



Programa de Doctorado en Recursos y Tecnologías Agrarias,  
Agroambientales y Alimentarias

**Desarrollo de Normas de Diagnóstico Foliar y  
Uso de Inhibidores de la Nitrificación en el  
Cultivo del Almendro (*Prunus dulcis*, Mill) para  
Optimizar su Fertilización**

---

**José Mario Ferrández Cámara**

Director de la tesis

**Dr. D. Juan José Martínez Nicolás**

Codirector de la tesis

**Dr. D. Francisco García Sánchez**

---

Universidad Miguel Hernández de Elche

2022



PROGRAMA DE DOCTORADO EN RECURSOS Y TECNOLOGÍAS  
AGRARIAS, AGROAMBIENTALES Y ALIMENTARIAS

**Desarrollo de Normas de Diagnóstico Foliar y  
Uso de Inhibidores de la Nitrificación en el  
Cultivo del Almendro (*Prunus dulcis*, Mill) para  
Optimizar su Fertilización**

JOSÉ MARIO FERRÁNDEZ CÁMARA

**TESIS DOCTORAL**

2022

**DIRECTORES**

Dr. D. JUAN JOSÉ MARTÍNEZ NICOLÁS

Dr. D. FRANCISCO GARCÍA SÁNCHEZ



## **Desarrollo de Normas de Diagnóstico Foliar y Uso de Inhibidores de la Nitrificación en el Cultivo del Almendro (*Prunus dulcis*, Mill) para Optimizar su Fertilización**

CALIDAD DEL COMPENDIO DE CADA PUBLICACIÓN

Esta Tesis se presenta como compendio de las siguientes publicaciones:

**1. Ferrández-Cámara, M.;** Martínez-Nicolás, J.J.; Alfosea-Simón, M.; Cámara-Zapata, J.M.; Melgarejo-Moreno, P.; García-Sánchez, F. **Estimation of Diagnosis and Recommendation Integrated System (DRIS), Compositional Nutrient Diagnosis (CND) and Range of Normality (RN) Norms for Mineral Diagnosis of Almonds Trees in Spain.** Horticulturae 2021, 7, 481.

DOI: 10.3390/horticulturae7110481

Factor de impacto: **2,925 Q1 (2021)** (Agronomy)

**2. Mario Ferrández-Cámara,** Juan J Martínez-Nicolás, José M Cámara-Zapata, Pablo Melgarejo, Juan Carlos Fernández-Zapata, Marina Alfosea-Simón, Francisco García-Sánchez. **Creating Foliar Diagnosis Rules for Almond Trees (*Prunus dulcis*, Mill.) Grown Under Different Watering Regimes: Irrigation vs Rainfed.** In: João Silva Dias, editor. Prime Archives in Agricultural Research: Volume 2. Hyderabad, India: Vide Leaf. 2022.

URL: <https://videleaf.com/wp-content/uploads/2022/05/Creating-Foliar-Diagnosis-Rules-for-Almond-Trees-Prunus-dulcis-Mill.-Grown-Under-Different-Watering-Regimes-Irrigation-vs-Rainfed.pdf>

Factor de impacto JCR: No indexado



## **Desarrollo de Normas de Diagnóstico Foliar y Uso de Inhibidores de la Nitrificación en el Cultivo del Almendro (*Prunus dulcis*, Mill) para Optimizar su Fertilización**

**Otra publicación derivada de esta tesis doctoral:**

**3. Mario Ferrández-Cámara, Juan J Martínez-Nicolás, José M Cámara-Zapata, Juan Carlos Fernández-Zapata, Marina Alfosea-Simón, Francisco García-Sánchez: Nutritional, Physiological, and Morphological Effects on Almond Trees Grown by Fertigation with the Nitrification Inhibitor 3, 4-Dimethylpyrazole-Succinic Acid.** Advances in Agriculture, Horticulture and Entomology, Volume 2022, Issue 02  
**DOI:** 10.37722/AAHAE.2022201

HTLM: <https://kosmospublishers.com/nutritional-physiological-and-morphological-effects-on-almond-trees-grown-by-fertigation-with-the-nitrification-inhibitor-3-4-dimethylpyrazole-succinic-acid/>



**D. Juan José Martínez Nicolás**, Catedrático de Universidad del Departamento de Producción Vegetal y Microbiología de la E.P.S. de Orihuela (Universidad Miguel Hernández de Elche), como director,

**D. Francisco García Sánchez**, Investigador Científico Titular del Departamento de Nutrición Vegetal del Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura (CEBAS-CSIC), como codirector,

**CERTIFICAN:**

Que la Tesis Doctoral Titulada “**Desarrollo de Normas de Diagnóstico Foliar y Uso de Inhibidores de la Nitrificación en el Cultivo del Almendro (*Prunus dulcis*, Mill) para Optimizar su Fertilización**” de la que es autor el Ingeniero Agrónomo, D. José Mario Ferrández Cámara, ha sido realizada bajo nuestra dirección y autorizamos a que sea presentada para optar a la obtención del grado de Doctor por la Universidad Miguel Hernández.

Y para que conste a los efectos oportunos se firma el presente certificado en Orihuela, a 1 de septiembre de 2022.

**Dr. D. Juan José Martínez Nicolás**  
Director de la tesis

**Dr. D. Francisco García Sánchez**  
Codirector de la tesis

**Dra. Dña. Juana Fernández López**, Catedrática de Universidad y Coordinadora del Programa de Doctorado en Recursos y Tecnologías Agrarias, Agroambientales y Alimentarias (ReTos-AAA) de la Universidad Miguel Hernández de Elche (UMH),

**CERTIFICA:**

Que la Tesis Doctoral titulada “Desarrollo de Normas de Diagnóstico Foliar y Uso de Inhibidores de la Nitrificación en el Cultivo del Almendro (*Prunus dulcis*, Mill) para Optimizar su Fertilización” de la que es autor el Ingeniero Agrónomo **D. José Mario Ferrández Cámara**, ha sido realizada bajo la dirección del **Dr. Juan José Martínez Nicolás** y la codirección del **Dr. Francisco García Sánchez**, actuando como tutora de la misma la **Dra. Pilar Legua Murcia**. Considero que la Tesis es conforme, en cuanto a forma y contenido, a los requerimientos del Programa de Doctorado ReTos-AAA, siendo por tanto apta para su exposición y defensa pública.

Y para que conste a los efectos oportunos firmo el presente certificado en Orihuela a 1 de septiembre de 2022.

Dra. Dña. Juana Fernández López  
Coordinadora del Programa Doctorado ReTos-AAA

# ÍNDICE

|   |    |
|---|----|
| 1. ABREVIATURAS.....  | 08 |
| 2. RESUMEN Y ABSTRACT.....  | 11 |
| 2.1 Resumen.....  | 12 |
| 2.1.1 Resumen publicaciones 1 y 2.....  | 12 |
| 2.1.2 Resumen publicación 3.....  | 12 |
| 2.2 Abstract.....   | 14 |
| 2.2.1 Abstract publications 1 and 2.....  | 14 |
| 2.2.2 Abstract publication 3.....   | 14 |
| 3. INTRODUCCIÓN.....  | 16 |
| 3.1 Aspectos socioeconómicos del almendro en el mundo y en España.....                  | 17 |
| 3.2 Aspectos agronómicos del almendro.....  | 19 |
| 3.2.1 Origen del almendro.....  | 19 |
| 3.2.2 Taxonomía.....  | 20 |
| 3.2.3 Características morfológicas y fenología.....                                     | 21 |
| 3.2.4 Exigencias ambientales del almendro.....  | 23 |
| 3.3 Herramientas para la interpretación y diagnóstico nutricional de los cultivos.....  | 25 |
| 3.3.1 Normas DRIS.....  | 29 |
| 3.3.2 Normas CND.....   | 36 |
| 3.3.3 Ejemplos de normas DRIS y CND para almendro y otros cultivos.....                 | 38 |
| 3.3.4 Ejemplo de cálculo numérico de rangos de normalidad, normas DRIS y CND.....       | 43 |
| 3.3.5 Ejemplo de interpretación de resultados de análisis foliar de almendro.....       | 47 |
| 3.4 Inhibidores de la nitrificación en la eficiencia de la fertilización nitrogenada... | 50 |
| 3.4.1 La nitrificación en los suelos agrícolas.....                                     | 52 |
| 3.4.2 El control de la nitrificación con inhibidores.....                               | 54 |
| 4. OBJETIVOS.....   | 57 |
| 5. MATERIALES Y MÉTODOS.....  | 59 |
| 5.1 Materiales y métodos: Publicación 1.....  | 60 |
| 5.1.1 Selección de parcelas, toma de muestras y análisis.....                           | 60 |
| 5.1.2 Determinación del periodo de muestreo foliar.....                                 | 61 |
| 5.1.3 Métodos de diagnóstico: rango de normalidad (RN).....                             | 61 |

|         |   |    |
|---------|---|----|
| 5.1.4   | Métodos de diagnóstico: normas DRIS.....                              | 61 |
| 5.1.5   | Métodos de diagnóstico: normas CND.....                               | 62 |
| 5.1.6   | Análisis estadístico.....   | 62 |
| 5.2     | Materiales y métodos: Publicación 2.....                              | 62 |
| 5.2.1   | Selección de parcelas, toma de muestras y análisis.....               | 62 |
| 5.2.2   | Determinación del periodo de muestreo foliar.....                     | 64 |
| 5.2.3   | Métodos de diagnóstico: rango de normalidad (RN).....                 | 64 |
| 5.2.4   | Métodos de diagnóstico: normas DRIS.....                              | 64 |
| 5.2.5   | Métodos de diagnóstico: normas CND.....                               | 64 |
| 5.2.6   | Análisis estadístico.....   | 64 |
| 5.3     | Materiales y métodos: Publicación 3.....                              | 64 |
| 5.3.1   | Condiciones de cultivo y material vegetal.....                        | 64 |
| 5.3.2   | Parámetros analizados.....  | 65 |
| 5.3.2.1 | Medida de drenaje de las plantas.....                                 | 65 |
| 5.3.2.2 | Medida del contenido de clorofilas, altura y diámetro del tronco..... | 66 |
| 5.3.2.3 | Medidas de humedad del suelo y transpiración del cultivo.....         | 66 |
| 5.3.2.4 | Parámetros de intercambio gaseoso.....                                | 66 |
| 5.3.2.5 | Parámetros de fluorescencia de clorofilas.....                        | 66 |
| 5.3.2.6 | Determinación parámetros de crecimiento.....                          | 67 |
| 5.3.2.7 | Análisis mineral.....   | 67 |
| 5.3.2.8 | Diseño experimental y análisis estadístico.....                       | 67 |
| 6.      | RESUMEN DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES.....                  | 69 |
| 6.1     | Resultados y conclusiones: Publicación 1.....                         | 70 |
| 6.1.1   | Selección del período de muestreo.....                                | 70 |
| 6.1.2   | Rangos de normalidad.....   | 70 |
| 6.1.3   | Normas DRIS.....  | 71 |
| 6.1.4   | Normas CND.....   | 71 |
| 6.1.5   | Conclusiones.....   | 71 |
| 6.2     | Resultados y conclusiones: Publicación 2.....                         | 72 |
| 6.2.1   | Selección del periodo de muestreo.....                                | 72 |
| 6.2.2   | Rangos de normalidad.....   | 73 |
| 6.2.3   | Normas DRIS.....  | 73 |
| 6.2.4   | Normas CND.....   | 73 |



|   |     |
|---|-----|
| 6.2.5 Conclusiones.....   | 74  |
| 6.3 Resultados, discusión y conclusiones: Publicación 3.....        | 74  |
| 6.3.1 Concentración de nutrientes en el drenaje de las plantas..... | 74  |
| 6.3.2 Parámetros de crecimiento.....                                | 74  |
| 6.3.3 Parámetros fisiológicos.....                                  | 75  |
| 6.3.4 Análisis mineral de hojas y raíces.....                       | 75  |
| 6.3.5 Discusión.....  | 75  |
| 6.3.6 Conclusiones.....   | 76  |
| 7. CONCLUSIONES GENERALES.....                                      | 77  |
| 8. REFERENCIAS.....   | 80  |
| 9. ANEXO (PUBLICACIONES).....                                       | 90  |
| 9.1 PUBLICACIÓN 1.....  | 91  |
| 9.2 PUBLICACIÓN 2.....  | 106 |
| 9.3 PUBLICACIÓN 3.....  | 122 |
| 10. AGRADECIMIENTOS.....  | 137 |

# **1. ABREVIATURAS**

---

## 1. ABREVIATURAS

|                       |  |
|-----------------------|--|
| <b>a.C.</b>           | Antes de Cristo                                  |
| <b>AOA</b>            | Arqueas oxidantes de amonio                      |
| <b>AOB</b>            | Bacterias oxidantes de amonio                    |
| <b>CARM</b>           | Comunidad Autónoma de la Región de Murcia        |
| <b>CDA</b>            | Análisis de datos de composición                 |
| <b>cm</b>             | Centímetro                                       |
| <b>CND</b>            | Diagnóstico de composición de nutrientes         |
| <b>CV</b>             | Valor crítico / Coeficiente de variación         |
| <b>DCD</b>            | Diciandiamida                                    |
| <b>DMPP</b>           | Dimetilpirazol fosfato                           |
| <b>DMPSA</b>          | Dimetilpirazol succínico                         |
| <b>DRIS</b>           | Sistema integrado de diagnóstico y recomendación |
| <b>ET</b>             | Evapotranspiración                               |
| <b>et al.</b>         | Y otros  |
| <b>ETc</b>            | Evapotranspiración del cultivo                   |
| <b>ET<sub>o</sub></b> | Evapotranspiración de referencia                 |
| <b>Fig.</b>           | Figura   |
| <b>g</b>              | Gramo  |
| <b>GEI</b>            | Gases de efecto invernadero                      |
| <b>ha</b>             | Hectárea   |
| <b>Kc</b>             | Coeficiente de cultivo                           |
| <b>kg</b>             | Kilogramo  |
| <b>m</b>              | Metro  |
| <b>MBT</b>            | Mercaptobenzotiazol                              |
| <b>mg</b>             | Miligramo  |
| <b>mm</b>             | Milímetro  |
| <b>NAPR</b>           | Respuesta potencial de aplicación de nutrientes  |
| <b>NBI</b>            | Índice de balance nutricional                    |
| <b>NI</b>             | Inhibidores de la nitrificación                  |
| <b>NOB</b>            | Bacterias oxidantes de nitrito                   |
| <b>NUE</b>            | Eficiencia de uso de N                           |
| <b>°C</b>             | Grados Celsius                                   |
| <b>ppm</b>            | Partes por millón                                |
| <b>ps</b>             | Peso seco  |
| <b>RN</b>             | Rangos de normalidad                             |

|           |                          |
|-----------|--------------------------|
| <b>SD</b> | Desviación estándar      |
| <b>ST</b> | Sulfanil amido tiazol    |
| <b>t</b>  | Toneladas                |
| <b>Tg</b> | Teragramo                |
| <b>TU</b> | Triclorometil tiadiazol  |
| <b>UI</b> | Inhibidores de la ureasa |
| $\bar{x}$ | Media aritmética         |

## **2. RESUMEN Y ABSTRACT**

---

## **2. RESUMEN Y ABSTRACT**

### **2.1 Resumen**

#### **2.1.1 Resumen Publicaciones 1 y 2**

La agricultura del siglo XXI se debe realizar atendiendo a criterios de sostenibilidad para mitigar los efectos del cambio climático. Por lo que es necesario practicar una adecuada fertilización de tal manera que no se apliquen exceso de fertilizantes que contaminen el medio ambiente. Para una gestión eficiente de la fertilización es necesario conocer los niveles óptimos de cada nutriente en cada especie y escenario ambiental. El método más común es interpretar análisis foliares a partir de herramientas tradicionales como el Rango de Normalidad (RN), o mediante técnicas más precisas y complejas como el Sistema Integrado de Diagnóstico y Recomendación (DRIS) o el Diagnóstico composicional de nutrientes (CND). Sin embargo, en el caso del almendro, se dispone de poca información respecto al requerimiento nutricional de las variedades más populares en España, así como de estas cultivadas en secano o regadío.

En el presente trabajo se analizaron por una parte 288 muestras en cada una de las tres variedades de almendro (*Prunus dulcis*, Mill.) *Ferraduel*, *Ferragnes* y *Garrigues* de regadío correspondientes a muestreos quincenales entre los meses de mayo y septiembre durante dos años; y por otra, 384 muestras de cada una de las variedades *Desmayo*, *Ramillete*, *Marcona* y *Tuono* cultivadas en secano y regadío, correspondientes a muestreos quincenales entre los meses de junio y septiembre, ambos incluidos, durante dos años consecutivos. El objetivo principal del trabajo fue establecer los RN y las normas DRIS y CND para la interpretación del análisis nutricional de estas siete variedades de almendro cultivadas en diferentes regímenes hídricos. Con los datos de los análisis minerales, mediante la aplicación de diferentes modelos matemáticos y estadísticos, se obtuvieron los RN y las normas DRIS y CND, y, se concluyó que el período óptimo para la toma de muestras en este cultivo es el mes de julio. Estas normas pueden ser útiles para desarrollar algoritmos con los que desarrollar sistemas de soporte a la decisión que interpreten los análisis foliares de forma más precisa que los simples RN, y, que ayuden a gestionar, en base a esta información, la fertilización de los cultivos.

#### **2.1.2 Resumen Publicación 3**

La fertilización nitrogenada es clave para el rendimiento agronómico de los cultivos. Sin embargo, hoy en día, también existe la preocupación medioambiental de reducir el aporte de nitratos procedentes de la fertilización. Por lo que es necesario practicar estrategias agronómicas que aporten a los cultivos los nutrientes que necesiten a la misma vez que se minimice su impacto medioambiental. Una de estas estrategias es el empleo de inhibidores de la nitrificación (NI). Estos actúan sobre el amonio impidiendo que este se oxide a nitrato, por lo que el nitrógeno está en el suelo un mayor tiempo en forma de amonio evitando así la lixiviación en

forma de nitrato. En este ensayo se estudiaron las respuestas de crecimiento vegetativo, nutricionales, y fisiológicas de plantas de almendro regadas con tres diferentes tratamientos: i) riego con solución nutritiva (SN) con relación nitrato:amonio 3:1, ii) riego con SN con relación 1:1, y, iii) riego con SN con relación 1:1 a la que se le aporta un producto inhibidor de la nitrificación (1:1+NI). El NI empleado en este estudio fue el 3,4-dimetilpirazol succínico (DMPSA). Las plantas crecieron en invernadero en un suelo típico del Levante español caracterizado por una alta concentración de carbonato cálcico y un pH básico de 8,1. A lo largo del experimento se tomaron muestras de la solución de drenaje después de un evento de riego y se analizaron los macro y micronutrientes. Al final del ensayo se midieron parámetros de intercambio gaseoso y fluorescencia de clorofilas, y, se cosecharon las plantas para evaluar sus características morfológicas (peso fresco y seco de las hojas, tallo y raíz, relación parte aérea y diámetro de los troncos) y para analizar en las hojas el N, P, K, Ca, y Mg.

Los resultados indicaron que la presencia del NI en la solución nutritiva hizo que en la zona radicular se incrementara la concentración de amonio y disminuyera la concentración de nitrato. Además, las plantas regadas con el tratamiento 1:1+NI tuvieron un mayor crecimiento vegetativo que aquellas regadas con 1:1 y 3:1. Por lo tanto, se pudo concluir que la presencia de NI en la solución nutritiva tiene efectos beneficiosos tanto para las plantas de almendro *Avijor* como para el medioambiente.

## **2.2 Abstract**

### **2.2.1 Abstract Publications 1 and 2**

Agriculture in the 21st Century must be performed considering sustainability criteria to mitigate the effects of climate change. For this, adequate fertilization is necessary for avoiding the excess application of fertilizers, which could contaminate the environment. For the efficient management of fertilization, it is necessary to know the optimum levels of each nutrient for each specie and type of environment. The most common method is to interpret foliar analyses results with traditional tools such as the Range of Normality (RN) or through more precise and complex techniques, such as the Diagnosis and Recommendation Integrated System (DRIS), or the Compositional Nutrient Diagnosis (CND). However, for almonds, little information is available on the nutritional requirements of the different varieties, and those cultivated in rainfed vs irrigated lands are not differentiated.

In the present work, 288 samples were analyzed on the one hand in each of the three almond varieties (*Prunus dulcis*, Mill.) Ferraduel, Ferragnes and Garrigues irrigated corresponding to fortnightly samplings between the months of May and September for two years; and on the other, 384 samples from each of four varieties Desmayo, Ramillete, Marcona and Tuono, grown in rainfed or irrigated lands were analyzed, corresponding to sampling every two weeks between the months of June and September, both months included, for a period of two consecutive years. The main objective of the work was to establish RN, DRIS and CND standards for the interpretation of the nutritional analysis of these seven almond varieties grown under different watering regimes. With the data from mineral analysis, through the application of different mathematical and statistical models, the RN, DRIS, and CND standards were obtained, with the conclusion that the optimal period for sampling this crop was in the month of July. These standards could be useful for developing algorithms that could be utilized to develop decision support systems (DSS) that interpret the foliar analyses more precisely as compared to the simple RN, and which manage, based on this information, the fertilization of the crops.

### **2.2.2 Abstract Publication 3**

Nitrogen fertilization is key to improve crop yield. However, due to the harmful environmental effects of fertilizers, farmers and governments are searching agronomic practices that provide nutrients to the crops with minimal environmental impact, as for example the use of nitrification inhibitors. These compounds act on ammonium reducing its oxidation to nitrate, and soil's nitrogen remains longer in the form of ammonium helping prevent nitrate lixiviation. The objective of the experiment was to evaluate the effect of a new nitrification inhibitor (DMPSA) in almond trees. We studied the effect of three solutions on vegetative growth, nutrition, and physiology on Alvijor almond plants irrigated with one of three possible study solutions i) 3:1



nitrate:ammonium rate solution ii) 1:1 nitrate:ammonium rate solution, or iii) 1:1 nitrate:ammonium rate solution plus a nitrification inhibitor (3,4-dimethylpyrazole-succinic acid). Plants were grown in a greenhouse in calcareous and alkaline soil from the Spanish Levante area. Macro and micronutrients were determined from drainage samples collected throughout the experiment. At the end of the experiment, gaseous exchange and chlorophyll fluorescence parameters were measured and plants harvested to analyse morphological characteristics (leaf, stem and root fresh and dry weight, aerial part rate, and trunk diameter) and N, P, K, Ca, and Mg content in the leaves.

We found higher levels of ammonium and lower nitrates in the roots and higher vegetative growth with the irrigation solution containing the nitrification inhibitor in comparison with treatment solutions 1:1 and 3:1. The drainage showed that NI reduces the level of nitrates in the leachate, limiting its discharge to the subsoil.

In conclusion, the nutrient solution with the nitrification inhibitor has a positive impact on Avijor almond plants and the environment.

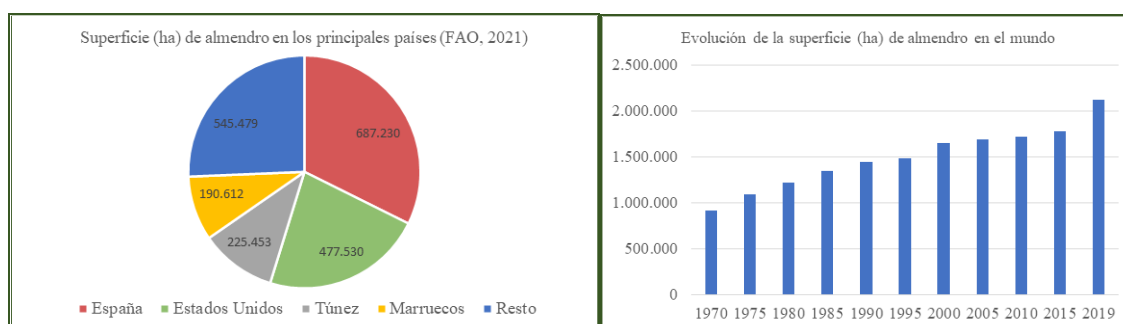
## **3. INTRODUCCIÓN**

---

### 3. INTRODUCCIÓN

#### 3.1 Aspectos socioeconómicos del almendro en el mundo y en España

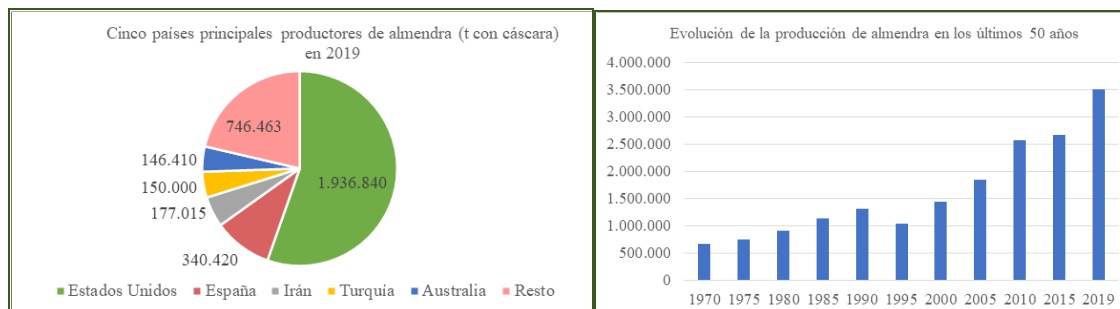
Las principales zonas de cultivo del almendro se encuentran situadas en la cuenca del Mar Mediterráneo, Oriente próximo, California, Australia y en menor medida en países como Afganistán, China, Pakistán, Chile, etc. (FAO, 2021). De la superficie mundial, con 2.126.304 ha en 2019 (FAO, 2021), el entorno de la Cuenca Mediterránea presenta casi dos tercios (**Fig. 5.1**). Entre los países principales del mundo España es el que posee mayor extensión, alcanzando la tercera parte del total con 687.230 ha y un 32,3 %, seguido por Estados Unidos con 477.530 ha y un 22,4 %, Túnez con 225.453 ha y un 10,6 % y Marruecos con 190.612 ha y un 8,9 % (FAO, 2021). Como puede apreciarse estos cuatro países albergan las tres cuartas partes de la superficie de almendro, y España supera a la suma de todo el resto. La evolución de la superficie cultivada en el mundo ha registrado un continuo aumento en los últimos 50 años, especialmente en el último lustro, habiendo superado en más del doble las cifras iniciales (**Fig. 5.1**).



**Figura 5.1.** Superficie (ha) de almendro en 2019 en los países de mayor extensión (FAO, 2021) (izquierda), y, evolución de la superficie (ha) de almendro en el mundo en los últimos 50 años (FAO, 2021) (derecha).

A lo largo de la última década, siguiendo la progresión de la superficie de cultivo, la producción mundial de frutos secos (en grano, excepto los pistachos con cáscara) ha aumentado constantemente, alcanzando más de 5,3 millones de toneladas en la campaña 2020/2021, un 15 % más que en la 2019/20 y un 65 % más que una década antes (INC, 2021). Entre las temporadas 2011/12 y 2020/21, la producción mundial aumentó a una tasa anual media de más de 200.000 toneladas al año. En el caso concreto de la almendra, su producción en 2019 alcanzó un valor de 3.497.148 t (FAO, 2021). Los cinco países principales productores alcanzaron casi el 80% de la totalidad, destacando Estados Unidos en primer lugar con más de la mitad (55 % del total), seguido de España, Irán, Turquía y Australia (**Fig. 5.2**). Su evolución con el tiempo muestra un fuerte aumento en los últimos 50 años, especialmente en las últimas dos décadas; habiendo multiplicado por cinco los valores que se obtenían en los años 70 (**Fig. 5.2**). El crecimiento de las cantidades obtenidas ha sido debido al aumento de la superficie y a la puesta

en marcha de importantes mejoras en las nuevas plantaciones (tecnificación y nuevas variedades), que han dado lugar a un incremento de las producciones por unidad de superficie.



**Figura 5.2.** Países que produjeron el 80 % de almendra (t con cáscara) del mundo en 2019 (izquierda) y evolución de la producción de almendra desde 1970 (derecha) (FAO, 2021).

Desde los años 60, gracias a las actividades de investigación y desarrollo realizadas en las explotaciones californianas, la aplicación de técnicas intensivas de fruticultura y riego les ha permitido alcanzar unos niveles productivos muy superiores a los tradicionalmente cosechados cuando el cultivo es marginal, o bien se encuentra en secano y/o con escasa tecnificación. Australia, por otra parte, ha contribuido también de forma importante a la producción mundial gracias a un ambicioso plan de desarrollo que ha elevado de 3.500 a más de 50.000 ha el cultivo en apenas 20 años; todo ello con altas producciones que han situado al país entre los cinco primeros del mundo. La producción media por unidad de superficie en el mundo ha subido de los 800 kg/ha, en las últimas décadas del siglo pasado, a unos valores actuales por encima de los 1.500 kg/ha (FAO, 2021).

El cultivo del almendro en España data de hace más de 2000 años. Su comienzo se produjo en las proximidades de la costa Mediterránea, donde el clima es suave, y, aunque, actualmente, es la zona en la que hay una mayor superficie cultivada, a lo largo de los años se ha extendido hacia zonas del interior peninsular. Este cultivo se encuentra entre los cultivos leñosos de mayor superficie en España con 721.796 ha (MAPA, 2021), sólo por detrás del viñedo y del olivo. La mayor extensión de cultivo sigue estando en secano (80%), pero el regadío va en aumento con un ritmo alto: se ha triplicado en los últimos 10 años. Entre las comunidades autónomas, Andalucía es la que tiene mayor área de cultivo de almendro, seguida de Castilla-La Mancha, Región de Murcia y Comunidad Valenciana (MAPA, 2021; **Tabla 5.1**).

**Tabla 5.1.** Superficie de almendro y producción en 2020 de las comunidades autónomas con mayor extensión en España (MAPA, 2021).

| Comunidad autónoma | Superficie (ha) | Producción (t) |
|--------------------|-----------------|----------------|
| Andalucía          | 195.103         | 161.546        |
| Castilla La Mancha | 145.912         | 74.452         |
| Murcia             | 108.527         | 29.153         |
| Valencia           | 92.831          | 29.571         |
| Aragón             | 91.515          | 74.688         |
| Cataluña           | 41.977          | 25.840         |
| Extremadura        | 14.965          | 11.135         |
| Baleares           | 12.385          | 3.955          |

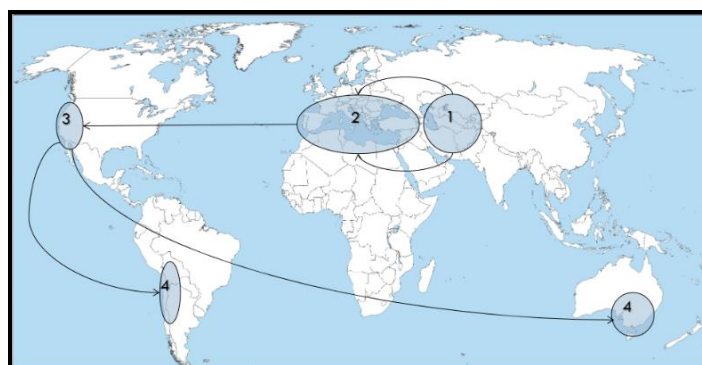
## 3.2 Aspectos agronómicos del almendro

### 3.2.1 Origen del almendro

El origen del almendro es bastante complejo, ya que deriva de la evolución e hibridación de distintas especies encontradas en Asia Central, asilvestradas o silvestres (Popov et al., 1929). La heterogeneidad generada por los múltiples cruces a lo largo del tiempo hace que sea complicado establecer de forma clara cuál fue el ancestro, aunque se cree que proviene de *P. fenzliana* (Ladizinsky, 1999). La cercanía genética del almendro y del melocotonero ha llevado a sugerir que ambos se originaron a partir de la misma especie primitiva, pero que evolucionaron de forma distinta debido a los sistemas montañosos del macizo de Asia Central. De este modo, el melocotonero se desarrolló en el este, a lo largo de varias regiones de China, con una menor altitud y un clima más húmedo, mientras que el almendro evolucionó hacia el oeste, en relieves más montañosos, o en la estepa, en condiciones áridas severas, que posiblemente condujeron a su evolución (Watkins, 1979).

La selección para la domesticación se habría dado mediante el proceso de escoger aquellas semillas dulces y con mayor tamaño entre las diferentes poblaciones silvestres que se fueron propagando por semilla. Algunos autores sugieren que podría haber tenido lugar en Asia Central, posiblemente tras múltiples hibridaciones, dando lugar a los cultivares actuales (Grasselly, 1976). La proximidad de los primeros centros de civilización a las regiones originales del almendro permitió su adaptación temprana por el hombre. La semilla, además de ser la parte comercial fue su modo de propagación desde su zona de origen a otras regiones, como China, Mesopotamia y Persia, donde fue cultivado unos 4000 años antes de Cristo. Probablemente el almendro fue domesticado durante el tercer milenio antes de Cristo (Spiegel-Roy, 1986). Por otra parte, al desplazarse hacia el Mediterráneo, supuestamente en caravanas que hacían la Ruta de la Seda desde China a Occidente, es posible que se produjesen nuevas hibridaciones, especialmente con la especie silvestre mediterránea *P. webbii*, dando lugar a

algunas de las poblaciones de almendros que se encuentran a lo largo de la costa norte del mar Mediterráneo. Se piensa que la introducción en España y en Portugal desde Grecia y los Balcanes se debe en primer lugar a los fenicios (2000 años a.C.), o a los griegos, al mismo tiempo que al resto de los países de la cuenca mediterránea (Cerdá, 1973), y posteriormente a través del Imperio Romano (700/600 años a.C.), siguiendo durante el siglo I a través de los Pirineos (Grasselly, 1976), y posteriormente hacia el norte de África, (Marruecos, Túnez...), aunque en este caso fue por los cartagineses y después por los árabes (Kester et al., 1990). La evolución en la cuenca mediterránea ha sido lenta, tanto por la acción de la selección natural (condiciones climáticas adversas) como por la selección humana, propagándose por semilla hasta el siglo pasado. La actuación conjunta de los dos tipos de selección ha favorecido probablemente la heterocigosis y la alogamia entre los ecotipos del almendro (Grasselly, 1976). La llegada del almendro a California fue en el siglo XVI, y más adelante a otros países en Sudamérica, como Argentina y Chile; sin embargo, hasta el siglo XIX no llegó a Australia y a Sudáfrica (**Fig. 5.3**).



**Figura 5.3.** Origen y expansión del almendro en el mundo.

### 3.2.2 Taxonomía

El almendro pertenece a la familia *Rosaceas*, subfamilia *Prunoideas*, y fue inicialmente denominado por Linneo, en 1753, como *Prunus communis* L. Desde entonces el nombre botánico ha sido objeto de controversias con diversos cambios. Años después se creó la subfamilia *Amigdalaceas* y el género *Amygdalus*, modificándolo con la nueva denominación de *Amygdalus communis* L. Más adelante se incluyó de nuevo en el género *Prunus*, pero con el nombre de *Prunus amygdalus* Batsch; que fue aceptado ampliamente durante mucho tiempo, aunque también es inválido debido a la recurrencia. Reichenbach en 1832 recuperó la denominación errónea de *dulcis*, pero en el género *Prunus*, bajo el nombre *P. dulcis* (Mill.) Rchb., una denominación reactivada más de un siglo después por D.A. Webb.

Debido a las diferentes consideraciones de si *Amygdalus* es un género o subgénero, se ha encontrado la misma diversidad de nombres en especies silvestres relacionadas con el almendro (Grasselly, 1976). Socias i Company (1998) propuso una clasificación para todas las especies de almendros bajo el subgénero *Amygdalus*. Los estudios filogenéticos más recientes confirman que todas las especies de almendros y melocotoneros deben considerarse incluidas en el subgénero *Amygdalus* y en el género *Prunus* (Yazbek and Oh, 2013). En la actualidad, de acuerdo con el Código Internacional de Nomenclatura para algas, hongos y plantas (Código de Shenzhen) de 2017, el almendro cultivado se designa como *Prunus dulcis* (Miller) D.A. Webb.

### 3.2.3 Características morfológicas y fenología

El almendro es una especie muy heterogénea tanto en sus rasgos morfológicos como fisiológicos. La alta variabilidad genética se traduce también en una amplia diversidad de formas y comportamientos debidos a las hibridaciones producidas a lo largo de la evolución (Salazar, et al., 2019). Por tanto, entre los cultivares, encontramos árboles con gran diferencia en tamaño, vigor, forma, tipo de ramificación, floración, características del fruto, etc. El almendro es un árbol caducifolio, de porte medio, que puede alcanzar varios metros de altura y de diámetro, en función de las condiciones en las que se desarrolle. Su sistema radicular depende del patrón elegido, por lo que su morfología, desarrollo, vigor y otras características son bastante diferentes (Felipe, 2001).

El tamaño o volumen de la copa, porte y forma varía notablemente según cada cultivar. El tronco es liso cuando es joven y con el paso del tiempo se oscurece y agrieta. La tendencia de desarrollo de la copa es vertical en general, aunque el porte puede ser desde erecto hasta abierto e incluso llorón, dependiendo de la variedad. La ramificación presenta asimismo comportamientos desiguales, en cuanto a longitud, inclinación, brotes secundarios, etc. Los tipos de ramos característicos son: ramillete de mayo, ramo mixto (chifona para los menores de 25 cm), ramo de madera y chupón (Muncharaz, 2017). En la práctica el crecimiento y forma de la copa obtenidos para una variedad concreta vendrá marcado por el objetivo perseguido, dado por el marco de plantación, la poda de formación y de mantenimiento, la disponibilidad hídrica, así como por el manejo del cultivo.

Las yemas que presenta el almendro son de madera o de flor. En las axilares habitualmente aparecen tres con distinta dominancia de la central, diferenciando a flor ésta o las tres. La inducción floral depende del tipo de ramo donde se encuentre la yema, de forma que de cada botón se puede obtener una, e incluso dos o tres flores (Felipe, 2000). Las hojas poseen forma variable, son alternas, lanceoladas mayoritariamente, con el peciolo muy marcado y el limbo dentado, de color verde brillante el haz y más mate el envés. La floración del almendro es de las más tempranas respecto de otros frutales, aunque algunas variedades lo hacen hasta varios

meses después. Las flores son hermafroditas, y pese a que en muchas ocasiones la disposición física estilo/estambres es adecuada, la autopolinización es baja por ser autoestériles en gran medida, por lo que es necesaria la polinización cruzada entre al menos dos variedades con polen compatible (Salazar et al., 2019). La flor presenta un cáliz con cinco sépalos y una corola con otros tantos pétalos ovales de tamaño variable y colores que van desde el blanco hasta el rosa o rojizo intenso.

El fruto es una drupa oval que presenta un crecimiento muy rápido durante 6-8 semanas, tras el cual continúa con un proceso de maduración más largo. Aunque suele tener una semilla sola, en algunos cultivares se da la posibilidad de aparición de semillas dobles, que deprecian mucho su valor comercial. Los cotiledones tienen al principio de su desarrollo una textura acuosa, que se vuelve gelatinosa y posteriormente se endurece hasta lograr una consistencia compacta en la maduración (Salazar et al., 2019). El exocarpio y mesocarpio se van deshidratando en la medida que avanza la maduración del fruto hasta que finalmente se seca y abre dejando visible el endocarpio o cáscara, muy lignificada en la mayoría de las variedades españolas, no ocurriendo así en otras como por ejemplo las californianas. La forma, consistencia y el tamaño de la almendra son características que distinguen a algunas variedades de otras. La Unión Internacional para la Protección de los Vegetales diferencia cuatro tipos: redondo, acorazonado, elíptico y alargado; a la que se suma la amigdaloides (Felipe, 2000). La lignificación y dureza del endocarpio o cáscara da lugar a la clasificación de cinco grupos de variedades (Felipe, 2000):

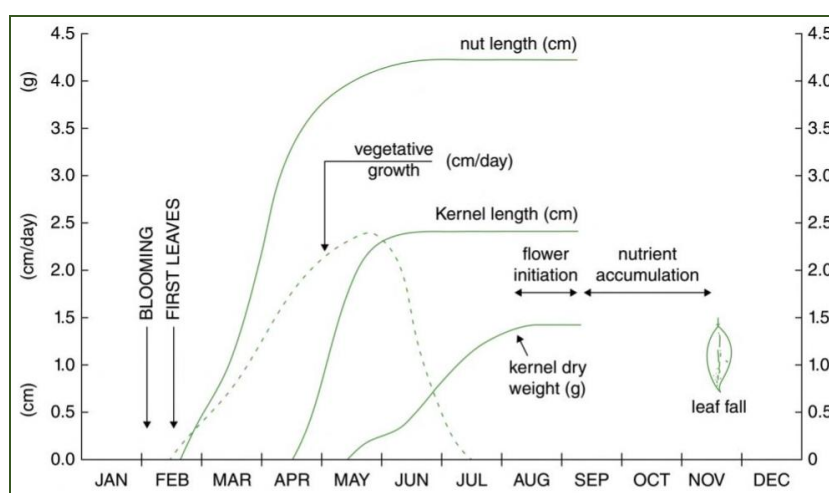
- Muy dura: *Marcona, Desmaylo L., Glorieta,...*
- Dura: *Tuono, Ferraduel, Marta, ...*
- Semimollar: *Ferragnes, Lauranne, Ai,...*
- Mollar: *Carmel, Primorskii,...*
- Muy blanda: *Nonpareil, Sonora, ...*

Un factor importante en la rentabilidad del cultivo es su rendimiento, típico de cada variedad, que viene determinado por la relación entre el peso de la semilla y el peso de la almendra (semilla+cáscara), siendo en general más bajo en las variedades de cáscara dura y más alto en la mollares o de cáscara blanda. En España predominan las variedades de cáscara dura, que permite su almacenaje durante mayor tiempo sin peligro de enranciamiento. La parte del fruto comestible, que se consume, es la semilla, por lo que sus características son las que van a condicionar el mayor o menor interés comercial, así como su mejor destino (como fruto seco, para dulces navideños, en confitería, en elaboración de helados, para cosmética, en industria farmacéutica, ...). Aspectos como la forma, peso, tamaño, color, rugosidad, composición química (grasas, proteínas, azúcares, fibra, etc.), que son rasgos varietales, corresponden a parámetros de calidad importantes que se valoran por el mercado (Salazar et al., 2019).



El desarrollo del ciclo anual del almendro en producción está afectado por la exigencia en horas frío, por las necesidades de horas de calor, así como por otros factores como la disminución y aumento de la intensidad lumínica, el número de horas luz/día, la diferencia de temperatura entre el día y la noche, la velocidad del descenso térmico, y la humedad del aire y del suelo (Salazar et al., 2019). El seguimiento, a lo largo del ciclo biológico anual del cultivo, de la evolución de las fases consecutivas de desarrollo o estados fenológicos es muy importante para la gestión del manejo de las labores culturales, aplicación de nutrientes, riego, etc.

Para que un cultivo sea viable económicamente ha de lograr una buena cosecha en calidad y en cantidad. Una adecuada floración con un gran número de flores y su polinización efectiva debe ser una constante a lo largo de la vida útil del árbol, manteniendo un equilibrio entre el crecimiento vegetativo y la producción de frutos. Estos hechos subrayan la importancia del ciclo reproductivo del almendro, que arranca con la inducción floral y finaliza en torno a un año después con la recolección (**Fig. 5.4**).



**Figura 5.4.** Ciclo anual del crecimiento del almendro (Felipe, 2000).

### 3.2.4 Exigencias ambientales del almendro

El almendro posee una alta capacidad de adaptación al medio, puede cultivarse entre los 20° y 45° de latitud, preferentemente en regiones con clima mediterráneo, y también en áreas de las zonas templada y subtropical, con temperaturas medias anuales entre 8 y 15 °C. Altitudes entre 200 y 400 m son las idóneas para obtener una buena respuesta del cultivo (Felipe, 2000). Es exigente en iluminación para un adecuado desarrollo vegetativo y productivo; con diferentes exigencias según el cultivar; por ejemplo, las necesidades de *Tuono* y *Marcona* son bajas, mientras que las de *Ferragnes* y *Ferraduel* son mayores.

El almendro, al igual que a otras especies del género *Prunus*, requiere tener un periodo mínimo de parada invernal, aunque sus necesidades de horas frío son bastante bajas, pues oscilan entre las 100 y las 400 horas frío según variedad (Grasselly y Duval, 1997). Durante el primer período de la latencia, definido como endolatenia, la planta debe cubrir sus necesidades de frío para salir del reposo vegetativo invernal. Después de la finalización de la endolatenia, comienza la ecolatenia, en la que el desarrollo de las yemas depende especialmente de la acumulación de calor, considerándose su final con la antesis (Tabuenca, 1972). En función de las exigencias en horas frío las variedades se pueden clasificar desde las que poseen muy bajas necesidades, bajas (*Desmayo largueta*, *Marcona*, *Nonpareil*), medias (*Texas*), altas (*Tuono*) o muy altas (*Ferragnes*). Respecto a las necesidades de horas de calor existe una variabilidad mayor entre los diferentes cultivares, habiendo una relación directa entre las fechas de floración y sus necesidades de calor. Por ejemplo, las variedades *Tuono*, *Masbovera*, *Ferragnes* y *Lauranne* muestran unas necesidades en calor altas (floración tardía), mientras que los cultivares *Desmayo Largueta*, *Marcona*, *Ramillete*, muestran unas necesidades menores en calor (floración más temprana) (Alonso et al., 2005).

El almendro es resistente a las heladas en estado de reposo invernal, ya que soporta valores hasta de -20 °C (Muncharaz, 2017), pero a partir del desborre aumenta su sensibilidad, siendo máxima tras el cuajado, y continúa mientras el fruto presenta los cotiledones en estado lechoso. Por otro lado, soporta bien los veranos cálidos y secos. Si las temperaturas aumentan mucho puede disminuir la actividad fotosintética, como sistema de protección, entrando en parada vegetativa si se superan los 35 °C. Se adapta a la sequía y es capaz de sobrevivir en climas semiáridos donde la pluviometría no supera los 150 mm anuales. No obstante, para obtener buen desarrollo y producción precisa un volumen aportado complementariamente mediante riego o bien lluvias bastante mayores.

El almendro es una especie rústica, por lo que se puede desarrollar en suelos pobres, con bajo nivel de materia orgánica, siempre y cuando sean profundos y permeables (Felipe, 2000). Por otra parte, requiere suelos alcalinos o neutros y es sensible a la salinidad. En cualquier caso, los patrones disponibles hoy en día permiten soslayar en buena medida las circunstancias adversas para las condiciones particulares de cada finca, así como ofrecer comportamientos que se ajusten al sistema de cultivo que se establezca. El almendro es bastante tolerante a la escasez de agua en condiciones de sequía, sin embargo, responde con producciones crecientes en la medida que recibe aumentos progresivos de dosis de agua, con valores altos comparado con otros cultivos, por lo que se puede afirmar que en este cultivo el agua es un factor limitante de primer orden de la producción. Los árboles pueden sobrevivir con apenas 200 mm anuales, mientras que su techo productivo se alcanza con más de 1.400 mm al año con las condiciones de muchas áreas de cultivo en California (Doll y Shackel 2015).

Las necesidades de agua de los cultivos vienen determinadas por la demanda evaporativa de la atmósfera que está relacionada con variables climáticas tales como temperatura, humedad relativa, radiación solar y velocidad del viento. Uno de los métodos habituales de cuantificar la demanda de un cultivo es a partir de la  $ET_c$  que se calcula multiplicando el coeficiente de cultivo  $K_c$  por la evapotranspiración de referencia:  $ET_c = K_c \times ET_o$ . En el cultivo del almendro varios autores han realizado estudios para la obtención de su  $K_c$  en los últimos años, en los que se han obtenido valores distintos para cada mes del año y cultivar, como muestra la **Tabla 5.2**. Cabe señalar que cuando se registraron los primeros datos de ET, el principal método de riego era por superficie (a manta), mientras que en los estudios más recientes se utilizaron los sistemas de riego localizado de alta frecuencia. El aumento de los valores de  $K_c$  probablemente obedezca al incremento en las densidades de los árboles en las plantaciones recientes, a las copas más frondosas de los árboles y a mayores cosechas. Además, al ser el riego más frecuente hay mayor humedad superficial durante más tiempo y, por tanto, mayor evaporación en la superficie.

