



**ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE ORIHUELA**

**DPTO. AGROQUÍMICA Y MEDIO AMBIENTE**

**TESIS DOCTORAL**

**GESTIÓN Y MANEJO DEL SISTEMA VITIVINÍCOLA  
MEDITERRÁNEO. ESTRATEGIAS PARA LA REDUCCIÓN  
DE LA EMISIÓN DE GASES DE EFECTO INVERNADERO Y  
ADAPTACIÓN DE LA VIÑA AL CAMBIO CLIMÁTICO**





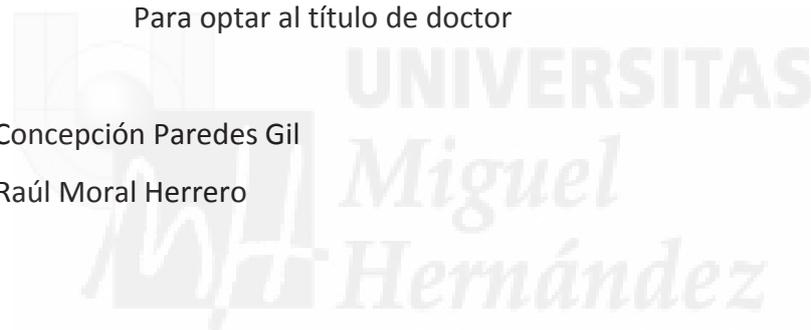
**Gestión y manejo del sistema vitivinícola mediterráneo. Estrategias para la reducción de la emisión de gases de efecto invernadero y adaptación de la viña al cambio climático**

Tesis presentada por: Antonio José Marín Martínez

Para optar al título de doctor

Directores: Concepción Paredes Gil

Raúl Moral Herrero





**Dr. Ignacio Gómez Lucas**, Director del Departamento de Agroquímica y Medio Ambiente de la Universidad Miguel Hernández de Elche,

CERTIFICA

Que la Tesis Doctoral titulada **“Gestión y manejo del sistema vitivinícola mediterráneo. Estrategias para la reducción de la emisión de gases de efecto invernadero y adaptación de la viña al cambio climático”**, presentada por **D. Antonio José Marín Martínez**, ha sido realizada en el Departamento de Agroquímica y Medio Ambiente de la Universidad Miguel Hernández de Elche.

El presente ejemplar ha sido revisado por el profesor que certifica

Fdo. Dr. Ignacio Gómez Lucas

Profesor Titular de Edafología y Química Agrícola

Elche, Diciembre de 2015



Esta memoria ha sido presentada por **D. Antonio José Marín Martínez**, Ingeniero Agrónomo, para optar al grado de Doctor por la Universidad Miguel Hernández de Elche.

Fdo. Antonio José Martín Martínez

Esta Tesis Doctoral ha sido dirigida por la Dra. Concepción Paredes Gil y el Dr. Raúl Moral Herrero, ambos pertenecientes al Departamento de Agroquímica y Medio Ambiente de la Universidad Miguel Hernández de Elche.



Dra. Concepción Paredes Gil  
Profesora Titular de Edafología y  
Química Agrícola de la Universidad  
Miguel Hernández de Elche

Dra. Raúl Moral Herrero  
Profesor Catedrático de Universidad  
Área de Edafología y Química  
Agrícola de la Universidad Miguel  
Hernández de Elche

Elche, Diciembre de 2015



## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar agradecer a mis directores de tesis, el Dr. Raúl Moral Herrero, por su ayuda y gestión durante el desarrollo de este trabajo y la Dra. Concepción Paredes Gil, de quien he aprendido mucho, que con mucho esfuerzo y paciencia hemos conseguido recoger los frutos de tanto trabajo, que siempre ha estado ayudando y animando para conseguir mis objetivos y sin ninguna duda, si volviera a empezar otra tesis, volvería a confiar en ella para que la dirigiera, muchas gracias!

También agradecer a todos los profesores del departamento y en especial a la Dra. María Dolores Pérez y la Dra. Aurelia Pérez que durante estos años me han ayudado en todas las ocasiones que he necesitado. Al Dr. Enrique Agulló por salvarme de grandes catástrofes y su ayuda en el campo y la Dra. Maria de los Ángeles Bustamante, por enseñarme sus trucos, técnicas, consejos, experiencia, ayuda en el laboratorio, en el campo y sus horas de psicología gratuita.

A Adrián, Angélica y Justin por su ayuda en durante el desarrollo de este trabajo.

Durante estos años de tesis, he aprendido mucho y me llevo muy buenas experiencias y amigos, pero sin duda, dos técnicos de la universidad, cuya amistad no tiene precio, que con su gran ayuda y sabios consejos me han animado en todo momento. Con personas así da gusto trabajar, muchas gracias Jose Joaquín y Marisol.

Quiero dar las gracias a la Dra. Maria Pilar Bernal, investigadora del CEBAS-CSIC y Jose Tovar por ayudarme y permitirme realizar los análisis de las muestras en su laboratorio. A André por los buenos momentos que hemos pasado y lo que hemos compartido durante este viaje. Al Dr. Antonio Vallejo de la UPM, por sus consejos y lo bien que se ha portado conmigo en todo momento. Al Dr. Alberto Sanz Cobena por su asesoramiento experimental y facilitarnos el análisis de gases en sus instalaciones.

Por otro lado, también agradecer al Dr. R.Chadwick por darme la oportunidad de pasar unos meses en el Environment Centre of Wales y a Kara por su paciencia durante esos meses, en los que aprendí mucho. Así como a todos los que hicieron de aquello una gran experiencia (Cristina, Laura, Antonio, Nico, Álvaro y Maria).

A mis amigos de toda la vida, por los buenos momentos que me hacéis pasar y los que quedan por venir.

A Marinieves, por animarme siempre y su infinita ayuda.

Agradecer a toda mi familia, especialmente a mi padre y mi hermanica. A Alba, Alex, Pepe jr, Pepe y María por los buenos momentos que hemos pasado.

Por último y no por ello menos importante, darle las gracias a Cristina que siempre me haces ver el lado positivo de las cosas, por tus infinitas horas de terapia, por aguantarme y quererme tal como soy, por tu apoyo incondicional, por creer en mi cuando ni yo creo, porque siempre estás ahí, gracias!

Muchas gracias a todos.





*A Ana y Cristina*





UNIVERSITAS

*Miguel*

*Hernández*

ÍNDICE



<b>1. OBJETIVOS Y SÍNTESIS</b>	<b>3</b>
<b>2. INTRODUCCIÓN</b>	<b>7</b>
2.1 El papel de la agricultura en el cambio climático	7
2.2 Suelo como recurso natural	10
2.3 Erosión y desertificación en los suelos	11
2.4 Materia orgánica en el suelo	13
2.4.1 Constituyentes de la materia orgánica en el suelo	13
2.4.2 Proceso e importancia de la materia orgánica en el suelo	15
2.5 El sector vitivinícola	17
2.5.1 Situación del sector vitivinícola	17
2.5.2 Sistema productivo y niveles de consumo y emisión	18
2.5.3 Características de los residuos y subproductos generados de forma directa e indirecta por la industria vitivinícola	20
2.5.4 Gestión y tratamiento de los residuos asociados a la industria vitivinícola	24
2.6 Compostaje	26
2.6.1 Definición, etapas y condiciones del proceso de compostaje	26
2.6.2 Sistemas de compostaje	29
2.6.3 Compostaje de los residuos asociados a la industria vitivinícola	31
2.7 Calidad de la uva	34
<b>3. EXPERIMENTO 1. Estudio de la zona vitivinícola del Vinalopó Medio en el Sureste mediterráneo</b>	<b>43</b>
3.1 Objetivos del experimento	45
3.2 Material y métodos	47
3.3 Resultados y discusión	52
3.4 Conclusiones del experimento	70

<b>4. EXPERIMENTO 2. Dinámica del carbono y nitrógeno de diferentes enmiendas aplicadas en suelos vitivinícolas del sureste mediterráneo</b>	<b>75</b>
4.1 Objetivos del experimento	77
4.2 Material y métodos	79
4.3 Resultados y discusión	94
4.4 Conclusiones del experimento	117
<b>5. EXPERIMENTO 3. Efecto de las enmiendas orgánicas en la calidad de las uvas de las variedades Monastrell y Cabernet Sauvignon del sureste mediterráneo</b>	<b>121</b>
5.1 Objetivos del experimento	123
5.2 Material y métodos	125
5.3 Resultados y discusión	128
5.4 Conclusiones del experimento	146
<b>6. EXPERIMENTO 4. Influencia de diferentes estrategias de manejo agrícola en la emisión de gases de efecto invernadero y en el potencial de secuestro de carbono en sistemas vitivinícolas del sureste mediterráneo</b>	<b>151</b>
6.1 Objetivos del experimento	153
6.2 Material y métodos	155
6.3 Resultados y discusión	160
6.4 Conclusiones del experimento	181
<b>7. CONCLUSIONES GENERALES</b>	<b>185</b>
<b>8. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>189</b>
<b>9. ANEXO DE MÉTODOS ANALÍTICOS</b>	<b>211</b>



## 1. OBJETIVOS GENERALES Y SÍNTESIS



## 1. OBJETIVOS GENERALES Y SÍNTESIS

El sector vitivinícola español es uno de los más importantes a nivel internacional, debido a la gran extensión de terreno dedicada al cultivo de la vid y a su alta producción de vino. Gran parte de este sector se concentra en la zona mediterránea, donde se encuentra el sureste español. Los suelos de esta zona se caracterizan por ser deficientes en materia orgánica, esto los hace vulnerables frente a la degradación y pérdida de suelo. De esta manera, la aplicación de residuos orgánicos al suelo, puede ralentizar la degradación de dichos suelos y aumentar el contenido de materia orgánica. Al mismo tiempo la calidad de la uva que ofrecen las vendimias está estrechamente relacionada con la calidad del vino elaborado a partir de las mismas, por este motivo la viticultura tiende a obtener la materia prima de la mejor calidad posible. La calidad de la uva está marcada por factores intrínsecos, como son la variedad, el suelo, el manejo y los factores climáticos.

Por otro lado, el cambio climático es uno de los principales retos que se plantean a medio y largo plazo la mayor parte de los países para alcanzar un desarrollo sostenible. La producción agrícola contribuye de forma directa e indirecta a las emisiones de gases de efecto invernadero, a través de los cambios de uso del suelo, la producción de fertilizantes, pesticidas, maquinaria y uso energético en las explotaciones. Sin embargo, este sector también puede actuar como sumidero si utilizamos estrategias y manejos agrícolas adecuados.

En función de estos antecedentes, los objetivos generales de este estudio son los siguientes:

- ✓ *Caracterizar los suelos del Vinalopó Medio en la Denominación de Origen de Alicante, con el fin de conocer su idoneidad y comprobar el potencial vitivinícola para el cultivo de la vid, identificando posibles carencias y necesidades para conseguir adaptar el manejo de los sistemas vitivinícolas a los suelos de la zona.*
- ✓ *Evaluar los efectos que tienen las diferentes enmiendas orgánicas aplicadas sobre los sistemas vitivinícolas, estudiando la interacción de variables como fertilización orgánica o sin fertilización, sistema de riego por goteo o secano, conducción de la planta en vaso o espaldera y dos variedades de uva (autóctona: Monastrell e importada: Cabernet Sauvignon). Con el fin de determinar las condiciones de cultivo de la vid que conlleven una mejora de la fertilidad del suelo.*
- ✓ *Evaluar las condiciones de cultivo que conlleven una mayor producción de uva y calidad de la misma.*

- ✓ *Evaluar el potencial del sistema vitivinícola mediterráneo para almacenar carbono a corto y medio plazo y cuantificar la emisión de gases de efecto invernadero en los diferentes escenarios de manejo agrícola estudiados (fertilización orgánica o sin fertilización; sistema de riego y de conducción de la planta y variedad de uva).*

Para la consecución de estos objetivos se caracterizaron un gran número de suelos vitivinícolas de la zona del Vinalopó Medio, seleccionando tres parcelas para desarrollar el resto de objetivos. Las parcelas seleccionadas contaban con sistema de conducción en vaso y espaldera y dos variedades de uva tinta. Se añadieron tres tipos de enmiendas orgánicas, un compost de residuos vitivinícolas, un compost comercial de estiércol de oveja-cabra y un estiércol de oveja-cabra, con el fin de evaluar su comportamiento en el sistema vitivinícola en cuanto a la mejora en la fertilidad del suelo, la producción y calidad de la uva en dos ciclos de cultivo. Al mismo tiempo, se estudió y cuantificó en el suelo y en la biomasa aérea del viñedo el almacenamiento de carbono y la emisión de gases de efecto invernadero en los diferentes escenarios de manejo agrícola estudiados.

Los resultados obtenidos mostraron que en los suelos estudiados de la comarca del Vinalopó-Medio existe una disposición adecuada para el cultivo de la vid, siendo necesaria la aplicación de materia orgánica y la fertilización del suelo con sales de hierro para tener las condiciones apropiadas para este cultivo. La aplicación de enmiendas orgánicas, ricas en hierro, mejoraron la fertilidad del suelo y aumentaron la producción de uva. Sin embargo la calidad de la uva estuvo más influenciada por el sistema de conducción y la variedad, así como por las condiciones climáticas de ambas campañas. En general, la calidad de la uva fue mayor en la parcela con sistema de conducción en vaso que en espaldera, mientras que la producción de uva fue mayor en la parcela con la variedad importada (Cabernet Sauvignon) en espaldera. Las altas temperaturas y la sequía del segundo año de estudio redujeron la producción de uva en todas las parcelas y la calidad de la uva en la parcela de secano, donde estas condiciones fueron más extremas. Finalmente, se observó que con un adecuado manejo agrícola de los sistemas vitivinícolas estudiados se puede aumentar el carbono acumulado en el suelo y fijado en el cultivo de la vid, consiguiéndose también por otro lado, que las emisiones de los gases efecto invernadero generados de forma directa por la actividad agrícola de estos sistemas sean menores.



UNIVERSITAS

*Miguel  
Hernández*

## 2. INTRODUCCIÓN



## **2. INTRODUCCIÓN**

### **2.1 El papel de la agricultura en el cambio climático**

El cambio climático es uno de los principales retos ambientales que se plantean a medio y largo plazo la mayor parte de los países para alcanzar un desarrollo sostenible. En el último siglo, las actividades humanas y el creciente uso de energías fósiles han alterado el ciclo del carbono, creando lo que se conoce como “efecto invernadero”

El “efecto invernadero” se debe a que parte de la energía calorífica emitida por la corteza terrestre es retenida-reflejada por determinados gases que forman parte de la atmósfera, impidiendo que se produzca un enfriamiento progresivo de la Tierra.

Las concentraciones de dióxido de carbono han aumentado en un 40% desde la era preindustrial debido, en primer lugar, a las emisiones derivadas de los combustibles fósiles y, en segundo lugar, a las emisiones netas derivadas del cambio de uso del suelo. Por otro lado, los océanos han absorbido alrededor del 30% del dióxido de carbono antropógeno emitido, provocando su acidificación (IPCC, 2014)

Las concentraciones atmosféricas de los gases de efecto invernadero, como son, el dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), el metano (CH<sub>4</sub>) y el óxido nitroso (N<sub>2</sub>O), han aumentado desde 1750 debido a la actividad humana. En 2011, las concentraciones de CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> y N<sub>2</sub>O eran de 391 ppm, 1.803 ppb y 324 ppb, respectivamente, valores que excedían los niveles preindustriales en aproximadamente el 40%, el 150% y el 20%, respectivamente (IPCC, 2014).

De todos estos gases el CO<sub>2</sub> cobra especial importancia debido a que es un gas de larga permanencia, es decir, permanece activo en la atmósfera durante mucho tiempo. Así, del CO<sub>2</sub> emitido, un 50 % tardará en desaparecer de la atmósfera 30 años, un 30 % permanecerá varios siglos y el 20 % restante durante varios millares de años (Solomon y col., 2007)

La producción agrícola mundial contribuye directamente en un 12% de las emisiones de gases de efecto invernadero e indirectamente, a través de los cambios de uso del suelo, aproximadamente un 10%. Así mismo, el sector agrícola es el responsable indirecto de otras emisiones atribuidas al sector industrial y energético a través de la producción de fertilizantes, pesticidas, maquinaria y uso energético en las explotaciones. En consecuencia la agricultura es uno de las mayores fuentes de CO<sub>2</sub> (Houghtony col., 1999; Smith, 2004), pero esta fuente se podría transformar en un sumidero si utilizamos unas estrategias y manejo adecuado (Lal, 2004a, Lal, 2004b, Six y col., 2004, Six y Paustian, 2014).

Los ecosistemas agrícolas cubren un área de  $15,3 \times 10^8$  ha, jugando un importante papel en el balance de carbono (Lal, 2004a, Lal, 2004b, Piao y col., 2009; Song y col., 2013a). La agricultura puede lograr importantes beneficios ambientales mitigando los efectos del calentamiento global (Monterroso y col., 2004), debido a la captura de  $\text{CO}_2$  atmosférico por las plantas mediante la fotosíntesis. Así, la diferencia entre la cantidad de carbono que fija la planta y el emitido por la respiración vegetal y microbiana, representa el balance neto de carbono que ocurre en el ecosistema agrícola (Álvarez, 2006). Esta diferencia es convertida en biomasa y suele oscilar entre el 45-50% del peso seco en planta (Brady y Weil, 2004). Por lo tanto, mientras el crecimiento sea alto, la vegetación natural y los cultivos agrícolas se convierten en sumideros de carbono.

La planta presenta un modelo de almacenamiento de carbono que sigue el ciclo de los cultivos, así el  $\text{CO}_2$  retirado de la atmósfera gracias a la fotosíntesis se mantiene a lo largo de décadas, incluso siglos. Cuando acaba la vida útil de un árbol frutal, este se sustituye por un árbol joven y se inicia un nuevo ciclo de almacenamiento y captura de  $\text{CO}_2$  y, por tanto el almacenamiento neto se mantiene constante. El  $\text{CO}_2$  capturado por la planta se puede dividir en dos ciclos, ciclo corto y ciclo medio. El ciclo corto comprende la cosecha, hojas y restos de podas y se comporta como reservorio temporal de ciclos de un año. Este reservorio temporal tiene un importante papel en las políticas de mitigación del cambio climático, ya que la fijación por la planta y la consecuente retirada de  $\text{CO}_2$  se mantiene constante durante décadas. El ciclo medio supone la captura de  $\text{CO}_2$  en la estructura permanente, raíces, tronco y ramas principales y que depende de la vida media del árbol agrícola. No considerar la capacidad de reservorio de carbono de algunas de las partes del vegetal perjudicaría al sector agrícola (Jumilla y col., 2010).

Por otra parte, también se debe de tener en cuenta el carbono secuestrado en los ecosistemas, siendo éste el carbono estable incorporado al suelo. La acumulación de carbono en el suelo es un proceso más lento que la acumulación de biomasa, pero la estabilidad del carbono en el suelo es mayor. Por lo tanto, la capacidad del suelo para almacenar carbono es importante debido al material vegetal acumulado en descomposición o el aporte exógeno de materia orgánica, pasando a denominarse carbono del humus, formado por la acción degradativa de los microorganismos. La poda de los árboles y las hojas caducas pueden contar como pérdida de carbono del cultivo si se retiran de la plantación o se queman, mientras que, si la poda se descompone naturalmente en el suelo, se convierte en un medio eficaz de inmovilización de  $\text{CO}_2$  a largo plazo (Lal, 1997). Sin embargo, después de agregar los residuos vegetales a la tierra, la mayor parte del carbono vuelve a la atmósfera en forma de  $\text{CO}_2$  y entre una quinta y una tercera parte del mismo permanece en el suelo ya sea como biomasa viva o

como el humus del suelo (Brady y Weil, 2004). Existen mecanismos físico-químicos y de alteración bioquímica que pueden proteger y estabilizar la materia orgánica, aumentando su tiempo de permanencia en el suelo (Wattel-Koekkoek y col., 2003). La protección físico-química de la materia orgánica ocurre vía formación de agregados, oclusión en poros inaccesibles a los microorganismos o formación de complejos entre los compuestos orgánicos y los minerales del suelo u otras moléculas orgánicas (Six y col., 2002). La estabilización bioquímica se produce a través de la alteración de los compuestos orgánicos a formas químicas más resistentes producidas durante el proceso de humificación (sustancias húmicas) (Fernández y col., 2009). De este modo, la materia orgánica sufre procesos de mineralización y estabilización, alcanzándose un estado de equilibrio entre la entrada y pérdida de la misma en el suelo.

De esta manera, esa materia orgánica del suelo no sólo contribuye notoriamente a la fertilidad del suelo, sino que también tiene un papel importante en el secuestro de carbono (IPCC, 1990). Por tanto las técnicas de reducción de impacto climático en los sistemas agrícolas se centran en el aumento del contenido de carbono orgánico en la biomasa vegetal y del suelo, mediante la optimización del riego, abonado, fertilización o laboreo para conseguir mayor cantidad de carbono retenido en sus formas más estables (Vallejo y col., 2005). Además, el carbono en suelos agrícolas neutros o básicos también puede ser retenido en su forma inorgánica como carbonatos. Estos carbonatos pueden formarse a partir del CO<sub>2</sub> dando como resultados materiales que pueden almacenar permanentemente las fracciones activas del carbono durante largos periodos, contribuyendo a mitigar el calentamiento global (Lackner, 2002). Teniendo esto en cuenta, la agricultura se puede convertir en un mecanismo efectivo para mitigar el incremento del CO<sub>2</sub> atmosférico actuando como sumidero de carbono. De hecho, los suelos de regiones semiáridas, como el área mediterránea, presentan un potencial de secuestro de carbono orgánico en el suelo estimado en 200 kg C ha<sup>-1</sup>año<sup>-1</sup> (Lal, 2009).

Lal (2004) propone una serie de medidas para promover el secuestro de carbono en suelos, que pueden hacer de estos auténticos sumideros de carbono. Entre estas medidas propuestas encontramos:

- Restauración de suelos degradados
- Desarrollo de agricultura sostenible
- Uso de variedades y especies acordes con las condiciones climáticas de cada zona
- Un manejo adecuado de los cultivos de cobertura

Por lo tanto, un uso adecuado de las enmiendas orgánicas podría recuperar los suelos degradados y frenar el calentamiento global.

## 2.2 Suelo como recurso natural

El estudio de la calidad de un suelo se puede abordar con diferentes enfoques ya sea atendiendo a las propiedades intrínsecas del suelo (observadas, inferidas o bien calculadas por medio de funciones de edafotransferencia); o bien atendiendo a la aptitud del suelo para realizar determinadas funciones, ya que la calidad de un suelo no puede contemplarse separadamente de la clase de uso del territorio. Sin embargo, el suelo es mucho más que la mera suma de sus componentes individuales y constituye un recurso vivo, dinámico y no renovable a escala de tiempo humano, capaz de desarrollar funciones indispensables para su propio mantenimiento y conservación, así como para el desarrollo de las actividades socioeconómicas del ser humano. Un suelo puede tener una calidad elevada para una forma de uso y baja para otra; y la forma de manejar el suelo tiene un potencial para mejorar el suelo y el aprovechamiento del agua. (Porta, 2014)

El USDA Soil Quality Institute define la calidad de un suelo como: “lo bien que hace un suelo lo que se quiere que haga”. Un suelo de calidad es aquel que promueve la productividad sin deteriorarse, tiene capacidad de amortiguación de contaminantes ambientales y patógenos, y que favorece la salud de las plantas, animales y las personas.

Un complejo y amplio rango de características físicas, químicas y biológicas, así como unos flujos de materia y energía característicos, hacen del suelo una unidad ecosistémica completa, que conlleva un aumento en la dificultad de la definición de calidad de suelo (Richards, 1987).

Entre los elementos de calidad de un suelo relacionados con las propiedades intrínsecas clave, que sirven de indicadores de la potencialidad de dicho suelo para desarrollar determinadas funciones, cabe destacar:

- La estructura
- Mantenimiento de pH (acidez y capacidad de amortiguación, en relación con las propiedades del suelo y la biodisponibilidad de nutrientes y de elementos fitotóxicos)
- Contenido de nitrógeno (disponibilidad para los cultivos, eficiencia en el uso y transferencia difusa a otros compartimentos ambientales)

- Contenido de fósforo (biodisponibilidad y transferencia difusa a otros compartimentos ambientales)
- Nivel de materia orgánica (atributo clave, factores de control y cantidad potencialmente almacenable en el suelo, secuestro de carbono)
- Diversidad microbiana (efectos sobre la salud del suelo y biología molecular); compactación de los horizontes superficiales (impacto sobre las funciones del suelo y prevención)

Los indicadores de calidad de un suelo sirven para caracterizar una propiedad del suelo relacionada con alguna o varias funciones del mismo. La propiedad considerada resultará útil si es sensible a cambios que se producen en el uso del suelo, en las técnicas de manejo y a cambios climáticos y antropogénicos (Shukla y col., 2006). Así, una inadecuada gestión de los suelos rompen el equilibrio que sostiene la calidad del suelo en el ecosistema ocasionando problemas medioambientales y la degradación del suelo (Lal, 2001).

El establecimiento de indicadores de calidad en los suelos no resulta fácil. El uso de estos constituye una buena base para poder comparar los efectos de la gestión de los suelos o del territorio, a corto y largo plazo, permitiendo evaluar los beneficios de las inversiones realizadas o de la política de incentivos para la puesta en práctica de la protección y sostenibilidad de los suelos frente a los problemas que existen en la actualidad que son, entre otros, la pérdida de materia orgánica y reducción de fertilidad, aumento de la erosión, compactación, salinización, deslizamiento de tierras, sellado, pérdida de la biodiversidad y contaminación (COM, 2006).

La reducción de la calidad del suelo generalmente va unida a la reducción del contenido de materia orgánica en el suelo, que conlleva un descenso en la fertilidad. La disminución de la calidad de suelo incrementa el riesgo de degradación, lo cual se agrava en las regiones Mediterráneas debido a las duras condiciones climáticas que gobiernan estas áreas (Albadalejo y col., 1988; Celik, 2005) conduciendo a la desertificación. Debido a esto, es crucial proteger, restaurar y mantener la calidad de los suelos, especialmente en suelos con tendencia a la degradación.

### **2.3 Erosión y desertificación en los suelos.**

Las tierras áridas cubre un 47% de la superficie terrestre (Lal, 2009). A parte de estas, existen tierras semiáridas, que son las asociadas a una baja precipitación, altas temperaturas altas y elevada evapotranspiración, estos suelos cuentan con una baja actividad biológica, escasa cobertura vegetal y un bajo contenido de materia orgánica. Este tipo de suelos se caracteriza

por la acumulación de carbonato cálcico y en ocasiones acumulación de sales solubles (Dick-Peddie, 1991).

Las características de estos suelos muestran su fragilidad ante los procesos de degradación y erosión. Además, las prácticas inadecuadas en los usos de suelo conducen a la degradación del mismo, incluyendo en este contexto las prácticas llevadas a cabo en la agricultura tradicional o intensiva (Lal, 2001).

Entre las prácticas agrícolas que implican una degradación del suelo se encuentran las siguientes (Porta, 2003):

- Roturaciones, transformaciones en regadío, agricultura intensiva, quema de rastrojos y explotaciones ganaderas.
- Compactación del suelo por el uso de maquinaria agrícola e inadecuado uso del suelo.
- Demanda o exceso de nutrientes. La demanda de nutrientes aparece al producirse una competencia entre microorganismos y nutrientes, derivada de la hiperactividad microbiana debida a la adición de materia orgánica poco estabilizada. El exceso de N y P conlleva problemas de eutrofización de aguas superficiales o de contaminación por nitratos en aguas subterráneas.
- Salinización del suelo, por acumulación de sales solubles presentes en la composición de los residuos, principalmente aniones tipo cloruros y sulfatos y cationes monovalentes (Na).
- La eliminación de la vegetación autóctona para implantación de cultivos, acelerada en los años 40 y 50 y posteriormente el abandono de tierras poco productivas, ha ocasionado la exposición de éstas al grave problema de la erosión. El abandono de suelos agrícolas provoca en estos una pérdida de su calidad biológica y bioquímica, determinada mediante el análisis de una serie de parámetros bioindicadores del nivel de degradación (García Izquierdo y col., 1998).
- El uso de plaguicidas y fertilizantes químicos, indispensables para la práctica agrícola actual, produce efectos no sólo por transmisión de productos más o menos tóxicos a la cadena alimentaria humana, sino por el empobrecimiento paulatino del suelo al ir perdiéndose los microorganismos que aseguran su composición y sus nutrientes naturales (MOPT, 1992).

Por otra parte, en las zonas mediterráneas existen una serie de factores naturales que intervienen en la degradación del suelo, tales como (López-Bermúdez y Albadalejo, 1990):

- Clima: con lluvias torrenciales que causan erosión severa, así como una media anual de temperatura entorno a los 18º C, que favorece la evapotranspiración y el riesgo de salinización.
- Sustrato litológico: rocas carbonatadas, sedimentos cuaternarios y formaciones margas predominan en el sureste de España. Estas características provocan que la erosión de los suelos sea más fácil.
- Cobertura vegetal: La escasa cobertura vegetal de la zona mediterránea favorece la degradación del suelo y promueve la pérdida de suelo y materia orgánica por las intensas lluvias que recoge la zona.
- Topografía: la elevada pendiente y la característica orografía de la zona favorece la pérdida de suelo y la intensidad dependerá del resto de factores anteriores citados.

En las áreas mediterráneas existe una baja calidad en los suelos, con escasos aportes de materia orgánica. El contenido de carbono orgánico en suelos mediterráneos ha sido estimado por debajo del 2% (Zdruli y col., 2004). Por ello resulta de gran importancia determinar y mejorar el estado de nuestros suelos, siendo el aumento del nivel de materia orgánica de estos uno de los principales factores a tener en cuenta para la recuperación de los ecosistemas.

La conservación de suelos se centra en toda una serie de estrategias encaminadas a mantener integro el perfil edáfico en una ubicación concreta, reduciendo en la medida de lo posible todos los procesos de erosión y transporte horizontal y vertical de componentes. De forma indirecta la conservación de suelos se centra en el mantenimiento y mejora de las propiedades, funciones y capacidad productiva del suelo.

Como se ha comentado anteriormente, una de los principales efectos de la materia orgánica en el suelo es la mejora de las propiedades, funciones y fertilidad de éste.

## **2.4 Materia orgánica en el suelo**

### **2.4.1 Constituyentes de la materia orgánica en el suelo**

Los suelos se forman, por lo general, a partir de materiales originarios sin materia orgánica. La materia orgánica fresca procedente de las plantas, animales y microorganismos y sus productos de alteración son los que permiten explicar, principalmente, la presencia de materia orgánica en los suelos, cuyo contenido aumenta considerablemente en las etapas iniciales de formación del suelo. Se podría pensar que en condiciones naturales, y si hay un aporte continuado de restos orgánicos al suelo, año tras año, el contenido de materia orgánica del suelo, que parte de cero y aumenta rápidamente al principio, lo haría de forma indefinida.

Se ha observado que no es así, se alcanza una meseta en el contenido de carbono orgánico al cabo de cierto número de años, y el tiempo para lograr esta estabilización varía de unos meses a otros y define la duración ecológica del proceso de acumulación de materia orgánica. El estadio de equilibrio dinámico al que se llegue dependerá de las condiciones ecológicas del medio, que son las que determinan la tasa de aporte y de mineralización.

Carballas (2010) define la materia orgánica del suelo como una mezcla de restos vegetales, animales y microbianos con sus productos de su descomposición, que incluye sustancias húmicas de síntesis y millones de organismos vivos: mesofauna y microfauna y microorganismos que, junto con las enzimas, son responsables de innumerables procesos bioquímicos y biológicos que tienen lugar en el suelo y determinan su funcionamiento.

La materia orgánica del suelo se puede clasificar en diferentes tipos, atendiendo a su grado de evolución, pudiéndose distinguir:

*Materia orgánica fresca* (materia orgánica no humificada), la cual constituye la materia prima para la formación de sustancias húmicas y está constituida por biomasa vegetal, siendo la mayoría de esta necromasa, que constituye materia orgánica no alterada, como hojas y ramas (Gobat y col., 2003). Y por otro lado, se encuentra la biomasa microbiana del suelo que se encuentra presente en forma de tejidos microbianos vivos, generalmente asociados a la rizosfera. Los componentes principales que encontramos en la materia orgánica del suelo son los hidratos de carbono, compuestos nitrogenados, lignina, lípidos, ceras, resinas, taninos, hormonas, enzimas, alcoholes, aldehídos, acetonas y ácidos orgánicos de bajo peso molecular. Estos componentes son difíciles de biodegradar y se acumulan pasando a formar parte del humus, en forma de sustancias húmicas heredadas resistentes a la degradación (Porta, 2014).

*Materia orgánica humificada*, es una fracción orgánica coloidal, de coloración más o menos oscura, que establece uniones fuertes con los minerales de la arcilla y los óxidos de hierro (Duchaufour, 2001). En el humus en sentido amplio coexisten sustancias húmicas, que constituyen el componente más significativo de la materia orgánica y se presentan en forma de macromoléculas muy complejas y por otro lado las sustancias no húmicas que son componentes orgánicos del suelo heredados o ligeramente transformados y presentan una composición bioquímica identificable (Porta, 2014).

Las sustancias húmicas contribuyen de forma trascendental al desarrollo de las funciones del suelo, debido a su colaboración en la formación de su estructura, su participación

en el control de contaminantes y su papel como reservorio en los ciclos biogeoquímicos de C, N y otros elementos (Piccolo, 2002).

#### **2.4.2 Proceso e importancia de la materia orgánica en el suelo.**

A pesar de que la materia orgánica es un componente minoritario en la mayoría de suelos, la elevada reactividad que presentan los componentes orgánicos que la integran, junto con su elevada superficie específica, hace que tenga una gran importancia en la productividad del suelo, en sus funciones medioambientales y los servicios que presta. La mayor parte de las funciones del suelo vienen condicionadas por la naturaleza y cantidad de materia orgánica que contenga, así la materia orgánica condiciona las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo. La disminución del contenido de ésta en el suelo va asociado a una degradación del suelo y es uno de los indicadores que determina la calidad del suelo (Mondini y col., 2008)

Cabe diferenciar cuatro procesos fundamentales en la evolución de la materia orgánica que actúan en paralelo en un mismo suelo, lo que explica la coexistencia de productos resultantes muy diversos. Según Porta (2014), encontramos la fragmentación que consiste en la división progresiva de fragmentos, provocada por la mesofauna del suelo, la descomposición que se caracteriza por los procesos catabólicos microbianos, que depende de la actividad biológica de cada suelo, la mineralización que consiste en la oxidación biológica del carbono orgánico transformándolo en CO<sub>2</sub> y la conversión de las formas orgánicas de nitrógeno, fósforo y azufre en formas inorgánicas que proporcionarán la energía necesaria para el crecimiento y desarrollo bacteriano. Se puede diferenciar una mineralización rápida de la materia orgánica recientemente incorporada, y una mineralización lenta, que tiene lugar a largo plazo y afecta al humus que, a pesar de considerarse estable, no se acumula indefinidamente en el suelo, sino que a la larga se acaba transformando en CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O. Por último la humificación comprende todas las transformaciones biológicas y químicas de los materiales orgánicos presentes en el suelo para dar lugar a la formación de las sustancias húmicas, cuya mineralización será más lenta debido a su complejidad y a los enlaces que forman con los componentes minerales (arcillas y óxidos, fundamentalmente). En esta última etapa se pueden diferenciar tres clases de procesos de humificación fundamentales como la humificación por herencia, por policondensación y por neorfomación microbiana.

La presencia de materia orgánica en el suelo es imprescindible para mantener y mejorar las propiedades del sistema suelo-planta, siendo su contenido un factor esencial para la fertilidad del mismo. La cantidad y calidad de la materia orgánica que contiene un suelo afecta

directamente las funciones del suelo. La aplicación de residuos orgánicos del suelo produce una serie de efectos sobre sus propiedades que mejoran su fertilidad global (tabla 2.1).

Por todo ello, se puede afirmar que la materia orgánica constituye un indicador importante de la calidad del suelo y de su productividad (Larson y Pierce, 1994).

La adición de residuos orgánicos mejora las propiedades físicas y químicas (Zerbarth y col., 1999; Roldan y col., 1994; Díaz y col., 1994) lo cual reduce las pérdidas de suelo y nutrientes por lixiviación. Además, la aplicación de residuos orgánicos va acompañada de una activación de la actividad microbiana (Pascual y col., 1999) que utilizan las enmiendas orgánicas como fuente de carbono. La incorporación de estos provoca un incremento en la fertilidad del suelo, restaura los suelos degradados y promueve el secuestro de carbono en el suelo, en especial en suelo con poco contenido en materia orgánica, como son los suelos áridos y semiáridos que tienen una gran capacidad para incorporar altos contenidos de material orgánico (Lal., 2009).

Sin embargo, la aplicación de enmiendas orgánicas puede tener efectos negativos si no se realiza adecuadamente. Los residuos orgánicos pueden contener altos contenidos en metales pesados, sales, exceso de nutrientes, así como sustancias tóxicas y patógenos que pueden provocar problemas medioambientales y para la salud humana.

De esta manera, si la aplicación es elevada puede provocar una alta actividad de microorganismos que degraden grandes cantidades de materia orgánica y sean desperdiciados los nutrientes para la planta. Así, un aporte de enmienda orgánica en exceso puede provocar exceso de nitratos y fosforo que sean perdidos por lixiviación provocando la contaminación de aguas subterráneas. Por otro lado, dosis bajas han demostrado tener una baja eficiencia respecto a las propiedades físicas del suelo (Díaz y col., 1994), mientras que las altas dosis sin demuestran ser efectivas para la restauración de suelos (Navas y col., 1999; Rostagno y Sosebee, 2001; García-Orenes y col., 2005; Bastida y col., 2008). En el caso de las zonas semiáridas del mediterráneo, las altas temperaturas favorecen la mineralización, pero la baja disponibilidad de agua restringe la actividad microbiológica del suelo. Debido a esto, una alta dosis de aplicación de enmiendas orgánicas, ha sido llevada a cabo con éxito en la recuperación de suelos mediterráneos (Bastida y col., 2007; 2008).

**Tabla 2.1.** Los efectos más destacados de la materia orgánica en el suelo  
 (Porta, 2003).

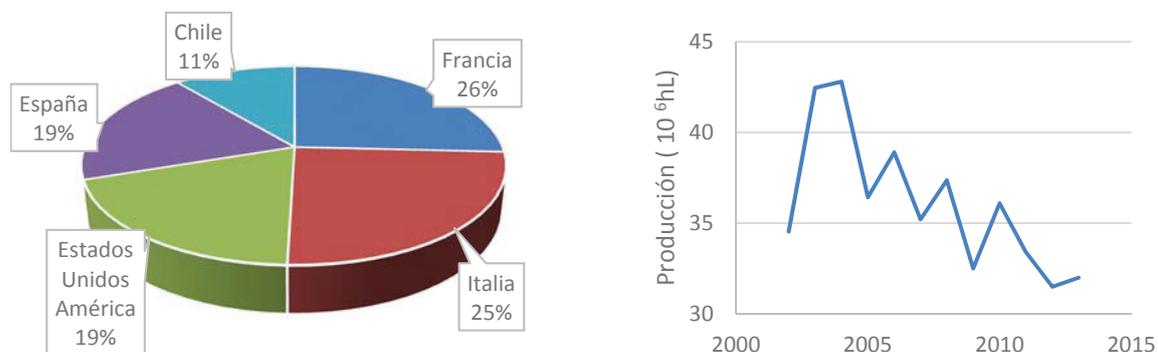
Propiedades del suelo	Efectos de la materia orgánica humificada
<b>Físicas</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Estructuración (formación y estabilidad de agregados)</li> <li>• Sellado y encostramiento de la superficie del suelo</li> <li>• Porosidad y aireación</li> <li>• Movimiento de agua en el suelo</li> <li>• Capacidad de retención de agua disponible para las plantas</li> <li>• Facilidad de laboreo</li> <li>• Oscurecimiento de la superficie del suelo</li> <li>• Prevención de procesos erosivos</li> </ul>
<b>Químicas</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aumenta el poder tampón</li> <li>• Regula el pH</li> <li>• Aumenta la capacidad de intercambio catiónico</li> <li>• Mantiene los cationes de forma asimilable</li> <li>• Forma quelatos y fosfohumatos</li> <li>• Mantiene las reservas de nitrógeno</li> <li>• Interacciones con xenobióticos</li> <li>• Papel depurador frente a vertidos, al regular la movilidad y la biodisponibilidad de productos potencialmente tóxicos.</li> </ul>
<b>Microbiológicas</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Constituye una reserva de energía metabólica, por las grandes cantidades de carbono y nutrientes</li> <li>• Interviene en la formación del suelo</li> <li>• Fuente de macronutrientes y micronutrientes</li> <li>• Estimula e inhibe la actividad enzimática según los casos</li> <li>• Contiene reguladores del crecimiento de las plantas</li> <li>• Efectos antibióticos contra algunos patógenos</li> <li>• Contribuye a la resiliencia de los ecosistemas, al disminuir o inhibir los efectos de las perturbaciones ambientales, y de este modo acelera su recuperación</li> </ul>
<b>Interacciones</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Define los tipos ecológicos de humus y procesos edafogénicos derivados</li> <li>• Aumenta y permite definir la calidad de un suelo</li> <li>• Mejora la capacidad de los suelos para soportar la producción de alimentos y biomasa, por su incidencia sobre la fertilidad química, al almacenar nutrientes y hacerlos más disponibles para las plantas y sobre la fertilidad física</li> <li>• Componente clave en la sostenibilidad/sustentabilidad de los ecosistemas agrícolas</li> <li>• Secuestro de carbono en suelos</li> <li>• Condiciona el funcionamiento biogeoquímico de los ecosistemas</li> </ul>

## 2.5 El Sector vitivinícola.

### 2.5.1 Situación del sector vitivinícola

El sector de la elaboración de vino en España ostenta una posición destacada en el contexto mundial (Figura 2.1a). España es el tercer productor del mundo junto con EEUU y después de Francia e Italia (FAO, 2015). En el año 2013, en España se elaboraron 2,7 millones de hectolitros menos que en el año 2010, lo que supuso una reducción del 7,5% (Figura 2.1b). Si se tienen en cuenta las estadísticas de producción desde el año 2002 hasta el 2013, se aprecia un

aumento de la producción durante los años 2003-2004 para posteriormente producirse un progresivo decrecimiento de producción en el sector y un ligero aumento de 0,5 millones de hectolitros en 2013 respecto a 2012. La media mundial para ese mismo periodo fue de un aumento de la producción de un 4,6% (FAO, 2015).



