concentrations, water relations and photosynthetic characteristics of orchard citrus. *Australian Journal of Agricultural Research*, 39: 619-627.
- Syvertsen J.P. y Yelenosky, G. (1988).** Salinity can enhance freeze tolerance of Citrus rootstock seedlings by modifying growth, water relations, and mineral nutrition. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 113: 889-893.
- Syvertsen, J.P., Boman, B. Y Tucker, D.H. (1989).** Salinity in Florida citrus production. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 102: 61-64.
- Syvertsen, J.P. y Lloyd, J. (1994).** Citrus. En: B. Schaffer and P. Andersen (eds.), *Sub-tropical and tropical crops*. CRC Press, Boca Raton, FL, 2: 65-99.
- Syvertsen, J.P., Lloyd, J., McConchie, C., Kriedemann, P.E. y Farquhar, G.D. (1995).** On the relationship between leaf anatomy and CO₂ diffusion through the mesophyll of hypostomal leaves. *Plant, Cell and Environment*, 18: 149-157.
- Syvertsen, J.P., Goñi, C. y Otero, A. (2003).** Fruit load and canopy shading affect leaf characteristics and net gas exchange of 'Spring Navel orange trees'. *Tree Physiology*, 23: 899-906.
- Syvertsen, J.P., Melgar J.C. y García-Sánchez, F. (2008).** On the relationships between salinity tolerance, growth and water use in citrus. *Conference Technical Proceedings. ISC*, in press.

- Tester, M. y Davenport, R. (2003).** Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants. *Annals of Botany*, 91: 503-527.
- Torrecillas, A., Alarcón, J.J., Domingo, R., Planes, J. y Sánchez-Blanco, M.J. (1996).** Strategies for drought resistance in leaves of two almonds cultivars. *Plant Science*, 118: 135-143.
- Tucker, D.P.H., Alva, A.K., Jackson, L.K. y Wheaton, T.A. (1995).** Nutrition of Florida citrus trees. *Cooperative Extension Service*. Publ. SP169. University of Florida. Gainesville, Florida, 61.
- Turpin, J.W. (1978).** Selection of rootstocks for salinity and disease resistance. *Proceeding of the International Society of Citriculture*, 1: 117-120.
- Turrel, F.M. (1961).** Growth of the photosynthesis area of citrus. *Botanical Gazette*, 122: 284-298.
- Tyerman, S.D. y Skerrett, I.M. (1998).** Root ion channels and salinity. *Scientia Horticulturae*, 78: 175-235.
- Vaidyanathan, H., Sivakumar, P., Chakrabarty, R. y Thomas, G. (2003).** Scavenging of reactive oxygen species in NaCl-stressed rice (*Oryza sativa* L.) differential response in salt-tolerant and sensitive varieties. *Plant Science*, 165: 1411-1418.
- Vardi, A., Spiegel-Roy, P., Ben-Hayyim, G., Neumann, H. y Shalhevet, J. (1988).** Response of Shamouti orange and Minneola tangelo on six rootstocks to salt stress. *Citriculture Sixth International Citrus Congress*, Middle-East, Tel Aviv, 75-82.
- Viswanathan, C. y Zhu, J.Z. (2003).** Plant salt tolerance. En: Hirt, H. Y Shinozaki, K. (Eds.). *Plant responses to abiotic stress*. Heidelberg, Springer-Verlag, 241-270.
- Von Caemmerer, S. y Farquhar, G.D. (1981).** Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta*, 153: 376-378.
- Walker, R.R. (1986).** Sodium exclusion and potassium-sodium selectivity in salt-treated trifoliolate orange (*Poncirus trifoliata*) and Cleopatra mandarin (*Citrus reticulata*) plants. *Australian Journal of Plant Physiology*, 13: 293-303.
- Walker, R.R., Torökfalvy, E. y Downton, W.J.S. (1982).** Photosynthetic response of the citrus varieties Rangpur lime and Etrog citron to salt treatment. *Australian Journal of Plant Physiology*, 9: 783-790.
- Walker, R.R. y Douglas, T.J. (1983).** Effect of salinity level on uptake and distribution of chloride, sodium and potassium ions in citrus plants. *Australian Journal of Agricultural Research*, 34: 145-153.
- Walker, R.R., Torökfalvy, E., Grieve, A.M. y Prior, I.D. (1983).** Water relations and ion concentrations of leaves on salt-stressed citrus plants. *Australian Journal of Plant Physiology*, 10: 265-277.