**Tabla 5.2.** Valores de  $K_c$  en almendro adulto obtenidos mensualmente por diferentes autores (Doll, 2017).

|           | Doorenbos<br>And Pruitt<br>1977 | Fereres<br>and Puech<br>1981 | Sanden<br>2007 | Goldhamer<br>and Girona<br>2012 | Girona<br>et al<br>2005 | Doll and<br>Shackel<br>2015 |
|-----------|---------------------------------|------------------------------|----------------|---------------------------------|-------------------------|-----------------------------|
| January   |                                 |                              |                |                                 |                         | 0,40                        |
| February  |                                 |                              |                |                                 |                         | 0,41                        |
| March     | 0,50                            | 0,60                         | 0,59           | 0,20                            | 0,40                    | 0,62                        |
| April     | 0,75                            | 0,71                         | 0,78           | 0,67                            | 0,65                    | 0,80                        |
| May       | 0,90                            | 0,84                         | 0,92           | 0,95                            | 0,80                    | 0,94                        |
| June      | 0,95                            | 0,92                         | 1,01           | 1,09                            | 0,92                    | 1,05                        |
| July      | 0,95                            | 0,96                         | 1,08           | 1,15                            | 0,96                    | 1,11                        |
| August    | 0,95                            | 0,96                         | 1,08           | 1,17                            | 1,05                    | 1,11                        |
| September | 0,85                            | 0,91                         | 1,02           | 1,12                            | 0,85                    | 1,06                        |
| October   | 0,80                            | 0,79                         | 0,89           | 0,85                            | 0,60                    | 0,92                        |
| November  | 0,70                            |                              | 0,69           |                                 | 0,40                    | 0,69                        |
| December  |                                 |                              |                |                                 |                         | 0,43                        |

### 3.3 Herramientas para la interpretación y diagnóstico nutricional de los cultivos

Uno de los factores que más afectan a la producción y calidad de la cosecha es el manejo de la fertilización. Para hacer una buena gestión de la fertilización es necesario realizar un buen diagnóstico nutricional de los cultivos. **El análisis de tejido vegetal** ofrece una medida del estado actual de los nutrientes en una planta, y, suele ser útil para diagnosticar las deficiencias y toxicidades minerales. La composición mineral de un tejido vegetal refleja, de forma integral, muchos factores que incluyen la etapa de desarrollo de la planta, las condiciones climáticas, la

disponibilidad de elementos minerales en el suelo, la distribución y actividad de las raíces, y el riego.

El análisis de material vegetal utilizado como método de diagnóstico nutricional de las plantas se remonta a los primeros años del siglo XX. Durante este tiempo se han desarrollado una serie de rangos nutricionales que se usan como guía en el manejo de los nutrientes para obtener una producción óptima del cultivo, al mismo tiempo que se minimiza el impacto ambiental y el coste económico de la fertilización (Reuter y Robinson, 1997). El análisis vegetal es una herramienta sumamente eficaz para evaluar la nutrición del cultivo, ya que el contenido de nutrientes presente en la planta es un valor que resulta de la interacción entre ella, el ambiente y el manejo de la fertilización. El desarrollo práctico de esta técnica comprende una secuencia de procedimientos, todos ellos con igual importancia: el muestreo en el campo, el análisis químico en el laboratorio y la interpretación de los resultados obtenidos (Correndo y García, 2012).

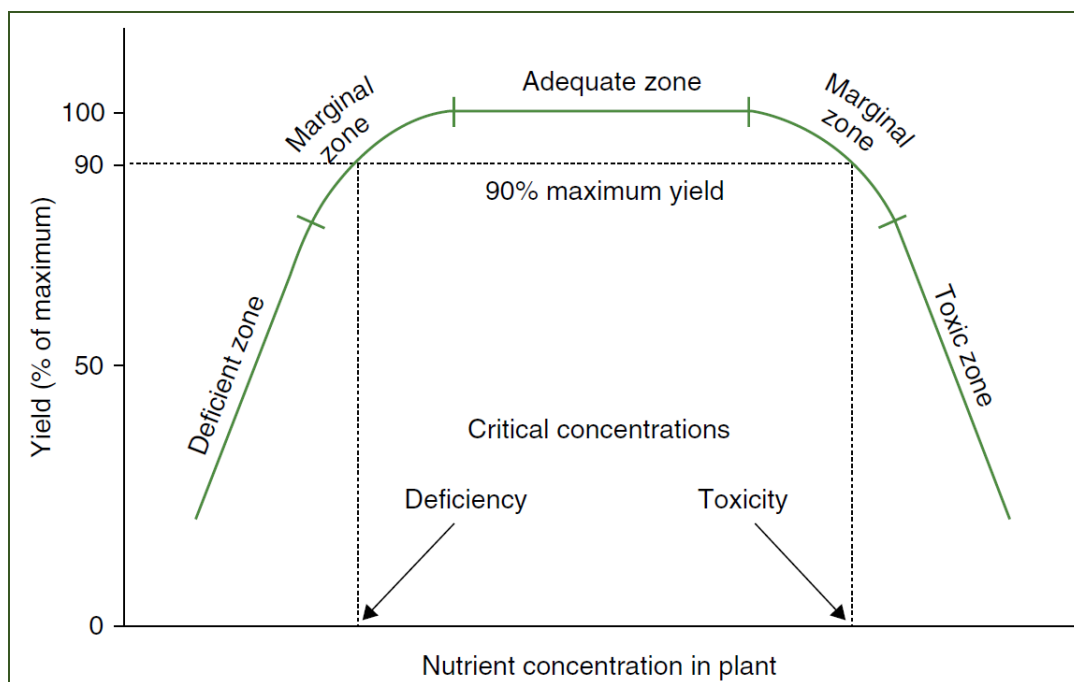
Un aspecto fundamental para obtener datos confiables de los análisis es que el proceso de toma de muestras o muestreo sea adecuado, es decir, sea representativo de la finca objeto de estudio. En el caso de material vegetal (foliar, savia, flores, etc.) además han de tenerse en cuenta los protocolos propios para cada especie, en cuanto a tipo de tejido seleccionado, estado fenológico, posición en la planta, etc. Si bien es cierto que generalmente el tejido foliar es el que mejor refleja el estado nutricional, no es válida cualquier hoja de la planta; como regla general las muestras se deben tomar sólo incluyendo tejidos similares y en el mismo estado fisiológico a los definidos por la referencia con la cual se compararan los resultados del análisis, es decir, siguiendo las instrucciones correspondientes al método de interpretación que se va a utilizar (Correndo y García, 2012). La toma de muestras se realiza de tal forma que el material recolectado resulte representativo del cultivo en la parcela o campo contemplados. A continuación, se envía al laboratorio para proceder al análisis químico de dicho tejido vegetal, con el objetivo de determinar el contenido de elementos nutricionales que presenta el cultivo. Los resultados obtenidos de macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg, S) se expresan, generalmente en porcentaje (%),  $\text{g } 100 \text{ g ps}^{-1}$  o en  $\text{g kg}^{-1}$  sobre materia seca, mientras que los micronutrientes (Fe, Mn, Cu, Zn, B, Mo, Cl) se expresan en  $\text{mg kg}^{-1}$  (equivalente a ppm), también en relación con la masa seca.

Existen varias metodologías para la explicación de los resultados de los análisis vegetales. El **diagnóstico foliar basado en el nivel crítico** es uno de los criterios más difundidos de interpretación del análisis de plantas, y requiere que la concentración de nutrientes sea comparada con valores estándares para un determinado elemento, cultivo, estado fenológico y órgano establecido (Bates, 1971). En la obtención de los niveles críticos se consideran como tal a la concentración mínima del nutriente con la que se logra 90-95 % del crecimiento y/o producción máximos. Se han desarrollado curvas de valor crítico (CV) para muchos cultivos,

establecidas comparando los rendimientos de las plantas con la concentración de nutrientes en los tejidos bajo condiciones experimentales controladas, y se utilizan para definir los niveles óptimos para cada elemento de un cultivo dado. Las curvas se componen de cuatro zonas (**Fig. 5.5**):

- La zona de deficiencia, en la que los síntomas foliares de carencia son claramente evidentes y un aumento de concentración del nutriente en el tejido da como resultado un aumento en la producción y una disminución de los síntomas.
- La zona de transición o “marginal”, en la que los síntomas de deficiencia pueden ser o no apreciables, pero el rendimiento sí está comprometido.
- La zona adecuada, en la cual el crecimiento es máximo, no hay síntomas de carencias en absoluto y en donde un aumento en la concentración de nutrientes no tiene efecto alguno sobre el rendimiento.
- La zona de toxicidad, en la que pueden manifestarse síntomas visuales por el exceso y los incrementos del nutriente ocasionan una pérdida de rendimiento debido a la toxicidad.

Una de las debilidades de este criterio de niveles críticos es que estos valores pueden variar incluso un 25% o más en función de diferentes condiciones edafoclimáticas.



**Figura 5.5.** Curva del valor crítico para el diagnóstico de deficiencia de nutrientes y toxicidad en plantas (Smith y Loneragan, 1997).

Una alternativa al método de interpretación mediante el nivel crítico es el **criterio de suficiencia o rangos de suficiencia**, que es mucho más utilizado, y consiste en los análisis foliares se interpreten por medio de rangos o intervalos. Así para un análisis determinado se

considera óptima si las concentraciones de los nutrientes están dentro del rango o intervalo de suficiencia. Emplear rangos de suficiencia en lugar de niveles críticos tiene sus ventajas ya que estos últimos no son puntos concretos de inflexión, y los rangos permiten sobre todo la identificación de deficiencias asintomáticas, que muchas veces pueden encontrarse por encima del nivel crítico (Campbell y Plank, 2000). Los análisis que detectan valores situados en los rangos de “bajo” a “deficiente” pueden estar asociados a síntomas visibles de deficiencias y/o rendimientos reducidos. Por el contrario, aquellos análisis que arrojan datos encuadrados en los rangos “altos” o de “exceso”, se asocian a consumos de lujo o a situaciones de toxicidad que conducen potencialmente a rendimientos bajos o mala calidad de la cosecha (Melgar et al., 2011). Los niveles de referencia pueden depender de la época del año en la que se cogen las muestras e incluso de la zona geográfica como se puede ver en los diferentes intervalos que se muestran en las **Tablas 5.3 y 5.4** para el cultivo del almendro.

**Tabla 5.3.** Niveles de referencia de análisis de hojas de almendro en Australia y California con muestreo 16-20 semanas tras la floración (Almond Board of Australia Inc., 2021).

|      | Valores actuales en Australia | Valores actuales en California | Valores propuestos en Australia |
|------|-------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| N %  | 2,0 – 2,5                     | 2,2 – 2,5                      | 2,5 – 2,7                       |
| P %  | >0,1                          | 0,1 – 0,3                      | > 0,1                           |
| K %  | 1,4 – 1,7                     | > 1,4                          | 2,2 – 2,5                       |
| Ca % | > 2,0                         | > 2,0                          | > 2,0                           |
| Mg % | > 0,25                        | > 0,25                         | > 0,40                          |

**Tabla 5.4.** Niveles de referencia de análisis de hojas de almendro indicadas para producción integrada en Murcia (CARM, 2021) y en Andalucía (Junta de Andalucía, 2021).

|      | Valores en Murcia 2012 muestreo 2ª quincena junio | Valores en Murcia 2014 muestreo 2ª quincena junio | Valores en Andalucía 2012 muestreo julio |
|------|---|---|--|
| N %  | 2,2 – 2,5   | 2,2 – 3,0   | 2,2 – 2,5                                |
| P %  | 0,1 – 0,3   | 0,1 – 0,3   | 0,1 – 0,3                                |
| K %  | 1,0 – 2,0   | 1,0 – 2,3   | >1,4                                     |
| Ca % | 2,0 – 4,0   | 2,0 – 4,0   | > 2,0                                    |
| Mg % | 0,25 – 0,75                                       | 0,25 – 0,75                                       | > 0,25                                   |

Por otro lado, las comparaciones basadas en los valores estándar son una metodología básica que considera cada nutriente de forma independiente, y esto dificulta la aplicación del concepto de equilibrio nutricional, ya que sólo puede identificar un nutriente en cada momento (Beverly, 1991). Esto hace que no se tengan en cuenta los problemas ocasionados por las interacciones que pueda haber entre los distintos nutrientes (Schaller et al., 2002). La mala interpretación de los análisis foliares que puede ocasionar no tener en cuenta las interacciones se puede solucionar con otros medios de interpretación en los que se utilizan las normas DRIS (Sistema integrado de diagnóstico y recomendación) o normas CND (Beaufils, 1973; Elwali et al., 1985).

### 3.3.1 Normas DRIS

La importancia de la concentración y del equilibrio de los nutrientes esenciales en los tejidos vegetales para determinar la producción y la calidad de los cultivos está bien establecida, pero no había habido forma de cuantificarlo hasta la puesta en marcha del Sistema Integrado de Diagnóstico y Recomendación (DRIS), propuesto y desarrollado por Beaufils (1957 y 1973) inicialmente en trabajos sobre fisiología y nutrición vegetal en el cultivo de caucho (*Hevea brasiliensis*). El método consiste en el uso de relaciones de los valores obtenidos para los elementos analizados, en lugar de hacerlo directamente con los niveles individuales de concentración de los nutrientes en hoja.

Las bases en las que se sustenta este sistema son:

- Las proporciones/relaciones entre los nutrientes de las hojas son habitualmente mejores factores indicativos de excesos o deficiencias que los propios valores de las concentraciones aisladas.
- Algunas proporciones de nutrientes son más importantes o significativas que otros.
- Las producciones máximas sólo se logran cuando las relaciones entre los nutrientes más importantes están cerca del nivel ideal u óptimo (obtenido en poblaciones seleccionadas de alto rendimiento).
- La varianza obtenida de una relación importante de nutrientes es menor en una población de referencia, con alto rendimiento, que en otra población que presente un rendimiento claramente inferior o bajo.
- Los índices DRIS se pueden calcular individualmente para cada nutriente usando la desviación promedio de la relación de nutrientes obtenida de la comparación con el valor óptimo de un nutriente dado. El valor ideal del índice para cada nutriente debe ser cero.

A partir de la propuesta inicial de DRIS se desarrollaron y publicaron normas para la interpretación de los análisis foliares no sólo para cultivos agrícolas sino también forestales, expandiéndose en pocos años por distintos países del resto del mundo como Canadá, Estados Unidos, China, etc, (López, 1998). Hay muchos cultivos tanto herbáceos como leñosos en los que se ha desarrollado este método para evaluar su estado nutricional, tales como la piña (Sema et al., 2010), el algodón (Serra et al., 2012), el arroz (Guindani et al., 2009), la patata (Bailey et al., 2009), el café (Nick, 1998; Reis Jr et al., 2002), la caña de azúcar (McCray et al., 2010), el naranjo (Mourão Filho et al., 2003), el manzano (Natchigall et al., 2007), el mango (Hundal et al., 2005), el maíz (Urricariet et al., 2004), la soja (Urano et al., 2007), el eucalipto (Wadt et al., 1998), entre otros cultivos. Algunas de estas normas se mostrarán más adelante.

El método DRIS muestra los resultados del diagnóstico nutricional de la planta mediante índices, que representan, en una escala numérica continua, el efecto de cada nutriente en el equilibrio nutricional de la planta. Estos índices se expresan en orden, desde los valores más

negativos hasta los más positivos, e indican así mismo la escala de todos los nutrientes en cuestión desde los de mayor deficiencia hasta los que se encuentran en exceso. Cuanto más cerca de cero estén los índices para todos los elementos, más próxima estará la planta de presentar en su conjunto unos niveles adecuados y proporcionados entre ellos (Walworth y Sumner, 1987). Este sistema de interpretación proporciona información para identificar posibles desequilibrios simultáneos, tanto los generados por valores carenciales como, al contrario, por cifras excesivas de los nutrientes en los tejidos, y también poderlos clasificar en orden de importancia. Puede detectar casos de limitación de la producción debido a la desproporción entre nutrientes, incluso cuando ninguno de ellos está por debajo del nivel crítico. Además, permite obtener el índice de balance nutricional (NBI) de la planta, a través de los efectos combinados de los nutrientes (Baldoek y Schulte, 1996).

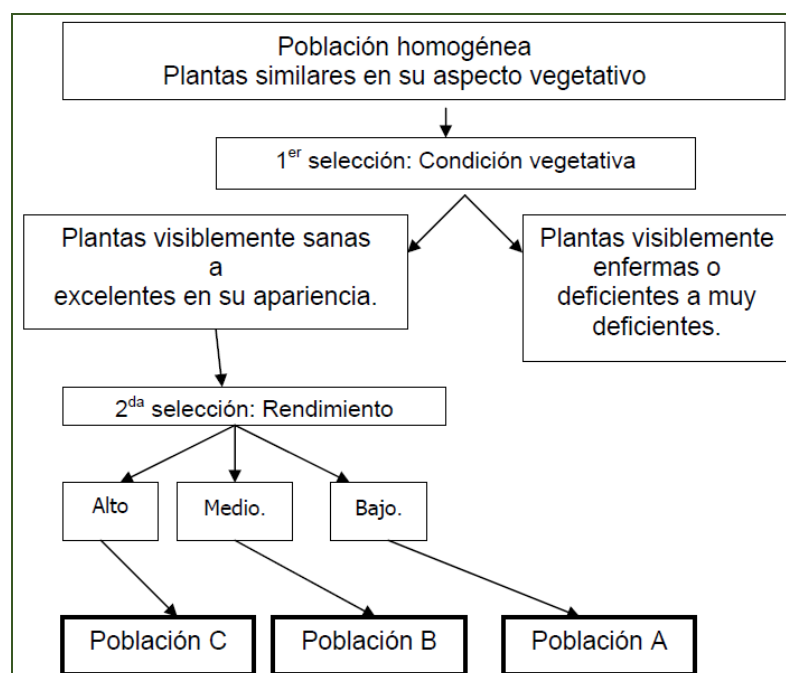
Con el envejecimiento de los tejidos varía el contenido de los elementos, es decir, su concentración respecto de la materia seca. Según Beaufils (1973) y Walworth y Sumner (1987), con el crecimiento del tejido foliar, por un lado, disminuye la concentración de nitrógeno, fósforo, potasio y azufre y por otro aumenta el nivel de calcio y de magnesio en las hojas más viejas. Una ventaja importante del DRIS es que tiene la capacidad de minimizar el efecto que supone la edad del tejido en cuanto a acumulación de biomasa sobre el diagnóstico, lo cual permite muestrear en un periodo con un rango más amplio de tiempo respecto de lo que exigen las indicaciones para la dinámica convencional del valor crítico o de rangos de suficiencia. Son varios los investigadores que afirman que cuando se han obtenido las normas DRIS para la composición foliar de un cultivo determinado, son universales y aplicables a dicho cultivo en particular, aunque esté localizado en cualquier otro lugar y en cualquier etapa de su desarrollo.

El primer paso en la realización del método DRIS, para evaluar el estado nutricional de cualquier cultivo, es establecer las normas o estándares DRIS, que consisten en el promedio y desviación estándar de la relación dual por pares en cocientes y productos entre todos los nutrientes (N/P, P/N, N/K, K/N, etc.) que se obtienen a partir de una población de referencia (población B proveniente de la selección basada en rendimientos medios y con condiciones de excelentes a intermedias, **Fig. 5.6**), elegida de entre el conjunto de la población considerando las variables establecidas, tales como tipo de suelo, clima, especie y cultivar, etc. (Beaufils, 1973).

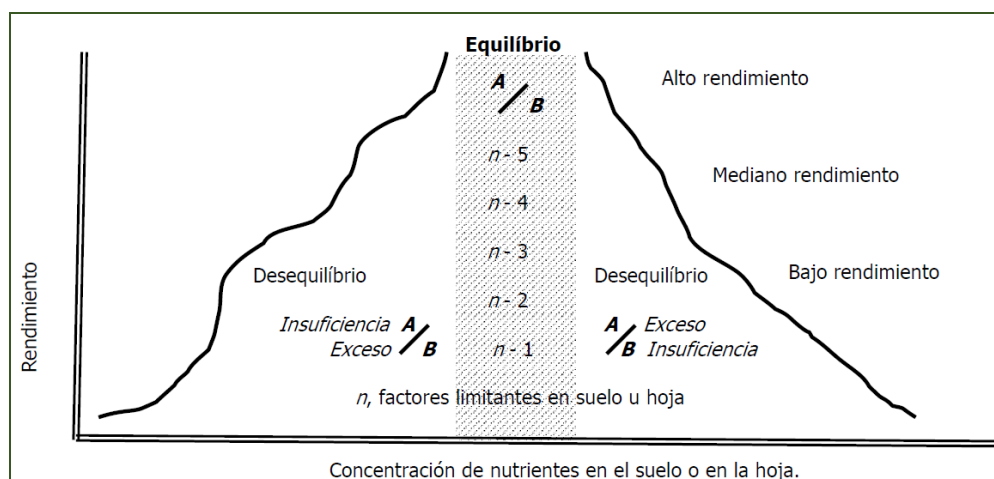
Otra propuesta para desarrollar las normas de diagnóstico DRIS es a partir de la composición foliar de las plantas con los niveles de producción más altos (**Fig. 5.7**) (Beaufils y Sumner, 1976). Cuanto mayor sea el rendimiento, la media de las variables del equilibrio nutricional (A/B), se aproximará a un valor constante muy ligado al equilibrio nutricional (área sombreada de la **Fig. 5.7**). En la medida que las plantas se acerquen a la parte superior de la curva, estarán menos afectadas por los factores nutricionales limitantes, el número de individuos disminuye,



estando más equilibrados nutricionalmente en el cociente A/B, y les permitirá expresar los más altos rendimientos en el contexto del equilibrio nutricional.



**Figura 5.6.** Esquema propuesto por Beauflis (1973), para la selección de la población de referencia.



**Figura 5.7.** Representación esquemática del equilibrio nutricional (A/B), en respuesta de los cultivos, desde  $n$  numerosos factores limitantes a cada vez, menos factores limitantes, de  $n-1$  a  $n-5$  (Adaptado de Walworth y Sumner, 1987).

De acuerdo con la propuesta de Beauflis (1973) se presentan en las **Tablas 5.5** y **5.6** todas las combinaciones posibles de expresión de las normas DRIS en forma de cocientes y productos para los cinco macroelementos N, P, K Ca y Mg (extensible a todos los nutrientes). Debido a que las combinaciones comprenden el cociente directo (A/B) y su inverso (B/A), así como su producto (A x B), se obtienen un total de 30 combinaciones.

Por otra parte, Sumner (1977), fundamenta sus argumentos en que las formas de expresión de los valores de referencia o normas DRIS, van a depender de la fisiología del nutriente. De esta forma, cuando las concentraciones de dos nutrientes disminuyen o aumentan con la edad del tejido, es decir que van en una misma dirección, las formas de expresión como cocientes son las más apropiadas, pero si por el contrario son divergentes, es decir, siguen en direcciones opuestas, la mejor forma de expresión es el producto entre los nutrientes.

**Tabla 5.5.** Formas de expresión de las normas DRIS como cocientes, según la propuesta de Beaufils (1973).

|           | <b>N</b> | <b>P</b> | <b>K</b> | <b>Ca</b> | <b>Mg</b> |
|-----------|----------|----------|----------|-----------|-----------|
| <b>N</b>  |          | N/P      | N/K      | N/Ca      | N/Mg      |
| <b>P</b>  | P/N      |          | P/K      | P/Ca      | P/Mg      |
| <b>K</b>  | K/N      | K/P      |          | K/Ca      | K/Mg      |
| <b>Ca</b> | Ca/N     | Ca/P     | Ca/K     |           | Ca/Mg     |
| <b>Mg</b> | Mg/N     | Mg/P     | Mg/K     | Mg/Ca     |           |

**Tabla 5.6.** Formas de expresión de las normas DRIS como productos, según la propuesta de Beaufils (1973).

|           | <b>N</b> | <b>P</b> | <b>K</b> | <b>Ca</b> | <b>Mg</b> |
|-----------|----------|----------|----------|-----------|-----------|
| <b>N</b>  |          | NxP      | NxK      | NxCa      | NxMg      |
| <b>P</b>  |          |          | PxK      | PxCa      | PxMg      |
| <b>K</b>  |          |          |          | KxCa      | KxMg      |
| <b>Ca</b> |          |          |          |           | CaxMg     |
| <b>Mg</b> |          |          |          |           |           |

La base de datos para elaborar las normas DRIS incluye la producción del cultivo y los resultados del análisis del tejido de la hoja, y se pueden obtener tanto si provienen de fincas de cultivos comerciales o bien de otras que sean experimentales. El tamaño del banco de datos es un factor que no está relacionado directamente con la calidad de las normas DRIS obtenidas (Walworth et al., 1987; Sumner, 1977). En una investigación, cuando se utilizaron 10 datos para establecer las normas DRIS, los resultados obtenidos fueron más precisos que con el uso de una gran cantidad de datos (Walworth et al., 1986). Lo más importante para obtener la eficacia es partir de una alta calidad de los datos en consonancia con el objetivo perseguido, por ejemplo, siendo muy cuidadosos en la selección de las plantas elegidas dentro de los parámetros definidos para el muestreo, de forma que el banco de datos presente normalidad en la distribución de sus valores. En el caso de las relaciones entre pares de nutrientes bien sean cocientes (A/B o B/A), o productos (Ax B), la prueba de discriminación en una base de datos con dos grupos (población de referencia y de no referencia) será la resultante de la elección de la que muestre la mayor relación de varianzas entre el grupo de menor rendimiento y el de

mayor rendimiento. para cualquier forma de expresión (Jones, 1981; Walworth y Sumner, 1987), de la siguiente forma:

Si,  $\frac{S_{1(A/B)}^2}{S_{2(A/B)}^2} > \frac{S_{1(B/A)}^2}{S_{2(B/A)}^2}$ , entonces el cociente A/B se utiliza como norma

Si,  $\frac{S_{1(A/B)}^2}{S_{2(A/B)}^2} < \frac{S_{1(B/A)}^2}{S_{2(B/A)}^2}$  entonces el cociente B/A se utiliza como norma

Donde:  $S_{1(A/B)}^2$  es la varianza de los valores de A/B en la subpoblación de menor rendimiento.

$S_{2(A/B)}^2$  es la varianza de los valores de A/B en la subpoblación de mayor rendimiento.

$S_{1(B/A)}^2$  es la varianza de los valores de B/A en la subpoblación de menor rendimiento.

$S_{2(B/A)}^2$  es la varianza de los valores de B/A en la subpoblación de mayor rendimiento.

La interpretación de los resultados de un análisis foliar y la elaboración del diagnóstico nutricional del cultivo se realiza mediante el estudio de las relaciones de equilibrio entre todos los elementos analizados, para lo cual se necesita el cálculo de los índices de nutrientes DRIS, para cada elemento concreto. Las fórmulas desarrolladas para la obtención de dichos índices se basan en las operaciones sumatorias en las que ha intervenido el elemento, a partir de las fórmulas de las funciones  $f(A/B)$ , que pueden ser definidas por la metodología originalmente desarrollada por Beaufils (1973) o por Jones (1981), u otras planteadas posteriormente.

Las funciones DRIS de Beaufils (1973), son las siguientes:

$$f(A/B) = \left[ \frac{A/B}{a/b} - 1 \right] \frac{100 K}{CV}, \text{ si } A/B > a/b$$

$$f(A/B) = \left[ 1 - \frac{a/b}{A/B} \right] \frac{100 K}{CV}, \text{ si } A/B < a/b$$

$$f(A/B) = \left[ \frac{a/b}{A/B} - 1 \right] \frac{100 K}{CV}$$

Las funciones DRIS de Jones (1981), son las siguientes:

$$f(A/B) = \left[ \frac{A/B - a/b}{S a/b} * 10 \right]$$

Siendo:

A/B: expresión calculada con los datos del análisis.

a/b: expresión utilizada como valor de referencia o norma DRIS.

CV: coeficiente de variación de la norma DRIS, en la población de referencia.

k: factor que asegura que los valores de los índices sean enteros (Walworth y Sumner, 1987), habitualmente 10.

S a/b: desviación estándar de la norma DRIS, en la población de referencia.

Después de obtener los resultados con las funciones se determina el cálculo del índice DRIS para cada nutriente, facilitando la interpretación de las numerosas y complejas comparaciones realizadas con las funciones en una muestra. La definición del concepto del índice de los nutrientes DRIS o I-DRIS es el parámetro de interpretación del equilibrio nutricional, y matemáticamente es la media de las desviaciones a partir del valor de referencia. Por ejemplo, para un nutriente cualquiera “A” el IA se calcula de la siguiente manera (Walworth y Sumner, 1987).

$$\text{Índice de A} = \frac{[f(A/B) + f(A/C) - f(D/A) + \dots + f(A/n)]}{z}$$

En la fórmula, “z” es el número de funciones en las que se encuentra presente el elemento en estudio.

De esta manera, los índices de interpretación del equilibrio nutricional de cada elemento son calculados como valores numéricos que pueden ser positivos, negativos o cero, los cuales representan la media aritmética de las funciones en las que interviene dicho nutriente. Sin embargo, las consideraciones del relativo exceso, equilibrio o deficiencia de un elemento con relación a los demás, no quieren decir precisamente que un nutriente individual está en una concentración excesiva, óptima o deficiente, dentro del tejido de la planta (Jones et al., 1991). Los resultados obtenidos para los datos de un análisis tras el cálculo de los valores se pueden ordenar de menor a mayor y realizar el estudio del equilibrio para el cultivo.

El diagnóstico del estado nutricional de plantas a través de su composición foliar depende de la precisión de las normas o promedios contra los cuales son comparados los resultados analíticos. Es decir, la precisión de un diagnóstico foliar depende de la constancia en la relación entre la composición foliar y la respuesta de los cultivos (Walworth y Sumner, 1987).

La suma de los índices I-DRIS, en módulo, de los nutrientes en una muestra para diagnosticar, da lugar al denominado índice de balance nutricional (NBI). Los resultados se interpretan en una escala numérica, de forma que a mayor NBI mayor desequilibrio del balance nutricional en la planta, y consecuentemente peor productividad y/o calidad en la cosecha; al contrario, si se obtienen cifras bajas próximas a cero se tratará de una situación óptima. Por otro lado, la correlación entre NBI y el rendimiento se considera una medida de la eficacia del propio sistema DRIS (Beaufils, 1973).

$$\text{NBI} = | \text{I-DRIS A} | + | \text{I-DRIS B} | + | \text{I-DRIS C} | + \dots + | \text{I-DRIS N} |$$

El método DRIS, además del diagnóstico del estado nutricional, puede ser una herramienta útil para indicar situaciones donde el rendimiento esté limitado por otros factores que no sean nutricionales. En cultivos de bajo rendimiento y bajo NBI se entiende que otros factores

podieran estar limitando la productividad, no siendo ocasionado por un problema del estado nutricional de la planta (Beaufils, 1973).

La interpretación del índice DRIS para la respuesta potencial de aplicación de nutrientes, fue introducido por Wadt (1996). Este método de interpretación consiste en agrupar cinco categorías de respuesta potencial de aplicación de nutrientes (NAPR), comparando las tasas de cada nutriente DRIS con el promedio del índice de equilibrio de nutrientes (NBIa), que se calcula mediante la media aritmética del módulo de todos los índices DRIS. El valor de NBIa fue utilizado como un dato que refleja la media de las desviaciones de cada ratio dual con respecto al valor de referencia (Wadt, 1996).

El estado nutricional de "deficiencia más alta" de un elemento se presenta como la situación en la que hay mayor probabilidad de respuesta positiva con la aplicación del nutriente, la cual debe estar correspondida por mayores producciones del cultivo, o por la mejora de la calidad del producto agrícola en un grado comercialmente deseado. A su vez, el estado de "deficiencia" también indica que es probable que aumente el rendimiento del cultivo con la aportación del nutriente, sin embargo, esta posibilidad es menor que en el caso para el nutriente con mayor grado de deficiencia ("mayor deficiencia") (Wadt, 1996).

El estado "equilibrado" significa que no se espera una respuesta del cultivo en relación con la aplicación del nutriente, o sea, que no habría respuesta o sería una respuesta del cultivo "nula". El estado nutricional de "máximo exceso" equivale a aquella situación en la que la aplicación del nutriente puede tener como resultado incluso una manifestación negativa en el desarrollo del cultivo o una pérdida o descenso de la productividad. Por otro lado, en el estado de "exceso" también la adición de nutrientes puede ocasionar problemas para el cultivo, tanto en su rendimiento como en la calidad de la producción (Wadt, 1996).

El concepto principal para considerar el aumento de la aplicación de cada nutriente al suelo en relación a su respuesta potencial es que este incremento debe adoptarse como un ajuste en la dosis de fertilizante aportado. Por ejemplo, cuando se está seguro de que el nutriente está en un estado de equilibrio y lo agrega al cultivo, no dará como resultado un rendimiento mejorado, sin embargo, no significa que este nutriente deba excluirse de la recomendación de fertilización prevista, sino que debe mantenerse en la programación de abonado en las mismas dosis que se han utilizado (Wadt, 1996).

### 3.3.2 Normas CND

El progresivo incremento del número de nutrientes utilizados de forma simultánea en la valoración de un diagnóstico conduce a una mayor consistencia y mejora de su calidad, hasta que se incluyan todos los elementos relevantes para la interpretación. Una aplicación razonada del análisis de componentes principales, posiblemente después de la transformación logarítmica para linealizar las funciones de las variables originales, podría mejorar la comprensión de la composición de la hoja en comparación con cualquier examen de nutrientes de forma univariante (CV), bivariante (razones duales a partir de DRIS), o herramientas diagnósticas trivariantes (diagramas ternarios) (Holland, 1966).

La composición de los tejidos de las plantas está constituida por un conjunto de datos de los distintos elementos que los incluyen, los cuales forman una estructura de dependencia entre ellos, ya que cualquier variación en cualquier parte de un todo debe afectar los valores relativos de las otras partes del todo (restricción de la suma acotada a uno o a 100). Es probable que las técnicas lineales para manejar dichos datos de composición sean inadecuadas y podrían conducir a inferencias dudosas o distorsionadas (Aitchison, 1986). La linealización mediante la "logaritmación" de las fracciones de nutrientes muestra gran potencial para realizar diagnósticos multivariados y análisis de componentes principales en los datos de nutrientes. El diagnóstico de composición de nutrientes (CND) se apoya en la teoría de análisis de datos de composición (CDA), es la expansión multivariante de CV y DRIS, y tiene en cuenta todas las posibles interacciones de los nutrientes. Los índices de nutrientes CND se componen de dos funciones separadas, una que considera las diferencias entre los niveles de nutrientes y otra que examina las diferencias entre los balances de nutrientes (definidos por las medias geométricas de los elementos), de los especímenes individuales y de los especímenes objetivo. Estas funciones indican que la insuficiencia de nutrientes puede corregirse añadiendo un solo elemento o aprovechando las interacciones múltiples entre ellos para mejorar el equilibrio nutricional en su conjunto.

El método de CND es un modelo basado en la estadística para individuos caracterizados por un conjunto de datos de composición (Parent y Dafir, 1992). La constitución de los tejidos de los vegetales forma una disposición de nutrientes d-dimensional, es decir, un simplex, complejo de simulación (Sd) formado por proporciones de nutrientes d + 1 que incluyen d nutrientes y un valor de llenado denominado Rd, que se define por las siguientes ecuaciones:

$$Sd = [(N, P, K, \dots, Rd) : N > 0, P > 0, K > 0, Rd > 0, \dots, N + P + K + \dots + Rd = 100]$$

$$Rd = 100 - (N + P + K + \dots)$$

Donde 100 es la materia seca; N, P, K, etc. son las concentraciones de los nutrientes (la suma de los componentes del tejido es del 100%).

Las relaciones usadas son respecto a la composición total, por lo que el efecto de variabilidad de un elemento sobre el resto de los nutrientes queda considerado como un efecto global, y no como la participación de varios valores individuales sobre cada uno de los restantes nutrientes, lo que supone una ventaja respecto al método DRIS.

Las proporciones de nutrientes se convierten en variables adimensionales después de ser divididas por la media geométrica (G) de los  $d + 1$  componentes, incluyendo el valor de llenado Rd (Aitchison, 1982). La fórmula puede expresarse como:

$$G = [ N \times P \times K \times \dots \times Rd ]^{1/(d+1)}$$

$V_X$  es la relación logarítmica de CND para el nutriente X, y se calcula mediante las ecuaciones siguientes para cada elemento:

$$V_N = \ln (N/G)$$

$$V_P = \ln (P/G)$$

$$V_K = \ln (K/G)$$

$$\dots / \dots$$

$$V_{Rd} = \ln (Rd/G)$$

$$V_N + V_P + V_K + \dots + V_{Rd} = 0$$

Esta última igualdad es el cálculo para garantizar que  $V_X$  se ha realizado correctamente. De igual forma que la suma de los componentes del tejido es del 100%, la suma de sus logaritmos, incluido el valor de llenado (Rd), debe ser cero.

Las funciones  $V_X$  se convierten en índice de nutrientes CND ( $I_X$ ) mediante un cálculo normalizado. El valor  $I_X$  es un contraste lineal logarítmico entre dos medias de relación logarítmica y funciones iguales a las del DRIS.  $V_N^*$ ,  $V_P^*$ ,  $V_K^*$ , ...,  $V_{Rd}^*$  y  $SD_N^*$ ,  $SD_P^*$ ,  $SD_K^*$ , ...,  $SD_{Rd}^*$  son las normas CND como medias y las desviaciones estándar de los cocientes logarítmicos de  $d$  nutrientes, respectivamente.

$$I_N = (V_N - V_N^*) / SD_N^*$$

$$I_P = (V_P - V_P^*) / SD_P^*$$

$$I_K = (V_K - V_K^*) / SD_K^*$$

$$\dots / \dots$$

$$I_{Rd} = (V_{Rd} - V_{Rd}^*) / SD_{Rd}^*$$

A partir de estos índices CND podemos interpretar los resultados de un análisis de una muestra problema.

La media del índice de desequilibrio de nutrientes de la CND es  $r^2$ . Este índice se utiliza para evaluar el estado nutricional de la planta; cuanto mayor sea el valor, mayor será el desequilibrio de la nutrición de la planta.

$$r^2 = I_N^2 + I_P^2 + I_K^2 + \dots + I_{Rd}^2$$

### 3.3.3 Ejemplos de normas DRIS y CND para almendro y otros cultivos

A continuación, se pueden ver algunos ejemplos de normas DRIS y CND diseñadas para cultivos como manzano, mandarina Satsuma, mango, palmera datilera y olivo.

**Tabla 5.7.** Normas DRIS para poblaciones de alto rendimiento y bajo rendimiento, junto con sus respectivos CV y desviaciones estándar (SD), de un cultivo de manzano (*Malus Domestica* Borkh: fuente Sofi et al., 2017).

| Normas | Alto rendimiento |         |        | Bajo rendimiento |         |        |
|--------|------------------|---------|--------|------------------|---------|--------|
|        | Valores          | CV      | SD     | Valores          | CV      | SD     |
| N/P    | 9,383            | 1,090   | 11,161 | 9,569            | 2,605   | 27,225 |
| N/Ca   | 1,150            | 0,07    | 6,305  | 1,064            | 0,208   | 19,575 |
| N/Mg   | 6,600            | 0,43    | 6,51   | 5,118            | 0,926   | 18,099 |
| N/S    | 7,207            | 0,42    | 5,927  | 5,598            | 1,347   | 24,075 |
| N/Fe   | 97,155           | 6,62    | 6,813  | 74,308           | 11,444  | 15,401 |
| N/Zn   | 1437,46          | 120,43  | 8,365  | 952,99           | 411,677 | 43,198 |
| N/B    | 777,276          | 73,23   | 9,428  | 766,173          | 220,835 | 28,823 |
| P/N    | 0,108            | 0,012   | 11,448 | 0,1113           | 0,0269  | 24,205 |
| P/Fe   | 10,447           | 1,004   | 9,610  | 8,097            | 1,655   | 20,444 |
| P/Zn   | 154,673          | 17,602  | 11,380 | 129,7802         | 35,291  | 27,193 |
| P/B    | 83,611           | 10,110  | 12,092 | 82,469           | 22,038  | 26,722 |
| K/N    | 0,653            | 0,087   | 13,329 | 1,373            | 0,314   | 22,901 |
| K/P    | 6,113            | 0,962   | 15,740 | 12,689           | 2,927   | 23,069 |
| K/Ca   | 0,749            | 0,094   | 12,570 | 1,412            | 0,193   | 13,725 |
| K/Mg   | 4,304            | 0,589   | 13,685 | 6,831            | 1,145   | 16,761 |
| K/S    | 4,694            | 0,568   | 12,113 | 5,056            | 1,250   | 24,726 |
| K/Fe   | 63,279           | 7,947   | 12,559 | 99,972           | 19,814  | 19,820 |
| K/Zn   | 937,632          | 140,766 | 15,013 | 1601,80          | 426,181 | 26,606 |
| K/B    | 505,554          | 65,921  | 13,039 | 1019,847         | 282,243 | 27,675 |
| Ca/N   | 0,872            | 0,050   | 5,741  | 0,971            | 0,163   | 16,853 |
| Ca/P   | 8,169            | 0,908   | 11,125 | 9,010            | 1,751   | 19,438 |
| Ca/Mg  | 5,743            | 0,300   | 5,234  | 4,842            | 0,476   | 9,840  |
| Ca/S   | 6,270            | 0,217   | 3,465  | 5,247            | 0,632   | 12,061 |
| Ca/Fe  | 84,547           | 4,545   | 3,465  | 70,703           | 8,509   | 12,035 |
| Ca/Zn  | 1251,300         | 96,339  | 7,698  | 1138,500         | 264,01  | 23,190 |
| Ca/B   | 676,615          | 60,169  | 8,892  | 727,677          | 193,776 | 26,629 |
| Mg/N   | 0,152            | 0,008   | 5,770  | 0,201            | 0,031   | 15,757 |
| Mg/P   | 1,424            | 0,155   | 10,930 | 1,867            | 0,348   | 18,668 |
| Mg/Ca  | 0,174            | 0,007   | 4,160  | 0,208            | 0,018   | 9,111  |
| Mg/S   | 1,093            | 0,047   | 4,379  | 1,096            | 0,177   | 16,172 |
| Mg/Fe  | 14,742           | 0,845   | 5,731  | 12,038           | 1,458   | 12,114 |
| Mg/Zn  | 218,210          | 17,403  | 7,975  | 235,405          | 52,262  | 22,200 |
| Mg/B   | 117,896          | 9,803   | 8,315  | 150,716          | 38,446  | 25,509 |
| S/N    | 0,139            | 0,007   | 5,476  | 0,188            | 0,041   | 22,050 |
| S/P    | 1,303            | 0,142   | 10,964 | 1,746            | 0,424   | 24,314 |
| S/Ca   | 0,160            | 0,005   | 3,492  | 0,193            | 0,023   | 12,032 |
| S/Mg   | 0,917            | 0,050   | 5,496  | 0,939            | 0,166   | 17,709 |
| S/Fe   | 13,495           | 0,765   | 5,671  | 13,7             | 2,716   | 19,788 |
| S/Zn   | 199,520          | 12,947  | 6,489  | 220,86           | 60,725  | 27,494 |
| S/B    | 107,941          | 9,243   | 8,563  | 140,983          | 44,295  | 31,419 |
| Fe/N   | 0,0103           | 0,0006  | 6,307  | 0,0138           | 0,0019  | 14,490 |
| Fe/P   | 0,0966           | 0,009   | 9,721  | 0,1286           | 0,0258  | 20,131 |
| Fe/Ca  | 0,0119           | 0,0006  | 5,321  | 0,0143           | 0,0016  | 16,638 |
| Fe/Mg  | 0,0681           | 0,0041  | 6,058  | 0,0690           | 0,0068  | 9,923  |
| Fe/S   | 0,0743           | 0,004   | 5,581  | 0,0755           | 0,0138  | 18,291 |
| Fe/Zn  | 14,815           | 1,091   | 7,366  | 16,292           | 4,323   | 26,541 |

Continuación



| Normas | Alto rendimiento |         |        | Bajo rendimiento |          |         |
|--------|------------------|---------|--------|------------------|----------|---------|
|        | Valores          | CV      | SD     | Valores          | CV       | SD      |
| Fe/Mn  | 1,394            | 0,357   | 25,604 | 1,4887           | 0,593    | 39,874  |
| Fe/B   | 8,008            | 0,624   | 7,800  | 10,408           | 2,934    | 28,199  |
| Zn/N   | 0,0007           | 0,00006 | 8,699  | 0,00090          | 0,00025  | 28,671  |
| Zn/Mg  | 0,00462          | 0,0004  | 9,361  | 0,00449          | 0,00114  | 25,531  |
| Zn/S   | 0,00503          | 0,0003  | 7,040  | 0,00492          | 0,00153  | 31,178  |
| Zn/Fe  | 0,0703           | 0,005   | 7,252  | 0,06577          | 0,0179   | 27,308  |
| Zn/B   | 0,543            | 0,059   | 10,957 | 0,663            | 0,291    | 43,938  |
| Cu/N   | 0,00040          | 0,00012 | 30,280 | 0,00069          | 0,00020  | 29,921  |
| Cu/P   | 0,0038           | 0,0011  | 29,919 | 0,0065           | 0,0021   | 34,051  |
| Cu/Zn  | 0,5287           | 0,187   | 32,145 | 0,820216         | 0,322    | 39,271  |
| Cu/Mn  | 0,0550           | 0,023   | 42,313 | 0,0738           | 0,117    | 158,881 |
| Cu/B   | 0,3133           | 0,097   | 31,172 | 0,5129           | 0,170    | 33,314  |
| B/N    | 0,0013           | 0,0001  | 8,563  | 0,0014           | 0,00040  | 28,334  |
| B/Ca   | 0,00149          | 0,00012 | 8,153  | 0,00147          | 0,00038  | 25,882  |
| B/Mg   | 0,00854          | 0,00065 | 7,669  | 0,00708          | 0,001835 | 25,918  |
| B/S    | 0,00932          | 0,00069 | 7,450  | 0,007705         | 0,002097 | 27,214  |
| B/Fe   | 0,1256           | 0,0091  | 7,280  | 0,1037           | 0,539648 | 27,537  |

**Tabla 5.8.** Normas DRIS y CND para poblaciones de Mandarina Satsuma (*Citrus unshiu* Marc.) injertada en naranjo trifoliado [*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.], (fuente Huang et al., 2012).

| DRIS | Valores               | CV (%) | DRIS  | Valores               | CV (%) | DRIS  | Valores               | CV (%) |
|------|-----------------------|--------|-------|-----------------------|--------|-------|-----------------------|--------|
| N/P  | 7,92                  | 27,7   | P/Mn  | 35,1                  | 37,7   | Cu/Ca | $1,25 \times 10^{-4}$ | 35,5   |
| K/N  | 0,91                  | 24,2   | Cu/P  | $1,47 \times 10^{-3}$ | 34,6   | Zn/Ca | $1,08 \times 10^{-3}$ | 33,5   |
| N/Ca | 0,68                  | 29,5   | P/Zn  | 85,1                  | 23,1   | Mg/Fe | 19,2                  | 28,7   |
| N/Mg | 6,58                  | 31,2   | K/Ca  | 0,63                  | 43,6   | Mn/Mg | $2,58 \times 10^{-2}$ | 23     |
| N/Fe | 121                   | 27,2   | K/Mg  | 5,96                  | 37,2   | Cu/Mg | $1,21 \times 10^{-3}$ | 33,2   |
| N/Mn | 267                   | 38,6   | K/Fe  | 108                   | 27,7   | Mg/Zn | 102                   | 20,1   |
| Cu/N | $1,91 \times 10^{-4}$ | 31,6   | K/Mn  | 238                   | 39     | Mn/Fe | 0,48                  | 24,7   |
| N/Zn | 649                   | 21,8   | Cu/K  | $2,17 \times 10^{-4}$ | 32,9   | Cu/Fe | $2,20 \times 10^{-2}$ | 25     |
| K/P  | 7,01                  | 26,4   | K/Zn  | 581                   | 26,7   | Zn/Fe | 0,19                  | 22,1   |
| P/Ca | 0,09                  | 30,7   | Mg/Ca | 0,11                  | 33,4   | Cu/Mn | $4,8 \times 10^{-2}$  | 30,8   |
| P/Mg | 0,77                  | 35     | Fe/Ca | $5,90 \times 10^{-3}$ | 37,7   | Mn/Zn | 2,60                  | 24,1   |
| P/Fe | 16,1                  | 31     | Ca/Mn | 411                   | 36,7   | Cu/Zn | 0,12                  | 20,4   |

| Normas CND | Valores | SD   |
|------------|---------|------|
| V*N        | 2,51    | 0,18 |
| V*P        | 0,48    | 0,22 |
| V*K        | 2,39    | 0,23 |
| V*Ca       | 2,94    | 0,25 |
| V*Mg       | 0,67    | 0,20 |
| V*Fe       | -2,25   | 0,17 |
| V*Mn       | -3,01   | 0,23 |
| V*Cu       | -6,10   | 0,19 |
| V*Zn       | -3,94   | 0,12 |
| V*Rd       | 6,31    | 0,07 |