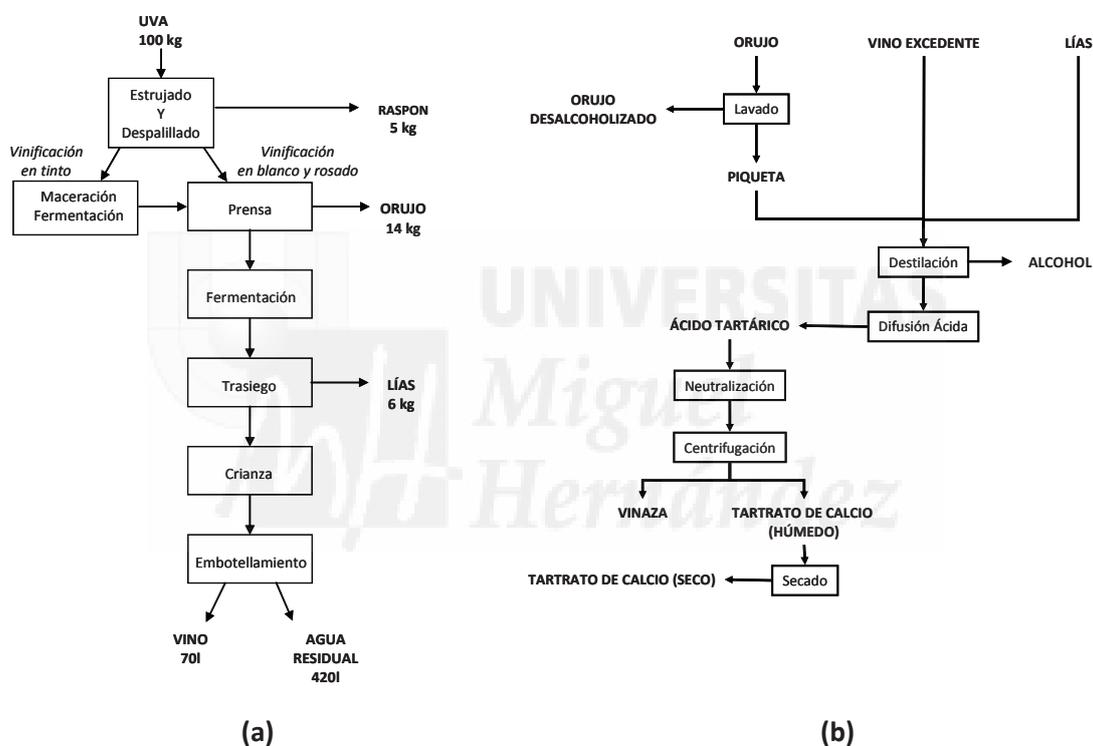
**Figura 2.1:** (a) Producción mundial media de vino durante el año 2013; (b) Evolución de la producción de vino en España en el periodo 2002-2013 (FAO, 2015)

### 2.5.2 Sistema productivo y niveles de consumo y emisión

La producción de vino genera grandes cantidades de residuos sólidos y líquidos tales como, raspón, orujo, lías y aguas residuales (Figuras 2.3a y 2.3b). El raspón está constituido por el pedúnculo o tronco principal del racimo, escobajo o estructura soporte de los granos de uva y pedicelo o unión del grano con el escobajo. El orujo contiene el hollejo o piel de los granos de uva, la pulpa y las semillas de los mismos. Las lías están compuestas por los componentes del vino que sedimentan después de la fermentación, las cuales no sólo se componen de levaduras vivas o muertas y otros microorganismos, sino también de una amplia serie de otras sustancias como albúmina, pigmentos, tartrato de calcio y bitartrato de potasio, así como componentes de la pulpa de la uva. Las aguas residuales resultan del agua empleada en operaciones tales como: acondicionamiento del fruto y limpieza de los equipos empleados en la recepción de la vendimia, en la vinificación, en los trasiegos y en los filtrados. Estos efluentes contienen dos categorías principales de contaminantes: por un lado, las materias primas y los productos acabados como raspones, semillas, pulpas, mostos, fangos, lías o incluso vinos arrastrados durante los diversos lavados o durante derrames accidentales y por otro, los productos utilizados para las operaciones de encolado, las filtraciones o para la limpieza y la eliminación de tartrato de las cubas (Vogt y col., 1986; Torrijos y Moletta, 2000). En el año 2013, España produjo aproximadamente unos  $32 \times 10^6$  hectolitros de vino (FAO, 2015) lo que generó unos 228.571 t

de raspón, 640.000 t de orujo, 274.286 t de lías y  $19,2 \times 10^6 \text{ m}^3$  de aguas residuales (FAO, 2015; Bustamante, 2007).

A esta gran generación de residuos se une los problemas de almacenamiento de los mismos debido a que tienen un marcado carácter estacional que está ligado a la actividad de las bodegas (septiembre-noviembre). Los orujos y las lías deben de ser considerados como subproductos, ya que tienen cierto valor económico y son utilizados por otras industrias para su destilación. Este destino de los subproductos de la vinificación está regulado por el Real Decreto 1079/2014, de 19 de diciembre, el cual aplica a la legislación española el Reglamento (UE) Nº 1308/2013.



**Figura 2.3:** (a) Esquemas simplificado de los productos que se obtienen en la elaboración del vino y (b) en la extracción del alcohol y de tartratos de los residuos vinícolas que se realiza en alcoholera (Bustamante, 2007)

En las alcoholeras se extraerán el alcohol y el tartrato que contienen los orujos, las lías y el vino de excedentes generándose un residuo sólido, el orujo desalcoholizado, y un residuo líquido, la vinaza (Figura 2.3). No se han encontrado datos de producción de estos residuos, estando solamente referenciadas las cantidades de orujos y de lías que se destilan. Es de destacar que el año 2000 se destilaron en España aproximadamente unas 480.000 toneladas de orujo y 220.000 toneladas de lías (MAPA, 2000), con lo cual la generación de residuos cabe esperar que sea alta.

### **2.5.3 Características de los residuos y subproductos generados de forma directa e indirecta por la industria vitivinícola**

#### **Residuos líquidos**

Los efluentes de bodega se caracterizan por su alto contenido en materia orgánica (DQO: 738-296.119 mg O<sub>2</sub>/L y DBO<sub>5</sub>: 125-130.000 mg O<sub>2</sub>/L), la cual está esencialmente en forma soluble (Tabla 2.2). Esta materia orgánica en su mayoría es muy biodegradable, aunque se tiene una presencia de polifenoles en cantidad variable (29-474 mg/L) cuya descomposición puede ser más difícil. También contienen materias en suspensión (sólidos en suspensión: 226-30.300 mg/L), el pH es normalmente ácido con valores puntualmente básicos durante las operaciones de limpieza con productos alcalinos, la conductividad eléctrica es menor a la de otros vertidos de industrias agroalimentarias (Paredes y col., 1999; Brito, 2008), salvo en vertidos directos del lavado de botellas, donde el NaOH empleado para la limpieza aumenta muchísimo el valor de este parámetro (Torrijos y Moletta, 2000). Además, este residuo líquido presenta concentraciones variables de nitrógeno y fósforo y presencia de micronutrientes y metales pesados.

En cuanto al residuo líquido generado en las alcoholeras, la vinaza, este efluente al igual que las aguas residuales de bodega destaca por su alto contenido en materia orgánica (DQO: 11.815- 111.520 mg O<sub>2</sub>/L y DBO<sub>5</sub>: 4.767–32.500 mg O<sub>2</sub>/L), la cual se encuentra en gran cantidad como materia estable en suspensión (sólidos en suspensión: 32–49.767 mg/L), el pH es ácido y presenta contenidos más altos de nitrógeno que las aguas residuales de bodega posiblemente debido a la presencia de lías desalcoholizadas en este residuo, las cuales contienen materia orgánica rica en N (Bustamante y col., 2005) (Tabla 2.3). También posee altos contenidos de potasio y de calcio, probablemente procedentes de la liberación del potasio del bitartrato de potasio que contienen los orujos y las lías durante la difusión ácida y del CaCO<sub>3</sub> empleado en la neutralización de las aguas tartáricas para la obtención del tartrato de calcio, respectivamente (Bustamante y col., 2005).

**Tabla 2.2:** Principales características de las aguas residuales de bodega y de la vinaza (Bustamante y col., 2005)

	Agua residual de bodega			Vinaza		
	Media	Intervalo	CV	Media	Intervalo	CV
pH	5,5 a	3,6 - 11,8	50	4,2 a	3,3 - 5,3	18
CE (S/m)	0,19 a	0,08 - 0,31	37	0,52 b	0,18 - 1,16	57
d (g/cm <sup>3</sup> )	1,010 a	1,002 - 1,054	1,8	1,027 a	1,002 - 1,077	2,2
DQO (mg O <sub>2</sub> /L)	49105 a	738 - 296119	206	50207 a	11815 - 111520	56
DBO <sub>5</sub> (mg O <sub>2</sub> /L)	22418 a	125 - 130000	197	14542 a	4767 - 32500	50
SS (mg/L)	5137 a	226 - 30300	217	12285 a	32 - 49767	135
SV (mg/L)	12385 a	661 - 54952	192	24197 a	4956 - 75184	85
ST (mg/L)	18336 a	1602 - 79635	187	38485 a	6685 - 113615	81
Polifenoles (mg/L)	140 a	29 - 474	135	318 a	65 - 766	63
C <sub>ox</sub> (g/L)	2,16 a	0,11 - 9,18	182	4,40 a	1,09 - 11,12	60
NTK (mg/L)	35,4 a	0,0 - 142,8	146	104,9 b	21,3 - 252,5	74
P (mg/L)	35,4 a	3,3 - 188,3	176	118,4 a	1,90 - 472,7	126
Na (mg/L)	158 a	7 - 470	107	88 a	6 - 570	166
K (mg/L)	270 a	29 - 353	46	354 b	313 - 403	9
Ca (mg/L)	545 a	187 - 2203	124	2222 a	174 - 9071	143
Mg (mg/L)	36 a	16 - 87	66	71 b	32 - 166	51
Fe (mg/L)	12 a	1 - 77	219	61 a	4 - 246	125
Mn (µg/L)	310 a	< 200 - 1740	187	1810 b	730 - 3520	56
Cu (µg/L)	790 a	< 200 - 3260	134	1940 a	50 - 8570	124
Zn (µg/L)	580 a	90 - 1400	80	1280 b	410 - 2670	50
Co (µg/L)	170 a	110 - 300	33	230 a	90 - 610	64
Cr (µg/L)	150 a	< 200 - 720	155	310 a	10 - 950	90
Cd (µg/L)	60 a	50 - 80	17	70 a	20 - 160	55
Pb (µg/L)	1090 a	550 - 1340	24	980 a	320 - 1740	43
Ni (µg/L)	120 a	< 200 - 650	178	300 a	60 - 810	85

CE: conductividad eléctrica; d: densidad; DQO: demanda química de oxígeno; DBO<sub>5</sub>: demanda biológica de oxígeno; SS: sólidos en suspensión; SV: sólidos volátiles; ST: sólidos totales; C<sub>ox</sub>: carbono orgánico oxidable; NTK: nitrógeno total Kjeldahl.

Valores medios en filas seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes (P<0,05) entre ambos grupos de residuos

### Residuos sólidos

La composición de los residuos sólidos generados en la industria vitivinícola es muy heterogénea, pudiéndose destacar el pH ácido, los bajos valores de conductividad eléctrica y los

altos contenidos de materia orgánica, y por consiguiente de carbono orgánico, de estos residuos (Tabla 2.3). También se caracterizan por sus contenidos notables de polifenoles, los cuales son mayores en el raspón y menores en el orujo desalcoholizado, posiblemente debido a que el raspón es la parte del racimo que presenta mayor contenido de taninos fácilmente extraíbles y a que la mayor parte de los compuestos fenólicos del orujo se pierden durante el lavado que sufre en las alcoholeras para la extracción del alcohol y de los tartratos que contiene.

Por otra parte, también destaca el alto contenido de nitrógeno, fósforo y potasio de las lías, debidos principalmente a la presencia en este residuo de clarificantes de naturaleza proteica añadidos al vino, de levaduras y de sales de fosfato férrico y bitartrato de potasio (Bustamante y col., 2008a) (Tabla 2.3). En general, todos los residuos presentan bajas concentraciones de Ca y Mg, micronutrientes y metales pesados. Los valores de la relación C/N están comprendidos entre 8,9-32,1, siendo estos más bajos en las lías debido a su alto contenido en nitrógeno.

La procedencia de los residuos y subproductos sólidos generados en las bodegas no es significativa en la mayoría de los parámetros estudiados en estos materiales, siendo el orujo y la lía donde la denominación de origen influye en mayor medida en la composición de los mismos, debido esencialmente a diferencias en las etapas de elaboración del vino según en la región donde se realice (Bustamante y col., 2008a) (Tabla 2.3).

**Tabla 2.3:** Principales características de los residuos y sub-productos sólidos generados en bodega y en alcoholera (datos referidos a material seca) (Bustamante y col., 2008a).

	Raspón			Orujo			Lía			Orujo desalcoholizado					
	Media	Intervalo	CV	DO	Media	Intervalo	CV	DO	Media	Intervalo	CV	DO	Media	Intervalo	CV
pH	4,4a	3,8 – 6,1	19	NS	3,8a	3,4 – 5,4	11	NS	4,0a	3,6 – 7,2	25	**	5,5b	3,8 – 6,9	18
CE (dS/m)	4,44bc	3,05 – 6,14	22	*	3,40b	2,32 – 5,35	15	**	5,59cd	3,99 – 13,79	47	*	1,62a	0,56 – 2,48	36
MO (g/kg)	920c	879 – 940	2	NS	915c	873 – 947	2	NS	759b	598 – 936	15	NS	912c	845 – 941	3
Cox (g/kg)	316b	26 – 357	11	NS	280ab	218 – 408	16	NS	300ab	226 – 376	13	NS	276ab	233 – 359	13
C <sub>hidro</sub> (g/kg)	74,5b	17,7 – 121,8	49	NS	37,4a	17,1 – 104,1	40	**	87,8b	44,3 – 168,9	37	**	18,3a	10,0 – 36,7	37
Polifenol. (g/kg)	19,0c	3,8 – 34,9	55	**	2,6ab	0,9 – 13,6	82	NS	7,5b	1,9 – 16,3	57	NS	1,6a	1,0 – 3,5	45
NTK (g/kg)	12,4a	9,7 – 16,6	18	NS	20,3b	17,0 – 24,2	9	***	35,2c	17,2 – 59,7	37	NS	21,3b	18,2 – 27,5	12
P (g/kg)	0,94a	0,52 – 1,35	25	NS	1,15a	0,62 – 1,72	22	NS	4,94b	1,61 – 10,3	53	NS	1,64a	0,73 – 4,22	60
K (g/kg)	30,0a	22,5 – 41,6	22	NS	24,2a	11,8 – 37,9	27	***	72,8b	17,6 – 158,1	57	*	11,9a	5,6 – 17,7	28
Ca (g/kg)	9,5a	6,6 – 15,5	25	NS	9,4a	5,4 – 20,6	29	NS	9,2a	3,6 – 15,5	47	NS	14,6a	8,1 – 25,8	38
Mg (g/kg)	2,1b	1,3 – 4,3	43	NS	1,2a	0,7 – 2,2	26	NS	1,6ab	0,4 – 3,7	53	NS	1,2a	0,7 – 2,0	31
Fe (mg/kg)	128a	24 – 301	69	*	136a	54 – 279	37	*	357a	84 – 1756	127	NS	370a	161 – 842	53
Mn (mg/kg)	25a	10 – 66	66	NS	12a	< 0,2 – 100	120	NS	12a	< 0,2 – 21	63	NS	17a	4 – 28	39
Cu (mg/kg)	22a	3 – 71	98	NS	28a	6 – 279	147	***	189b	13 – 1187	169	**	23a	15 – 35	27
Zn (mg/kg)	26a	13 – 72	59	NS	24a	14 – 35	23	NS	46a	14 – 84	50	NS	19a	12 – 28	24

MO: materia orgánica; C<sub>hidro</sub>: carbono orgánico hidrosoluble; DO: significación estadística de las diferencias debidas al origen del residuo (denominación de origen), para otras abreviaturas ver tabla 2.

\*, \*\*, \*\*\*: significativo a P < 0,05, 0,01, 0,001, respectivamente, NS: no significativo.

Valores medios en filas seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes (P < 0,05, test Tukey) entre los distintos grupos de residuos

#### 2.5.4 Gestión y tratamiento de los residuos asociados a la industria vitivinícola

En la tabla 2.4 se muestra de forma resumida los principales métodos de tratamiento-aprovechamiento de los residuos de la industria vitivinícola. Se han propuesto diferentes métodos para el tratamiento y aprovechamiento de las aguas residuales de bodega, como su aplicación directa al suelo, siempre que las características del mismo sean apropiadas (baja permeabilidad, aguas subterráneas profundas, etc.) (Christen y col., 2010). También, se han empleado métodos físico-químicos como la evaporación en balsas de forma natural o forzada (Quayle y col., 2006) y la electrocoagulación (Khara y col., 2013). Por otra parte, se han utilizado métodos biológicos, como tratamientos aerobios (Arvanitoyannis y col., 2006b) y digestión anaerobia (Ganesh y col., 2010), métodos de oxidación química (Lucas y col., 2010) y métodos combinados (osmosis inversa+oxidación Fenton) (Ioannou y col., 2013). Sin embargo, estos métodos tienen el inconveniente de la necesidad de grandes extensiones de terreno para la aplicación de este residuo líquido o para la construcción de las balsas de evaporación y en cuanto a los otros métodos propuestos, éstos necesitan por lo general instalaciones y mantenimiento muy costosos y la mayoría de ellos no solucionan el problema completamente debido a que durante el proceso se generan lodos.

Por otra parte, se han encontrado varios métodos para el tratamiento físico-químico, químico y biológico de las vinazas. Entre los tratamientos físico-químicos cabe citar la concentración térmica en columnas de destilación o en evaporadores de múltiples efectos y la evaporación natural en balsas (Torrijos y Moletta, 2000), así como la combinación de procesos de oxidación-coagulación/floculación (Beltrán de Heredia y col., 2005). Dentro de los tratamientos químicos está la oxidación con ozono (Beltrán y col., 1999) y, respecto a los tratamientos biológicos está la digestión anaerobia (Akassou y col., 2010), biorremediación enzimática y con hongos (Strong y Burgess, 2008) y la combinación de digestión anaerobia y tratamiento aerobio con lodos activos (Musee y col., 2007). Actualmente las vinazas son en su mayoría acumuladas en balsas de evaporación, debido a que los otros métodos necesitan de grandes inversiones para su mantenimiento e instalación. Aunque la evaporación en balsas es muy simple y funciona muy bien, necesita estudios del suelo para evitar problemas de infiltración y se han encontrado inconvenientes tales como, producción de malos olores y colmatación de las mismas por los lodos que se forman en ellas y que siguen constituyendo un residuo (Torrijos y Moletta, 2000).

Los raspones se depositan en vertedero o se emplean como abono orgánico de forma directa (KEPOS, 2000) o también son compostados (Ranalli y col., 2001, Bertran y col., 2004, Bustamante y col., 2007). Los orujos son de los residuos vitivinícolas que mayores aplicaciones

tienen, ya que se han llevado a cabo estudios sobre su combustión para la producción de energía (Arvanitoyannis y col., 2006b), extracción de productos de alto valor tales como, etanol, sales tartáricas y málicas, ácido cítrico, hidrocoloides y fibras dietéticas (Arvanitoyannis y col., 2006a) e incluso se pueden separar las semillas para la extracción de aceite empleado en la preparación de margarina, en la fabricación de pinturas al óleo, jabones, etc. (Vogt y col., 1986). También se han encontrado diversos experimentos sobre el compostaje de orujo (Madejón y col., 2001; Ranalli y col., 2001; Bustamante y col., 2008b).

**Tabla 2.4:** Métodos de tratamiento/aprovechamiento de los residuos y subproductos de origen vitivinícola.

Residuo	Tratamiento/Aprovechamiento	Método	Fuente
Aguas residuales de bodega	Aprovechamiento	Aplicación directa al suelo	Christen y col. (2010)
	Físico-químico	Evaporación natural	Quayle y col. (2006)
		Electrocoagulación	Kara y col. (2013)
	Químico	Oxidación química	Lucas y col. (2010)
	Biológico	Lodos activados	Arvanitoyannis y col. (2006b)
		Lechos bacterianos	Arvanitoyannis y col. (2006b)
		Lagunaje aireado	Arvanitoyannis y col. (2006b)
Digestión anaerobia		Ganesh y col. (2010)	
Tratamientos combinados	Osmosis inversa+oxidación Fenton	Ioannou y col. (2013)	
Vinazas	Físico-químico	Evaporación natural	Torrijos y Moletta (2000)
		Concentración térmica	Torrijos y Moletta (2000)
		Oxidación-coagulación/floculación	Beltran de Heredia y col. (2005)
	Químicos	Ozonización	Beltran y col. (1999)
	Biológico	Digestión anaerobia	Akassou y col. (2010)
		Biorremediación enzimática/hongos	Strong y Burgess (2008)
		Digestión anaerobia+Tratamiento aerobio	Musee y col. (2007)
Raspones	-	Depósito en vertedero	KEPOS (2000)
	Aprovechamiento	Enmienda orgánica	KEPOS (2000)
	Biológico	Compostaje	Ranalli y col. (2001) Bertran y col. (2004) Rodríguez y col. (2006) Bustamante y col. (2007)
Orujos	Térmico	Combustión con producción de energía	Arvanitoyannis y col. (2006b)
	Químico	Extracción de productos de alto valor añadido	Arvanitoyannis y col. (2006a) Vogt y col. (1986)
	Biológico	Compostaje	Madejón y col. (2001) Ranalli y col. (2001) Bustamante y col. (2008b)

## 2.6 Compostaje

### 2.6.1 Definición, etapas y condiciones del proceso de compostaje

El compostaje se define como un proceso bio-oxidativo controlado, que se desarrolla sobre sustratos orgánicos heterogéneos en estado sólido por la acción de los microorganismos. Implica el paso a través de una etapa termofílica y una producción temporal de fitotoxinas, generándose como resultado de la biodegradación dióxido de carbono, agua, minerales y un producto final llamado compost, con una materia orgánica estabilizada, libre de compuestos fitotóxicos y patógenos y con ciertas características húmicas (Soliva y col., 2008). El compostaje es un método adecuado para la eliminación de los fitopatógenos presentes en los residuos iniciales (Elorriota y col., 2003). Durante el compostaje se producen de forma simultánea dos procesos interdependientes, la descomposición y la estabilización o humificación de la materia orgánica. La descomposición es un proceso de simplificación, en el que la materia orgánica se degrada en moléculas orgánicas e inorgánicas más sencillas, depende, principalmente, de la actividad biológica y es exotérmico. El proceso de estabilización o humificación radica en la formación de macromoléculas nuevas a partir, o de moléculas sencillas generadas durante la descomposición, o bien directamente de moléculas ya existentes en los sustratos a compostar. Globalmente estas transformaciones consumen energía, y en ellas intervienen procesos biológicos, así como físicos y químicos. Las macromoléculas resultantes de la humificación reciben el nombre de sustancias húmicas y tienen, como característica más destacable, una gran resistencia a posteriores procesos de descomposición o simplificación. Cada uno de estos procesos se llevará a cabo mediante transformaciones distintas, dependiendo de la etapa en la que se encuentre el compostaje, ya que cada una de estas etapas está caracterizada por la actividad de diferentes grupos de microorganismos. De acuerdo con Chen e Inbar (1993), las etapas del compostaje son cuatro:

**Fase inicial o mesofílica**, donde la pila está a temperatura ambiente y comienzan a desarrollarse las bacterias y hongos mesófilos, que descomponen los carbohidratos y las proteínas más fácilmente degradables. Conforme la población mesofílica indígena se multiplica, aumenta la actividad metabólica y los procesos exotérmicos, incrementándose así la temperatura, siendo la actividad microbiana muy alta en el intervalo 35-40°C. A temperaturas superiores a 40°C, la actividad mesofílica cesa y la degradación entra en la fase termofílica.

**Fase termofílica**, durante la cual los microorganismos mesófilos son reemplazados por los actinomicetos y los hongos y bacterias termofílicas, las cuales degradan las proteínas y los carbohidratos no celulósicos y posiblemente los lípidos y la hemicelulosa, pero no atacan la

celulosa ni la lignina. Durante esta etapa se lleva a cabo la mayor producción de CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, compuestos inorgánicos y fitotoxinas, destruyéndose también los patógenos para plantas y animales, así como las semillas de malas hierbas. La degradación de la lignina está restringida a un grupo limitado de microorganismos, los llamados basidiomicetos. Éstos degradan la lignina lentamente y su máxima actividad no se alcanza hasta que no ha transcurrido aproximadamente un mes desde el comienzo del proceso de compostaje. Se ha observado que la degradación de la lignina es mayor en el compostaje mediante sistemas de pila estática que en los de pila móvil, debido, posiblemente, a que por medio de los volteos que se realizan en el segundo de los sistemas, se dificulta la difusión de las hifas de estos microorganismos (Moreno y Mormeneo, 2008).

**Fase de enfriamiento**, caracterizada por una caída de la temperatura y de la velocidad de descomposición y una recolonización de la masa por microorganismos mesófilos, los cuales llevarán a cabo la degradación de azúcares, hemicelulosa y celulosa. Estas tres fases constituyen lo que se denomina la fase bio-oxidativa del proceso de compostaje.

**Fase final de maduración**, donde se producirá predominantemente la estabilización y también una cierta mineralización de la materia orgánica con la producción de un producto final altamente humificado, el compost.

#### **Características relativas a la naturaleza del sustrato**

El sustrato utilizado deberá cumplir una serie de requisitos para que el compostaje pueda desarrollarse adecuadamente, como son el tamaño de partícula, el equilibrio de nutrientes y el pH. El tamaño de partícula deberá estar comprendido entre 1-5 cm (Bueno-Márquez y col., 2008), para que así las partículas sean lo suficientemente pequeñas como para que haya la mayor superficie posible expuesta al ataque microbiano, siendo así la reacción más rápida y completa, y al mismo tiempo lo suficientemente grandes como para que exista una determinada porosidad en la masa que permita el intercambio gaseoso y asegure que la degradación de la materia orgánica sea aerobia. Por lo tanto, para compostar materiales con muy baja porosidad, como por ejemplo lodos de depuración de aguas residuales, purines de cerdo, etc., es conveniente mezclarlos con algún agente estructurante que proporcione la porosidad adecuada que permita un nivel de aireación óptimo. Hay sustratos más difíciles de degradar por los microorganismos, sobre todo aquellos con mayor contenido en compuestos lignocelulósicos, autores como Vargas-García (2007) proponen la inoculación con microorganismos favorecedores de su descomposición.

Otro aspecto importante es la presencia de nutrientes en una proporción adecuada en el sustrato, que permitan el desarrollo y reproducción de los microorganismos. Este hecho es especialmente importante para el carbono y el nitrógeno, de forma que la relación C/N del material de partida debe tener unos valores entre 25-35 para que el compostaje se desarrolle de forma adecuada (Bueno-Márquez y col., 2008), porque aunque la relación C/N de las células microbianas es aproximadamente 10, sin embargo debido a los requerimientos de energía, los microorganismos utilizan generalmente unas 30 partes de carbono por cada una de nitrógeno. Relaciones C/N muy elevadas disminuyen la actividad biológica, provocando el alargamiento del proceso de compostaje. Se necesita el desarrollo de varios ciclos de microorganismos para degradar el exceso de carbono, empleándose el único nitrógeno disponible que será el de los microorganismos que han muerto, inmovilizándose así el nitrógeno orgánico y reduciéndose su mineralización. No obstante, relaciones C/N muy bajas conllevan la pérdida del exceso de nitrógeno como amoníaco, reduciéndose también de esta manera la transformación de nitrógeno amónico en nitrógeno de nitratos.

Finalmente, otro parámetro importante es el pH del sustrato inicial. Aunque, en general, se pueden compostar materiales dentro de un amplio rango de valores de pH (3-11) (Bueno-Márquez y col., 2008), el rango más adecuado y que no supone una inhibición de la actividad de los microorganismos oscila entre 6 y 8 (Zucconi y de Bertoldi, 1987).

### **Factores relativos al propio proceso de compostaje**

Entre estos factores se encuentra la temperatura, la aireación y la humedad. La temperatura es función de la mayor o menor actividad microbiana, ya que se libera calor a través de las reacciones implicadas en la descomposición de la materia orgánica llevadas a cabo por los microorganismos. Las temperaturas desarrolladas durante el proceso de compostaje generalmente se encuentran en el intervalo de 35-60°C. Temperaturas por encima de 65°C no son adecuadas debido a que los microorganismos más interesantes para el proceso mueren o se desactivan por encontrarse esporulados. Por otra parte, la generación de temperaturas demasiado altas implica una mayor mineralización que conduce a la obtención de productos finales menos ricos en materia orgánica (Bueno-Márquez y col., 2008).

La aireación es otro aspecto importante, situándose el nivel de óptimo de oxígeno dentro del intervalo 10-18% (Biddlestone y Gray, 1991). Una menor aireación hace que se produzca la descomposición de la materia orgánica de forma anaerobia, originándose así metabolitos no deseados y una disminución de la velocidad del proceso. Por el contrario, un

exceso de ventilación provoca el enfriamiento de la masa, con la consiguiente reducción de la actividad metabólica de los microorganismos.

Y por último, también es esencial el control del contenido de humedad, considerándose como nivel óptimo los valores comprendidos en el intervalo 40-60% (Stentiford, 1996). Cuando el contenido de humedad es mayor del 60%, el agua desplaza al aire de los espacios libres existentes entre las partículas y las condiciones se hacen anaerobias (Hamoda y col., 1998), pudiéndose corregir el aumento por aireación de la pila. Por otro lado, si el nivel de humedad es claramente inferior al 40%, la actividad biológica disminuye y el proceso de compostaje transcurrirá de forma más lenta. Para mantener el contenido de humedad óptima en las pilas de los materiales a compostar se pueden emplear aguas residuales tales como alpechines (Paredes y col., 2000; Paredes y col., 2001) aguas residuales de origen vinícola, vinazas, (Bustamante y col., 2007), etc., llevándose a cabo también la eliminación de estos residuos líquidos mediante el compostaje.

### 2.6.2 Sistemas de compostaje

Existen distintas clasificaciones de las tecnologías de compostaje. Según la movilidad que se conceda al material a compostar (Figura 2.4).

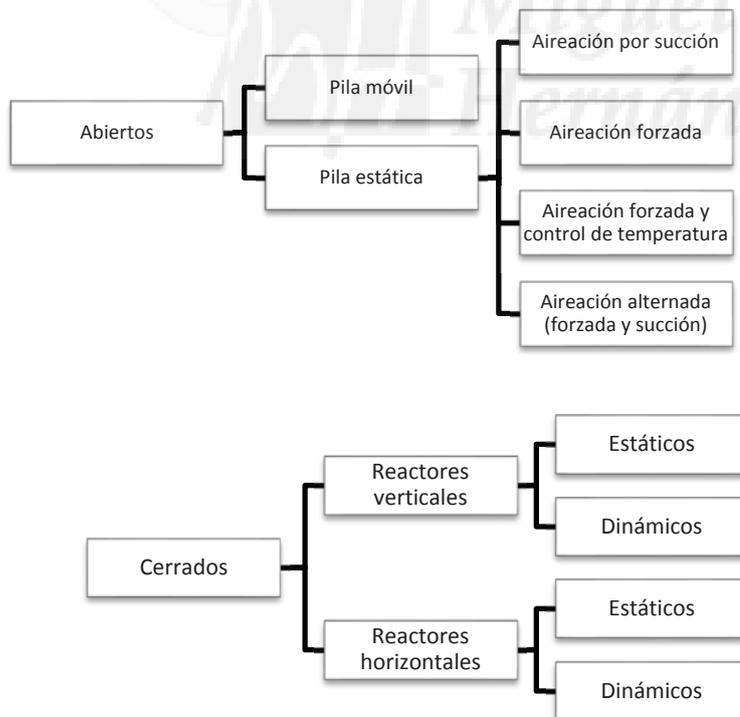


Figura 2.4: Sistemas de compostaje

En los sistemas de compostaje cerrados el proceso se realiza en unos recipientes llamados reactores o digestores. Estos sistemas tienen la ventaja de un mayor control de las condiciones del proceso, la necesidad de un menor espacio para la construcción de sus instalaciones, los tiempos de compostaje son relativamente más cortos y se evitan las emisiones de malos olores, pero en cambio tienen un elevado coste de inversión y mantenimiento (Chica Pérez y García Morales, 2008).

Por otra parte, los sistemas de compostaje abiertos se basan en el apilamiento de los materiales a compostar en pilas trapezoidales y se diferencian dos tipos: los de pila móvil y los de pila estática. En los de pila móvil la aireación de la pila se realiza de forma periódica mediante volteos. Entre sus limitaciones cabe citar que la ventilación de la pila solo se hace de manera periódica y por lo tanto, el nivel de oxígeno no se mantiene constante, impidiéndose el aumento de las oxidaciones biológicas y haciendo que el proceso de compostaje sea más lento. Por otro lado, las instalaciones requieren mayor espacio que en otros métodos, porque las pilas se voltean lateralmente. También debe añadirse que este sistema es menos efectivo en la inactivación de patógenos que los métodos de pila estática (de Bertoldi y col., 1985).

Dentro de los sistemas de compostaje de pila estática se distinguen cuatro tipos según el método de ventilación empleado: los de aireación por succión o de Beltsville, aireación forzada, de ventilación forzada a demanda de temperatura, llamado de Rutgers porque fue desarrollado por la Universidad de Rutgers (New Jersey) (Finstein y col., 1985) y de aireación alternada. De todos estos métodos el más aconsejable es el llamado de Rutgers, en el cual el aire se introduce a presión por la parte inferior de la pila de forma periódica y el control de temperatura se realiza mediante una sonda introducida en la pila que transmite los datos a un controlador de temperatura, de tal modo que cuando ésta supera el valor marcado como límite, se dispara el sistema, poniéndose en marcha la ventilación de forma continua hasta que la temperatura descienda hasta el umbral térmico programado (Finstein y col., 1985). En este sistema se controla que la temperatura no supere los 60°C mientras que, en los sistemas con aireación por succión se controla que el nivel de oxígeno esté entre unos valores determinados, llegando a ser esta aireación insuficiente para eliminar el exceso de calor generado por la actividad metabólica de los microorganismos y la temperatura frecuentemente alcanza valores superiores a los 70°C. El alcance de temperaturas tan altas inhibe el desarrollo y el crecimiento biológico, lo que conlleva a que la degradación sea menor y el proceso se ralentice. También en el sistema de compostaje Rutgers la ventilación es mayor que en los sistemas de aireación

por succión con lo que se produce una descomposición más extensa de los residuos y una mayor evaporación, consiguiéndose así un producto final más seco y con una materia orgánica más estabilizada (Miller y Finstein, 1985).

### **2.6.3 Compostaje de los residuos asociados a la industria vitivinícola**

Uno de los métodos propuesto de tratamiento de los residuos sólidos asociados a la industria vitivinícola es el compostaje de los mismos para su empleo posterior como fertilizante orgánico. Sin embargo, el compostaje de este tipo de residuos no está muy extendido actualmente debido a que los residuos vitivinícolas sobre todo son empleados para la obtención de productos de alto valor, pero con este tipo de aprovechamiento no se elimina de forma completa la generación de estos residuos. A continuación se van a comentar algunas de las experiencias de compostaje de residuos vitivinícolas encontradas en la bibliografía.

Madejón y col. (2001) estudiaron la influencia del agente estructurante en el compostaje de un residuo líquido procedente de la industria azucarera, vinaza de remolacha. Los agentes estructurantes empleados fueron orujo de uva y residuo de algodón. Se prepararon dos pilas con vinaza y estos residuos ligno-celulósicos y a ambas mezclas se le añadió además fosfato para ajustar la relación C/P < 150 y leonardita para minimizar las pérdidas de nitrógeno durante el proceso de compostaje. La aireación de las pilas se realizó mediante volteos periódicos. El proceso de compostaje se desarrolló de forma adecuada en ambas pilas, con lo cual ambos agentes estructurantes se podrían emplear para el co-compostaje de vinaza de remolacha. La diferencia más destacable encontrada en la evolución de estas mezclas fue la menor degradación de materia orgánica observada en la pila con orujo de uva y vinaza, debido posiblemente al mayor contenido de lignina de este agente estructurante con respecto al residuo de algodón. Sin embargo, los dos composts obtenidos tuvieron un alto valor fertilizante, alto nivel de estabilidad de la materia orgánica y ausencia de fitotoxicidad.

Por otra parte, Ranalli y col. (2001) compostaron una mezcla de orujo de uva, raspón, cascarilla de arroz y lodo procedente de depuración de aguas residuales de la industria láctea para evaluar la efectividad del empleo de bioindicadores que determinaran la calidad y madurez del compost obtenido. El sistema de compostaje empleado fue de pila móvil con ventilación por volteos periódicos. En este estudio se observó que el compostaje puede considerarse como una solución para el reciclado de los residuos estudiados, ya que el compost obtenido presentó ausencia de fitotoxicidad y de microorganismos patógenos, así como tampoco se encontraron diferencias genotóxicas entre el control y el material final de compostaje. También estos autores

indican que la calidad de un compost no se puede determinar mediante la medida de un único índice de madurez biológico, químico o físico y proponen la combinación de estos índices con un conjunto de bioindicadores relacionados con varias actividades enzimáticas.

Bertran y col. (2004) prepararon varias mezclas de raspón y de lodo de depuración de aguas residuales de bodega, en las cuales se estudió la influencia en el proceso de compostaje del aumento de la proporción de raspón y su grado de molienda. La aireación de las pilas se realizó mediante volteos periódicos. Estos autores encontraron que la proporción de raspón y lodo de bodega adecuada era la 2:1, ya que cuando los residuos se mezclaban en estas proporciones el proceso de compostaje se desarrollaba mejor. Las pilas preparadas con esta proporción de residuos alcanzaron de forma más rápida la estabilización del porcentaje de sólidos volátiles, produciéndose una menor mineralización de la materia orgánica, menores pérdidas de nitrógeno y el valor de la relación C/N fue más similar a los valores comunes encontrados en los suelos. Las mezclas preparadas con raspón molido también obtuvieron mejores resultados que cuando este residuo no fue molido, ya que la mezcla con el lodo de bodega fue más homogénea, se alcanzaron temperaturas más altas a lo largo del proceso y se necesitaron menos volteos para conseguir una óptima aireación de la pila.

También, Rodríguez y col. (2006) compostaron residuos vitivinícolas (lías y raspón) solos o mezclados con otros residuos orgánicos, como basuras urbanas y estiércol de vaca, en pilas móviles con ventilación por volteos. En este estudio se observó que la mezcla más adecuada para compostar los residuos de origen vitivinícola fue la realizada entre estos residuos sin la adición de ningún otro material residual exógeno a la producción de vino. La mezcla de lía y raspón (1:3) alcanzó una estabilización de la materia orgánica rápida, en aproximadamente un mes, y como la relación C/N inicial fue la más alta de las mezclas preparadas, las pérdidas de nitrógeno por volatilización como amoníaco fueron menores, minimizándose así los malos olores causados por la emisión de este gas. Por otra parte, la proporción en la que se mezcló estos residuos es similar a la generada por la industria vitivinícola con lo cual el reciclado de los mismos mediante compostaje se podría hacer sin la necesidad de añadir a la mezcla ningún residuo externo.

Además, Bustamante y col. (2007) y Bustamante y col. (2008b) prepararon varias mezclas de residuos líquidos y sólidos asociados a la industria vitivinícola con residuos urbanos y ganaderos y las compostó mediante el sistema Rutgers. Los residuos vitivinícolas estudiados fueron raspón, orujo de uva, orujo desalcoholizado de uva y vinaza, mientras que los otros residuos empleados en el co-compostaje de los anteriores fueron lodo de depuración de aguas urbanas, estiércol de vaca y gallinaza. De los resultados obtenidos se podría destacar que el empleo de vinaza como

fuelle de humedad produjo una reducción del tiempo de la fase termófila, aumentó el contenido de sales del compost obtenido y ralentizó la desaparición de la fitotoxicidad a lo largo del proceso de compostaje. En relación con el empleo de los residuos externos a la producción de vino, la gallinaza fue el residuo que aportó de forma más efectiva nitrógeno a los residuos vitivinícola, ya que el compost obtenido tuvo mayor contenido de nitrógeno orgánico e inorgánico. Respecto a los residuos vitivinícolas empleados se observó que el proceso de compostaje se desarrolló de forma adecuada en todas las pilas, excepto en las mezclas donde se añadió raspón, en las cuales se tendría que optimizar la proporción de este residuo. El empleo de raspón aumentó de forma considerable el contenido de polifenoles solubles de la mezcla, los cuales pudieron causar la menor duración de la etapa termófila de las pilas preparadas con este residuo, como consecuencia de los efectos antimicrobianos de algunos compuestos polifenólicos presentes en el raspón tales como los taninos. Sin embargo, todos los composts obtenidos mostraron generalmente una materia orgánica estabilizada y humificada, ausencia de fitotoxicidad y de microorganismos patógenos y niveles de metales pesados por debajo de los límites establecidos en la legislación.

En la tabla 2.5 se muestran algunas de las características de los composts elaborados con residuos asociados a la industria vitivinícola de las experiencias comentadas anteriormente.

**Tabla 2.5.** Características de los composts de residuos vitivinícolas

Mezcla	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
	OU+VR	OU+R+CA+LL	LB+R	L+R	OU+ODU+R+LU
pH	-	7,4	8,3	-	7,0
CE (S/m)	0,40	0,55	0,16	-	0,28
MO (g/kg)	764	344	545	-	843
C <sub>OT</sub> (g/kg)	-	264	-	-	449
N <sub>T</sub> (g/kg)	18,1	17,5	22,9	10,4	24,0
C/N	23	15,1	11,9	-	18,8
C <sub>hidro</sub> (g/kg)	-	-	-	-	22,8
C <sub>ah</sub> (g/kg)	47,0	48,3	-	-	5,4
C <sub>af</sub> (g/kg)	-	27,2	-	-	10,7
CCC (meq/100g MO)	-	-	-	-	160
IG (%)	78	-	78	-	84
P (g/kg)	14,14	4,28	4,00	3,50	5,20
K (g/kg)	16,8	-	13,0	19,0	27,0
Na (g/kg)	14,1	-	-	0,8	1,5
Fe (mg/kg)	1800	-	5000	1100	9486
Mn (mg/kg)	43	-	-	-	63
Cu (mg/kg)	99	-	157	30	78
Zn (mg/kg)	138	-	187	21	182

(1): Madejón y col. (2001); (2): Ranalli y col. (2001); (3): Bertran y col. (2004); (4):Rodríguez y col. (2006); (5):Bustamante y col. (2007).

OU: orujo de uva; VR: vinaza de remolacha; R: raspón; CA: cascarilla de arroz; LL: lodo de depuración de aguas residuales de industria láctea; LB: lodo de depuración de aguas residuales de bodega; L: lía; ODU: orujo desalcoholizado de uva; LU: lodo de depuración de aguas residuales urbanas; para el resto de abreviaturas ver las tablas 1, 2 y 3.