- Walker, R.R., Munns, R. y Tonnet, M.I. (1990).** Xylem chloride and sodium concentrations of salt-treated citrus plants. En: Membrane Transport in Plants and Fungi. Beilby, M.J., Walker, N.A., Smith, J.R. Eds. University of Sydney, Sidney, 490-494.
- Walker, R.R., Blackmore, D.H. y Sun Qing. (1993).** Carbon dioxide assimilation and foliar ion concentrations in leaves of lemon (citrus lemon, L.) trees irrigated with NaCl or Na₂SO₄. *Australian Journal of Plant Physiology*, 20: 175-185.
- Watat Abd-Elrahem, A., Reinhold, L. y Lerner H.R. (1983).** Comparison between a stable NaCl-selected Nicotiana cell line and the wild type. *Plant Physiology*, 80: 520-524.
- Weimberg, R., Lerner, H.R. y Poljakoff-Mayber, A. (1984).** Changes in growth and water-solute concentration in *Sorghum bicolor* stressed with sodium and potassium salts. *Physiologia Plantarum*, 62: 472-480.
- Werner, C., Riel, R.J., Correia, O. y Beyschlag, W. (2001).** Effect of photoinhibition on whole plant carbon gain assessed with a photosynthesis model. *Plant, Cell and Environment*, 24 : 27-40.
- Wolf, O., Munns, M.L., Tonnet, M.L. y Jeschke, W.D. (1991).** The role of the stem in the partitioning of Na⁺ and K⁺ in salt-treated barley. *Journal of Experimental Botany*, 42: 697-704.
- Wrona, A.F. y Epstein, E. (1985).** Potassium and sodium absorption kinetics in roots of two tomato species: *Lycopersicon sculentum* and *Lycopersicon cheesmanii* *Plant Physiology*, 79: 1064-1067.
- Wutscher, H.K. (1977).** The influence of rootstocks on yield and quality of red grapefruit in Texas. International Citrus Congress (2nd: 1977: Orlando, Florida), *International Society of Citriculture*, 2: 526-529.
- Wutscher, H.K. (1979).** Citrus rootstocks. En: *Horticultural Reviews*, 1: 237-269.
- Wutscher, H.K. y Bistline, F.W. (1988).** Performance of 'Hamlin' orange on 30 citrus rootstock in southern Florida. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 113: 493-497.
- Wyn Jones, R.G. y Gorham, J. (1983).** Osmoregulation. En: Encyclopedia of Plant Physiology, vol. 12C. Physiological Plant Ecology III (O.L. Lange, P.S. Nobel, C.B. Osmond, H. Ziegler, eds.) Springer-Verlag, Berlín, 35-58.
- Yang, S.L., Yano, T., Aydin, M., Kitamura, Y. y Takeuchi, S.H. (2002).** Short term effects of saline irrigation on evapotranspiration from lysimeter-grown citrus trees. *Agricultural Water Management*, 56(2): 131-141.
- Yeo, A.R. y Flowers, T.J. (1983).** Varietal differences in the toxicity of sodium ions in rice leaves. *Physiologia Plantarum*, 59: 189-195.

- Zaied, N.S., Khafagy, S.A.A. y Salch, M.A. (2006).** Effect of nitrogen and potassium fertilization on vegetative growth, fruit set and quality of Washington Navel orange trees. *Journal of Applied Sciences Research*, 2(11): 851-857.
- Zekri, M. (1991).** Effects of NaCl on growth and physiology of sour orange and Cleopatra mandarin seedlings. *Scientia Horticulturae*, 47: 305-315.
- Zekri, M. (1993).** Salinity and calcium effect on emergence, growth and mineral composition of seedlings of eight citrus rootstocks. *Journal of Horticultural Science*, 68: 53-62.
- Zekri M. y Parsons L.R. (1989).** Growth and root hydraulic conductivity of several citrus rootstocks under salt and polyethylene glycol stresses. *Physiologia Plantarum*, 77: 99-106.
- Zekri, M. y Parsons, L.R. (1990a).** Comparative effects of NaCl and polyethylene glycol on root distribution, growth, and stomatal conductance of sour orange seedlings. *Plant and Soil*, 129: 137-143.
- Zekri, M. y Parsons, L.R. (1990b).** Calcium influences growth and leaf mineral concentration of citrus under saline conditions. *HortScience*, 25: 784-786.
- Zekri, M. y Parson, L.R. (1992).** Salinity tolerance of citrus rootstocks: effects of salt on root and leaf mineral concentrations. *Plant and Soil*, 147: 171-181.
- Zhang, J.S., Xie, C., Li, Z.Y. y Chen, S.Z. (1999).** Expression of the plasma membrane H⁺ ATPase gene in response to salt stress in a rice salt-tolerant mutant and its original variety. *Theoretical and Applied Genetics*, 99: 1006-1011.
- Zid, E. y Grignon, C. (1985).** Sodium-calcium interactions in leaves of citrus aurantium grown in the presence of NaCl. *Physiologie végétale*, 23: 895-903.