**Tabla 5.9.** Normas CND y su desviación estándar de un cultivo de palmera datilera en Túnez (fuente Labaied et al., 2020).

| Normas | Valores | SD    |
|--------|---------|-------|
| V*N    | 3,437   | 0,200 |
| V*P    | 0,389   | 0,206 |
| V*K    | 1,495   | 0,395 |
| V*Ca   | 2,737   | 0,310 |
| V*Mg   | 1,329   | 0,214 |
| V*Fe   | -1,050  | 0,288 |
| V*Cu   | -5,918  | 0,634 |
| V*B    | -3,236  | 0,402 |
| V*Zn   | -4,346  | 0,206 |
| V*Mn   | -2,405  | 0,533 |
| V*R10  | 7,570   | 0,096 |

**Tabla 5.10.** Normas DRIS y CND y su desviación estándar en un cultivo de mandarina en Túnez (fuente Labailed et al., 2018).

| Norma             | Medias | SD    | Norma    | Medias | SD    |
|-------------------|--------|-------|----------|--------|-------|
| Ln N/P            | 3,100  | 0,231 | Ln Mg/Fe | -6,988 | 0,762 |
| Ln N/K            | 1,031  | 0,327 | Ln Mg/Cu | -3,345 | 0,895 |
| Ln N/Ca           | -0,684 | 0,237 | Ln Mg/B  | -6,264 | 0,831 |
| Ln N/Mg           | 2,781  | 0,581 | Ln Mg/Zn | -5,259 | 0,614 |
| Ln N/Fe           | -4,207 | 0,330 | Ln Fe/N  | 4,207  | 0,330 |
| Ln N/Cu           | -0,564 | 0,575 | Ln Fe/P  | 7,268  | 0,217 |
| Ln N/B            | -3,482 | 0,532 | Ln Fe/K  | 5,199  | 0,263 |
| Ln N/Zn           | -2,477 | 0,674 | Ln Fe/Ca | 3,483  | 0,187 |
| Ln P/N            | -3,100 | 0,231 | Ln Fe/Mg | 6,949  | 0,582 |
| Ln P/K            | -2,069 | 0,338 | Ln Fe/Cu | 3,603  | 0,540 |
| Ln P/Ca           | -3,785 | 0,241 | Ln Fe/B  | 0,685  | 0,480 |
| Ln P/Mg           | -0,319 | 0,663 | Ln Fe/Zn | 1,690  | 0,678 |
| Ln P/Fe           | -7,307 | 0,330 | Ln Cu/N  | 0,564  | 0,575 |
| Ln P/Cu           | -3,664 | 0,655 | Ln Cu/P  | 3,664  | 0,655 |
| Ln P/B            | -6,583 | 0,410 | Ln Cu/K  | 1,595  | 0,623 |
| Ln P/Zn           | -5,578 | 0,781 | Ln Cu/Ca | -0,120 | 0,625 |
| Ln K/N            | -1,031 | 0,327 | Ln Cu/Mg | 3,345  | 0,895 |
| Ln K/P            | 2,069  | 0,338 | Ln Cu/Fe | -3,642 | 0,663 |
| Ln K/Ca           | -1,716 | 0,365 | Ln Cu/B  | -2,918 | 0,756 |
| Ln K/Mg           | 1,750  | 0,576 | Ln Cu/Zn | -1,913 | 0,937 |
| Ln K/Fe           | -5,238 | 0,504 | Ln B/N   | 1,244  | 0,653 |
| Ln K/Cu           | -1,595 | 0,623 | Ln B/P   | 6,583  | 0,410 |
| Ln K/B            | -4,514 | 0,582 | Ln B/K   | 4,514  | 0,582 |
| Ln K/Zn           | -3,509 | 0,705 | Ln B/Ca  | 2,798  | 0,398 |
| Ln Ca/N           | 0,684  | 0,237 | Ln B/Mg  | 6,264  | 0,831 |
| Ln Ca/P           | 3,785  | 0,241 | Ln B/Fe  | -0,724 | 0,515 |
| Ln Ca/K           | 1,716  | 0,365 | LnB/Cu   | 2,918  | 0,756 |
| Ln Ca/Mg          | 3,466  | 0,620 | Ln B/Zn  | 1,005  | 0,955 |
| Ln Ca/Fe          | -3,522 | 0,294 | Ln Zn/N  | 2,477  | 0,674 |
| Ln Ca/Cu          | 0,120  | 0,625 | Ln Zn/P  | 5,578  | 0,781 |
| Ln Ca/B           | -2,798 | 0,398 | Ln Zn/K  | 3,509  | 0,705 |
| Ln Ca/Zn          | -1,793 | 0,711 | Ln Zn/Ca | 1,793  | 0,711 |
| Ln Mg/N           | -2,781 | 0,581 | Ln Zn/Mg | 5,259  | 0,614 |
| Ln Mg/P           | 0,319  | 0,663 | Ln Zn/Fe | -1,729 | 0,779 |
| Ln Mg/K           | -1,750 | 0,576 | Ln Zn/Cu | 1,913  | 0,937 |
| Ln Mg/Ca          | -3,466 | 0,620 | Ln Zn/B  | -1,005 | 0,955 |
| <b>Normas CND</b> |        |       |          |        |       |
| VN                | 2,868  | 0,162 | VP       | -0,232 | 0,233 |
| VK                | 1,837  | 0,273 | VCa      | 3,553  | 0,181 |
| VMg               | 0,087  | 0,529 | VFe      | -2,135 | 0,328 |
| VCu               | -5,778 | 0,550 | VB       | -2,860 | 0,462 |
| VZn               | -3,865 | 0,618 | VRd      | 6,525  | 0,111 |

**Tabla 5.11.** Normas DRIS, coeficiente de variación y varianzas de varias expresiones de nutrientes para macro y micronutrientes en poblaciones de árboles de mango de bajo y alto rendimiento (fuente Devi et al., 2020).

| Normas | Alta producción |        |             | Baja producción |        |            |
|--------|-----------------|--------|-------------|-----------------|--------|------------|
|        | Medias          | CV     | Varianza    | Medias          | CV     | Varianza   |
| N/P    | 12,761          | 16,814 | 4,60363094  | 11,074          | 11,962 | 1,75464638 |
| P/N    | 0,080           | 15,980 | 0,00016499  | 0,722           | 12,007 | 0,00012085 |
| N/K    | 7,238           | 16,002 | 1,34159930  | 1,045           | 21,173 | 1,87397928 |
| N×K    | 0,475           | 37,686 | 0,03206100  | 0,005           | 22,455 | 0,02625301 |
| N/S    | 16,476          | 43,993 | 52,53858652 | 10,248          | 18,365 | 3,54193907 |
| S/N    | 0,072           | 40,037 | 0,00082161  | 0,100           | 15,648 | 0,00024623 |
| N/Ca   | 0,899           | 12,557 | 0,01273612  | 0,959           | 4,081  | 0,00153192 |

| Continuación |                 |        |               |                 |        |              |
|--------------|-----------------|--------|---------------|-----------------|--------|--------------|
| Normas       | Alta producción |        |               | Baja producción |        |              |
|              | Medias          | CV     | Varianza      | Medias          | CV     | Varianza     |
| Ca/N         | 1,133           | 15,034 | 0,02901588    | 1,045           | 4,305  | 0,00202217   |
| NxMg         | 1,007           | 37,702 | 0,14423849    | 1,559           | 24,546 | 0,1464510    |
| N/Zn         | 974,939         | 13,175 | 16498,8923072 | 915,693         | 9,440  | 7471,6200265 |
| Zn/N         | 0,001           | 18,502 | 0,00000004    | 0,001           | 9,585  | 0,00000001   |
| N/Fe         | 113,818         | 20,387 | 538,41935467  | 86,679          | 13,993 | 147,10370973 |
| Fe/N         | 0,009           | 19,441 | 0,00000314    | 0,012           | 13,510 | 0,00000252   |
| N/Cu         | 1082,204        | 19,922 | 46479,7535985 | 1087,003        | 10,106 | 12066,394722 |
| Cu/N         | 0,001           | 24,317 | 0,00000006    | 0,001           | 10,709 | 0,00000001   |
| N/Mn         | 164,303         | 16,815 | 763,2722857   | 142,609         | 11,853 | 285,70403301 |
| Mn/N         | 0,006           | 15,999 | 0,00000100    | 0,007           | 11,824 | 0,00000071   |
| P/K          | 0,573           | 12,746 | 0,00532553    | 0,590           | 24,383 | 0,02070958   |
| P*K          | 0,038           | 43,795 | 0,00028105    | 0,066           | 27,599 | 0,00033610   |
| P/S          | 1,332           | 47,745 | 0,40450416    | 0,930           | 16,093 | 0,02238403   |
| S/P          | 0,919           | 44,748 | 0,16901521    | 1,102           | 15,572 | 0,02942910   |
| P/Ca         | 0,072           | 17,662 | 0,00016088    | 0,088           | 11,392 | 0,00009977   |
| Ca/P         | 14,356          | 18,137 | 6,77899895    | 11,553          | 11,794 | 1,85632727   |
| P/Mg         | 0,271           | 17,392 | 0,00222722    | 0,273           | 19,238 | 0,00274825   |
| Mg/P         | 3,787           | 16,933 | 0,41116520    | 3,783           | 17,267 | 0,42663956   |
| P/Zn         | 78,668          | 22,218 | 305,48736119  | 83,625          | 13,174 | 121,37138802 |
| Zn/P         | 0,013           | 28,193 | 0,00001441    | 0,012           | 14,199 | 0,00000299   |
| P/Fe         | 9,092           | 23,798 | 4,68222256    | 7,898           | 15,903 | 1,57775298   |
| Fe/P         | 0,115           | 21,896 | 0,00063954    | 0,129           | 14,902 | 0,00037217   |
| P/Cu         | 87,495          | 28,354 | 615,47420444  | 99,161          | 12,966 | 165,30225071 |
| Cu/P         | 0,012           | 32,144 | 0,00001592    | 0,010           | 13,803 | 0,00000200   |
| P/Mn         | 12,876          | 0,171  | 0,00048311    | 12,881          | 1,172  | 0,02279666   |
| P*Mn         | 0,002           | 42,465 | 0,00000052    | 0,003           | 27,953 | 0,00000069   |
| K/S          | 2,282           | 41,623 | 0,90197893    | 1,626           | 20,622 | 0,11248491   |
| S/K          | 0,508           | 37,882 | 0,03697588    | 0,641           | 20,965 | 0,01806603   |
| K/Ca         | 0,126           | 16,970 | 0,00045864    | 0,154           | 17,713 | 0,00073996   |
| Ca/K         | 8,132           | 16,117 | 1,71787353    | 6,736           | 20,082 | 1,82974305   |
| K/Mg         | 0,473           | 8,398  | 0,00157625    | 0,475           | 21,323 | 0,01027263   |
| K*Mg         | 0,144           | 49,588 | 0,00513227    | 0,253           | 33,060 | 0,00698771   |
| K/Zn         | 137,210         | 18,330 | 632,56606628  | 146,792         | 20,271 | 885,42395790 |
| Zn/K         | 0,008           | 20,744 | 0,00000245    | 0,007           | 22,204 | 0,00000249   |
| K/Fe         | 15,851          | 19,317 | 9,37529137    | 13,784          | 19,567 | 7,27453220   |
| Fe/k         | 0,065           | 15,782 | 0,00010497    | 0,075           | 18,890 | 0,00020138   |
| K/Cu         | 152,245         | 23,052 | 1231,71612679 | 173,757         | 18,836 | 1071,2232020 |
| Cu/k         | 0,007           | 27,110 | 0,00000357    | 0,006           | 22,530 | 0,00000182   |
| K/Mn         | 22,864          | 13,981 | 10,21855683   | 22,779          | 18,875 | 18,48617612  |
| K*Mn         | 0,003           | 43,846 | 0,00000170    | 0,005           | 27,378 | 0,00000199   |
| S/Ca         | 0,065           | 45,829 | 0,00089994    | 0,096           | 15,192 | 0,00021287   |
| Ca/s         | 18,992          | 50,142 | 90,68616904   | 10,691          | 18,278 | 3,81866243   |
| S/Mg         | 0,237           | 34,882 | 0,00685552    | 0,295           | 14,769 | 0,00189803   |
| Mg/S         | 4,823           | 42,082 | 4,11921680    | 3,457           | 13,942 | 0,23236111   |
| S/Zn         | 68,601          | 38,908 | 712,43953579  | 91,445          | 14,922 | 186,19998578 |
| Zn/S         | 0,017           | 39,758 | 0,00004508    | 0,011           | 21,269 | 0,00000574   |
| S/Fe         | 7,811           | 34,217 | 7,14398103    | 8,625           | 17,199 | 2,20034998   |
| Fe/S         | 0,144           | 38,390 | 0,00305986    | 0,119           | 18,102 | 0,00046696   |

| Continuación |                 |        |               |                 |        |              |
|--------------|-----------------|--------|---------------|-----------------|--------|--------------|
| Normas       | Alta producción |        |               | Baja producción |        |              |
|              | Medias          | CV     | Varianza      | Medias          | CV     | Varianza     |
| S/Cu         | 76,585          | 42,396 | 1054,22478414 | 108,609         | 16,588 | 324,57351124 |
| Cu/S         | 0,016           | 50,241 | 0,00006301    | 0,009           | 19,040 | 0,00000326   |
| S/Mn         | 11,828          | 44,738 | 28,00300410   | 14,187          | 15,486 | 4,82655536   |
| Mn/S         | 0,103           | 47,738 | 0,00243893    | 0,072           | 15,947 | 0,00013244   |
| Ca/Mg        | 3,823           | 13,950 | 0,28436740    | 3,125           | 18,323 | 0,32790362   |
| Mg/Ca        | 0,267           | 16,041 | 0,00183813    | 0,329           | 16,330 | 0,00289225   |
| Ca/Zn        | 1100,241        | 19,308 | 45126,4800951 | 955,608         | 9,535  | 8301,8586910 |
| Zn/Ca        | 0,001           | 16,507 | 0,00000002    | 0,001           | 9,338  | 0,00000001   |
| Ca/Fe        | 128,928         | 23,788 | 940,58710852  | 90,283          | 12,378 | 124,87711746 |
| Fe/Ca        | 0,008           | 25,092 | 0,00000425    | 0,011           | 12,086 | 0,00000184   |
| Ca/Cu        | 1213,124        | 20,725 | 63212,9241262 | 1133,510        | 9,477  | 11540,128455 |
| CU/Ca        | 0,001           | 20,156 | 0,00000003    | 0,001           | 9,435  | 0,00000001   |
| Ca/Mn        | 184,834         | 18,120 | 1121,69923557 | 148,785         | 11,755 | 305,88685139 |
| Mn/Ca        | 0,006           | 17,643 | 0,00000097    | 0,007           | 11,275 | 0,00000059   |
| Mg/Zn        | 290,166         | 16,484 | 2287,67638699 | 312,911         | 15,141 | 2244,5547992 |
| Zn/Mg        | 0,004           | 18,261 | 0,00000042    | 0,003           | 18,161 | 0,00000036   |
| Mg/Fe        | 33,601          | 18,962 | 40,59489258   | 29,338          | 12,562 | 13,58252246  |
| Fe/Mg        | 0,031           | 14,827 | 0,00002052    | 0,035           | 13,172 | 0,00002080   |
| Mg/Cu        | 320,713         | 19,913 | 4078,48054399 | 374,377         | 20,296 | 5773,7440925 |
| Cu/Mg        | 0,003           | 22,614 | 0,00000054    | 0,003           | 22,511 | 0,00000039   |
| Mg/Mn        | 48,756          | 16,929 | 68,12554954   | 48,726          | 17,342 | 71,40569398  |
| Mn/Mg        | 0,021           | 17,333 | 0,00001334    | 0,021           | 19,191 | 0,00001648   |
| Zn/Fe        | 0,119           | 23,986 | 0,00080912    | 0,095           | 12,156 | 0,00013299   |
| Fe/Zn        | 8,830           | 20,070 | 3,14038920    | 10,691          | 12,166 | 1,69190597   |
| Zn/Cu        | 1,112           | 16,442 | 0,03344120    | 1,195           | 12,117 | 0,02095409   |
| Cu/Zn        | 0,923           | 16,763 | 0,02394766    | 0,849           | 12,452 | 0,01118038   |
| Zn/Mn        | 0,173           | 28,183 | 0,00238702    | 0,157           | 14,181 | 0,00049430   |
| Mn/Zn        | 6,110           | 22,217 | 1,84267121    | 6,492           | 13,085 | 0,72165751   |
| Fe/Cu        | 9,783           | 24,258 | 5,63234009    | 12,78           | 16,019 | 4,1705081    |
| Cu/Fe        | 0,109           | 28,496 | 0,00096720    | 0,080           | 16,116 | 0,00016789   |
| Fe/Mn        | 1,487           | 21,896 | 0,10602335    | 1,668           | 15,033 | 0,06284666   |
| Mn/Fe        | 0,706           | 23,798 | 0,02824309    | 0,613           | 15,947 | 0,00956526   |
| Cu/Mn        | 0,160           | 32,088 | 0,00262972    | 0,132           | 13,833 | 0,00033405   |
| Mn/Cu        | 6,794           | 28,298 | 3,69682941    | 7,699           | 12,921 | 0,98947260   |

**Tabla 5.12.** Normas DRIS y CND, y, desviaciones estándar (SD) para variedades de olivo *Arbequina*, *Arbosana* y *Picual* para el periodo de muestreo de julio y primera quincena de agosto (fuente Giménez et al., 2021).

| Normas | Arbequina |        | Arbosana |         |         | Picual |         |        |
|--------|-----------|--------|----------|---------|---------|--------|---------|--------|
|        | Medias    | SD     | Normas   | Medias  | SD      | Normas | Medias  | SD     |
| N*P    | 0.1479    | 0.0114 | N/P      | 26.2668 | 17.3551 | N/P    | 21.8102 | 1.2294 |
| N*K    | 1.4500    | 0.1192 | K/N      | 0.3691  | 0.0246  | N/K    | 3.5584  | 0.3491 |
| N/Ca   | 1.2765    | 0.1047 | N*Ca     | 2.2303  | 0.1731  | N/Ca   | 1.1155  | 0.0428 |
| N/Mg   | 7.8337    | 1.0968 | Mg/N     | 0.1556  | 0.0124  | N/Mg   | 5.9662  | 1.1348 |
| P/K    | 0.1024    | 0.0088 | K/P      | 9.6692  | 0.5632  | P/K    | 0.1632  | 0.0140 |
| P*Ca   | 0.1165    | 0.0120 | P*Ca     | 0.0854  | 0.0097  | Ca/P   | 19.5891 | 1.4496 |
| P/Mg   | 0.2705    | 0.0455 | Mg/P     | 4.0825  | 0.3751  | P*Mg   | 0.0284  | 0.0058 |

| Continuación |           |        |          |        |         |        |        |        |
|--------------|-----------|--------|----------|--------|---------|--------|--------|--------|
| Arbequina    |           |        | Arbosana |        |         | Picual |        |        |
| Normas       | Medias    | SD     | Normas   | Medias | SD      | Normas | Medias | SD     |
| K*Ca         | 1.1382    | 0.0746 | Ca/K     | 2.1914 | 0.2143  | Ca/K   | 3.1973 | 0.3572 |
| K*Mg         | 0.1874    | 0.0197 | Mg/K     | 0.4223 | 0.0324  | K*Mg   | 0.1729 | 0.0263 |
| Ca/Mg        | 6.1383    | 0.7410 | Mg/Ca    | 0.1933 | 0.0083  | Ca/Mg  | 5.3433 | 0.9711 |
| Normas CND   |           |        |          |        |         |        |        |        |
|              | Arbequina |        | Arbosana |        | Picual  |        |        |        |
| Normas       | Medias    | SD     | Medias   | SD     | Medias  | SD     |        |        |
| VN           | 0.4876    | 0.0477 | 0.3821   | 0.0697 | 0.3877  | 0.0613 |        |        |
| VP           | -2.8850   | 0.0845 | -2.8840  | 0.0846 | -2.6929 | 0.1022 |        |        |
| VK           | -0.6005   | 0.1473 | -0.6168  | 0.0676 | -0.8760 | 0.1387 |        |        |
| VCa          | 0.2437    | 0.1036 | 0.1628   | 0.0903 | 0.2781  | 0.0874 |        |        |
| VMg          | -1.5593   | 0.1799 | -1.4818  | 0.0503 | -1.3863 | 0.2665 |        |        |
| VRd          | 4.3135    | 0.0457 | 4.4378   | 0.0570 | 4.3128  | 0.0031 |        |        |
| G            | 1.2757    | 0.0550 | 1.2757   | 0.0550 | 1.2852  | 0.0762 |        |        |

**Tabla 5.13.** Normas DRIS y CND, y, coeficiente de variabilidad (CV) para árboles de granado (fuente Maity et al., 2016).

| DRIS | Medias                | CV (%) | DRIS  | Medias                | CV (%) | DRIS  | Medias                | CV (%) |
|------|-----------------------|--------|-------|-----------------------|--------|-------|-----------------------|--------|
| P/N  | 0,10                  | 22,84  | K/Mg  | 1,73                  | 24,19  | Zn/Mn | 0,46                  | 23,29  |
| N/Ca | 1,02                  | 10,81  | K/Fe  | $6,18 \times 10^{-3}$ | 14,75  | Zn/Cu | 0,52                  | 18,26  |
| N/Mg | 3,31                  | 20,87  | K/Mn  | $2,38 \times 10^{-2}$ | 15,88  | Cu/Mn | 0,89                  | 19,36  |
| N/Fe | $1,18 \times 10^{-2}$ | 13,04  | K/Cu  | $2,76 \times 10^{-2}$ | 20,62  | S/N   | $5,98 \times 10^{-2}$ | 13,09  |
| N/Mn | 0,05                  | 15,78  | Ca/Mg | 3,26                  | 23,00  | P/S   | 1,65                  | 25,28  |
| N/Cu | 0,05                  | 17,99  | Fe/Ca | 87,40                 | 13,92  | S/K   | 0,12                  | 16,01  |
| P/K  | 0,19                  | 27,10  | Ca/Mn | $4,51 \times 10^{-2}$ | 15,64  | S/Ca  | 0,06                  | 17,88  |
| P/Ca | 0,10                  | 29,42  | Cu/Ca | 19,86                 | 18,93  | S/Mg  | 0,20                  | 24,66  |
| P/Mg | 0,33                  | 34,22  | Fe/Mg | 283,23                | 23,59  | S/Fe  | $7,10 \times 10^{-4}$ | 18,30  |
| P/Fe | $1,15 \times 10^{-3}$ | 24,19  | Mn/Mg | 73,36                 | 23,46  | S/Mn  | $2,74 \times 10^{-3}$ | 17,45  |
| P/Mn | $4,50 \times 10^{-3}$ | 29,55  | Zn/Mg | 32,85                 | 25,64  | S/Zn  | $6,14 \times 10^{-3}$ | 17,06  |
| P/Zn | $9,94 \times 10^{-3}$ | 22,25  | Cu/Mg | 63,94                 | 23,17  | S/Cu  | $3,13 \times 10^{-3}$ | 15,50  |
| P/Cu | $5,20 \times 10^{-3}$ | 30,85  | Fe/Mn | 3,93                  | 19,87  |       |                       |        |
| K/Ca | 0,53                  | 11,94  | Fe/Cu | 4,50                  | 17,89  |       |                       |        |

| Normas CND | Media $\pm$ SD   |
|------------|------------------|
| V*N        | $2,47 \pm 0,06$  |
| V*P        | $0,12 \pm 0,21$  |
| V*K        | $1,82 \pm 0,10$  |
| V*Ca       | $2,45 \pm 0,10$  |
| V*Mg       | $1,29 \pm 0,18$  |
| V*S        | $-0,35 \pm 0,11$ |
| V*Fe       | $-2,30 \pm 0,11$ |
| V*Mn       | $-3,65 \pm 0,13$ |
| V*Zn       | $-4,46 \pm 0,12$ |
| V*Cu       | $-3,79 \pm 0,14$ |
| V* Rd      | $6,39 \pm 0,08$  |

### 3.3.4 Ejemplo de cálculo numérico de rangos de normalidad, normas DRIS y CND

Para la realización de un ejemplo práctico de los cálculos vamos a partir de los resultados de 30 análisis foliares obtenidos en la época de muestreo establecida de una parcela de almendro, de la variedad *Marcona*, en buena producción y un buen estado sanitario (Tabla 5.14). En esta parcela se toman muestras de 30 árboles y se analiza su composición mineral para desarrollar las normas DRIS y CND. En la tabla siguiente podemos ver los datos procedentes del resultado del análisis:

**Tabla 5.14.** Valores obtenidos en análisis foliares de la variedad *Marcona* en la época de muestreo recomendada.

|    | <b>N (%)</b> | <b>P (%)</b> | <b>K (%)</b> | <b>Ca (%)</b> | <b>Mg (%)</b> |
|----|--------------|--------------|--------------|---------------|---------------|
| 1  | 2,17         | 0,10         | 1,14         | 3,51          | 0,41          |
| 2  | 2,24         | 0,10         | 1,19         | 4,20          | 0,45          |
| 3  | 2,45         | 0,11         | 1,35         | 3,19          | 0,46          |
| 4  | 2,44         | 0,10         | 1,51         | 3,78          | 0,42          |
| 5  | 2,42         | 0,10         | 1,50         | 3,82          | 0,38          |
| 6  | 2,36         | 0,10         | 1,37         | 3,92          | 0,43          |
| 7  | 1,99         | 0,09         | 0,87         | 3,49          | 0,85          |
| 8  | 1,84         | 0,08         | 0,86         | 3,56          | 0,81          |
| 9  | 1,91         | 0,08         | 0,71         | 3,87          | 0,97          |
| 10 | 1,80         | 0,10         | 0,72         | 4,18          | 0,98          |
| 11 | 1,77         | 0,09         | 0,63         | 4,31          | 1,00          |
| 12 | 1,91         | 0,08         | 0,64         | 3,36          | 0,78          |
| 13 | 2,01         | 0,10         | 0,50         | 4,22          | 0,91          |
| 14 | 2,12         | 0,10         | 0,59         | 3,28          | 0,90          |
| 15 | 2,08         | 0,10         | 0,53         | 3,43          | 0,97          |
| 16 | 2,08         | 0,10         | 0,49         | 4,15          | 0,96          |
| 17 | 2,01         | 0,10         | 0,49         | 3,30          | 0,80          |
| 18 | 2,00         | 0,11         | 0,60         | 4,01          | 0,88          |
| 19 | 2,51         | 0,09         | 0,64         | 4,20          | 0,74          |
| 20 | 2,06         | 0,09         | 0,69         | 4,05          | 0,76          |
| 21 | 2,12         | 0,09         | 0,79         | 4,28          | 0,79          |
| 22 | 2,62         | 0,09         | 0,67         | 3,97          | 0,80          |
| 23 | 2,24         | 0,09         | 0,65         | 4,41          | 0,84          |
| 24 | 2,09         | 0,09         | 0,70         | 4,02          | 0,82          |
| 25 | 1,81         | 0,10         | 1,29         | 4,08          | 0,67          |
| 26 | 1,78         | 0,10         | 1,28         | 4,49          | 0,75          |
| 27 | 1,76         | 0,10         | 0,83         | 3,88          | 0,79          |
| 28 | 2,00         | 0,10         | 0,90         | 4,25          | 0,76          |
| 29 | 1,66         | 0,11         | 1,28         | 4,36          | 0,96          |
| 30 | 1,68         | 0,10         | 1,03         | 3,30          | 0,71          |

Con estos datos, en primer lugar, calculamos para cada elemento la media aritmética de los valores ( $\bar{x}$ ), la desviación estándar (S) y el coeficiente de variación (CV) (**Tabla 5.15**):

**Tabla 5.15.** Resultados de la media (%), desviación estándar y coeficiente de variación en los 30 análisis foliares.

|           | <b>N</b> | <b>P</b> | <b>K</b> | <b>Ca</b> | <b>Mg</b> |
|-----------|----------|----------|----------|-----------|-----------|
| $\bar{x}$ | 2,06     | 0,10     | 0,88     | 3,90      | 0,76      |
| <b>SD</b> | 0,26     | 0,01     | 0,32     | 0,39      | 0,19      |
| <b>CV</b> | 12,45    | 8,39     | 36,85    | 9,93      | 25,03     |

Con los datos de la media, y, la desviación estándar obtenemos los rangos de normalidad (RN) de los cinco elementos de la siguiente manera para un nutriente dado A: (**Tabla 5.16**).

**Tabla 5.16.** Rangos de normalidad calculados con los 30 análisis foliares anteriores.

|          | MUY BAJO             | BAJO                                     | NORMAL                        | ALTO                                     | MUY ALTO             |
|----------|----------------------|--|-------------------------------|--|----------------------|
| <b>A</b> | $< \bar{x} - (2*SD)$ | $\bar{x} - (2*SD) - \bar{x} - SD - 0,01$ | $\bar{x} - SD - \bar{x} + SD$ | $\bar{x} + SD + 0,01 - \bar{x} + (2*SD)$ | $> \bar{x} + (2*SD)$ |

Con los datos de la **Tabla 5.15**, aplicando las fórmulas de la **Tabla 5.16**, obtenemos los rangos de normalidad indicados en la siguiente tabla:

**Tabla 5.16.** Rangos de normalidad calculados con los 30 análisis foliares anteriores.

|           | MUY BAJO | BAJO           | NORMAL        | ALTO           | MUY ALTO |
|-----------|----------|----------------|---------------|----------------|----------|
| <b>N</b>  | $< 1,54$ | $1,54 - 1,79$  | $1,8 - 2,32$  | $2,33 - 2,58$  | $> 2,58$ |
| <b>P</b>  | $< 0,08$ | $0,08 - 0,089$ | $0,09 - 0,11$ | $0,111 - 0,12$ | $> 0,12$ |
| <b>K</b>  | $< 0,23$ | $0,23 - 0,54$  | $0,55 - 1,20$ | $1,21 - 1,53$  | $> 1,53$ |
| <b>Ca</b> | $< 3,12$ | $3,12 - 3,49$  | $3,50 - 4,28$ | $4,29 - 4,68$  | $> 4,68$ |
| <b>Mg</b> | $< 0,37$ | $0,37 - 0,55$  | $0,56 - 0,94$ | $0,95 - 1,14$  | $> 1,14$ |

Los cálculos de los cocientes y productos de las relaciones entre los elementos, N/P, P/N y NxP, N/K, K/N, NxK, etc., realizados para cada uno de los análisis nos ofrecen los valores con los que seleccionaremos el menor CV y conseguiremos las normas DRIS (**Tabla 5.17**).

**Tabla 5.17.** Valores de las relaciones entre los nutrientes de los 30 análisis foliares.

|   | N/P     | P/N     | N*P     | N/K     | K/N     | .../... |
|---|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 1 | 21,7000 | 0,0461  | 0,2170  | 1,9035  | 0,5253  | .../... |
| 2 | 22,4000 | 0,0446  | 0,2240  | 1,8824  | 0,5313  | .../... |
| 3 | 22,2727 | 0,0449  | 0,2695  | 1,8148  | 0,5510  | .../... |
| 4 | 24,4000 | 0,0410  | 0,2440  | 1,6159  | 0,6189  | .../... |
| 5 | 24,2000 | 0,0413  | 0,2420  | 1,6133  | 0,6198  | .../... |
|   | .../... | .../... | .../... | .../... | .../... | .../... |

Para cada una de las relaciones anteriores hallamos la media aritmética, la desviación estándar y el coeficiente de variación (**Tabla 5.18**):

**Tabla 5.18.** Resultados de la media, desviación estándar y coeficiente de variación de las relaciones entre nutrientes de los 30 análisis foliares.

|           | N/P    | P/N    | N*P    | N/K    | .../... |
|-----------|--------|--------|--------|--------|---------|
| $\bar{x}$ | 21,574 | 0,047  | 0,199  | 2,639  | .../... |
| <b>S</b>  | 3,174  | 0,007  | 0,030  | 0,937  | .../... |
| <b>CV</b> | 14,711 | 15,176 | 15,114 | 35,493 | .../... |

En este caso (**Tabla 5.18**), de entre las tres relaciones de N y P, seleccionamos la N/P, por presentar el menor CV, y de esta forma lo hacemos para cada uno del resto de los nutrientes, logrando obtener el conjunto de normas DRIS (**Tabla 5.19**):

**Tabla 5.19.** Normas DRIS obtenidas de los 30 análisis foliares.

|       | $\bar{x}$ | SD    | CV     |
|-------|-----------|-------|--------|
| N/P   | 21,574    | 3,174 | 14,711 |
| N/K   | 2,639     | 0,937 | 35,493 |
| NxCa  | 8,033     | 1,223 | 15,218 |
| NxMg  | 1,540     | 0,353 | 22,916 |
| K/P   | 9,109     | 3,042 | 33,396 |
| Ca/P  | 40,718    | 5,206 | 12,772 |
| PxMg  | 0,073     | 0,019 | 25,646 |
| Ca/K  | 4,991     | 1,736 | 34,778 |
| KxMg  | 0,622     | 0,168 | 27,003 |
| Mg/Ca | 0,196     | 0,050 | 25,655 |

A continuación, vamos a iniciar los cálculos de las normas VND, para lo que empleamos las siguientes fórmulas:

$$Rd = 100 - (N + P + K + \dots)$$

$$G = [N \times P \times K \times \dots \times Rd]^{1/(d+1)}$$

$$V_N = \ln(N/G)$$

... / ...

Con los datos de cada uno de los 30 análisis realizamos las operaciones correspondientes para hallar Rd, G, y  $V_x$ , obteniendo estos resultados (**Tabla 5.20**):

**Tabla 5.20.** Resultados de Rd, G, y  $V_x$  para cada uno de los 30 análisis foliares.

|   | Rd      | G       | $V_N$   | $V_P$   | $V_K$   | $V_{Ca}$ | $V_{Mg}$ | $V_{Rd}$ |
|---|---------|---------|---------|---------|---------|----------|----------|----------|
| 1 | 92,6700 | 1,7909  | 0,1920  | -2,8853 | -0,4517 | 0,6729   | -1,4743  | 3,9463   |
| 2 | 91,8200 | 1,8947  | 0,1674  | -2,9416 | -0,4651 | 0,7960   | -1,4375  | 3,8808   |
| 3 | 92,4400 | 1,9152  | 0,2463  | -2,8571 | -0,3497 | 0,5102   | -1,4264  | 3,8767   |
| 4 | 91,7500 | 1,9422  | 0,2282  | -2,9664 | -0,2517 | 0,6659   | -1,5313  | 3,8553   |
| 5 | 91,7800 | 1,9088  | 0,2373  | -2,9490 | -0,2410 | 0,6938   | -1,6140  | 3,8729   |
|   | .../... | .../... | .../... | .../... | .../... | .../...  | .../...  | .../...  |

Tras hallar los valores en cada uno de los 30 análisis procedemos a calcular su media aritmética ( $\bar{x}$ ), la desviación estándar (SD) y el coeficiente de variación (CV) para obtener las normas VND (**Tabla 5.21**):



**Tabla 5.21.** Resultados de las normas CND obtenidas de los 30 análisis foliares.

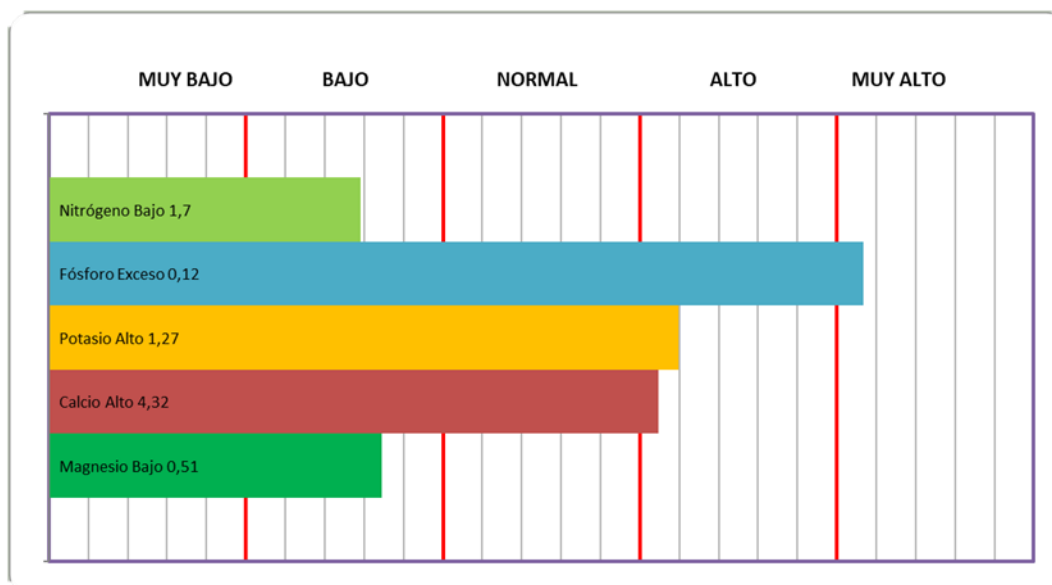
|           | $\bar{x}$ | SD     | CV       |
|-----------|-----------|--------|----------|
| $V_N$     | 0,0924    | 0,1334 | 144,3466 |
| $V_P$     | -2,9685   | 0,0773 | -2,6025  |
| $V_K$     | -0,8144   | 0,3310 | -40,6422 |
| $V_{Mg}$  | -0,9394   | 0,3056 | -32,5281 |
| $V_{Ca}$  | 0,7299    | 0,0847 | 11,6058  |
| $V_{Rd}$  | 3,9000    | 0,0492 | 1,2626   |
| <b>Rd</b> | 92,3040   | 0,5010 | 0,5427   |
| <b>G</b>  | 1,8702    | 0,0845 | 4,5204   |

### 3.3.5 Ejemplo de interpretación de resultados de análisis foliar de almendro

Vamos a realizar la interpretación de los siguientes resultados de un análisis foliar con los valores obtenidos en el ejemplo anterior.

| <b>N (%)</b> | <b>P (%)</b> | <b>K (%)</b> | <b>Ca (%)</b> | <b>Mg (%)</b> |
|--------------|--------------|--------------|---------------|---------------|
| 1,70         | 0,12         | 1,27         | 4,32          | 0,51          |

La valoración que obtenemos respecto de los rangos de normalidad establecidos para esta variedad se muestra en la **Fig. 5.8**, en la que cada nutriente aparece encuadrado dentro de su nivel individual:

**Figura 5.8.** Interpretación del análisis mediante los rangos de normalidad.

A continuación, hacemos los cálculos de las relaciones de las normas DRIS:

|              |         |
|--------------|---------|
| <b>N/P</b>   | 14,1667 |
| <b>N/K</b>   | 1,3386  |
| <b>NxCa</b>  | 7,3440  |
| <b>NxMg</b>  | 0,8670  |
| <b>K/P</b>   | 10,5833 |
| <b>Ca/P</b>  | 36,0000 |
| <b>PxMg</b>  | 0,0612  |
| <b>Ca/K</b>  | 3,4016  |
| <b>KxMg</b>  | 0,6477  |
| <b>Mg/Ca</b> | 0,1181  |

Seguidamente, calculamos las funciones para los elementos y las relaciones:

$$f(N) = \frac{(N \text{ parcela} - 2,064) \times 10}{0,2570}$$

Comenzando con las funciones del N, los resultados son:

$$f(N) = -14,1782$$

$$f(N/P) = -23,3392$$

$$f(N/K) = -13,8853$$

$$f(N*Ca) = -5,6386$$

$$f(N*Mg) = -19,0674$$

Con estos datos calculamos el índice del N:

$$\text{Indice de N} = (-14,1782 - 23,3392 - 13,8853 - 5,6386 - 19,0674) / 5 = -15,221$$

Procediendo con las operaciones de las funciones e índices para el resto de los elementos obtenemos estos resultados:

$$\text{Indice de P} = 10,132$$

$$\text{Indice de K} = 8,273$$

$$\text{Indice de CaO} = 2,766$$

$$\text{Indice de MgO} = -0,962$$

El orden de los nutrientes desde carencia a exceso es:  $N < MgO < CaO < K < P$

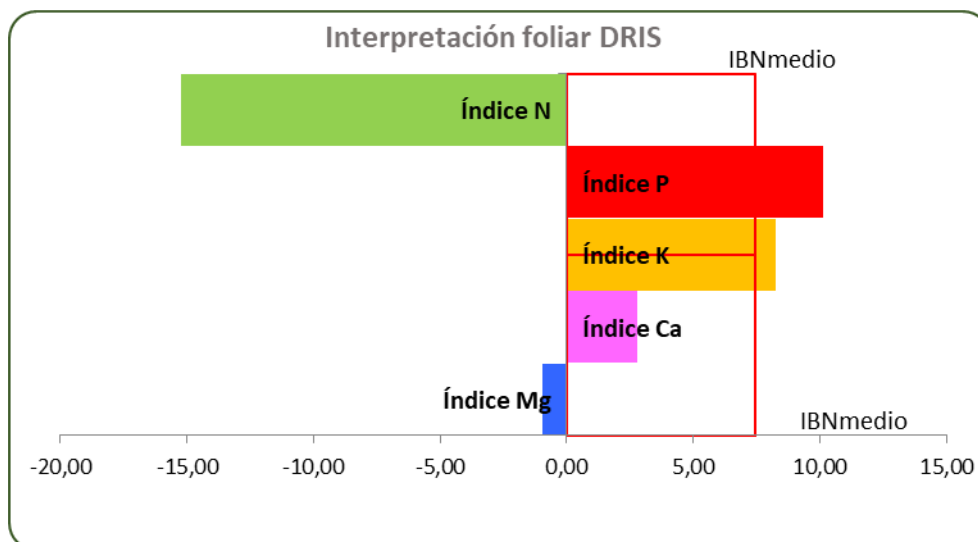
Ahora podemos calcular el índice del balance de nutrientes y el IBN medio:

$$IBN = |I\text{-DRIS A}| + |I\text{-DRIS B}| + |I\text{-DRIS C}| + \dots + |I\text{-DRIS N}|$$

$$IBN = 15,221 + 10,132 + 8,273 + 2,766 + 0,962 = 37,355$$

$$IBN \text{ medio} = 37,355 / 5 = 7,471$$

En la **Fig. 5.9** se muestra la interpretación del análisis con los índices DRIS de esta variedad, que ofrece las valoraciones del equilibrio nutricional de cada elemento representado a partir de sus relaciones con los demás elementos. El N es el elemento limitante con una importante deficiencia, mientras que P y K presentan índices altos y Ca y Mg se muestran equilibrados.



**Figura 5.9.** Interpretación del análisis foliar mediante el sistema DRIS.

Continuamos con la realización del cálculo de las fórmulas del sistema CND con los datos del análisis:

$$R_d = 100 - (1,70 + 0,12 + 1,27 + 4,32 + 0,51) = 92,08.$$

$$G = (N \times P \times K \times \dots \times R_d)^{1/6} = 1,935$$

$$V_N = \ln(N/G) = -0,130$$

$$I_N = (V_N - V_{N^*}) / SD_{N^*} = -1,665$$

De igual forma que para el N, hallamos los índices de los otros elementos, y nos salen estos valores:

$$I_P = 2,433$$

$$I_K = 1,188$$

$$I_{Ca} = 0,863$$

$$I_{Mg} = -1,290$$

$$I_{R_d} = -0,765$$

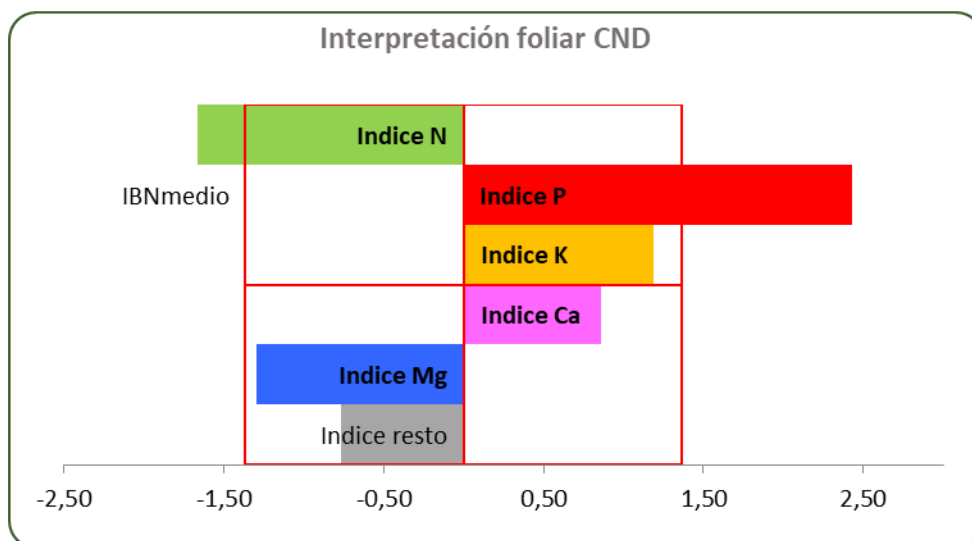
El orden de los nutrientes de menor a mayor, de carencia a exceso es:  $N > MgO > CaO > K > P$

Ahora podemos calcular el índice de balance de nutrientes y el IBN medio:

$$IBN_{CND} = 1,665 + 2,433 + 1,188 + 0,863 + 1,290 + 0,765 = 8,203$$

$$IBN_{CND\ med} = 8,203 / 6 = 1,367$$

En la **Fig. 5.10** se muestra la interpretación del análisis con los índices CND de esta variedad, que ofrece las valoraciones del equilibrio nutricional de cada elemento. El N es el elemento limitante con deficiencia, mientras que P presenta un índice alto y K, Ca y Mg se muestran en niveles equilibrados.