## 2.7 Calidad de la uva

Las calidades que ofrece una determinada vendimia, englobadas bajo el calificativo de “calidad”, determinan con una estrecha correlación la tipicidad y la calidad del vino elaborado a partir de la misma. Es sabido que los grandes vinos se elaboran a partir de excelentes vendimias, aunque esto no siempre sucede así, pues una buena vendimia puede ser malograda por su incorrecta manipulación en la bodega; no obstante, lo que está claro, es que partiendo de uvas de calidad media o mala, nunca se puede lograr un excelente vino, por mucho que el enólogo y la tecnología disponible se apliquen en su elaboración. En este caso, la Naturaleza, no puede ser superada (Hidalgo, 2006; González Caballero, 2012).

Por lo tanto, la calidad de un vino está condicionada por la calidad de la uva. Ésta marca un potencial, y a partir de él, lo único que se puede hacer es trasladarlo al vino. La calidad en la

uva viene marcada por factores intrínsecos, como son la variedad y el suelo, y por otros culturales que van a condicionar su producción, composición, estado sanitario e integridad (Toda, 2008; González Caballero, 2012).

Aunque el concepto de calidad de uva está en continua evolución, la concentración del azúcar en la uva es un parámetro estrechamente relacionado con algunos de los más importantes elementos constitutivos del mosto, ya que todo lo que favorece su síntesis provoca también una mayor concentración en términos de aromas, vitaminas y polifenoles, que son sintetizados también a partir de precursores comunes (Balsari y Scienza, 2004; González Caballero, 2012).

Los parámetros como antocianos totales y extraíbles, polifenoles totales, grado alcohólico probable y acidez total de la uva puede ser utilizados como método de estimación de la calidad de la uva en el viñedo (Toda, 2008; González Caballero, 2012).

### **Factores determinantes de la calidad de la uva**

#### *Factores pre-cosecha*

##### El suelo

El suelo muy fértil provoca un crecimiento excesivo y, lo que es peor, prolongado incluso durante el período de maduración de la baya por lo que se retrasa el envero y la maduración no es adecuada. Además, van a existir más problemas de sombra debidos a la mayor densidad foliar y frondosidad de la vegetación y más enfermedades criptogámicas repercutiendo todo ello en una vendimia de menor calidad. El suelo poco fértil, se va a comportar de forma totalmente inversa, limitando el crecimiento del pámpano y favoreciendo la obtención de una cosecha de calidad. Estas diferencias de comportamiento en función de la fertilidad del suelo tienen más influencia sobre la calidad en climas frescos que en climas cálidos, pero aún en estos últimos siguen siendo significativas. Los mejores suelos son generalmente en pendiente, poco profundos, bien drenados, con fertilidad moderada, que inducen en el viñedo, vigor moderado, parada precoz de la vegetación, producción moderada y buena maduración (Martínez de Toda, 2011; González Caballero, 2012).

### El clima

Existen suficientes experiencias que demuestran la influencia positiva del salto térmico (diferencia entre temperaturas diurnas y nocturnas) durante el período de maduración sobre la síntesis de antocianos, compuestos que inciden decisivamente en la calidad de los vinos tintos. Este salto térmico es superior en las situaciones en que la temperatura media en la época de vendimia es inferior a 15°C, pues es la temperatura mínima (nocturna) la que reduce el valor de la temperatura media; por eso en la situación más fresca (Temperatura < 15°C) se indica una mayor síntesis de antocianos (Martínez de Toda, 2011; González Caballero, 2012).

### *Factores humanos: Técnicas de cultivo*

#### La poda

El objetivo general ha de ser el de maximizar la captación de energía solar y favorecer un reparto homogéneo en el conjunto de la vegetación. Una deficiente exposición de la vegetación a la radiación solar disminuye el contenido en azúcares, polifenoles, antocianos, aromas y acidez total y aumenta el pH, ácido málico, contenido en potasio y el carácter herbáceo, quedando patente la influencia negativa del exceso de vegetación en el viñedo para una producción de uva de calidad (Martínez de Toda, 2011).

#### El riego y el abonado

El abonado y el riego al igual que la fertilidad del suelo, aumentan el crecimiento, el vigor y la producción, por lo que han de ser controlados para su dosificación de forma óptima.

El riego presenta el dilema de tener que escoger entre producción y calidad; un estrés moderado reduce el rendimiento del cultivo pero puede mejorar algunos atributos de calidad de la fruta; y sin estrés de agua, se puede aumentar el rendimiento pero puede reducirse la calidad post-cosecha (Crisosto y Mitchell, 2007; González Caballero, 2012).

A partir del envero y hasta el momento de la vendimia, un estrés hídrico durante esta fase puede dar lugar a una pérdida de acidez y a un aumento del pH, así como a una reducción de la cantidad de azúcares de las uvas. Al final del período de maduración no conviene regar porque un exceso de agua puede producir rotura de granos y dilución de los diferentes componentes de las bayas (González Caballero, 2012).

### Sistema de conducción

El sistema de conducción de la viña, íntimamente relacionado con la poda, constituye un factor de gran importancia en el cultivo de la vid, por su directa influencia en la producción y la calidad. La superficie foliar y el aprovechamiento heliotérmico intervienen en la fisiología de la vid, de tal modo que existe una relación entre la calidad de la vendimia y la superficie foliar disponible, siempre que ésta se encuentre bien iluminada. El correcto manejo de la superficie foliar y de su iluminación es la clave de las buenas maduraciones y por tanto, de los buenos vinos, cuestión que se resuelve utilizando un adecuado sistema de conducción para cada ecosistema vitícola.

Los sistemas de conducción en vaso, con formas libre, bajas y sin apoyos, se han destinado tradicionalmente a comarcas de clima seco, caluroso y de alta luminosidad, sin posibilidad de riego, donde su índice de densidad vegetal (IDF) es relativamente bajo, pero suficiente para la maduración de la carga de uva de estos viñedos y mejorando sensiblemente la calidad, cuando el año produce una escasa cosecha.

Por otro lado, los sistemas de conducción en espaldera, son tradicionalmente propios de comarcas de climas más fríos, de mayor humedad y menores condiciones heliotérmicas; empleándose variedades más vigorosas y con menos producciones. En este caso la vid, hace lo contrario que en la formación en vaso, defendiéndose del exceso de humedad, así como de enfermedades y la falta de iluminación abriendo su vegetación y lográndose un IDF más elevado.

El cultivo de la vid en espaldera presenta, respecto a vaso, una notable mejora en la cantidad de superficie foliar, pero en muchas ocasiones se produce una cortina de vegetación de gran espesor, que hace que su índice de densidad foliar sea relativamente bajo, debido a la gran cantidad de hojas que quedan sombreadas dentro de esta masa de vegetación (Hidalgo, 2006).

### Determinación de la fecha de vendimia

Los autores proponen como momento óptimo de vendimia para vinos tintos jóvenes, cuando el mosto de la uva alcanza una masa volúmica de 1,090-1,095 g/ mL (11,6-12,1°Be; 12-12,5 % vol. alcohol probable) y una acidez del mosto de 6 a 7 g/L expresados en ácido tartárico. El índice de polifenoles totales en tinto joven de calidad debe estar comprendido entre 35-40.

Los principales parámetros usados para evaluar la calidad de las uvas

- ✓ Contenido en sólidos solubles totales.

Los sólidos solubles de uvas, constituyen el conjunto de sustancias presentes, diferentes al agua, que se encuentran disueltas en la fase líquida.

El contenido en sólidos solubles de la uva proporciona una medida del grado de madurez del fruto y es un método aproximado para conocer su concentración en azúcares y estimar el contenido alcohólico probable del vino. A partir del inicio de la maduración, aproximadamente el 90% de los sólidos solubles está compuesto por azúcares fermentables. En los estados de desarrollo anteriores (periodo herbáceo y envero), tienen una mayor representación las formas ácidas (ácidos L (+) tartárico, L (-) málico y cítrico, fundamentalmente), debido a sus elevadas concentraciones en esos estados fisiológicos (Ribéreau-Gayon y col., 2003).

El contenido en sólidos solubles totales de uvas se expresa con diferente terminología según el método de determinación y las unidades que se utilicen para expresar los resultados. Entre estos métodos se encuentran la areometría y la refractometría. Los areómetros más empleados son los de grados Baumé, Oechsle y Brix. El método oficial de análisis se basa en la refractometría (OIV, 2009).

### ✓ Acidez total y pH

La acidez de la uva se debe fundamentalmente a los ácidos orgánicos presentes, ya que los minerales se hallan totalmente salificados. Como se ha comentado anteriormente, los ácidos orgánicos presentes más importantes son el tartárico, el málico y el cítrico; y cada uno de ellos tiene un comportamiento propio durante la maduración de la uva.

La acidez total es la suma de todos los ácidos presentes en la muestra cuando se valora con hidróxido sódico 0,1 N hasta pH 7 (OIV, 2009).

El pH de un mosto o vino constituye una medida de los protones cedidos al agua por parte de las especies con actividad ácida en la muestra. Viene determinado por la fuerza de los ácidos presentes y su valor depende más del tipo de ácido que de la concentración. Los valores adecuados de pH para el mosto y el vino están comprendidos entre 2,8 y 3,5; valores inferiores indicarían excesiva acidez, y valores superiores a 3,6 harían necesario realizar una corrección para disminuir el pH.

### ✓ Potencial fenólico de la uva

Existen dos grandes grupos de compuestos fenólicos: los ácidos fenólicos y los flavonoides (flavonoles, flavanonoles, antocianos y taninos).

La concentración de polifenoles tiende a aumentar durante toda la maduración, aunque no linealmente. Los antocianos aparecen durante el envero y se acumulan durante la

maduración (Glories, 1999), produciéndose al final un descenso en su concentración que suele coincidir con la sobremaduración de la uva. La cantidad de taninos en el hollejo también va a aumentar durante el periodo de madurez, alcanzando un máximo para después mantenerse más o menos constante. En cambio, la concentración de taninos de las semillas desciende desde el envero, al mismo tiempo que aumenta su grado de polimerización (Mazza y col., 1999).

Así mismo, se ha constatado que la extracción de los compuestos fenólicos no depende únicamente de la cantidad en la que éstos se encuentren en la uva. Las paredes celulares van a formar una barrera a la difusión de antocianos, taninos y otros polifenoles de la uva al vino (Kennedy y col., 2001). El proceso de maduración implica una solubilización de los polisacáridos de la pared celular del hollejo. La degradación de la pared celular durante la maduración facilitará, de esta manera, la extracción de la materia colorante durante la vinificación (Amrani Joutei y Glories, 1994).

De este modo, surge el concepto de madurez fenólica (Izcarra y González-San José, 2001), que va a tener en cuenta el contenido total de compuestos polifenólicos (Lamadon, 1995) y su facilidad de extracción del hollejo y de la pepita de la uva (Romero Cascales, 2008).

### ***Concentración de compuestos de interés en la uva según diferentes factores vitícolas***

A continuación vemos la influencia que tienen los principales factores vitícolas sobre los diferentes componentes y características de la uva (Toda, 2008):

#### Factores que aumentan el contenido en azúcares y antocianos de la uva.

##### *Azúcares:*

- ✓ Tª media alta (> 15°C en vendimia)
- ✓ Baja disponibilidad de agua y N en maduración
- ✓ Vegetación muy bien expuesta
- ✓ Producción moderada.

##### *Antocianos:*

- ✓ Tª media baja (<15°C en vendimia)
- ✓ Salto térmico importante entre día y noche
- ✓ Racimos bien expuestos

- ✓ Baja disponibilidad de nitrógeno

Factores que aumentan el contenido en Aromas.

- ✓ Tª media baja (<15°C en vendimia)
- ✓ Racimos bien expuestos
- ✓ Baja disponibilidad de agua y N en maduración
- ✓ Vegetación muy bien expuesta
- ✓ Producción moderada

Factores que aumentan el contenido total en compuestos fenólicos de la uva.

- ✓ Factores ligados a la síntesis y formación de los azúcares y antocianos en el grano de uva, comentados anteriormente
- ✓ Bajo vigor de la viña
- ✓ Estrés hídrico

Factores que aumentan la acidez total de la uva.

- ✓ Tª media baja (< 15°C en vendimia).
- ✓ Racimos mal expuestos (mayor acumulación de ácido málico).
- ✓ Alta disponibilidad de agua y N en maduración.
- ✓ Vegetación muy bien expuesta.



UNIVERSITAS

Miguel  
Hernández

3. EXPERIMENTO 1:  
ESTUDIO DE LA ZONA VITIVINÍCOLA DEL  
VINALOPÓ MEDIO EN EL SURESTE  
MEDITERRÁNEO



### 3. EXPERIMENTO 1. Estudio de la zona vitivinícola del Vinalopó Medio en el sureste mediterráneo.



Índice:

<b>3.1 OBJETIVOS DEL EXPERIMENTO</b>	<b>45</b>
<b>3.2 MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>47</b>
3.2.1 Situación y descripción de las parcelas	47
3.2.2 Muestreo y métodos analíticos	50
3.2.3. Métodos estadísticos	51
<b>3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>52</b>
3.3.1. Propiedades físicas de los suelos	52
3.3.1.1. Granulometría y textura	52
3.3.1.2. Elementos gruesos	55
3.3.1.3. Estabilidad de agregados	56
3.3.2. Propiedades físico-químicas de los suelos	58
3.3.2.1. pH	58
3.3.2.2. Conductividad eléctrica	59
3.3.2.3. Capacidad de intercambio catiónico	60
3.3.3. Propiedades químicas de los suelos	62
3.3.3.1. Carbonato cálcico total equivalente y caliza activa	62
3.3.3.2. Materia orgánica	64
3.3.3.3. Carbono orgánico	66
3.3.3.4. Yeso	67
3.3.4. Análisis de factores principales	69
<b>3.4 CONCLUSIONES DEL EXPERIMENTO</b>	<b>70</b>



### 3.1 OBJETIVOS DEL EXPERIMENTO

El objetivo principal de este ensayo es estudiar las características de los suelos del Vinalopó Medio en el sureste mediterráneo, comprobando su idoneidad y su potencial vitícola, para poder tomar decisiones en la gestión y manejo de los suelos de la zona.

Los objetivos concretos son:

- ✓ *Determinar las características físicas, físico-químicas y químicas de los suelos vitivinícolas del Vinalopó Medio.*
- ✓ *Evaluar el potencial del suelo de la zona para el cultivo de la vid, identificando posibles carencias y necesidades.*
- ✓ *Adoptar sistemas de manejo y actuación en los suelos vitivinícolas estudiados.*





### 3.2 MATERIAL Y MÉTODOS

#### 3.2.1 Situación y descripción de las parcelas

Para este estudio se seleccionaron 56 parcelas de muestreo distribuidas en diferentes zonas de la Comarca del Vinalopó-Medio, en la proporción que se muestra en la tabla 3.1.

**Tabla 3.1.** Zonas, bodegas y parcelas muestreadas en la comarca del Vinalopó-Medio.

ZONA	BODEGA	PARCELAS MUESTREADAS
Pinoso	Bodega Coop. "Pinoso"	21
Monovar	Bodega "Sta. Catalina del Mañán "	13
La Algueña-Romana	Bodega Coop. "Algueña"	17
Novelda	Bodega "Heretat de Cesilia"	5

La descripción de las parcelas muestreadas respecto a código de la parcela, coordenadas UTM del centroide de la parcela, zona, municipio, polígono, parcela, bodega, variedad-sistema de plantación, superficie, altitud y pendiente se muestra en la tabla 3.2. También, la localización de estas parcelas se muestra en la figura 3.1.

**Tabla 3.2.** Situación y descripción de las parcelas muestreadas en la Comarca del Vinalopó-Medio

Código	Coordenadas UTM del centroide		Zona	Municipio	Polígono	Parcela	Bodega-Viticultor	Variedad Sistema plantación	Superficie (m <sup>2</sup> )	Altitud (msnm)	Pendiente (%)
	X	Y									
1	672842,63	4252667,67	Pinoso	Pinoso	12	124	Bodega Cooperativa de "Pinoso"	Monastrell-V	15606	590,0	9,9
2	673000,61	4252718,34	Pinoso	Pinoso	12	97	Bodega Cooperativa de "Pinoso"	Monastrell-V	12629	590,0	9,3
3	674386,52	4251842,50	Pinoso	Pinoso	15	214 (1)	Bodega Cooperativa de "Pinoso"	Monastrell-V	39818	617,0	1,4
4	674535,28	4251970,01	Pinoso	Pinoso	15	214 (2,3)	Bodega Cooperativa de "Pinoso"	Monastrell-E	67240	614,5	1,4
5	674400,97	4252433,79	Pinoso	Pinoso	15	112	Bodega Cooperativa de "Pinoso"	Merseguera-V	16698	617,0	7,8
6	674927,78	4253738,10	Pinoso	Pinoso	15	39	Bodega Cooperativa de "Pinoso"	Garnacha Tintorera-V	28219	635,0	14,9
7	674571,98	4253971,67	Pinoso	Pinoso	15	26	Bodega Cooperativa de "Pinoso"	Garnacha Tintorera-V	54766	610,0	18,3
8	674916,97	4254748,64	Pinoso	Pinoso	8	123	Bodega Cooperativa de "Pinoso"	Monastrell-V	10484	590,0	5,0
9	673867,92	4255330,75	Pinoso	Pinoso	8	71	Bodega Cooperativa de "Pinoso"	Garnacha Tintorera-E	26532	609,0	5,3
10	673591,05	4255380,07	Pinoso	Pinoso	8	68	Bodega Cooperativa de "Pinoso"	Monastrell-E	74865	615,0	4,2
11	670335,10	4254578,43	Pinoso	Pinoso	27	8	Bodega Cooperativa de "Pinoso"	Syrah-E	42175	604,0	1,9
12	670133,92	4254643,34	Pinoso	Pinoso	27	58	Bodega Cooperativa de "Pinoso"	Tempranillo-E	33277	608,0	5,9
13	668398,27	4253743,44	Pinoso	Pinoso	29	197	Bodega Cooperativa de "Pinoso"	Monastrell-E	22069	630,0	3,6
14	668895,37	4253583,34	Pinoso	Pinoso	29	72	Bodega Cooperativa de "Pinoso"	Garnacha Tintorera-E	67926	614,0	7,7
15	668351,37	4252850,20	Pinoso	Pinoso	29	95	Bodega Cooperativa de "Pinoso"	Merlot-E	45418	610,0	5,3
16	670052,33	4250927,16	Pinoso	Pinoso	26	81	Bodega Cooperativa de "Pinoso"	Tempranillo-E	10395	560,0	9,5
17	670051,36	4251167,97	Pinoso	Pinoso	26	75	Bodega Cooperativa de "Pinoso"	Monastrell-V	33881	560,0	10,7
18	669571,99	4251767,10	Pinoso	Pinoso	26	115	Bodega Cooperativa de "Pinoso"	Monastrell-E	37312	575,0	3,5
19	669234,92	4249978,36	Pinoso	Pinoso	24	165	Bodega Cooperativa de "Pinoso"	Monastrell-V	21209	572,0	0,8
20	668350,93	4249185,10	Pinoso	Pinoso	22	42	Bodega Cooperativa de "Pinoso"	Monastrell-E	36874	590,0	4,5
21	670807,69	4248072,44	Pinoso	Pinoso	19	365	Bodega Cooperativa de "Pinoso"	Monastrell-E	12786	543,8	2,1
22	680925,98	4255002,19	Monóvar	Monóvar	37	54	Bodega "Sta. Catalina del Mañán"	Moscatel-E	138671	504,0	1,3
23	681215,23	4255508,21	Monóvar	Monóvar	37	18	Bodega "Sta. Catalina del Mañán"	Chardonnay-E	105618	504,0	1,2
24	682673,08	4258664,40	Monóvar	Monóvar	15	38	Bodega "Sta. Catalina del Mañán"	Merlot-E	20923	515,0	4,5
25	680620,80	4254869,50	Monóvar	Monóvar	37	62	Bodega "Sta. Catalina del Mañán"	Macabeo-E	19816	510,0	1,3
26	680654,37	4255894,37	Monóvar	Monóvar	9	123	Bodega "Sta. Catalina del Mañán"	Garnacha Tintorera-E	48085	514,0	1,4
27	682681,98	4258790,20	Monóvar	Monóvar	15	29	Bodega "Sta. Catalina del Mañán"	Chardonnay-E	13333	516,0	5,2
28	682103,75	4258936,60	Monóvar	Monóvar	15	11	Bodega "Sta. Catalina del Mañán"	Cabernet Sauvignon-E	56223	510,0	2,6
29	678142,68	4258484,52	Monóvar	Monóvar	5	109	Bodega "Sta. Catalina del Mañán"	Monastrell-E	6174	577,0	6,4
30	678639,76	4256825,07	Monóvar	Monóvar	8	250	Bodega "Sta. Catalina del Mañán"	Monastrell-E	2443	560,0	6,7
31	678411,80	4256842,48	Monóvar	Monóvar	8	255	Bodega "Sta. Catalina del Mañán"	Monastrell-E	3507	560,0	14,9
32	678219,54	4256636,68	Monóvar	Monóvar	8	3	Bodega "Sta. Catalina del Mañán"	Monastrell-V	12864	550,0	11,7
33	681007,98	4257251,98	Monóvar	Monóvar	16	18	Bodega "Sta. Catalina del Mañán"	Merlot-E	3444	504,0	1,3
34	681808,02	4257315,89	Monóvar	Monóvar	15	173	Bodega "Sta. Catalina del Mañán"	Petit Verdot-E	21045	500,8	0,7

V: vaso; E: espaldera

**Tabla 3.2.** Situación y descripción de las parcelas muestreadas en la Comarca del Vinalopó-Medio (continuación)

Código	Coordenadas UTM del centroide		Zona	Municipio	Polígono	Parcela	Bodega-Viticultor	Variedad Sistema plantación	Superficie (m <sup>2</sup> )	Altitud (msnm)	Pendiente (%)
	X	Y									
35	677582,86	4242175,95	La Algueña-Romana	Orihuela	1	80	Bod. Coop. "Algueña"	Monastrell-V	7614	487,0	7,4
36	674747,93	4246411,79	La Algueña-Romana	La Algueña	3	37	Bod. Coop. "Algueña"	Monastrell-V	13415	562,0	6,1
37	676945,23	4246215,83	La Algueña-Romana	La Algueña	4	141	Bod. Coop. "Algueña"	Monastrell-V	5500	617,5	12,2
38	675243,23	4245240,42	La Algueña-Romana	La Algueña	6	379	Bod. Coop. "Algueña"	Monastrell-V	28917	520,0	6,1
39	677624,06	4240684,08	La Algueña-Romana	Orihuela	1	203	Bod. Coop. "Algueña"	Monastrell-V	11771	443,0	8,1
40	675153,29	4244461,77	La Algueña-Romana	La Algueña	6	317	Bod. Coop. "Algueña"	Messeguera-E	5346	493,4	5,3
41	673457,79	4245362,40	La Algueña-Romana	La Algueña	6	83	Bod. Coop. "Algueña"	Monastrell-V	10531	503,5	3,2
42	672515,89	4245640,31	La Algueña-Romana	La Algueña	1	134	Bod. Coop. "Algueña"	Messeguera-V	17460	508,6	1,3
43	670203,49	4248642,54	La Algueña-Romana	Pinoso	23	146	Bod. Coop. "Algueña"	Garnacha Tinta-V	10590	555,0	2,4
44	672058,32	4245929,69	La Algueña-Romana	La Algueña	1	277	Bod. Coop. "Algueña"	Monastrell-V	51982	510,0	1,8
45	670968,06	4247382,27	La Algueña-Romana	Pinoso	19	331	Bod. Coop. "Algueña"	Garnacha Tinta-E	11160	556,0	3,4
46	670838,07	4247374,20	La Algueña-Romana	Pinoso	19	353	Bod. Coop. "Algueña"	Garnacha Tinta-E	6909	553,5	2,3
47	670842,45	4247429,00	La Algueña-Romana	Pinoso	19	355	Bod. Coop. "Algueña"	Garnacha Tinta-E	2753	553,5	1,9
48	673518,53	4245719,98	La Algueña-Romana	La Algueña	6	61	Bod. Coop. "Algueña"	Monastrell-V	7696	510,0	3,4
49	667501,40	4252838,77	La Algueña-Romana	Pinoso	29	123	Bod. Coop. "Algueña"	Monastrell-E	23135	634,0	10,0
50	672451,12	4247261,48	La Algueña-Romana	La Algueña	2	401	Bod. Coop. "Algueña"	Monastrell-V	17481	537,0	9,9
51	673695,31	4245282,75	La Algueña-Romana	La Algueña	6	129	Bod. Coop. "Algueña"	Messeguera-V	22297	507,0	3,3
52	693615,18	4253467,09	Novelda	Novelda	12	5	Bod. "Heretat de Cesilia"	Monastrell-E	10600	280,0	4,4
53	693416,76	4253872,08	Novelda	Novelda	12	5	Bod. "Heretat de Cesilia"	Syrah-E	10153	290,0	5,0
54	693631,87	4253690,29	Novelda	Novelda	12	5	Bod. "Heretat de Cesilia"	Cabernet Sauvignon-E	21710	285,0	2,6
55	693765,90	4252965,38	Novelda	Novelda	13	74	Bod. "Heretat de Cesilia"	Monastrell-V	20778	265,0	2,0
56	693960,80	4252983,92	Novelda	Novelda	13	95	Bod. "Heretat de Cesilia"	Moscatel grano menudo-E	19100	270,0	2,1

V: vaso; E: espaldera

### 3. Experimento 1. Estudio edafológico en suelos vitícolas del sureste mediterráneo



Figura 3.1. Localización de las parcelas muestreadas de la Comarca del Vinalopó-Medio.

#### 3.2.2 Muestreo y métodos analíticos

##### **Muestreo**

Para llevar a cabo el muestreo de suelo, cada parcela se dividió en zonas de características uniformes y de superficie inferior a 2 hectáreas. Se tomó el número de submuestras de suelo necesarias en cada zona, para que la muestra fuera lo más representativa posible de toda esta zona. Todas las submuestras tomadas se mezclaron en un recipiente y posteriormente se tomaron de 2 a 3 kg de suelo, que se metieron en una bolsa bien cerrada y etiquetada. La toma de muestra se hizo a la profundidad de 0-30 cm. Esta muestra se llevó al laboratorio y se extendió en bandejas de plástico para que se secase a temperatura ambiente y una vez seca se tamizó ( $\varnothing < 2$  mm).

##### **Métodos analíticos**

En las muestras de suelos tomadas se determinaron los siguientes parámetros:

- ✓ Parámetros físicos:
  - Granulometría
  - Textura
  - Elementos gruesos
  - Facción estable
- ✓ Parámetros físico-químicos:
  - pH
  - Conductividad eléctrica
  - Capacidad de intercambio catiónico

- ✓ Parámetros químicos:
  - Carbonato total equivalente
  - Caliza activa
  - Materia orgánica
  - Carbono orgánico
  - Yeso

Todas las determinaciones se hicieron por triplicado. Las técnicas analíticas empleadas para la determinación de estos parámetros se detallan en el anexo de los métodos analíticos.

### 3.2.3. Métodos estadísticos

En los suelos muestreados, se realizó un análisis de la varianza de una vía (ANOVA), para comprobar si existían diferencias estadísticamente significativas entre los valores medios de cada parámetro estudiado entre las distintas zonas de estudio del Vinalopó-Medio. En dicho ANOVA el factor considerado como independiente fue la zona. En el caso en el que la F-ANOVA mostró cierta significación, se empleó la prueba Tukey-b como prueba post-hoc para evaluar las diferencias entre las medias específicas, mostrándose en los resultados mediante el empleo de letras para una probabilidad del 95% ( $P < 0,05$ ).

Por otra parte, el tratamiento estadístico empleado para analizar la relación entre las propiedades del suelo estudiadas fue el análisis de factores principales (AFP). AFP se aplicó, en todos los parámetros estudiados, a los valores medios obtenidos de las tres repeticiones que se realizaron en cada determinación. Para el AFP se utilizó el método de rotación mediante normalización Varimax. Los parámetros considerados en este análisis estadístico fueron: pH, conductividad eléctrica y los porcentajes de elementos gruesos, materia orgánica, caliza activa, carbonato total equivalente, arena, limo, arcilla y fracción estable, así como, la capacidad de intercambio catiónico y el contenido de carbono orgánico y de yeso. Para el análisis de datos procedentes del estudio se usó el Programa estadístico SPSS Statistics versión 22.

### **3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### **3.3.1. Propiedades físicas de los suelos**

##### **3.3.1.1. Granulometría y textura**

En la tabla 3.3 se muestra los porcentajes de arena, limo y arcilla y la clase textural de los suelos estudiados. Todos los suelos presentan un predominio de arena frente a las fracciones de limo y arcilla, observándose tres clases texturales Arenosa, Areno franca y Franco arenosa.

Por lo tanto, estos suelos son suelos sueltos de poca cohesión, con una organización particulada, escasa capacidad de retención de agua y nutrientes, con una elevada porosidad y permeabilidad que facilita el drenaje y de este modo su desecación, son fácilmente penetrables por el sistema radicular y de baja dificultad de laboreo. La materia orgánica de estos suelos se mineraliza muy fácilmente y además son suelos calientes que adelantan la maduración de la uva. Los terrenos más adecuados para el cultivo de la vid son los suelos areno-francos, así como los suelos arenosos, teniendo estos últimos una gran resistencia filoxérica (Hidalgo, 2002).



**Tabla 3.3.** Porcentajes de arena, limo y arcilla y clase textural de los suelos estudiados.

Clave Suelo	% arena	% limo	% arcilla	Textura
1	86	13	1	Arenosa
2	85	13	2	Arenosa
3	84	8	8	Areno-Franca
4	84	14	2	Areno-Franca
5	83	9	8	Areno-Franca
6	86	8	6	Arenosa
7	87	6	7	Arenosa
8	86	7	8	Arenosa
9	85	6	9	Arenosa
10	86	7	7	Arenosa
11	89	5	6	Arenosa
12	87	6	7	Arenosa
13	83	9	8	Areno-Franca
14	84	8	8	Areno-Franca
15	85	6	9	Arenosa
16	88	6	6	Arenosa
17	87	6	7	Arenosa
18	81	9	10	Areno-Franca
19	76	13	10	Areno-Franca
20	74	13	12	Areno-Franca
21	70	18	12	Areno-Franca
22	76	10	13	Areno-Franca
23	75	11	14	Areno-Franca
24	81	9	10	Areno-Franca
25	78	10	12	Areno-Franca
26	76	13	12	Areno-Franca
27	83	7	10	Areno-Franca
28	77	11	12	Areno-Franca
29	75	13	12	Areno-Franca
30	73	12	14	Areno-Franca
31	75	13	13	Areno-Franca
32	78	11	12	Areno-Franca
33	78	11	12	Areno-Franca
34	66	17	17	Franco-Arenosa
35	75	9	16	Franco-Arenosa
36	75	12	13	Areno-Franca
37	75	11	14	Areno-Franca
38	74	13	13	Areno-Franca
39	74	12	14	Areno-Franca
40	75	11	14	Areno-Franca
41	77	9	14	Areno-Franca
42	72	23	5	Franco-Arenosa
43	73	13	14	Areno-Franca
44	75	13	12	Areno-Franca
45	77	13	10	Areno-Franca
46	76	13	11	Areno-Franca
47	78	10	12	Areno-Franca
48	78	10	12	Areno-Franca
49	76	10	14	Areno-Franca
50	76	13	11	Areno-Franca
51	77	10	13	Areno-Franca
52	78	10	12	Areno-Franca
53	77	11	12	Areno-Franca
54	78	9	13	Areno-Franca
55	80	8	12	Areno-Franca
56	73	11	16	Franco-Arenosa

Respecto al estudio conjunto de estos parámetros en las distintas zonas estudiadas, se puede observar que se encontraron grandes diferencias estadísticas entre los porcentaje medios de arena, limo y arcilla entre las diferentes zonas estudiadas (Tablas 3.4, 3.5 y 3.6). Los suelos

### 3. Experimento 1. Estudio edafológico en suelos vitícolas del sureste mediterráneo

de la zona de Pinoso presentaron un mayor contenido en arena que el resto de suelos estudiados. Sin embargo, esta zona tuvo un menor contenido de arcilla. No se observaron diferencias significativas en los contenidos de limo entre las zonas estudiadas.

**Tabla 3.4.** Valores medios, desviación del estándar e intervalo de valores del porcentaje de arena según la zona estudiada.

Zona	Media	Desviación del estándar	Intervalo
Pinoso	84 b	5	70-89
Monovar	76 a	4	66-83
La Algueña-Romana	75 a	2	72-78
Novelda	77 a	3	73-80
F-Anova	18,536***		

\*\*\*: significativo a  $P < 0,001$ .

Valores medios seguidos de la misma letra no son significativos ( $P < 0,05$ ) entre zonas.

**Tabla 3.5.** Valores medios, desviación del estándar e intervalo de valores del porcentaje de limo según la zona estudiada.

Zona	Media	Desviación del estándar	Intervalo
Pinoso	9 a	4	5-18
Monovar	11 a	2	7-17
La Algueña-Romana	12 a	3	9-23
Novelda	10 a	1	8-11
F-Anova	3,466 <sup>NS</sup>		

<sup>NS</sup>: no significativo.

Valores medios seguidos de la misma letra no son significativos ( $P < 0,05$ ) entre zonas.

**Tabla 3.6.** Valores medios, desviación del estándar e intervalo de valores del porcentaje de arcilla según la zona estudiada.

Zona	Media	Desviación del estándar	Intervalo
Pinoso	7 a	3	1-12
Monovar	13 b	2	10-17
La Algueña-Romana	13 b	2	5-16
Novelda	13b	2	12-16
F-Anova	20,319***		

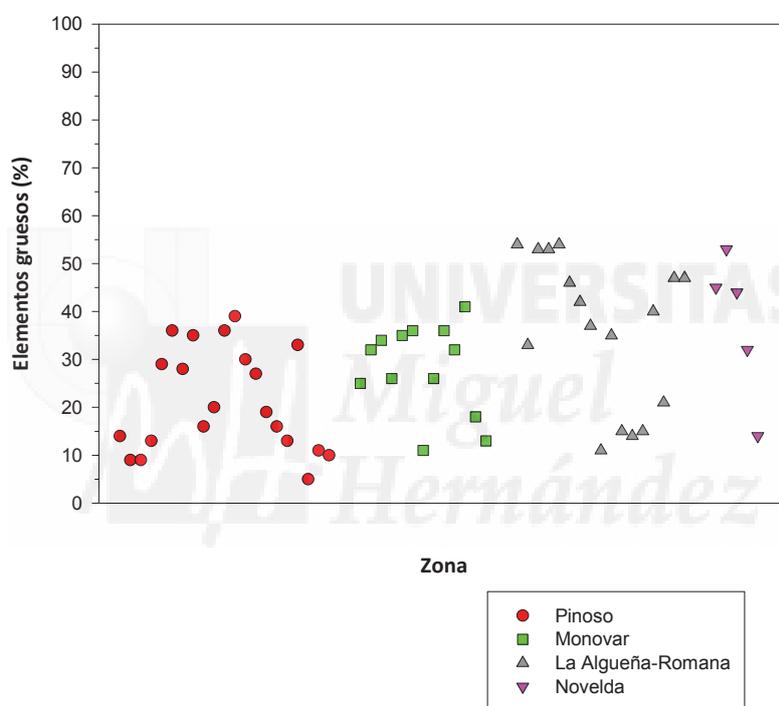
\*\*\*: significativo a  $P < 0,001$ .

Valores medios seguidos de la misma letra no son significativos ( $P < 0,05$ ) entre zonas.

### 3.3.1.2. Elementos gruesos

La mayoría de los suelos muestreados presentaron un porcentaje de elementos gruesos ( $\emptyset > 2\text{mm}$ )  $< 50\%$ , lo cual supone que no hayan limitaciones de uso del suelo, respecto al empleo de maquinaria, laboreo, etc. (Figura 3.2).

En relación a los valores medios de elementos gruesos en las distintas zonas estudiadas, se encontró que la zona de Monovar tuvo porcentajes intermedios de estas fracciones en comparación con los otros suelos estudiados, siendo los suelos de las zonas de la Algueña-Romana y Novelda los que mostraron estadísticamente los valores más altos de elementos gruesos (Tabla 3.7).



**Figura 3.2.** Porcentaje de elementos gruesos ( $\emptyset > 2\text{mm}$ ) de las parcelas muestreadas dentro de las diferentes zonas de las comarcas del Vinalopó-Medio.

**Tabla 3.7.** Valores medios, desviación del estándar e intervalo de valores del porcentaje de elementos gruesos en la profundidad de 0-30 cm, según la zona estudiada.

Zona	Media	Desviación del estándar	Intervalo
Pinoso	21 a	11	5-39
Monovar	28 ab	9	11-41
La Algueña-Romana	36 b	16	11-54
Novelda	38 b	15	14-53
F-Anova	5,357**		

\*\* : significativo a  $P < 0,01$ .

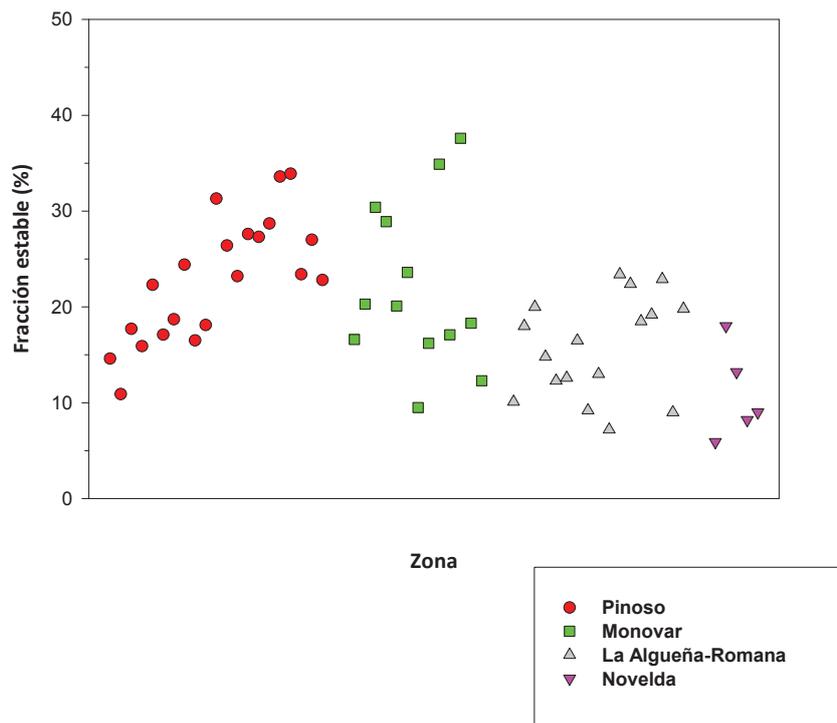
Valores medios seguidos de la misma letra no son significativos ( $P < 0,05$ ) entre zonas.

### 3.3.1.3. Estabilidad de agregados

La formación de agregados depende de las características climáticas, tales como temperatura y precipitación, y de varias propiedades del suelo: textura, minerales arcillosos, contenido de cationes, óxidos de aluminio y hierro y materia orgánica del suelo (Bronick y Lal, 2005; Abiven y col., 2009). La materia orgánica del suelo, los óxidos y carbonatos son los principales agentes involucrados en la estabilización de los agregados del suelo (Six y col., 2004).

El porcentaje de la fracción estable en los suelos estudiados, osciló entre un 6 y 38 % (Figura 3.3), siendo el valor medio de este parámetro de 20 %. Este valor medio estuvo muy por debajo del valor medio de estabilidad de agregados encontrado por Caravaca y col. (2004) en diferentes suelos cultivables del sureste español (40%) en la fracción de tamaño de partícula 0,2-4 mm. Este hecho indica que los suelos vitivinícolas de la comarca del Vinalopó Medio presentan un elevado riesgo de pérdida de suelo por escorrentías durante las lluvias torrenciales. Estas lluvias se producen de forma anual en periodos de tiempo cortos, principalmente a principios de otoño, produciendo un alto grado de erosión.

En la tabla 3.8 se puede observar que se encontraron grandes diferencias estadísticas entre los valores medios del porcentaje de fracción estable entre las diferentes zonas estudiadas. La zona con mayor riesgo de erosión sería la de Novelda, ya que sus suelos presentaron los menores valores de estabilidad de agregados.



**Figura 3.3.** Porcentaje de fracción estable (partículas de 1-2 mm) de las parcelas muestreadas dentro de las diferentes zonas de las comarcas del Vinalopó-Medio.

**Tabla 3.8.** Valores medios, desviación del estándar e intervalo de valores del porcentaje de fracción estable, según la zona estudiada.

Zona	Media	Desviación del estándar	Intervalo
Pinoso	23 b	6	11-34
Monovar	22 b	9	10-38
La Algueña-Romana	16 ab	5	7-23
Novelda	11 a	5	6-18
F-Anova	7,217***		

\*\*\*: significativo a  $P < 0,001$ .

Valores medios seguidos de la misma letra no son significativos ( $P < 0,05$ ) entre zonas.



**Tabla 3.9.** Valores medios de pH, desviación del estándar e intervalo de valores en la profundidad de 0-30 cm, según la zona estudiada.

Zona	Media	Desviación del estándar	Intervalo
Pinoso	8,24 a	0,25	7,80-8,70
Monovar	8,45 a	0,13	8,20-8,60
La Algueña-Romana	8,44 a	0,23	7,80-8,60
Novelda	8,42 a	0,27	8,00-8,70
F-Anova	3,185 <sup>NS</sup>		

<sup>NS</sup>: No significativo.

Valores medios seguidos de la misma letra no son significativos ( $P < 0,05$ ) entre zonas.