**Figura 5.10.** Interpretación del análisis foliar mediante el sistema CND.

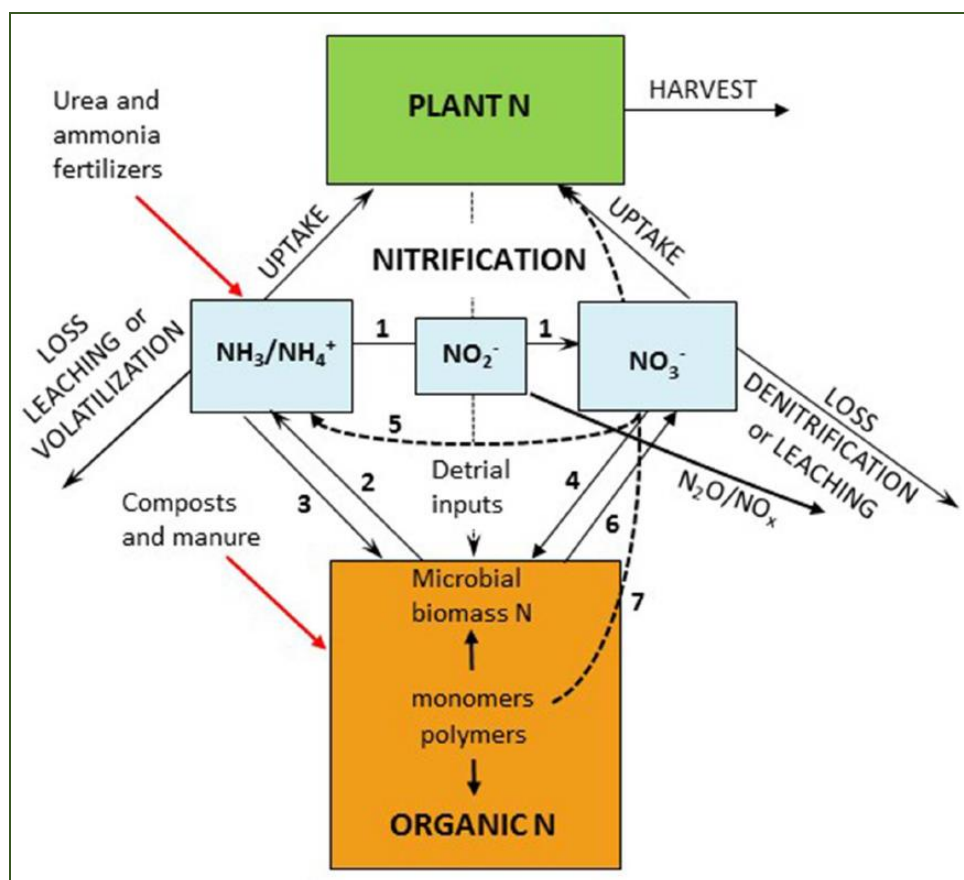
### 3.4 Inhibidores de la nitrificación en la eficiencia de la fertilización nitrogenada

El nitrógeno es uno de los principales nutrientes para la vida de todos los organismos vivos y su disponibilidad en la agricultura es uno de los factores más importantes para la productividad de los cultivos (LeBauer y Treseder, 2008). En la naturaleza el ciclo del nitrógeno presenta un proceso mediante el cual se introduce desde la atmósfera en los ecosistemas terrestres y marinos y se fija bajo diferentes formas, con la posibilidad de volver a la atmósfera como nitrógeno molecular. Sin embargo, dicho ciclo se ha modificado, por la acción humana, con aportes externos que superan a los que se producen de forma natural en los sistemas terrestres, con un importante aumento de la cantidad de N reactivo en la biosfera (Fowler et al., 2013).

Para proporcionar suficientes alimentos para la creciente población mundial es necesario contar con más nitrógeno en los sistemas agrícolas, de forma que el nitrógeno atmosférico debe fijarse y convertirse en alguna forma biodisponible a través de procesos naturales o artificiales. A partir de primeros del siglo XX, con la puesta en marcha del sistema Haber-Bosch (obtención de amoníaco con N atmosférico) se incrementó la entrada antropogénica de N de 15 Tg/año en 1860 a 156 Tg/año en 1990, y se estima alcanzar 267 Tg/año en 2050 (Galloway et al., 2013). La eficiencia de los fertilizantes nitrogenados aplicados en agricultura es baja, ya que por término medio los cultivos no absorben más del 50 % del N aportado (Cavigelli et al., 2012), y finalmente sólo el 10 % va a formar parte de los alimentos; hecho que tiene consecuencias

negativas, con serios efectos sobre el medio ambiente; por ejemplo, la contaminación del aire, las emisiones de gases de efecto invernadero, especialmente óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ), la contaminación de ríos, aguas subterráneas, etc. a escala local o regional y hasta de mares y océanos a nivel mundial (Galloway et al., 2004).

La agricultura es responsable de más de la mitad del aporte de N a los sistemas terrestres y la eficiencia de uso de N (NUE) de los fertilizantes tradicionales muestra datos bastante pobres con las técnicas de manejo empleadas en los cultivos en la mayoría de las regiones. El aprovechamiento del N del medio por parte de la planta es complejo porque su disponibilidad es temporal, además de espacialmente dinámico, y está sujeto a altas tasas de pérdidas a través de diversas vías. Se encuentra inmerso en dinámicas, a partir de distintas fuentes, con procesos enzimáticos microbianos, especialmente la mineralización y la nitrificación, que operan dentro de las limitaciones físicas y químicas de la matriz del suelo (**Fig. 5.11**). En muchos sistemas agrícolas, grandes cantidades de nitrógeno procedente de los fertilizantes se pierden en la zona de las raíces en forma de nitrato a través de la lixiviación y la desnitrificación (Robertson et al., 2013).



**Figura 5.11.** El ciclo interno del nitrógeno del suelo con (1) nitrificación, (2) mineralización, (3) inmovilización de amonio, (4) inmovilización de nitrato, (5)  $\text{NO}_3^-$  reducido a  $\text{NH}_3$ , (6) nitrificación heterotrófica, y (7) absorción de monómeros por parte de la planta (Norton y Ouyang, 2019).

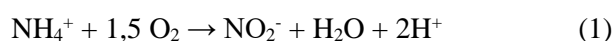
Las consecuencias de las pérdidas de nitrógeno pueden ser muy graves. Una de ellas es el problema que ocasionan las emisiones de gases de efecto invernadero, principalmente el óxido nítrico ( $\text{N}_2\text{O}$ ), ya que posee un papel importante en términos ambientales debido a su potencial de calentamiento global. Aunque la concentración de  $\text{N}_2\text{O}$  es considerablemente más baja que la de  $\text{CO}_2$ , podría causar mayor impacto sobre el efecto invernadero, y no sólo causa el calentamiento global, sino que también daña la capa de ozono (Ravishankara et al., 2009). La lixiviación de nitratos, que ha aumentado en las últimas décadas, genera graves problemas ambientales como la contaminación de las aguas subterráneas con nitratos, con importantes superficies afectadas y registradas por las administraciones públicas como zonas vulnerables a la contaminación de las aguas por nitratos procedentes de fuentes agrícolas. Algunos estudios han demostrado que el linfoma de Hodgkin y el cáncer colorrectal tienen relación con el contenido de nitrato en el agua potable (Gulis et al., 2002). La pérdida de nitrógeno también puede causar considerables problemas de acidificación y eutrofización en los ecosistemas acuáticos. Evitar la combinación de altos insumos externos con una baja eficiencia en el uso de los recursos sigue siendo una preocupación importante para la sostenibilidad en los agroecosistemas. Además, una mejor comprensión del ciclo del N para su gestión en los agroecosistemas es esencial para intensificar la producción sostenible de alimentos y reducir los impactos ambientales negativos. Estas son consideraciones importantes para la política agrícola y ambiental, especialmente a medida que se intensifica el cambio climático global (Robertson et al., 2014).

### **3.4.1 La nitrificación en los suelos agrícolas**

El proceso dominante del ciclo del N terrestre en los suelos agrícolas típicos es la nitrificación (Subbarao et al., 2013), aunque existen otros no menos importantes, como la mineralización, la amonificación y la desnitrificación, y el papel que juega cada uno varía mucho en los diferentes ecosistemas. La nitrificación es la oxidación biológica del amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) o amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) a N oxidado en forma de nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) y luego a nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ). En la mayoría de los suelos agrícolas el  $\text{NH}_4^+$  pasa rápidamente a  $\text{NO}_3^-$ , que puede acumularse en la solución del suelo a altas concentraciones. Dicha transformación del catión amonio al anión nitrato influye en el movimiento del N a través de la matriz del suelo, generalmente cargada negativamente, y por lo tanto influye de forma marcada en su destino. La movilidad de la forma nítrica es mayor que la amoniacal a través del flujo másico hacia las raíces de las plantas, o bien para lixivarse de la zona radicular o perderse del suelo mediante desnitrificación. Debido a estas circunstancias, con frecuencia es conveniente gestionar los suelos agrícolas para disminuir la nitrificación y aproximar más la posibilidad de coincidencia entre el suministro del nutriente y la demanda de la planta, mejorando la eficiencia del uso de los abonos nitrogenados (Norton and Ouyang,

2019). El concepto de nitrificación controlada es hacer que la mineralización natural produzca  $\text{NH}_4^+$  e inhiba el primer paso de la nitrificación para que el N permanezca en la zona de la raíz, ya que el amonio es más difícil que se pierda en el suelo.

En la nitrificación autotrófica clásica, la conversión de N tiene lugar en dos pasos: con las bacterias oxidantes de amonio (AOB) como *Nitrosomonas* o *Nitrosospira*, el  $\text{NH}_4^+$  se convierte en hidroxilamina y luego en  $\text{NO}_2^-$  con el resultado neto que se muestra en la ecuación (1). Las arqueas oxidantes de amonio (AOA), como *Nitrososphaera*, también puede oxida el amonio a nitrito, aunque mediante un metabolismo significativamente distinto de la AOB (Kozlowski et al., 2016).



Por otro lado, las bacterias oxidantes de nitrito (NOB) tal como las *Nitrobacter* o *Nitrospira* convierten el  $\text{NO}_2^-$  a  $\text{NO}_3^-$  como se indica en la ecuación (2). También se han encontrado ciertas bacterias *Nitrospira* que median toda la reacción de amonio a nitrato, dentro de un organismo en la oxidación completa del amonio a nitrato conocida como Comammox (van Kessel et al., 2015).



Las bacterias quimiolitotróficas y las arqueas que dependen energéticamente de la oxidación de amonio / amoniaco y /o nitrito para su crecimiento median en la mayor parte de la nitrificación de los suelos agrícolas. Por esta razón, la velocidad y extensión del proceso de nitrificación está íntimamente ligada a la abundancia y ecotipos funcionales de estos organismos responsables. El modelado de simulación de los procesos de nitrificación puede mejorarse mediante la inclusión de modelos predictivos de datos de abundancia de genes funcionales o de la comunidad microbiana (Breuillin-Sessoms et al., 2017). Los factores más relevantes que influyen en las tasas de nitrificación en los suelos agrícolas comprenden el suministro de sustrato, las condiciones ambientales, las poblaciones de organismos de nitrificantes y sus competidores, y la presencia de inhibidores de la nitrificación. Estos factores incluyen aquellos que actúan directamente a nivel celular y muchos que actúan indirectamente afectando el hábitat del suelo de los organismos nitrificantes. La escala de tiempo para estos factores abarca desde cambios inmediatos en las tasas en cuestión de minutos hasta aquellos que se alargan hasta años y décadas para cambios en las reservas de materia orgánica del suelo y su renovación. Existen interacciones y retroalimentaciones significativas entre los distintos factores, ya que las poblaciones de microorganismos nitrificantes están determinadas por los sustratos que impulsan su metabolismo y crecimiento (Norton y Ouyang, 2019).

La disponibilidad en el suelo de amoníaco / amonio, nitrito y  $\text{O}_2$  a menudo limita tanto la tasa de nitrificación como el tamaño de las poblaciones de nitrificantes resultantes (Ouyang et al.,

2018). Aunque el O<sub>2</sub> es un importante sustrato para la nitrificación, su disponibilidad está estrechamente relacionada con el nivel de humedad del suelo. El contenido de amonio / amoniacal en el suelo se puede incrementar por adiciones de fertilizantes con N ureico y amoniacal, por las deposiciones de animales (orina y heces), por la fijación atmosférica, por la síntesis biológica de N y por generación vía mineralización. Por otro lado, los procesos competitivos que disminuyen su contenido son la asimilación microbiana (inmovilización), la absorción de las plantas y la volatilización de amoníaco (**Fig. 5.11**).

La respuesta de la nitrificación a la temperatura se ha evaluado en una amplia gama de suelos, y se ha observado que la temperatura óptima para la nitrificación es específica de cada medio (Lu et al., 2018). El contenido de humedad del suelo afecta a las tasas de nitrificación: en suelos saturados se inhibe debido a la falta de oxígeno disponible, y también casi se detiene en suelos muy secos. El volumen óptimo para la nitrificación está alrededor del 55 % para suelos de textura fina y del 40 % para suelos de textura gruesa (Parton et al., 2001). El pH del suelo es uno de los factores más importantes que influye en los niveles y acumulación de productos de la nitrificación (Kyveryga et al., 2004). Los procesos de oxidación de amonio y nitrito son generalmente favorecidos en suelos neutros o ligeramente alcalinos, y es en ellos donde se presentan las mayores pérdidas o acumulaciones de nitratos.

### **3.4.2 El control de la nitrificación con inhibidores**

La necesidad de aplicación de N en la agricultura para producir alimentos va en aumento al tiempo que es imprescindible la implantación de estrategias de manejo que minimicen las posibilidades de sus pérdidas. El concepto de nitrificación controlada consiste en intervenir en la transformación natural del N amoniacal, e inhibir el primer paso de la nitrificación para que éste permanezca más tiempo en el entorno radicular de la planta, ya que es retenido en el suelo y sus pérdidas son inferiores. Por otra parte, una importante proporción del N presente en los fertilizantes aplicados se presenta en forma ureica o amoniacal, que tras aplicarse a los cultivos podrá verse implicado en el proceso de nitrificación. Para la mejora de la eficiencia del uso del N se recomienda su gestión con el sistema llamado de las "4R", que consiste en aplicar la fuente correcta, a la dosis correcta, en el momento correcto y en el lugar correcto (Clarke y Beegle, 2014).

La utilización de fertilizantes de liberación controlada, o bien con inhibidores de la nitrificación (NI) y/o inhibidores de la ureasa (UI), el fraccionamiento de dosis y aumento de la frecuencia de aportación, etc., conducen a una mejora en el aprovechamiento del N, para reducir las pérdidas por lixiviación, escorrentía y de emisiones de gases de efecto invernadero (GEI). Los inhibidores de la nitrificación (NI) retardan la conversión microbiana del amonio en nitrito, por las bacterias nitrosomonas, lo que reduce el riesgo de pérdida mediante lixiviación o



desnitrificación y, por lo tanto, aumenta la eficiencia de uso del N (NUE) de los fertilizantes en el suelo (Zerulla et al., 2001).

En la década de 1960 se puso en marcha el inhibidor sintético conocido como nitrapirina y posteriormente aparecieron más productos para controlar la nitrificación en el suelo, tales como la DCD (diciandiamida), el ST (2-sulfanil-amido tiazol), el TU (triclorometil-1,2,4-tiadiazol), el MBT (2-mercaptobenzotiazol), el DMPP (3,4-dimetilpirazol fosfato) o el DMPSA (3,4-dimetilpirazol succínico), cuyo uso agrícola se ha ampliado con el paso de los años. Los metaanálisis muestran que la aplicación de inhibidores de la nitrificación reduce significativamente la lixiviación de N inorgánico (48 %), la emisión de N<sub>2</sub>O (44 %) y la emisión de NO (24 %) (Thapa et al., 2016), al mismo tiempo que se incrementan los rendimientos de los cultivos y la NUE. El efecto beneficioso de los inhibidores de la nitrificación puede depender de las condiciones del medio (p. ej. el pH, humedad, temperatura y la textura del suelo) y otros factores de manejo como la frecuencia de los riegos y las dosis de fertilizante nitrogenado (Abalos et al., 2014). La longevidad de los inhibidores bajo condiciones de suelo afectadas por la temperatura es de vital importancia para su efectividad (Menéndez et al., 2012; Guardia et al., 2018). Algunos de los factores que están bajo el control en el manejo de los cultivos son la cantidad, el tipo y el momento de la aplicación de los fertilizantes nitrogenados, el uso de inhibidores de la nitrificación y la cantidad y la frecuencia de la aplicación del agua en los sistemas de riego.

En los últimos años se han llevado a cabo numerosas investigaciones en diferentes cultivos sobre la efectividad de los NI en la emisión de óxidos de N, en la lixiviación de nitratos, en el aumento del rendimiento de las cosechas y en la volatilización de amoníaco. Los resultados de 136 ensayos de campo durante 3 años que se llevaron a cabo bajo diversas condiciones edafoclimáticas en el oeste y el sur de Europa (Pasda et al., 2001) mostraron que el DMPP aumentó el rendimiento de los cereales (trigo, arroz y maíz), de tubérculos (patata), de azúcar (remolacha azucarera), y biomasa (zanahoria, canónigos, cebolla, rábano, lechuga, coliflor, puerro, apio y nabo).

En un metaanálisis con 144 observaciones de estudios recientes en Alemania mostró que los fertilizantes nitrogenados con NI no afectaron significativamente a los rendimientos de todos los cultivos investigados (Hu et al., 2014). Por otro lado, Kim et al., en 2012 mostraron que los resultados de 46 conjuntos de datos de 21 estudios desde 1970 hasta 2010 indican que la volatilización de NH<sub>3</sub> aumenta significativamente con la aplicación de NI, pero el NI utilizado en la mayoría de aquellos experimentos fue DCD. En un estudio que comparó DCD y DMPP (Wissemeier et al., 2002) informó que en el tratamiento ASN/DCD, la volatilización de NH<sub>3</sub> fue ligeramente mayor (18,0 kg/ha) que en el control (15,4 kg/ha), mientras que la volatilización de NH<sub>3</sub> del tratamiento con ASN/DMPP fue incluso menor que el control (14,2 kg/ha).

En un experimento de campo llevado a cabo sobre pastizales, no se encontró un aumento significativo de la volatilización de  $\text{NH}_3$  con la aplicación de DMPP cuando se aplicó junto con purines (Menéndez et al., 2006), y en otra investigación igualmente en campo (Li et al., 2009) también mostraron que la aplicación de DMPP en fincas agrícolas con rotación de cultivos no tuvo efectos significativos en los flujos de pérdida por volatilización de  $\text{NH}_3$ .

Los inhibidores de la nitrificación se han investigado durante más de 5 décadas y sus efectos en la reducción de las emisiones de  $\text{N}_2\text{O}$  de forma significativa han sido probados por varias investigaciones. Sin embargo, el proceso de los mecanismos concretos todavía no se explica lo suficiente, incluso en condiciones de laboratorio bien controladas. Por todo ello, aún es necesario realizar más estudios, ya sea de laboratorio o de campo, para conocer mejor la contribución de este tipo de sustancias sobre el N en el suelo y sus efectos en los cultivos (Dong, G., et al. 2021).

Los factores como el momento y la intensidad de las lluvias, los eventos de sequía extrema y la magnitud de los procesos de la mineralización siguen siendo objetivos de gestión desafiantes. En el futuro, bajo un clima cambiante, con la temperatura más elevada y las precipitaciones más variables probablemente aumentarán la mineralización y la nitrificación del N, lo que generará una necesidad aún más urgente de gestionar la nitrificación y prevenir las pérdidas de N en la agricultura (Bowles et al., 2018).

## **4. OBJETIVOS**

---

#### 4. OBJETIVOS

La agricultura debe poder satisfacer las necesidades de las generaciones presentes y futuras de una forma sostenible, al tiempo que garantice la rentabilidad, la salud ambiental, y la equidad social y económica. El almendro es uno de los cultivos arbóreos más importantes en España. Se sitúa en tercer lugar entre los de mayor extensión, sólo por detrás de la vid y del olivo. De la superficie mundial, que supera los 2,1 millones de ha, España es el que presenta mayor superficie, con la tercera parte del total, seguido por Estados Unidos, Túnez y Marruecos.

El diagnóstico agrícola de los cultivos, desde el punto de vista nutricional, consiste en el estudio y evaluación de un conjunto de datos (análisis de hoja, suelo,...), que permite valorar el estado de la planta y de este modo establecer la dosificación adecuada de fertilizantes, con el objetivo de lograr el mayor rendimiento productivo a la vez que se minimiza el impacto que tienen los fertilizantes sobre el medioambiente.

El objetivo general de esta tesis fue generar conocimiento científico de la nutrición mineral del almendro que permita en un futuro practicar una agricultura sostenible suministrado los fertilizantes necesarios a este cultivo sin perjudicar al medioambiente evitando la lixiviación de los nitratos y su acumulación a los hábitats naturales. Para la consecución de este objetivo se plantearon los siguientes objetivos técnicos:

- Conocer el periodo idóneo de toma de muestras foliares durante el ciclo anual de almendro para determinar el estado nutricional de este cultivo.
- Desarrollar normas de interpretación y diagnóstico foliar de las variedades de almendro más populares de España, cultivadas tanto en secano como en regadío, basadas en la metodología RN (Rango de normalidad), DRIS (Sistema Integrado de Diagnóstico y Recomendación) y CND (Diagnóstico Composicional de Nutrientes) con las que gestionar en un futuro de forma más eficiente la aplicación de fertilizantes.
- Evaluar el efecto que tiene en plantas de almendro el uso del nuevo inhibidor de la nitrificación (DMPSA). Se quiso testar la hipótesis de que en árboles de almendro la inhibición de amonio a nitrato podría facilitar la absorción y asimilación del nitrógeno en las plantas, a la vez que se reduce la lixiviación por nitratos.

## **5. MATERIALES Y MÉTODOS**

---

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1 Materiales y métodos: Publicación 1

#### 5.1.1 Selección de parcelas, toma de muestras y análisis

La selección de las parcelas experimentales se realizó de acuerdo con los criterios establecidos para determinar las normas DRIS, basados en que dichas parcelas deben ser con almendros adultos, en fincas comerciales, homogéneas y con alto rendimiento productivo. Nuestras parcelas se ubicaron entre las provincias de Albacete y Murcia (España, Figura 7.1), con similares condiciones agroclimáticas y edáficas. Los árboles estaban cultivados en regadío mediante el sistema de riego localizado de alta frecuencia por goteo, con el manejo agronómico habitual en esa zona. Las variedades estudiadas fueron *Ferraduel*, *Ferragnes* y *Garrigues*. Los huertos de *Ferraduel* y de *Ferragnes* se encuentran en Hellín (Albacete) y *Garrigues* en Jumilla (Región de Murcia). Todas las parcelas estaban próximas, a menos de un kilómetro de distancia. La producción media de almendra en cáscara obtenida en la finca estuvo en torno a los 4.000 kg/ha. La recolección de las muestras de hoja se realizó desde la primera quincena de mayo hasta la segunda quincena de septiembre, durante dos años consecutivos, 2017 y 2018, no observándose diferencias significativas entre ambos años.



**Figura 7.1.** Localización de las parcelas de ensayo

A lo largo de cada año se establecieron 10 periodos de muestreo desde mayo hasta septiembre, con tomas quincenales. En cada una se recogieron 12 muestras foliares por variedad con 100 hojas maduras que se metían en una bolsa de papel perfectamente identificada. En cada muestra se analizó el contenido de N, P, K, Ca, y Mg. Las hojas se lavaron brevemente con agua desionizada, se secaron en horno a 60 °C durante 48 h, se pesaron y se molieron en un molino de martillos. Posteriormente, las muestras fueron digeridas vía ácido nítrico-perclórico (2:1) a 90 °C. El análisis de K, Ca y Mg se llevó a cabo mediante espectrometría de absorción atómica (Perkin/Elmer 5500). El N total se determinó mediante el método semi-micro Kjeldahl. El P

total se midió colorimétricamente utilizando el método del azul de molibdeno descrito por Murphy y Riley (1962).

### **5.1.2 Determinación del periodo de muestreo foliar**

Con los resultados de los sucesivos análisis foliares obtenidos, se estableció el período más adecuado durante el año para la realización de la toma de muestras de hojas en almendro, siguiendo el criterio de que en ese periodo la concentración de todos y cada uno de los nutrientes ha de ser constante. Para cada uno de los elementos (N, P, K, Ca y Mg) un periodo es estable cuando en varias fechas consecutivas de muestreo de este periodo no hay diferencias significativas en la concentración de dicho nutriente. El estudio de cada elemento se realizó mediante el ANOVA y la comparación de medias entre los datos de las diez fechas de recolección de hojas. De este modo, se determinaron las fases en las que los niveles foliares se mantuvieron estables.

### **5.1.3 Métodos de diagnóstico: rango de normalidad (RN)**

Una vez establecido el periodo de las toma de muestras de hojas (julio), se obtuvo el rango de normalidad utilizando únicamente los valores de los análisis foliares correspondientes a este mes. Para cada nutriente en este periodo se calculó la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación. Los rangos se determinaron utilizando la media y la desviación estándar de los datos de todos los resultados obtenidos en los análisis de cada variedad en el periodo de muestreo. El intervalo “normal” se calculó con la media aritmética ( $m$ )  $\pm$  la desviación estándar ( $s$ ). Para los intervalos “bajo” y “alto” el procedimiento fue restar y sumar respectivamente la desviación estándar a los valores del intervalo normal. Los valores “muy bajo” y “muy alto” se establecieron como el menor y mayor del intervalo de “bajo” y “alto”, respectivamente.

### **5.1.4 Métodos de diagnóstico: normas DRIS**

Las normas de referencia DRIS para los nutrientes de los cultivares de almendro estudiados se han obtenido utilizando el programa Excel, siguiendo el procedimiento descrito por Beaufils (1973) y Giménez et al., (2004). El proceso consiste en hallar las operaciones de cocientes y multiplicaciones de todas las relaciones posibles entre pares de elementos ( $A/B$ ;  $B/A$  y  $A \times B$ ) para todos los macronutrientes: nitrógeno (%), fósforo (%), potasio (%), calcio (%) y magnesio (%). Se plantearon las siguientes normas:  $N/P$ ,  $P/N$ ,  $N \times P$ ,  $N/K$ ,  $K/N$ ,  $N \times K$ ,  $N/Ca$ ,  $Ca/N$ ,  $N \times Ca$ ,  $N/Mg$ ,  $Mg/N$ ,  $N \times Mg$ ,  $K/P$ ,  $P/K$ ,  $K \times P$ ,  $K/Mg$ ,  $Mg/K$ ,  $K \times Mg$ ,  $P/Ca$ ,  $Ca/P$ ,  $P \times Ca$ ,  $P/Mg$ ,  $Mg/P$ ,  $P \times Mg$ ,  $K/Ca$ ,  $Ca/K$ ,  $K \times Ca$ ,  $Ca/Mg$ ,  $Mg/Ca$  y  $Mg \times Ca$ . Después de obtener los

resultados de estas relaciones se seleccionaron para cada combinación las diez que tenían el CV más bajo.

### 5.1.5 Métodos de diagnóstico: normas CND

El cálculo de las normas CND se realizó de acuerdo con los estudios de Parent y Dafir (1992), Aitchison (1982) y Khiari et al., (2001). En primer lugar, se calculó un parámetro adimensional denominado “Sd” como la suma de todos los nutrientes (N + P + K + Mg + Ca + Rd). Rd representa todos los valores que no están determinados analíticamente. La suma de todos los nutrientes más el factor “Rd” debe ser 100, por lo que “Rd” se calcula con la siguiente fórmula:

$$Rd = 100 - (N + P + K + Ca + Mg) \quad (1)$$

El parámetro “G” se calcula como la media geométrica de todos los nutrientes incluyendo el valor Rd. La fórmula para calcular G es:

$$G = [N \times P \times K \times \dots \times Rd]^{1/(d+1)} \quad (2)$$

Una vez calculados estos dos parámetros (Rd y G), se calcula la relación “Vx” para cada nutriente usando la ecuación (3), donde “X” representa cada nutriente analizado:

$$V_x = \ln (X/G) \quad (3)$$

$$V_{Rd} = \ln (Rd/G) \quad (4)$$

Por definición, la suma de todos los componentes de un tejido vegetal debe ser 100%. Por lo tanto, la suma de todos los Vx debe ser cero.

### 5.1.6 Análisis estadístico

En cada cultivar se tomaron doce muestras por cada fecha de muestreo. Los parámetros calculados (media, desviación estándar, coeficiente de variación y error estándar) así como el análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey para la separación de medias ( $p < 0,05$ ) se analizaron estadísticamente con el software SPSS Versión 20.0 (SPSS Statistical Package, Chicago, IL, Estados Unidos).

## 5.2 Materiales y métodos: Publicación 2

### 5.2.1 Selección de parcelas, toma de muestras y análisis

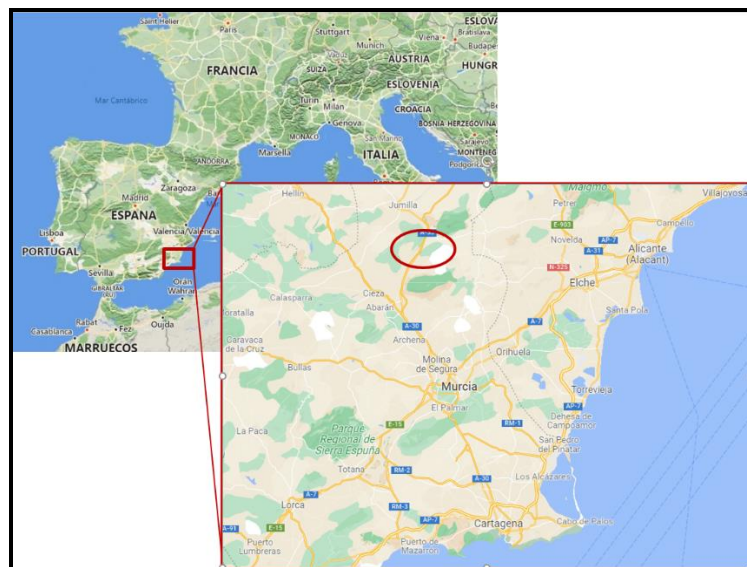
Las parcelas de almendro de las cuatro variedades Desmayo, Ramillete, Marcona y Tuono utilizadas en el presente estudio están ubicadas en Jumilla, (Murcia, España), separadas entre sí a una distancia de menos de 10 Km. Las parcelas de regadío están localizadas en torno a las coordenadas de Latitud 38° 21' 57.32" N, Longitud 1° 15' 29.15" W y las parcelas de secano en



torno a la Latitud 38° 22' 20.02" N y Longitud 1° 15' 8.21" W (Figura 7.2). En las fincas había parcelas cultivadas tanto en secano como en riego por goteo, realizándose el manejo agronómico habitual de la zona. En las parcelas de secano la pluviometría media de los últimos 10 años fue de 256 mm. Las parcelas de regadío recibieron de media 650 mm de agua entre las precipitaciones y el riego. En secano la fertilización media anual en unidades fertilizantes (UF) N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O fue de 50-20-60; mientras que en regadío fue de 140-60-160. La producción media del cultivo de secano varió entre 450-600 kg ha<sup>-1</sup> de grano, mientras que en regadío osciló entre 1200-1700 kg ha<sup>-1</sup> de grano. La edad, marco de plantación y ubicación de las parcelas de estudio se pueden ver en la Tabla 7.1 y Figura 7.2.

**Tabla 7.1.** Características de las parcelas del ensayo según las variedades y el sistema de riego.

| Variedad  | Secano |       | Regadío |       |
|-----------|--------|-------|---------|-------|
|           | Edad   | Marco | Edad    | Marco |
| Desmayo   | 21     | 6x6   | 18      | 7x6   |
| Ramillete | 21     | 6x6   | 18      | 7x6   |
| Marcona   | 26     | 7x7   | 21      | 7x6   |
| Tuono     | 18     | 6x6   | 24      | 6x6   |



**Figura 7.2.** Localización de las parcelas de ensayo

Las muestras foliares se recolectaron desde la primera quincena de junio hasta la segunda quincena de septiembre durante dos años consecutivos, 2019 y 2020, no observándose diferencias significativas entre los resultados de las muestras correspondientes a ambos años. Los datos aportados corresponden a la media de dicho intervalo de tiempo.

Durante cada año se establecieron ocho fechas de muestreo entre junio y septiembre, recolectando las hojas con 12 repeticiones para cada variedad y sistema de cultivo cada dos semanas. De esta forma se tomaron un total de 192 muestras, de 100 hojas maduras. Tras el

trabajo de campo las hojas se lavaron con agua desionizada, se secaron al horno a 60 °C durante 48 horas y posteriormente se analizaron los contenidos de N, P, K, Ca y Mg de cada muestra, tal y como se ha descrito en la sección 7.1.1 de esta memoria.

#### **5.2.2 Determinación del periodo de muestreo foliar**

Se siguió el mismo procedimiento descrito en la sección 5.1.2 de esta memoria.

#### **5.2.3 Métodos de diagnóstico: rango de normalidad (RN)**

Para cada forma de riego y cultivar se siguió el procedimiento descrito en la sección 5.1.3 de esta memoria.

#### **5.2.4 Métodos de diagnóstico: normas DRIS**

Para cada forma de riego y cultivar se siguió el procedimiento descrito en la sección 5.1.4 de esta memoria.

#### **5.2.5 Métodos de diagnóstico: normas CND**

Para cada forma de riego y cultivar se siguió el procedimiento descrito en la sección 5.1.5 de esta memoria.

#### **5.2.6 Análisis estadístico**

Los parámetros calculados se realizaron con el mismo procedimiento descrito en la sección 5.1.6 de esta memoria.

### **5.3 Materiales y métodos: Publicación 3**

#### **5.3.1 Condiciones de cultivo y material vegetal**

El experimento se llevó a cabo en un invernadero de tipo multitúnel en la finca experimental del CEBAS “La Matanza” situada en el término municipal de Santomera (a 18 km de Murcia). Para el control de la temperatura se dispone de un sistema de refrigeración del tipo “Cooling-System” y mallas de sombreado de Aluminio (30%). La temperatura y humedad media diaria durante el desarrollo del experimento fue de 29 °C y 55%. En la realización del ensayo se utilizaron plantas de almendro (*Prunus dulcis* (Mill) D.A. Webb) de la variedad ‘Avijor’ obtenidas de un vivero comercial (EF Viveros del Sureste S.L., Carretera de Granada, Km.10.5, 30412 Barranda, Caravaca de la Cruz, Murcia, España).

Las plantas de almendro fueron trasplantadas a macetas de 20 L de capacidad, con suelo procedente de la Vega Baja del Segura (Orihuela, Comunidad Valenciana, España). El suelo era franco-arcilloso con pH de 8,1 y CE de 0,82 (1/5, mS cm<sup>-1</sup>). La concentración de aniones en el suelo de Cl<sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, extraídos en agua, fue de 265,6, 1.029,7, <1,0, y 368,2 (mg/Kg de suelo) respectivamente. La concentración de macronutrientes, después de una digestión con HNO<sub>3</sub>:H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, expresados en g/100 g suelo, fue de Ca 17,50, K 0,78, Mg 1,34, Na 0,06 y P 0,08. Una vez trasplantadas, las plantas se regaron según la demanda del cultivo con agua procedente del trasvase Tajo-Segura. El riego se aplicó mediante un sistema de riego por goteo con emisores autocompensantes de 4 L h<sup>-1</sup>, con un volumen de riego suficiente para que se produjera drenaje en cada evento de riego.

Tras dos semanas de periodo de aclimatación, las plantas se dividieron en tres grupos, y cada uno de los cuales se regó con soluciones nutritivas diferentes, que se prepararon con KNO<sub>3</sub>, Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, MgSO<sub>4</sub>, NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, (NH<sub>4</sub>)H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, micronutrientes y el inhibidor de la nitrificación (DMPSA). Todas las soluciones nutritivas tenían una concentración de N, P, K, Ca de 5,18 mM, 0,6 mM, 2,6 mM, y 4 mM, respectivamente, pero diferían en la relación NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> y en la presencia del inhibidor de la nitrificación. Tratamiento 1: relación 1:1 Nitrato/Amonio, sin inhibidor de la nitrificación; Tratamiento 2: relación 3:1, sin inhibidor de la nitrificación y Tratamiento 3: relación 1:1 con inhibidor de la nitrificación.

Las plantas se regaron inicialmente una vez al día durante 5 minutos empleando las soluciones nutritivas comentadas anteriormente. Cuando se adaptaron a las condiciones del invernadero se aumentó hasta 10 minutos cada día. El tiempo de riego fue estimado para conseguir que en cada evento de riego se drenara como mínimo un 15% del volumen total regado. La frecuencia y volumen de riego se ajustaban semanalmente con los datos de drenaje que se recogían en unos recipientes colocados en las macetas. El riego de cada tratamiento se realizaba de forma independiente de los demás utilizando un sistema de riego sectorizado (depósitos, tuberías, electroválvulas, bombas, etc.) controlado por un PC. Las plantas estaban colocadas en cuatro bloques en los que había 4 almendros por bloque de cada uno de los tratamientos distribuidos al azar, de esta forma había un total de 16 plantas por tratamiento.

### **5.3.2 Parámetros analizados**

#### *5.3.2.1 Medida de drenaje de las plantas*

Cada cuatro semanas se tomaban muestras de los drenajes de cada uno de los tratamientos después de cada evento de riego. Para ello se disponía de cuatro recipientes por tratamiento que recogían el drenaje, posteriormente se medía su volumen y se guardaban para analizar el contenido de cationes, aniones y amonio.

### 5.3.2.2 Medida del contenido de clorofilas, altura y diámetro del tronco

El mismo día que se tomaban las muestras de drenaje, se realizaban medidas de clorofilas, altura y diámetro del tronco a las plantas. Las clorofilas se midieron en hojas completamente desarrolladas y en todas las orientaciones de la planta mediante un medidor portátil C1-01 (Hansatech) (unidades SPAD). Dicho dispositivo determina el contenido relativo de clorofilas utilizando la absorbancia de doble longitud de onda óptica (620 y 940 nm). La altura de las plantas se midió desde la base de la maceta hasta la cruz más alta de la planta con ayuda de una cinta métrica. El diámetro del tronco se midió con un calibrador digital, (Digimatic de Mitutoyo CD-15D) de 0,1 mm de precisión.

### 5.3.2.3 Medidas de humedad del suelo y transpiración del cultivo

Se realizaron medidas de humedad del suelo durante todo el ensayo con un sensor de humedad relativa portátil para suelo modelo TDR 100 (Time Domain Reflectometer, Fieldscout). Para conocer la transpiración de las plantas se tomaron dos medias consecutivas durante el día. Además, se contaba con una maceta 'sin planta' para contabilizar la pérdida de humedad debida al ambiente. Los resultados se presentan en % de agua transpirada por hora.

### 5.3.2.4 Parámetros de intercambio gaseoso

Los parámetros de intercambio gaseoso se midieron, en hojas completamente expandidas y desarrolladas, entre las 8.30 y 11.00 h en todas las plantas de cada uno de los tratamientos, pocos días antes de cosechar las plantas. Para ello se utilizó el analizador portátil de fotosíntesis (PP System Ciras-2, UK), cuyas condiciones de medida fueron ajustadas a  $1.200 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  para luz de radiación fotosintéticamente activa y 400 ppm de concentración de  $\text{CO}_2$  en la cámara de medición. Dicho equipo midió la tasa de asimilación neta de  $\text{CO}_2$  ( $\text{ACO}_2$ ), y la conductancia estomática (gs), y calculó el uso eficaz del agua ( $\text{WUE} = \text{ACO}_2/\text{Eleaf}$ , donde Eleaf corresponde al valor de transpiración foliar obtenido en cada medida) y la relación  $\text{Ci}/\text{Ca}$  (Ci y Ca son la concentración  $\text{CO}_2$  subestomático y externo, respectivamente).

### 5.3.2.5 Parámetros de fluorescencia de clorofilas

Las medidas de fluorescencia de clorofilas se realizaron en las mismas plantas a las que se midieron los parámetros de intercambio gaseoso, utilizando un fluorímetro de pulso modulado FMS-2 portátil (Hansatech Instruments Ltd., UK). Los parámetros de fluorescencia de clorofilas que se midieron fueron: la eficiencia cuántica de PSII ( $\Phi_{\text{PSII}} = (\text{Fm}' - \text{Fs}) / \text{Fm}'$ ), la eficiencia de antenas de PSII ( $\text{Fv}'/\text{Fm}' = (\text{Fm}' - \text{F0}')/\text{Fm}'$ ), y el coeficiente de extinción fotoquímica, ( $\text{Pq} = (\text{Fm}' - \text{Fs})/(\text{Fm}' - \text{F0}')$ ), donde Fs es el rendimiento de fluorescencia en estado estable, Fm' es el valor máximo cuando todos los centros de reacción se cierran después de un pulso de luz de

saturación ( $12.000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  durante 0,8 s), y  $F0'$  es la fluorescencia mínima en el estado adaptado a la luz que se obtiene al apagar la luz actínica temporalmente y aplicar un pulso de luz roja lejana (735 nm) para drenar los electrodos de PSII.

#### 5.3.2.6 Determinación parámetros de crecimiento

Al final del ensayo las plantas fueron cosechadas. Para ello, se pesaron por separado la parte aérea (Hojas + Tallo) y raíz, expresando dicha biomasa como g de peso fresco por planta. Se utilizó una balanza de precisión Sartorius (Acculab, Gottingen, Alemania). Posteriormente, ambos tejidos se lavaron con agua desionizada y se procedió al secado en estufa a  $60^\circ\text{C}$  durante al menos unas 48 h. Una vez bien secas se volvieron a pesar, obteniéndose así el peso seco (Ps) de ambos tejidos. Se guardaron muestras de ambos tejidos, tanto en seco como en fresco para su posterior análisis.

Se determinó también el Contenido de Agua (CA, %) mediante la siguiente fórmula:

$$CA (\%) = \left[ \frac{(\text{Peso fresco total} - \text{Peso seco total})}{\text{Peso fresco total}} \right] \times 100$$

El CA es una de las expresiones usadas para medir el nivel de agua de un tejido, es decir, el estado hídrico de la planta.

#### 5.3.2.7 Análisis mineral

En las hojas secas y molidas se determinó la concentración de nutrientes minerales (K, Mg, Ca, P, Mn, Zn, Fe y B) por espectrometría de plasma acoplado inductivamente (ICP, Iris Intrepid II, Thermo Electron Corporation, Franklin, USA), previa digestión con  $\text{HNO}_3:\text{H}_2\text{O}_2$  (5:3 en volumen) utilizando un microondas (CERM Mars Xpress, North Carolina, USA) con rampa de temperatura alcanzado los  $200^\circ\text{C}$ . El análisis del C total y N se llevó a cabo mediante un analizador elemental C/N Thermo Finnigan (Milan, Italy). Además, con los drenajes que se fueron recolectando durante todo el ensayo y con el equipo empleado anteriormente (ICP, Iris Intrepid II, Thermo Electron Corporation, Franklin, USA) y un HPLC se procedió a determinar la concentración de aniones ( $\text{F}^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ , Ca y K) y amonio ( $\text{NH}_4^+$ ).

#### 5.3.2.8 Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño experimental fue unifactorial basado en tres tratamientos de fertilización. Para el análisis estadístico se aplicó primero el análisis de varianza (ANOVA). Se utilizó la prueba de Duncan para determinar diferencias específicas entre pares de medias cuando el ANOVA fue significativo. Para cada tratamiento se realizaron cuatro repeticiones experimentales con cuatro

plantas por repetición. El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando el software IBM SPSS statistics V24 (Armonk, Nueva York, Estados Unidos).

## **6. RESUMEN DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES**

---

## 6. RESUMEN DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

### 6.1 Resultados y conclusiones: Publicación 1

#### 6.1.1 Selección del período de muestreo

En esta publicación se mostró la evolución de la concentración de N, P, K, Ca y Mg a lo largo del tiempo para las variedades de almendro *Ferraduel*, *Ferragnes* y *Garrigues* (*Prunus dulcis*, Mill.). Los nutrientes P, K y Mg fueron estables a lo largo del tiempo desde mayo hasta septiembre en todos los cultivares de almendro. El nitrógeno también se mantuvo estable para las variedades *Ferraduel* y *Ferragnes* en este periodo, mientras que *Garrigues* se caracterizó por un lento y progresivo descenso en la concentración, del 3,5% en mayo al 1,5% en septiembre. El calcio fue el elemento más variable en las tres variedades debido a su continuo aumento (con algunos picos y valles) a partir del mes de abril, alcanzando su máxima concentración en verano, aunque la fecha exacta dependía de la variedad: *Ferraduel* y *Ferragnes* en agosto, y *Garrigues* en septiembre.

En cuanto al momento óptimo de muestreo foliar, aunque cada variedad tiene su propio período de tiempo, los tres cultivares estudiados en este trabajo presentaron una alta estabilidad en la concentración de los nutrientes analizados durante la primera y segunda quincena de julio. Por lo tanto, considerando estos datos, podemos afirmar que la fecha óptima para el muestreo foliar es en el mes de julio. Este es el período de tiempo en el que los nutrientes minerales alcanzan simultáneamente una meseta estable en los tres cultivares. Este periodo del año corresponde con los estados fenológicos en los que los frutos alcanzan el tamaño final.

Con los datos obtenidos en julio, se calculó el valor promedio, el error estándar y el coeficiente de variabilidad para cada nutriente y variedad. Se observa que la concentración de estos nutrientes siguen la tendencia:  $Ca > N = Mg > P$ , y esta tendencia se mantiene durante todo el ciclo anual. Además, los datos muestran que las concentraciones de N, P, K y Ca fueron mayores en *Ferraduel* y *Ferragnes* en comparación a *Garrigues*, mientras que el Mg fue menor.

#### 6.1.2 Rangos de normalidad

Una vez calculados el valor medio, la desviación estándar y el coeficiente de variación para cada cultivar en el mes de julio se hallaron los rangos de normalidad. Las variedades *Ferraduel* y *Ferragnes* tuvieron rangos de normalidad similares. Sin embargo, *Garrigues* tenía valores mucho más bajos, excepto Mg, que tuvo un rango de normalidad de 0,81-1,17 %. En California, Muhammad et al. (2017) encontró que los rangos críticos para muestras de almendro en julio eran N 2,3–2,5 %, P 0,1–0,3 %, K 1,4–2,0 %, Ca 2,0–5,0 % y Mg 0,25–0,8 %. Todos los rangos son similares a los obtenidos en nuestro estudio, excepto en el caso del K, que en nuestro caso, los árboles presentaban una menor concentración.



### 6.1.3 Normas DRIS

Las normas DRIS obtenidas para las variedades *Ferraduel*, *Ferragnes* y *Garrigues* fueron N/P, N/K, N × Ca, N/Mg, K/P, K × Mg, P × Ca, P × Mg, K × Ca y Ca/Mg. Estas normas fueron similares entre las variedades *Ferraduel* y *Ferragnes*, mientras que mostraron diferencias con la variedad *Garrigues*. Por ejemplo, esta variedad tuvo valores mayores en las normas N/P y P/K y una relación N × Ca menor que las otras dos variedades. En nuestro estudio, calculamos las normas DRIS a partir de un huerto de almendros sanos y de alta productividad. Por lo tanto, servirían para utilizarse como población de referencia. Una vez obtenidas las normas DRIS, se puede hacer una interpretación del estado nutricional de cualquier muestra, comenzando por el cálculo de los índices DRIS.

### 6.1.4 Normas CND

Las normas CND obtenidas para las tres variedades ensayadas mostraron que *Ferraduel* y *Ferragnes* presentaron valores nutricionales similares entre ellas pero diferentes a los de *Garrigues*. Por ejemplo,  $V_N$ ,  $V_P$  y los valores de  $V_K$  fueron superiores en *Ferraduel* y *Ferragnes* respecto a *Garrigues*, pero el  $V_{Ca}$  y los valores de  $V_{Mg}$  fueron mayores en la variedad *Garrigues*. A partir de la obtención de las normas, se podrían calcular los índices CND para cualquier muestra de hoja para su interpretación.

Los valores obtenidos en este trabajo para los estándares CND son del mismo orden de magnitud que los publicados por otros autores, pero existen diferencias importantes al comparar con diferentes especies, zonas climáticas, manejos de fertilización y métodos de riego. Además, no existen en almendro referencias relativas a las normas CND, por lo tanto, los valores obtenidos en este trabajo serán de utilidad para interpretar los resultados de los análisis foliares de este cultivo.

### 6.1.5 Conclusiones

Los resultados de este experimento indican que el período óptimo para el muestreo foliar de los cultivares *Ferraduel*, *Ferragnes* y *Garrigues* es durante julio, ya que en este mes la concentración de elementos minerales en hoja estaba estabilizándose para los cinco nutrientes analizados. Con respecto al estado nutricional de los contenidos de N, P, K, Ca y Mg hubo diferencias entre variedades: *Ferraduel* y *Ferragnes* son muy parecidas; sin embargo, son diferentes respecto al cultivar *Garrigues*. Los datos sugieren que *Ferraduel* y *Ferragnes* requieren un mayor contenido de N, P y Ca que *Garrigues*. De hecho, las normas DRIS y CND para *Ferraduel* y *Ferragnes* son muy similares entre ellas, pero diferentes con respecto a *Garrigues*. Estas normas podrían ser introducidas en sistemas de soporte a la decisión (DSS), a través de sus correspondientes algoritmos, para la gestión de la fertilización de huertos de

almendros, lo que aumentaría el uso eficiente de fertilizantes. En futuros ensayos obtendremos nuevas normas en función de diferentes condiciones agronómicas, tales como tipos de agua utilizados para riego, regadío vs secano, etc.

## 6.2 Resultados y conclusiones: Publicación 2

### 6.2.1 Selección del periodo de muestreo

En la evolución de las concentraciones de N, P, K, Ca y Mg a lo largo del periodo de muestreo para las cuatro variedades de almendro estudiadas, *Desmayo*, *Ramillete*, *Marcona* y *Tuono*, cultivadas en secano, los valores máximos y mínimos, expresados en mg / 100 mg dw, en la concentración foliar de P, Mg, K, N y Ca fueron 0,11/0,06, 1,09/0,60, 1,34/0,28, 2,08/0,95 y 6,56/3,22, respectivamente. Se observó que los nutrientes P y Mg se mantuvieron estables a lo largo del tiempo entre junio y septiembre. Los valores de N también presentaron una evolución estable con una leve disminución con el tiempo para todas las variedades, aunque en la variedad *Desmayo* hay un descenso considerable en la primera quincena de julio, pasando de una concentración de 2 a 1 %, aunque se recuperó en el siguiente muestreo a los valores iniciales. En la concentración de K se observó una tendencia descendente en todas las variedades, excepto en *Marcona*, en la que la concentración fue estable o ligeramente ascendente. La concentración de Ca fue la que mostró una evolución más irregular que los otros elementos minerales. En general, para este nutriente, los valores más bajos se presentaron en la segunda quincena de julio y los más elevados en la segunda quincena de agosto.

En cuanto a las parcelas con riego los valores máximos y mínimos del estudio para P, Mg, K, N, y Ca fueron 0,28/0,06, 1,04/0,51, 2,29/0,26, 2,88/1,01 y 5,54/2,64, respectivamente. La evolución de los nutrientes analizados fue similar a la de las parcelas en secano, destacando la gran variabilidad del Ca, dándose un descenso drástico a la mitad del periodo de muestreo en todas las variedades, excepto en *Ramillete*, a partir del cual aumentaba.

Utilizando los datos obtenidos a lo largo del tiempo se estableció el momento óptimo de muestreo foliar. El periodo de estabilidad de las cuatro variedades coincide simultáneamente para todos los nutrientes analizados (N, P, K, Ca, Mg) en julio. De este modo podemos afirmar que las fechas apropiadas para el muestreo foliar son durante el mes de julio en las cuatro variedades. Esta fase del ciclo vegetativo se corresponde con el estado fenológico en el que los frutos alcanzan el tamaño final.

Con los datos obtenidos en dicho intervalo de toma de muestra se calcularon los principales valores estadísticos descriptivos para cada nutriente y variedad. Se observó que la concentración de estos nutrientes siguió la tendencia:  $Ca > N > K \geq Mg > P$ . En la parcela de secano, el estado

nutricional de las hojas de *Tuono* es diferente al estado nutricional del resto de variedades. En el caso de los árboles con riego, las diferencias fueron menos acusadas. En las cuatro variedades se aprecian diferencias significativas para la concentración de N entre el cultivo en secano y en regadío, siendo más alto en regadío. También se observan concentraciones más altas en el P en regadío que en secano para *Desmayo*, *Marcona* y *Tuono*, y en Mg para *Desmayo* y *Ramillete*. Sin embargo, se dieron valores más altos en secano que en regadío en el K para *Marcona* y para el Ca en *Tuono*.

### 6.2.2 Rangos de normalidad

Tanto en secano como en regadío las variedades *Desmayo*, *Ramillete* y *Marcona* tienen valores muy parecidos entre sí, pero diferentes a los de *Tuono*. Esta última tiene unos rangos de normalidad más bajos en el N y K, y más altos en Ca y Mg que las otras variedades. Por otra parte, en cada variedad no existen diferencias destacables entre secano y regadío.

### 6.2.3 Normas DRIS

El criterio utilizado para seleccionar las normas fue elegir aquellas que presentaron un menor coeficiente de variación para cada variedad. Las normas resultantes coinciden en buena parte para las cuatro variedades. Las excepciones son N/P en *Marcona* y *Desmayo* y P/N en *Ramillete* y *Tuono*; P/K *Tuono* y K/P las otras tres, Mg/K *Tuono* y K\*Mg las otras tres, K\*Ca *Desmayo* y K/Ca las otras tres, Mg/Ca *Desmayo* y *Marcona* y Ca/Mg *Ramillete* y *Tuono*.

Las diferencias significativas entre secano y regadío son escasas: para *Desmayo* en P\*Mg y Mg/Ca; para *Ramillete* en P/N, P\*Ca, P\*Mg y Ca/Mg; en *Marcona* para N/P, P\*Mg y Mg/Ca; y *Tuono* en P/N, K/N, P/K, Mg/K, K/Ca.

Las normas obtenidas proceden de huertos de almendros sanos y de alta productividad en dos escenarios medioambientales distintos, por lo que podrían ser utilizadas como referencia para su uso en la interpretación de otras muestras e incluso para aplicarlas en sistemas de apoyo a la toma de decisiones.

### 6.2.4 Normas CND

Las normas CND obtenidas en las cuatro variedades no presentan diferencias significativas entre secano y regadío en ninguna de ellas. Por otra parte, hay pocas diferencias significativas entre variedades, encontrando las siguientes:  $V_N$  riego en *Desmayo* y *Tuono* respecto de *Ramillete* y *Marcona*,  $V_{Ca}$  *Marcona* riego respecto de las demás, y *Tuono*  $V_N$  secano,  $V_{Ca}$  secano y  $V_{Mg}$  secano respecto de las demás.

### 6.2.5 Conclusiones

El período óptimo para el muestreo foliar de los cultivares Desmayo, Ramillete, Marcona y Tuono es durante el mes de julio, ya que en este mes la concentración de los nutrientes analizados en hoja se muestra constante de forma simultánea para cada uno de los macroelementos estudiados. Además, este periodo de estabilidad coincide en ambos sistemas de cultivo, en riego y en secano. En cuanto al estado nutricional para los contenidos de N, P, K, Ca y Mg, hubo diferencias entre variedades, pero éstas fueron mínimas entre los sistemas de riego. Respecto a las variedades, es la Tuono la que se manifiesta diferente al resto, mostrando principalmente estos contrastes más acusados en secano que en regadío.

## 6.3 Resultados, discusión y conclusiones: Publicación 3

### 6.3.1 Concentración de nutrientes en el drenaje de las plantas

Los datos del nitrato en el drenaje no muestran una evolución clara con el tiempo durante el desarrollo del experimento. Sin embargo, si analizamos los datos como el promedio de todos los muestreos de cada tratamiento se puede observar que la concentración aumenta en el siguiente orden de relación  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  1:1 (1053 mg/L) > 3:1 (725 mg/L) > 1:1+NI (646 mg/L). En la concentración de amonio en el drenaje se observan diferencias al final del experimento. En este muestreo los valores incrementan significativamente en el orden 1:1+NI > 1:1 > 3:1.

A lo largo del experimento no se observó una tendencia clara con respecto a las fechas de muestra excepto en K y P, dándose un incremento en su concentración a medida que se iba desarrollando el experimento, aunque el P tendió a descender a partir de mayo. Analizando los datos como el promedio de todas las fechas para cada tratamiento se observó que los drenajes del tratamiento  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  1:1 tuvieron la mayor concentración de Ca (596 mg/L), K (258 mg/L), y Mg (400 mg/L), aunque los valores de Ca y K fueron muy parecidos a los del tratamiento 1:1+NI (Ca 606 mg/L; K 227 mg/L).

### 6.3.2 Parámetros de crecimiento

Los diferentes tratamientos aplicados afectaron significativamente a los parámetros de crecimiento vegetativo en cuanto a la biomasa total, la biomasa foliar y la biomasa del tallo, sin embargo, la raíz no se vio afectada por los tratamientos. Las plantas que tuvieron la mayor biomasa total de la parte aérea fueron las tratadas con  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  1:1 + NI (DMPSA), y, esto fue debido, a que tanto la biomasa foliar como la biomasa del tallo fue mayor que la del resto de plantas regadas con los otros tratamientos. En promedio, las plantas a las que se les aplicó el tratamiento con el producto 1:1+NI incrementaron un 25% la biomasa total, un 33% biomasa

foliar, y, un 29% la biomasa del tallo. En el resto de los tratamientos también hubo diferencias significativas entre sí en la biomasa foliar total en la que las plantas tratadas con la solución 1:1 tuvieron un mayor crecimiento vegetativo que las tratadas con 3:1. La relación parte aérea raíz aumentó significativamente en las plantas del tratamiento 1:1 + NI con respecto a los otros dos tratamientos.

### 6.3.3 Parámetros fisiológicos

En todos los parámetros analizados no se observaron diferencias significativas entre tratamientos. Los valores promedio para la  $ACO_2$ ,  $g_s$ ,  $C_i$  y  $C_a$  fueron de  $2,6 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ,  $41 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ,  $0,64$  (adimensional),  $3,36 (\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O})$ , respectivamente. En cuanto a las medidas de fluorescencia de clorofilas se midieron las unidades SPAD,  $F_v'/F_m'$ , y PSII. El ANOVA no reveló diferencias significativas entre los diversos tratamientos. Las unidades SPAD fueron más altas en los tratamientos 3:1 y 1:1+NI que en tratamiento 1:1.

### 6.3.4 Análisis mineral de hojas y raíces

En cuanto al estado nutricional de las hojas, tras cinco meses con los tratamientos, se observaron diferencias significativas entre los tratamientos para K y N. Las plantas del tratamiento  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  1:1+NI fueron las que más nitrógeno y potasio acumularon en sus hojas con unos valores de N  $2,71 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1} \text{ Ps}$  y K  $2,18 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1} \text{ Ps}$ , aunque estos valores fueron no significativos respecto con los tratamientos 3:1 y 1:1.

Para los micronutrientes hubo diferencias significativas en la concentración de Cu. Estas diferencias se debieron a que las plantas regadas con el tratamiento 3:1 incrementaron la concentración en comparación a las del tratamiento 1:1 y 1:1+NI. Por otro lado, los macronutrientes y micronutrientes analizados en las raíces no mostraron diferencias significativas en su concentración entre los diferentes tratamientos, excepto para el P y N, en los que la concentración para estos dos nutrientes fue mayor para el tratamiento 3:1.

### 6.3.5 Discusión

En este estudio comparamos el comportamiento fisiológico y vegetativo de plantas de almendro *Avijor* tratadas mediante fertirrigación con tres soluciones nutritivas. Las soluciones ensayadas tuvieron la misma concentración de N pero diferente relación de  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  e incluyen o no el inhibidor de la nitrificación DMPSA. Con los datos se concluyó que este NI tiene efectos beneficiosos sobre las plantas de almendro y el medio ambiente como discutiremos mas adelante.

El análisis de la composición química del drenaje muestra que el NI reduce el nivel de nitratos en los lixiviados, limitando su descarga al medio ambiente. Durante el experimento, se generó un volumen de drenaje de 14,4 L. Esto implica que la cantidad de nitrato lixiviado al suelo fue de 14,7 g, 10,44 g y 9,3 g para los tratamientos 1:1, 3:1 y 1:1 + NI, respectivamente. Con base a esta estimación, confirmamos que la presencia de NI en la solución nutritiva redujó el aporte de nitratos al suelo en un 11 % y un 37 % frente a la fertilización estándar 3:1 o con soluciones nutritivas sin NI. Los resultados también parecen indicar una menor degradación de amonio a nitrato con la presencia de NI, como lo muestran los valores de nitrato más bajos y de amonio más altos para la solución de drenaje de tratamiento 1:1 + NI en comparación con las soluciones 1:1 y 3:1.

Además de los beneficios ambientales derivados del uso de un NI, otro efecto positivo es la estimulación del crecimiento vegetativo. La biomasa de hojas y tallos fue mayor en las plantas tratadas con el tratamiento 1:1 + NI en comparación con las plantas tratadas con las soluciones 1:1 y 3:1. Los valores en hoja de N se encuentran dentro del rango de para almendros, al igual que para el resto de los nutrientes, por lo que la nutrición mineral en las plantas no fue un factor limitante. Sin embargo, la mayor concentración de amonio en el suelo (1:1 + NI) pudo haber favorecido una asimilación más eficiente del CO<sub>2</sub> por parte de las plantas en forma de biomasa, con la consiguiente estimulación del crecimiento vegetativo, lo que puede explicar las diferencias entre tratamientos. Para el resto de tratamientos, la tasa de respiración de las plantas puede haber aumentado debido a la presencia de nitrato, perdiendo efectividad para incorporar CO<sub>2</sub> a su biomasa. Además, las plantas tratadas con solución 1:1 + NI absorben la mayor cantidad de N del suelo, confirmado por la mayor concentración de N en hojas (mg/kg) y biomasa de hojas y tallos. Por lo tanto, la solución de tratamiento 1:1 + NI demostró ser la más eficiente en lo que respecta a la absorción de N por parte de la planta. Su eficacia en comparación con las otras dos soluciones ensayadas puede deberse a la facilidad con la que absorbe amonio por las raíces y su asimilación a glutamina sin conversión previa de nitrato a amonio.

### **6.3.6 Conclusiones**

El DMPSA aplicado en fertirrigación tiene varios efectos beneficiosos, tales como una menor lixiviación al medio ambiente y un mayor crecimiento vegetativo en las plantas de almendro *Avijón*. Futuros trabajos deberían aclarar el efecto que tiene la relación nitrato / amonio en la fisiología de las plantas y el mecanismo de acción de los NI en los suelos para diseñar programas de fertilización nitrogenada con los que evitar la lixiviación de nitratos y beneficiar el crecimiento de los cultivos.

## **7. CONCLUSIONES GENERALES**

---

## 7. CONCLUSIONES GENERALES

Los resultados obtenidos permiten destacar las siguientes conclusiones:

Los datos del primer experimento reflejaron que el período óptimo para el muestreo foliar para los cultivares *Ferraduel*, *Ferragnes* y *Garrigues* era durante el mes de julio, porque en ese mes la concentración de los elementos en la hoja estaba estabilizada para los cinco nutrientes analizados. Con relación al estado nutricional de los contenidos de N, P, K, Ca y Mg hubo diferencias entre variedades: *Ferraduel* y *Ferragnes* son muy parecidas; sin embargo, son diferentes respecto al cultivar *Garrigues*. Los datos sugieren que *Ferraduel* y *Ferragnes* requieren un mayor contenido de N, P y Ca que *Garrigues*. De hecho, las normas DRIS y CND para *Ferraduel* y *Ferragnes* son muy similares entre ellas, pero diferentes con respecto a *Garrigues*. Estas normas podrían ser introducidas en el Soporte de Decisiones (DSS), a través de sus correspondientes algoritmos, para la gestión de la fertilización en almendros, lo que redundaría en el uso más eficiente de los fertilizantes y conduciría a un ajuste en las cantidades aplicadas.

En el segundo experimento realizado, el período óptimo establecido para el muestreo foliar de los cultivares *Desmayo*, *Ramillete*, *Marcona* y *Tuono* fue durante el mes de julio, ya que en este mes la concentración de los minerales foliares analizados se mantuvo simultáneamente constante para cada uno de los cinco macronutrientes. Y, este periodo de estabilidad coincide tanto en las parcelas de secano como en las de regadío. Con respecto al estado nutricional para los contenidos de N, P, K, Ca y Mg, se encontraron diferencias entre variedades y sistemas de cultivo. En cuanto a las variedades, *Tuono* se comportó de forma diferente al resto, encontrándose mayores diferencias en secano frente a regadío. A partir de los datos obtenidos en el periodo de estabilidad se desarrollaron los intervalos RN y los estándares DRIS y CND específicos para cada variedad y régimen de riego. Estos estándares fueron diferentes para cada variedad y régimen de riego, por lo que se puede concluir que para el uso de estas técnicas de interpretación es necesario desarrollar estándares específicos para cada variedad y escenario climático dentro de una misma especie cultivada.

En el tercer experimento la presencia del inhibidor de la nitrificación DMPSA en la solución nutritiva de fertirriego con relación nitrato:amonio de 1:1+NI tuvo respuestas beneficiosas en las plantas de almendro en relación a la aplicación de las soluciones nutritivas 1:1 ó 3:1, ya que absorbieron el nitrógeno de forma más eficaz, tuvieron un mayor crecimiento vegetativo, presentaron una concentración superior de N en las hojas, así como cantidad más elevada de biomasa de hojas y tallo. En otro orden, los resultados de los análisis en el suelo y en el drenaje mostraron que la presencia del NI en la solución nutritiva produjo respecto de los otros tratamientos, una concentración más alta de amonio y una disminución en el nivel de nitrógeno



nítrico en la zona radicular, así como una menor lixiviación de nitratos. Este hecho supone un efecto claramente beneficioso para el medioambiente.

## **8. REFERENCIAS**

---

## 8. REFERENCIAS

- Abalos, D., Jeffery, S., Sanz-Cobena, A., Guardia, G., Vallejo, A. 2014. Meta-analysis of the effect of urease and nitrification inhibitors on crop productivity and nitrogen use efficiency. *Agric. Ecosyst. Environ.* 189, 136-144.
- Aitchison, J. 1982. The statistical analysis of compositional data. *J. R. Stat. Soc. Ser. B (Methodological)* 44, 139-177.
- Aitchison, J. 1986. *Statistical analysis of compositional data*. Chapman and Hall, New York.
- Almond Board of Australia. 2021. *Annual report 2019/20*.
- Alonso, J.M., Espiau, M.T., Ansón, J.M., Socias i Company, R. 2005. Estimación de las necesidades en frío y en calor para la floración en el almendro mediante series temporales fenológico-climáticas. *ITEA*, 4, 282-302.
- Alves Rodrigues Filho, J.C., Lima Neves, S.L., Rodrigues Donato, B.V. 2021. Castro Guimarães. Universality of Kenworthy and DRIS norms for prata and Cavendish bananas grown in two environments. *Rev Bras Cienc Solo.* 45, e0200120.
- ANFFE. Asociación Nacional de Fabricantes de Fertilizantes. 2022. *Información sectorial. Evolución del consumo*. Madrid, Spain.
- Anjaneyulu, K. 2007. DRIS norms for identifying yield-limiting nutrients in sapota (*Manilkara achras* (Mill). Fosberg) cv. Cricketball. *J. Hortic. Sci.* 2, 115-118.
- Arquero, O., Rodríguez, A., Quejo, M.J. 2013. *Manual del Cultivo del Almendro*; Junta de Andalucía: Sevilla, España; Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural. Secretaría General de Agricultura y Alimentación: Madrid, España, 2013, 1-80.
- Bailey, J.S. 1993. Sustainable fertilizer use. *Proc. Fert. Soc.*
- Bailey, J.S., Ramakrishna, A., Kirchhof, G. 2009. An evaluation of nutritional constraints on sweetpotato (*Ipomoea batatas*) production in the central highlands of Papua New Guinea. *Plant and Soil.* 316, 97-105.
- Baldock, J.O., Schulte, E.E. 1996. Plant analysis with standardized scores combines DRIS and sufficiency range approaches for corn. *Agronomy Journal*, 88, 448-456.
- Bates, T.E. 1971. Factors affecting critical nutrient concentrations in plants and their evaluation: A review. *Soil Science*, 112, 116-129.
- Beaufils, E.R. 1957. Research for rational exploitation of Hevea using a physiological diagnosis based on the mineral analysis of various parts of the plants. *Fertilite*, 3, 27-38.
- Beaufils, E.R. 1973. *Diagnosis and Recommendation Integrated System (DRIS)*. Soil Science Bulletin. University of Natal, Pietermaritzburg, South Africa.
- Beaufils, E.R. y Sumner, M.E. 1976. Application of the DRIS approach for calibrating soil, plant yield and quality factors of sugarcane. *Proceedings of South African Sugar Technology Association*, 50, 118-124.
- Beverly, R.B. 1991. *A practical guide to the diagnosis and recommendation integrated system (DRIS)*. Micro-Macro, Athens.
- Bowles, T.M., Atallah, S.S., Campbell, E.E., Gaudin, A.C., Wieder, W.R., Grandy, A.S. 2018. Addressing agricultural nitrogen losses in a changing climate. *Nat. Sustain.* 1-399.
- Breullin-Sessoms, F., Venterea, R.T., Sadowsky, M.J., Coulter, J.A., Clough, T.J., Wang, P. 2017. Nitrification gene ratio and free ammonia explain nitrite and nitrous oxide production in urea-amended soils. *Soil Biol. Biochem.* 111, 143-153.

- Burzaco, J.P., Ciampitti, I.A., Vyn, T.J. 2014. Nitrapyrin impacts on maize yield and nitrogen use efficiency with spring-applied nitrogen: field studies vs. meta-analysis comparison. *Agron. J.*, 106, 753-760.
- Campbell, C.R., and Plank, C.O. 2000. Reference sufficiency ranges for plant análisis in the southern región of the United States, 394. Foundation for practical application of plant analysis.
- Cavigelli, M.A., Del Grosso, S.J., Liebig, M.A., Snyder, C.S., Fixen, P.E., Venterea, R.T. 2012. US agricultural nitrous oxide emissions: context, status, and trends. *Front. Ecol. Environ.* 10, 537-546.
- Cerdá, J.D. 1973. Economía antigua de Mallorca. Mascaró, J. editor. Historia de Mallorca, vol. I. Palma de Mallorca, 417-448.
- Chaleshtori, A., Panahpour, E., Iranipour, R., Moezzi, A. 2020. The Nutritional Evaluation of Almond (mamaee SP.) Gardens using Diagnostic Recommendation Integrated System (DRIS) Method in Saman Area of Chaharmahal Va Bakhtiari Provinc. *Journal of Plant Production Research.* 26, 115-130.
- Chaleshtori, A.A., Panahpour, E., Iranipour, R., Moezzi, A. 2021. Diagnosing the Nutritional Balance of Almond (*Prunus* sp.) Orchards Using DRIS and DOP Methods. *Journal of Plant Growth Regulation.* 40, 1640-1651.
- Clarke, K., and Beegle, D.B. 2014. Nutrient management to improve nitrogen use efficiency and reduce environmental losses, in *Agronomy Facts*, ed P. S. Extension.
- Código Internacional de Nomenclatura para algas, hongos y plantas (Código de Shenzhen). Decimonoveno Congreso Internacional de Botánica. 2018. Werner Greuter, Rosa Rankin Rodríguez.
- Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Desarrollo Sostenible de la Junta de Andalucía. 2021. Normativa de Producción Integrada de Almendro.
- Consejería de Agua, Agricultura, Ganadería, Pesca y Medio Ambiente de Murcia. 2021. Normas Técnicas de Producción Integrada en Almendro.
- Contreras, J.I., Galindo, P., Catala, J.J., Segura, M.L. 2006. Response of greenhouse pepper crop to fertilizer levels and different qualities of irrigation water. *Acta Hort.* 203-206.
- Correndo, A.A., García, F.O. 2012. Concentración de nutrientes en planta como herramienta de diagnóstico: Cultivos extensivos. AA 14 -IPNI Cono Sur, Argentina.
- Cui, L., Li, D., Wu, Z., Xue, Y., Xiao, F., et al. 2021. Effects of Nitrification Inhibitors on Soil Nitrification and Ammonia Volatilization in Three Soils with Different pH. *Agronomy*, 11, 1674.
- De Assis Alves Mourão Filho, 2004. F. DRIS: Concepts and applications on nutritional diagnosis in fruit crops. *Sci. Agric.* 61, 550-560.
- De Oliveira, C.T., Rozane, D.E., De Amorim, D.A., De Souza, H.A., Fernandes, B.S., Natale, W. 2020. Diagnosis of the nutritional status of 'Paluma' guava trees using leaf and flower analysis. *Rev. Bras. Frutic.* 42, 1-9.
- Devi, J., Bhat, D., Wali, V.K., Sharma, V., Sharma, A., Chand, G., Dey, T. 2020. Preliminary the Diagnosis and Recommendation Integrated System (DRIS) Norms for Evaluating the Nutritional Status of Mango. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 9(5): 321-327.
- Doll, D. 2017. Almonds: botany, production and uses. Almond water requirements. CAB International, Boston. 13, 279-287.
- Doll, D., Shackel, K. 2015. Drought Tip: Drought management for California almonds. ANR Publication, 8515.

- Dong, G., Xiao, D., Zhang, C.H. 2021. The Effect of Nitrification Inhibitors on Nitrogen Cycle: A Comprehensive Review. IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci. 690.
- Egozcue, J.J., Pawlowsky-Glahn, V. 2005. Groups of parts and their balances in compositional data analysis. *Math. Geol.* 37, 795-828.
- Elwali, A.M.O, Gascho, G.J., y Sumner, M.E. 1985. DRIS norms for 11 nutrients in corn leaves. *Agron. J.* 77, 506-508.
- FAO. Food and Agriculture Organization. Data on agricultural production. 2021. Available online at: <https://www.fao.org/faostat/es>.
- Felipe, A.J. 2000. El almendro I. Material vegetal. Mira Ed. Zaragoza. 459.
- Felipe, A.J. 2001. Una revisión sobre material vegetal de almendro. ITEA. 97V, 3, 151-165.
- Ferrández-Cámara, M., Martínez-Nicolás, J.J., Alfosea-Simón, M., Cámara-Zapata, J.M., Melgarejo-Moreno, P. et al. 2021. Estimation of Diagnosis and Recommendation Integrated System (DRIS), Compositional Nutrient Diagnosis (CND) and Range of Normality (RN) Norms for Mineral Diagnosis of Almonds Trees in Spain. *Horticulturae.* 7, 481.
- Fowler, D., Coyle, M., Skiba, U., Sutton, M.A., Cape, J.N., Reis, S. 2013. The global nitrogen cycle in the twenty-first century. *Philosop. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 368: 20130164.
- Galloway, J.N., Dentener, F.J., Capone, D.G., Boyer, E.W., Howarth, R.W., Seitzinger, S.P., Asner, G.P., Cleveland, C.C., Green, P.A., Holland, E.A., Karl, D.M., Michaels, A.F., Porter, J.H., Townsend, A.R., Vorosmarty, C.J. 2004. Nitrogen cycles: past, present, and future *Biogeochemistry.* 70, 153-226.
- Galloway, J.N., Leach, A.M., Bleeker, A., Erisman, J.W. 2013. A chronology of human understanding of the nitrogen cycle. *Philosop. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 368, 20130120.
- García-Hernández, J., Valdez-Cepeda, R., Amador, B., Beltran, A., Ruiz-Espinoza, F. et al. 2006. Preliminary compositional nutrient diagnosis norms in Aloe vera L. grown on calcareous soil in an arid environment. *Environmental and Experimental Botany.* 58: 244-252.
- Giménez, M., Martínez, J., Ferrández, M., Oltra, M.A., Madrid, R., Rodríguez, V., Rodríguez, O. 2004. Initial values of dris norms for artichoke cv. Blanca de Tudela (*Cynara scolymus* L.) in the provinces of Alicante and Murcia". *Acta Hort.* 660, 285-291.
- Gimenez, M., Nieves, M., Gimeno, H., Martínez, J., Martínez-Nicolás, J.J. 2021. Nutritional diagnosis norms for three olive tree cultivars in superhigh-density orchards. *Int. J. Agric. Nat. Resour.* 48, 34-44.
- Grasselly, Ch. 1976. Les espèces sauvages d'amandier. *Opciones Méditerranéenes.* 32, 28-43.
- Grasselly, Ch., Duval, H. 1997. L'amandier. *Ctifl. Ed. Paris.* 167.
- Guardia, G., Cangani, M.T., Sanz-Cobena, A., Junior, J.L., Vallejo, A. 2017. Management of pig manure to mitigate NO and yield-scaled N<sub>2</sub>O emissions in an irrigated mediterranean crop. *Agric. Ecosyst. Environ.* 238, 55-66.
- Guardia, G., Marsden, K.A., Vallejo, A., Jones, D.L., Chadwick, D.R. 2018. Determining the influence of environmental and edaphic factors on the fate of the nitrification inhibitors DCD and DMPP in soil. *Sci. Total Environ.* 624, 1202-1212.
- Guindani, R.H.P., Anghinoni, I., Nachtigall, G.R. 2009. DRIS na avaliação do estado nutricional do arroz irrigado por inundação. *Revista Brasileira de Ciências do Solo,* 33, 109-118.
- Gulis, G., Czompolyova, M., Cerhan, J.R. 2002. An ecologic study of nitrate in municipal drinking water and cancer incidence in Trnava District. *Slovakia Environmental Research.* 88 182-7.

- Hachiya, T., Sakakibara, H. 2017. Interactions between nitrate and ammonium in their uptake, allocation, assimilation, and signaling in plants. *Journal of Experimental Botany*, 68, Issue 10. 2501-2512.
- Hernandes, A., de Souza, H.A., de Amorim, D.A., Natale, W., Lavres, J.A. Jr., Boaretto, E., Camacho, M.A. 2014. DRIS Norms for Pêra Orange. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 45, 2853-2867.
- Hernandes, A., Parent, S.E., Natale, W., Parent, L.E. 2012. Balancing guava nutrition with liming and fertilization. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 34, 1224-1234.
- Holland, D.A. 1966. La interpretación del análisis de hojas. *Revista de Ciencias Hortícolas*. Londres. 41, 311-329.
- Hu, Y., Schraml, M., von Tucher, S., Li, F., Schmidhalter, U. 2014. Influence of nitrification inhibitors on yields of arable crops: A meta-analysis of recent studies in Germany *International Journal of Plant Production*. 8, 33-50.
- Huang, H., Hu, C.X., Tan, Q., Hu, X., Sun, X., Bi, L. 2012. Effects of Fe-EDDHA application on iron chlorosis of citrus trees and comparison of evaluations on nutrient balance with three approaches. *Sci. Hortic.* 146, 137-142.
- Huérffano, X., Fuertes, T., Fernández, K., Estavillo, J.M., González, C. et al. 2016. The new nitrification inhibitor 3,4-dimethylpyrazole succinic (DMPSA) as an alternative to DMPP for reducing N<sub>2</sub>O emissions from wheat crops under humid Mediterranean conditions. *European Journal of Agronomy*, 80, 78-87.
- Hundal, H.S., Singh, D., Brar, J.S. 2005. Diagnosis and recommendation integrated system for monitoring nutrient status of mango trees in submountainous area of Punjab, India. *Soil Science and Plant Analysis*. 36, 15, 2085-2099.
- Instituto Técnico Agronómico Provincial de Albacete. 2014. Available online: <http://www.genvce.org/miembros/institutotecnico-agronomico-provincial-itap-diputacion-de-albacete>.
- International Nut and Dried Fruit Council (INC). 2021. Anual report 2020/21. [nutfruit.org](http://nutfruit.org).
- Jones, B. J., Wolf, B., Mills, H.A. 1991. *Plant Analysis Handbook*. Micro-Macro Publishing, Inc., Athens, Georgia. 213.
- Jones, C.A. 1981. Proposed modifications of the diagnosis and recommendation integrated system (DRIS) for interpreting plant analyses. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 12, 785-794.
- Junta de Andalucía. 2016. Caracterización del Sector de la Almendra en Andalucía; Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural. Sevilla, España. Secretaría General de Agricultura y Alimentación. Madrid, España.
- Kanter, D.R. 2018. Nitrogen pollution: a key building block for addressing climate change. *Climatic Change*. 147, 11-21.
- Kester, D.E., Gradziel, T.M., Grasselly, C. 1990. Almendras (Prunus). *Acta Horticulturae*. 290, 699-758.
- Khan, N., Ray, R.L., Kassem, H.S., Hussain, S., Zhang, S. et al. 2021. Potential Role of Technology Innovation in Transformation of Sustainable Food Systems: A Review. *Agriculture*. 11, 984.
- Khiari, L., Parent, L.E., Tremblay, N. 2001. Critical compositional nutrient indexes for sweet corn at early growth stage. *Journal of Agronomy*. 93, 809-814.
- Kim, D.G., Sagggar, S., Roudier, P. 2012. The effect of nitrification inhibitors on soil ammonia emissions in nitrogen managed soils: a meta-analysis. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*. 93, 51-64.

- Kozłowski, J.A., Stieglmeier, M., Schleper, C., Klotz, M.G., Stein, L.Y. 2016. Pathways and key intermediates required for obligate aerobic ammoniadeependent chemolithotrophy in bacteria and Thaumarchaeota. *ISME J.* 10, 1836-1845.
- Kyveryga, P. M., Blackmer, A.M., Ellsworth, J.W., Isla, R. 2004. Soil pH effects on nitrification of fall-applied anhydrous ammonia. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 68, 545-551.
- Labaied, M.B., Khiari, L., Gallichand, J., Kebede, F., Kadri, N., Ben Ammar, N., Ben Hmida, F., Ben Mimoun, M. 2020. Nutrient Diagnosis Norms for Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.). *Tunisian Oases. Agronomy.* 10, 886.
- Labaied, M.B., Pereira, A., Ben Mimoun, M. 2018. Establishment of nutrients optimal range for nutritional diagnosis of mandarins based on DRIS and CND methods. *Commun. Soil Sci. Plant.* 49, 2557-2570.
- Labaied, M.B., Serra, A.P., Ben Mimoun, M. 2018. Establishment of nutrients optimal range for nutritional diagnosis of mandarins based on DRIS and CND methods. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 49, 2557-2570.
- Ladizinsky, G. 1999. Sobre el origen de la almendra. Recursos genéticos y evolución de cultivos. 46, 143-147.
- LeBauer, D.S. and Treseder, K.K. 2008. Nitrogen limitation of net primary productivity in terrestrial ecosystems is globally distributed. *Ecology.* 89, 371-9.
- Li, Y.Y., Chapman, S.J., Nicol, G.W., Yao, H.Y. 2018. Nitrification and nitrifiers in acidic soils. *Soil Biol. Biochem.* 116, 290-301.
- Lopes, A.S. 1998. Manual internacional de fertilidade do solo. 2.ed. Piracicaba: POTAFOS, 177.
- Lu, X., Nicol, G.W., Neufeld, J.D. 2018. Differential responses of soil ammonia-oxidizing archaea and bacteria to temperature and depth under two different land uses. *Soil Biol. Biochem.* 120, 272-282.
- Lu, Y.F., Zhang, X.N., Jiang, J.F., Kronzucker, H.J., Shen, W.S. et al. 2019. Effects of the biological nitrification inhibitor 1,9-decanediol on nitrification and ammonia oxidizers in three agricultural soils. *Soil Biol. Biochem.* 129, 48-59.
- Lucena, J.J., Ruano, S., García-Serrano, P., Ginés, I., Mariscal, I. 2002. Informe DRIS: Normas Para el Diagnóstico del Análisis Foliar del Olivo Partiendo de la Base de Datos de Fertiberia. Monografía (Informe Técnico), E.T.S.I. Agrónomos (UPM). Madrid, España.
- Maity, A., Sharma, J., Sarkar, A., More, A., Pal, R.K. 2016. Nutrient imbalance indices are closely related with susceptibility of pomegranate to bacterial blight disease. *Sci. Hortic.* 211, 79-86.
- Marschner, P., Rengel, Z. 2012. Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants, 3rd ed.; Chapter 12. Nutrient Availability in Soils; Academic Press. New York, NY, USA. 315-330.
- McCarty, G.W. 1999. Modes of action of nitrification inhibitors. *Biol. Fertil. Soils.* 29, 1-9.
- McCray, J.M., Ji, S., Powell, G., Montes, G., Perdomo, R. 2010. Sugarcane Response to DRIS-Based Fertilizer Supplements in Florida. *Journal of Plant Nutrition.* 196, 66-75.
- Melgar, R., Vitti, G., Benites V.M. 2011. Fertilizando para altos rendimientos. Soja en Latinoamérica. *IIP Boletín,* 20.
- Menéndez, S., Barrena, I., Setien, I., González-Murua, C., Estavillo, J.M. 2012. Efficiency of nitrification inhibitor DMPP to reduce nitrous oxide emissions under different temperature and moisture conditions. *Soil Biol. Biochem.* 53, 82-89.

- Menéndez, S., Merino, P., Pinto, M., Gonzalez-Murua, C., Estavillo, J.M. 2006. 3,4-dimethylpyrazol phosphate effect on nitrous oxide, nitric oxide, ammonia, and carbon dioxide emissions from grasslands. *Journal of Environmental Quality*. 35, 973-81.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. 2021. Available online: <http://www.Mapa.gob.es/estadistica>.
- Mourão Filho, F.A.A., Azevedo, J.C. 2003. DRIS norms for 'Valencia' sweet orange on three rootstocks. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 38, 85-93.
- Muhammad, S., Saa, S., Schellenberg, D., Weinbaum, S., Brown, P. 2017. Almond tree nutrition. *Almonds: Botany, Production and Uses*. CABI. Oxford, UK. 291-320.
- Muncharaz, M. 2017. El almendro. Manual técnico. Ed Mundi-Prensa, Madrid.
- Murphy, J., Riley, J.P. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acta* 27, 31-36.
- Nachtigall, G.R., Dechen, A.R. 2007. DRIS norms for evaluating the nutritional state of apple tree. *Scientia Agricola*. 64, 3, 282-287.
- Nick, J.A. 1998. DRIS para cafeeiros podados. Piracicaba. USP/ESALQ (Dissertação-Mestrado).
- Norton, J., Ouyang, Y. 2019. Controls and adaptive management of nitrification in agricultural soils. *Frontiers in Microbiology*, 10.
- Ouyang, Y., Evans, S.E., Friesen, M.L., Tiemann, L.K. 2018. Effect of nitrogen fertilization on the abundance of nitrogen cycling genes in agricultural soils: A meta-analysis of field studies. *Soil Biol. Biochem.* 127, 71-78.
- Parent, L.E., Dafir, M. 1992. A theoretical concept of compositional nutrient diagnosis. *J. Am. Soc. Hortic. Sci. Alexandria*. 117, 239-242.
- Parent, S.E., Parent, L.E., Rozane, D.E., Natale, W. 2013. Plant ionome diagnosis using sound balances: Case study with mango (*Mangifera indica*). *Front. Plant Sci.* 4, 449.
- Parton, W.J., Holland, E.A., Del Grosso, S.J., Hartman, M.D., Martin, R.E., Mosier, A.R. 2001. Generalized model for NO<sub>x</sub> and N<sub>2</sub>O emissions from soils. *J. Geophys. Res. Atmos.* 106, 17403-17419.
- Pasda, G., Hahndel, R., Zerulla, W. 2001 Effect of fertilizers with the new nitrification inhibitor DMPP (3,4-dimethylpyrazole phosphate) on yield and quality of agricultural and horticultural crops. *Biology and Fertility of Soils*. 34, 85-97.
- Popov, M.G., Kostina, K.F., Poyarkova, A.I. 1929. Trudy po Prikladnoj Botanike Genetike Seleksie. 2, 241-483.
- Qiao, C.L., Liu, L.L., Hu, S.J., Compton, J.E., Greaver, T.L. et al. 2015. How inhibiting nitrification affects nitrogen cycle and reduces environmental impacts of anthropogenic nitrogen input. *Glob. Change Biol.* 21, 1249-1257.
- Ravishankara, A.R., Daniel, J.S., Portmann, R.W. 2009. Nitrous oxide (N<sub>2</sub>O): The dominant ozone-depleting substance emitted in the 21st Century. *Science*. 326, 123-5.
- Recio, J., Álvarez, J.M., Rodríguez, M., Vallejo, A. 2019. Nitrification inhibitor DMPSA mitigated N<sub>2</sub>O emission and promoted NO sink in rainfed wheat. *Environmental Pollution*. 245, 199-207.
- Reis, R.A., Corrêa, J.B., Carvalho, J.G., Guimarães, P.T.G. 2002. Diagnose nutricional de cafeeiros da região sul de Minas Gerais: normas DRIS e teores foliares adequados. *Ciência Solo*. 26, 3, 801-808.
- Reuter, D.J., Robinson, J.B. 1997. Plant analysis. An interpretation manual. 2nd Edition, CSIRO Publishing, Melbourne.



- Robertson, G.P., Bruulsema, T.W., Gehl, R.J., Kanter, D., Mauzerall, D.L., Rotz, C.A. 2013. Nitrogen-climate interactions in US agriculture. *Biogeochemistry*. 114, 41-70.
- Robertson, G.P., Gross, K.L., Hamilton, S.K., Landis, D.A., Schmidt, T.M., Snapp, S.S. 2014. Farming for ecosystem services: an ecological approach to production agriculture. *BioScience*. 64, 404-415.
- Rodríguez, O., Rodríguez, V. 2000. Desarrollo, determinación e interpretación de normas DRIS para el diagnóstico nutricional en plantas. Una revisión. *Rev. Fac. Agron. LUZ*. 17, 449-470.
- Rozane, D.E., de Paula, B.V., de Bastos de Melo, G.W., Haitzmann dos Santos, E.M., Trentin, E., Marchezan, C., da Silva, L.O.S., Tassinari, A., Dotto, L., de Oliveira, F.N. et al. 2020. Compositional Nutrient Diagnosis (CND) Applied to Grapevines Grown in Subtropical Climate Region. *Horticulturae*. 6, 56.
- Rozane, D.E., Prado, R.D.M., Natale, W., Romualdo, L.M., Franco, C.F. 2013. Caracterização biométrica e acúmulo de nutrientes em porta-enxertos de caramboleira cultivada em solução nutritiva. *Rev. Ciênc. Agron.* 44, 426-436.
- Rütting, T., Aronsson, H., Delin, S. 2018. Efficient use of nitrogen in agriculture. *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* 110, 1-5.
- Saa, S., Brown, P.H., Muhammad, S., Rio, A.O.-D., Sanden, B.L., Laca, E.A. 2014. Prediction of leaf nitrogen from early season samples and development of field sampling protocols for nitrogen management in almond (*Prunus dulcis* Mill.). *Plant Soil*. 380, 153-163.
- Saa, S., Peach-Fine, E., Brown, P., Michailides, T., Castro, S., Bostock, R., Laca, E. 2016. Nitrogen increases hull rot and interferes with the hull split phenology in almond (*Prunus dulcis* Mill.). *Sci. Hortic.* 199, 41-48.
- Salazar, D., Melgarejo, P., López, I., Martínez, J.J., Hernández, F. 2019. El cultivo del almendro. A. Madrid Vicente, Ed.
- Sánchez, E., Soto-Parra, J.M., Preciado-Rangel, P., Llanderal, A., Lao, M.T. 2018. DRIS Norms for grafted and non-grafted red bell pepper in semi arid climate conditions in a greenhouse. *Horticultura Brasileira*. 36, 371-376.
- Schaller, K., Löhnertz, O., Michel, H. 2002. Modified DRIS-System for leaf analysis to optimise fertilizer inputs - further developments with grapevines. *Acta Hortic.* 594, 369-375.
- Sema, A., Maiti, C.S., Singh, A.K., Bendangsengla, A. 2010. DRIS nutrient norms for pineapple on alfisol of India. *Journal of Plant Nutrition*. 33, 1384-1399.
- Serra, A.P., Marchetti, M.E., Rojas, E.P., Vitorino, A.C.T. 2012. Beaufils ranges to assess the cotton nutrient status in the southern region of Mato Grosso. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. 36, 1, 171-182.
- Smith, F.W. and Loneragan, J.F. 1997. Interpretation of plant analysis: concepts and principles. *Plant Analysis. An Interpretation Manual*. CSIRO Publishing, Collingwood, Victoria, Australia.
- Socias i Company, R. 1998. Fruit tree genetics at a turning point: the almond example. *Theor. Appl. Genet.* 96, 588-601.
- Sofi, J.A., Rattanb, R.K., Kirmania, N.A., Chestic, M.H., Bisatic, I. 2017. Diagnosis and recommendation integrated system approach for major and micronutrient diagnostic norms for apple (*Malus Domestica* Borkh) under varying ages and management practices of apple orchards. *Journal of Plant Nutrition*. 40, 1784-1796.
- Spiegel-Roy P. 1986. Domesticación de árboles frutales. Barigozzi C, editor. El origen y la domesticación de las plantas cultivadas. Elsevier, Ámsterdam, 201-211.

- Subbarao, G.V., Sahrawat, K.L., Nakahara, K., Rao, I.M., Ishitani, M., Hash, C.T., Kishii, M., Bonnett, D.G., Berry, W.L., Lata, J.C. 2013. A paradigm shift towards low-nitrifying production systems: the role of biological nitrification inhibition (BNI). *Ann. Bot.* 112, 297-316.
- Sumner, M.E. 1977. Application of Beaufile's diagnostic indices to corn data published in literature irrespective of age and conditions. *Plant and Soil.* 46, 359-369.
- Tabuenca, M.C. 1972. Necesidades de frío invernal en almendro. *An. Aula Dei.* 11, 325-329.
- Thapa, R., Chatterjee, A., Awale, R., McGranahan, D. A., and Daigh, A. 2016. Effect of enhanced efficiency fertilizers on nitrous oxide emissions and crop yields: a meta-analysis. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 80, 1121-1134.
- Urano, E.O.M., Kurihara, C.H., Maeda, S., Vitorino, A.C.T., Gonçalves, M.C., Marchetti, M.E. 2007. Determinação de teores ótimos de nutrientes em soja pelos métodos chance matemática, sistema integrado de diagnose e recomendação e diagnose da composição nutricional. *Ciência do Solo.* 31, 63-72.
- Urricariet, S., Lavado, R.S., Martín, L. 2004. Corn response to fertilization and SR, DRIS, and PASS interpretation of leaf and grain analysis. *Soil Science and Plant Analysis.* 35, 3, 413-425.
- Van Kessel, M.A.H.J., Speth, D.R., Albertsen, M., Nielsen, P.H., Op den Camp, H.J.M., Kartal, B. 2015. Complete nitrification by a single microorganism. *Nature.* 528, 555-559.
- Wadt, P.G.S. 1996. Os métodos da chance matemática e do sistema integrado de diagnose e recomendação (DRIS) na avaliação do estado nutricional de plantios de eucalipto. Viçosa, MG, Universidade Federal de Viçosa.
- Wadt, P.G.S., Novais, R.F., Alvarez, V.H., Fonseca, S., Barros, N.F., Dias, L.E. 1998. Três métodos de cálculo do DRIS para avaliar o potencial de resposta à adubação de árvores de eucalipto. *Ciência do Solo.* 22, 661-666.
- Walworth, J.L., Sumner, M.E. 1986. Foliar diagnosis - a review. *Plant Nutr.* III. 193-241.
- Walworth, J.L., Sumner, M.E. 1987. The diagnosis and recommendation integrated system (DRIS). *Soil Science.* 6, 149-188.
- Watkins, R. 1979. Cherry, plum, peach, apricot and almond. *Prunus spp.* N.W. Simmonds (Ed.). *Evolution of crop plants.* Longman, London, UK. 242-247.
- Wissemeier, A., Linzmeier, W., Gutser, R., Weigelt, W., Schmidhalter, U. 2002. The new nitrification inhibitor DMPP (ENTEC®). Comparisons with DCD in model studies and field applications. *Plant Nutrition (Springer).* 702-3.
- Xu, M., Zhang, J., Wu, F., Wang, X. 2015. Preliminary the Diagnosis and Recommendation Integrated System (DRIS) Norms for Evaluating the Nutrient Status of Apple. *Adv. J. Food Sci. Technol.* 7, 74-80.
- Yan, L., Xu, X., Xia, J. 2019. Different impacts of external ammonium and nitrate addition on plant growth in terrestrial ecosystems: A meta-analysis. *Sci. Total Environ.* 686, 1010-1018.
- Yan, X., Ma, X. 2021. Responses of root morphology and seedling growth in three tree species to heterogeneous supplies of ammonium and nitrate. *Forest Ecology and Management.* 479.
- Yazbek, M., Oh, S.H. 2013. Peaches and almonds: phylogeny of *Prunus* subg. *Amygdalus* (Rosaceae) based on DNA sequences and morphology. *Plant systematics and evolution.* 299, 1403-1418.
- Zerulla, W., Barth, T., Dressel, J. 2001. 3,4-Dimethylpyrazole phosphate (DMPP), a new nitrification inhibitor for agriculture and horticulture. *Biology and Fertility of Soils.* 34, 79-84.

Zhou, Z.F., Zhang, Z.Y., Wang, M.X., Liu, Y.M., Dai, J.S. 2018. Effect of the nitrification inhibitor (3,4-dimethylpyrazole phosphate) on the activities and abundances of ammonia-oxidizers and denitrifiers in a phenanthrene polluted and waterlogged soil. *Ecotox. Environ. Safe.* 161, 474-481.