### 3.3.2.2. Conductividad eléctrica

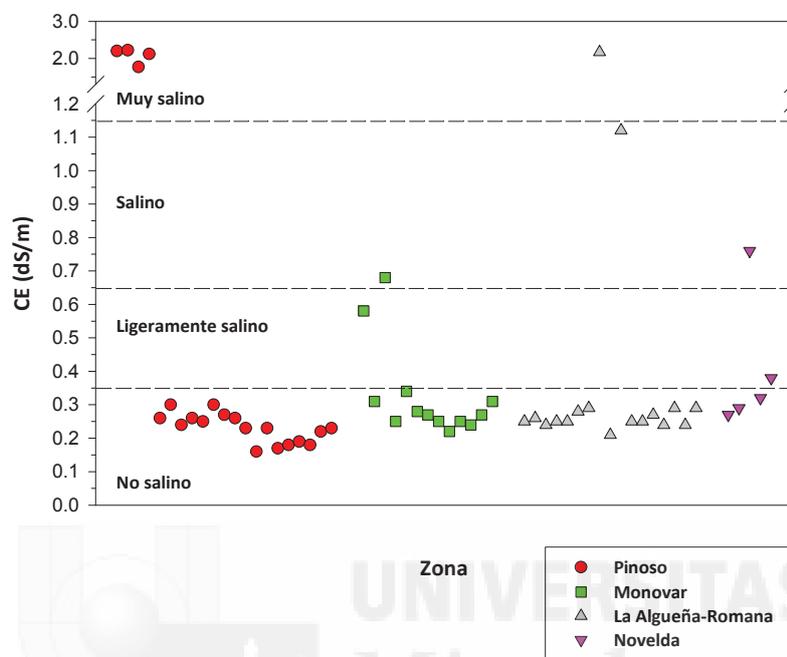
La salinidad del suelo es el principal factor limitante del cultivo de la vid. No se consideran perjudiciales los carbonatos, bicarbonatos y sulfatos de calcio por su baja solubilidad, pero sí los cloruros y sulfatos sódicos y magnésicos. *Vitis vinífera* llega a tolerar en buenas condiciones un contenido en sales que produzca una conductividad eléctrica, en el extracto de pasta saturada, de hasta 4,7 dS/m, pero es aconsejable que el valor de este parámetro no supere los 2,5-3,0 dS/m. Con el empleo de portainjertos el suelo no debe de tener un valor de conductividad eléctrica superior a 1,9-2,0 dS/m y ello con los más adaptados a dicha adversidad (Hidalgo, 2002).

La mayoría de los suelos estudiados tuvieron unos valores superficiales de conductividad eléctrica bajos, clasificándose de este modo como no salinos (Cros, 1983) (Figura 3.5). Solo algunos suelos de las zonas de Pinoso y La Algueña-Romana presentaron valores de este parámetro  $>1,15$  dS/m, clasificándose como suelos muy salinos. Este hecho puede deberse a que estos suelos se encontraban dentro del diapiro salino triásico que se encuentra en Pinoso. Estos diapiros son estructuras geológicas intrusivas, formadas por masas de evaporitas (sales, anhidrita y yesos) que proceden de niveles estratigráficos muy plásticos (sobre todo del Keuper). Estas estructuras cuando son sometidas a gran presión, ascienden por las capas sedimentarias de la corteza terrestre, atravesándolas y deformándolas (Estévez y col., 2004).

En relación a los valores medios de este parámetro en las zonas estudiadas, se observó que las zonas correspondientes a la comarca del Vinalopó Medio presentaron valores de conductividad eléctrica estadísticamente similares (Tabla 3.10). Las zonas con parcelas con altos contenidos de sales tuvieron unos valores de desviación del estándar también altos, debido a

### 3. Experimento 1. Estudio edafológico en suelos vitícolas del sureste mediterráneo

que los suelos cercanos a los diapiros salinos tuvieron un valor de conductividad eléctrica elevado en comparación con el resto de suelos muestreados dentro de estas zonas.



**Figura 3.5.** Valores de conductividad eléctrica (CE) de las parcelas muestreadas dentro de las diferentes zonas de la comarca del Vinalopó-Medio.

**Tabla 3.10.** Valores medios de conductividad eléctrica (dS/m), desviación del estándar e intervalo de valores en la profundidad de 0-30 cm, según la zona estudiada.

Zona	Media	Desviación del estándar	Intervalo
Pinoso	0,58 a	0,74	0,16-2,22
Monovar	0,33 a	0,13	0,22-0,68
La Algueña-Romana	0,42 a	0,49	0,21-2,17
Novelda	0,40 a	0,20	0,27-0,76
F-Anova	0,656 <sup>NS</sup>		

<sup>NS</sup>: No significativo.

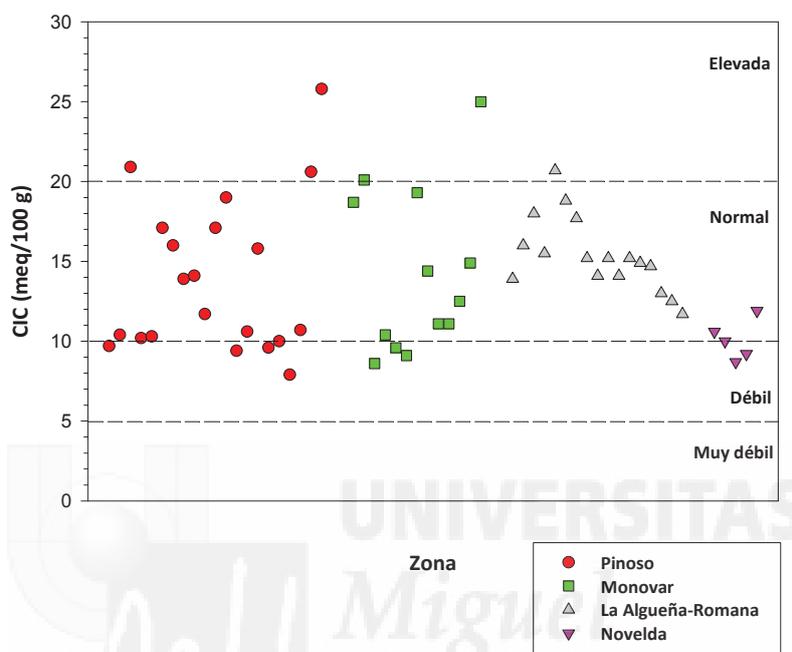
Valores medios seguidos de la misma letra no son significativos ( $P < 0,05$ ) entre zonas.

#### 3.3.2.3. Capacidad de intercambio catiónico

La mayoría de los suelos estudiados presentaron una capacidad de intercambio catiónico (CIC) normal (CIC entre 10-20 meq/100g) (Saña y col., 1996) (Figura 3.6). Los valores de CIC no fueron altos posiblemente debido a que el contenido de arcillas y de materia orgánica de los suelos no fue alto. La relación positiva entre la CIC y el contenido de arcillas y materia

orgánica del suelo fue observado por Heeper y col. (2006) en un estudio sobre los efectos de las cenizas volcánicas en el tipo de mineral que constituye la fracción de las arcillas y sobre diferentes propiedades físico-químicas del suelo.

En la tabla 3.11 se puede observar que no se encontraron diferencias estadísticas entre los valores medios de CIC de las diferentes zonas estudiadas.



**Figura 3.6.** Valores de capacidad de intercambio catiónico (CIC) de las parcelas muestreadas dentro de las diferentes zonas de la comarca del Vinalopó-Medio.

**Tabla 3.11.** Valores medios de capacidad de intercambio catiónico (CIC), desviación del estándar e intervalo de valores en la profundidad de 0-30 cm, según la zona estudiada.

Zona	Media	Desviación del estándar	Intervalo
Pinoso	13,8 a	4,8	7,9-25,8
Monovar	14,2 a	5,1	8,6-25,0
La Algueña-Romana	15,4 a	2,3	11,7-20,7
Novelda	10,1 a	1,3	8,7-11,9
F-Anova	2,184 <sup>NS</sup>		

<sup>NS</sup>: No significativo.

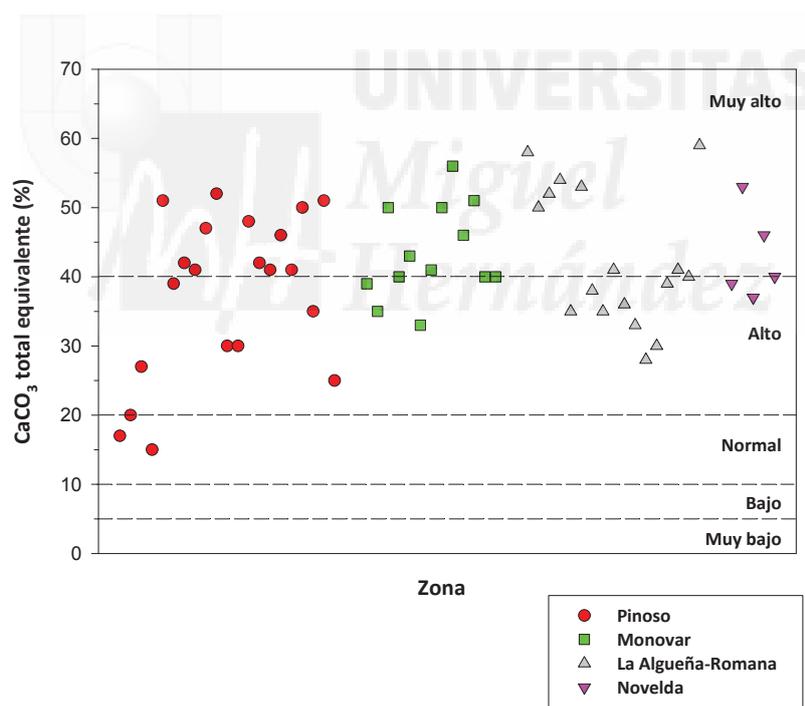
Valores medios seguidos de la misma letra no son significativos ( $P < 0,05$ ) entre zonas.

### 3.3.3. Propiedades químicas de los suelos

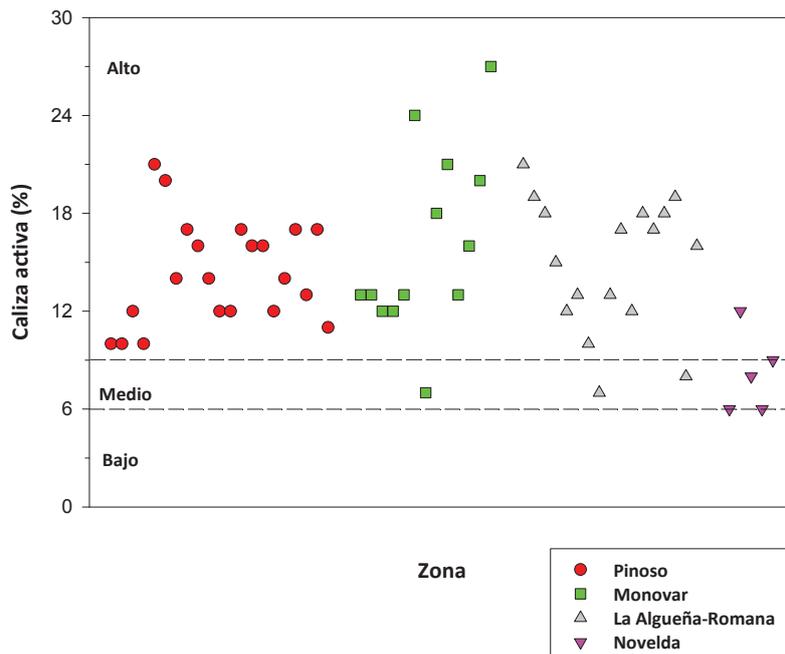
#### 3.3.3.1. Carbonato cálcico total equivalente y caliza activa

Un exceso de carbonato cálcico total equivalente y específicamente de caliza activa (fracción de carbonatos susceptible de solubilizarse en la disolución acuosa de  $\text{CO}_2$  que existe en el suelo) produce un gran debilitamiento de los viñedos no resistentes, como consecuencia de una acusada clorosis (Hidalgo, 2002). Sin embargo, hay autores que indican que los suelos calizos, son conocidos por la producción de vinos de alta calidad en general, tales como en la región de Burdeos, donde los mejores vinos se producen en suelos muy diferentes entre los que se encuentran los suelos alcalinos calizos (Ausone) (Van Leeuwen y Seguin, 2006).

La mayoría de los suelos estudiados mostraron un contenido alto o muy alto tanto de carbonato cálcico total equivalente como de caliza activa,  $\text{CaCO}_3$  total equivalente entre 20-40% ó  $> 40\%$  y caliza activa  $> 9\%$  (Yanez, 1989), (Figuras 3.7 y 3.8).



**Figura 3.7.** Porcentaje de  $\text{CaCO}_3$  total equivalente de las parcelas muestreadas dentro de la diferentes zonas de la comarca del Vinalopó-Medio.



**Figura 3.8.** Porcentaje de caliza activa de las parcelas muestreadas dentro de las diferentes zonas de la comarca del Vinalopó-Medio.

En las tablas 3.12 y 3.13 se muestran los porcentajes medios de  $\text{CaCO}_3$  total equivalente y de caliza activa de las zonas estudiadas. No se encontraron diferencias estadísticas entre los valores medios de  $\text{CaCO}_3$  total equivalente de las diferentes zonas estudiadas. Los suelos de la zona de Novelda presentaron los porcentajes más bajos de caliza activa en comparación con el resto de suelos de las zonas estudiadas.

**Tabla 3.12.** Porcentajes medios de  $\text{CaCO}_3$  total equivalente, desviación del estándar e intervalo de valores en la profundidad de 0-30 cm, según la zona estudiada.

Zona	Media	Desviación del estándar	Intervalo
Pinoso	38 a	12	15-52
Monovar	43 a	7	33-56
La Algueña-Romana	43 a	10	28-59
Novelda	43 a	7	37-53
F-Anova	1,290 <sup>NS</sup>		

<sup>NS</sup>: No significativo.

Valores medios seguidos de la misma letra no son significativos ( $P < 0,05$ ) entre zonas.

### 3. Experimento 1. Estudio edafológico en suelos vitícolas del sureste mediterráneo

**Tabla 3.13.** Porcentajes medios de caliza activa, desviación del estándar e intervalo de valores en la profundidad de 0-30 cm, según la zona estudiada.

Zona	Media	Desviación del estándar	Intervalo
Pinoso	14 b	3	10-21
Monovar	16 b	6	7-27
La Algueña-Romana	15 b	4	7-21
Novelda	8 a	3	6-12
F-Anova	4,604**		

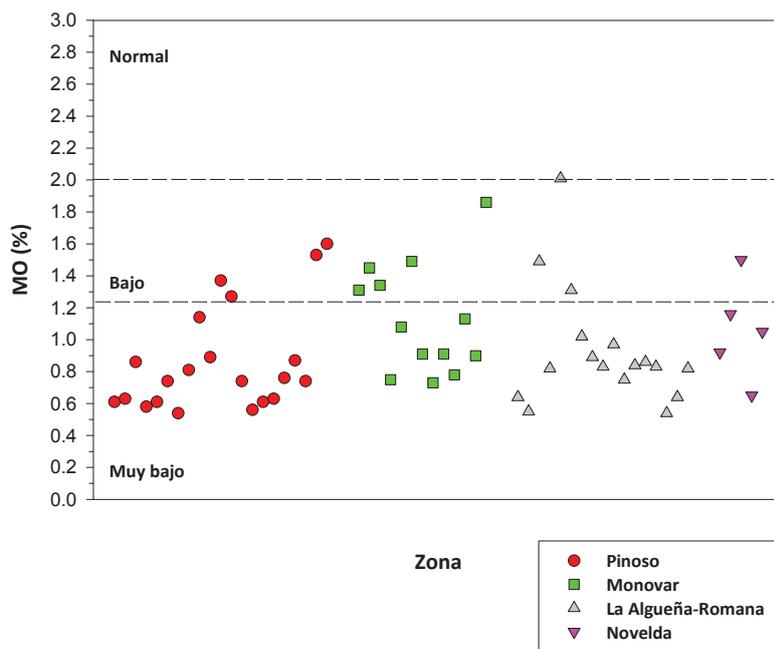
\*\* : significativo a  $P < 0,01$ .

Valores medios seguidos de la misma letra no son significativos ( $P < 0,05$ ) entre zonas.

#### 3.3.3.2. Materia orgánica

La materia orgánica mejora la fertilidad del suelo, pero en el caso del cultivo de la vid, los suelos ricos en materia orgánica son menos aptos para este cultivo, ya que esto aunque favorece la obtención de grandes producciones, las calidades del fruto y del mosto obtenidas son bajas (Van Leeuwen y Seguin, 2006). Sin embargo, la mayor parte de los suelos vitivinícolas están muy degradados en función de los siguientes factores; su bajo contenido y pérdida progresiva de materia orgánica, que contribuye al aumento de la erosión y la disminución de nutrientes para la planta (Le Bissonais y col., 2007; Martínez-Casasnovas y Ramos, 2009). De este modo, el aumento de la materia orgánica de los suelos vitivinícolas es de gran importancia para la mejora de la calidad del suelo, debido a que se aportan al suelo elementos nutritivos que necesita la planta en baja concentración y de lenta asimilación, mejora la estructura del suelo, aumenta su capacidad de retención de agua y la aireación y posibilita el desarrollo y la acción de la flora microbiana responsable de las indispensables transformaciones biológicas (Morlat y Chaussod, 2008; Rubio y col., 2013). Se estima que el viticultor deberá alcanzar y mantener durante el período productivo del viñedo un nivel mínimo de materia orgánica de aproximadamente un 2% (Hidalgo, 2002).

En los suelos muestreados el contenido de materia orgánica fue muy bajo (materia orgánica  $< 1,25$  %) o bajo (materia orgánica entre 1,25-2,00 %) (Yanez, 1989) (Figura 3.9). Este hecho puede ser debido a que en los suelos de texturas gruesas la materia orgánica se mineraliza muy fácilmente, a que son suelos sin cubierta vegetal con una reposición de materia orgánica baja y con laboreo. Bustamante y col. (2011), en un experimento a largo tiempo de aplicación de estiércol y compost a suelos vitivinícolas calizos del sureste español, estimaron que la materia orgánica del viñedo debería de reponerse cada tres años como máximo.



**Figura 3.9.** Porcentaje de materia orgánica (MO) de las parcelas muestreadas dentro de las diferentes zonas de la comarca del Vinalopó-Medio.

En relación con los porcentajes medios de materia orgánica de los suelos de las zonas estudiadas, no se encontraron diferencias significativas en los valores de este parámetro en los suelos de las diferentes zonas estudiadas (Tabla 3.14). Este hecho indica la necesidad de la implantación de programas de fertilización orgánica llevados a cabo por la bodega o el viticultor en toda el área estudiada.

**Tabla 3.14.** Porcentajes medios de materia orgánica, desviación del estándar e intervalo de valores en la profundidad de 0-30 cm, según la zona estudiada.

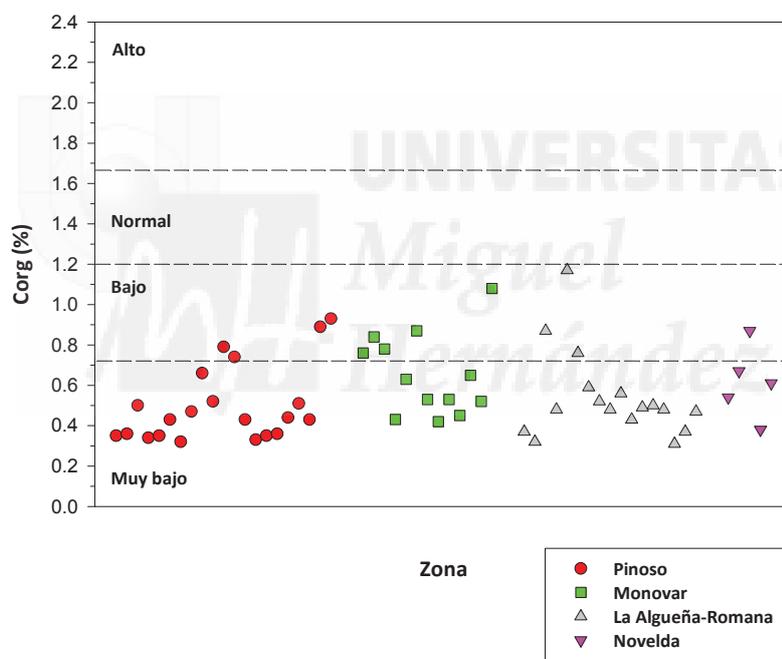
Zona	Media	Desviación del estándar	Intervalo
Pinoso	0,86 a	0,32	0,54-1,60
Monovar	1,13 a	0,34	0,73-1,86
La Algueña-Romana	0,93 a	0,36	0,54-2,01
Novelda	1,06 a	0,31	0,65-1,50
F-Anova	1,766 <sup>NS</sup>		

<sup>NS</sup>: No significativo.

Valores medios seguidos de la misma letra no son significativos ( $P < 0,05$ ) entre zonas.

### 3.3.3.3. Carbono orgánico

Los resultados obtenidos en los suelos muestreados en la zona de estudio indican que los contenidos de carbono orgánico fueron bajos o muy bajos (Yanez, 1989) (Figura 3.10). Estas zonas con bajo contenido en carbono orgánico, presentan un elevado potencial para el almacenamiento de carbono dentro del carbono orgánico, a través de prácticas de manejo agrícola adecuadas. De acuerdo con Freibauer y col. (2004), prácticas agrícolas tales como la labranza o no del terreno presentan una tasa potencial de secuestro de C de unos 0,4 o < 0,4 t Corg/ha año, respectivamente. Del mismo modo, el empleo de diferentes tipos de fertilizante orgánico también proporciona distintas tasas potenciales de secuestro de C de unos 0,4-1,5 t Corg/ha año con estiércol de animal; 0,2-0,7 t Corg/ha año con residuos agrícolas; 0,3 t Corg/ha año con lodo de depuración de aguas residuales y 0,4 t Corg/ha año con compost.



**Figura 3.10.** Porcentaje de carbono orgánico (Corg) de las parcelas muestreadas dentro de las diferentes zonas de la comarca del Vinalopó-Medio.

En relación con los porcentajes medios de carbono orgánico de los suelos de las zonas estudiadas, no se encontraron diferencias significativas en los valores de este parámetro (Tabla 3.15), tal y como también se observó en el porcentaje de materia orgánica.

**Tabla 3.15.** Porcentajes medios de carbono orgánico, desviación del estándar e intervalo de valores en la profundidad de 0-30 cm, según la zona estudiada.

Zona	Media	Desviación del estándar	Intervalo
Pinoso	0,49 a	0,18	0,31-0,92
Monovar	0,65 a	0,19	0,42-1,07
La Algueña-Romana	0,53 a	0,21	0,31-1,16
Novelda	0,61 a	0,17	0,37-0,86
F-Anova	1,767 <sup>NS</sup>		

<sup>NS</sup>: No significativo.

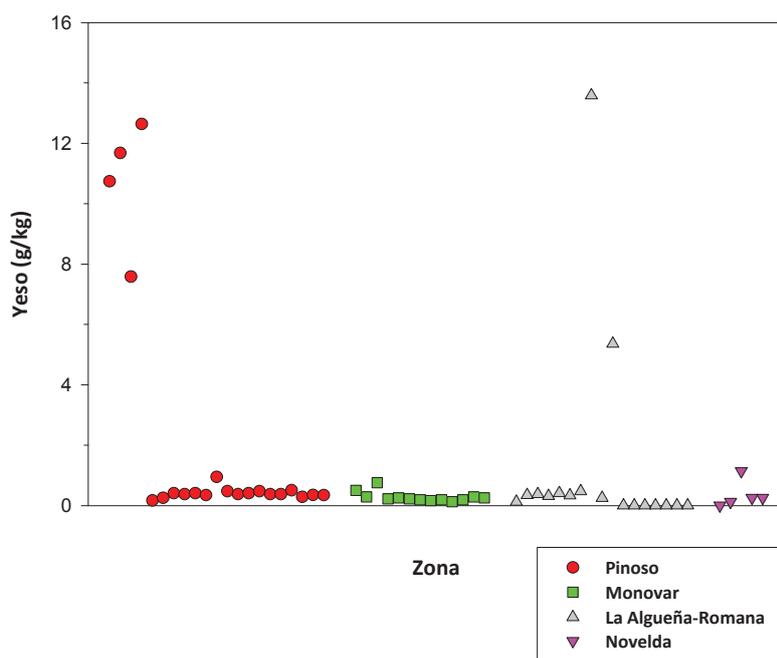
Valores medios seguidos de la misma letra no son significativos ( $P < 0,05$ ) entre zonas.

#### 3.3.3.4. Yeso

La mayoría de los suelos muestreados presentaron un contenido de yeso  $< 1$  g/kg (Figura 3.11). Solo algunos suelos de las zonas de Pinoso y La Algueña-Romana presentaron valores de este parámetro altos (yeso = 5-15 g/kg). Este hecho puede deberse a que estos suelos se encontraban dentro del diapiro salino triásico que se encuentra en Pinoso, constituidos principalmente por yesos (Estévez y col., 2004).

En relación a los valores medios de este parámetro en las zonas estudiadas, se observó que las zonas correspondientes a la comarca del Vinalopó Medio presentaron contenidos de yeso estadísticamente similares (Tabla 3.16). Las zonas con parcelas con altos contenidos de yeso tuvieron unos valores de desviación del estándar también altos, debido a que los suelos cercanos a los diapiros salinos tuvieron un contenido de yeso elevado en comparación con el resto de suelos muestreados dentro de estas zonas.

### 3. Experimento 1. Estudio edafológico en suelos vitícolas del sureste mediterráneo



**Figura 3.11.** Concentración de yeso de las parcelas muestreadas dentro de las diferentes zonas de la comarca del Vinalopó-Medio.

**Tabla 3.16.** Contenidos medios de yeso, desviación del estándar e intervalo de valores en la profundidad de 0-30 cm, según la zona estudiada.

Zona	Media	Desviación del estándar	Intervalo
Pinoso	2,359 a	4,215	0,167-12,637
Monovar	0,281 a	0,170	0,126-0,758
La Algueña-Romana	1,271 a	3,418	0,002-13,590
Novelda	0,354 a	0,451	0,001-1,139
F-Anova	1,317 <sup>NS</sup>		

<sup>NS</sup>: No significativo.

Valores medios seguidos de la misma letra no son significativos ( $P < 0,05$ ) entre zonas.

### 3.3.4. Análisis de factores principales

El análisis de factores principales (AFP) se aplicó a todos los parámetros analizados (n=13), indicados en el apartado de material y métodos. En el modelo propuesto, el valor obtenido de KMO (Medida de adecuación muestral de Kaiser-Meyer-Olkin) fue superior a 0,5 (KMO = 0,619) y el P-valor fue de 0,000 para la prueba de esfericidad de Barlett. Adicionalmente, ninguna de las variables consideradas presentó un valor de extracción < 0,5. Todo esto indicó que el modelo considerado fue el adecuado.

Mediante el establecimiento de 4 factores principales, el modelo fue capaz de explicar el 78,8 % de la variabilidad, según la siguiente contribución de cada factor principal: Factor 1: 33,1 %; Factor 2: 23,4 %; Factor 3: 13,2 % y Factor 4: 9,1 %. En la tabla 3.17 se muestra la matriz de componentes rotados.

**Tabla 3.17.** Matriz de componentes rotados

	Factores			
	1	2	3	4
<b>Varianza explicada (%)</b>	33,1	23,4	13,2	9,1
<b>Varianza acumulada (%)</b>	33,1	56,5	69,7	78,8
<b>Yeso</b>	-0,897	-0,185	0,190	0,128
<b>CE</b>	-0,897	-0,150	0,188	0,165
<b>pH</b>	0,846	-0,122	0,064	0,050
<b>CaCO<sub>3</sub></b>	0,796	-0,113	-0,008	0,156
<b>Arcilla</b>	0,713	0,341	0,489	0,028
<b>MO</b>	0,053	0,976	0,057	0,093
<b>Corg</b>	0,053	0,975	0,058	0,095
<b>CIC</b>	-0,014	0,632	0,322	-0,291
<b>Arena</b>	-0,303	-0,301	-0,872	0,035
<b>Limo</b>	-0,275	0,098	0,857	-0,068
<b>Fracción estable</b>	0,180	0,064	-0,623	-0,456
<b>Elementos gruesos</b>	0,443	0,150	-0,022	0,723
<b>Caliza activa</b>	0,430	0,070	-0,047	-0,577

*CE: conductividad eléctrica; Corg: carbono orgánico; MO: materia orgánica; CIC: capacidad de intercambio catiónico.*

Se representan en sombreado las diferentes variables agrupadas en cada componente, en función su mayor valor absoluto. Este valor es directamente proporcional a la capacidad del componente principal para explicar la variabilidad observada en esa variable concreta,

### 3. Experimento 1. Estudio edafológico en suelos vitícolas del sureste mediterráneo

agrupándose en cada componente principal, aquellas variables que poseen comportamientos similares entre sí, permitiendo por tanto este modelo reducir las variables.

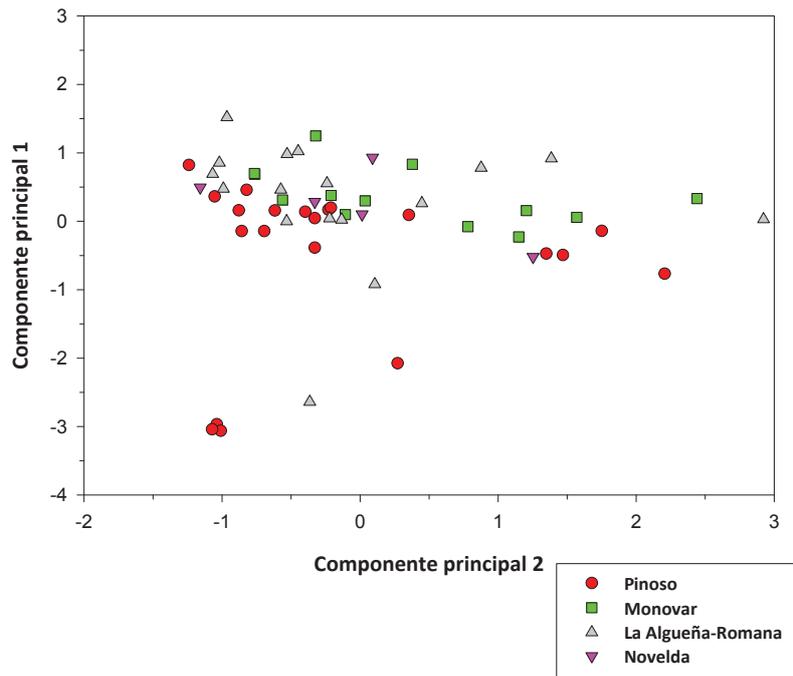
En el factor principal 1 se agruparon las variables contenidos de yeso,  $\text{CaCO}_3$ total y arcilla, CE (conductividad eléctrica) y pH. El contenido de yeso y la CE estuvieron correlacionados de forma negativa con todos los parámetros asociados al factor principal 1 (Tabla 3.17).

En el factor principal 2 se agruparon las variables porcentaje de materia orgánica (MO), contenido de carbono orgánico y capacidad de intercambio catiónico (CIC) (Tabla 3.17). De este modo, los valores de CIC de los suelos de las zonas estudiadas dependieron en mayor medida del contenido de MO que de arcilla.

En el factor principal 3 se agruparon las variables contenidos de limo y arena y el porcentaje de fracción estable. Los porcentajes de arena y fracción estable estuvieron correlacionados de forma negativa con el porcentaje de limo (Tabla 3.17).

En el factor principal 4 se agruparon las variables porcentajes de elementos gruesos y caliza activa, correlacionándose de forma negativa la última variable con la primera (Tabla 3.17).

En la figura 3.12 se muestran los resultados del AFP basado en los datos obtenidos de los parámetros estudiados en los suelos muestreados. En general, todas las parcelas estudiadas se agruparon, indicando una aptitud similar para el cultivo de la vid. Solo algunas parcelas de las zonas de Pinoso y La Algueña-Romana se separaron del resto del grupo. Estas parcelas tuvieron en común los altos contenidos de yeso y de valores de conductividad eléctrica.



**Figura 3.12.** Resultados del Análisis de Factores Principales basado en los datos obtenidos de los parámetros estudiados en los suelos muestreados dentro de las diferentes zonas de la comarca del Vinalopó-Medio.



### 3.4. CONCLUSIONES DEL EXPERIMENTO

Respecto al trabajo realizado se pueden extraer las siguientes conclusiones:

- ✓ *Los suelos estudiados del sureste mediterráneo en la comarca del Vinalopó-Medio tuvieron una granulometría y textura adecuada para el cultivo de la vid, ya que la mayoría de los suelos se clasificaron como areno-francos y arenosos. Este tipo de suelos reduce la proliferación de hongos fitopatógenos, debido a que son suelos con escasa capacidad de retención de agua y con una elevada porosidad y permeabilidad que facilita el drenaje.*
- ✓ *El porcentaje fracción estable de las partículas del suelo de entre 1-2 mm estuvo alrededor del 20%.*
- ✓ *El contenido de sales de los suelos estudiados fue bajo y no se alcanzó en ninguna zona valores de conductividad eléctrica limitante para el cultivo de la vid.*
- ✓ *Sin embargo, los valores de pH y los porcentajes de caliza activa y carbonato cálcico total equivalente de estos suelos fueron altos, como es normal en los suelos calcáreos que predominan en el sureste español. Estos factores conllevan a la necesidad de la fertilización del suelo con sales de hierro para reducir la llamada "clorosis férrica" (carencia de hierro) que aparece en vides cultivadas en este tipo de suelos.*
- ✓ *La mayoría de los suelos estudiados presentaron un contenido de materia orgánica, carbono orgánico y valores de capacidad de intercambio catiónico no adecuados para el cultivo de la vid. Estos parámetros fueron muy bajos, indicando la necesidad de reposición de materia orgánica para contrarrestar los factores que la reducen en el suelo tales como, la ausencia de cubierta vegetal, la alta mineralización de la fracción orgánica debido a que son suelos con textura gruesa y con laboreo y la toma de nutrientes por parte del cultivo.*
- ✓ *El contenido de yeso de los suelos fue elevado en las parcelas cercanas al diapiro salino triásico que se encuentra en Pinoso.*
- ✓ *El análisis multivariante mostró que en general, todas las parcelas tuvieron una aptitud similar para el cultivo de la vid, separándose del grupo las parcelas con altos contenidos de yeso y altos valores de conductividad eléctrica.*



## 4. EXPERIMENTO 2: DINÁMICA DE CARBONO Y NITRÓGENO EN DIFERENTES ENMIENDAS APLICADAS EN SUELOS VITIVINÍCOLAS DEL SURESTE MEDITERRÁNEO



## 4. EXPERIMENTO 2. Dinámica del carbono y nitrógeno de diferentes enmiendas aplicadas en suelos vitivinícolas del sureste mediterráneo



### Índice:

<b>4.1 OBJETIVOS DEL EXPERIMENTO</b>	<b>77</b>
<b>4.2 MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>79</b>
4.2.1 Planteamiento de la experiencia	79
4.2.1.1 Dispositivo experimental	80
4.2.1.2 Desarrollo experimental	88
4.2.2 Métodos analíticos	92
4.2.2.1 Toma y Preparación de la muestra	92
4.2.2.2 Parámetros analizados en suelos	92
4.2.2.3 Parámetros analizados en las enmiendas orgánicas	93
4.2.3. Métodos estadísticos	93
<b>4.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>94</b>
4.3.1 Evolución de la reacción del suelo	94
4.3.2 Evolución de la conductividad eléctrica del suelo	98
4.3.3 Evolución del nitrógeno orgánico	100
4.3.4 Evolución del nitrógeno en forma de amonio	104
4.3.5. Evolución del nitrógeno nítrico	107
4.3.6 Evolución del carbono orgánico oxidable	111
4.3.7 Evolución de la respiración edáfica del suelo	114
<b>4.4 CONCLUSIONES DEL EXPERIMENTO</b>	<b>117</b>



#### **4.1 OBJETIVOS DEL EXPERIMENTO**

Estudiar los efectos de la aplicación de diferentes enmiendas orgánicas sobre las propiedades del suelo, evaluando distintas variables de manejo agrícola de los sistemas vitivinícolas como:

- ✓ *Fertilización: orgánica o sin fertilización*
- ✓ *Sistemas de riego: riego por goteo o secano*
- ✓ *Conducción de la planta: vaso o espaldera*
- ✓ *Variedad de uva: autóctona o importada*

Con el fin de determinar las condiciones de cultivo de la vid que conlleven a una mejora de la fertilidad del suelo.





## 4.2 MATERIAL Y MÉTODOS

### 4.2.1 Planteamiento de la experiencia

Para el desarrollo del experimento y la consecución de los objetivos marcados el experimento se llevó a cabo en tres parcelas con dos variedades diferentes (variedad autóctona: Monastrell; variedad importada: Cabernet Sauvignon) y con diferente sistema de conducción de la uva (vaso y espaldera) y riego o secano (Figura 4.1):

- ✓ Parcela con Cabernet Sauvignon (Polígono 15; parcela 11): Tipo de conducción en Espaldera.
- ✓ Parcela con Monastrell (Polígono 15; parcela 115): Tipo de conducción en Vaso y Secano.
- ✓ Parcela con Monastrell (Polígono 15; parcela 109): Tipo de conducción en Espaldera.



**Figura 4.1.** Esquema del diseño experimental.

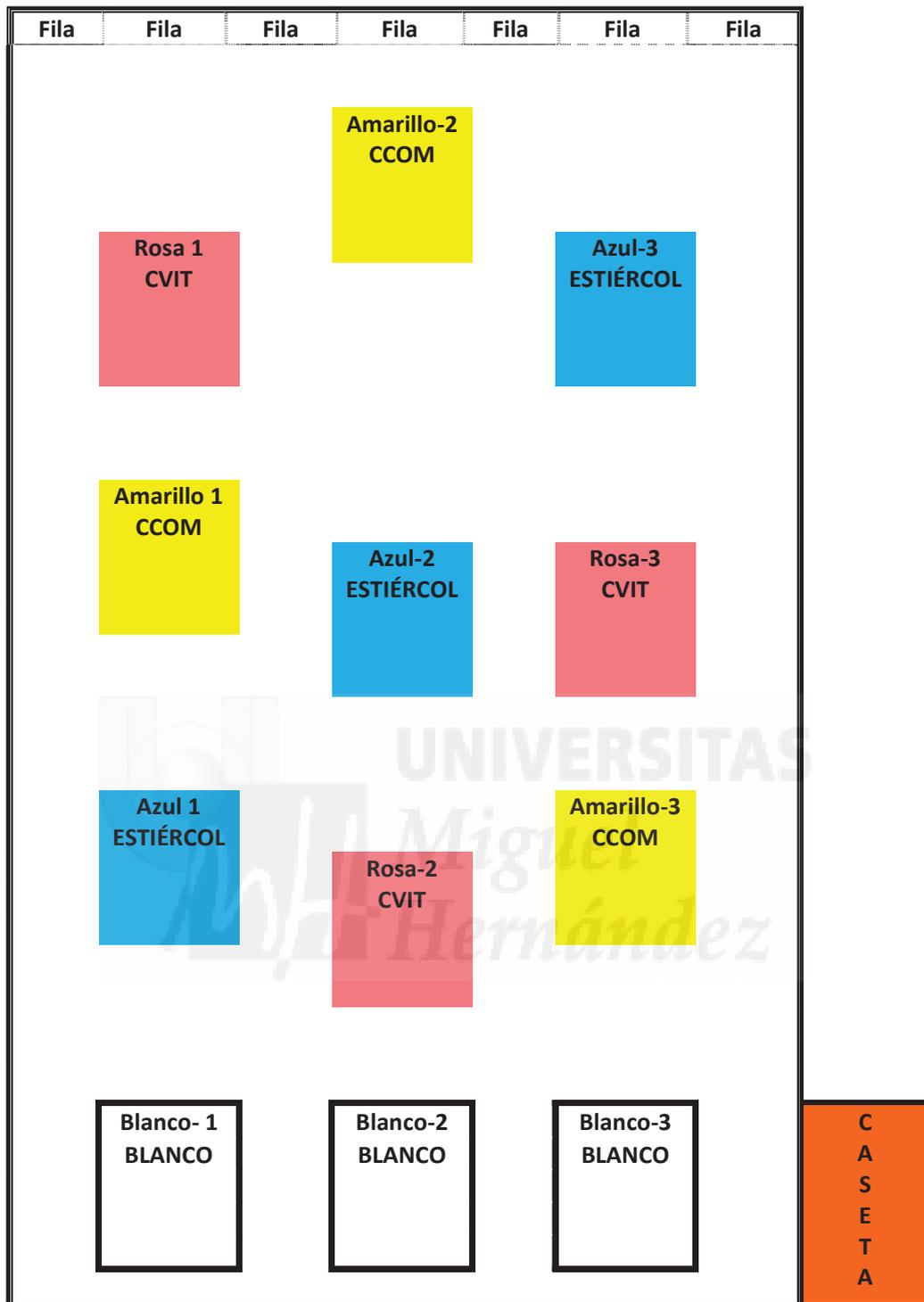
Para la realización del ensayo se evaluaron 3 tipos de enmiendas orgánicas y un tratamiento control que no tuvo fertilización (Tabla 4.1). Se estableció una dosis de aplicación para cada enmienda, calculada en función del contenido de nitrógeno total aportado en cada caso. De tal forma, que el nitrógeno aportado fuera de 170 kg de N/ha, de acuerdo a la Directiva CEE/676/91 para zonas vulnerables a la contaminación por nitratos procedentes de la agricultura.

**Tabla 4.1.** Descripción de las enmiendas orgánicas empleadas.

Denominación	Descripción
CVIT	Compost de residuos vitivinícolas
CCOM	Compost comercial
EST	Estiércol de oveja+cabra
B	Tratamiento control, sin fertilización

#### 4.2.1.1 Dispositivo experimental

El experimento se desarrolló en el municipio de Monovar, territorio amparado bajo la Denominación de Origen de Alicante, en estrictas condiciones de campo. Como se ha comentado en el apartado anterior, en cada parcela se emplearon cuatro tratamientos diferentes (C, EST, CVIT y CCOM) con tres repeticiones cada uno. Con lo cual, cada una de las parcelas elegidas para la experiencia se dividió en 12 subparcelas, cada una de las cuales tenía 10 viñas. Estas subparcelas tenían una superficie de 50 m<sup>2</sup> y 44 m<sup>2</sup>, para las parcelas con sistema de conducción en vaso o espaldera, respectivamente. Esta diferencia de superficie, según el tipo de conducción, está de acuerdo con la densidad de plantación de las parcelas ensayadas (sistema de conducción en vaso = 2000 cepas/ha y sistema de conducción en espaldera = 2300 cepas/ha). Las subparcelas se distribuyeron aleatoriamente para reducir la influencia de los factores externos, como se muestra en los esquemas de las figuras 4.2, 4.3 y 4.4.



## CAMINO

Figura 4.2. Esquema de parcela de viña variedad Monastrell en vaso-secano.