## **9. ANEXO (PUBLICACIONES)**

---

|  |
|--|
| <b>9.1. PUBLICACIÓN 1</b>  |
| <b>Estimation of Diagnosis and Recommendation Integrated System (DRIS), Compositional Nutrient Diagnosis (CND) and Range of Normality (RN) Norms for Mineral Diagnosis of Almonds Trees in Spain</b> |
| Mario Ferrández-Cámara, Juan José Martínez-Nicolás, Marina Alfosea-Simón, José María Cámara-Zapata, Pablo Melgarejo Moreno, Francisco García-Sánchez   |
| <i>Horticulturae</i> 2021, 7, 481. <a href="https://doi.org/10.3390/horticulturae7110481">https://doi.org/10.3390/horticulturae7110481</a>   |
| Factor de impacto: <b>2,925 Q1 (2021)</b> (Agronomy)   |

**Estimation of Diagnosis and Recommendation Integrated System (DRIS), Compositional Nutrient Diagnosis (CND) and Range of Normality (RN) Norms for Mineral Diagnosis of Almonds Trees in Spain**

Mario Ferrández-Cámara<sup>1</sup>, Juan J. Martínez-Nicolás<sup>1,\*</sup>, Marina Alfosea-Simón<sup>2</sup>, José M. Cámara-Zapata<sup>1</sup>, Pablo Melgarejo-Moreno<sup>1</sup> and Francisco García-Sánchez<sup>2</sup>

1 Grupo de Investigación en Fruticultura y Técnicas de Producción, Centro de Investigación e Innovación Agroalimentaria y Agroambiental (CIAGRO-UMH), Miguel Hernandez University, 03312 Orihuela, Spain; marioferrandez@gmail.com (M.F.-C.); jm.camara@umh.es (J.M.C.-Z.); pablo.melgarejo@umh.es (P.M.-M.)

2 Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura, CEBAS-CSIC, 30100 Murcia, Spain; alfosea.simon@gmail.com (M.A.-S.); fgs@cebas.csic.es (F.G.-S.)

\*Correspondence: juanjose.martinez@umh.es

**Abstract:** To ensure good fertilization, it is necessary to know the optimum nutrient levels for each crop. The most common method for obtaining this information for almond trees is to perform a foliar analysis coupled with the use of interpretive tools such as the traditional range of normality. However, currently, there are other, more sophisticated methods such as the DRIS (Diagnosis and Recommendation Integrated System) and the CND (Compositional Nutrient Diagnosis) which take into account the relationship between nutrients. However, little information is available with respect to these methods in the case of almond trees. In the

present work, 288 samples of three contrasting varieties of almond were analyzed—Ferraduel, Ferragnes, and Garrigues (*Prunus dulcis*, Mill.)— corresponding to bi-weekly sampling between the months of May and September. Leaf analysis data, run with different mathematical and statistical models, lead to knowledge of the optimum period for harvesting samples and the determination of the ranges of normality and norms of DRIS and CND for the Ferraduel, Ferragnes, and Garrigues varieties. Data gained from the leaf nutrient content reported that the best season to harvest and interpret leaf samples was July. In addition, Ferraduel and Ferragnes had higher N, P, and K (2.22, 0.14, and 1.04 mg Kg<sup>-1</sup> dw, respectively) than Garrigues (2.00, 0.09, 0.67 mg Kg<sup>-1</sup> dw). The norms obtained with the leaf mineral data showed similar values between the Ferraduel and Ferragnes varieties but different values for Garrigues variety. Therefore, Garrigues had the highest N/P, N/K, P/K, and P x Mg norms in the DRIS method and the highest VN and VCa norms in the CND method.

**Keywords:** DRIS standards; CND standards; Ferraduel; Ferragnes; Garrigues

## 1. Introduction

Almonds are one of the most important Spanish dryland crops, especially in the Mediterranean area, although it is also cultivated in the interior part of the peninsula. This crop has good economic benefits, so its implementation as an irrigated crop is incentivized. The cost of production of almonds is low compared with other fruit trees as it does not require large amounts of water. In addition, this species is able to adapt to adverse soil and climate conditions without economic losses and can thus occupy areas that are not normally suitable for other crops. Additionally, under optimum conditions, almond fruits can be stored for long periods of time prior to exportation.

The production of almonds has progressively increased since the year 2000, reaching a current production level of 3 million tons (shelled) worldwide. The continent with the greatest production is the United States of America, producing almost a million tons, exclusively produced by the state of California. The second-highest producer is Spain, with an approximate production of 200,000 tons per year, followed by Iran, with 100,000 tons [1]. Australia is an emerging producer, with a production level that is growing exponentially. In Spain, the autonomous community with the largest area of cultivation is Andalusia, with around 160,000 hectares, followed by the Comunidad Valenciana, with 93,000 hectares, and the Region of Murcia and Castilla-La Mancha, with 73,000 hectares each. Of the total surface used for almond cultivation in Spain, only a low percentage is irrigated, while most of the crops are dryland [2].

As for the surface area used for almond cultivation, the data from various statistics databases indicate a period of decrease. The dichotomy observed between the yield and

surface area is due to the considerable increase in the performance of this crop per hectare. The technical advances in crop yield are led by the United States of America, thanks to the acquisition of new varieties that are more productive, the implementation of irrigation and fertilization systems, improvements in the mechanical harvesting of almonds, and the use of high-density plantations. The rest of the world is beginning to copy the American manner of cultivation, so production will continue to increase in the coming years. In Spain, the main production problem is frost events, so important work is being conducted on genetic improvements to obtain late and extra-late self-fertilizing varieties. Additionally, great efforts are being made towards switching from the typical dryland crop to irrigated crops, whose difference in performance (Kg/ha) can exceed 1000 Kg/ha [3].

In Spain, a wide range of almond varieties are cultivated, among which we find two French-origin cultivars, Ferraduel and Ferragnés, and a Spanish-origin cultivar, Garrigues. The general characteristics of Ferragnés include vigor, vertical growth with a slight spread, high productivity, high adaptability, and a soft shell [4]; it flowers late, with a medium-fast entry into production [5]. Ferraduel is a sister variety to Ferragnés, and it is also characterized by late flowering, at the same time as Ferragnés. The fruit is hard and amygdala-shaped, with no double fruits and a somewhat late maturation period. It has an average performance; however, in dry years, this decreases considerably [5]. Garrigués is a Spanish variety, specifically from the Region of Murcia. It meets nutritional requirements as a vigorous tree that grows upright, which is highly branched, and it has a fast entry into production. It has a high productivity in irrigated coastal areas. It has an average period of flowering with abundant and staggered flowers and does not tolerate drought or a lack of humidity. In the interior areas, it is greatly harmed by frost, and production in dryland areas is very low [5].

Nutritional requirements vary according to the age and phenological state of the plant. **Tables 1 and 2** are representative examples of almond fertilization. In almonds, fertilization is mainly conducted through the soil or foliar application. The most traditional, and currently most common, method is the direct application of nutrients to the soil. The fertilizers move into the soil solution and are absorbed by the roots. To improve the efficiency of soil fertilization, the application criteria or recommendations have to be followed. Fertilization must occur when the tree has vegetative growth activity and therefore a greater capacity to absorb nutrients. It is recommended that fertilizer application be split into two or three separate occasions throughout the period of vegetative growth [6].

Currently, it is thought that the best way to fertilize woody crops is to take into account the nutritional state of the plant via mineral analysis of the leaves. This system is the best method for detecting low levels of nutrients before the onset of deficiency. The nutrient content can be interpreted from the foliar analysis through various methods. The range of normality or sufficiency (RN) methods are utilized frequently, but these are being replaced by

more sophisticated methods, such as the Standard Deviation Index (SDI), DRIS (Diagnosis and Recommendation Integrated System), M-DRIS (Modified Diagnosis and Recommendation Integrated System), and CND (Compositional Nutrient Diagnosis). For almonds, however, at present, there is little information associated with the nutritional diagnosis. Moreover, the existing information is obsolete given the appearance of new varieties and the implementation of new fertigation techniques.

**Table 1.** Mean values of leaf macronutrient concentration in July for the Ferraduel, Ferragnes, and Garrigues varieties. Leaf concentration is expressed as a percentage ( $\text{mg } 100 \text{ mg}^{-1} \text{ dw}$ ).

|   | N        | P      | K      | Ca     | Mg     |
|---|----------|--------|--------|--------|--------|
| <b>Ferraduel</b>                                    |          |        |        |        |        |
| Mean ( $\text{gr } 100 \text{ g}^{-1} \text{ dw}$ ) | 2.23 b * | 0.14 b | 1.04 b | 4.16 b | 0.81 a |
| SD  | 0.39     | 0.07   | 0.35   | 0.88   | 0.17   |
| C.V. (%)  | 17.49    | 46.76  | 33.52  | 21.26  | 20.86  |
| SE  | 0.18     | 0.02   | 0.12   | 0.32   | 0.08   |
| <b>Ferragnes</b>                                    |          |        |        |        |        |
| Mean ( $\text{gr } 100 \text{ g}^{-1} \text{ dw}$ ) | 2.22 b   | 0.13 b | 1.05 b | 4.03 b | 0.88 b |
| SD  | 0.39     | 0.06   | 0.37   | 0.94   | 0.19   |
| C.V. (%)  | 17.58    | 44.41  | 36.023 | 22.43  | 21.62  |
| SE  | 0.19     | 0.01   | 0.12   | 0.58   | 0.14   |
| <b>Garrigues</b>                                    |          |        |        |        |        |
| Mean ( $\text{gr } 100 \text{ g}^{-1} \text{ dw}$ ) | 2.00 a   | 0.09 a | 0.67 a | 4.05 a | 0.99 c |
| SD  | 0.43     | 0.028  | 0.35   | 0.64   | 0.18   |
| C.V. (%)  | 23.19    | 31.02  | 51.24  | 16.73  | 18.38  |
| SE  | 0.19     | 0.01   | 0.09   | 0.43   | 0.14   |

\* Within each column, the mean values of the nutrient concentration with the same letter do not represent significant differences at  $p < 0.05$ . SD indicates the standard deviation of the samples, SE indicates the standard error, and CV is the coefficient of variation.  $n = 24$ .

**Table 2.** Ranges of normality for the Ferraduel, Ferragnes, and Garrigues varieties.

| <b>Ferraduel</b>  |          |      |      |        |      |      |      |           |
|-------------------|----------|------|------|--------|------|------|------|-----------|
|                   | Very low | Low  |      | Normal |      | High |      | Very high |
| <b>Nitrogen</b>   | <1.45    | 1.45 | 1.83 | 1.84   | 2.63 | 2.64 | 3.01 | >3.01     |
| <b>Phosphorus</b> | <0.01    | 0.01 | 0.07 | 0.08   | 0.21 | 0.22 | 0.27 | >0.27     |
| <b>Potassium</b>  | <0.34    | 0.34 | 0.68 | 0.69   | 1.39 | 1.40 | 1.74 | >1.74     |
| <b>Calcium</b>    | <2.39    | 2.39 | 3.26 | 3.27   | 5.04 | 5.05 | 5.92 | >5.92     |
| <b>Magnesium</b>  | <0.47    | 0.47 | 0.63 | 0.64   | 0.97 | 0.98 | 1.14 | >1.14     |
| <b>Ferragnes</b>  |          |      |      |        |      |      |      |           |
|                   | Very low | Low  |      | Normal |      | High |      | Very high |
| <b>Nitrogen</b>   | <1.44    | 1.44 | 1.82 | 1.83   | 2.61 | 2.62 | 3.00 | >3.00     |
| <b>Phosphorus</b> | <0.01    | 0.01 | 0.06 | 0.07   | 0.19 | 0.20 | 0.25 | >0.25     |
| <b>Potassium</b>  | <0.298   | 0.29 | 0.64 | 0.65   | 1.39 | 1.40 | 1.76 | >1.76     |
| <b>Calcium</b>    | <2.32    | 2.32 | 3.25 | 3.26   | 5.15 | 5.16 | 6.09 | >6.09     |
| <b>Magnesium</b>  | <0.50    | 0.50 | 0.68 | 0.69   | 1.07 | 1.08 | 1.26 | >1.26     |
| <b>Garrigues</b>  |          |      |      |        |      |      |      |           |
|                   | Very low | Low  |      | Normal |      | High |      | Very high |
| <b>Nitrogen</b>   | <1.00    | 1.00 | 1.42 | 1.43   | 2.23 | 2.24 | 2.73 | >2.73     |
| <b>Phosphorus</b> | <0.03    | 0.03 | 0.05 | 0.06   | 0.12 | 0.13 | 0.15 | >0.15     |
| <b>Potassium</b>  | <0.33    | 0.33 | 0.32 | 0.33   | 1.02 | 1.03 | 1.36 | >1.36     |
| <b>Calcium</b>    | <2.54    | 2.54 | 3.17 | 3.18   | 4.46 | 4.47 | 5.10 | >5.10     |
| <b>Magnesium</b>  | <0.63    | 0.63 | 0.80 | 0.81   | 1.17 | 1.18 | 1.35 | >1.35     |

Fruit trees acquire nutritional stability in their adult state [7]. Due to this stability, by diagnosing the foliar composition, it is possible to make adjustments in fertilization. It is



important to specify the optimal foliar sampling period for each species, which must coincide with the period of nutritional stability. The compositional nutrient diagnosis method (CND) takes into account the association between a given nutrient and the geometric mean of the concentrations on the basis of dry matter recorded for the other nutrients (multivariate relationships), including those that are not determined analytically. This is considered the best way to express balance in plant tissue [7,8]. This methodology has been applied to fruit plants such as banana, orange, pear, mango, guava, etc., but it has not yet been applied to almond cultivation [9–12].

The main objective of the present work is to establish the ranges of normality (RN) and DRIS and CND norms for the interpretation of nutritional analysis of this crop using three of the more popular almond cultivars in Spain—Ferraduel, Ferragnés, and Garrigues. We want to test the hypothesis that RN, DRIS, and CND norms are variety-dependent; therefore, it is necessary to determine this norm for each specific variety as in almond trees the agronomic characteristic among varieties can be different for each one. In addition, this study also allows us to establish the best time period during the season for collecting foliar samples of these almond varieties. This knowledge will be useful to growers for the design of protocols for collecting samples and to the agronomic engineers and plant nutrition scientists to interpret and understand leaf analysis data. Usually, these types of norms are used mainly in the academic world since, although they are successful in agriculture, they require mathematical knowledge to obtain and interpret. However, new technologies including artificial intelligence (AI), neuronal networks, and cheap and easy to use decision support systems (DSS) could be powerful tools for implementation. Therefore, it is necessary to perform an experimental assay to obtain data to feed to AI and DSS, letting us create these norms and guidelines. In this work, RN, DRIS, and CND norms will be created in a high-yielding population referred to as the “reference population”.

## 2. Materials and Methods

The selection of experimental plots was conducted according to the criteria by De Oliveira et al. [13] and Sumner [14], who state that plots to determinate DRIS norms have to be commercial and homogenous, with high production performance. Our plots were located between the provinces of Albacete and Murcia (Spain, Figure S1), with similar agroclimatic and edaphic conditions. The trees were cultivated under a drip irrigation system with the usual agronomic management in this area. The varieties studied were Ferraduel, Ferragenes, and Garrigues. The Ferraduel and Ferragenes orchards were located in Hellin (Albacete) and Garrigues in Jumilla (Region of Murcia). All orchards were separated by one kilometer. The orchard had a yield production of about 4000 kg/ha. The foliar samples were collected in the first half of May until the second half of September over two consecutive years, 2017 and

2018, with no significant differences observed between both years. The reported data are from 2017. During each year, 10 sampling periods were established from May to September, with samples collected every fortnight. This produced 12 foliar samples with 20 mature leaves for every sample. In each sample, the contents of nitrogen, phosphorus, potassium, calcium, and magnesium were analyzed at Fertiberia laboratories (Spain). The leaves were briefly rinsed with deionized water, oven-dried at 60 °C for 48 h, weighed, and ground in a hammer mill. After that, the leaves were digested via nitric-perchloric acid (2:1) at 90 °C. Analysis of K, Ca, and Mg was carried out by atomic absorption spectrometry (Perkin/Elmer 5500). The total N was determined using the semi-micro Kjeldahl method. Total-P was measured colorimetrically using the molybdenum blue method described by Murphy and Riley [15].

### *2.1. Determination of the Foliar Sampling Period*

With the results of the foliar analysis obtained, it was possible to establish the best period of the season for taking leaf samples in the almond trees, as previously mentioned, as the nutrients reach a plateau during this collecting time period. The nutrient was considered stable when its concentration did not vary significantly during a sampling time period. A period of time was considered stable when every one of the five macronutrients (N, P, K, Ca, Mg) fulfilled this rule. An ANOVA and comparison of means was performed with each of the five nutrients and the ten sampling dates. Thus, the periods in which the foliar levels were stable was determined. The values of N, P, K, Ca, and Mg throughout the almond sampling period are shown together with the multiple range test, which allowed us to determine the ideal sampling date for each variety.

### *2.2. Diagnosis Method: Range of Normality (RN), DRIS Norms, and CND Guidelines*

Range of normality: knowing the adequate periods for foliar sampling, the range of normality was created by only using the foliar analysis corresponding to July (the most ideal month for collecting samples). The ranges were determined using the mean and standard deviation. The “normal” interval was calculated as the arithmetic mean (m) standard deviation (S). For the interval “low”, “very low”, “high” and “very high”, the procedure was the same.

### *2.3. Acquisition of the DRIS Norms*

To obtain the DRIS reference guidelines for the macronutrients for the almond cultivars studied, DRIS calculation was carried out using the Excel program as described in the literature [16,17]. For each nutrient, the mean, standard deviation, and the coefficient of variability were used in the sampling period in which these were stable (see above). All the calculations for all the possible relationships between nutrient pairs were performed (A/B; B/A and A x B) for all the macro-elements: nitrogen (%), phosphorus (%), potassium (%),

calcium (%), and magnesium (%). The following norms were calculated: N/P, P/N, N x P, N/K, K/N, N x K, N/Ca, Ca/N, N x Ca, N/Mg, Mg/N, N x Mg, K/P, P/K, K x P, K/Mg, Mg/K, K x Mg, P/Ca, Ca/P, P x Ca, P/Mg, Mg/P, P x Mg, K/Ca, Ca/K, K x Ca, Ca/Mg, Mg/Ca, and Mg x Ca. The selection of the type of ratio was dependent on the variation coefficient, and those with the smallest value were selected. Calculation for the DRIS norms was based on references [9,14,15].

$$f(A/B) = \left[ \frac{A/B}{a/b} - 1 \right] \frac{100 K}{CV}, \text{ when } A/B > a/b$$

$$f(A/B) = \left[ 1 - \frac{a/b}{A/B} \right] \frac{100 K}{CV}, \text{ when } A/B < a/b$$

$$f(A/B) = \left[ \frac{a/b}{A/B} - \frac{A/B}{a/b} \right] \frac{100 K}{CV}$$

In these equations, A/B is the tissue nutrient ratio of the plant to be diagnosed, a/b is the optimum value or norm for that given ratio, CV is the coefficient of variation associated with the norm, and SD is the standard deviation of the norm.

#### 2.4. Acquisition of the CND Guidelines

The calculation of the CND guidelines was conducted according to the studies by Parent and Dafir [8], Aitchison [18], and Khiari [19]. A dimensionless parameter named “Sd” was calculated as the sum of all the nutrients (N + P + K + ...), plus an “Rd” value, which represents all the values that were not determined analytically. The sum of all the nutrients plus the “Rd” factor must be 100, so “Rd” is calculated with the following formula:

$$Rd = 100 - (N + P + K + \dots) \quad (1)$$

The parameter “G” is calculated, which is the geometric mean of all the nutrients including the Rd parameter. The formula for calculating G is:

$$G = [ N \times P \times K \times \dots \times Rd ]^{1/(d+1)} \quad (2)$$

Once these two parameters are calculated (Rd and G), the “Vx” is calculated for each nutrient by using Equation (3), where “x” represents each nutrient analyzed.

$$V_x = \ln (X/G) \quad (3)$$

$$V_{Rd} = \ln (Rd/G) \quad (4)$$

By definition, the sum of all the components from a plant tissue must be 100%. Therefore, the sum of all the Vx must be zero. After defining the guidelines, the analytical results of a sample can be interpreted with the CND indices [20]:

$$ID_i = (V_i - v_i) / SD$$

where  $V_i$  is a multinutrient variable in the planting field evaluated,  $v_i$  is the reference population average, and  $SD$  is the standard deviation of the reference population.

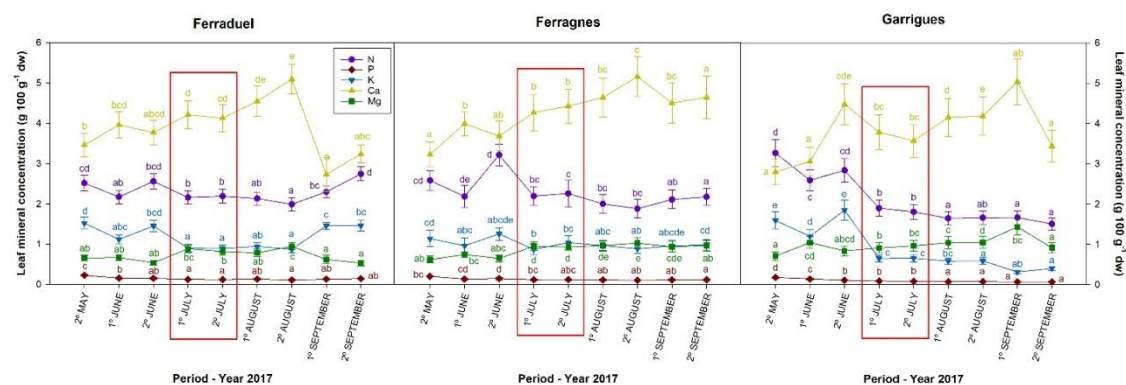
### 2.5. Statistical Analysis

There were twelve replicates for each genotype per harvest date. All measured parameters (mean, standard deviation, coefficient of variation, and standard error) as well as the analysis of variance (ANOVA) and the Tukey test for the separation of means ( $p < 0.05$ ) were analyzed statistically using SPSS Version 20.0 software (SPSS Statistical Package, Chicago, IL, USA).

## 3. Results and Discussion

### 3.1. Selection of the Sampling Period

Figure 1 shows the evolution of the concentrations of N, P, K, Ca, and Mg over time for the almond varieties Ferraduel, Ferragnes, and Garrigues (*Prunus dulcis*, Mill.). The nutrients P, K, and Mg were found to be stable over time from May to September in all almond cultivars. Nitrogen was also stable for the Ferraduel and Ferragnes varieties in this time period, while Garrigues was characterized by a slow and progressive decrease in concentration, from 3.5% in May to 1.5% in September. Calcium was the most variable element in the three varieties due to its continuous increase (with some peaks and valleys) from the month of April, reaching its maximum concentration in the summer, although the exact date was dependent on the variety: Ferraduel and Ferragnes in August, and Garrigues in September.



**Figure 1.** The evolution of the concentration of macronutrients at different leaf collecting dates in the Ferraduel, Ferragnes, and Garrigues varieties. The red square indicates the simultaneous period of greater stability in the five nutrients. Values are the average  $\pm$  standard error ( $n = 12$ ). For every cultivar and nutrient, the different lowercase letters indicate significant differences between the sampling date for  $p < 0.001$  established by Tukey's multiple range test.

Regarding the optimum moment of foliar sampling, although each cultivar has its own optimum time period, the three cultivars studied in this work all present greater stability in the

concentration of the analyzed nutrients (N, P, K, Ca, and Mg) during the first and second half of July (**Figure 1**, red area). Thus, considering these data, we can state that the optimum date for foliar sampling is in the month of July. This is the period of time wherein mineral nutrients simultaneously reach a stable plateau in all three cultivars. The red squares in **Figure 1** show the variations of each mineral element in July, with the greatest stability observed for most of the nutrients in this month. This time of the season corresponds with phenological stages wherein the fruits reach the final size and are ready to be harvested. In representative zones of almond cultivars in California, Saa et al. [21] observed that to ensure that the analysis of leaf samples reflects the nutrient status of the almond trees, it is necessary to collect samples in mid-July to early August or in early spring. According to our study, taking into account the variability of results among cultivars and among collecting dates, in Spain, the best period is in July. With the data obtained in July, the average value, standard error, and variability coefficient were calculated for each nutrient and variety, as shown in Table 1. It was observed that the concentration of these nutrients followed the trend:  $Ca > N = Mg > P$ , and this trend is maintained during the duration of the season. In addition, the data show that the concentrations of N, P, K, and Ca were higher in Ferraduel and Ferragnes as compared to Garrigues, while the leaf Mg was lower.

### 3.2. Range of Normality

Once the mean value, standard deviation, and coefficient of variation were calculated for each cultivar in the month of July, the ranges of normality were calculated following the method described in the Section 2. Table 2 shows that the Ferraduel and Ferragnes varieties had similar ranges of normality. However, Garrigues had much lower values, except for Mg, which had a range of normality of 0.81–1.17. In California, Muhammad et al. [22] found that the critical ranges in almond in samples from July were N 2.3–2.5%, P 0.1–0.3%, K 1.4–2.0%, Ca 2.0–5.0%, Mg 0.25–0.8%. All ranges are similar to those reported in our study, except in the case of K, whereas, in our observation, the trees needed a lower concentration. Maintaining these ranges is critical for obtaining a high level of production and good quality harvest because, in the fertilization of almond trees, imbalances can create severe problems. Such problems include nitrogen excess, increased vegetative growth, and susceptibility to diseases such as hull rot, which reduce yields [21,22]. Some examples of ranges of normality and critical concentrations for almonds and other fruit trees are reported in Table 3.

**Table 3.** Sufficiency ranges for almond and other fruits trees according to other publications.

| References         | N   | P         | K         | Ca        | Mg        |
|--------------------|---|-----------|-----------|-----------|-----------|
|                    | <b>Sufficiency Ranges (g kg<sup>-1</sup>)</b> |           |           |           |           |
| [22] (Almond)      | 2.3   | 0.2       | 1.4       | 2.0       | 0.25      |
| [23,24] (Almond)   | 2.11  | 0.27      | 1.85      | 2.04      | 0.71      |
| [25] (Grapevines)  | 2.76  | 0.65      | 1.98      | 2.08      | 0.53      |
| [26] (Pomegranate) | 1.88  | 0.18      | 0.98      | 1.85      | 0.59      |
| [27] (Sapota)      | 1.26–1.97                                     | 0.05–0.18 | 1.00–2.05 | 0.21–0.94 | 0.32–0.53 |
| [28] (Olive)       | 1.61–1.90                                     | 0.11–0.20 | 1.61–1.00 | 1.01–2.50 | 0.26–0.60 |

### 3.3. DRIS Guidelines

The DRIS norms obtained for the Ferraduel, Ferragnes, and Garrigues varieties were N/P, N/K, N x Ca, N/Mg, K/P, K x Mg, P x Ca, P x Mg, K x Ca, and Ca/Mg, as shown in Table 4. These norms were similar between the Ferraduel and Ferragnes varieties, while differences were found with the Garrigues variety. For example, this variety had higher N/P and P/K norms and a lower N \* Ca ratio than the other two varieties. Some examples of DRIS norms in other fruit trees are reported in Table 5. In almond trees, the only DRIS norms reported previously were established in a study in Chaharmahal and Bakhtiari province (Iran) [22–24]. In our study, we calculated the DRIS norm from a healthy and high-productivity almond orchard. Therefore, it could be used as a reference population, which could be fed into IA for future DSS installation. Once the DRIS norms are obtained, an interpretation of the nutritional state of any sample can be made, starting with the calculation of the DRIS index, as discussed in Beaufils ([16]) and De Assis ([29]). Those DRIS indexes, which would be low and negative, will be considered as limiting, while positive and high indices will be considered as not limiting. The manner in which to calculate these indices is found in the aforementioned publication.

**Table 4.** DRIS norms established for the Ferraduel, Ferragnes, and Garrigues varieties.

| Variety   | Ratio | Mean  | SD   | CV    |
|-----------|-------|-------|------|-------|
| Ferraduel | N/P   | 17.05 | 4.06 | 23.84 |
|           | N/K   | 2.30  | 0.58 | 25.19 |
|           | N*Ca  | 9.13  | 1.88 | 20.63 |
|           | N/Mg  | 1.76  | 0.32 | 18.28 |
|           | K/P   | 7.74  | 2.31 | 29.89 |
|           | K*Mg  | 0.80  | 0.19 | 23.77 |
|           | P*Ca  | 0.57  | 0.18 | 31.01 |
|           | P*Mg  | 0.11  | 0.03 | 25.40 |
|           | K*Ca  | 4.14  | 1.10 | 26.52 |
|           | Ca/Mg | 5.27  | 1.11 | 21.07 |
| Ferragnes | N/P   | 17.71 | 4.04 | 22.81 |
|           | N/K   | 2.33  | 0.57 | 24.62 |
|           | N*Ca  | 9.13  | 1.71 | 18.71 |
|           | N*Mg  | 1.91  | 0.36 | 18.71 |
|           | P/K   | 0.14  | 0.05 | 33.63 |
|           | K*Mg  | 0.86  | 0.22 | 25.21 |

|           |  | Continuation |       |      |       |
|-----------|--|--------------|-------|------|-------|
|           |  | Ratio        | Mean  | SD   | CV    |
| Garrigues |  | P*Ca         | 0.54  | 0.16 | 28.92 |
|           |  | P*Mg         | 0.11  | 0.02 | 20.57 |
|           |  | K*Ca         | 4.12  | 1.09 | 26.43 |
|           |  | Ca/Mg        | 4.84  | 0.79 | 16.30 |
|           |  | N/P          | 21.03 | 2.70 | 12.85 |
|           |  | N/K          | 3.25  | 1.27 | 39.20 |
|           |  | N*Ca         | 7.01  | 1.49 | 21.28 |
|           |  | N*Mg         | 0.56  | 0.15 | 27.33 |
|           |  | P/K          | 7.45  | 2.92 | 39.24 |
|           |  | K*Mg         | 0.63  | 0.28 | 43.82 |
|           |  | P*Ca         | 0.34  | 0.08 | 24.67 |
|           |  | P*Mg         | 11.75 | 3.60 | 30.65 |
|           |  | K*Ca         | 2.47  | 1.15 | 46.70 |
|           |  | Ca/Mg        | 3.92  | 0.66 | 16.74 |

The main advantages of the DRIS system over other methods include its ability to perform foliar diagnoses regardless of the age, variety, and part of the plant used. This is because the nutrient ratio is used instead of the absolute and/or individual nutrient concentration [28]. This is due to the use of an extensive database to obtain the DRIS standards. However, to improve the precision of this diagnosis, it is necessary to establish norms from regional and local studies that take into account the variability of the nutrients and crops studied (climatic characteristics, production level, etc.). Several studies have compared the precision of the diagnosis between the DRIS system versus critical values and deviation from optimum percentage (DOP), showing that DRIS diagnostic systems are safer and more precise than those of the other systems [22,23].

**Table 5.** DRIS norms for other fruits trees according to other publications.

|                   |        | DRIS Norms |        |        |        |         |        |        |
|-------------------|--------|------------|--------|--------|--------|---------|--------|--------|
|                   | N/P    | N/Ca       | K/Ca   | N/Mg   | K/P    | K/Mg    | P × Mg | Ca/Mg  |
| [26] Pomegranate  | 10     | 1.02       | 11.94  | 3.31   | 5.26   | 1.73    | 0.33   | 3.26   |
| [27] (Sapota)     | Mg/K   | N/K        | Mg/N   | Ca/Mg  | Ca/N   | Mg/P    | P/N    | P/K    |
|                   | 0.258  | 0.989      | 0.264  | 1.292  | 0.34   | 4.543   | 0.063  | 0.062  |
| [28] Olive        | N × P  | N × K      | N/Ca   | N/Mg   | P/K    | P × Ca  | P/Mg   | K × Ca |
|                   | 0.1479 | 1.4500     | 1.2765 | 7.8337 | 0.1024 | 0.1165  | 0.2705 | 1.1382 |
| [30] Mandarin     | N/P    | Ca/N       | Ca/P   | N/K    | K/P    | Ca/K    | K/Mg   | N/Mg   |
|                   | 3.1    | 0.684      | 3.785  | 1.031  | 2.069  | 1.716   | 1.75   | 2.781  |
| [31] Apple        | N/P    | N/K        | N/Ca   | N/Mg   | K/P    | K/Ca    | K/Mg   | Mg/Ca  |
|                   | 11.8   | 2.9        | 2.04   | 7.2    | 4.4    | 0.76    | 2.8    | 0.29   |
| [32] Pear         | N/K    | P/N        | P/Mg   | K/P    | K/Ca   | K/Mg    | Ca/N   | Ca/P   |
|                   | 2.99   | 0.04       | 0.15   | 10.56  | 0.26   | 1.43    | 1.35   | 41.01  |
| [33] Picual olive | N/P    | N/K        | N/Ca   | N/Mg   | P/K    | Ca/P    | P × Mg | Ca/K   |
|                   | 218.1  | 35.58      | 11.15  | 59.66  | 0.16   | 195.891 | 0.03   | 31.97  |
| [34] Satsuma      | N/P    | K/N        | N/Ca   | N/Mg   | K/P    | P/Ca    | P/Mg   | K/Ca   |
|                   | 7.92   | 0.91       | 0.68   | 6.58   | 7.01   | 0.09    | 0.77   | 0.63   |

### 3.4. *CND Guidelines*

The CND norms obtained for the three varieties tested are shown in Table 6. These guidelines are also backed by our previous statement that Ferraduel and Ferragnes obtained nutrition values that were different from those of Garrigues. For example, the VN, VP, and VK values were higher in Ferraduel and Ferragnes with respect to Garrigues, but the VCa and VMg values were greater in the Garrigues variety. Once the norms are obtained, the CND indices for any leaf sample could be calculated according to what was established by Aitchison [18]. Some examples of other fruit trees can be observed in the Table 6.

**Table 6.** CND standards (average and standard deviation) of the multinutrient variables obtained from the nutrient content in each of the almond cultivars.

|            | Ferraduel |        | Ferragnes |        | Garrigues |        |
|------------|-----------|--------|-----------|--------|-----------|--------|
|            | Mean      | SD     | Mean      | SD     | Mean      | SD     |
| <b>VN</b>  | 0.0507    | 0.1109 | 0.0408    | 0.1330 | 0.0182    | 0.1297 |
| <b>VP</b>  | -2.7569   | 0.2686 | -2.8073   | 0.2658 | -3.0190   | 0.1750 |
| <b>VK</b>  | -0.7524   | 0.2750 | -0.7718   | 0.2744 | -1.0856   | 0.3798 |
| <b>VCa</b> | 0.6594    | 0.2537 | 0.6638    | 0.2528 | 0.7462    | 0.2265 |
| <b>VMg</b> | -0.9794   | 0.2714 | -0.8985   | 0.2713 | -0.6070   | 0.2237 |
| <b>VRd</b> | 3.7787    | 0.0873 | 3.7730    | 0.0759 | 3.9472    | 0.1158 |
| <b>R</b>   | 91.6278   | 0.7829 | 91.5376   | 0.8036 | 92.5609   | 0.7505 |
| <b>G</b>   | 2.1009    | 0.1745 | 2.1089    | 0.1468 | 1.7985    | 0.2100 |

An advantage of CND is that, when using relationships with respect to the total composition, the effect of the variability of a single element on the rest of the nutrients is considered as a global effect, not as the contribution of several individual effects on each of the remaining nutrients. Therefore, it has a great advantage over the DRIS method [35]. The values obtained in this work for the normal ranges (RN), DRIS, and CND standards are of the same order of magnitude as those published by other authors (Tables 2, 4, 6 and 7), but there are important differences between these studies when dealing with different species, climatic zones, and fertilization and irrigation management methods. In addition, there are no references relative to CND norms. Therefore, the norms obtained in this work will be of great utility for interpreting the leaf mineral analyses of almond cultivars. The leaf norms of olive cultivars are not yet developed. In the next year, these norms will be validated in a population with low production, and this population will be introduced in DSS to help manage the application of fertilizer.

**Table 7.** CND standards for other fruits trees according to other publications.

| References            | VN   | VP     | VK    | VCa  | VMg   | VRd  |
|-----------------------|------|--------|-------|------|-------|------|
| [27] Olive            | 0.35 | -1.16  | -0.37 | 0.78 | -2.02 | 4.31 |
| [33] Aberquina olive  | 0.49 | -2.88  | -0.60 | 0.24 | -156  | 4.31 |
| [30] Mandarin         | 2.89 | -0.232 | 1.84  | 3.55 | 0.09  | 6.52 |
| [34] Satsuma mandarin | 2.51 | 0.48   | 2.39  | 2.94 | 0.67  | 6.31 |
| [36] Date palms       | 3.34 | 0.38   | 1.49  | 2.74 | 1.33  | 7.57 |



#### 4. Conclusions

The data of this experiment reported that the optimum period for foliar sampling for the Ferraduel, Ferragnes, and Garrigues cultivars is during July, as in this month, the leaf mineral concentration was becoming stable in all five nutrients analyzed. With respect to the nutritional state for the N, P, K, Ca, and Mg contents, there were differences among varieties. Ferraduel and Ferragnes are very similar varieties; however, they are different with respect to the Garrigues cultivar. The data suggest that Ferraduel and Ferragnes require a higher content of N, P, and Ca than Garrigues. In fact, the DRIS and CND norms for Ferraduel and Ferragnes are very similar between them, but different with regard to Garrigues. These norms could be introduced in the Decision Support Systems (DSS), through their corresponding algorithms, to management of the fertilization in almond orchards, which will increase the effective use of fertilizers, leading to a decrease in the amounts applied. In future assays, we will obtain new norms in function of different agronomic conditions such as water resources used for irrigation, irrigation vs. drought, etc.

**Supplementary Materials:** The following are available online at <https://www.mdpi.com/article/10.3390/horticulturae7110481/s1>. Figure S1: Geographical localization of the almond orchards: the blue area indicates the Ferraduel orchard, while the green and yellow areas indicate Ferragnes and Garrigues orchards, respectively. Table S1: Nutrient requirements for almond trees according to yield production. Table S2. Fertilizer application dates via fertigation in almond orchards.

**Author Contributions:** F.G.-S. and J.J.M.-N. conceived the idea and designed the experiments; M.F.-C., M.A.-S., and P.M.M. performed the experiments; J.J.M.-N. and F.G.-S. contributed to the analysis and discussion of results; M.F.-C. wrote the first draft of the paper, and all authors contributed to improving the paper. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This work has been funded by the Grants for Research Projects 2020, VBDat, Reference 60MX0008IP, from the Miguel Hernández University.

**Institutional Review Board Statement:** Not applicable.

**Informed Consent Statement:** Not applicable.

**Data Availability Statement:** Not applicable.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

1. Food and Agriculture Organization. 2021. Available online: <http://www.Fao.org/faostat.es> (accessed on 25 May 2021).
2. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. 2021. Available online: <http://www.Mapa.gob.es/estadistica> (accessed on 9 June 2021).
3. Instituto Técnico Agronómico Provincial de Albacete. 2014. Available online: <http://www.genvce.org/miembros/institutotecnico-agronomico-provincial-itap---diputacion-de-albacete/> (accessed on 5 September 2020).
4. Junta de Andalucía. Caracterización del Sector de la Almendra en Andalucía; Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural: Seville, Spain; Secretaría General de Agricultura y Alimentación: Madrid, Spain, 2016.
5. Felipe, J.A. El Almendro I: El Material Vegetal, 1st ed.; Mira Editores, S.A.: Zaragoza, Spain, 2000; pp. 1–461.
6. Arquero, O.; Rodríguez, A.; Quejo, M.J. Manual del Cultivo del Almendro; Junta de Andalucía: Seville, Spain; Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural: Seville, Spain; Secretaría General de Agricultura y Alimentación: Madrid, Spain, 2013; pp. 1–80.
7. Marschner, P.; Rengel, Z. Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants, 3rd ed.; Chapter 12—Nutrient Availability in Soils; Academic Press: New York, NY, USA, 2012; pp. 315–330. [CrossRef]
8. Parent, L.E.; Dafir, M. A theoretical concept of compositional nutrient diagnosis. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 1992, 117, 239–242. [CrossRef]
9. Egozcue, J.J.; Pawlowsky-Glahn, V. Groups of parts and their balances in compositional data analysis. *Math. Geol.* 2005, 37, 795–828. [CrossRef]
10. Parent, S.-É.; Parent, L.E.; Rozane, D.E.; Natale, W. Plant ionome diagnosis using sound balances: Case study with mango (*Mangifera indica*). *Front. Plant Sci.* 2013, 4, 449. [CrossRef]
11. Hernandez, A.; Parent, S.-É.; Natale, W.; Parent, L.E. Balancing guava nutrition with liming and fertilization. *Rev. Bras. Frutic.* 2012, 34, 1224–1234. [CrossRef]
12. Rozane, D.E.; Prado, R.D.M.; Natale, W.; Romualdo, L.M.; Franco, C.F. Caracterização biométrica e acúmulo de nutrientes em porta-enxertos de caramboleira cultivada em solução nutritiva. *Rev. Ciênc. Agron.* 2013, 44, 426–436. [CrossRef]
13. De Oliveira, C.T.; Rozane, D.E.; De Amorim, D.A.; De Souza, H.A.; Fernandes, B.S.; Natale, W. Diagnosis of the nutritional status of 'Paluma' guava trees using leaf and flower analysis. *Rev. Bras. Frutic.* 2020, 42, 1–9. [CrossRef]
14. Sumner, M.E. Application of Beaufil's diagnostic indices to maize data published in the literature irrespective of age and conditions. *Plant Soil* 1977, 46, 359–369. [CrossRef]
15. Murphy, J.; Riley, J.P. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acta* 1962, 27, 31–36. [CrossRef]
16. Beaufils, E.R. Diagnosis and Recommendation Integrated System (DRIS): A General Scheme for Experimentation and Calibration Based on Principles Developed from Research in Plant Nutrition; Soil Science Bulletin; University of Natal: Pietermaritzburg, South Africa, 1973.
17. Giménez, M.; Martínez, J.; Ferrández, M.; Oltra, M.A.; Madrid, R.; Rodríguez, V.; Rodríguez, O. Initial values of dris norms for artichoke cv. Blanca de Tudela (*Cynara scolymus* L.) in the provinces of Alicante and Murcia". *Acta Hortic.* 2004, 660, 285–291. [CrossRef]
18. Aitchison, J. The statistical analysis of compositional data. *J. R. Stat. Soc. Ser. B* 1982, 44, 139–177. [CrossRef]
19. Khiari, L.; Parent, L.E.; Tremblay, N. Critical compositional nutrient indexes for sweet corn at early growth stage. *J. Agron.* 2001, 93, 809–814. [CrossRef]
20. Jones, C.A. Proposed modifications of the diagnosis and recommendation integrated system (DRIS) for interpreting plant analyses. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 1981, 12, 785–794. [CrossRef]

21. Saa, S.; Brown, P.H.; Muhammad, S.; Rio, A.O.-D.; Sanden, B.L.; Laca, E.A. Prediction of leaf nitrogen from early season samples and development of field sampling protocols for nitrogen management in almond (*Prunus dulcis* Mill. (D.A.Webb)). *Plant Soil* 2014, 380, 153–163. [CrossRef]
22. Saa, S.; Peach-Fine, E.; Brown, P.; Michailides, T.; Castro, S.; Bostock, R.; Laca, E. Nitrogen increases hull rot and interferes with the hull split phenology in almond (*Prunus dulcis*). *Sci. Hortic.* 2016, 199, 41–48. [CrossRef]
23. Muhammad, S.; Saa, S.; Schellenberg, D.; Weinbaum, S.; Brown, P. Almond tree nutrition. In *Almonds: Botany, Production and Uses*; CABI: Oxford, UK, 2017; pp. 291–320.
24. Chaleshtori, A.A.; Panahpour, E.; Iranipour, R.; Moezzi, A. Diagnosing the Nutritional Balance of Almond (*Prunus* sp.) Orchards Using DRIS and DOP Methods. *J. Plant Growth Regul.* 2020, 40, 1640–1651. [CrossRef]
25. Rozane, D.E.; de Paula, B.V.; de Bastos de Melo, G.W.; Haitzmann dos Santos, E.M.; Trentin, E.; Marchezan, C.; da Silva, L.O.S.; Tassinari, A.; Dotto, L.; de Oliveira, F.N.; et al. Compositional Nutrient Diagnosis (CND) Applied to Grapevines Grown in Subtropical Climate Region. *Horticulturae* 2020, 6, 56. [CrossRef]
26. Maity, A.; Sharma, J.; Sarkar, A.; More, A.; Pal, R.K. Nutrient imbalance indices are closely related with susceptibility of pomegranate to bacterial blight disease. *Sci. Hortic.* 2016, 211, 79–86. [CrossRef]
27. Anjaneyulu, K. DRIS norms for identifying yield-limiting nutrients in sapota (*Manilkara achras* (Mill). Fosberg) cv. Cricketball. *J. Hortic. Sci.* 2007, 2, 115–118.
28. Lucena, J.J.; Ruano, S.; García-Serrano, P.; Ginés, I.; Mariscal, I. Informe DRIS: Normas Para el Diagnóstico del Análisis Foliar del Olivo, Partiendo de la Base de Datos de Fertiberia. Monografía (Informe Técnico); E.T.S.I. Agrónomos (UPM) [Antigua Denominación]: Madrid, Spain, 2002.
29. De Assis Alves Mourão Filho, F. DRIS: Concepts and applications on nutritional diagnosis in fruit crops. *Sci. Agric.* 2004, 61, 550–560. [CrossRef]
30. Labaied, M.B.; Pereira, A.; Ben Mimoun, M. Establishment of nutrients optimal range for nutritional diagnosis of mandarins based on DRIS and CND methods. *Commun. Soil Sci. Plan* 2018, 49, 2557–2570. [CrossRef]
31. Xu, M.; Zhang, J.; Wu, F.; Wang, X. Preliminary the Diagnosis and Recommendation Integrated System (DRIS) Norms for Evaluating the Nutrient Status of Apple. *Adv. J. Food Sci. Technol.* 2015, 7, 74–80. [CrossRef]
32. Hernandez, A.; de Souza, H.A.; de Amorim, D.A.; Natale, W.; Lavres, J.A., Jr.; Boaretto, E.; Camacho, M.A. DRIS Norms for Pêra Orange. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 2014, 45, 2853–2867. [CrossRef]
33. Giménez, M.; Nieves, M.; Gimeno, H.; Martínez, J.; Martínez-Nicolás, J.J. Nutritional diagnosis norms for three olive tree cultivars in superhighdensity orchards. *Int. J. Agric. Nat. Resour.* 2021, 48, 34–44. [CrossRef]
34. Huang, H.; Hu, C.X.; Tan, Q.; Hu, X.; Sun, X.; Lei, B. Effects of Fe-EDDHA application on iron chlorosis of citrus trees and comparison of evaluations on nutrient balance with three approaches. *Sci. Hortic.* 2012, 146, 137–142. [CrossRef]
35. Rodríguez, O.; Rodríguez, V. Desarrollo, determinación e interpretación de normas DRIS para el diagnóstico nutricional en plantas. Una revisión. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 2000, 17, 449–470.
36. Labaied Bendaly, M.; Khiari, L.; Gallichand, J.; Kebede, F.; Kadri, N.; Ben Ammar, N.; Ben Hmida, F.; Ben Mimoun, M. Nutrient Diagnosis Norms for Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) in Tunisian Oases. *Agronomy* 2020, 10, 886. [CrossRef]

|   |
|---|
| <b>9.2. PUBLICACIÓN 2</b>   |
| <b>Creating Foliar Diagnosis Rules for Almond Trees (<i>Prunus dulcis</i>, Mill.) Grown Under Different Watering Regimes: Irrigation vs Rainfed</b>                     |
| Mario Ferrández-Cámara, Juan J Martínez-Nicolás, José M Cámara-Zapata, Pablo Melgarejo, Juan Carlos Fernández-Zapata, Marina Alfosea-Simón and Francisco García-Sánchez |
| <i>In: João Silva Dias, editor. Prime Archives in Agricultural Research: Volume 2. Hyderabad, India: Vide Leaf. 2022.</i>   |
| Factor de impacto JCR: No indexado  |

### **Creating Foliar Diagnosis Rules for Almond Trees (*Prunus dulcis*, Mill.) Grown Under Different Watering Regimes: Irrigation vs Rainfed**

Mario Ferrández-Cámara<sup>1</sup>, Juan J Martínez-Nicolás<sup>1\*</sup>, José M Cámara-Zapata<sup>1</sup>, Pablo Melgarejo<sup>1</sup>, Juan Carlos Fernández-Zapata<sup>1</sup>, Marina Alfosea-Simón<sup>2</sup> and Francisco García-Sánchez<sup>2\*</sup>

1 Centro de Investigación e Innovación Agroalimentaria y Agroambiental (CIAGRO-UMH), Miguel Hernández University, Spain

2 Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura, CEBAS-CSIC, Spain

**\*Corresponding Authors:** Juan J Martínez-Nicolás, Centro de Investigación e Innovación Agroalimentaria y Agroambiental (CIAGRO-UMH), Miguel Hernández University, Spain. Francisco García-Sánchez, Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura, CEBAS-CSIC, Murcia, Spain

#### **Abstract**

Agriculture in the 21st Century must be performed considering sustainability criteria to mitigate the effects of climate change. For this, adequate fertilization is necessary for avoiding the excess application of fertilizers, which could contaminate the environment. For the efficient management of fertilization, it is necessary to know the optimum levels of each nutrient for each specie and type of environment. The most common method is to interpret foliar analyses results with traditional tools such as the Range of Normality (RN) or through more precise and complex techniques, such as the Diagnosis and Recommendation Integrated

System (DRIS), or the Compositional Nutrient Diagnosis (CND). However, for almonds, little information is available on the nutritional requirements of the different varieties, and those cultivated in rainfed vs irrigated lands are not differentiated. In the present work, 384 samples from each of four almond varieties (*Prunus dulcis*, Mill.) Desmayo, Ramillete, Marcona and Tuono, grown in rainfed or irrigated lands (a total of 1,536 samples) were analyzed, corresponding to sampling every two weeks between the months of June and September, both months included, for a period of two consecutive years. The main objective of the work was to establish RN, DRIS and CND standards for the interpretation of the nutritional analysis of these four almond varieties grown under different watering regimes. With the data from mineral analysis, through the application of different mathematical and statistical models, the RN, DRIS, and CND standards were obtained, with the conclusion that the optimal period for sampling this crop was in the month of July. These standards could be useful for developing algorithms that could be utilized to develop decision support systems (DSS) that interpret the foliar analyses more precisely as compared to the simple RN, and which manage, based on this information, the fertilization of the crops.