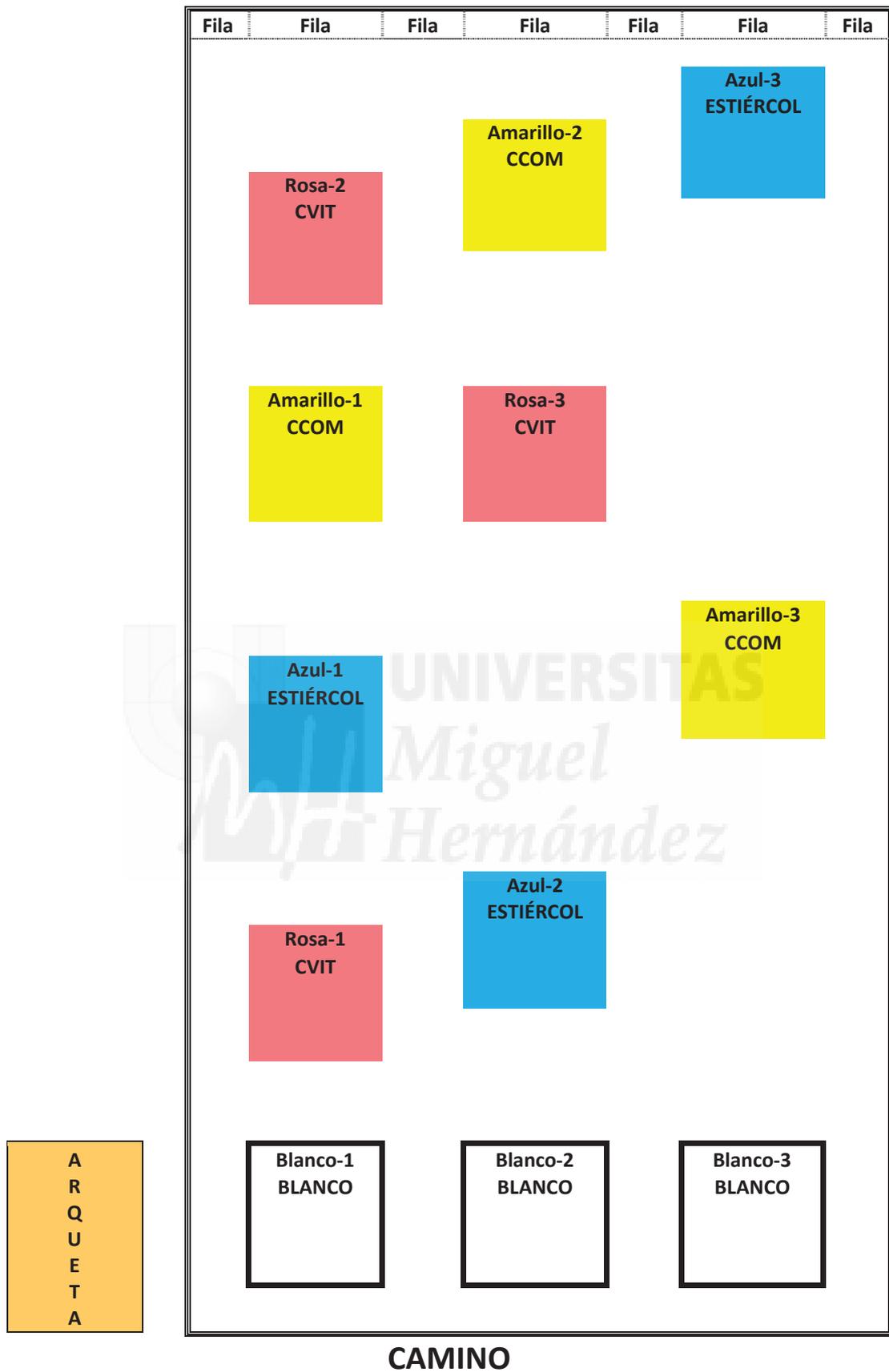


Figura 4.3. Esquema de parcela de viña variedad Monastrell en espaldera-regadío.



4. Experimento 2. Dinámica del Carbono y Nitrógeno de diferentes enmiendas en suelos mediterráneos



**Figura 4.5.** Parcela de variedad Monastrell en vaso (SIGPAC, 2015).



**Figura 4.6.** Parcela de variedad Monastrell en espaldera (SIGPAC, 2015).



**Figura 4.7.** Parcela de variedad Cabernet Sauvignon en espaldera (SIGPAC, 2015).

**Tabla 4.2.** Coordenadas UTM de las parcelas.

Parcela	X:	Y:
Monastrell Vaso	681.880,26	4.257.920,26
Cabernet Sauvignon	681.993,70	4.258.728,63
Monastrell Espaldera	681.881,26	4.257.920,26

### Suelo

Los suelos utilizados en este experimento tienen características similares con escasas diferencias. Son suelos de textura areno-franca, procedente de fincas situadas dentro de la Denominación de Origen Protegida de Alicante, ubicados en el término municipal de Monovar (Alicante). También, estos suelos se caracterizan por ser suelos típicos del sureste mediterráneo, de zonas semiáridas, clasificados como Xeric Haplocalcids (Soil Survey Staff, 2014). Las características de los suelos estudiados en este experimento se muestran en la tabla 4.3. Los suelos presentan un pH básico y muy bajos contenidos de carbono orgánico, así como bajos contenidos de nitrógeno, muy bajos de fósforo y normales de potasio. Además, los suelos son no salinos y con contenidos altos en caliza activa (Saña Vilaseca y col., 1996).

**Tabla 4.3.** Análisis físico-químico de los suelos (datos expresados sobre materia seca)

Parámetro	Unidad	Parcela M-V	Parcela M-E	Parcela CS-E
pH	-	8,38	8,28	8,25
Conductividad eléctrica	(dS/m)	0,26	0,28	0,27
Arena	(%)	81	79	71
Limo	(%)	10	8	14
Arcilla	(%)	9	13	15
<b>Textura</b>		Areno-franca	Areno-franca	Areno-franca
CaCO <sub>3</sub> activo	(%)	18,93	11,84	17,91
C orgánico oxidable	(%)	0,39	0,33	0,44
N <sub>org</sub>	(mg/kg)	559	572	610
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	(mg/kg)	2,07	2,38	3,18
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	(mg/kg)	1,70	0,57	1,68
P <sub>asim</sub>	(mg/kg)	5,7	11,7	19,5
K <sub>asim</sub>	(mg/kg)	206	400	276

*M-V: Monastrell con sistema de conducción en vaso; M-E: Monastrell con sistema de conducción en espaldera; CS-E: Cabernet Sauvignon con sistema de conducción en espaldera; N<sub>org</sub>: nitrógeno orgánico; P<sub>asim</sub>: fósforo asimilable; K<sub>asim</sub>: potasio asimilable*

#### Enmiendas orgánicas

Las enmiendas orgánicas empleadas en esta experiencia fueron:

- ✓ **EST:** Enmienda orgánica compuesta por estiércol de oveja y cabra comercializado como estiércol con quelatos de hierro.
- ✓ **CVIT:** Esta enmienda orgánica es un compost a base de residuos de origen vitivinícola. El primer año del experimento se empleó un compost resultante del co-compostaje de orujo desalcoholizado (componente mayoritario) junto con residuos de la industria de extracción de zumo de naranja, estiércol de vaca, cáscara de almendra molida y óxidos de Fe y Mn. En el segundo año del experimento se utilizó un compost compuesto de residuo de poda de viña (componente mayoritario) y digestato de estiércol vacuno.
- ✓ **CCOM:** Esta enmienda orgánica se compone de estiércol de oveja y cabra compostados, comercializado como compost comercial maduro.

Las características de las enmiendas orgánicas empleadas en esta experiencia se muestran en la tabla 4.4. En general, todas las enmiendas presentaron contenidos altos de

materia orgánica y hierro, alta conductividad eléctrica, y un contenido en nitrógeno total entorno al 2-3 %, excepto en el caso del CCOM que tuvo un contenido en nitrógeno total menor del 1%. Los compost empleados tuvieron contenidos de materia orgánica (materia orgánica > 35%), valores de la relación C/N (relación C/N < 20) y concentraciones de metales pesados, tales como el Cu y Zn, dentro de los límites establecidos por la legislación para compost con uso agrícola (Cu < 400 mg/kg y Zn < 1000 mg/kg). Sin embargo, el contenido de humedad fue mayor que los limitados por la normativa en el caso de los compost vitivinícolas (% humedad < 40%) (Real Decreto 506/2013, sobre productos fertilizantes).

**Tabla 4.4.** Características de las enmiendas orgánicas utilizadas en el ensayo (datos expresados sobre materia seca)

Parámetro	Unidad	EST	EST	CVIT	CVIT	CCOM
		1 <sup>er</sup> año	2 <sup>o</sup> año	1 <sup>er</sup> año	2 <sup>o</sup> año	
<b>Humedad</b>	(%)	38,0	34,0	55,0	63,3	35,0
<b>pH</b>		7,37	7,34	7,96	7,79	7,67
<b>Conductividad eléctrica</b>	dS m <sup>-1</sup>	11,6	10,83	6,50	4,92	16,9
<b>Materia orgánica</b>	(%)	47,0	47,5	54,4	61,5	39,3
<b>C orgánico total</b>	(%)	23,0	22,4	32,5	43,6	18,6
<b>N total</b>	(%)	3,08	3,70	3,04	2,19	1,02
<b>Relación C/N</b>		7,5	6,1	10,7	19,9	18,2
<b>P</b>	(g/kg)	2,08	2,04	1,84	2,45	2,04
<b>Na</b>	(g/kg)	7,7	7,1	5,7	4,1	8,4
<b>K</b>	(g/kg)	8,1	9,6	20,7	23,7	19,7
<b>Fe</b>	(mg/kg)	6810	6777	8235	4304	17639
<b>Cu</b>	(mg/kg)	50	71	66	61	28
<b>Mn</b>	(mg/kg)	386	436	466	174	328
<b>Zn</b>	(mg/kg)	249	230	268	283	129

EST: Estiércol oveja+cabra; CVIT: compost a base de residuos vitivinícolas; CCOM: compost comercial.

#### 4. Experimento 2. Dinámica del Carbono y Nitrógeno de diferentes enmiendas en suelos mediterráneos

##### Viñedo

Las viñas empleadas en este experimento están conformadas por un patrón 110 Richter, cruzamiento de *V. berlandieri* cv. *Resseguier nº 2* x *V. rupestris* cv. *Martin*. Tienen buen grado de tolerancia a filoxera radícula con resistencia media a nematodos *M. incógnita*, *M. arenaria* y *M. hapla*. También, están medianamente adaptadas a suelos calcáreos, se considera que soporta hasta un 17 % de caliza activa y un Índice de Poder Clorosante de 30, que relaciona la caliza activa y el contenido de hierro fácilmente extraíble. Muy bien adaptado a la sequía pero sensible al exceso de humedad. Es conveniente para suelos secos, pobres, pedregosos, poco calcáreos. Además, presenta cierta resistencia a salinidad. Transmite fuerte vigor a los injertos. Induce fertilidad y tiende a retrasar el ciclo vegetativo y la maduración. Las viñas del experimento de la variedad Monastrell tienen una edad de 15 años y de 10 años las de la variedad Cabernet Sauvignon (Figura 4.8.a, b y c).



**Figura 4.8.a).** Monastrell en espaldera

**Figura 4.8.b)** Monastrell en vaso

**Figura 4.8.c)** Cabernet Sauvignon en espaldera

##### 4.2.1.2 Desarrollo experimental

En virtud del diseño experimental, presentado con anterioridad, se aplicaron cuatro tratamientos diferentes: EST (estiércol oveja+cabra), CVIT (compost a base de residuos vitivinícolas), CCOM (compost comercial) y B (control sin fertilización). La aplicación de los tratamientos con residuos orgánicos se realizó durante el periodo de reposo de la viña, la primera aplicación se realizó en marzo 2013 y una segunda aplicación en marzo de 2014. En el segundo año solo se aplicaron los tratamientos de EST y CVIT con el fin de comprobar el efecto residual del CCOM frente al resto de tratamientos. La dosis de enmienda orgánica en el primer año fue de 5,5 t/ha para EST, 5,6 t/ha para CVIT y de 17 t/ha para CCOM. En el segundo año del experimento se aplicaron nuevamente 4,6 y 5,0 t/ha de EST y CVIT, respectivamente. La aplicación de estas enmiendas se realizó de manera que incorporarán al suelo cantidades equivalentes de nitrógeno (170kg N/ha). Esta cantidad de nitrógeno es la máxima permitida para

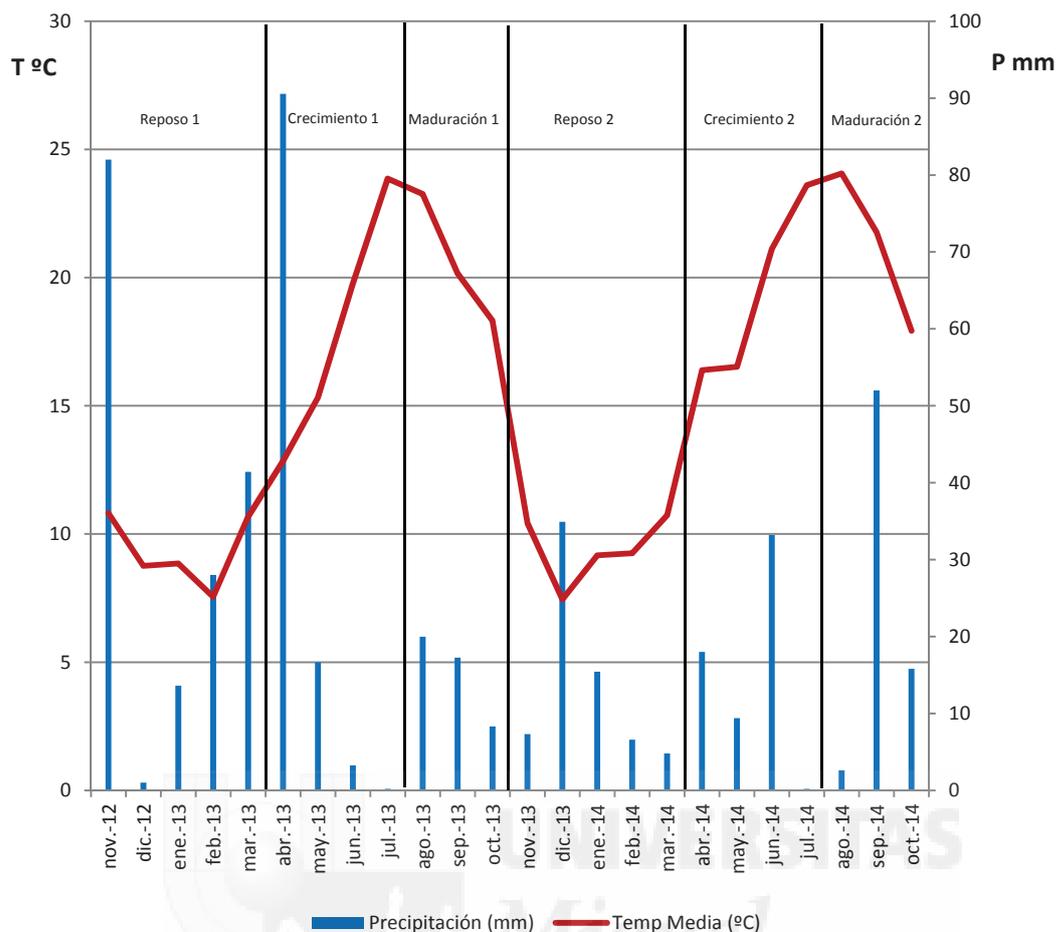
zonas vulnerables a la contaminación por nitratos procedentes de la agricultura, de acuerdo a la Directiva CEE/676/91. Las diferencias en la cantidad de las enmiendas orgánicas a aplicar estuvieron de acuerdo con la cantidad de nitrógeno de cada uno de ellos (Tabla 4.4). Para identificar los distintos tratamientos se marcó las viñas de inicio y fin de cada tratamiento con cintas de colores (B = blanco; EST = azul; CVIT = rosa y CCOM = amarillo). La incorporación de las distintas enmiendas orgánicas al suelo se hizo mediante enterrado de la misma. Para ello, mediante maquinaria agrícola, un subsolador, se abrió un surco a ambos lados de las viñas. Posteriormente se incorporó a cada grupo de viñas el tratamiento correspondiente y se procedió a tapar la abertura (Figura 4.9.).



**Figura 4.9.** Aplicación de las enmiendas orgánicas

En las parcelas con sistema de conducción en vaso no se realizó ningún riego, mientras que en las parcelas con sistema en espaldera el riego fue por goteo. La campaña 2012/2013 se caracterizó por ser abundante en lluvias y con temperaturas no muy elevadas (Figura 4.10). De este modo, solo se realizó un riego anual durante el mes de agosto. Sin embargo, en la campaña 2013/2014 el estrés hídrico debido a la sequía fue más acusado y por ello se realizaron tres riegos, cada uno de ellos durante los meses de mayo, julio y agosto. Este riego y la cantidad de agua aplicada estuvieron en función de las necesidades hídricas mínimas del viñedo.

#### 4. Experimento 2. Dinámica del Carbono y Nitrógeno de diferentes enmiendas en suelos mediterráneos



**Figura 4.10.** Temperaturas medias y precipitaciones recogidas durante el tiempo en que se desarrolló el experimento (Estación Agroclimática de Pinoso; MAGRAMA, 2015)

En virtud del diseño experimental, presentado con anterioridad, se establecieron doce muestreos de suelo. La distribución de los muestreos en el tiempo se muestra en la tabla 4.5. También, en esta tabla se muestra cuando las parcelas fueron roturadas, tratadas con plaguicidas y cuando se realizó la vendimia en cada una de ellas.

**Tabla 4.5.** Calendario de las operaciones realizadas en el viñedo durante el tiempo que duró el experimento.

	Fecha	Operación agrícola realizada
<b>1er AÑO DEL EXPERIMENTO</b>	21/03/2013	Aplicación de fertilizantes orgánicos (EST, CVIT y CCOM) y toma de muestra de suelo de todas las parcelas
	15/04/2013	Labranza de parcelas Monastrel en espaldera y vaso
	19/04/2013	Toma de muestra de suelo parcela Monastrel en espaldera y vaso y labranza parcela Cabernet Sauvignon
	23/04/2013	Toma de muestra de suelo parcela Cabernet Sauvignon
	20/05/2013	Tratamiento con plaguicidas
	22/05/2013	Toma de muestra de suelo de todas las parcelas
	10/06/2013	Tratamiento con plaguicidas
	11/06/2013	Labranza de todas las parcelas
	19/06/2013	Toma de muestra de suelo de todas las parcelas
	12/07/2013	Tratamiento con plaguicidas
	22/07/2013	Toma de muestra de suelo de todas las parcelas
	10/08/2013	Riego (100 m <sup>3</sup> /ha)
	20/08/2013	Toma de muestra de suelo de todas las parcelas
	19/09/2013	Toma de muestra de suelo de todas las parcelas
	03/10/2013	Vendimia variedad Cabernet-Sauvignon en espaldera
	15/10/2013	Vendimia variedad Monastrell en vaso y espaldera
	19/10/2013	Toma de muestra de suelo de todas las parcelas
	16/01/2014	Se realiza la poda del viñedo y se toma muestra de los restos de poda
<b>2º AÑO DEL EXPERIMENTO</b>	24/03/2014	Aplicación de fertilizantes orgánicos (EST y CVIT) y toma de muestra de suelo de todas las parcelas
	07/04/2014	Labranza de todas las parcelas
	15/05/2014	Riego (100 m <sup>3</sup> /Ha)
	17/06/2014	Toma de muestra de suelo de todas las parcelas
	18/06/2014	Tratamiento con plaguicidas
	21-25/07/2014	Riego (100 m <sup>3</sup> /ha)
	25-29/08/2014	Riego (100 m <sup>3</sup> /ha)
	10/09/2014	Vendimia variedad Cabernet Sauvignon en espaldera
	15/09/2014	Vendimia variedad Monastrell en vaso y espaldera
	29/09/2014	Toma de muestra de suelo de todas las parcelas
	19/11/2014	Labranza de la parcela con la variedad Cabernet Sauvignon
	12/01/2015	Labranza de las parcelas con las variedades Monastrell en vaso y espaldera
	13/01/2015	Se realiza la poda del viñedo y se toma muestra de los restos de poda y de suelo

#### **4.2.2 Métodos analíticos**

##### **4.2.2.1 Toma y Preparación de la muestra**

En cada muestreo se tomaron muestras mediante una sonda: 0-20 cm. La distribución de los muestreos en el tiempo se ha mostrado en la tabla 4.5.

Las muestras de suelo (alrededor de 500 g de suelo) se tomaron en los primeros 20 cm de suelo, a cada lado de la viña y en cada pie de viña, ya que esta parte del suelo es en la que tiene lugar el desarrollo vegetal y es la más interesante estudiar. Estas muestras se llevaron al laboratorio y se tomó una submuestra de cada una que se guardó en frigorífico para su posterior análisis del nitrógeno en forma amónica y la respiración del suelo y el resto de muestra se extendió en bandejas de plástico para que se secase a temperatura ambiente y una vez seca se tamizó ( $\emptyset < 2$  mm).

##### **4.2.2.2 Parámetros analizados en suelos**

- ✓ Parámetros físico y físico-químicos:
  - Granulometría y textura (realizado sólo a las muestras iniciales)
  - pH
  - Conductividad eléctrica
- ✓ Parámetros químicos:
  - Nitrógeno total Kjeldahl
  - Nitrógeno orgánico
  - Nitrógeno en forma de amonio
  - Nitrógeno en forma de nitratos
  - Carbonato cálcico equivalente (realizado sólo a las muestras iniciales)
  - Caliza activa (realizado sólo a las muestras iniciales)
  - Carbono orgánico oxidable
  - Contenido en K y P asimilables (realizado sólo a las muestras iniciales).
- ✓ Parámetros microbiológicos
  - Respiración edáfica

#### 4.2.2.3 Parámetros analizados en las enmiendas orgánicas

- ✓ Parámetros físico-químicos:
  - pH
  - Conductividad eléctrica
- ✓ Parámetros químicos:
  - Humedad
  - Materia orgánica
  - Carbono orgánico total
  - Nitrógeno total
  - Relación C/N
  - Contenido en P
  - Na, K,
  - Fe, Cu, Mn y Zn

Todas las determinaciones se hicieron por triplicado. Las técnicas analíticas empleadas para la determinación de estos parámetros se detallan en el anexo de los métodos analíticos.

#### 4.2.3. Métodos estadísticos

El tratamiento estadístico aplicado a los datos determinados en el suelo de este experimento se realizó de dos modos, por un lado, se calculó la desviación del estándar de los datos obtenidos en el triplicado realizado en cada análisis y el intervalo de confianza para un  $\alpha = 0,05$  de los datos obtenidos, lo cual se reflejó en las figuras mediante las barras de error.

Por otro lado, se realizó un análisis estadístico ANOVA doble vía de medidas repetidas (MLG) que permitiera evaluar en todos los parámetros el efecto de las variables consideradas: tipo de tratamiento, tiempo, variedad y sistema de conducción y los efectos combinados entre estas variables. En los casos en el que la F-ANOVA de la variable tratamiento mostró cierta significación, se empleó la prueba Tukey-b como prueba post-hoc para evaluar las diferencias entre las medias específicas, mostrándose en los resultados mediante el empleo de letras para una probabilidad del 95% ( $P < 0,05$ ).

### 4.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.3.1 Evolución de la reacción del suelo

Para los suelos tratados en este estudio pequeñas oscilaciones de este parámetro pueden generar grandes variaciones de la fracción biodisponible de muchas especies químicas, tales como el hierro. De este modo, una disminución del pH de suelo puede contribuir a la reducción de la carencia de hierro de las vides de la zona, como consecuencia del alto valor de pH de los suelos (White, 2009).

El efecto de los factores estudiados en los valores de pH del suelo fue significativo en el caso del tiempo, tratamiento y sistema de conducción, mientras que el factor variedad no afectó significativamente a este parámetro (Tabla 4.6). La interacción entre los factores estudiados mostró diferencias significativas, excepto las interacciones T x TR x V y T x TR x SC. Respecto al efecto del tratamiento en el pH del suelo, todos los tratamientos hicieron descender los valores medios de pH respecto al control. Los tratamientos EST y CCOM, redujeron el pH del suelo de forma estadísticamente similar, mientras que el CVIT, que también mostró diferencias respecto al tratamiento control, redujo este parámetro hasta un valor de 8,25.

Este hecho podría mejorar la asimilación de micronutrientes planta, especialmente en el caso de Fe, y contribuir a la reducción de la clorosis férrica común de las planta de esta zona. Hannachi y col. (2015) también observaron que la adición al suelo de compost compuestos por residuos procedentes de fuentes vegetales y animales y mezclados con estiércol disminuyó significativamente el pH del suelo en suelos de cultivo en el sur de Túnez. Estos autores concluyeron que en suelos alcalinos, una disminución del pH se puede considerar como un proceso de mejora de la disponibilidad de nutrientes para las plantas.

**Tabla 4.6.** Análisis de los efectos generados por las diferentes variables estudiadas en el pH, mediante ANOVA doble vía de medidas repetidas.

Fuente	pH				
	df	F	P <sup>a</sup>	Contraste	Tratamiento <sup>1</sup>
Tiempo (T)	11	81,96	***	B	8,35 c
Tratamiento (TR)	3	296,14	***	EST	7,89 a
Variedad (V)	1	1,77	NS	CVIT	8,25 b
Sist. Conduc (SC)	1	8,34	**	CCOM	7,92 a
T x TR	33	20,01	***		
T x V	11	5,21	***		
T x SC	11	4,25	***		
TR x V	3	5,75	**		
TR x SC	3	4,22	*		
T x TR x V	33	1,28	NS		
T x TR x SC	33	1,47	NS		

<sup>a</sup> Nivel de probabilidad del test F-ANOVA

\*\*\*:  $P < 0,001$ , \*\*:  $P < 0,01$ , \*:  $P < 0,05$ , ns:  $P > 0,05$

<sup>1</sup> Valores promedio; los valores seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ).

La evolución del pH en la parcela Monastrell en vaso (Figura 4.11) mostró un descenso al inicio del experimento y en la adición nueva de las enmiendas orgánicas EST y CVIT en el segundo año del experimento (días 0 y 365, respectivamente). Un descenso muy acusado fue reflejado en los tratamientos EST y CCOM con valores cercanos a 7,5 al inicio del experimento y superando los valores de 8 en el segundo año de la experiencia, mientras que el CVIT muestra valores superiores durante la evolución del experimento en el primer año y disminuye en el segundo año después de la segunda aplicación. Tras la adición de enmiendas todos los suelos disminuyen los valores de pH para después aumentar, hasta valores de 8,5 como es el caso del CVIT en el día 90, llegando a estabilizar esos valores hacia el final de la experiencia, debido posiblemente a la capacidad tampón del suelo.

En cuanto a parcela Monastrell en espaldera la evolución del pH es similar a la observada en la parcela Monastrell-Vaso, con un descenso tras la adición de las enmiendas orgánicas (días 0 y 365) y posterior aumento y estabilización (Figura 4.11). Los valores máximos de pH en el suelo los alcanza el control en el segundo año de experiencia con valores superiores a 8,5 en el día 448, mientras que los tratamientos EST y CCOM, muestran valores por debajo de 8 en la

#### 4. Experimento 2. Dinámica del Carbono y Nitrógeno de diferentes enmiendas en suelos mediterráneos

mayoría del estudio excepto al final de la experiencia donde todos los tratamientos se acercan a valores de pH cercanos a 8,5.

El estudio del pH en la parcela Cabernet Sauvignon en espaldera tuvo una evolución similar a las anteriores, donde los tratamientos EST y CCOM se comportan de manera similar, al igual que el CVIT y el control, con una disminución después de cada adición de enmienda orgánica y un aumento hacia el final de la experiencia (Figura 4.11).

Cabe destacar que en las parcelas con sistema de conducción en espaldera, el descenso del pH por el tratamiento CVIT fue mayor que en la parcela Monastrell- Vaso y que en el resto de tratamientos de enmiendas orgánicas. Un descenso del pH tras el aporte de enmiendas orgánicas, sin diferencias significativas al final del estudio ha sido también observado por otros autores como Bustamante y col. (2011) en un experimento de viñedo de tres años de duración y Morlat y Chaussod (2008) con un experimento de viñedo de 8 años, ambos realizados en suelos calizos.

Pese a los posibles cambios que pueda sufrir el pH, se debe tener en cuenta que el suelo es un medio de lenta variación en sus valores de pH, es decir se comporta como un sistema tampón o amortiguador, ralentizando los bruscos cambios que podría ocasionar la presencia de ácidos o bases. Esta característica se conoce como poder amortiguador del suelo. Así en suelos neutros o básicos, la adición de compost maduros no supone cambios apreciables de pH aunque es previsible que contribuya a la mejora del poder amortiguador del suelo. Esto depende del efecto que produzca el compost en la modificación del complejo de adsorción (Ingelmo y Delgado, 2008).

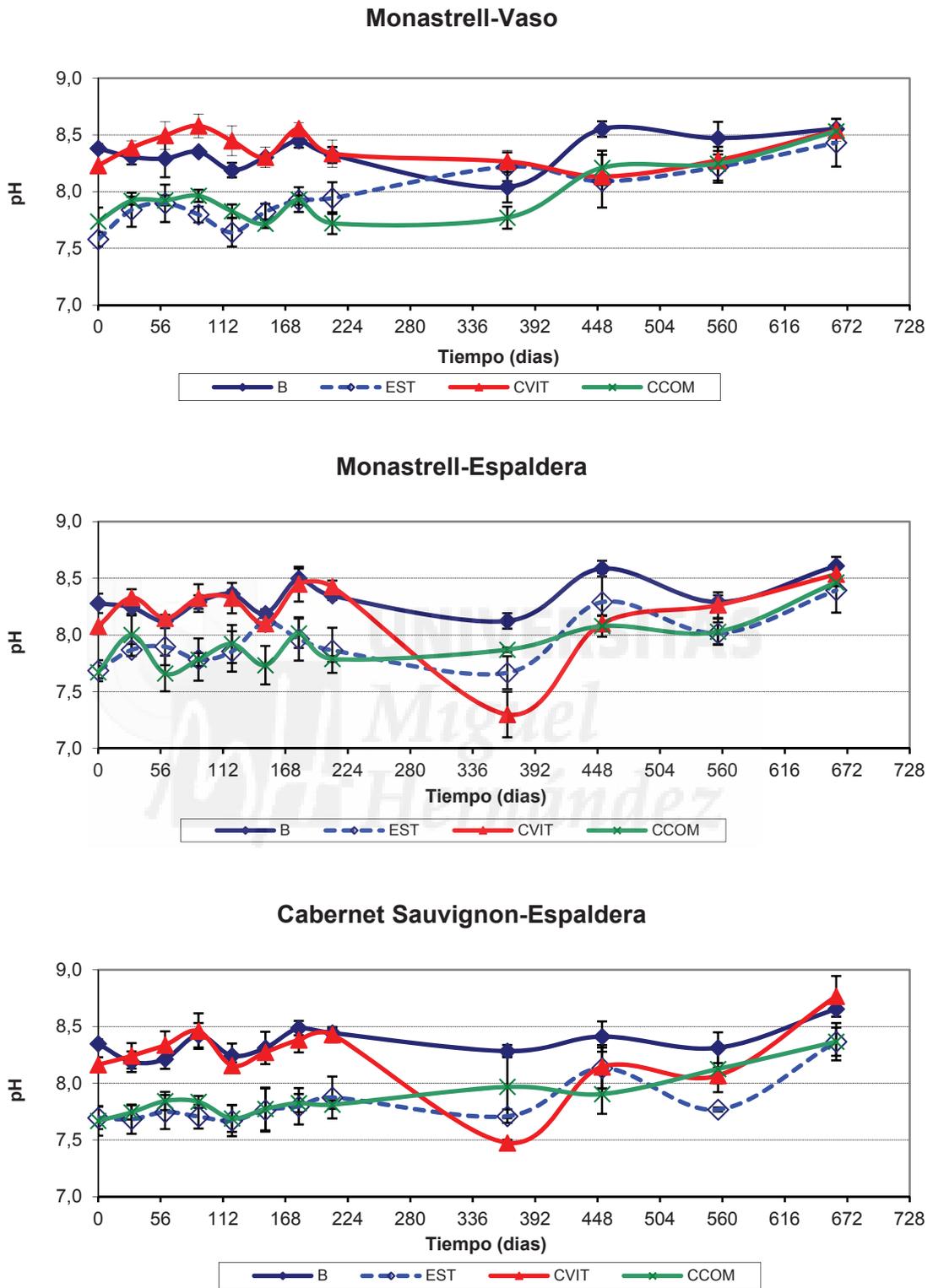


Figura 4.11: Evolución temporal del pH en las parcelas del estudio.

#### **4.3.2 Evolución de la conductividad eléctrica del suelo**

La conductividad eléctrica (CE) hace referencia a la cantidad de sales disueltas en la disolución del suelo. El aporte de residuos orgánicos suele producir un aumento de la conductividad eléctrica del suelo.

Los incrementos de sales disueltas del suelo se pueden relacionar con la generación de sustancias inorgánicas en la mineralización de la materia orgánica del suelo, siendo estos mayores en los suelos con residuos orgánicos debido a la mayor aportación de compuestos orgánicos por estos tratamientos. Por ello, la conductividad eléctrica también es un buen indicador de la mineralización de la materia orgánica de los residuos (De Neve y col., 2000). Sin embargo, los descensos en la conductividad eléctrica se pueden relacionar con la toma de nutrientes por parte del cultivo y a la lixiviación de sales a capas más profundas del suelo (Maher y col., 2000).

En cuanto a los factores estudiados y la interacción entre ellos, se obtuvo que todos afectaron de forma significativa al contenido de sales del suelo (Tabla 4.7). Respecto al efecto del tratamiento en la conductividad del suelo, todos los tratamientos mostraron diferencias entre ellos y con el control, siendo los valores de conductividad eléctrica media mayores los observados en los suelos con CCOM (1,08 dS/m) seguido del tratamiento EST con 0,69 dS/m y del tratamiento CVIT con 0,39 dS/m, que mostró los menores valores de conductividad eléctrica de los tres tratamientos. De este modo, las enmiendas orgánicas provocaron un aumento en la conductividad eléctrica respecto al control, este aumento se produjo en mayor medida en el tratamiento CCOM. Este mayor aporte de sales con este tratamiento está relacionado con el mayor contenido en sales por parte del CCOM inicialmente, así como, la dosis de este al suelo fue superior al resto de tratamientos, debido a su menor contenido de nitrógeno (Tabla 4.4).

**Tabla 4.7.** Análisis de los efectos generados por las diferentes variables estudiadas en la conductividad eléctrica (dS/m), mediante ANOVA doble vía de medidas repetidas.

CE (dS/m)					
Fuente	df	F	P <sup>a</sup>	Contraste	Tratamiento <sup>1</sup>
Tiempo (T)	11	176,16	***	B	0,26 a
Tratamiento (TR)	3	1015,01	***	EST	0,69 c
Variedad (V)	1	119,83	***	CVIT	0,39 b
Sist. Conduc (SC)	1	15,20	**	CCOM	1,08 d
T x TR	33	107,56	***		
T x V	11	28,92	***		
T x SC	11	19,09	***		
TR x V	3	57,19	***		
TR x SC	3	10,39	***		
T x TR x V	33	17,91	***		
T x TR x SC	33	11,21	***		

<sup>a</sup> Nivel de probabilidad del test F-ANOVA

\*\*\*: P<0,001, \*\*: P<0,01.

<sup>1</sup> Valores promedio; los valores seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes (P<0,05).

En la figura 4.12 se puede observar la evolución temporal de la conductividad eléctrica del suelo en las parcelas del estudio. Los incrementos de la conductividad eléctrica en los suelos enmendados estuvieron relacionados directamente con el contenido en sales solubles de las enmiendas orgánicas. Posteriormente, se observó un descenso de este parámetro al final de los dos ciclos de cultivo que se debe al lavado de sales y el laboreo del suelo que junto a la textura gruesa de las parcelas, favoreció la eliminación de sales en el suelo. Durante el primer año de experiencia en todas las parcelas con el tratamiento CCOM tuvieron concentraciones de sales por encima del resto de tratamientos, esto fue debido a que la cantidad aportada de este tratamiento fue superior al resto, comentado anteriormente, debido a su menor contenido en nitrógeno. Por otro lado, los valores más altos de conductividad eléctrica se observaron en la parcela Cabernet Sauvignon en espaldera para los tratamientos CCOM y EST.

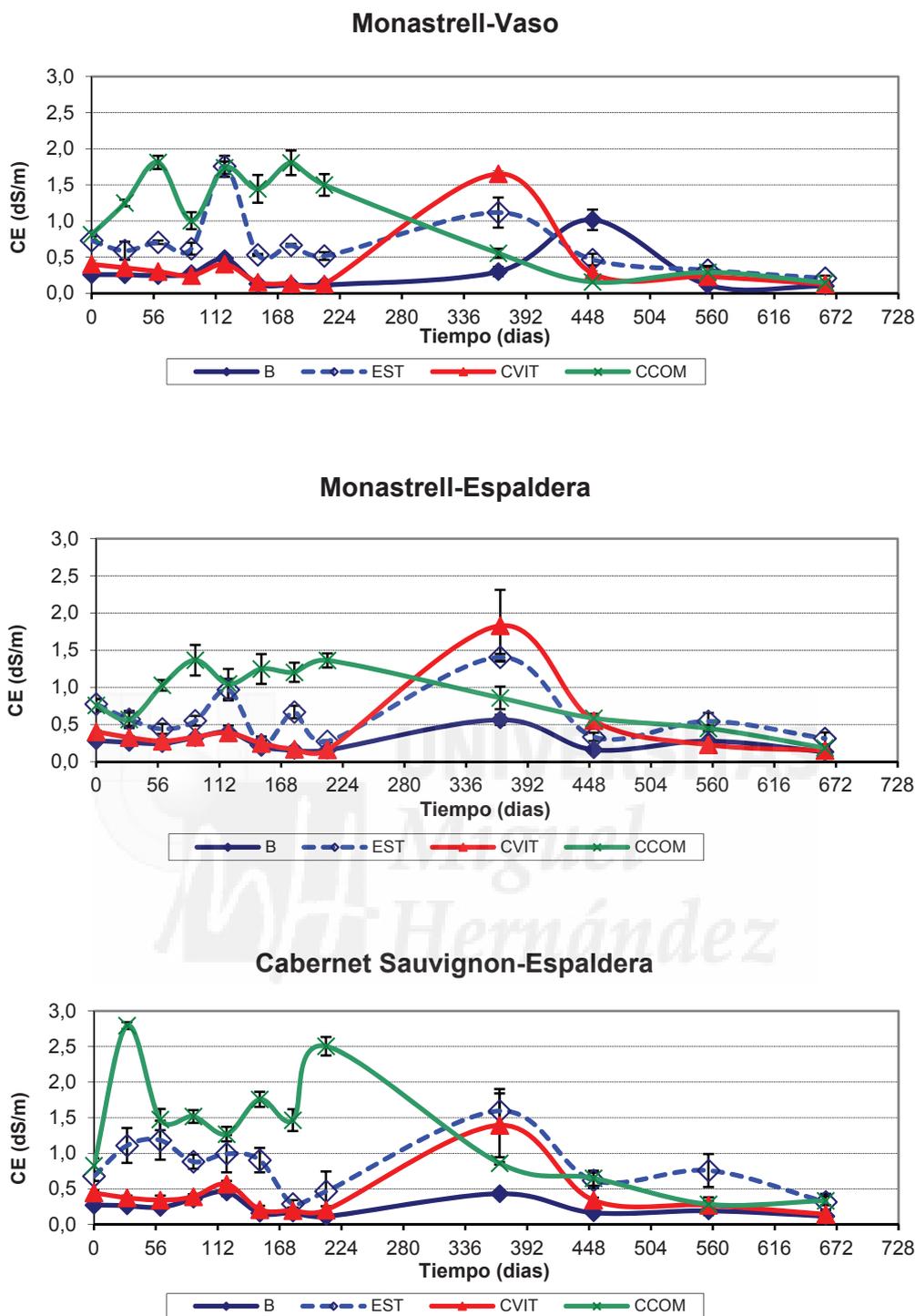


Figura 4.12: Evolución temporal de la conductividad eléctrica (dS/m) en las parcelas del estudio

#### 4.3.3 Evolución del nitrógeno orgánico

La mayor parte del nitrógeno presente en los suelos se encuentra formando parte de la materia orgánica, en esta forma, no es aprovechable por la planta. Sin embargo, este nitrógeno

puede ser transformado y liberado bajo la forma de compuestos más sencillos ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ , etc.), mediante su mineralización llevada a cabo por los microorganismos edáficos. Los microorganismos del suelo realizan la mineralización de los compuestos orgánicos nitrogenados para satisfacer sus necesidades energéticas.

El análisis estadístico de la tabla 4.8, mostró que tanto los factores estudiados como la interacción entre ellos tuvieron un efecto significativo sobre el contenido de Norg del suelo, excepto el sistema de conducción que no mostró diferencias significativas. Todos los tratamientos orgánicos presentaron un incremento del nitrógeno orgánico en los suelos enmendados respecto al control en las tres parcelas estudiadas. El tratamiento que consiguió mayores niveles de nitrógeno orgánico fue el CCOM seguido de EST y CVIT, obteniéndose valores medios de nitrógeno orgánico de 1279, 1009 y 985 mg/kg de suelo, respectivamente.

**Tabla 4.8.** Análisis de los efectos generados por las diferentes variables estudiadas en el contenido de Norg, mediante ANOVA doble vía de medidas repetidas.

Fuente	Norg (mg/kg)				
	df	F	P <sup>a</sup>	Contraste	Tratamiento <sup>1</sup>
Tiempo (T)	11	128,43	***	B	604 a
Tratamiento (TR)	3	719,59	***	EST	1009 b
Variedad (V)	1	90,30	***	CVIT	985 b
Sist. Conduc (SC)	1	0,71	NS	CCOM	1279 c
T x TR	33	55,75	***		
T x V	11	13,48	***		
T x SC	11	29,43	***		
TR x V	3	13,94	***		
TR x SC	3	4,88	**		
T x TR x V	33	11,18	***		
T x TR x SC	33	12,09	***		

<sup>a</sup> Nivel de probabilidad del test F-ANOVA.

\*\*\*:  $P < 0,001$ ; \*\*:  $P < 0,01$ ; NS:  $P > 0,05$ .

<sup>1</sup> Valores promedio; los valores seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ).

La evolución del nitrógeno orgánico fue similar en las tres parcelas del estudio, todos los tratamientos incrementaron el contenido de nitrógeno orgánico en el suelo respecto al tratamiento control (Figura 4.13). Los valores más altos durante el primer año fueron a causa del CCOM en todas las parcelas. El contenido en nitrógeno orgánico de este tratamiento va descendiendo progresivamente hasta el segundo ciclo. En el caso de la parcela Monastrell en

#### 4. Experimento 2. Dinámica del Carbono y Nitrógeno de diferentes enmiendas en suelos mediterráneos

vaso, el tratamiento CCOM se estabiliza durante el segundo año y muestra valores similares al tratamiento control. Sin embargo, en las parcelas con formación en espaldera y con riego, se observó un incremento de nitrógeno orgánico en el muestreo del día 452 para la parcela Monastrell en espaldera y en el muestreo del día 556 en la parcela Cabernet Sauvignon en espaldera. Este hecho puede relacionarse con la contribución del viñedo al mantenimiento de los niveles de materia orgánica del suelo, a través de los exudados de las raíces producidos durante el desarrollo vegetativo de la planta (Guerrero y col., 2001). Esto solo se observó en el caso de las parcelas con sistema de conducción en espaldera, debido a que en este sistema al ser el riego por goteo la mayor parte de las raíces del viñedo se encuentran en la parte más superficial, dentro del perfil del suelo donde se muestreó el suelo.

El tratamiento EST y CVIT, muestran un comportamiento muy parecido en todas las parcelas del estudio. Ambos tratamientos mostraron dos picos después de la adición de los tratamientos. CVIT obtuvo valores superiores al resto de tratamientos al final del experimento en la parcela Monastrell en espaldera. Los incrementos de nitrógeno orgánico iniciales, están relacionados con el aporte de las enmiendas orgánicas ricas en nitrógeno orgánico, los descensos del nitrógeno orgánico suelen estar provocados por los procesos de amonificación (Navarro Blaya y Navarro García, 2000), mientras que los incrementos durante la evolución pueden estar relacionados con los procesos de inmovilización (Bustamante y col., 2007) o debido a la fijación biológica de nitrógeno como la observada por otros autores en suelos enmendados con residuos orgánicos (Martensson and Torstensson, 1996), así como a la contribución de los exudados de las raíces, comentados anteriormente.

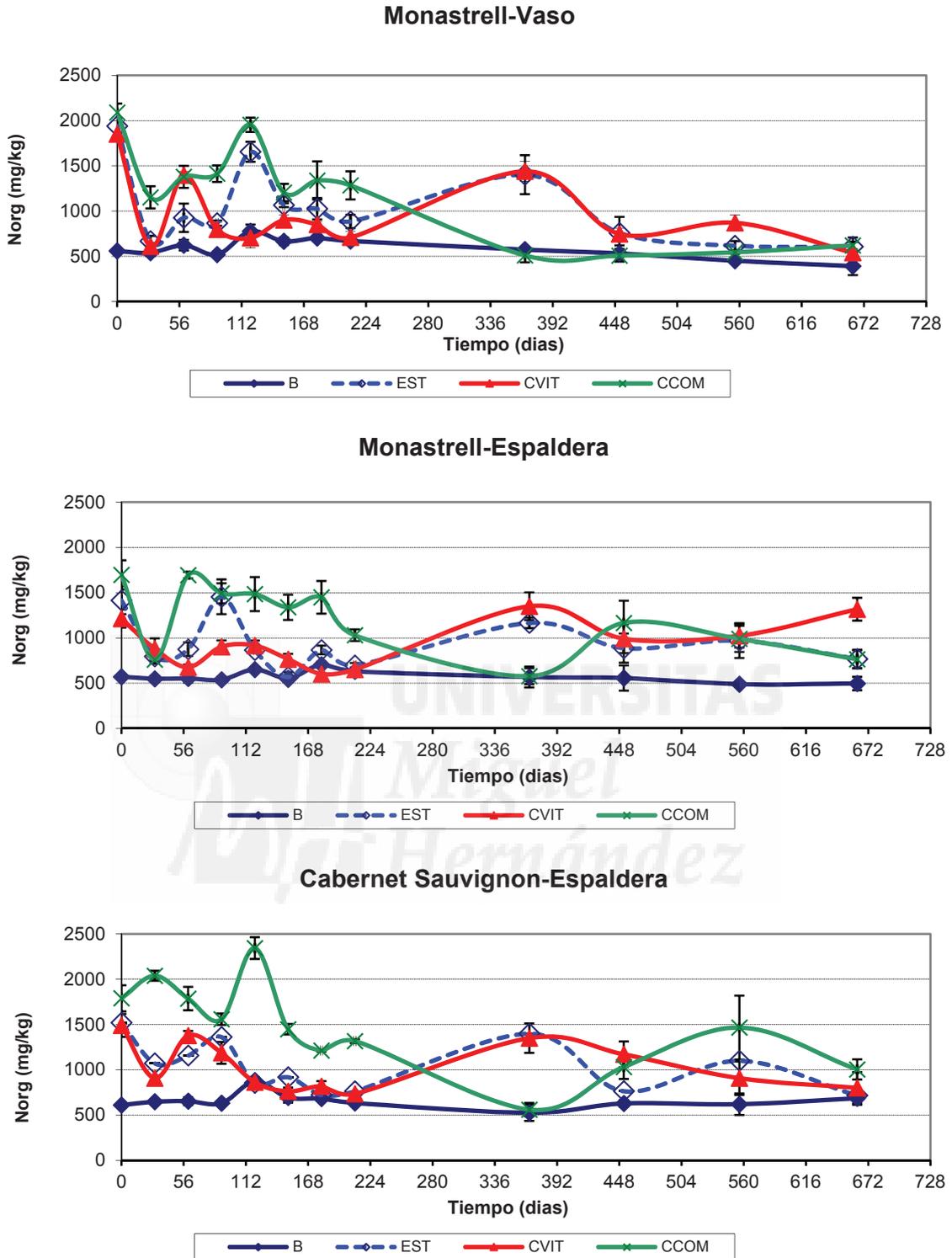
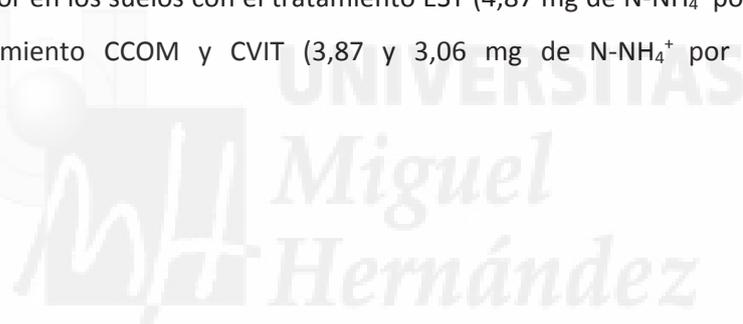


Figura 4.13: Evolución temporal del nitrógeno orgánico en las parcelas del estudio

#### **4.3.4 Evolución del nitrógeno en forma de amonio**

La materia nitrogenada depositada en el suelo es utilizada fácilmente por los microorganismos del suelo. Estos microorganismos degradan las proteínas y compuestos relacionados a aminas y aminoácidos principalmente. A este proceso se le llama *aminificación*. El nitrógeno de las aminas y aminoácidos, puede tener dos destinos. Puede ser utilizado por diversos microorganismos del suelo para construir sus propias estructuras, o bien puede ser transformado por estos microorganismos en productos simples, que aparecen casi siempre en forma de compuestos amónicos, este es el proceso enzimático denominado *amonificación* (Porta, 2014).

La tabla 4.9 muestra que en los factores estudiados así como la interacción entre ellos se observaron diferencias muy significativas, excepto en la interacción TR x SC. Todos los tratamientos incrementaron el contenido de nitrógeno amónico del suelo respecto al control, tal como muestran los valores promedio. El aumento en el suelo del contenido de esta forma de nitrógeno fue mayor en los suelos con el tratamiento EST (4,87 mg de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> por kg de suelo), seguido del tratamiento CCOM y CVIT (3,87 y 3,06 mg de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> por kg de suelo, respectivamente).



**Tabla 4.9.** Análisis de los efectos generados por las diferentes variables estudiadas en el contenido de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, mediante ANOVA doble vía de medidas repetidas.

N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/kg)					
Fuente	df	F	P <sup>a</sup>	Contraste	Tratamiento <sup>1</sup>
Tiempo (T)	8	350,87	***	B	2,36 a
Tratamiento (TR)	3	290,09	***	EST	4,87 d
Variiedad (V)	1	11,78	**	CVIT	3,06 b
Sist. Conduc (SC)	1	47,15	***	CCOM	3,87 c
T x TR	24	122,36	***		
T x V	8	94,72	***		
T x SC	8	18,82	***		
TR x V	3	90,50	***		
TR x SC	3	0,13	NS		
T x TR x V	24	63,03	***		
T x TR x SC	24	13,94	***		

<sup>a</sup> Nivel de probabilidad del test F-ANOVA

\*\*\*: P<0,001, \*\*: P<0,01; NS:P>0,05.

<sup>1</sup> Valores promedio; los valores seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes (P<0,05).

Respecto a la evolución del nitrógeno en forma de amonio en la parcela Monastrell en vaso, en el tratamiento con CCOM se observó un pico en el día 90 (con valores de 12,35 mg de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> por kg de suelo), a continuación disminuyó hacia el final del ensayo (Figura 4.14). El tratamiento EST también manifestó un ligero pico de amonio en el primer ciclo, pero este fue mucho mayor en el segundo ciclo tras la adición de los tratamientos, alcanzando un valor de 14,89 mg de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> por kg de suelo en el muestreo del día 452. Por otro lado, el tratamiento CVIT tuvo un leve incremento del nivel de amonio respecto al control en el primer año, mientras que en el segundo ciclo de cultivo mostró una evolución similar al EST con un valor máximo de 10,59 mg de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> por kg de suelo en el muestreo del día 452.

La evolución en la parcela Monastrell-Espaldera del nitrógeno en forma amónica fue similar al de la parcela de Monastrell con sistema de conducción en vaso, pero no se observaron valores tan altos como los alcanzados en ésta. Como se ve en la figura 4.14, los valores de este parámetro en los suelos con CCOM fueron superiores durante el primer año con un nivel máximo de nitrógeno amónico en el día 90, seguidos del tratamiento EST (con 6,22 mg de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> por kg de suelo), mientras que los valores del tratamiento CVIT se asemejan a los del tratamiento control durante los primeros 100 días. El muestreo del día 210 muestra valores muy

#### 4. Experimento 2. Dinámica del Carbono y Nitrógeno de diferentes enmiendas en suelos mediterráneos

similares en todos los tratamientos incluidos el control (1,55-2,45 mg de  $\text{N-NH}_4^+$  por kg de suelo). Tras la aplicación de los tratamientos EST y CVIT en el segundo ciclo, se observó un aumento de los niveles de amonio en el suelo. En el muestreo final todos los tratamientos mostraron valores de amonio muy cercanos entre ellos.

En la parcela Cabernet Sauvignon con sistema de conducción en espaldera, los suelos con el tratamiento CCOM mostraron un pico en el primer año de estudio al igual que en las otras parcelas, sin embargo, el resto de tratamientos no se comportaron igual, como se puede observar en la figura 4.14. Los suelos con los tratamientos EST y CVIT no tuvieron un aumento durante el primer ciclo del contenido de  $\text{N-NH}_4^+$ . Sin embargo, la enmienda EST produjo una liberación de nitrógeno en forma amónica tras su aplicación en el segundo año de experimento, estando este aumento por encima del resto de parcelas con valores de 15,19 mg de  $\text{N-NH}_4^+$  por kg de suelo.

En todas las parcelas, los mayores niveles de amonio se obtuvieron en el tratamiento CCOM durante el primer año, debido al mayor aporte de este al suelo. Por otro lado, el tratamiento EST también proporcionó altos contenidos de  $\text{N-NH}_4^+$  en ambos ciclos de cultivo. Este hecho se da en materiales frescos y no estabilizados, debido a la mineralización de la enmienda orgánica, llevada a cabo por la alta actividad de microorganismos que actúan en la degradación de nitrógeno orgánico.

La degradación de nitrógeno orgánico a nitrógeno amónico guarda relación con la temperatura, humedad y pH (Ingelmo y Delgado, 2008), así podemos ver como coincide el aumento de amonio con los meses de primavera, cuando comienza el aumento de las temperaturas. El descenso de los valores de amonio puede ser debido a los procesos de inmovilización y nitrificación, toma de nutrientes por la planta o pérdidas gaseosas (Amligner y col., 2003). Por otro lado, en todas las parcelas se observaron bajos contenidos de nitrógeno amónico, los cuales son usuales en zonas donde la transformación del nitrógeno en forma amónica es rápida, a consecuencia de las condiciones edafoclimáticas, que determinan la rápida formación de nitratos (Vázquez y col., 2006).

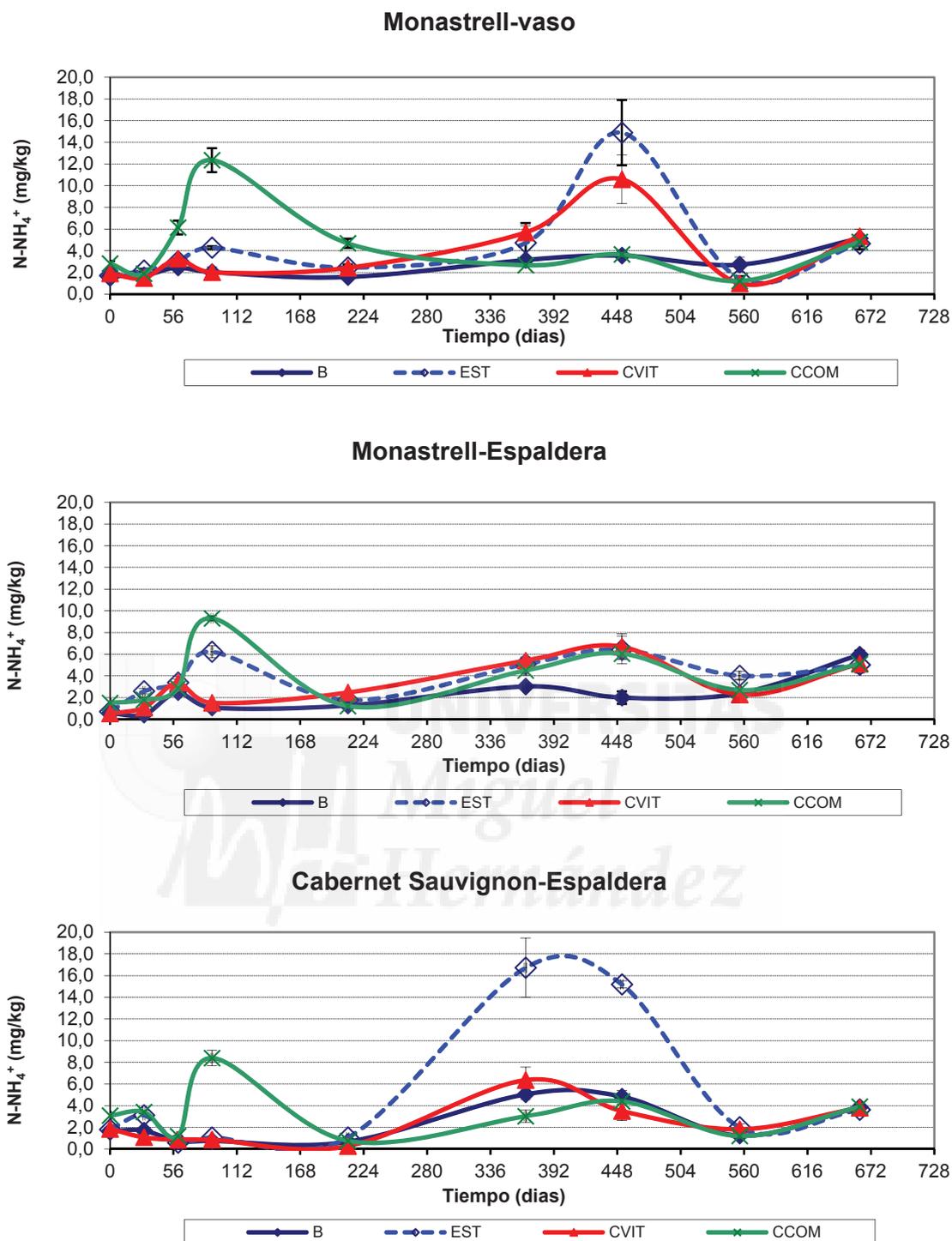


Figura 4.14: Evolución temporal del nitrógeno en forma amónica en las parcelas del estudio

#### 4.3.5. Evolución del nitrógeno nítrico

La forma nitrogenada inorgánica predominante en el suelo es el nitrato, como producto final de la mineralización del nitrógeno orgánico. El nitrato es la forma principal de utilización de nitrógeno por los vegetales superiores. Cuando las condiciones son favorables, una parte del

#### 4. Experimento 2. Dinámica del Carbono y Nitrógeno de diferentes enmiendas en suelos mediterráneos

amonio liberado en el proceso de amonificación es inmediatamente oxidado a nitrato (Porta, 2014).

En el nitrógeno nítrico, los factores estudiados, así como la interacción entre ellos mostraron diferencias muy significativas. El efecto de los diferentes tratamientos respecto a los nitratos, mostró valores medios superiores al control en todos los tratamientos. Los valores medios más altos de nitratos se obtuvieron con el tratamiento EST (28,03 mg de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> por kg de suelo) seguido del CCOM (27,01 mg de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> por kg de suelo) y del CVIT (16,96 mg de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> por kg de suelo) (tabla 4.10).

**Tabla 4.10.** Análisis de los efectos generados por las diferentes variables estudiadas en el contenido de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, mediante ANOVA doble vía de medidas repetidas.

N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/kg)					
Fuente	df	F	P <sup>a</sup>	Contraste	Tratamiento <sup>1</sup>
Tiempo (T)	11	295,88	***	B	6,87 a
Tratamiento (TR)	3	1270,95	***	EST	28,03 d
Variedad (V)	1	384,25	***	CVIT	16,96 b
Sist. Conduc (SC)	1	5,23	*	CCOM	27,01 c
T x TR	33	80,20	***		
T x V	11	31,03	***		
T x SC	11	7,81	***		
TR x V	3	45,26	***		
TR x SC	3	23,05	***		
T x TR x V	33	16,78	***		
T x TR x SC	33	13,23	***		

<sup>a</sup> Nivel de probabilidad del test F-ANOVA

\*\*\*: P<0,001, \*: P<0,05

<sup>1</sup> Valores promedio; los valores seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes (P<0,05).

En la parcela Monastrell en vaso, durante todo el experimento los valores de nitrógeno en forma de nitratos estuvieron por encima del tratamiento control. El tratamiento CCOM aumentó el contenido de nitrógeno nítrico al inicio de la experiencia y este contenido aumentó progresivamente hasta el día 120 (42,35 mg de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> por kg de suelo) y a continuación presentó un acusado descenso de este parámetro en el tiempo 150 días para volver a aumentar en el día 210. Después de este periodo, la concentración de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> comenzó a descender hasta valores similares al control (8,48 mg de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> por kg de suelo en el muestreo 452). El en

segundo año de experiencia se observó un ligero aumento de  $\text{N-NO}_3^-$  en el muestreo 556. El tratamiento EST, mostró dos picos claros en cada ciclo de cultivo, tras las aplicaciones anuales del tratamiento. Respecto al tratamiento CVIT, el pico de nitrógeno nítrico en el segundo año (55,79 mg de  $\text{N-NO}_3^-$  por kg de suelo en el muestreo 452) mostró valores superiores al del primer año (11,31 mg de  $\text{N-NO}_3^-$  por kg de suelo en el muestreo del día 120) (Figura 4.15).

La evolución del nitrógeno en forma nítrica en la parcela Monastrell en espaldera, figura 4.15, sigue las mismas pautas que en la parcela Monastrell-Vaso, durante el primer y segundo año en todos los tratamientos incluidos el control. Sin embargo, existió una excepción durante el segundo año de la experiencia en el tratamiento CCOM, donde los valores del  $\text{N-NO}_3^-$  fueron más altos en esta parcela.

En la parcela Cabernet Sauvignon en espaldera se describe un comportamiento similar a la anterior en todos los tratamientos durante el primer y segundo año de experimento (Figura 4.15). En esta parcela, a diferencia de las anteriores, la cantidad de  $\text{N-NO}_3^-$  observados durante el primer ciclo en los suelos con el tratamiento CVIT fue superior al obtenido en el resto de las parcelas con este mismo tratamiento.

Al final de la experiencia los niveles de nitratos toman valores bajos, cercanos al control, esto es debido a la gran movilidad de los nitratos en el suelo que no son retenidos por el complejo de cambio y la toma de nitrógeno en forma de nitratos por parte de la planta. Este hecho implica la falta de acumulación de nitratos en el suelo y como la tasa de mineralización coincide con las necesidades nutricionales de la planta (Christou y col., 2006).

Las bacterias nitrificantes son las encargadas de la formación de nitratos, la cantidad de estas en el suelo depende en gran medida de la reacción de suelo, siendo necesarios para que ocurra este proceso valores de pH entre 5,5 y 8 (Navarro Blaya y Navarro García, 2000). Así las enmiendas orgánicas que consiguen un pH por debajo de 8, están relacionadas con un mayor contenido en nitrógeno nítrico. Otro parámetro que guarda una relación importante con el proceso de nitrificación es el contenido en amonio, comentado anteriormente, es el sustrato para las bacterias nitrificantes, así un crecimiento del ión amonio en el suelo precede a un aumento del contenido en nitratos (Nishio y Fujimoto, 1990; Navarro Blaya y Navarro García, 2000).

4. Experimento 2. Dinámica del Carbono y Nitrógeno de diferentes enmiendas en suelos mediterráneos

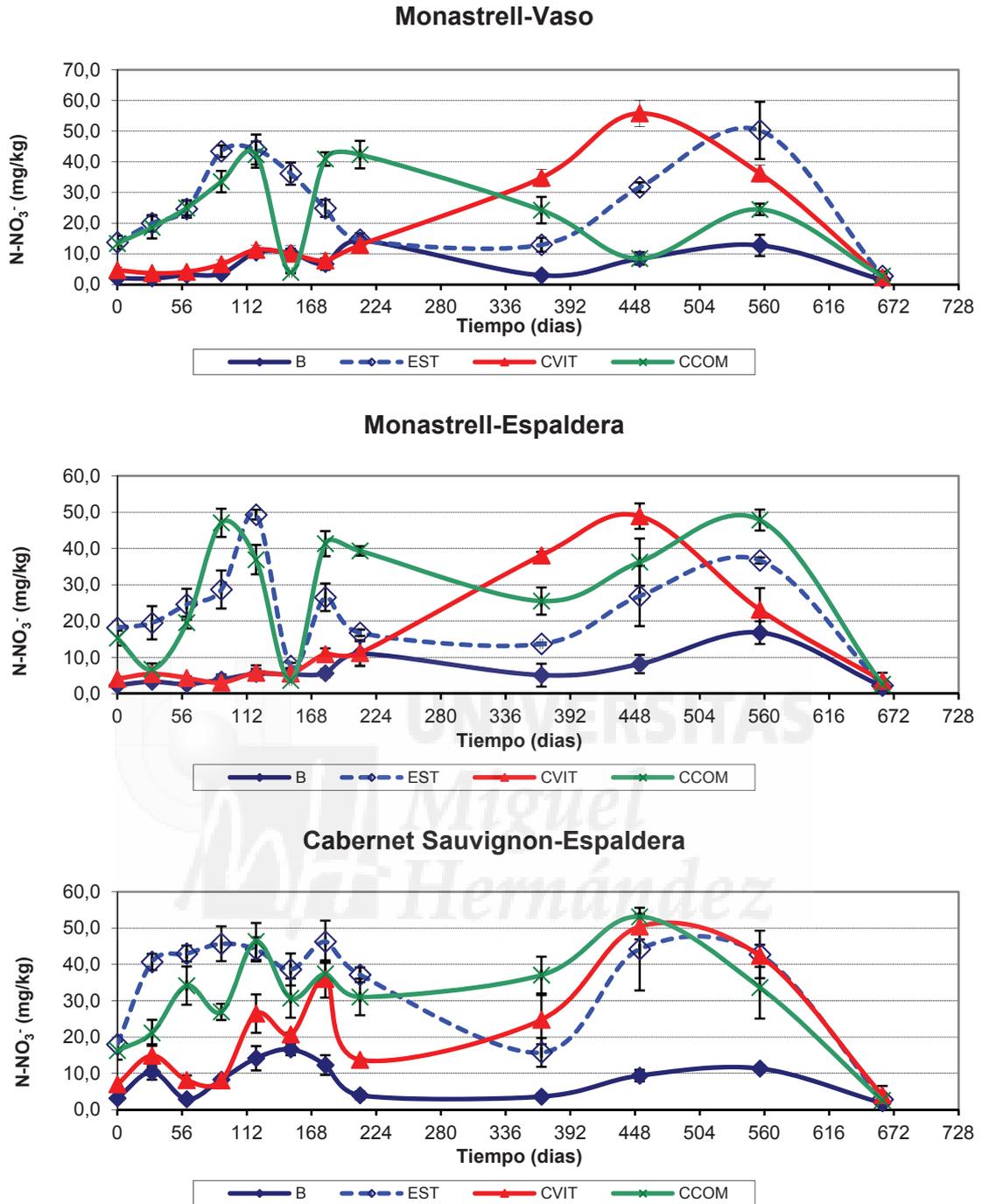


Figura 4.15: Evolución temporal del nitrógeno en forma de nitratos en las parcelas del estudio.

#### 4.3.6 Evolución del carbono orgánico oxidable

Este parámetro hace referencia al carbono asociado a la materia orgánica y que por tanto, es susceptible de oxidarse pasando a forma mineral. El carbono orgánico oxidable representa el carbono de todos los materiales orgánicos existentes en el suelo tales como celulosa, lignina, hemicelulosa, proteínas, ácidos orgánicos, etc., los cuales han sido agrupados como sustancias orgánicas descomponibles.

En la tabla 4.11. se puede observar los resultados estadísticos de los diferentes factores respecto al carbono orgánico oxidable (Coox), siendo la mayoría de factores significativos, excepto el factor variedad. En cuanto a la interacción entre estos factores, en todas ellas se obtuvieron diferencias significativas. El análisis estadístico muestra que los tratamientos con fertilización orgánica aumentaron el contenido medio de Coox en el suelo. Los tratamientos EST y CVIT aumentaron de forma similar la concentración de Coox del suelo, mientras que el tratamiento que provocó un aumento de este parámetro superior al resto de tratamientos fue el CCOM (valores medios de Coox de 1,14 %).

**Tabla 4.11.** Análisis de los efectos generados por las diferentes variables estudiadas en el contenido de Coox, mediante ANOVA doble vía de medidas repetidas

Coox (%)					
Fuente	df	F	P <sup>a</sup>	Contraste	Tratamiento <sup>1</sup>
Tiempo (T)	11	92,26	***	B	0,47 a
Tratamiento (TR)	3	655,49	***	EST	0,86 b
Variedad (V)	1	2,12	NS	CVIT	0,86 b
Sist. Conduc (SC)	1	86,23	***	CCOM	1,14 c
T x TR	33	93,05	***		
T x V	11	24,26	***		
T x SC	11	26,37	***		
TR x V	3	6,95	**		
TR x SC	3	14,81	***		
T x TR x V	33	12,89	***		
T x TR x SC	33	9,42	***		

<sup>a</sup> Nivel de probabilidad del test F-ANOVA

\*\*\*: P<0,001, \*\*: P<0,01; NS: P>0,05

<sup>1</sup> Valores promedio; los valores seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes (P<0,05).

#### 4. Experimento 2. Dinámica del Carbono y Nitrógeno de diferentes enmiendas en suelos mediterráneos

Tras la adición de los tratamientos orgánicos al suelo, se apreció un aumento importante del C<sub>org</sub> en todas las parcelas y la estabilización a lo largo del experimento (Figura 4.16). El nivel más alto de C<sub>org</sub> durante el primer año de experiencia se observó con el tratamiento CCOM, seguido de EST y CVIT. En el segundo año de experiencia, la concentración de C<sub>org</sub> de los suelos con el tratamiento CCOM descendió en todas las parcelas y se mantuvo, en general, ligeramente superior al tratamiento control. El contenido de C<sub>org</sub> fue mayor en los suelos con CCOM de las parcelas con sistema de conducción en espaldera en comparación con la parcela en vaso. Este hecho podría deberse a la contribución del viñedo al mantenimiento de los niveles de materia orgánica del suelo, a través de los exudados de las raíces producidos durante el desarrollo vegetativo de la planta, comentado anteriormente (Guerrero y col., 2001). Sin embargo, los tratamientos EST y CVIT, tras la segunda adición, produjeron un incremento en los valores de este parámetro en todas las parcelas, alcanzando los mayores niveles de C<sub>org</sub> los suelos con el tratamiento CVIT, entorno al 2%. Este hecho estuvo en concordancia con el alto contenido de carbono orgánico total del compost vitivinícola aplicado en el segundo año de experimento (Tabla 4.4). Al final de la experiencia en la parcela con la variedad Monastrell en vaso, todos los suelos enmendados presentaron valores de C<sub>org</sub> similares al tratamiento control. Sin embargo, en las parcelas con sistema de conducción en espaldera los contenidos finales de C<sub>org</sub> de los suelos con las enmiendas orgánicas fueron prácticamente el doble o el triple que aquellos del control.

El aumento del C<sub>org</sub> del suelo mediante la adición de materia orgánica exógena ha sido también observado por Morlat y Chaussod (2008) y Bustamante y col. (2011) en estudios a largo plazo de adición de diferentes enmiendas orgánicas a suelos calcáreos de viñedo.

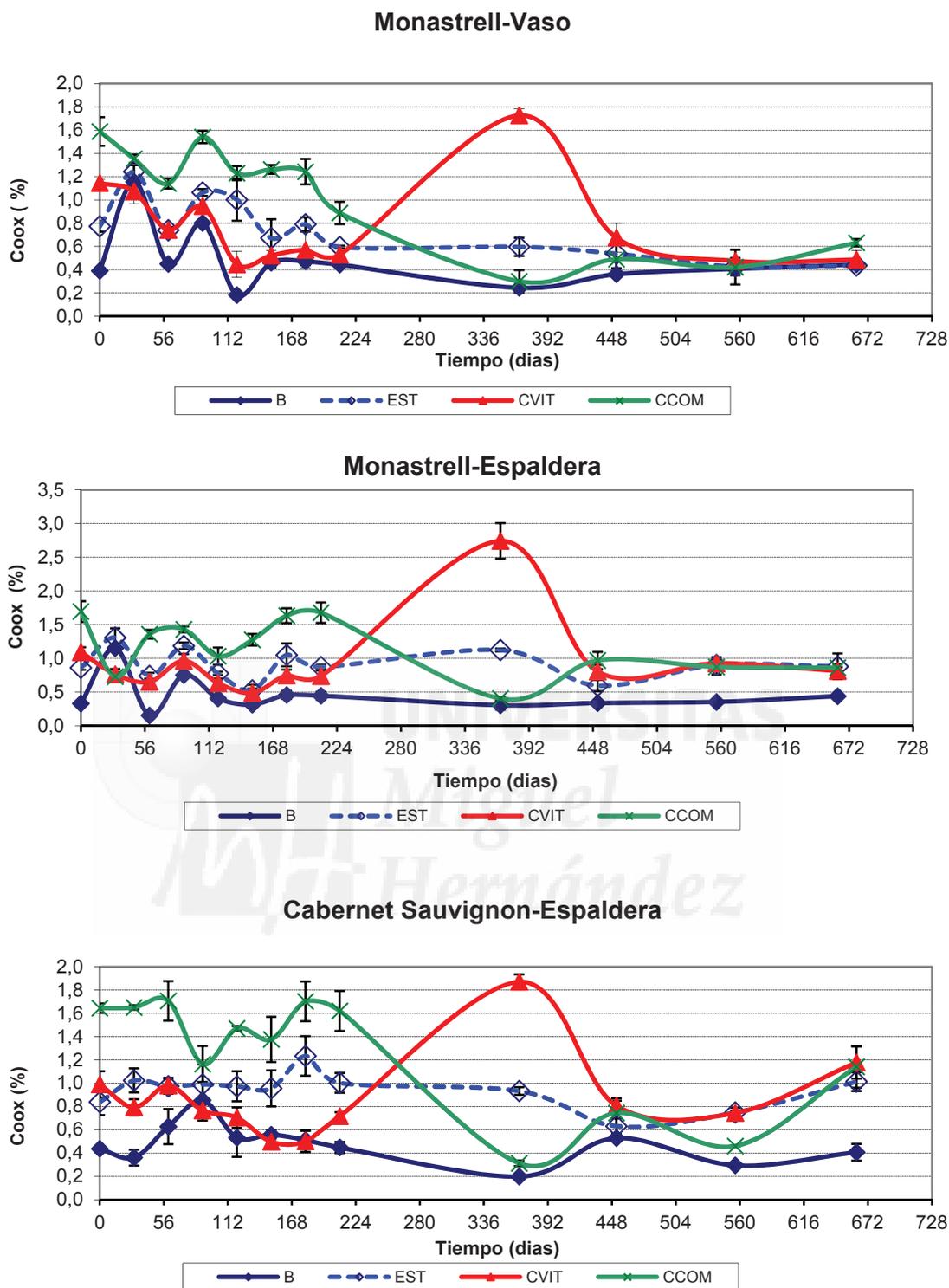


Figura 4.16: Evolución temporal del Carbono orgánico oxidable (Coox) en las parcelas del estudio.

#### 4.3.7 Evolución de la respiración edáfica del suelo

La cuantificación de este parámetro en laboratorio nos va a dar idea de la actividad mineralizadora microbiana de los suelos. La respiración microbiana se define como el consumo de oxígeno y desprendimiento de dióxido de carbono por bacterias, hongos, algas y protozoos, incluyendo el intercambio de gases por el metabolismo de organismos tanto aerobios como anaerobios.

Entre los factores estudiados en la respiración del suelo, se observaron que todos fueron muy significativos. Respecto al efecto del tratamiento en este parámetro, todas las enmiendas orgánicas aumentaron significativamente la respiración del suelo con respecto al control, especialmente en el caso del tratamiento CCOM (Tabla 4.12).

**Tabla 4.12.** Análisis de los efectos generados por las diferentes variables estudiadas en la respiración edáfica, mediante ANOVA doble vía de medidas repetidas.

Respiración (mg C-CO <sub>2</sub> /kg suelo seco y día)					
Fuente	df	F	P <sup>a</sup>	Contraste	Tratamiento <sup>1</sup>
Tiempo (T)	11	329,97	***	B	13,88 a
Tratamiento (TR)	3	378,62	***	EST	22,91 c
Variedad (V)	1	10,59	**	CVIT	21,28 b
Sist. Conduc (SC)	1	232,73	***	CCOM	26,97 d
T x TR	33	153,94	***		
T x V	11	84,00	***		
T x SC	11	36,25	***		
TR x V	3	7,50	**		
TR x SC	3	24,82	***		
T x TR x V	33	30,45	***		
T x TR x SC	33	14,24	***		

<sup>a</sup> Nivel de probabilidad del test F-ANOVA

\*\*\*: P<0,001, \*\*: P<0,01

<sup>1</sup> Valores promedio; los valores seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes (P<0,05).

Tras la aplicación en el primer año de los fertilizantes orgánicos en la parcela Monastrell en vaso, se encontró un aumento de la respiración en todos los suelos enmendados con respecto al control (Figura 4.17). Durante este primer año de experiencia, los suelos con CCOM tuvieron una mayor respiración edáfica. En este primer ciclo los suelos con CVIT y el EST también

mostraron niveles de respiración superiores al control. Sin embargo, tras el muestreo del día 210 los suelos enmendados tuvieron valores muy cercanos al testigo. Tras la aplicación de las enmiendas en el segundo año los niveles de respiración edáfica en los suelos con CVIT fueron los más altos (75,57 mg C-CO<sub>2</sub>/kg suelo seco y día), seguidos del tratamiento EST (37,87 mg C-CO<sub>2</sub>/kg suelo seco y día), posteriormente todos los suelos presentaron valores de respiración edáfica muy similares a los del control hasta el final del experimento.

El comportamiento de los diferentes tratamientos estudiados en la parcela Monastrell en espaldera fue similar al observado en la parcela con sistema de conducción en vaso. Los suelos enmendados con CCOM mostraron valores superiores de respiración edáfica durante el primer ciclo de cultivo. Por otro lado, tras la segunda aplicación de los tratamientos CVIT y EST el nivel de respiración del suelo aumentó hasta valores similares, en el muestreo del día 367 (80,84 y 78,96 mg C-CO<sub>2</sub>/kg suelo seco y día, respectivamente). Durante la última etapa del experimento, los valores de este parámetro disminuyeron en los suelos con estos tratamientos y se mantuvieron prácticamente constantes y similares a los de los suelos con CCOM y control.

En la parcela con la variedad Cabernet Sauvignon con sistema de conducción en espaldera, la evolución de la respiración edáfica fue muy similar a las anteriores. Durante el primer ciclo de cultivo este parámetro aumentó inicialmente con la aplicación de las diferentes enmiendas, especialmente en el caso del tratamiento CCOM. A continuación, la respiración edáfica disminuyó en todos los suelos enmendados, manteniéndose en valores muy cercanos a los del control. Con la segunda aplicación de las enmiendas EST y CVIT la actividad microbológica del suelo aumentó para finalmente disminuir y estabilizarse con valores muy próximos a los del control, hasta el final del experimento.

La tasa de respiración alta tras el aporte de enmiendas orgánicas en los suelos, puede ser debido a la descomposición de los componentes fácilmente disponibles, mientras que tras esta descomposición la respiración decrece. La tasa de respiración decrece en etapas posteriores de descomposición, solo cuando quedan los componentes más recalcitrantes como la lignina y la celulosa (Doung y col., 2009). En todas las parcelas enmendadas se observó, en general un aumento inicial de la respiración y una posterior reducción y estabilización de este parámetro. Resultados similares fueron encontrados en otros estudios de suelos enmendados con compost vitivinícola (Bustamante y col., 2011) y compost de lodo de depuradora (Sánchez-Monedero y col., 2004).

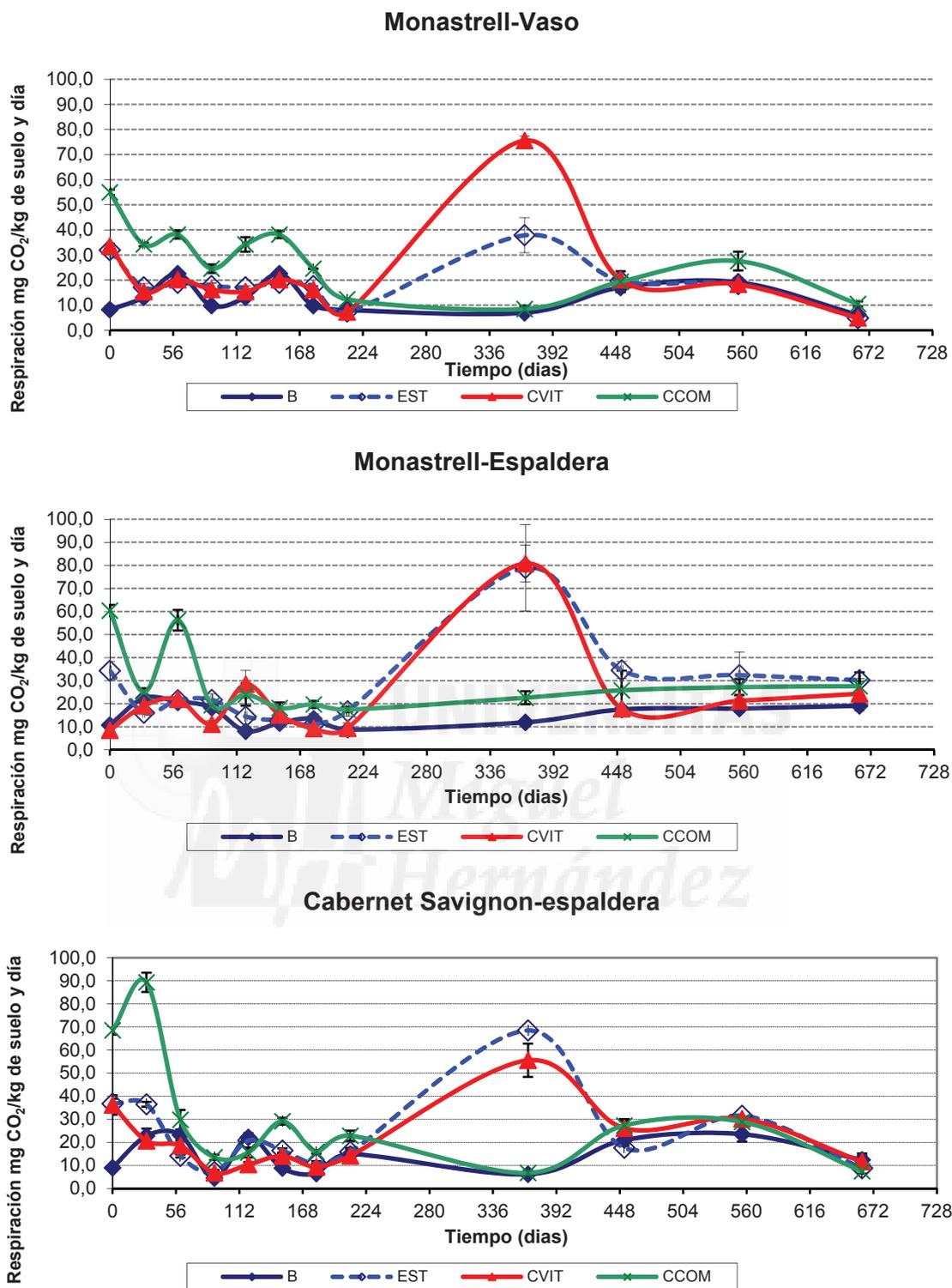


Figura 4.17: Evolución temporal de la respiración edáfica en las parcelas del estudio.

#### 4.4. CONCLUSIONES DEL EXPERIMENTO

Las conclusiones obtenidas en la dinámica de mineralización del carbono y el nitrógeno en la aplicación de enmiendas orgánicas en las parcelas estudiadas son las siguientes:

- ✓ *Las variables que afectaron de forma más significativa a la evolución de los parámetros relacionados con la dinámica de mineralización del carbono y el nitrógeno fueron el tiempo y el tratamiento.*
- ✓ *El tipo de enmienda influyó temporalmente en el pH del suelo que fue reducido por todos los tratamientos con fertilización orgánica, siendo mayor la influencia de los tratamientos CCOM y EST en este parámetro. Sin embargo, el pH alcanzó valores similares al final de ensayo en todos tratamientos incluido el control, debido a la capacidad tampón del suelo.*
- ✓ *El aporte de enmiendas orgánicas aumentó la conductividad eléctrica del suelo con respecto al control, a lo largo de los dos ciclos de cultivo, pero al final del experimento el contenido en sales fue similar en todos los suelos estudiados en cada una de las parcelas.*
- ✓ *Las enmiendas orgánicas empleadas mejoraron la fertilidad del suelo, aumentando el contenido de carbono orgánico oxidable, nitrógeno orgánico e inorgánico del suelo, así como la actividad biológica del suelo.*
- ✓ *Después de cada ciclo de cultivo la capacidad fertilizante de estas enmiendas se vio reducida, excepto en el caso del tratamiento CCOM cuya capacidad fertilizante residual se mantuvo durante todo el periodo del estudio, debido a la alta dosis de aplicación empleada. Este hecho indicó que en la zona de estudio la dosis adecuada de estas enmiendas orgánicas podría estar cercana a las 5 t/ha, con una aplicación anual.*
- ✓ *Al final del estudio, no se produjo una acumulación de nitrógeno inorgánico en los suelos enmendados, mostrando que la liberación de nutrientes procedentes de la mineralización de la materia orgánica está en función de la demanda de nutrientes por parte de la planta. Este aspecto es también esencial para reducir la contaminación por nitratos procedentes de la agricultura en la zona de estudio considerada como vulnerable.*





5. EXPERIMENTO 3:  
EFECTO DE LAS ENMIENDAS ORGÁNICAS EN  
LA CALIDAD DE LAS UVAS DE LAS VARIEDADES  
MONASTRELL Y CABERNET SAUVIGNON DEL  
SURESTE MEDITERRÁNEO



## 5. EXPERIMENTO 3. Efecto de las enmiendas orgánicas en la calidad de la uvas de las variedades Monastrell y Cabernet Sauvignon del sureste mediterráneo.