### **Keywords**

Woody Fruit Trees; Fertilization; Desmayo; Ramillete; Marcona; Tuono

### **Introduction**

Almonds are one of the most important rainfed nut crops in Mediterranean climate areas. This fruit tree does not require great quantities of water, and is well-adapted to adverse conditions of soil and climate, and therefore occupies areas which are not normally apt for other fruit species. The current world production of shell fruits is 3.5 Tg, with the most important countries being the USA (more than 50%), Spain (9%), and Iran (5%) [1]. In Spain, specifically, the productive varieties, which flower from March, are the most cultivated [2] to avoid the late frost. Presently, to improve the economic performance of the exploitations, the technical advances in this crop consist on the development of more productive varieties, the implementation of irrigation and fertilization systems, the improvement in mechanical harvesting, and the increase in the orchard density. Among these, the installation of irrigation and fertilization systems is, in the short term, the easiest to implement, and the one which is obtaining the best results.

A generalized method utilized to design the fertilization regime of crops consists on conducting a diagnostic analysis of the nutritional state of the plant, through foliar mineral analysis, and the application of different rules or standards for its interpretation, such as the Range of Normality (RN), the Diagnosis and Recommendation Integrated System (DRIS), the Modified Diagnosis and Recommendation Integrated System (M-DRIS), or the

Compositional Nutrient Diagnosis (CND) method. Traditionally, the most-utilized interpretation method has been the Range of Normality (RN), although the other methods are more precise, as they take into account the equilibrium between nutrients, with the inconvenience that they are more complex due to the series of standards that are dependent on many factors, among which we find the type of soil, environmental conditions, or type of irrigation [3]. This methodology of interpretation has been applied to fruit crops such as banana, orange, pear, guava, or almonds [4-7].

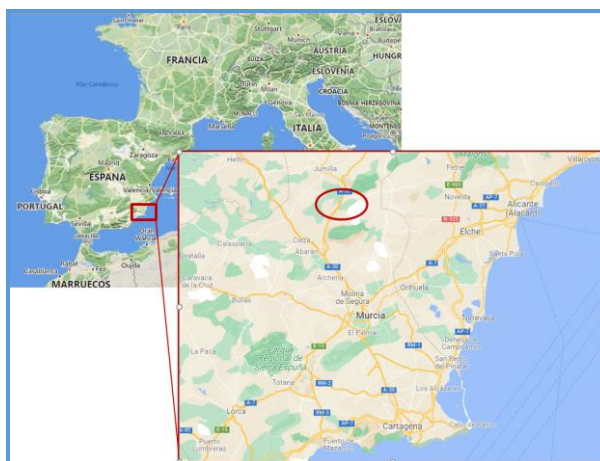
The current technological development has resulted in great advances in the agricultural sector, thanks to the development of data acquisition systems, Big Data, the application of artificial intelligence techniques, etc. [8]. Therefore, these technologies facilitate the interpretation of foliar analysis following the DRIS and CND standards. These standards are more complex than the Range of Normality, but are more precise as well, taking into account the equilibrium between nutrients. In the future, growers will introduce the mineral analysis of leaves from their fields into Decision Support Systems (DSS), to interpret the data with the help of a series of algorithms which utilize these types of standards. Therefore, the development of these standards is needed. Among the factors which determine the numerical value of these types of standards, the variety cultivated is one of the most important. Thus, for almonds, Ferrandez-Camara et al., [7] developed the DRIS, CND, and RN standards for the varieties Ferraduel, Ferragnes, and Garrigues in Spain, observing that these standards were similar for the first two varieties, but not for the Garrigues one. **Chaleshtori et al.**, [9,10] obtained the DRIS standards for a wide collection of ornamental almond trees, observing that there were great differences between the varieties. Presently, it is observed that the DRIS standards for the same variety depend on many factors, such as environmental conditions, rootstock utilized, etc. [11,12]. The standards for each variety and climate scenario will be useful in the future for developing the algorithms with which to interpret the foliar analysis. Therefore, the main objective of the present work is to establish the RN, DRIS and CND standards for the interpretation of the nutritional analysis of four cultivated almond varieties in Spain, Desmayo, Ramillete, Marcona and Tuono, in different environmental conditions established by different watering regimes: rainfed vs irrigation. Also, one of the aspects that will try to be solved with this study is to establish the period in the year that is the most adequate for the analysis of leaves to establish/apply these types of standards. Thus, the present study intends to contribute to the improvement of the design of sample collection, and the interpretation and comprehension of the leaf analysis results to provide support to the making of decisions for the fertilization of crops in general, and these almond varieties in particular.

## Materials and Methods

The plots of the four varieties, Desmayo, Ramillete, Marcona and Tuono, utilized in the present study, are located in Jumilla (Murcia, Spain), separated by a distance of less than 10 Km. The irrigated plots are located near the coordinates: Latitude 38° 21' 57.32" N, Longitude 1° 15' 29.15" W, and the rainfed plots close to the coordinates: Latitude 38° 22' 20.02" N and Longitude 1° 15' 8.21" W (Figure 1). The trees were cultivated under both rainfed and irrigation regimes, with the usual agronomic management for this area. In the rainfed plots, the average rainfall in the last 10 years was 256 mm. The irrigated plots received a mean of 650 mm of water (mean of precipitation + irrigation). In the rainfed plots, the mean annual fertilization in N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O units of fertilizer (UF), was 50-20-60, while for the irrigated ones, it was 140-60-160. The mean performance of the rainfed crops varied between 450-600 kg ha<sup>-1</sup> of kernels, while in the irrigated one, it oscillated between 1200-1700 kg ha<sup>-1</sup> of kernels. The age, plantation pattern, and location of the plots used in the study can be observed in Table 1 and Figure 1.

**Table 1:** Characteristics of the sampling plots according to variety and irrigation scheme.

| Variety   | Rainfed |                    | Irrigated |                    |
|-----------|---------|--------------------|-----------|--------------------|
|           | Age     | Plantation pattern | Age       | Plantation pattern |
| Desmayo   | 21      | 6x6                | 18        | 7x6                |
| Ramillete | 21      | 6x6                | 18        | 7x6                |
| Marcona   | 26      | 7x7                | 21        | 7x6                |
| Tuono     | 18      | 6x6                | 24        | 6x6                |



**Figure 1.** Location of the sampling plots.

The foliar samples were collected starting in the first half of June until the second half of September in two consecutive years, 2019 and 2020, without significant differences observed between the samples from both years. The data provided correspond to the mean of this time interval. For each year, eight sampling dates were established between June and September, with sample collection performed every two weeks. For each variety and watering regime,

192 samples were collected from 100 mature leaves. For each sample, the contents of N, P, K, Ca and Mg were analyzed. The leaves were washed with de-ionized water, dried in an oven at 60 °C for 48 hours, weighted, and milled with a hammer mill. Afterwards, the leaves were digested with nitric:perchloric acid (2:1), at 90 °C. The K, Ca, and Mg analysis was performed with atomic absorption spectrometry (Perkin / Elmer 5500, New York, USA). The total N was determined through the semi-micro Kjeldahl method. The total P was measured through colorimetry, by utilizing the molybdenum blue method from Murphy and Riley [13].

### **Determination of the Foliar Sampling Period**

With the results from the foliar analysis, the best period of the year for foliar sampling of almonds was established, simultaneously considering the four varieties and the nutrients analyzed. For this, a common stability period of the concentration of all the macronutrients analyzed was selected, that is, the period in which each of the nutrients simultaneously reached a stable value in various consecutive sampling events during the period of vegetative growth activity.

### **Diagnosis Method: Range of Normality (RN), DRIS Standards, and CND Standards**

#### *Range of Normality*

Knowing the adequate periods for foliar sampling, the range of normality (RN) interpretation tables were created by only using the foliar analysis corresponding to the most ideal period obtained. Afterwards, the ranges of normality for each nutrient were obtained. The “normal” interval was calculated as the arithmetic mean ( $m$ )  $\pm$  standard deviation ( $s$ ). For the interval “low” and “high”, the value was added or subtracted from the normal interval, two times the standard deviation. The “very low” and “very high” interval was determined as the highest and lowest data from the previous interval.

#### *Acquisition of the DRIS Standards*

The DRIS calculation methodology was applied, as described by diverse authors [14], to obtain the DRIS reference standards for the macronutrients, for each cultivar and watering regime studied. For each nutrient, the arithmetic mean, standard deviation and the coefficient of variability were used in the sampling period in which these were stable. All the calculations for all the possible relationships between nutrient pairs were performed (A/B; B/A and A\*B) for all the macro-elements: total Nitrogen (%), total Phosphorus (%), total Potassium (%), total Calcium (%), and total Magnesium (%). The selection of the type of ratio was dependent on the variation coefficient, and those with the smallest value were selected.



*Acquisition of the CND Standards*

The calculation of the CND standards was performed according to Aitchison [15] and Khiari et al. [16]. A non-dimensional

parameter named “Sd” was calculated with the sum of all nutrients (N + P + K + ...), plus a value “Rd”, which represents all the values that were not determined analytically. The sum of all the nutrients, plus the “Rd” factor must equal to 100, so that “Rd” is calculated with the following formula:

$$Rd = 100 - (N + P + K + \dots) \quad (1)$$

The parameter “G” is calculated, which is the geometric mean of all the nutrients, including the parameter Rd. The calculation of G is calculated as:

$$G = [N \times P \times K \times \dots \times Rd]^{1/(d+1)} \quad (2)$$

Once the two parameters (Rd and G) are calculated, “V<sub>x</sub>” is calculated for each nutrient starting with expression (3), where “X” represents the nutrient analyzed.

$$V_x = \ln (X/G) \quad (3)$$

$$V_{Rd} = \ln (Rd/G) \quad (4)$$

The sum of all the components from a plant tissue must be equal to 100%. Thus, the sum of all the V\*x must be zero. Once the guidelines were defined, the analytical results of a sample can be interpreted with the CND indices [17]:

$$ID_i = (V_i - v_i) / SD$$

Where,

V<sub>i</sub> = multi-nutrient variables in the cultivation field evaluated; v<sub>i</sub> = mean of the reference population; SD = standard deviation of the reference population.

**Experimental Design and Statistical Analysis**

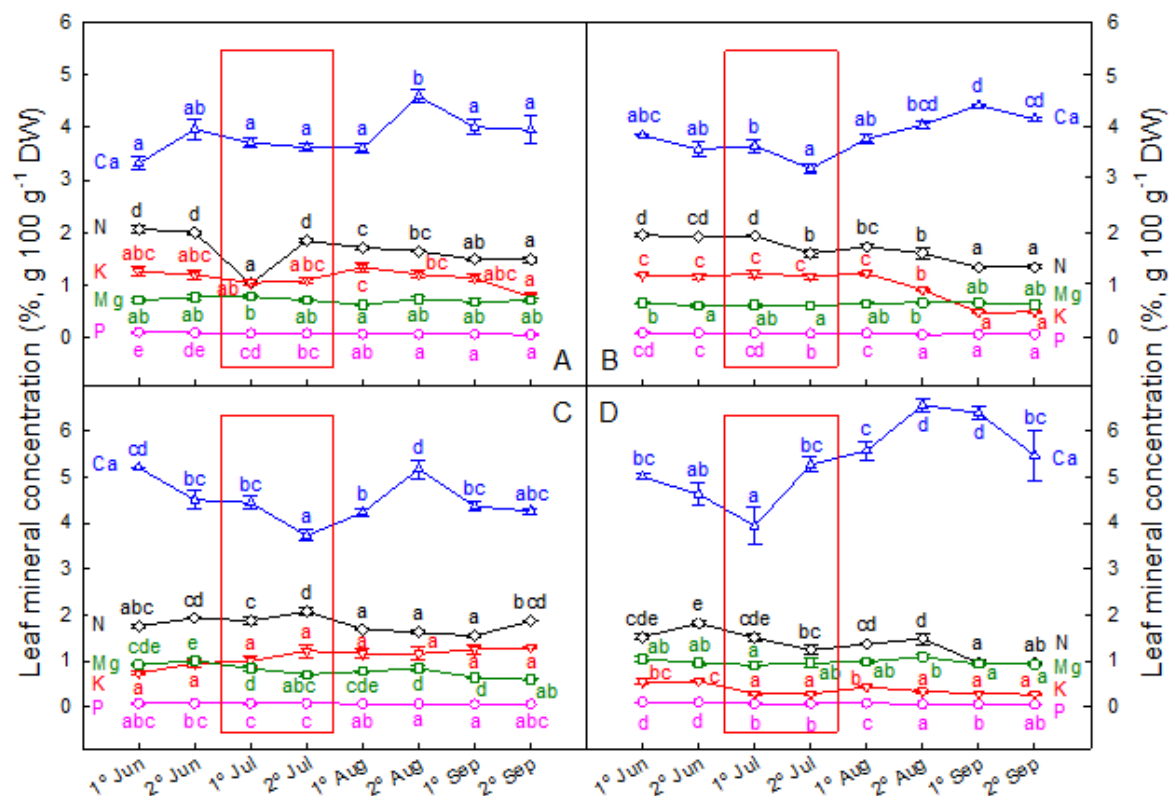
Using the data from the foliar analysis for each nutrient, variety, watering regime, and date, the means, standard deviations, standard errors, and coefficient of variations were calculated. For the change of nutrients with time, an ANOVA and a separation of means were performed, for each of the five nutrients from the four varieties. The separation of means was conducted with Tukey’s test, with significant differences defined at p<0.05. Twelve replicates for each variety, watering regime, year, and harvest date were utilized. The statistical analysis of the RN, DRIS, and CND standard was performed with the data from the stability period, once the parameters of the descriptive statistics (mean, standard deviation, coefficient of variation, and standard error) were determined, as well as the analysis of variance (ANOVA) and Tukey’s test for the separation of means (p<0.05) between the varieties and watering regimes. The software utilized was SPSS v25 (SPSS statistical package, Chicago, IL, USA).

## Results and Discussion

### *Selection of the Sampling Period*

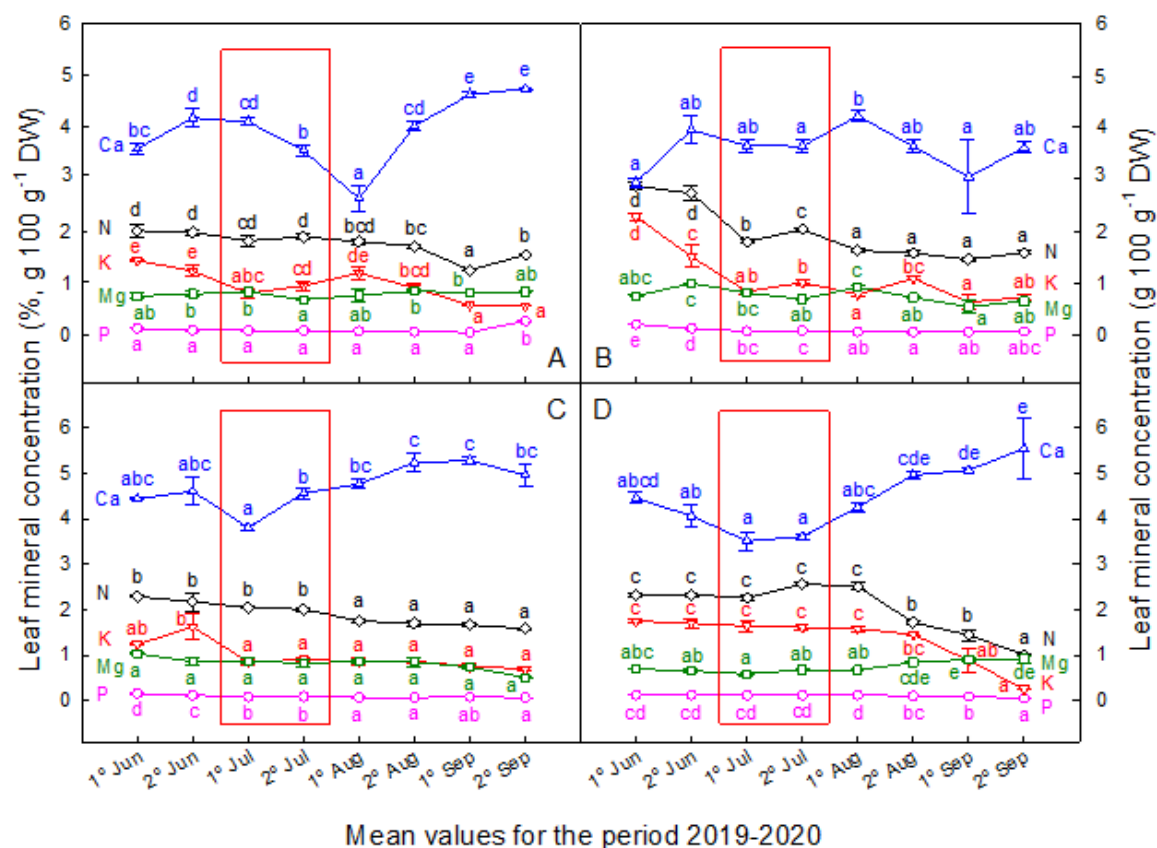
For the changes in the concentrations of N, P, K, Ca, and Mg throughout the sampling period of the four almond varieties, Desmayo, Ramillete, Marcona, and Tuono, grown in rainfed fields, the maximum and minimum values, expressed as mg/100mg dw, the leaf concentration of P, Mg, K, N, and Ca were 0.11/0.06, 1.09/0.60, 1.34/0.28, 2.08/0.95 and 6.56/3.22, respectively (Figure 2). It was observed that the nutrients P and Mg were stable throughout the months of June and September. The values of N concentration also showed a stable change, with a slight decrease in time for all the varieties. However, in the Desmayo variety, a strong decrease was observed in the first half of July, from a concentration of 2% to 1%, although this value recovered to the initial values in the following sampling event. For the concentration of K, a decreasing trend was observed in all the varieties, except for Marcona, for which the concentration was stable or slightly increasing. The concentration of Ca showed an irregular trend as compared to the other mineral nutrients. In general, for this nutrient, the lowest values were found in the second half of July, and the highest in the second half of August.

As for the irrigated plots, the maximum and minimum values for P, Mg, K, N, and Ca were 0.28/0.06, 1.04/0.51, 2.29/0.26, 2.88/1.01 and 5.54/2.64, respectively (Figure 3). The changes in the nutrients analyzed were similar to those found in the rainfed plots, underlining the great variability of Ca, with a drastic decrease observed at the halfway sampling point in all the varieties, except for Ramillete. Starting with this decrease, the concentration of Ca recovered (Figure 2).



Mean values for the period 2019-2020

**Figure 2:** Evolution of the macronutrients concentration (N: black diamond; P: pink circle; K: red triangle; Ca: blue triangle; and Mg: green square) in the different leaf collecting dates for the varieties Desmayo (A), Ramillete (B), Marcona (C), and Tuono (D) in rainfed. Square red indicates the period of greater stability simultaneous in the five nutrients. Values are the average  $\pm$  standard error ( $n=24$ ). For every variety and nutrient, the different lowercase letters indicate significant differences between the sampling date for  $p<0.001$  established by Tukey's multiple range test.



**Figure 3:** Evolution of the macronutrients concentration (N: black diamond; P: pink circle; K: red triangle; Ca: blue triangle; and Mg: green square) in the different leaf collecting date in the varieties Desmayo (A), Ramillete (B), Marcona (C), and Tuono in irrigation. Square red indicates the period of greater stability simultaneous in the five nutrients. Values are the average  $\pm$  standard error (n=24). For every variety and nutrient, the different lowercase letters indicate significant differences between the sampling date for  $p < 0.001$  established by Tukey's multiple range test.

Using the previous data, the optimum foliar sampling point was established, considering the four varieties and nutrients simultaneously. Although each variety has a specific period of nutritional stability, the period of stability for all four varieties simultaneously coincided for all the nutrients analyzed (N, P, K, Ca and Mg), in July (Figures 2 and 3, red rectangle area). Thus, considering these data, we can state that the optimum foliar sampling dates is in July, as it is the period in time in which the mineral nutrients analyzed were the most stable, simultaneously between them and the four varieties. This part of the vegetative growth cycle corresponds to phenological stages in which the fruits reach their final size.

With the data obtained in this sampling interval, the main descriptive statistics values were calculated for each nutrient and variety, as shown in Table 2. It was observed that the concentration of the nutrients followed the following pattern:  $Ca > N > K \geq Mg > P$ . In the rainfed plots, the nutritional state of the Tuono leaves was different from the nutritional state of the rest of the varieties, as it showed the smallest concentration of N and P, and the greatest concentration of Mg and Ca, P, however, was similar in all the varieties. In the case of the

irrigated trees, the differences were less evident and sharp. Thus, Tuono had a significantly higher concentration of P, K, and Ca, but without these values being as disparate as those observed in the rainfed fields. In the four varieties, significant differences were observed for the concentration of N between the irrigated and rainfed cultivation regimes, with it being the highest in the irrigated fields. Higher P concentrations were also observed in irrigated versus rainfed fields for Desmayo, Marcona and Tuono, and in Mg for Desmayo, Marcona and Ramillete. However, higher values in rainfed versus irrigated plots were found in K for Marcona, and in Ca for Tuono (Table 2). Within each column, the mean values of the nutrient concentration with the same letter do not represent significant differences at  $p < 0.05$ . SD indicates standard deviation of the samples, CV coefficient of variation, and SE standard error.  $n=96$  (2 years x 2 2-week periods per year x 2 years x 12 samples) for each crop, rainfed, and irrigated. “\*” indicates significant differences for each nutrient between irrigated and rainfed, for each variety.

#### *Range of Normality*

Table 3 shows the ranges of normality for each variety and watering regime. For both rainfed and irrigated regimes, it was observed that the varieties Desmayo, Ramillete, and Marcona, had very similar values between them, although these were different from Tuono. The latter variety had ranges of normality that were lower for N and K, and higher for Ca and Mg as compared to the other three. As for rainfed and irrigated plots, strong differences were not found, indicating that this crop is perfectly adapted for both production systems.

**Table 2:** Mean values of leaf macronutrient concentration (% g 100 g<sup>-1</sup> DW) in the July for the varieties Desmayo, Ramillete, Marcona, and Tuono grow in rainfed and irrigated plots.

| Variety                           | Rainfed |         |         |         |         | Irrigation |        |        |        |        |
|-----------------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|------------|--------|--------|--------|--------|
|                                   | N       | P       | K       | Ca      | Mg      | N          | P      | K      | Ca     | Mg     |
| <b>Desmayo</b>                    |         |         |         |         |         |            |        |        |        |        |
| Mean (% g 100 g <sup>-1</sup> DW) | 1.72* b | 0.08* a | 1.19 b  | 3.87 a  | 0.69* a | 1.80 a     | 0.09 a | 0.98 a | 3.95 a | 0.79 a |
| SD                                | 0.05    | 0.05    | 0.49    | 0.84    | 0.24    | 0.28       | 0.03   | 0.37   | 0.65   | 0.14   |
| C.V. (%)                          | 1.46    | 6.58    | 4.14    | 2.16    | 3.42    | 1.56       | 2.76   | 3.75   | 1.65   | 1.72   |
| SE                                | 0.02    | 0.00    | 0.03    | 0.06    | 0.02    | 0.04       | 0.00   | 0.05   | 0.09   | 0.02   |
| <b>Ramillete</b>                  |         |         |         |         |         |            |        |        |        |        |
| Mean (% g 100 g <sup>-1</sup> DW) | 1.69* b | 0.08 a  | 1.06 b  | 3.80 a  | 0.65* a | 1.89 ab    | 0.09 a | 0.99 a | 3.70 a | 0.78 a |
| SD                                | 0.23    | 0.01    | 0.27    | 0.41    | 0.04    | 0.36       | 0.03   | 0.38   | 0.58   | 0.16   |
| C.V. (%)                          | 1.36    | 1.44    | 2.55    | 1.07    | 0.68    | 1.91       | 3.47   | 3.78   | 1.56   | 1.98   |
| SE                                | 0.04    | 0.00    | 0.04    | 0.06    | 0.01    | 0.04       | 0.00   | 0.05   | 0.07   | 0.01   |
| <b>Marcona</b>                    |         |         |         |         |         |            |        |        |        |        |
| Mean (% g 100 g <sup>-1</sup> DW) | 1.76* b | 0.08* a | 1.14* b | 4.42* b | 0.79 b  | 1.87 ab    | 0.09 a | 0.88 a | 4.63 b | 0.84 a |
| SD                                | 0.28    | 0.02    | 0.58    | 0.80    | 0.22    | 0.27       | 0.02   | 0.34   | 0.82   | 0.35   |
| C.V. (%)                          | 1.59    | 2.73    | 5.07    | 1.82    | 2.75    | 1.44       | 2.28   | 3.87   | 1.77   | 4.19   |
| SE                                | 0.02    | 0.00    | 0.05    | 0.06    | 0.02    | 0.02       | 0.00   | 0.03   | 0.07   | 0.03   |
| <b>Tuono</b>                      |         |         |         |         |         |            |        |        |        |        |
| Mean (% g 100 g <sup>-1</sup> DW) | 1.36* a | 0.08* a | 0.37* a | 5.63* c | 0.99* c | 2.00 b     | 0.11 b | 1.33 b | 4.47 b | 0.76 a |
| SD                                | 0.38    | 0.00    | 0.13    | 0.14    | 0.18    | 0.56       | 0.02   | 0.55   | 0.76   | 0.14   |
| C.V. (%)                          | 2.78    | 2.53    | 3.59    | 1.85    | 1.85    | 2.81       | 2.15   | 4.16   | 1.71   | 1.86   |
| SE                                | 0.05    | 0.00    | 0.02    | 0.12    | 0.02    | 0.10       | 0.00   | 0.10   | 0.15   | 0.01   |

**Table 3:** Ranges of normality for the varieties Desmayo, Marcona, Ramillete and Tuono in rainfed and irrigated plots.

| Nutrient  | No irrigation |      |        |      |           |          |      |        | Irrigation |           |          |      |        |      |           |       |
|-----------|---------------|------|--------|------|-----------|----------|------|--------|------------|-----------|----------|------|--------|------|-----------|-------|
|           | Desmayo       |      |        |      |           |          |      |        | Desmayo    |           |          |      |        |      |           |       |
|           | Very low      | Low  | Normal | High | Very high | Very low | Low  | Normal | High       | Very high | Very low | Low  | Normal | High | Very high |       |
| <b>N</b>  | < 1.21        | 1.21 | 1.46   | 1.47 | 1.98      | 1.99     | 2.24 | >2.24  | < 1.23     | 1.23      | 1.51     | 1.52 | 2.08   | 2.09 | 2.37      | >2.37 |
| <b>P</b>  | < 0.03        | 0.03 | 0.05   | 0.06 | 0.09      | 0.10     | 0.12 | >0.12  | < 0.03     | 0.03      | 0.06     | 0.07 | 0.12   | 0.13 | 0.15      | >0.15 |
| <b>K</b>  | < 0.19        | 0.19 | 0.68   | 0.69 | 1.68      | 1.69     | 2.18 | >2.18  | < 0.23     | 0.23      | 0.60     | 0.61 | 1.35   | 1.36 | 1.73      | >1.73 |
| <b>Ca</b> | < 2.19        | 2.19 | 3.02   | 3.03 | 4.71      | 4.72     | 5.55 | >5.55  | < 2.63     | 2.63      | 3.28     | 3.29 | 4.60   | 4.61 | 5.26      | >5.26 |
| <b>Mg</b> | < 0.21        | 0.21 | 0.45   | 0.46 | 0.93      | 0.94     | 1.18 | >1.18  | < 0.51     | 0.51      | 0.64     | 0.65 | 0.92   | 0.93 | 1.07      | >1.07 |
|           | Ramillete     |      |        |      |           |          |      |        | Ramillete  |           |          |      |        |      |           |       |
|           | Very low      | Low  | Normal | High | Very high | Very low | Low  | Normal | High       | Very high | Very low | Low  | Normal | High | Very high |       |
| <b>N</b>  | < 1.22        | 1.22 | 1.45   | 1.46 | 1.92      | 1.93     | 2.16 | >2.16  | < 1.16     | 1.16      | 1.52     | 1.53 | 2.25   | 2.26 | 2.63      | >2.63 |
| <b>P</b>  | < 0.05        | 0.05 | 0.06   | 0.07 | 0.10      | 0.11     | 0.12 | >0.12  | < 0.02     | 0.02      | 0.05     | 0.06 | 0.12   | 0.13 | 0.17      | >0.17 |
| <b>K</b>  | < 0.51        | 0.51 | 0.78   | 0.79 | 1.33      | 1.34     | 1.61 | >1.61  | < 0.19     | 0.19      | 0.61     | 0.62 | 1.37   | 1.38 | 1.75      | >1.75 |
| <b>Ca</b> | < 2.97        | 2.97 | 3.38   | 3.39 | 4.20      | 4.21     | 4.62 | >4.62  | < 2.54     | 2.54      | 3.12     | 3.13 | 4.28   | 4.29 | 4.86      | >4.86 |
| <b>Mg</b> | < 0.55        | 0.55 | 0.59   | 0.60 | 0.69      | 0.70     | 0.75 | >0.75  | < 0.46     | 0.46      | 0.62     | 0.63 | 0.94   | 0.95 | 1.10      | >1.10 |
|           | Marcona       |      |        |      |           |          |      |        | Marcona    |           |          |      |        |      |           |       |
|           | Very low      | Low  | Normal | High | Very high | Very low | Low  | Normal | High       | Very high | Very low | Low  | Normal | High | Very high |       |
| <b>N</b>  | < 1.19        | 1.19 | 1.47   | 1.48 | 2.03      | 2.04     | 2.32 | >2.32  | < 1.32     | 1.32      | 1.59     | 1.60 | 2.14   | 2.15 | 2.42      | >2.42 |
| <b>P</b>  | < 0.02        | 0.02 | 0.04   | 0.05 | 0.09      | 0.10     | 0.13 | >0.13  | < 0.04     | 0.04      | 0.06     | 0.07 | 0.11   | 0.12 | 0.14      | >0.14 |
| <b>K</b>  | < 0.02        | 0.02 | 0.55   | 0.56 | 1.71      | 1.72     | 2.30 | >2.30  | < 0.19     | 0.19      | 0.53     | 0.54 | 1.22   | 1.23 | 1.57      | >1.57 |
| <b>Ca</b> | < 2.80        | 2.80 | 3.61   | 3.62 | 5.22      | 5.23     | 6.04 | >6.04  | < 2.99     | 2.99      | 3.81     | 3.82 | 5.45   | 5.46 | 6.28      | >6.28 |
| <b>Mg</b> | < 0.34        | 0.34 | 0.56   | 0.57 | 1.00      | 1.01     | 1.23 | >1.23  | < 0.13     | 0.13      | 0.48     | 0.49 | 1.18   | 1.19 | 1.54      | >1.54 |
|           | Tuono         |      |        |      |           |          |      |        | Tuono      |           |          |      |        |      |           |       |
|           | Very low      | Low  | Normal | High | Very high | Very low | Low  | Normal | High       | Very high | Very low | Low  | Normal | High | Very high |       |
| <b>N</b>  | < 0.60        | 0.60 | 0.98   | 0.99 | 1.74      | 1.75     | 2.13 | >2.13  | < 0.87     | 0.87      | 1.43     | 1.44 | 2.56   | 2.57 | 3.13      | >3.13 |
| <b>P</b>  | < 0.03        | 0.03 | 0.05   | 0.06 | 0.10      | 0.11     | 0.13 | >0.13  | < 0.05     | 0.05      | 0.08     | 0.09 | 0.14   | 0.15 | 0.17      | >0.17 |
| <b>K</b>  | < 0.09        | 0.09 | 0.23   | 0.24 | 0.50      | 0.51     | 0.64 | >0.64  | < 0.21     | 0.21      | 0.77     | 0.78 | 1.88   | 1.89 | 2.45      | >2.45 |
| <b>Ca</b> | < 3.54        | 3.54 | 4.58   | 4.59 | 6.67      | 6.68     | 7.72 | >7.72  | < 2.93     | 2.93      | 3.69     | 3.70 | 5.23   | 5.24 | 6.00      | >6.00 |
| <b>Mg</b> | < 0.62        | 0.62 | 0.80   | 0.81 | 1.18      | 1.19     | 1.37 | >1.37  | < 0.47     | 0.47      | 0.61     | 0.62 | 0.90   | 0.91 | 1.05      | >1.05 |

*DRIS Standards*

The DRIS standards obtained for each of the four varieties is shown in Table 4. The criteria utilized to select these standards was to choose those which had the smallest coefficient of variation for each variety. Other authors have created standards for different other conditions, such as for citrus trees treated with an iron chelate, as compared to trees to which iron chelates were not applied [18], pomegranate trees that were either affected or not to the bacterial disease *Xanthomonas axonopodis* pv. *Punicae* [19], or almonds from different locations in Iran, Chaharmahal and Bakhtiari [20]. In our study, we calculated the DRIS standards from healthy, high productivity almond orchards in two environmental scenarios, so that they could be utilized as a reference for their use in future decision support systems (DSS), through the calculation of DRIS indices De Assis, [22]. The main advantage of the DRIS system, with respect to other methods such as range of normality, is that these standards do not depend on the age, variety, or part of the plant utilized for the analysis, as they utilize the relationship between nutrients instead of their absolute and/or individual concentrations [22]. However, to improve the precision of the interpretation, it is necessary to establish standards starting with regional and local studies that take into account different factors of the crop, such as edaphological, climatic, level of production characteristics, etc.

**Table 4:** DRIS standards established for the varieties Desmayo, Ramillete, Marcona and Tuono.

|              | Rainfed        | Irrigation |              | Rainfed          | Irrigation |
|--------------|----------------|------------|--------------|------------------|------------|
| <b>Ratio</b> | <b>Desmayo</b> |            | <b>Ratio</b> | <b>Ramillete</b> |            |
| N/P          | 24.08          | 20.57      | P/N          | 0.05*            | 0.05       |
| K/N          | 0.69a          | 0.55a      | K/N          | 0.62a            | 0.52a      |
| N*Ca         | 6.59a          | 7.03a      | N*Ca         | 6.38a            | 6.96a      |
| N*Mg         | 1.19a          | 1.41a      | N*Mg         | 1.09a            | 1.48a      |
| K/P          | 16.12a         | 11.15a     | K/P          | 12.63a           | 10.95a     |
| K*Mg         | 0.75a          | 0.76a      | K*Mg         | 0.68a            | 0.77a      |
| P*Ca         | 0.28a          | 0.35a      | P*Ca         | 0.32*a           | 0.33a      |
| P*Mg         | 0.05*a         | 0.12a      | P*Mg         | 0.05*a           | 0.07b      |
| K*Ca         | 4.50a          | 3.81a      | K/Ca         | 3.97a            | 3.60a      |
| Mg/Ca        | 0.18*a         | 0.20a      | Ca/Mg        | 5.88*            | 4.74       |
| <b>Ratio</b> | <b>Marcona</b> |            | <b>Ratio</b> | <b>Tuono</b>     |            |
| N/P          | 24.44*         | 20.00      | P/N          | 0.06*            | 0.05       |
| K/N          | 0.64a          | 0.48a      | K/N          | 0.28*b           | 0.63a      |
| N*Ca         | 7.63a          | 8.58a      | N*Ca         | 7.60a            | 8.61a      |
| N*Mg         | 1.36a          | 2.61a      | N*Mg         | 1.35a            | 1.46a      |
| K/P          | 15.13a         | 10.09a     | P/K          | 0.23*            | 0.08       |
| K*Mg         | 0.80a          | 0.66a      | Mg/K         | 2.68*            | 0.57       |
| P*Ca         | 0.32a          | 0.40b      | P*Ca         | 0.44a            | 0.49b      |
| P*Mg         | 0.06*a         | 0.12a      | P*Mg         | 0.08a            | 0.08a      |
| K/Ca         | 0.21a          | 0.25       | K/Ca         | 0.07*            | 0.30       |
| Mg/Ca        | 0.18*a         | 0.16a      | Ca/Mg        | 5.73             | 5.91       |

Within each column the different ratios between varieties are compared. Mean values of nutrient concentration with the same letter do not represent significant differences at  $p < 0.05$ .



\* indicates significant differences between rainfed and irrigation for a specific variety and ratio.

### *CND Standards*

The CND standards obtained for the four varieties assays in rainfed and irrigated fields are shown in Table 5. Once the standards are obtained, the CND indices can be calculated for any leaf sample, according to that established by Aitchison [15]. Samples of CND standards for other crops can be found for Aloe vera [19] or date palm [22]. The CND standards utilize ratios with respect to the total composition, so that the effect of the variability of only one element on the rest of the nutrients is considered as a global effect, and not as the contribution of various individual effects of each of the nutrients on the rest of the nutrients, which is a clear advantage with respect to the DRIS guidelines [23].

In the bibliography, we can find important differences between these standards when dealing with different species and varieties, as well as different climatic areas, soils, fertilization, and irrigation management. On the other hand, references related with the CND for the cultivation of almonds do not exist, and even less differentiating between rainfed and irrigated cultivation. Therefore, the standards obtained in this work will be greatly useful for interpreting the leaf mineral analysis from cultivated almond varieties, for both rainfed and irrigated crops. In future studies, these standards will be validated with low-production populations and will be introduced in the DSS to help in the management of fertilizer application.

**Table 5:** CND standards of the multi-nutrient variables obtained from the nutrient content in every one of almond cultivars.

|              | <b>Rainfed</b> | <b>Irrigation</b> |              | <b>Rainfed</b>   | <b>Irrigation</b> |
|--------------|----------------|-------------------|--------------|------------------|-------------------|
| <b>Ratio</b> | <b>Desmayo</b> |                   | <b>Ratio</b> | <b>Ramillete</b> |                   |
| <b>VN</b>    | -0.04a         | -0.04b            | <b>VN</b>    | -0.06a           | 0.01a             |
| <b>VP</b>    | -3.20a         | -3.05a            | <b>VP</b>    | -3.07a           | -3.04a            |
| <b>VK</b>    | -0.49a         | -0.70a            | <b>VK</b>    | -0.56a           | -0.68a            |
| <b>VCa</b>   | 0.76a          | 0.74a             | <b>VCa</b>   | 0.75a            | 0.68a             |
| <b>VMg</b>   | -0.99a         | -0.87             | <b>VMg</b>   | -1.01a           | -0.88             |
| <b>Va-R</b>  | 3.95a          | 3.91a             | <b>Va-R</b>  | 3.95a            | 3.91a             |
| <b>Ř</b>     | 92.45a         | 92.40a            | <b>Ř</b>     | 92.73a           | 92.54a            |
| <b>G</b>     | 1.78a          | 1.86a             | <b>G</b>     | 1.78a            | 1.86a             |
| <b>Ratio</b> | <b>Marcona</b> |                   | <b>Ratio</b> | <b>Tuono</b>     |                   |
| <b>VN</b>    | -0.05a         | -0.01a            | <b>VN</b>    | -0.20b           | -0.06b            |
| <b>VP</b>    | -3.23a         | -3.08a            | <b>VP</b>    | -3.04a           | -2.92a            |
| <b>VK</b>    | -0.61a         | -0.83a            | <b>VK</b>    | -1.53a           | -0.59a            |
| <b>VCa</b>   | 0.86a          | 0.90b             | <b>VCa</b>   | 1.23b            | 0.77a             |
| <b>VMg</b>   | -0.88a         | -0.88             | <b>VMg</b>   | -0.50b           | -1.00             |
| <b>Va-R</b>  | 3.92a          | 3.90a             | <b>Va-R</b>  | 4.04a            | 3.80a             |
| <b>Ř</b>     | 91.83a         | 91.69a            | <b>Ř</b>     | 91.57a           | 91.33a            |
| <b>G</b>     | 1.84a          | 1.87a             | <b>G</b>     | 1.62a            | 2.06a             |

Within each column, the different ratios between varieties are compared. Mean values of nutrient concentration with the same letter do not represent significant differences at  $p < 0.05$ . \* indicates significant differences between rainfed and irrigation for a specific variety and ratio.

### Conclusion

The optimum period for foliar sampling of the cultivars Desmayo, Ramillete, Marcona and Tuono is the month of July, as in this month, the concentration of the leaf minerals analyzed was simultaneously stable for each of the nutrients. And, this period of stability does not change with respect to the rainfed or irrigated fields. With respect to the nutritional state for the contents of N, P, K, Ca, and Mg, differences were found between varieties and cultivation systems. As for the varieties, Tuono behaved differently from the rest, with stronger differences found in rainfed as compared to irrigated fields. The RD intervals and the DRIS and CND standards specific to each variety and watering regime were developed from the data obtained in the period of stability. These standards were different for each variety and watering regime, so that it can be concluded that for the use of these interpretation techniques, it is necessary to develop specific standards for each variety and climatic scenario within the same cultivated specie.

### References

1. FAO. Food and Agriculture Organization. Data on agricultural production. 2021. Available online at: <https://www.fao.org/faostat/es/#data/QCL>.
2. Felipe JA. El almendro I: El material vegetal. Mira Editores. 2000; 461.
3. Contreras JI, Galindo P, Catala JJ, Segura ML. Response of greenhouse pepper crop to fertilizer levels and different qualities of irrigation water. *Acta Hort.* 2006; 203–206.
4. Hernandez A, De Souza HA, De Amorim DA, Natale W, Lavres JA, et al. DRIS Norms for Pêra Orange. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 2014; 45: 2853–2867.
5. Hernandez A, Parent SÉ, Natale W, Parent LE. Balancing guava nutrition with liming and fertilization. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 2012; 34: 1224–1234.
6. Huang H, Hu CX, Tan Q, Hu X, Sun X, et al. Effects of Fe-EDDHA application on iron chlorosis of citrus trees and comparison of evaluations on nutrient balance with three approaches. *Scientia Horticulturae*. 2021; 146: 137–142.
7. Ferrández-Cámara M, Martínez-Nicolás JJ, Alfosea-Simón M, Cámara-Zapata JM, Melgarejo Moreno P, et al. Estimation of Diagnosis and Recommendation Integrated System (DRIS), Compositional Nutrient Diagnosis (CND) and Range of Normality (RN) Norms for Mineral Diagnosis of Almonds Trees in Spain. *Horticulturae*. 2021; 7: 481.
8. Khan N, Ray RL, Kassem HS, Hussain S, Zhang S, et al. Potential Role of Technology Innovation in Transformation of Sustainable Food Systems: A Review. *Agriculture*. 2021; 11: 984.
9. Chaleshtori A, Panahpour E, Iranipour R, Moezzi A. The Nutritional Evaluation of Almond (mamae SP.) Gardens using Diagnostic Recommendation Integrated System (DRIS) Method

- in Saman Area of Chaharmahal Va Bakhtiari Provinc. *Journal of Plant Production Research*. 2020; 26:115–130.
10. Chaleshtori AA, Panahpour E, Iranipour R, Moezzi A. Diagnosing the Nutritional Balance of Almond (*Prunus sp.*) Orchards Using DRIS and DOP Methods. *Journal of Plant Growth Regulation*. 2021; 40: 1640–1651.
  11. Alves Rodrigues Filho JC Lima Neves SL, Rodrigues Donato BV, Castro Guimarães. Universality of Kenworthy and DRIS norms for prata and Cavendish bananas grown in two environments. *Rev Bras Cienc Solo*. 2021; 45:e0200120.
  12. Sanchez E, Soto-Parra JM, Preciado-Rangel P, Llanderal A, Lao MT. DRIS Norms for grafted and non-grafted red bell pepper in semi arid climate conditions in a greenhouse. *Horticultura Brasileira*. 2018; 36: 371–376.
  13. Murphy J, Riley JP. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*. 1962; 27: 31–36.
  14. Giménez M, Nieves M, Gimeno H, Martínez J, Martínez-Nicolás JJ. Nutritional diagnosis norms for three olive tree cultivars in super high density orchards. *International Journal of Agricultural and Natural Resources*. 2021; 48: 34–44.
  15. Aitchison J. The statistical analysis of compositional data. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B: Statistical Methodology*. 1982; 44: 139–177.
  16. Khiari L, Parent LE, Tremblay N. Critical compositional nutrient indexes for sweet corn at early growth stage. *Journal of Agronomy*. 2001; 93: 809–814.
  17. Jones CA. Proposed modifications of the diagnosis and recommendation integrated system (DRIS) for interpreting plant analyses. *Communication in Soil Science and Plant Analysis*. 1981; 12: 785–794.
  18. Labaied BM, Khiari L, Gallichand J, Kebede F, Kadri N, et al. Nutrient Diagnosis Norms for Date Palm (*Phoenix dactylifera L.*) in Tunisian Oases. *Agronomy*. 2020; 10: 886.
  19. García-Hernández J, Valdez-Cepeda R, Amador B, Beltran A, Ruiz-Espinoza F, et al. Preliminary compositional nutrient diagnosis norms in *Aloe vera L.* grown on calcareous soil in an arid environment. *Environmental and Experimental Botany*. 2006; 58: 244–252.
  20. Muhammad S, Saa S, Schellenberg D, Weinbaum S, Brown P. *Almond tree nutrition. Almonds: Botany, production and uses*. Oxford: CABI. 2017; 482.
  21. De Assis AMF. DRIS: concepts and applications on nutritional diagnosis in fruit crops. *Scientia Agricola*. 2004; 61: 550–560.
  22. Labaied MB, Pereira A, Ben Mimoun M. Establishment of nutrients optimal range for nutritional diagnosis of mandarins based on DRIS and CND methods. *Communication in Soil Science and Plant Analysis*. 2018; 49: 2557–2570.
  23. Rodríguez O, Rodríguez V. Desarrollo, determinación e interpretación de normas DRIS para el diagnóstico nutricional en plantas. Una revisión. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*. 2000; 17: 449–470.

|   |
|---|
| <b>9.3. PUBLICACIÓN 3</b>   |
| <b>Nutritional, Physiological, and Morphological Effects on Almond Trees Grown by Fertigation with the Nitrification Inhibitor 3, 4Dimethylpyrazole Succinic Acid</b> |
| <b>Mario Ferrández-Cámara, Juan J Martínez-Nicolás, José M Cámara-Zapata, Juan Carlos Fernández-Zapata, Marina Alfosea-Simón, Francisco García-Sánchez</b>            |
| <i>Advances in Agriculture, Horticulture and Entomology, Volume 2022, Issue 02</i>  |
| Factor de impacto JCR: No indexado  |

www.kosmospublishers.com  
 contact@kosmospublishers.com  
 DOI: 10.37722/AAHAE.2022201

**Research Article    Advances in Agriculture, Horticulture and Entomology    AAHE-169**  
**ISSN 2690-1900**

### **Nutritional, Physiological, and Morphological Effects on Almond Trees Grown by Fertigation with the Nitrification Inhibitor 3, 4-Dimethylpyrazole-Succinic Acid**

Mario Ferrández-Cámara<sup>1</sup>, Juan J Martínez-Nicolás<sup>1</sup>, José M Cámara-Zapata<sup>1</sup>, Juan Carlos Fernández-Zapata<sup>1</sup>, Marina Alfosea-Simón<sup>2</sup>, Francisco García-Sánchez<sup>2\*</sup>

1 Centro de Investigación e Innovación Agroalimentaria and Agroambiental (CIAGRO-UMH), Miguel Hernández University, 03312 Orihuela, Spain

2 Centro de Edafología and Biología Aplicada del Segura, CEBAS-CSIC, 30100 Murcia, Spain

**Received Date:** April 12, 2022; **Accepted Date:** April 23, 2022; **Published Date:** May 11, 2022  
**\*Corresponding author:** Francisco García-Sánchez, Centro de Edafología and Biología Aplicada del Segura, CEBAS-CSIC, 30100 Murcia, Spain, Tel: +34-968-396200. Email: fgs@cebas.csic.es

#### **Abstract**

Nitrogen fertilization is key to improve crop yield. However, due to the harmful environmental effects of fertilizers, farmers and governments are searching agronomic practices that provide nutrients to the crops with minimal environmental impact, as for example the use of nitrification inhibitors. These compounds act on ammonium reducing its oxidation to nitrate, and soil's nitrogen remains longer in the form of ammonium helping prevent nitrate lixiviation. The

objective of the experiment was to evaluate the effect of a new nitrification inhibitor (DMPSA) in almond trees. We studied the effect of three solutions on vegetative growth, nutrition, and physiology on Alvijor almond plants irrigated with one of three possible study solutions i) 3:1 nitrate:ammonium rate solution ii) 1:1 nitrate:ammonium rate solution, or iii) 1:1 nitrate:ammonium rate solution plus a nitrification inhibitor (3,4-dimethylpyrazole-succinic acid). Plants were grown in a greenhouse in calcareous and alkaline soil from the Spanish Levante area. Macro and micronutrients were determined from drainage samples collected throughout the experiment. At the end of the experiment, gaseous exchange and chlorophyll fluorescence parameters were measured and plants harvested to analyse morphological characteristics (leaf, stem and root fresh and dry weight, aerial part rate, and trunk diameter) and N, P, K, Ca, and Mg content in the leaves.