### Índice:

<b>5.1 OBJETIVOS DEL EXPERIMENTO</b>	<b>123</b>
<b>5.2 MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>125</b>
5.2.1 Planteamiento de la experiencia	125
5.2.2 Métodos analíticos	125
5.2.2.1 Toma y preparación de la muestra	125
5.2.2.2 Parámetros analizados en la uva	126
5.2.3 Métodos estadísticos	126
<b>5.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>128</b>
5.3.1 Producción de uva por planta y peso medio de grano	128
5.3.2 pH, acidez total y grados Beaumé.	135
5.3.3 Parámetros de calidad relacionados con compuestos polifenólicos	138
5.3.4 Análisis factorial de los resultados	143
<b>5.4 CONCLUSIONES DEL EXPERIMENTO</b>	<b>146</b>



## 5.1 OBJETIVOS DEL EXPERIMENTO

Como objetivo de este experimento se pretende determinar el efecto de distintas variables de manejo agrícola de los sistemas vitivinícolas sobre la viña, evaluándose:

- ✓ *Fertilización: orgánica (compost y estiércol) o sin fertilización*
- ✓ *Sistemas de riego: riego por goteo o secano*
- ✓ *Conducción de la planta: vaso o espaldera*
- ✓ *Variedad de uva: autóctona o importada*

De este modo, poder evaluar las condiciones de cultivo de la vid que conlleven a una mayor producción de uva y calidad de la misma, respecto a su potencial fenólico, acidez y contenido de azúcares.





## 5.2 MATERIAL Y MÉTODOS

### 5.2.1 Planteamiento de la experiencia

El modelo experimental fue el mismo que el desarrollado en el experimento 2, usando para esta experiencia la uva de la vendimia obtenida de las cosechas 2012/2013 y 2013/2014.

### 5.2.2 Métodos analíticos

#### 5.2.2.1 Toma y preparación de la muestra

El punto óptimo de vendimia fue determinado por el enólogo de la explotación mediante estudio de evolución de maduración, con sus respectivas fase visual, contenido en azúcares y fase gustativa para cada una de las variedades. Así, la recolección de la uva se realizó el día adecuado para cada una de las parcelas cuando la uva se encontraba en el momento óptimo para su paso a bodega. En la tabla 4.5 se observan las fechas de vendimia de cada parcela y para cada campaña.

Las muestras de uva se tomaron de manera representativa de cada cepa, obteniendo tres submuestras de cada tratamiento.

La muestra se llevó al laboratorio, donde se cogió de cada racimo unos granos, sin mirar los racimos de uva mientras se muestreaban, para evitar así coger involuntariamente los granos de mayor peso, sanos o de mejor aspecto. La finalidad fue coger granos de uva de todas las posiciones dentro del racimo (zona central, hombros, ápice terminal, etc.).

Los granos de uva se lavaron primero con agua del grifo para separar la mayor parte de las sustancias extrañas y después con agua destilada. A continuación, los granos lavados se secaron en papel y se contaron y pesaron para determinar el peso medio de grano. Una vez pesados los granos de uva se dividieron en dos submuestras. Una de ellas se utilizó para la determinación de los parámetros clásicos de madurez (pH, acidez total y grado Baumé) para ello se procedió primero a la extracción del mosto contenido en las uvas, mediante el triturado de las uvas con una Termomix, durante dos minutos a una velocidad media, que asegura la trituración evitando la ruptura de las pepitas. A continuación, se filtró a través de un colador con un tamaño de haz de luz de 1 mm, obteniendo un mosto limpio de sólidos en suspensión para la realización de los análisis. La otra submuestra de uva se congeló para posteriores análisis,

### 5. Experimento 3: Efecto de las enmiendas orgánicas en la calidad de la uva

donde se determinó el contenido de antocianos totales y fácilmente extraíbles y el índice de polifenoles totales.

#### **5.2.2.2 Parámetros analizados en la uva**

##### **Rendimiento de la cosecha**

Los racimos fueron cosechados, pesados y contados para cada planta a pie de parcela. Los datos obtenidos de cada cepa fueron contabilizados individualmente agrupando, posteriormente, los tratamientos en grupos de 10 cepas por tres repeticiones de cada tratamiento. Determinando así el rendimiento de la cosecha por tratamiento.

##### **Parámetros de calidad de la uva**

Parámetros de calidad de la uva analizados fueron los siguientes:

- ✓ pH
- ✓ Acidez Total
- ✓ Grados Baumé
- ✓ Polifenoles totales
- ✓ Antocianos totales
- ✓ Antocianos fácilmente extraíbles

Todas las determinaciones se hicieron por triplicado. Las técnicas analíticas empleadas para la determinación de estos parámetros se detallan en el anexo de los métodos analíticos.

#### **5.2.3 Métodos estadísticos**

El tratamiento estadístico aplicado a los datos determinados en la uva de este experimento fue un análisis estadístico ANOVA MLG-Multivariante de medidas repetidas que permitiera evaluar en los parámetros estudiados en el material vegetal el efecto de las variables consideradas: tipo de tratamiento, tiempo, sistema de conducción, variedad de uva, y los efectos combinados entre estas variables.

También, se realizó un análisis estadístico ANOVA MLG-Univariante que permitiera evaluar en los parámetros estudiados en la uva el efecto del tipo de tratamiento para cada parcela y año.

Finalmente, el tratamiento estadístico empleado para evaluar la relación entre las propiedades del suelo estudiadas y los parámetros de calidad de la uva analizados fue el análisis de factores principales (AFP). AFP se aplicó a los valores medios obtenidos de todas las determinaciones que se realizaron a lo largo del tiempo a cada parámetro estudiado, tanto en suelo como en la uva. Para el AFP se utilizó el método de rotación mediante normalización Varimax. Los parámetros considerados en este análisis estadístico fueron, el caso del suelo: pH, conductividad eléctrica, nitrógeno orgánico, nitrógeno en forma de amonio y de nitratos, carbono orgánico oxidable y respiración edáfica. Los parámetros de la uva que se emplearon en el AFP fueron: producción, peso del grano, pH, acidez total, grado Beaumé, índice de polifenoles totales, antocianos totales y fácilmente extraíbles y extractabilidad de antocianos. Para el análisis de datos procedentes del estudio se usó el Programa estadístico SPSS Statistics versión 22.



### 5.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cuando se realiza un tratamiento a nivel agronómico, el principal parámetro que condiciona la efectividad del tratamiento es el rendimiento de la planta y la calidad del fruto. En el caso de la uva para vinificación, esta efectividad va más allá y se debe de estudiar los efectos de los tratamientos y de diferentes manejos agrícolas en la producción y calidad enológica de la uva.

#### 5.3.1 Producción de uva por planta y peso medio de grano

La producción de uva por planta incluye la uva total por cada planta y el raspón, es decir, el peso total de todos los racimos como resultado de los diferentes tratamientos. Además, se determinó el peso medio del fruto resultante en cada uno de los tratamientos.

Así, en la tabla 5.1, se observa que los factores estudiados, tiempo, tratamiento, sistema de conducción y variedad, como la interacción entre ellos ha sido muy significativa, exceptuando la interacción entre tiempo y variedad que no fue significativa.

En cuanto al peso medio de grano, los factores tratamiento y las interacciones tiempo por variedad y tiempo por sistema de conducción resultaron significativos con un nivel de significación a  $P < 0,01$ . Sin embargo, en los factores variedad y sistema de conducción se observaron diferencias muy significativas ( $P < 0,001$ ).

En la parcela con sistema de conducción en vaso de la variedad Monastrell (tabla 5.2), para la producción en kg de uva por planta en el primer año de experimento no hubieron diferencias significativas entre el tratamiento control (B) y el tratamiento CCOM, mientras que el tratamiento con EST obtuvo estadísticamente el mayor rendimiento (1,68 kg/planta). Las viñas con CVIT tuvieron una producción intermedia entre la obtenida con B y CCOM y la obtenida con EST.

Sin embargo, el segundo año de experimento, las diferencias entre los tratamientos con fertilización orgánica y el control si fueron significativos, aumentando en todas las viñas la producción respecto al tratamiento sin fertilización.

El peso medio de grano no presentó diferencias significativas entre los tratamientos con fertilización y el control en ninguno de los dos años de la experiencia.

En la viña con sistema de conducción en espaldera de la variedad Monastrell (tabla 5.3), en los tratamientos con fertilización se obtuvo una mayor producción frente al blanco en el primer año. Entre los tratamientos EST y CVIT (3,02 y 3,60 kg/planta, respectivamente) no se

observaron diferencias, mientras que el tratamiento que tuvo una mayor producción fue el CCOM (5,62 kg/planta).

En el segundo año de experimento se mantuvo la mayor producción de uva en los tratamientos EST y CVIT (1,59 kg/planta) obteniendo producciones por planta cercanas al doble del tratamiento control, en este año el tratamiento CCOM no presentó diferencias respecto al tratamiento control.

Por otro lado en el peso medio de grano no se observaron diferencias significativas en el primer año del experimento, mientras que en el segundo año de la experiencia solo las viñas con los tratamientos EST y CVIT tuvieron un peso medio de grano estadísticamente superior al obtenido en el tratamiento control (Peso medio de grano = 1,77 y 1,76 gramos para los tratamientos EST y CVIT, respectivamente).



**Tabla 5.1:** Análisis de los efectos generados por las variables de manejo agrícola estudiadas en los parámetros de calidad de la uva.

Fuente	Producción (kg/planta)		Peso de grano (g)		pH		Acidez total (g H <sub>2</sub> T/L)		°Be		Antocianos totales (mg/L)		Antocianos extraíbles (mg/L)		Extractabilidad de antocianos (%)		Índice de polifenoles totales		
	df	F	df	F	df	F	df	F	df	F	df	F	df	F	df	F	df	F	p <sup>a</sup>
Tiempo (T)	1	220,44 ***	1	4,22 NS	1	83,65 ***	1	138,12 ***	1	2,61 NS	1	5,06 *	1	8,00 **	1	11,86 **	1	0,23 NS	
Tratamiento (TR)	3	39,39 ***	3	6,46 **	3	2,94 NS	3	1,08 NS	3	0,80 NS	3	0,77 NS	3	5,60 **	3	2,45 NS	3	0,26 NS	
Variedad (V)	1	77,23 ***	1	404,11 ***	1	0,07 NS	1	24,12 ***	1	3,33 NS	1	6,92 *	1	95,20 ***	1	63,37 ***	1	19,23 ***	
Sist. Conduc (SC)	1	157,71 ***	1	48,79 ***	1	12,45 **	1	4,42 *	1	7,79 *	1	55,84 ***	1	78,06 ***	1	3,03 NS	1	34,75 ***	
TR x V	3	8,79 ***	3	1,56 NS	3	0,62 NS	3	2,23 NS	3	1,19 NS	3	5,35 **	3	7,92 **	3	65,74 ***	3	0,86 NS	
TR x SC	3	18,44 ***	3	2,75 NS	3	0,42 NS	3	0,35 NS	3	2,13 NS	3	3,69 *	3	10,91 ***	3	63,15 ***	3	2,17 NS	
T x TR	3	12,52 ***	3	0,29 NS	3	0,24 NS	3	1,76 NS	3	0,37 NS	3	3,23 *	3	1,87 NS	3	14,99 ***	3	0,90 NS	
T x V	1	0,22 NS	1	8,09 **	1	0,16 NS	1	17,64 ***	1	6,06 *	1	2,21 NS	1	0,51 NS	1	6,06 *	1	2,02 NS	
T x SC	1	43,36 ***	1	13,19 **	1	0,08 NS	1	17,30 ***	1	7,28 *	1	56,52 ***	1	23,90 ***	1	5,43 *	1	0,19 NS	
T x TR x V	3	14,25 ***	3	0,05 NS	3	0,52 NS	3	2,56 NS	3	0,57 NS	3	3,77 *	3	2,73 NS	3	3,85 *	3	4,53 *	
T x TR x SC	3	24,47 ***	3	0,02 NS	3	0,28 NS	3	0,39 NS	3	1,72 NS	3	1,77 NS	3	2,19 NS	3	6,52 **	3	0,17 NS	

H<sub>2</sub>T: ácido tartárico

<sup>a</sup> Nivel de probabilidad del test F-ANOVA: \*\*\*: P<0,001, \*\*: P<0,01, \*: P<0,05, NS: P>0,05.

**Tabla 5.2:** Análisis de los efectos generados por las enmiendas orgánicas utilizadas en los parámetros de calidad de la uva en la parcela de la variedad Monastrell en vaso

Tratamiento	Prod. Vinya (kg/planta)	Peso grano (g)	pH	Ac. Total (g H <sub>2</sub> T/L)	% Be	Antocianos totales (mg/L)	Antocianos extraíbles (mg/L)	Extractabilidad de antocianos (%)	IPT
<b>Monastrell-Vaso 2012/2013</b>									
<b>B</b>	0,72 a	1,29 a	3,60 a	4,31 a	12,9 a	1068 a	484 a	54,0 ab	20,8 a
<b>EST</b>	1,68 b	1,30 a	3,46 a	4,77 a	12,8 a	1122 a	460 a	58,8 b	20,7 a
<b>CVIT</b>	1,24 ab	1,44 a	3,54 a	4,26 a	13,4 a	1192 a	672 b	43,7 a	23,1 a
<b>CCOM</b>	0,92 a	1,54 a	3,53 a	4,60 a	13,4 a	1182 a	626 b	47,1 a	23,8 a
<b>F-ANOVA</b>	7,45 *	2,02 NS	1,01 NS	0,51 NS	0,5 NS	1 NS	11 **	6,4 *	2,2 NS
<b>Monastrell-Vaso 2013/2014</b>									
<b>B</b>	0,19 a	1,03 a	3,93 a	3,43 a	11,7 a	824 a	305 a	63,0 b	21,8 a
<b>EST</b>	0,85 b	1,11 a	3,83 a	3,94 a	11,5 a	851 a	474 b	44,3 a	19,6 a
<b>CVIT</b>	0,73 b	1,28 a	3,82 a	3,44 a	12,5 a	751 a	345 a	60,9 b	21,3 a
<b>CCOM</b>	0,60 b	1,35 a	3,76 a	3,43 a	12,2 a	718 a	481 b	51,9 ab	20,4 a
<b>F-ANOVA</b>	14,39 **	1,01 NS	0,37 NS	3,13 NS	3,3 NS	1 NS	11 **	8,1 **	0,6 NS

B: control; EST: estiércol de oveja + cabra; CVIT: compost de residuos vitivinícolas; CCOM: compost comercial; H<sub>2</sub>T: ácido tartárico; IPT: Índice de polifenoles totales. Los valores promedios en columnas seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes (p<0,05) (test Tukey-b). Nivel de probabilidad del test F-ANOVA: \*\*: P<0,01; \* P<0,05, NS: P>0,05

**Tabla 5.3:** Análisis de los efectos generados por las enmiendas orgánicas en los parámetros de calidad de la uva en la parcela de la variedad Monastrell en espaldera

Tratamiento	Prod. Vinya (kg/planta)	Peso grano (g)	pH	Ac. Total (g H <sub>2</sub> T/L)	° Be	Antocianos totales (mg/L)	Antocianos extraíbles (mg/L)	Extractabilidad de antocianos (%)	IPT
<b>Monastrell-Espaldera 2012/2013</b>									
<b>B</b>	0,67 a	1,36 a	3,50 a	5,01 a	12,2 a	407 a	333 a	8,3 a	16,5 a
<b>EST</b>	3,02 b	1,60 a	3,37 a	5,34 a	11,7 a	448 a	288 a	45,1 b	18,7 a
<b>CVIT</b>	3,60 b	1,50 a	3,44 a	4,82 a	12,6 a	880 c	317 a	62,8 b	17,3 a
<b>CCOM</b>	5,62 c	1,52 a	3,38 a	5,52 a	11,5 a	657 b	261 a	60,1 b	19,1 a
<b>F-ANOVA</b>	38,29 ***	0,99 NS	0,86 NS	1,53 NS	1,6 NS	19,30 **	0,60 NS	32,5 ***	0,6 NS
<b>Monastrell-Espaldera 2013/2014</b>									
<b>B</b>	0,86 a	1,48 a	3,78 a	3,07 a	12,7 a	977 a	467 b	51,9 ab	18,9 a
<b>EST</b>	1,59 b	1,77 b	3,61 a	3,53 a	11,8 ab	611 a	334 ab	46,0 a	18,5 a
<b>CVIT</b>	1,59 b	1,76 b	3,80 a	3,48 a	11,4 a	817 a	254 a	67,9 c	14,5 a
<b>CCOM</b>	0,97 a	1,68 ab	3,62 a	3,22 a	11,3 a	759 a	316 ab	64,2 bc	16,7 a
<b>F-ANOVA</b>	91,27 ***	4,59 *	3,12 NS	1,99 NS	4,7 *	3,50 NS	5,09 *	7,7 *	1,9 NS

B: control; EST: estiércol de oveja + cabra; CVIT: compost de residuos vitivinícolas; CCOM: compost comercial; H<sub>2</sub>T: ácido tartárico; IPT: Índice de polifenoles totales. Los valores promedios en columnas seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes (P<0,05) (test Tukey-b). Nivel de probabilidad del test F-ANOVA: \*\*\*P<0,001, \*\*P<0,01, \*P<0,05, NS: P>0,05

En la parcela con la variedad Cabernet Sauvignon en espaldera (tabla 5.4) se observó que la producción obtenida fue superior y estadísticamente significativa en los tratamientos con fertilización orgánica respecto al tratamiento control durante toda la experiencia. Además, en el segundo año las viñas con el tratamiento EST presentaron una producción significativamente mayor respecto a los tratamientos CVIT y CCOM.

En cuanto al peso medio del grano, no existieron diferencias entre los tratamientos en esta parcela durante el periodo de la experiencia.

La producción de las tres parcelas es mayor en el primer año de la experiencia, disminuyendo la producción por cepa en el segundo año en todos los casos, esto puede ser debido a diferencia de lluvias entre el primer y segundo año del experimento, donde la precipitación acumulada del primer año fue unos 100 mm superior al segundo año. Romero y col. (2015) observaron que un estrés hídrico severo en la planta disminuye los rendimientos debido a la falta de agua para movilizar los carbohidratos hacia los frutos.

Otros autores observaron que el tratamiento de viñas con enmiendas orgánicas, puede afectar positiva o negativamente los parámetros de producción dependiendo de los años (Mugnai y col., 2012). Por otro lado, Morlat (2008) y Schmidt y col. (2014) no observaron ningún efecto en la producción de la viña con el uso de enmiendas orgánicas. Esto podría ser debido a que los autores antes mencionados llevaron a cabo sus experimentos en viñedos con una edad de unos 30 años, que suelen tener raíces muy profundas. Como los fertilizantes orgánicos se incorporan en la capa superior del suelo del viñedo, los efectos más pronunciados solo se pueden ver cuando han transcurrido varios años, cuando las partículas más finas de las enmiendas han podido moverse hacia horizontes del suelo más profundos, como observó Schmidt y col. (2014). Sin embargo, nuestro viñedo experimental tenía entre 10-15 años de edad, con lo cual las vides tienen raíces poco profundas y cercanas al perfil del suelo donde se han añadido las enmiendas orgánicas. Este hecho podría explicar el mayor rendimiento de la viña con la fertilización orgánica observado en nuestro experimento.

**Tabla 5.4:** Análisis de los efectos generados por las enmiendas orgánicas en los parámetros de calidad de la uva en la parcela de la variedad Cabernet Sauvignon en espaldera

Tratamiento	Prod. Viña (kg/planta)	Peso grano (g)	pH	Ac. Total (g H <sub>2</sub> T/L)	° Be	Antocianos totales (mg/L)	Antocianos extraíbles (mg/L)	Extractabilidad de antocianos (%)	IPT							
<b>Cabernet Sauvignon-Espaldera 2012/2013</b>																
<b>B</b>	2,49	a	3,39	a	5,32	a	12,3	a	617	a	465	a	32,7	a	15,3	a
<b>EST</b>	4,88	b	3,42	a	4,76	a	12,4	a	907	b	475	a	57,8	b	14,7	a
<b>CVIT</b>	4,77	b	3,50	a	5,42	a	11,9	a	673	a	513	a	30,7	a	12,5	a
<b>CCOM</b>	4,43	b	3,50	a	5,43	a	11,2	a	790	ab	503	a	35,5	a	14,0	a
<b>F-ANOVA</b>	8,81	**	1,243	NS	1,061	NS	0,7	NS	7,53	*	0,19	NS	23,3	***	1,2	NS
<b>Cabernet Sauvignon-Espaldera 2013/2014</b>																
<b>B</b>	1,88	a	3,79	a	4,64	b	13,0	ab	817	a	421	a	48,1	a	12,0	a
<b>EST</b>	2,69	c	3,70	a	4,44	ab	13,4	b	781	a	455	a	41,4	a	17,1	a
<b>CVIT</b>	2,18	b	3,73	a	3,97	a	12,1	a	868	a	602	b	39,1	a	16,9	a
<b>CCOM</b>	2,33	b	3,70	a	4,22	ab	12,1	a	859	a	537	ab	42,6	a	14,6	a
<b>F-ANOVA</b>	28,09	***	1,89	NS	0,404	NS	6,1	*	0,25	NS	5,88	*	1,52	NS	3,8	NS

B: control; EST: estiércol de oveja + cabra; CVIT: compost de residuos vitivinícolas; CCOM: compost comercial; H<sub>2</sub>T: ácido tartárico; IPT: índice de polifenoles totales. Los valores promedios en columnas seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes (P<0,05) (test Tukey-b). Nivel de probabilidad del test F-ANOVA: \*\*\*P<0,001, \*\*P<0,01, \*P<0,05, NS: P>0,05

También se observó una diferencia significativa en la producción de la viña entre los diferentes sistemas de conducción de la planta, la conducción en vaso presenta niveles de producción por cepa inferiores al resto de parcelas. Esto puede ser debido a que a pesar de un diferente sistema de conducción, la parcela con sistema de conducción en vaso se encuentra en secano y solo cuenta con el agua procedente de las precipitaciones, dada esta situación la producción en secano es inferior respecto a las viñas con riegos de socorro.

Respecto al peso medio del grano, se observó que el grano en la variedad Cabernet Sauvignon fue significativamente inferior a aquel de la variedad Monastrell, así como el sistema de conducción de la planta en vaso hizo que el peso medio del grano de uva fuera menor que con el sistema en espaldera, en el caso de la variedad Monastrell. El tamaño de grano de la uva puede influir en la calidad enológica de la uva.

### 5.3.2 pH, acidez total y grados Beaumé.

#### pH

El valor del pH en un mosto es un parámetro importante, ya que muestra el nivel de salificación de los diferentes ácidos orgánicos que contiene la uva, además el estudio de su evolución a lo largo de la maduración de la uva es uno de los índices empleados para determinar cuando la uva ha alcanzado su madurez industrial y fijar así la fecha de vendimia. Por lo tanto, el valor del pH es un parámetro importante a la hora de decidir el momento de vendimia, ya que con valores de pH elevados podemos tener problemas de estabilidad microbiológica y, por tanto, necesidad de realizar posteriores correcciones de acidez de los mostos en bodega. Este parámetro tiene un comportamiento diferente en cada variedad (Gil y col., 2003 y 2004; Sella y col., 2001), y se ve fuertemente influido por la climatología y el estado hídrico de la planta (Hidalgo Togados, 2006).

En la tabla 5.1 se observa que los únicos factores estudiados que tuvieron un efecto significativo sobre los valores de pH del mosto fueron el tiempo y el sistema de conducción, mientras que el resto de factores y las interacciones entre ellos no afectaron de forma significativa a este parámetro.

Además el análisis estadístico usado para analizar la influencia de los diferentes tratamientos estudiados tampoco mostró diferencias significativas entre tratamientos, pero sí

### 5. Experimento 3: Efecto de las enmiendas orgánicas en la calidad de la uva

se observó un incremento de pH en el segundo año (3,61-3,93) respecto al primero (3,37-3,60). Este hecho podría ser debido a que el segundo año del experimento fue más caluroso y seco que el primero. La climatología del año influye en el valor de pH del mosto debido a que durante la maduración de la uva los ácidos se van degradando por combustión respiratoria. Esta degradación es mayor con el aumento de la temperatura y también con el estrés hídrico de la planta, debido a que la reposición de los ácidos de la uva aumenta con la circulación de agua en la planta (Hidalgo Togores, 2006). Este último hecho también explica los mayores valores de pH encontrados, en los dos años del experimento, en las uvas de la variedad Monastrell en vaso en comparación con los de la misma variedad pero en espaldera, ya que el viñedo con sistema de conducción de la planta en vaso no tuvo riego.

#### **Acidez total**

Nos referimos a acidez total a la que se expresa como el contenido en g/L de ácido tartárico, que en el momento del envero presenta valores del orden de 20-25 g/L y de 3,5 a 11,5 g/L en la maduración. Después del envero la concentración del ácido tartárico disminuye ligeramente pudiéndose considerar bastante constante y estando muy relacionado con las temperaturas del periodo de maduración, así como la disponibilidad de agua por la cepa. Las altas temperaturas tienden a consumir por combustión respiratoria grandes cantidades de ácido tartárico, mientras que la presencia de humedad incrementa los niveles de este ácido en los racimos (Hidalgo Togores, 2006).

En este parámetro, estudiando los factores y la interacción entre ellos se encontró que afectaron de forma significativa el tiempo, variedad, sistema de conducción y la interacción entre el tiempo y el sistema de conducción y el tiempo y la variedad (Tabla 5.1).

Al estudiar la influencia de los tratamientos en cada parcela (tablas 5.2, 5.3 y 5.4) sobre los valores de la acidez total no se observan diferencias significativas en la variedad Monastrell en vaso, ni la variedad Monastrell en espaldera entre los tratamientos con enmiendas orgánicas y el control. Sin embargo, se puede apreciar diferencias significativas entre el tratamiento B y CVIT de la variedad Cabernet Sauvignon con sistema de conducción en espaldera en el segundo año del experimento, siendo la acidez más elevada en el tratamiento B (4,64 g/L) respecto al tratamiento CVIT (3,97 g/L). Sin embargo, la acidez total de los mostos de las uvas con EST y CCOM fue estadísticamente similar a las del tratamiento control.

Otro aspecto a tener en cuenta, es la mayor acidez que presentan los mostos de las parcelas del primer año respecto al segundo año de experimento en todos los casos. Este hecho está relacionado con el pH, como se indica en otros estudios (Spayd y col., 1994) el incremento de pH provoca un descenso de la acidez total expresada en mg/L de ácido tartárico. Además, la disponibilidad de agua de la cepa es superior en el primer año con un aumento de la reposición de ácidos en la uva, como se ha comentado anteriormente.

### **Grados Baumé**

La medida del grado Baumé ( $^{\circ}\text{Be}$ ) indica el contenido en sólidos solubles de la uva y es un método aproximado para conocer su concentración en azúcares. Este parámetro aumenta durante la maduración de la uva debido a que los azúcares se van acumulando en el grano, como consecuencia de la desaparición de las hormonas de crecimiento, especialmente las auxinas, y al aumento del contenido de ácido abscísico, que favorecen las actividades enzimáticas implicadas en la acumulación de los azúcares, en las vacuolas de las células de la pulpa (sacarosa fosfato sintetasa, sacarosa sintetasa y hexoquinasa) (Ribéreau-Gayon y col., 2003).

Los únicos factores que afectaron de forma significativa a los grados Baumé del mosto fueron el sistema de conducción, y la interacción entre tiempo por variedad y tiempo por sistema de conducción (tabla 5.1)

Los grados Baumé no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos dentro de la parcela Monastrell en vaso en los dos años de experimento (tabla 5.2).

En la parcela Monastrell en espaldera, como muestra la tabla 5.3, tampoco se observaron diferencias significativas en los  $^{\circ}\text{Be}$  durante el primer año entre los tratamientos, pero si existieron diferencias significativas en este parámetro en el segundo año, siendo las uvas del tratamiento control las que tuvieron un contenido de sólidos solubles mayor que las de los tratamientos CVIT y CCOM.

Los datos observados en la tabla 5.4 para la parcela Cabernet Sauvignon en espaldera, indican que no hubo diferencias significativas en los valores de  $^{\circ}\text{Be}$  de la uva entre los diferentes tratamientos durante el primer año. Sin embargo, en el segundo año de la experiencia los grados Baumé observados en las uvas del tratamiento EST fueron superiores al resto de tratamientos con fertilización orgánica y estadísticamente similares a los de las uvas del control.

### 5.3.3 Parámetros de calidad relacionados con compuestos polifenólicos

#### Índice de polifenoles totales (IPT)

Los compuestos fenólicos presentes en la piel de la uva tinta van a ser los mayores responsables del color del vino tinto. Estos se clasifican como no flavonoides (ácidos benzoicos, ácidos cinámicos y estilbenos) y flavonoides (flavonoles, antocianos y flavanoles). Los antocianos y los taninos (flavonoles polimerizados o procianidinas) van a ser los compuestos más relevantes en relación al color y su estabilidad en los vinos tintos (Martínez de Toda, 2011).

Es importante que el racimo alcance la madurez polifenólica, porque la uva debe tener buena y equilibrada composición polifenólica, pero fundamentalmente porque ésta no puede corregirse.

Los índices relacionados con la madurez polifenólica de la uva tratan de tener en cuenta la concentración global en sustancias polifenólicas, pero también su estructura y su aptitud a la extracción que permite el paso en el vino durante la vinificación (Ribéreau-Gayon y col., 2003).

La existencia de un anillo fenólico supone una absorción de las radiaciones ultravioletas ( $\lambda = 280 \text{ nm}$ ) lo que se utiliza para su determinación (IPT, Índice de polifenoles totales).

Entre los factores estudiados, tuvieron un efecto significativo en el IPT los factores variedad y sistema de conducción ( $P < 0,001$ ), y la interacción entre tiempo, tratamiento y variedad ( $P < 0,05$ ) (tabla 5.1)

Como se puede observar en las tablas 5.2, 5.3 y 5.4, no se observa la influencia de los tratamientos estudiados en este parámetro. Sin embargo, si existe una diferencia entre variedades, donde se muestran valores superiores de IPT en la variedad Monastrell en espaldera (16,5-19,1 y 14,5-18,9 en el primer y segundo año de la experiencia, respectivamente) frente a la variedad Cabernet Sauvignon en espaldera (12,5-15,3 y 12,0-17,1, en el primer y segundo año, respectivamente), así como un mayor contenido en la variedad Monastrell con sistema de conducción en vaso respecto al resto de variedades con el sistema de conducción en espaldera (20,7-23,8 y 19,6-21,8).

El contenido de polifenoles de la uva es diferente dependiendo de la variedad de la uva. Sin embargo, dentro de una misma variedad el menor tamaño de grano aumenta el contenido total de polifenoles del mosto. Este hecho es debido a que existe una mayor proporción de

hollejo frente a pulpa en los granos pequeños, siendo el hollejo la parte de la uva donde hay una mayor concentración de compuestos fenólicos (Martínez de Toda, 2011). Esto podría explicar el mayor valor de IPT de los mostos de las uvas Monastrell en vaso frente a Monastrell en espaldera, teniendo las primeras un menor peso medio de grano (Tablas 5.2 y 5.3).

### **Antocianos totales (mg/L)**

Los antocianos son los pigmentos rojos de las uvas y se localizan exclusivamente en la piel de las uvas tintas. Excepcionalmente, se encuentran en la pulpa de alguna variedad muy coloreada, como por ejemplo la Tintorera (Aleixandre y col., 2003).

La mayoría de los factores estudiados y la interacción entre ellos tuvieron un efecto significativo en este parámetro, excepto el factor tratamiento y la interacciones tiempo por variedad (T x V) y tiempo por tratamiento y por sistema de conducción (T x TR x SC) (tabla 5.1).

En la tabla 5.2 se muestra como los diferentes tratamientos estudiados no tuvieron un efecto significativo en el contenido de antocianos totales en el mosto de las uvas de la variedad Monastrell con sistema de conducción en vaso en los dos años del experimento. Sin embargo, sí se observó una diferencia entre los antocianos totales obtenidos en el primer año y la reducción de estos en el segundo año de la experiencia.

En la variedad Monastrell con sistema de conducción en espaldera (tabla 5.3), el tratamiento que dio uvas con mayor contenido en antocianos totales fue el CVIT (880 mg/L) seguido del CCOM (657mg/L), durante el primer año de la experiencia. En el segundo año, no se aprecian diferencias estadísticas en este parámetro debidas a los tratamientos, sin embargo, respecto al año anterior existe, en general, un aumento del contenido de antocianos totales.

En la variedad Cabernet Sauvignon con sistema de conducción en espaldera, se puede observar en la tabla 5.4 que en el primer año de experiencia las uvas del tratamiento EST presentaron el mayor contenido en antocianos totales (907 mg/L) respecto al resto de tratamientos de ese mismo año, mientras que en segundo año todos los tratamientos dieron uvas con contenidos similares de antocianos totales. Al igual que en la parcela anterior se observó un aumento generalizado del contenido de antocianos totales en todos los tratamientos en el segundo año con respecto al primero.

### **Antocianos extraíbles (mg/L)**

La extractabilidad de compuestos fenólicos de la uva está condicionada por el estado de madurez que afecta a la degradación de las células del hollejo (Ribéreau-Gayon y col., 2003)

En la tabla 5.1 se puede observar que los factores estudiados y la interacción entre ellos tuvieron un efecto muy significativo sobre el contenido de antocianos extraíbles del mosto, excepto las interacciones tiempo por tratamiento (T x TR), tiempo por variedad (T x V), tiempo por tratamiento y por variedad (T x TR x V) y tiempo por tratamiento y por sistema de conducción (T x TR x SC) que no presentaron efectos significativos sobre este parámetro.

En la parcela Monastrell en vaso, los tratamientos que dieron uvas con mayor contenido de antocianos extraíbles fueron CVIT y CCOM (672 y 626 mg/L, respectivamente), mientras que no hubo diferencias significativas en este parámetro en los mostos procedentes de las uvas control (484 mg/L) o con el tratamiento EST (460 mg/L) (tabla 5.2). Sin embargo, en el segundo año los tratamientos que dieron uvas con mayor contenido de antocianos extraíbles fueron EST y CCOM y no se encontraron diferencias significativas en el contenido de estos compuestos extraíbles con el control en el caso de las uvas procedente del tratamiento con CVIT.

Respecto a la evolución temporal, en esta parcela se observa un contenido en antocianos extraíbles superior en el primer año (460-672 mg/L) respecto al segundo (305-481 mg/L) lo mismo se observó en el contenido de antocianos totales, posiblemente debido al mayor aporte de agua procedente de lluvia durante el primer año. Estos resultados no están de acuerdo con los encontrados por otros autores (Ribéreau-Gayon y col., 2000; Ferreyra y col., 2003; Gil y col., 2003 y 2004; Casassa y col., 2015), que encuentran valores de antocianos inferiores cuando aumenta del suministro hídrico. Referente a esta diferencia en los resultados encontrados hay que considerar las situaciones de sequía extrema que se encuentra este cultivo durante el segundo año. De este modo, se debe de tener en cuenta un aporte hídrico mínimo para que se lleve a cabo el transporte de los azúcares a los granos de uva, mediante los cuales da comienzo la síntesis de antocianos (Martínez de Toda, 2011).

En la variedad Monastrell con sistema de conducción en espaldera (tabla 5.3) no se encontraron diferencias significativas en el contenido de antocianos extraíbles con respecto al tratamiento, durante el primer año. Sin embargo, en el segundo año, las uvas con el mayor y el menor contenido de estos compuestos fueron las que procedían de los tratamientos B y CVIT,

respectivamente, mientras que los tratamientos EST Y CCOM dieron mostos con concentración de antocianos extraíbles intermedias entre las obtenidas en los tratamientos anteriores.

En la variedad Cabernet Sauvignon con sistema de conducción en espaldera (tabla 5.4), durante el primer año del experimento los diferentes tratamientos no afectaron de forma significativa al contenido de antocianos extraíbles de la uva. Sin embargo, en el segundo año de la experiencia, las uvas con mayor contenido de estos compuestos fueron las del tratamiento CVIT (602 mg/L), mientras que los mostos de las uvas de los otros tratamientos tuvieron concentraciones de antocianos extraíbles muy similares estadísticamente.

Las parcelas con sistema de conducción en espaldera presentaron uvas con contenidos en antocianos totales y extraíbles menor en el primer año en comparación con las uvas de la variedad Monastrell en vaso. Esto podría ser debido a la mayor producción de estas parcelas en el primer año del experimento (tablas 5.3 y 5.4). Sin embargo, en el segundo año del experimento la producción de las parcelas en espaldera se redujo considerablemente. Casassa y col. (2015) estudiaron el efecto de diferentes regímenes de riego deficitario controlado sobre diferentes parámetros de producción de la viña y sobre la calidad de la uva y el vino obtenido. Estos autores observaron que los regímenes de riego más deficitario redujeron en mayor medida la producción de uva, mientras que en estos casos, las uvas presentaron contenidos mayores de antocianos en sus hollejos.

#### **Extractabilidad de antocianos (%)**

El índice de madurez celular, también llamado extractabilidad de los antocianos (EA), se calcula a partir de los contenidos de antocianos totales ( $ApH_1$ ) y de antocianos extraíbles ( $ApH_{3,2}$ ).

$$EA (\%) = [(ApH_1 - ApH_{3,2})/ApH_1] * 100$$

Saint-Criq y col., (1998) propusieron este índice para evaluar la facilidad de extracción de los compuestos fenólicos al vino. Este análisis consiste en macerar uvas durante cuatro horas a dos valores diferentes de pH (3,2 y 1,0) y asume que a pH 1,0 se da una completa desorganización de la membrana vacuolar que facilita la liberación de los compuestos fenólicos. Cuando el pH de la disolución macerativa es de 3,2, la degradación tiene lugar en condiciones similares a las que ocurren durante la maceración (Glories y Saucier, 2000). La extractabilidad se considera óptima cuando la diferencia entre estos dos resultados es pequeña y, por tanto, el índice de extractabilidad es bajo (Romero Cascales, 2008).

### 5. Experimento 3: Efecto de las enmiendas orgánicas en la calidad de la uva

En este parámetro todos los factores estudiados y su interacción entre ellos tuvieron un efecto significativo, exceptuando el tratamiento y el sistema de conducción (tabla 5.1).

En el primer año, en la parcela Monastrell con sistema de conducción en vaso (tabla 5.2) la extractabilidad de antocianos resultó ser mayor en las uvas del tratamiento EST (58,8%) respecto al resto de tratamiento, pero en el segundo año la extractabilidad de antocianos de las uvas procedente de este tratamiento fue inferior respecto al resto de tratamientos (EST; EA= 44,3%). La tendencia en esta parcela es de aumento de este parámetro en todos los tratamientos en el segundo año respecto al primero, excepto en el caso del tratamiento EST, donde la EA disminuye en el segundo año respecto al primero, como se ha comentado anteriormente.

En este caso la extractabilidad de antocianos en la variedad Monastrell en espaldera (tabla 5.3) presentó diferencias significativas entre los tratamientos, con un valor menor de este parámetro para el tratamiento control en el primer año (8,26%), respecto al resto de tratamientos con fertilización orgánica. Sin embargo, en el segundo año de estudio fueron las uvas procedentes del tratamiento EST las que presentaron una menor extractabilidad de antocianos (46,03%), mientras que aquellas del tratamiento CVIT presentaron el mayor valor de este parámetro (67,90%). También, en esta parcela se observó que el porcentaje de extractabilidad de antocianos aumentó del primer año al segundo año en todos los tratamientos.

En la parcela Cabernet Sauvignon en espaldera (tabla 5.4), los mostos de las uvas cultivadas con EST presentaron la mayor extractabilidad de antocianos en el primer año de estudio, mientras que no existieron diferencias significativas en este parámetro entre los tratamientos en el segundo año de experiencia. Finalmente, al igual que en las otras parcelas la extractabilidad de antocianos aumentó de una campaña a otra en todos los tratamientos estudiados, excepto en el caso del EST.

De este modo, se puede concluir que en todas las parcelas hubo un aumento, en general, de la proporción de antocianos extraíbles frente a los totales en los mostos de una campaña a otra.

#### 5.3.4 Análisis factorial de los resultados

Con el análisis de componentes principales de los parámetros estudiados lo que se pretende es agrupar las variables que guardan mayor relación de entre los parámetros de calidad de la uva y los parámetros analizados en el suelo ( $n = 16$ ), indicados en el material y métodos. En el modelo propuesto, el valor obtenido de KMO (Medida de adecuación muestral de Kaiser-Meyer-Olkin) fue superior a 0,5 ( $KMO = 0,598$ ) y el P-valor fue de 0,000 para la prueba de esfericidad de Barlett. Adicionalmente, ninguna de las variables consideradas presentó un valor de extracción  $< 0,5$ . Todo esto indicó que el modelo considerado fue el adecuado.

El modelo utilizado estableció 2 componentes principales, de forma que se pudo explicar con el 95,6% de la variabilidad, contribuyendo el componente principal 1 con el 74,3% y el componente principal 2 con el 21,3%. En la tabla 5.5 se muestra la matriz de componentes rotados. En sombreado se han representado las diferentes variables agrupadas en cada componente, en función de su mayor valor absoluto, siendo este valor directamente proporcional a la capacidad del componente para explicar la variabilidad observada en cada variable, agrupándose cada componente en aquellas variables que poseen comportamientos similares entre sí, de modo que se permiten reducir las variables.

En el primer componente se agrupan la acidez total del mosto de uva, pH del suelo, el nitrógeno amónico del suelo, pH de la uva, el nitrógeno de nitratos del suelo y la conductividad eléctrica (Tabla 5.5). Se puede apreciar una correlación positiva entre la acidez total, el nitrógeno en forma amónica y nítrica y la conductividad eléctrica del suelo, mientras que se observa una correlación negativa del pH del suelo y pH de la uva con respecto a estos factores.

La acidez total del mosto de uva puede estar relacionada con diversos factores, como el contenido en nitrógeno amónico y nítrico en el suelo, que promueven un mayor crecimiento vegetativo, lo cual también contribuye a una mayor producción de ácidos orgánicos durante la fase herbácea de la uva. Por otro lado, la acidez total se relaciona inversamente con el pH de la uva, así, durante el proceso de maduración va descendiendo la acidez del mosto mientras que aumenta el pH de este (Salazar y Melgarejo, 2005).