We found higher levels of ammonium and lower nitrates in the roots and higher vegetative growth with the irrigation solution containing the nitrification inhibitor in comparison with treatment solutions 1:1 and 3:1. The drainage showed that NI reduces the level of nitrates in the leachate, limiting its discharge to the subsoil.

In conclusion, the nutrient solution with the nitrification inhibitor has a positive impact on Alvijor almond plants and the environment.

**Keywords:** Ammonium; Avijor almond variety; DMPSA; Irrigation nutrient solutions; Leaf analysis; Nitrate

## Introduction

Today's agriculture aims to produce quality foods while safeguarding the environment and natural resources, such as soil fertility. To accomplish this, products added to nourish the plants or improve soil characteristics must meet two key requirements: agronomic effectiveness and be harmless to the environment and health. Nitrogen (N) is a key nutrient in agriculture required in large quantities by croplands. However, its excessive use pollutes soils and marine environments, causing serious environmental problems [1]. Spain stands out in the use of national and international fertilizers. In the 2017-2018 business year, dealers sold around 1,075, 424, and 420 thousand tons of N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, and K<sub>2</sub>O fertilizer units, respectively, with the highest consumptions reported for the autonomous communities of Andalusia and Castile-Leon [2]. Ammonium nitrate and urea were among the leading products, with a sales volume of 729 and 694 thousand tons, respectively, in 2020 [3].

Plants take in N through the roots in the form of nitrate and/or ammonium. Depending on the crop and edaphic/climate conditions, plants absorb N more effectively from one or the other source. Inside the plant, ammonium reacts with glutamate to form glutamine, allowing the

assimilation of N. When the plant absorbs nitrate as the N source, a reduction of the nitrate occurs to ammonium in a previous step [4].

In agriculture, indiscriminate use of N fertilizers is increasing the release of nitrous oxide ( $N_2O$ ) to the atmosphere, which directly associates to climate change and creates eutrophication problems in many scenarios [5]. Furthermore, there is a relationship between nitrate and ammonium nitrification and volatilization processes with the addition of nitrogen inhibitors to the crops, influenced by environmental conditions, crop management, and type of soil.

In the process of nitrification, soil's nitrifying bacteria convert ammonium ( $NH_4^+$ ) to nitrate ( $NO_3^-$ ), with the consequent destructive effects to the soil due to nitrate lixiviation ( $NO_3^-$ ) and the emission of nitric oxide (NO) and  $N_2O$  to the atmosphere. These phenomena lower the effectiveness in the agricultural use of nitrogen fertilizers and has an impact on the atmosphere (greenhouse gases), aquifers, and seas, where huge amounts of nitrates end up. Because of this, it is often desirable to reduce nitrification in agricultural soils [6]. Nitrification inhibitors decrease the nitrification rate by slowing down the conversion of  $NH_4^+$  to  $NO_3^-$ , allowing plants to absorb N easier in the form of ammonium and avoid the energy expenditure needed by the plant to convert nitrate to ammonium, which can be destined to other physiological processes. Nitrification inhibitors (NIs) slowdown microbial conversion from ammonium-N to nitrate-N (nitrification), decreasing the loss due to nitrate lixiviation, which results in efficient use of fertilizers. Many synthetic NIs inhibit ammonia monooxygenase, an enzyme that uses ammonia as substrate in the conversion of ammonium to nitrate [7].

There is a range of nitrification inhibitors widely used in agriculture, including (1) 2-chloro-6-trichloromethyl pyridine (nitrapyrin), (2) dicyandiamide (DCD), and (3) 3,4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP). A new NI was recently developed, 3,4-dimethylpyrazole-succinic acid (DMPSA). The difference between DMPP and DMPSA is the succinic bond in the latter, which provides many advantages such as stability under basic conditions and the possibility of combining it with other fertilizers like calcium ammonium nitrate or diammonium hydrogen phosphate [8]. These compounds reduce nitrate lixiviation, emission of  $N_2O$ , and emission of NO in 48%, 44%, and 24%, respectively [9-11]. The effectiveness of fertilizers formulated with NIs rely on factors as the soil (pH and texture), irrigation management, and fertilization (irrigation and fertilization rate with N), temperature, as well as the formulation and chemical characteristics of the fertilizers [12-14].

Almonds are the most important nut crops among dry farming in areas with Mediterranean climate. This fruit tree requires little water and is adapted to adverse soil and climate conditions, occupying areas usually unsuitable for other fruit tree species. Current global production of shelled fruits is 3.5 Tg. World's top almond producing countries are the USA (over 50%), Spain (9%), Iran (5%), Turkey, and Australia (4%) [15]. To improve the economic performance of the farms, almond growers must establish technical advances: develop varieties that are more

productive, introduce irrigation and fertilization systems, improve mechanical harvesting, and increase plant density. Among these advances, fertigation using fertilizers with improved effectiveness regarding N use is providing good results. The aim of this study was to assess the effect of irrigating almond plants with a nutrient solution that includes a new nitrification inhibitor (DMPSA). We grew the plants in pots with soil and irrigated them by fertigation. We expect that the inhibition of ammonium to nitrate will ease plant N absorption and assimilation and reduce nitrate leachate.

## Materials and Methods

### *Growing conditions and plants*

This study was performed in a multi-tunnel greenhouse in the CEBAS experimental farm La Matanza located in the municipal area of Santomera (18 km from Murcia, Spain). A cooling system and aluminium shade cloth (30%) maintained the temperature under control. Mean daytime temperature and moisture were kept at 29 °C and 55%, respectively. Avijon almond trees (*Prunus dulcis* (Mill) D.A. Webb) were used, purchased from a commercial nursery (EF Viveros del Sureste S.L., Carretera de Granada, Km 10,5, 30412 Barranda, Caravaca de la Cruz, Murcia, Spain).

The Avijon variety almond plants were transplanted into 20-liter pots containing soil from Vega Baja del Segura (Orihuela, Comunidad Valenciana, Spain). This clay loam soil has a pH of 8.1 and electrical conductivity of 0.82 (mS cm<sup>-1</sup>). Concentrations of Cl<sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> anions, extracted in water, were 265.6, 1,029.7, <1.0, 368.2 (mg/Kg of soil), respectively. Concentrations of macro- and micronutrients, following digestion with HNO<sub>3</sub>:H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> was as follows (expressed as g/100 g of soil): Ca = 17.50, K = 0.78, Mg = 1.34, Na = 0.06, and P = 0.08. Once transplanted, the plants were irrigated according to their needs using water from the Tagus-Segura water transfer. For the irrigation, 4 L h<sup>-1</sup> self-compensating dripper system was used, with sufficient irrigation volume to produce drainage every time.

After a two-week acclimation period, the almond plants were separated into three groups, each irrigated with different nutrient solutions prepared with KNO<sub>3</sub>, Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, MgSO<sub>4</sub>, NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, (NH<sub>4</sub>)H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, micronutrients, and/or the nitrification inhibitor (DMPSA). N, P, K, and Ca at concentrations in the nutrient solutions were 5.18 mM, 0.6 mM, 2.6 mM, and 4 mM, respectively and differed in the NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> ratio and presence of the NI. Treatment solution 1) 1:1 nitrate/ammonium ratio, without the NI; Treatment solution 2) 3:1 ratio, without the NI; Treatment solution 3) 1:1 ratio plus the NI.

At the beginning, irrigation of the plants with the above-described nutrient solutions was done once a day for five minutes. Once adapted to greenhouse conditions, irrigation was increased to 10 minutes every day. The amount of added water aimed to obtain a minimum drainage of 15% of total irrigation volume every time. Irrigation frequency and volume were adjusted weekly

based on the drainage data collected from the recipients in the pots. By using computer-controlled irrigation network sectoring (tanks, pipes, electrovalves, pumps, and so on), irrigation of each treatment group was independent from each other. Plants were placed in four blocks, each of which had four almond plants per treatment randomly distributed, namely 16 almond plants per treatment.

### **Parameters analysed**

#### *Measurements of plant drainage*

Every four weeks, follow-up of the experiment was carried out. After irrigating, drainage samples were collected for each of the treatments using four containers per treatment. Next, the volume was measured and drainage samples stored to analyse cation, anion, and ammonium content.

#### *Measurement of chlorophyll content and trunk height and diameter*

On the day drainage samples were collected, chlorophyll content and trunk height and diameter were measured in all experimental plants. Fully developed leaves in all orientations were used to measure chlorophyll with a portable CI-01 chlorophyll content meter (Hansatech) (SPAD units). That device determines the relative content of chlorophyll using dual-wavelength optical absorbance (620 and 940 nm) from sample leaves. Heights were determined with a tape measure from the base of the pot to the higher cross of the plants. For trunk diameter measurements, a digital caliper (Digimatic, Mitutoyo CD-15D) with 0.1mm accuracy was used.

#### *Soil moisture and crop transpiration measurements*

Soil moisture measurements were obtained throughout the whole study using a TDR 100 (Time-Domain Reflectometer, Fieldscout) portable soil moisture (relative) meter. Loss of moisture from soil was measured in a control pot with no plant. Values are presented as percentage (%) of transpired water/hour.

#### *Gaseous exchange parameters*

Gaseous exchange parameters were measured on fully expanded and developed leaves between 8:30 and 11:00 am in all plants and for each of the treatments few days before harvesting them. A portable photosynthesis system was used (PP System Ciras-2, UK), adjusted to 1.200 mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> for photosynthetically active radiation light and 400 ppm CO<sub>2</sub> concentration in the measuring chamber. That device measured the net rate of photosynthetic CO<sub>2</sub> (A<sub>CO<sub>2</sub></sub>) assimilation and stomatal conductance (g<sub>s</sub>), and calculated water use efficiency (WUE = A<sub>CO<sub>2</sub></sub>/E<sub>leaf</sub>, where E<sub>leaf</sub> is the leaf transpiration value obtained in each measurement) and C<sub>i</sub>/C<sub>a</sub> relationship (C<sub>i</sub> and C<sub>a</sub> represent substomatal and external CO<sub>2</sub> concentrations, respectively).



*Chlorophyll fluorescence parameters*

Chlorophyll fluorescence was measured on the same plants used to determine gaseous exchange parameters with the aid of a portable FMS-2 pulse-modulated chlorophyll fluorometer (Hansatech Instruments Ltd., UK). The following chlorophyll fluorescence parameters were measured: quantum efficiency PSII ( $\Phi_{PSII} = (F_m' - F_s) / F_m'$ ), efficiency of PSII antennas ( $F_v'/F_m' = (F_m' - F_0')/F_m'$ ), and photochemical quenching coefficient ( $P_q = (F_m' - F_s)/(F_m' - F_0')$ ).  $F_s$  represents the steady state fluorescence yield.  $F_m'$  represents the maximum value when all reaction centres are closed after a saturating pulse of light ( $12,000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  for 0.8 s) was applied, and  $F_0'$  the minimal fluorescence in a light-adapted state obtained when the actinic light source is shut out temporarily and a pulse of far-red light (735 nm) applied to drain the PSII electrodes.

*Establishment of growth parameters*

After the experimental phase, the almond plants were harvested. Aerial parts (leaves and stems) and roots were weighted separately (expressed as grams of fresh weight per plant) with a Sartorius precision balance (Acculab, Gottingen, Alemania). Next, the tissues were washed with deionized water and placed in a drying oven at 60 °C for at least 48 hours. Once dry, the weight of the tissues was obtained (dry weight). Fresh and dry tissue samples were stored until further analysis. Water content (%) was determined using the following formula:

$$\text{Water content (\%)} = \left[ \frac{(\text{total fresh weight} - \text{total dry weight})}{\text{total fresh weight}} \right] \times 100$$

Water content indicates the level of water in a tissue, namely, the hydric condition of the plant.

*Analysis of minerals*

Determination of nutrient mineral concentrations (K, Mg, Ca, P, Mn, Zn, Fe, and B) was done from dry grounded leaves by inductively coupled plasma spectroscopy (ICP, Iris Intrepid II, Thermo Electron Corporation, Franklin, USA), prior digestion with  $\text{HNO}_3:\text{H}_2\text{O}_2$  (5:3 volume) in a microwave oven (CERM Mars Xpress, North Carolina, USA) with temperature rise slope reaching 200 °C. For total C and N, a C/N Thermo Finnigan elemental analyser was used (Milan, Italy). Additionally, anion concentration ( $\text{F}^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$  and  $\text{SO}_4^{2-}$ ) and ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) were determined in the drainage collected throughout the experimental period using the abovementioned spectrometer (ICP) and high-performance liquid chromatography.

### *Experimental design and statistical analysis*

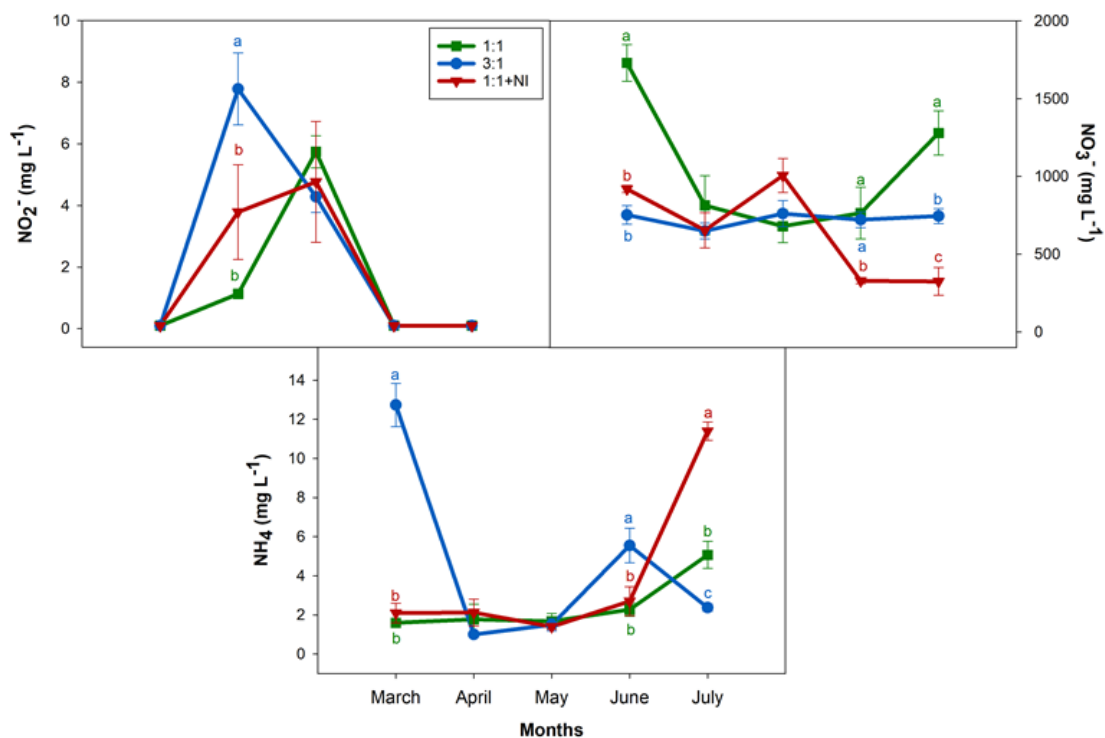
This is a unifactorial design experimental study based on three fertilization treatments. For the statistical analysis, analysis of variance (ANOVA) was first applied. For significant ANOVA, Duncan's test was used to determine specific differences between pairs of means. For each treatment, four experimental replicates were done with four plants per replica. Statistical analysis was carried out using the IBM SPSS statistics v24 software (Armonk, New York, United States).

## **Results**

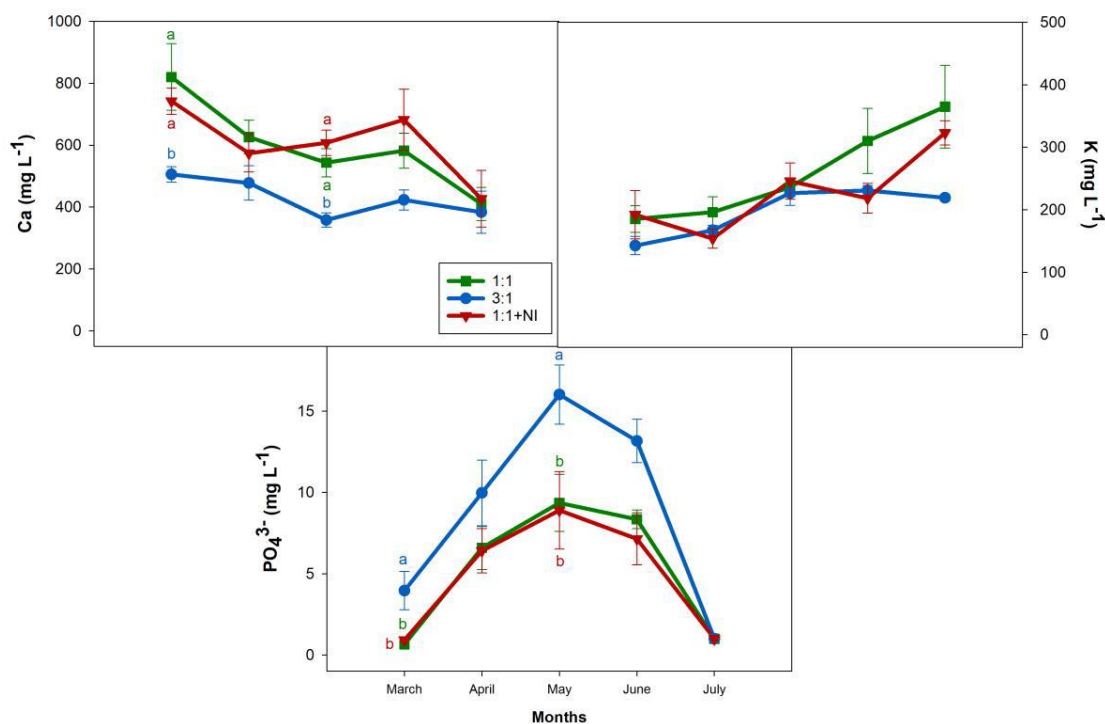
### *Concentration of nutrients in plant drainage*

We determined the mineral content of the drainage samples collected every month during the study. Figure 1 shows  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ , and  $\text{NH}_4^+$  concentrations. No clear evolution of nitrate was seen throughout the experiment. However, when we performed the analysis of the data using the means of all samples for each treatment, concentrations increased as follows:  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  ratio 1:1 (1,053 mg/L) > 3:1 (725 mg/L) > 1:1 + NI (646 mg/L). Differences in ammonium levels in the drainage were observed at the end of the experiment. Based on the treatment, significant increases were seen in the following order 1:1 + NI > 1:1 > 3:1 (Figure 1).

Figure 2 shows  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ , and  $\text{PO}_4^{3-}$  values per month and treatment. There was no clear trend throughout the experiment with regard to the sampling month, except for K and P, which increased as the experiment progressed, although decreases in P were detected from May on. Again, when the analysis was done with the means for all dates and treatment types, we observed higher  $\text{Ca}^{2+}$  (596 mg/L),  $\text{K}^+$  (258 mg/L), and  $\text{Mg}^{+2}$  (400 mg/L) concentrations in drainages from Treatment  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  ratio 1:1, although Ca and K were similar to those determined for Treatment 1:1 + NI ( $\text{Ca}^{+2} = 606$  mg/L;  $\text{K}^+ = 227$  mg/L).



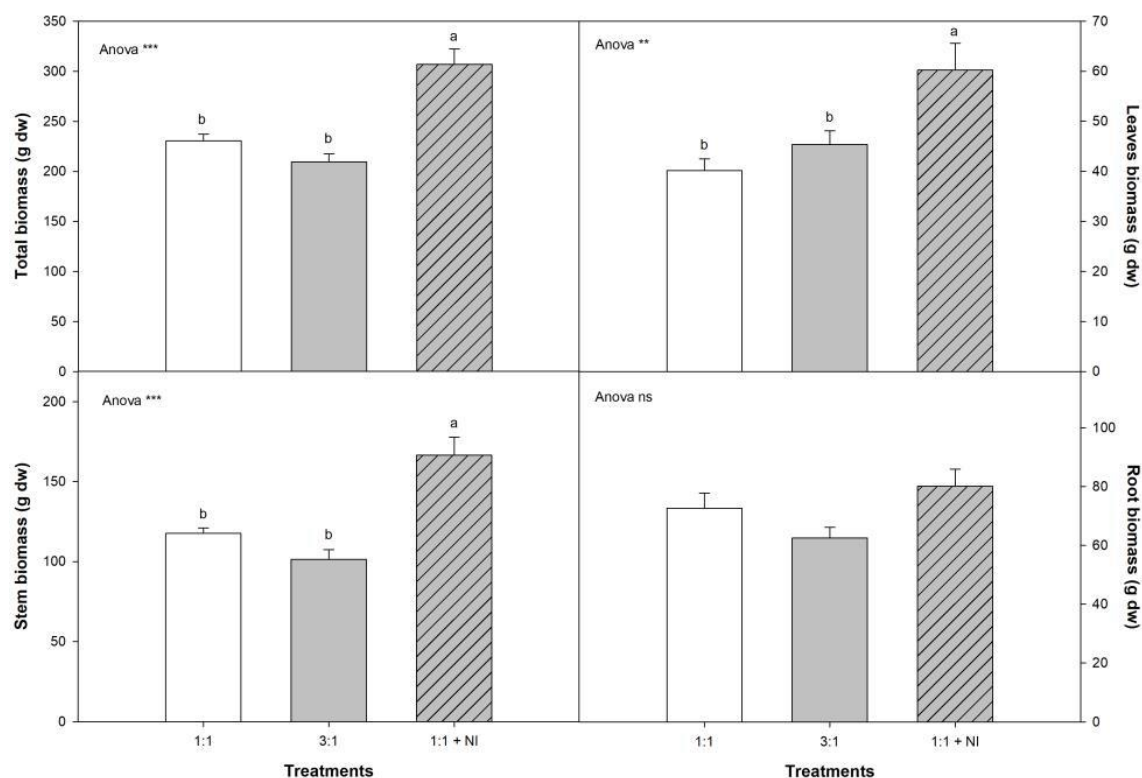
**Figure 1:** Plant drainage NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, and NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (mg L<sup>-1</sup>) levels in greenhouse-grown almond plants between March and July 2021. For significant ANOVA results, Duncan's test was performed; lowercase letters denote significant differences among the treatments for each sampling date. Vertical bars indicate the standard error of the mean (n=4).



**Figure 2:** Plant drainage Ca, K, and PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> (mg L<sup>-1</sup>) levels in greenhouse-grown almond plants between March and July 2021. For significant ANOVA results, Duncan's test was performed; lowercase letters denote significant differences among the treatments for each sampling date. Vertical bars indicate the standard error of the mean (n=4).

### Growth parameters

The tested treatments significantly affected vegetative growth regarding total biomass, and leaf and branch biomass; no effects were seen in almond plant roots (Figure 3). Highest total biomass for aerial parts was seen for plants treated with  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  ratio 1:1 + NI (DMPSA); this is because both leaf and branch biomasses were greater than that of plants irrigated with the other treatment solutions. In average, plants treated with 1:1 + NI increased total biomass in 25%, leaf biomass in 33%, and stem biomass in 29%. Significant inter-treatment differences were also found with 1:1 versus 3:1 solutions in total leaf biomass; vegetative growth was higher with the 1:1 treatment solution. Aerial part:root ratio significantly increased in plants irrigated with the 1:1 + NI solution in comparison with the other two treatments (Table 1).



**Figure 3:** Leaf, stem, and root dry weight and total biomass growth parameters for almond plants irrigated with one of three possible treatment solutions ( $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  ratio 1:1, 3:1, or 1:1 + NI)\*. In ANOVA: 'ns' indicates non-significant difference for a 95% confidence interval; \*\* and \*\*\* denote significant differences for  $P < 0.01$  and  $0.001$ , respectively. For each variable, lowercase letters denote significant differences between the treatments, established by Duncan's multiple range test ( $n = 4$ ).

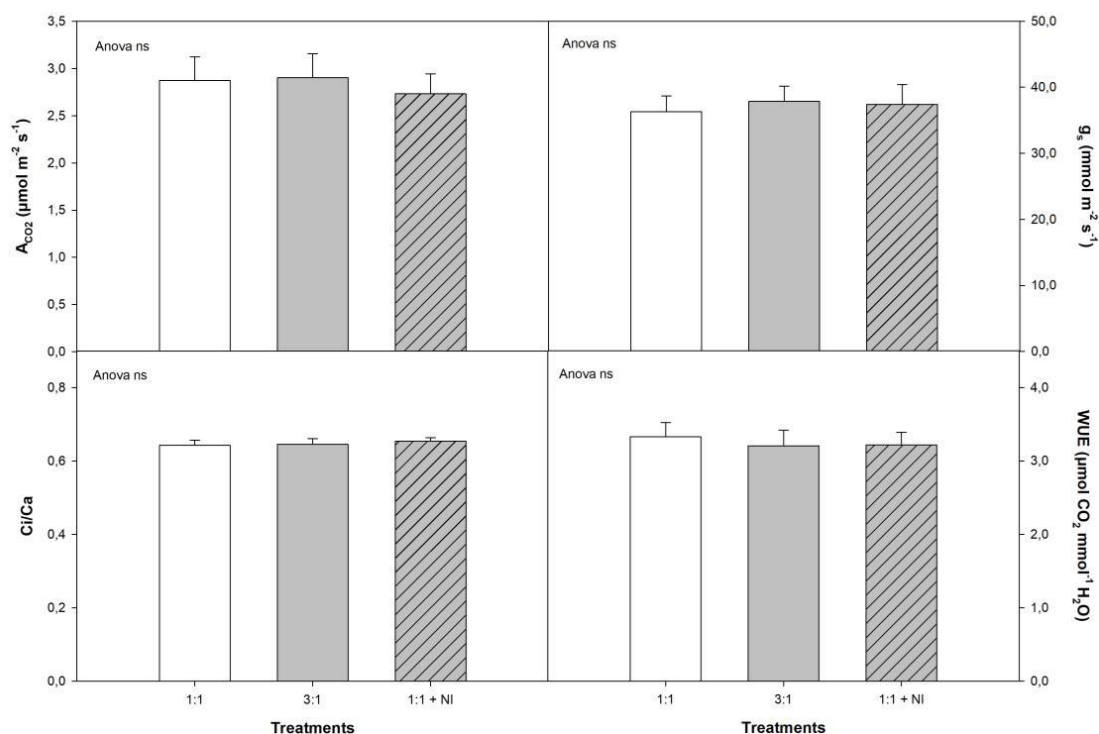
**Table 1:** Growth parameters (PA:R rate, height, and stem diameter) measured in greenhouse-grown Avijor almond plants irrigated with the one of three possible treatment solution ( $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  ratio 1:1, 3:1, or 1:1 + NI).

| Treatment                                    | PA:R ratio | Height (cm) | Stem diameter (mm) |
|--|------------|-------------|--------------------|
| $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ ratio 1:1      | 2.24 b     | 84.5        | 18.7               |
| $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ ratio 3:1      | 2.40 b     | 82.8        | 17.5               |
| $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ ratio 1:1 + NI | 2.89 a     | 76.6        | 17.9               |
| ANOVA  | *          | ns          | ns                 |

In ANOVA: 'ns' indicates a non-significant difference for a 95% confidence interval and \* significant differences for  $P < 0.05$ . For each variable, lowercase letters denote significant inter-treatment differences, established by Duncan's multiple range test ( $n = 4$ ).

#### Physiological parameters

No significant inter-treatment differences were observed for any of the parameters analysed. Mean values for  $A_{\text{CO}_2}$ ,  $g_s$ ,  $C_i$  and  $C_a$  were  $2.6 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ,  $41 \text{ mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , 0.64 (nondimensional), and 3.36 ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$ ), respectively. Regarding chlorophyll fluorescence SPAD,  $F_v'/F_m'$ ,  $P_q$ , and, PSII units were measured. No significant differences were found between the different treatments (ANOVA) (means of 0.78, 0.89, and 0.7 for  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  ratio 1:1, 3:1, and 1:1 + NI, respectively). SPAD units were higher with treatments solutions 3:1 and 1:1 + NI in comparison to treatment solution 1:1 (Figure 4, Table 2).



**Figure 4:** Gaseous exchange parameters: (1) Net rate of photosynthetic  $\text{CO}_2 = A_{\text{CO}_2}$  assimilation, 2) Stomatal conductance =  $g_s$ , 3) Substomatal and environmental  $\text{CO}_2$  relationship =  $C_i/C_a$ , and physiological water use efficiency =  $p\text{WUE}$ ), measured in greenhouse-grown plants cultivated with one of three possible treatment solutions ( $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  ratio 1:1, 3:1, or 1:1 + NI). In ANOVA: 'ns' indicates a non-significant difference for a 95% confidence interval; \* and \*\* denote significant differences for  $P < 0.05$  and 0.01, respectively. For each variable, lowercase letters denote significant inter-treatment differences, established by Duncan's multiple range test ( $n = 4$ ).

**Table 2:** Chlorophyll concentration (measured in mean leaves). Chlorophyll fluorescence parameters (1) Efficiency of the antennas =  $Fv'/Fm'$ , 2) photochemical quenching =  $Pq$ , and 3) PSII photochemical efficiency =  $\Phi_{PSII}$ , measured in greenhouse-grown plants treated with one of three possible treatment solutions ( $NO_3^-/NH_4^+$  ratio 1:1, 3:1, or 1:1 + NI).

| Treatment                             | Chl (SPAD) | $Fv'/Fm'$ | $Pq$      | $\Phi_{PSII}$ |
|---------------------------------------|------------|-----------|-----------|---------------|
| $NO_3^-/NH_4^+$ ratio <b>1:1</b>      | 31.1 a     | 0.779     | 0.911     | 0.710         |
| $NO_3^-/NH_4^+$ ratio <b>3:1</b>      | 36.0 b     | 0.780     | 0.891     | 0.695         |
| $NO_3^-/NH_4^+$ ratio <b>1:1 + NI</b> | 36.0 b     | 0.778     | 0.879     | 0.684         |
| <b>ANOVA</b>                          | *          | <i>ns</i> | <i>ns</i> | <i>ns</i>     |

In ANOVA: 'ns' indicates a significant difference for a 95% confidence interval (n= 4).

#### *Analysis of minerals in leaves and roots*

Regarding the nutritional status of the leaves, significant inter-treatment differences for K and N were found after five months of irrigation with the treatment solutions (Table 3). Highest accumulation of N and K was seen in the leaves of plants irrigated with treatment solution  $NO_3^-/NH_4^+$  ratio 1:1 + NI (N = 2.71 g 100 g<sup>-1</sup> of dry weight and K = 2.18 g 100 g<sup>-1</sup> of dry weight), although these values were non-significant for treatment solutions 3:1 and 1:1.

Significant differences were determined in Cu levels; in plants irrigated with treatment solution 3:1 the concentration of this micronutrient was higher in comparison with treatment solutions 1:1 and 1:1 + NI (Table 3). On the other hand, no significant inter-treatment differences were observed in the concentrations of root macro and micronutrients (Table 4), except for P and N, which were higher with treatment solution 3:1.

**Table 3:** Macronutrient (g 100 g<sup>-1</sup> dry weight) and micronutrient (ppm) concentrations in greenhouse-grown Avijor almond leaves irrigated with one of the three possible treatment solutions ( $NO_3^-/NH_4^+$  ratio 1:1, 3:1, or 1:1 + NI).

| <b>Macronutrients (g 100 g<sup>-1</sup> dry weight)</b> |           |        |           |           |           |        |           |
|---|-----------|--------|-----------|-----------|-----------|--------|-----------|
| Treatment   | Ca        | K      | Mg        | Na        | P         | N      | C         |
| $NO_3^-/NH_4^+$ ratio <b>1:1</b>                        | 1.60      | 2.11 a | 0.548     | 0.140     | 0.271     | 2.51 b | 43.8      |
| $NO_3^-/NH_4^+$ ratio <b>3:1</b>                        | 1.71      | 1.93 b | 0.565     | 0.138     | 0.295     | 2.68 a | 44.0      |
| $NO_3^-/NH_4^+$ ratio <b>1:1 + NI</b>                   | 1.66      | 2.18 a | 0.538     | 0.123     | 0.295     | 2.71 a | 43.9      |
| <b>ANOVA</b>  | <i>ns</i> | *      | <i>ns</i> | <i>ns</i> | <i>ns</i> | ***    | <i>ns</i> |
| <b>Micronutrients (ppm)</b>                             |           |        |           |           |           |        |           |
| Treatment   | B         | Cu     | Fe        | Mn        | Zn        |        |           |
| $NO_3^-/NH_4^+$ ratio <b>1:1</b>                        | 21.4      | 4.35 b | 53.5      | 71.4 b    | 17.4      |        |           |
| $NO_3^-/NH_4^+$ ratio <b>3:1</b>                        | 23.0      | 5.91 a | 56.1      | 80.3 a    | 19.4      |        |           |
| $NO_3^-/NH_4^+$ ratio <b>1:1 + NI</b>                   | 19.2      | 4.89 b | 51.5      | 84.8 a    | 20.6      |        |           |
| <b>ANOVA</b>  | <i>ns</i> | **     | <i>ns</i> | ***       | <i>ns</i> |        |           |

In ANOVA: 'ns' indicates a non-significant difference for a 95% confidence interval; \*, \*\*, and \*\*\* depict significant differences for  $P < 0.05$ , 0.01, and 0.001. For each variable, lowercase letters denote significant inter-treatment differences, established by Duncan's multiple range test (n= 4).

**Table 4:** Macronutrient (g 100 g<sup>-1</sup> dry weight) and micronutrients (ppm) concentrations in greenhouse-grown Avijor almond roots irrigated with one of the three possible treatment solutions (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> ratio 1:1, 3:1, or 1:1 + NI).

| Macronutrients (g 100 g <sup>-1</sup> dry weight)                         |           |           |           |           |           |        |           |
|---|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|--------|-----------|
| Treatment   | Ca        | K         | Mg        | Na        | P         | N      | C         |
| NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ratio 1:1      | 1.15      | 0.633     | 0.219     | 0.094     | 0.238 b   | 1.70 b | 47.0      |
| NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ratio 3:1      | 1.15      | 0.633     | 0.208     | 0.090     | 0.302 a   | 1.84 a | 46.5      |
| NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ratio 1:1 + NI | 1.06      | 0.629     | 0.201     | 0.092     | 0.268 b   | 1.71 b | 46.8      |
| <i>ANOVA</i>  | <i>ns</i> | <i>ns</i> | <i>ns</i> | <i>ns</i> | ***       | *      | <i>ns</i> |
| Micronutrients (ppm)  |           |           |           |           |           |        |           |
| Treatment   | B         | Cu        | Fe        | Mn        | Zn        |        |           |
| NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ratio 1:1      | 30.3      | 22.4      | 818.4     | 78.7      | 25.4      |        |           |
| NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ratio 3:1      | 32.1      | 25.1      | 781.4     | 93.4      | 30.7      |        |           |
| NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ratio 1:1 + NI | 28.2      | 23.8      | 732.5     | 84.1      | 27.6      |        |           |
| <i>ANOVA</i>  | <i>ns</i> | <i>ns</i> | <i>ns</i> | <i>ns</i> | <i>ns</i> |        |           |

In ANOVA: 'ns' indicates non-significant differences for a 95% confidence Interval.

## Discussion

In this study, we compare the physiological and vegetative behaviour of Avijor almond plants treated by fertigation with three nutrient solutions. The solutions have different NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> rate and include or not DMPSA. We conclude that this NI has beneficial effects on almond plants and the environment. Thus, introduce DMPSA in almond orchards may be a good strategy.

The analysis of drainage chemical composition shows NI reduces the level of nitrates in leachates, limiting their discharge into the environment. During the experiment, we irrigated the trees with 0.6 L of the nutrient solution and obtained 15% of drainage from that volume. Total drainage volume obtained during the four months of experimentation for each of the treatments was around 14.4 L. This implies that the amount of leached nitrate is 14.7 g, 10.44 g, and, 9.3 g for treatments solutions NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> ratio 1:1, 3:1, and, 1:1 + NI, respectively. Based on this estimate, this is, considering the irrigation supply of nitrates to the plant and nitrates leached in the drainage, we confirm the NI reduces nitrate lixiviation in 11% and 37% with standard 3:1 fertilization or with nutrient solutions without NI.

We used the same N concentration in the three treatment solutions tested (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> ratio 1:1, 3:1, and, 1:1 + NI) and ammonium concentration was similar in the case of treatment solutions 1:1 and 1:1 + NI. Based on this, our results seem to indicate less degradation of ammonium to nitrate with the presence of the NI, as shown by lower nitrate values for treatment solution 1:1 + NI in comparison with solutions 1:1 and 3:1, and higher levels of ammonium in plant irrigated with the 1:1 + NI solution. In an in vitro study, Cui and others incubated soil samples under different conditions [16]. The authors showed that the use of a combination of NIs nitrapyrin (CP) + 3,4-dimethylepyrazole phosphate (DMPP) or CP + dicyandiamide (DCD) on a soil similar to the one used in our experiments (high pH and low in organic matter), also reduced nitrate concentration and the nitrification rate, and increased ammonium content. However, for acid soils with high inorganic matter, the best NI combination was CP + DCD. These results

show that to have low nitrification rate using inhibitors, it is necessary to optimize their use considering the soil's characteristics. Besides soil's pH, soil organic matter and soil texture also affect the effectiveness and persistence of NIs [17-19]. Moreover, although in our study no measurements were taken of N<sub>2</sub>O emissions to the atmosphere, their reduction is another beneficial effect associated to the use of NIs in agriculture. Recio and others [20] observed that the use of the NI DMPSA reduced N<sub>2</sub>O emissions in 73% in a wheat crop.

Besides the environments benefits derived from the use of an NI, another positive effect is the stimulation of vegetative growth. Leaf and stem biomass is higher in plants treated with the NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> ratio 1:1 + NI solution (Figure 3) in comparison with plants treated with 1:1 and 3:1 solutions. The differences in vegetative growth are not due to differences in plant nutritional status or changes in ACO<sub>2</sub> or WUE physiological parameters, as we hardly observe inter-group differences in these variables (Figure 4). Ferrández and others established a range of normality for almond tree leaf N concentration of 1.84% to 2.63%. Thus, in our study, N values are within the range of normality -not a limiting factor-, same as for the rest of nutrients. For almond trees, higher concentrations of ammonium in the soil (1:1 + NI) may have favoured more efficient CO<sub>2</sub> assimilation by the plants in the form of biomass, with the consequent stimulation of vegetative growth, which may explain inter-treatment differences. For the rest of the treatments, the respiration rate of the plants may have increased, thus losing effectiveness for incorporating CO<sub>2</sub> to their biomass. Moreover, plants treated with solution 1:1 + NI absorb the highest amounts on N from the soil, confirmed by highest leaf N concentration (mg/kg) and leaf and stem biomass. Thus, treatment solution 1:1 + NI proved to be the most efficient when it comes to plant N absorption. Its effectiveness in comparison with the other two tested solutions may be due to ammonium absorption by the roots and its assimilation to glutamine without previous conversion from nitrate to ammonium [4].

As in horticultural plants, some tree species prefer nitrate to ammonium, while the contrary occurs in other species. In a study by Yan and Ma [21], the authors found that *Cunninghamia lanceolata* prefers NO<sub>3</sub><sup>-</sup> over NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, while *Pinus massoniana* and *Schima superb* prefer NH<sub>4</sub><sup>+</sup> a NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Studies on the preferences of agronomic crops by nitrate of ammonium, will be of help towards effectively managing N fertilization and use of NIs, regarding both crop performance and environmental issues. A meta-analysis by Yan and others [22] revealed increased growth in all seed plants with NH<sub>4</sub><sup>+</sup> than with NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, and that this positive effects mainly occur in trees and forbs but not in grass, which responded marginally less to NH<sub>4</sub><sup>+</sup> than to nitrate.

To the best of our knowledge, to date no studies have analysed the preferences of almond trees for nitrate or ammonium. Further studies should confirm our findings.



## Conclusions

DMPSA applied by fertigation has several beneficial effects, such as lower lixiviation to the environment and greater vegetative growth of Avijon almond plants. Further works should clarify the effect nitrate:ammonium rate has on plant physiology and the mechanism of action of NIs in soils when designing nitrogen fertilization programs to avoid nitrate lixiviation and benefit the crops.

## Acknowledgements

CEBAS and UMH researchers would like to express their gratitude to EuroChem Agro Iberia for funding this study, as well as for the supply of the fertilizers and the NI DMPSA.

## References

1. Rütting T, Aronsson H, Delin S (2018) Efficient use of nitrogen in agriculture. *Nutr Cycl Agroecosyst*, 110:1-5.
2. ANFFE. Asociación Nacional de Fabricantes de Fertilizantes (2022) Información sectorial. Evolución del consumo. Madrid Spain.
3. MAPA (2021).
4. Hachiya T, Sakakibara H (2017) Interactions between nitrate and ammonium in their uptake, allocation, assimilation, and signaling in plants. *Journal of Experimental Botany*, 68, Issue 10, 1 May 2017:2501-2512.
5. Kanter DR (2018) Nitrogen pollution: a key building block for addressing climate change. *Climatic Change*, 147:11-21.
6. Norton J, Ouyang Y (2019) Controls and Adaptive Management of Nitrification in Agricultural Soils. *Frontiers in Microbiology*, 10.
7. McCarty GW (1999) Modes of action of nitrification inhibitors. *Biol. Fertil. Soils*, 29:1-9.
8. Huérfano X, Fuertes T, Fernández K, Estavillo JM, González C, et al. (2016) The new nitrification inhibitor 3,4-dimethylpyrazole succinic (DMPSA) as an alternative to DMPP for reducing N<sub>2</sub>O emissions from wheat crops under humid Mediterranean conditions. *European Journal of Agronomy*, 80:78-87.
9. Burzaco JP, Ciampitti IA, Vyn TJ (2014) Nitrapyrin impacts on maize yield and nitrogen use efficiency with spring-applied nitrogen: field studies vs. meta-analysis comparison. *Agron. J*, 106:753-760.
10. Qiao CL, Liu LL, Hu SJ, Compton JE, Greaver TL, et al. (2015) How inhibiting nitrification affects nitrogen cycle and reduces environmental impacts of anthropogenic nitrogen input. *Glob. Change Biol*, 21:1249-1257.
11. Thapa R, Chatterjee A, Awale R, McGranahan DA, Daigh A (2016) Effect of enhanced efficiency fertilizers on nitrous oxide emissions and crop yields: a meta-analysis. *Soil Sci. Soc. Am. J*, 80:1121-1134.
12. Abalos D, Jeffery S, Sanz-Cobena A, Guardia G, Vallejo A (2014) Meta-analysis of the effect of urease and nitrification inhibitors on crop productivity and nitrogen use efficiency. *Agric. Ecosyst. Environ*, 189:136-144.

13. Menéndez S, Barrena I, Setien I, González-Murua C, Estavillo JM (2012) Efficiency of nitrification inhibitor DMPP to reduce nitrous oxide emissions under different temperature and moisture conditions. *Soil Biol. Biochem*, 53:82-89.
14. Guardia G, Cangani MT, Sanz-Cobena A, Junior JL, Vallejo A (2017) Management of pig manure to mitigate NO and yield-scaled N<sub>2</sub>O emissions in an irrigated mediterranean crop. *Agric. Ecosyst. Environ*, 238:55-66.
15. FAO. Food and Agriculture Organization. (2021) Data on agricultural production.
16. Cui L, Li D, Wu Z, Xue Y, Xiao F, et al. (2021) Effects of Nitrification Inhibitors on Soil Nitrification and Ammonia Volatilization in Three Soils with Different pH. *Agronomy*, 11:1674.
17. Lu YF, Zhang XN, Jiang JF, Kronzucker HJ, Shen WS, et al. (2019) Effects of the biological nitrification inhibitor 1,9-decanediol on nitrification and ammonia oxidizers in three agricultural soils. *Soil Biol. Biochem*, 129:48-59.
18. Zhou ZF, Zhang ZY, Wang MX, Liu YM, Dai JS (2018) Effect of the nitrification inhibitor (3,4-dimethylpyrazole phosphate) on the activities and abundances of ammonia-oxidizers and denitrifiers in a phenanthrene polluted and waterlogged soil. *Ecotox. Environ. Safe*, 161:474-481.
19. Li YY, Chapman SJ, Nicol GW, Yao HY (2018) Nitrification and nitrifiers in acidic soils. *Soil Biol. Biochem*, 116:290-301.
20. Recio J, Álvarez JM, Rodríguez M, Vallejo A (2019) Nitrification inhibitor DMPSA mitigated N<sub>2</sub>O emission and promoted NO sink in rainfed wheat. *Environmental Pollution*, 245:199-207.
21. Yan X, Ma X (2021) Responses of root morphology and seedling growth in three tree species to heterogeneous supplies of ammonium and nitrate. *Forest Ecology and Management*, 479.
22. Yan L, Xu X, Xia J (2019) Different impacts of external ammonium and nitrate addition on plant growth in terrestrial ecosystems: A meta-analysis. *Sci Total Environ*. 686:1010-1018.

**Citation:** *García-Sánchez F, Ferrández-Cámara M, Martínez-Nicolás J J, Cámara-Zapata J M, Fernández-Zapata J C, et al. (2022) Nutritional, Physiological, and Morphological Effects on Almond Trees Grown by Fertigation with the Nitrification Inhibitor 3, 4-Dimethylpyrazole-Succinic Acid. Adv Agri Horti and Ento: AAHE-169.*

## **10. AGRADECIMIENTOS**

---

## **10. AGRADECIMIENTOS**

A cuantas personas han participado.

A mis directores Juan José Martínez y Francisco García.

A mi familia.

A mis padres.

A Miguel Giménez Montesinos.