5. Experimento 3: Efecto de las enmiendas orgánicas en la calidad de la uva

**Tabla 5.5:** Matriz de componente rotado

	Factor 1	Factor 2
Varianza explicada (%)	74,3	21,3
Varianza acumulada (%)	74,3	95,6
AcTotal	0,976	-0,218
SuelopH	-0,967	-0,237
SueloN-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0,948	0,316
UvapH	-0,940	-0,340
SueloN-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0,881	0,424
SueloCE	0,817	0,462
IPT	0,042	-0,998
AntocExt	-0,045	-0,971
AntocT	-0,360	-0,926
EA	0,329	0,866
Pgrano	0,573	0,819
SueloCoox	0,617	0,781
SueloNorg	0,663	0,744
Prodviña	0,586	0,720
SueloResp	0,701	0,713
°Be	-0,593	-0,696

AcTotal: acidez total del mosto de la uva; SuelopH: pH del suelo; Suelo N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>: nitrógeno amónico del suelo; UvapH: pH del mosto de la uva; SueloN-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>: nitrógeno de nitratos del suelo; IPT: índice de polifenoles totales del mosto de la uva, AntocExt: Antocianos extraíbles del mosto de la uva; AntocT: Antocianos Totales del mosto de la uva; EA: Extractabilidad de Antocianos del mosto de la uva; Pgrano: Peso del grano de uva; SueloCoox: carbono orgánico oxidable del suelo; SueloNorg: nitrógeno orgánico del suelo; Prodviña: Producción de uva de la viña; SueloResp: respiración edáfica del suelo; °Be: grados Baumé del mosto de la uva.

En cuanto a la CE del suelo, aunque el contenido en sales de los suelos del experimento no han sido limitantes para el crecimiento de la vid, sí que es cierto que un aumento de la salinidad del suelo guarda una relación positiva con el aumento de azúcares, pero no de polifenoles, disminución de la acidez, disminución del vigor (Hidalgo Togores, 2006). Esto no se ha encontrado en nuestros resultados, posiblemente estos parámetros estén influenciados en mayor medida por otros factores diferentes a la conductividad eléctrica del suelo, teniendo en cuenta que en nuestro estudio el aporte de enmiendas orgánicas aumentó la conductividad eléctrica del suelo con respecto al control, principalmente en el primer ciclo de cultivo, pero al final del experimento el contenido en sales fue similar en todos los suelos estudiados en cada una de las parcelas.

El componente principal 2 agrupó las variables relacionadas con la calidad de la uva: índice de polifenoles totales (IPT), antocianos totales y extraíbles, la extractabilidad de

antocianos, el peso del grano, la producción de la viña y los grados Baumé con las variables estudiadas en el suelo: el carbono orgánico oxidable y el nitrógeno orgánico del suelo y la respiración edáfica. Todos estos factores se correlacionan positivamente excepto índice de polifenoles totales (IPT), los antocianos totales y extraíbles y los grados Baumé, que tuvieron una correlación negativa con el resto de variables. Estos resultados estuvieron de acuerdo con lo observado anteriormente en los apartados anteriores, donde se vio que para una misma variedad el contenido de polifenoles totales fue mayor cuando el peso medio del grano de uva fue menor, así como el contenido de antocianos totales y extraíbles fue mayor en la campaña donde se produjo un menor rendimiento de planta, como se observó en las parcelas con sistema de conducción en espaldera. Finalmente, también se observó que los parámetros relacionados con la madurez polifenólica de la uva disminuyeron cuando fue menor el contenido de sus precursores, como son los azúcares (correlación entre IPT, AntocExt, AntocT y °Be). Este hecho fue observado en las uvas de la variedad Monastrell en vaso, cuando se compararon estos parámetros entre los dos ciclos de cultivo estudiados.



#### 5.4 CONCLUSIONES DEL EXPERIMENTO

Las conclusiones obtenidas del estudio del efecto de las diferentes enmiendas orgánicas en la producción y calidad de la uva son las siguientes:

- ✓ *Las variables que afectaron de forma más significativa a los parámetros de producción y calidad de la uva estudiados fueron la variedad y el sistema de conducción. La variable tratamiento afectó de forma significativa a la producción de la planta y el peso promedio del grano, mientras que no hubo un efecto significativo de esta variable en la mayoría de los parámetros relacionados con la calidad de la uva.*
- ✓ *La adición de enmiendas orgánicas al suelo aumentó la producción de uva con respecto al tratamiento control. No se pudo establecer cuál de los fertilizantes orgánicos fue el que en mayor proporción aumentó la producción, ya que este fue diferente dependiendo de la parcela y del ciclo de cultivo estudiado.*
- ✓ *Respecto al sistema de conducción de la planta, se observó que el marco de plantación más denso y los riegos efectuados en el sistema en espaldera favoreció la producción de la planta frente al sistema en vaso. Sin embargo, las uvas de las parcelas con sistema de conducción en vaso presentaron, en general, una mejor calidad para su vinificación, ya que tuvieron mayores contenidos de azúcares y mayor contenido de polifenoles totales, así como de antocianos totales y extraíbles.*
- ✓ *En relación con la variedad, se obtuvo una mayor producción de uva y menor peso medio de grano en el caso de la variedad importada (Cabernet Sauvignon) con respecto a la autóctona (Monastrell). Sin embargo, respecto a la calidad de la uva no presentó una pauta determinada, posiblemente debido a que los parámetros de la uva que definen su calidad también estuvieron fuertemente influenciados por el sistema de conducción de la planta.*
- ✓ *Finalmente, la variable tiempo tuvo un efecto muy significativo sobre la producción y la calidad de la uva principalmente por las diferentes condiciones climáticas que hubieron en los dos años del experimento. En el primer ciclo de cultivo se obtuvo una mayor producción de uva en todas las parcelas, especialmente en las de sistema de conducción en espaldera. La mayor producción de uva en estas parcelas redujo la calidad de su uva con respecto a la obtenida en las uvas de la parcela en vaso. Sin embargo, el segundo año fue más caluroso y seco que el primero y esto redujo la producción en todas las parcelas y también redujo la calidad de las uvas en la parcela en vaso con respecto a las*

*de sistema de conducción en espaldera. Esta reducción de la calidad se podría relacionar con el estrés hídrico, que sufrió el viñedo de esta parcela de secano, el cual redujo el transporte de azúcares al grano de la uva y con ello la síntesis de antocianos.*







**6. EXPERIMENTO 4:**  
**INFLUENCIA DE DIFERENTES ESTRATEGIAS  
DE MANEJO AGRÍCOLA EN LA EMISIÓN DE  
GASES DE EFECTO INVERNADERO Y EN EL  
POTENCIAL DE SECUESTRO DE CARBONO  
EN SISTEMAS VITIVINÍCOLAS DEL SURESTE  
MEDITERRÁNEO**



## 6. EXPERIMENTO 4. Influencia de diferentes estrategias de manejo agrícola en la emisión de gases de efecto invernadero y en el potencial de secuestro de carbono en sistemas vitivinícolas del sureste mediterráneo.



### Índice:

<b>6.1 OBJETIVOS DEL EXPERIMENTO</b>	<b>153</b>
<b>6.2 MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>155</b>
6.2.1 Planteamiento de la experiencia	155
6.2.2 Métodos analíticos	156
6.2.2.1 Toma de las muestras	156
6.2.2.2 Parámetros analizados	157
6.2.3 Métodos estadísticos	158
<b>6.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>160</b>
6.3.1 Almacenamiento de carbono en el suelo	160
6.3.2 Fijación de carbono en la biomasa aérea.	161
6.3.3 Emisiones de GEI	164
6.3.3.1 Emisiones de N <sub>2</sub> O	164
6.3.3.2 Emisiones de CH <sub>4</sub>	169
6.3.3.3 Emisiones de CO <sub>2</sub>	174
6.3.4 Análisis factorial de los resultados	178
<b>6.4 CONCLUSIONES DEL EXPERIMENTO</b>	<b>181</b>



## 6.1 OBJETIVOS DEL EXPERIMENTO

Los objetivos de este experimento fueron evaluar los efectos de las distintas variables de manejo agrícola estudiadas dentro de los sistemas vitivinícolas como:

- ✓ *Fertilización: orgánica o sin fertilización*
- ✓ *Sistemas de riego: riego por goteo o seco*
- ✓ *Conducción de la planta: vaso o espaldera*
- ✓ *Variedad de uva: autóctona o importada*

De este modo, determinar las variedades y condiciones de cultivo que favorezcan a corto plazo la fijación de C en el suelo y en la planta, así como la reducción de la emisión de gases de efecto invernadero en los cultivos vitivinícolas del sureste mediterráneo.





## 6.2 MATERIAL Y MÉTODOS

### 6.2.1 Planteamiento de la experiencia

El dispositivo y el diseño experimental fueron el mismo que el desarrollado en el experimento 2, usando para esta experiencia la campaña 2013/2014. Para este experimento se establecieron 9 muestreos de gases emitidos del suelo. La distribución de los muestreos en el tiempo se muestra en la tabla 6.1. También, en esta tabla se muestra cuando las parcelas fueron labradas, tratadas con plaguicidas y cuando se realizó la vendimia y la poda en cada una de ellas.

**Tabla 6.1.** Calendario de las operaciones realizadas en el viñedo durante el tiempo que duró el experimento.

	Fecha	Operación agrícola realizada
	24/03/2014	Aplicación de fertilizantes orgánicos (EST y CVIT)
	25/03/2014	Toma de muestra de gases emitidos del suelo después de la fertilización (día 1). Toma de muestra de suelo para hacer humedad
	31/03/2014	Toma de muestra de gases emitidos del suelo (día 7). Toma de muestra de suelo para hacer humedad
	07/04/2014	Labranza de todas las parcelas
	08/04/2014	Toma de muestra de gases emitidos del suelo (día 15). Toma de muestra de suelo para hacer humedad
	05/05/2014	Toma de muestra de gases emitidos del suelo (día 42). Toma de muestra de suelo para hacer humedad
	15/05/2014	Riego (100 m <sup>3</sup> /Ha)
	17/06/2014	Toma de muestra de gases emitidos del suelo (día 85). Toma de muestra de suelo para hacer humedad
	18/06/2014	Tratamiento con plaguicidas
2º AÑO DEL EXPERIMENTO	07/07/2014	Toma de muestra de gases emitidos del suelo (día 106). Toma de muestra de suelo para hacer humedad
	21-25/07/2014	Riego (100 m <sup>3</sup> /ha)
	25-29/08/2014	Riego (100 m <sup>3</sup> /ha)
	10/09/2014	Vendimia variedad Cabernet Sauvignon en espaldera. Toma de muestra de material vegetal (pámpanos, hojas, raspones y uva) para determinación de C acumulado en material vegetal
	15/09/2014	Vendimia variedad Monastrell en vaso y espaldera. Toma de muestra de material vegetal (pámpanos, hojas, raspones y uva) para determinación de C acumulado en material vegetal
	29/09/2014	Toma de muestra de gases emitidos del suelo (día 190). Toma de muestra de suelo para hacer humedad
	19/11/2014	Labranza de la parcela con la variedad Cabernet Sauvignon
	20/11/2014	Toma de muestra de gases emitidos del suelo (día 242). Toma de muestra de suelo para hacer humedad
	12/01/2015	Labranza de las parcelas con las variedades Monastrell en vaso y espaldera
	13/01/2015	Se realiza la poda del viñedo y se toma muestra de los restos de poda para determinación de C acumulado en material vegetal
	14/01/2015	Toma de muestra de gases emitidos del suelo (día 297). Toma de muestra de suelo para hacer humedad y la determinación del C secuestrado en el suelo

## 6.2.2 Métodos analíticos

### 6.2.2.1 Toma de las muestras

#### Muestreo de la biomasa aérea de la viña

El muestreo del material vegetal se realizó en el momento de la vendimia y en la poda. En la vendimia, se pesaron los kilos de uva y se contaron el número de racimos por cada viña. También, se contabilizaron el número de pámpanos de cada viña y se tomó una muestra representativa de pámpanos de cada planta. Posteriormente, se contaron el número de hojas de cada pámpano muestreado para obtener el número medio de hojas por viña. Las hojas se pesaron en el laboratorio. En la poda, se pesó el material leñoso procedente de la poda de cada viña. Los datos obtenidos de cada cepa fueron contabilizados individualmente agrupando, posteriormente, los tratamientos en grupos de 10 cepas por tres repeticiones de cada tratamiento.

#### Toma de muestra de gases

Como se comentó en el experimento 2, en cada parcela se ensayaron cuatro tratamientos diferentes (C, EST, CVIT y CCOM) con tres repeticiones cada uno. Con lo cual, cada una de las parcelas elegidas para la experiencia se dividió en 12 subparcelas, cada una de las cuales tenía 10 viñas. Estas subparcelas tenían una superficie de 50 m<sup>2</sup> y 44 m<sup>2</sup>, para las parcelas con sistema de conducción en vaso o espaldera, respectivamente. El muestreo de gases se realizó en cada una de estas subparcelas de los tratamientos mediante dos cámaras estáticas con unas dimensiones de 36 cm de diámetro, 18 cm de altura y un volumen de 20 L. El gas de estas cámaras se tomó de acuerdo con el sistema de “gas pooling” (Arias-Navarro y col., 2013). De este modo, se tuvieron 3 viales de gas por tratamiento en cada parcela. El muestreo se realizó según el calendario de operaciones del experimento (Tabla 6.1).

La situación de las cámaras estáticas dentro de cada repetición de un tratamiento fue una a cada lado de la hilera de la viña, encima de la zona donde se incorporó al suelo la enmienda orgánica (Figura 6.1).



**Figura 6.1:** Posición de las cámaras en cada tratamiento

La toma de gases se realizó tomando 30 mL de gas de una cámara estática y otros 30 mL de gas de la otra cámara estática con la misma jeringa (60 mL) y se introducirán en un único vial, donde con recirculación se inyectaron 40 mL de gas y con sobrepresión los 20 mL restantes (figuras 6.2 y 6.3). La toma de muestras de gases se realizó a T= 0 y T= 60 minutos.

#### 6.2.2.2 Parámetros analizados

Los parámetros determinados en este experimento fueron:

- ✓ Carbono orgánico almacenado en el suelo.
- ✓ El carbono orgánico total fijado en cada una de las partes aéreas de la viña (uva, raspón, pámpano y sarmiento podado).
- ✓ Gases efecto invernadero (GEI) emitidos desde el suelo a la atmósfera: CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, N<sub>2</sub>O.

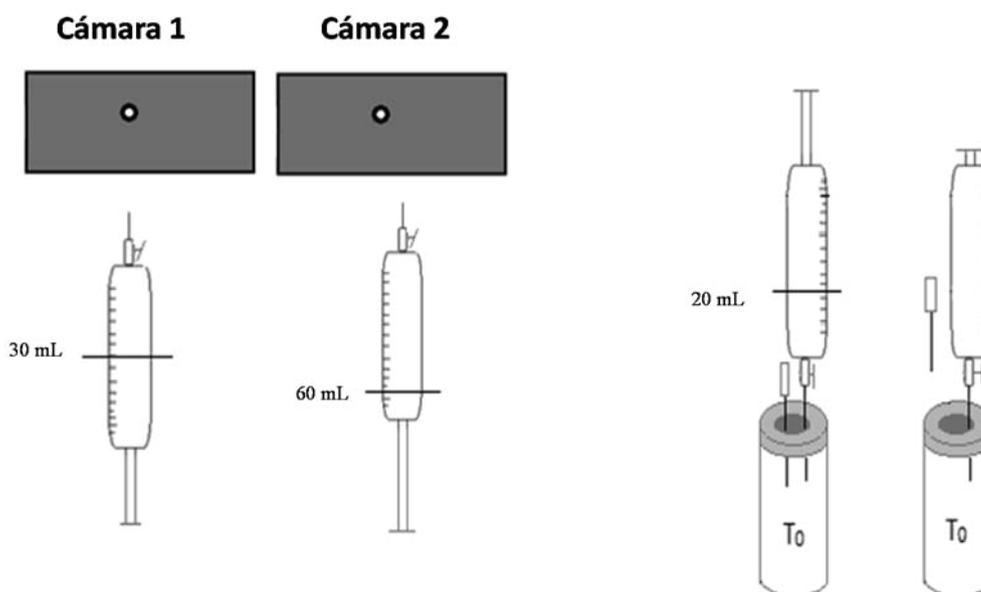


Figura 6.2: Detalle del llenado de gases de la jeringa



Figura 6.3: Toma de muestra de gases en campo.

### 6.2.3 Métodos estadísticos

El tratamiento estadístico aplicado a los datos de los GEI medidos en este experimento fue un análisis estadístico ANOVA MLG-Multivariante de medidas repetidas que permitiera evaluar en los parámetros estudiados el efecto de las variables consideradas: tipo de tratamiento, tiempo, sistema de conducción, variedad de uva, y los efectos combinados entre estas variables. En los casos en el que la F-ANOVA de la variable tratamiento mostró cierta significación, se empleó la prueba Tukey-b como prueba post-hoc para evaluar las diferencias entre las medias específicas, mostrándose en los resultados mediante el empleo de letras para una probabilidad del 95% ( $P < 0,05$ ).

También, se realizó un análisis estadístico ANOVA MLG-Univariante que permitiera evaluar en el almacenamiento y en la fijación de carbono orgánico en el suelo y en el material vegetal, respectivamente, el efecto del tipo de tratamiento para cada parcela.

Finalmente, el tratamiento estadístico empleado para evaluar la relación entre las propiedades del suelo estudiadas y los GEI analizados fue el análisis de factores principales (AFP). AFP se aplicó a los valores medios obtenidos de todas las determinaciones que se realizaron a lo largo del tiempo a cada parámetro. Para el AFP se utilizó el método de rotación mediante normalización Varimax. Los parámetros considerados en este análisis estadístico fueron: emisión de CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O y CH<sub>4</sub>, pH, conductividad eléctrica, nitrógeno orgánico, nitrógeno en forma de amonio y de nitratos, carbono orgánico oxidable y respiración edáfica. Para el análisis de datos procedentes del estudio se usó el Programa estadístico SPSS Statistics versión 22.



### 6.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 6.3.1 Almacenamiento de carbono en el suelo.

Todas las variables estudiadas tuvieron un efecto altamente significativo sobre el almacenamiento de carbono en el suelo, sin embargo, las interacciones entre estas variables no afectaron significativamente a este parámetro (Tabla 6.2).

**Tabla 6.2.** Análisis de los efectos generados por las diferentes variables estudiadas en el carbono almacenado en el suelo mediante análisis univariante.

C almacenado en el suelo (Mg C/ha)			
Fuente	df	F	P <sup>a</sup>
Tratamiento (TR)	3	27,553	***
Variedad (V)	1	225,354	***
Sist. Conduc (SC)	1	130,549	***
TR x V	3	3,101	NS
TR x SC	3	3,015	NS

<sup>a</sup> Nivel de probabilidad del test F-ANOVA.

\*\*\*: P<0,001, NS: P>0,05

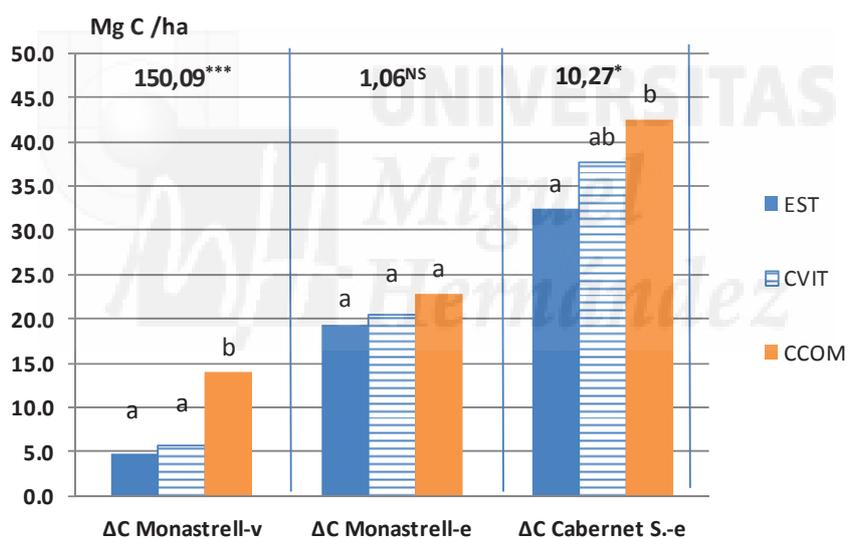
La figura 6.4 recoge los incrementos en el almacenamiento de carbono de cada tratamiento respecto al control por parcela estudiada.

En la parcela de la variedad Monastrell en vaso, los tratamientos CVIT y EST fueron los que menos carbono almacenaron en el suelo, mostrando diferencias significativas entre estos tratamientos y el CCOM, que almacenó más carbono que los tratamientos mencionados. En la parcela Monastrell en espaldera los tratamientos no mostraron diferencias significativas entre ellos, respecto a la acumulación de carbono en el suelo. Sin embargo, en la parcela de la variedad Cabernet Sauvignon el incremento de carbono en el suelo respecto al control fue superior en el tratamiento CCOM que en el EST, no existiendo diferencias significativas entre los tratamientos CVIT y el EST.

Las parcelas con sistema de conducción de la planta en espaldera almacenaron más carbono en el suelo (alrededor de 20 Mg C /ha en la variedad Monastrell y 32-43 Mg C/ha la variedad Cabernet Sauvignon) que la parcela en vaso (5-14 Mg C/ha). Gillabel y col. (2007) encontraron que el carbono almacenado en sistemas agrícolas con riego era un 25% superior que bajo condiciones de sequía, sugiriendo estos autores que el riego incrementa el almacenamiento de carbono en el suelo a través del secuestro preferencial del carbono dentro de los microagregados del suelo. Las diferencias entre variedades también resultaron evidentes,

donde la parcela con la variedad Cabernet Sauvignon mostró un almacenamiento de C en el suelo superior al de la parcela con la variedad Monastrell en espaldera. Este hecho podría relacionarse a la mayor edad del viñedo con la variedad Monastrell (15 años), con raíces más profundas, respecto al de la variedad Cabernet Sauvignon (10 años). En el viñedo más joven hay mayor cantidad de raíces en los primeros 20 cm del suelo, zona de muestreo del suelo, pudiendo contribuir los compuestos orgánicos de los exudados de las raíces a este mayor aumento de la acumulación de carbono en el suelo (Guerrero y col., 2001).

Los datos obtenidos de almacenamiento de carbono en el suelo en este estudio fueron bajos en las parcelas con la variedad Monastrell, mientras que, los alcanzados por la parcela con la variedad Cabernet Sauvignon estuvieron dentro del intervalo encontrado por otros autores en viñedos en zonas con clima mediterráneo (almacenamiento de carbono en suelo = 32,5-48,9 Mg C ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>; Rodríguez-Murillo, 2001; Francaviglia y col., 2014).



**Figura 6.4:** Almacenamiento de carbono en suelo (EST: estiércol cabra-oveja; CVIT: compost de residuos vitivinícolas; CCOM: compost comercial de estiércol de cabra-oveja) (Valores en barras, dentro de una misma parcela, seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ). \*\*\* y \*: Significativo a  $P < 0,001$  y  $0,05$ , respectivamente. NS: No significativo)

### 6.3.2 Fijación de carbono en la biomasa aérea.

La fijación de carbono en la biomasa aérea también fue afectada significativamente por todas las variables estudiadas, mientras que, las interacciones entre estas variables no afectaron significativamente a este parámetro (Tabla 6.3).

**Tabla 6.3.** Análisis de los efectos generados por las diferentes variables estudiadas en el carbono almacenado en el suelo mediante análisis univariante.

C fijado en biomasa aérea (Mg C/ha)			
Fuente	df	F	P <sup>a</sup>
Tratamiento (TR)	3	12.746	***
Variedad (V)	1	202.009	***
Sist. Conduc (SC)	1	43.835	***
TR x V	3	2.475	NS
TR x SC	3	1.636	NS

<sup>a</sup> Nivel de probabilidad del test F-ANOVA.

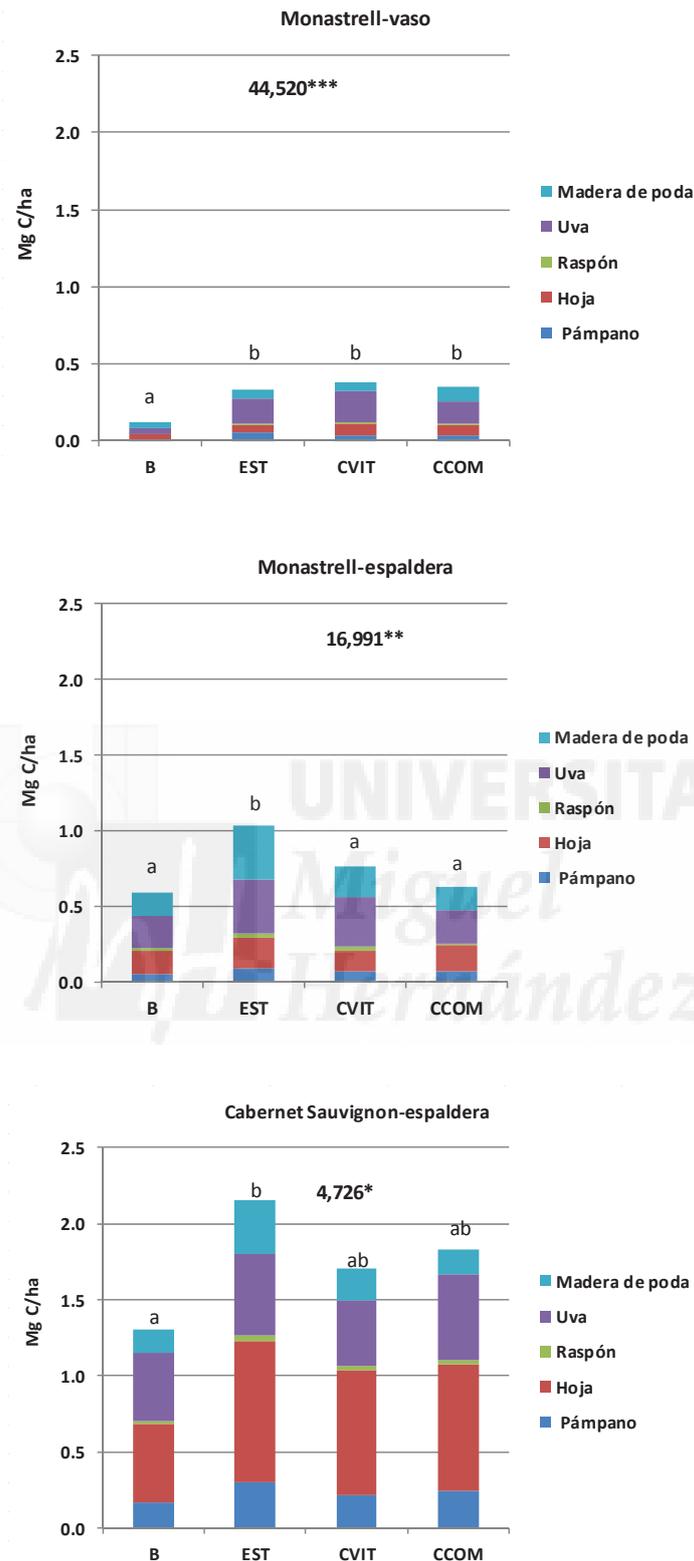
\*\*\*: P<0,001, NS: P>0,05

La figura 6.5 muestra los valores medios de la fijación de C en la biomasa aérea, indicándose el contenido de carbono de cada una de las fracciones de la planta. Los valores han sido determinados en la uva, raspón, pámpanos, hojas y madera de la poda.

En la parcela con la variedad Monastrell con sistema de conducción en vaso, no se observaron diferencias significativas en el carbono fijado total en las diferentes partes de la biomasa aérea de la planta en función del tipo de enmienda orgánica empleada. Sin embargo, este C fijado fue mayor en las plantas con fertilización orgánica que las del control.

En el caso de la variedad Monastrell en espaldera, no se encontraron diferencias significativas en el C fijado en el material vegetal obtenido en el control y con los tratamientos CVIT y CCOM. La mayor fijación de C en la biomasa aérea se obtuvo con el tratamiento EST.

Finalmente, en la parcela con la variedad Cabernet Sauvignon en espaldera la menor y mayor fijación de C en el material vegetal se consiguió con los tratamientos control y EST, respectivamente. En los tratamientos con fertilización con compost se obtuvo una fijación de C intermedia a la obtenida en los tratamientos anteriores.



**Figura 6.5:** Fijación de carbono en la biomasa aérea (EST: estiércol cabra-oveja; CVIT: compost de residuos vitivinícolas; CCOM: compost comercial de estiércol de cabra-oveja) (Valores en barras, dentro de una misma parcela, seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ). \*\*\*, \*\* y \* : Significativo a  $P < 0,001$ ,  $P < 0,01$  y  $0,05$ , respectivamente.)

## 6. Experimento 4. Estudio de la emisión de gases de efecto invernadero en sistemas vitivinícolas

Las parcelas con sistema de conducción de la planta en espaldera fijaron más carbono en la biomasa aérea del viñedo que la parcela en vaso, siendo el viñedo de Cabernet Sauvignon en espaldera el que mayor cantidad de C fijó en su material vegetal.

El carbono fijado en el raspón+uva (racimo) (0,04-0,60 Mg C/ha y año) y en los pámpanos+hojas (0,05-1,23 Mg C/ha y año) fue muy bajo en comparación con resultados encontrados por Peregrina y col. (2012) en viña con laboreo y sin fertilización (C fijado en racimos = 0,98- 1,19 Mg C/ha y año y en hojas+pámpanos = 1,28-1,75 Mg C/ha y año) y por Carvajal y col. (2010) en viña de uva de mesa (C fijado en uva = 2,7 Mg C/ha y año y en hojas + pámpanos = 1,2 Mg C/ha y año). Este hecho podría ser debido a que el año en el que se realizó el presente estudio fue muy seco y caluroso, lo cual redujo el desarrollo y la producción del viñedo.

### **6.3.3 Emisiones de GEI**

#### **6.3.3.1. Emisiones de N<sub>2</sub>O**

En cuanto a los factores estudiados y la interacción entre ellos, se obtuvo que todos afectaron de forma significativa a las emisiones de N<sub>2</sub>O del suelo, excepto en el caso de los factores variedad y sistema de conducción (Tabla 6.4). Por otro lado, el efecto provocado por los tratamientos en las emisiones medias de N<sub>2</sub>O fueron superiores en el tratamiento CVIT (0,111 mg N- N<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup>d<sup>-1</sup>) respecto al control (0,090 mg N-N<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup>d<sup>-1</sup>), mientras que no se encontraron diferencias estadísticas en las emisiones de óxido nitroso en los suelos con los tratamientos EST y CCOM (0,102 y 0,106 mg N- N<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup>d<sup>-1</sup>, respectivamente), mostrando valores intermedios de emisión de este GEI en comparación con los otros suelos estudiados. Estos resultados de emisiones medias de N<sub>2</sub>O fueron menores que los observados por otros autores en sistemas vitivinícolas (0,16-0,23 mg N-N<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup>d<sup>-1</sup>; Steenwerth y Belina (2008)).

**Tabla 6.4:** Análisis de los efectos generados por las diferentes variables estudiadas en las emisiones de N<sub>2</sub>O (mg N-N<sub>2</sub>O/m<sup>2</sup> y día) mediante ANOVA doble vía de medidas repetidas.

Emisión N <sub>2</sub> O (mg N- N <sub>2</sub> O m <sup>-2</sup> d <sup>-1</sup> )					
Fuente	df	F	P <sup>a</sup>	Contraste	Tratamiento <sup>1</sup>
Tiempo (T)	8	74,164	***	B	0,090 a
Tratamiento (TR)	3	6,135	**	EST	0,102 ab
Variedad (V)	1	2,510	NS	CVIT	0,111 b
Sist. Conduc (SC)	1	1,497	NS	CCOM	0,106 ab
T x TR	24	3,026	***		
T x V	8	2,592	*		
T x SC	8	10,105	***		
TR x V	3	4,857	**		
TR x SC	3	14,098	***		
T x TR x V	24	4,389	***		
T x TR x SC	24	3,607	***		

<sup>a</sup> Nivel de probabilidad del test F-ANOVA

\*\*\*: P<0,001, \*\*: P<0,01; \*: P<0,05; NS: P>0,05

<sup>1</sup> Valores promedio; los valores seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes (P<0,05).

En cuanto a la evolución de las emisiones de N<sub>2</sub>O (figura 6.6), la parcela Monastrell en vaso mostró un ligero aumento en todos los tratamientos en la medición de gases realizada a los 7 días que posteriormente disminuyó. Todos los tratamientos tuvieron un comportamiento similar de emisiones de este GEI. El control mostró un aumento inicial menos intenso que el resto de tratamientos, aunque durante el resto de muestreos guardo gran similitud con el tratamiento EST. En general, en las parcela en espaldera no hubo ningún aumento de la emisión de N<sub>2</sub>O durante el experimento, siendo el único incremento relevante el que se produjo tras la aplicación de los tratamientos al inicio del experimento.

Una de las principales fuentes de emisión de N<sub>2</sub>O en agricultura, es a través de procesos de desnitrificación, pasando de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> a N<sub>2</sub>O (IPCC, 2006), pero este hecho no siempre guarda una correlación positiva entre estos gases en la agricultura mediterránea o sólo existe en algunos periodos de cultivo (López-Fernández y col., 2007; Vilain y col., 2010). Esto puede explicar porque algunos autores no encuentran esa correlación entre las emisiones de N<sub>2</sub>O y el contenido de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> del suelo (Vallejo y col., 2005; Sánchez-Martin y col., 2008 Garland y col., 2011), cabe

#### 6. Experimento 4. Estudio de la emisión de gases de efecto invernadero en sistemas vitivinícolas

pensar que la desnitrificación no es la causa más probable de la emisiones de  $N_2O$  en este estudio, debido posiblemente a la baja disponibilidad de agua en el suelo de la zona. Beare y col. (2009) observaron que la producción de  $N_2O$  era muy reducida durante los periodos secos, porque la actividad microbológica del suelo era baja. Sin embargo, la emisión de  $N_2O$ , podría explicarse mejor por el contenido de  $NH_4^+$  que por el contenido de nitratos en el suelo debido a procesos de nitrificación, otros autores encontraron esta correlación en sus estudios (Vallejo y col., 2005; Petersen y col., 2006; Mejide y col., 2007 y 2009; Heller y col., 2010; Garland y col., 2011). Esta correlación entre las emisiones de  $N_2O$  y el contenido de  $N-NH_4^+$  del suelo también fue observada en este experimento, como se verá más adelante en el apartado de análisis factorial de los resultados.



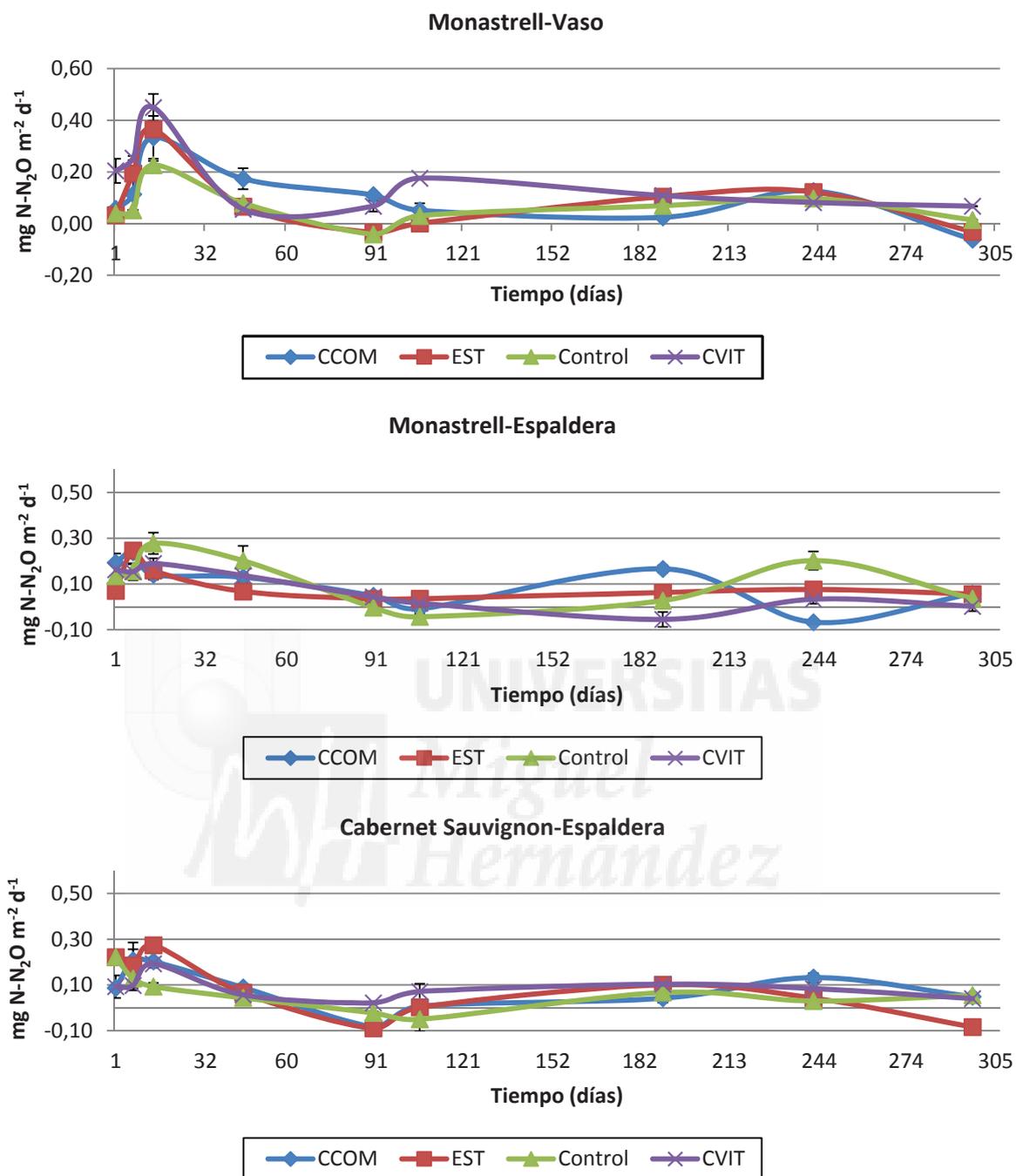


Figura 6.6: Evolución de las emisiones de N<sub>2</sub>O en las parcelas del estudio.

### Emisiones de óxido nitroso acumuladas

En la parcela Monastrell en vaso, las emisiones de N-N<sub>2</sub>O acumuladas al final del experimento (297 días) muestran diferencias muy significativas respecto al tratamiento empleado (Figura 6.7). Las mayores emisiones de este GEI se obtuvieron con el tratamiento CVIT, mientras que no se observaron diferencias significativas respecto a la emisión de N<sub>2</sub>O entre los

#### 6. Experimento 4. Estudio de la emisión de gases de efecto invernadero en sistemas vitivinícolas

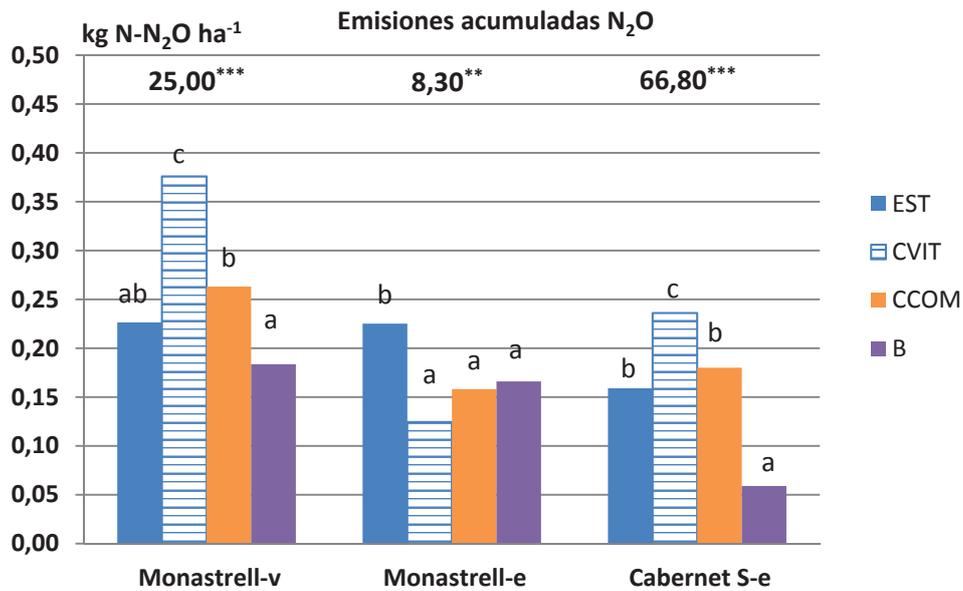
suelos con EST y el control. Los suelos con CCOM presentaron emisiones intermedias de óxido nitroso en comparación con los suelos con estiércol y testigo.

En la parcela de Monastrell en espaldera no se observaron diferencias estadísticamente significativas en las emisiones de  $N_2O$  entre los tratamientos CVIT, CCOM y B, siendo los suelos enmendados con EST donde mayores emisiones de este GEI se encontraron.

Finalmente en la parcela Cabernet Sauvignon en espaldera, las menores emisiones de este GEI se obtuvieron en el tratamiento control y las mayores en los suelos con CVIT, mientras que los suelos con EST y CCOM tuvieron emisiones de  $N_2O$  intermedias entre las observadas en los tratamientos anteriores.

Las emisiones acumuladas de  $N_2O$  fueron mayores en la parcela con sistema de conducción de la planta en vaso que aquellas de las parcelas con sistema de conducción en espaldera. Este hecho pudo ser debido a la mayor mineralización del nitrógeno orgánico producida en la parcela en vaso, tal y como se observó en el apartado 4.3.3.

Las emisiones acumuladas de  $N_2O$  observadas en este experimento en todas las parcelas fueron muy bajas en comparación a las encontradas por Aguilera y col. (2013) en un estudio de meta-análisis de revisión bibliográfica sobre emisiones de este GEI en sistemas vitivinícolas con clima mediterráneo ( $0,4 \text{ kg N- } N_2O \text{ ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ ). Estos autores también encontraron que dentro de los diferentes tipos de cultivo estudiados (viñedo, hortícolas, cereales y legumbres) fue el viñedo donde hubieron menores emisiones de  $N_2O$ , lo cual fue asociado a las bajas entradas de nitrógeno y agua en estos sistemas agrícolas.



**Figura 6.7:** Emisiones de óxido nitroso acumuladas al final del experimento (EST: estiércol cabra-oveja; CVIT: compost de residuos vitivinícolas; CCOM: compost comercial de estiércol de cabra-oveja) (Valores en barras, dentro de una misma parcela, seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ). \*\*\* y \*\*: Significativo a  $P < 0,001$  y  $0,01$ , respectivamente)

### 6.3.3.2 Emisiones de metano

En este parámetro, todos los factores estudiados y la interacción entre ellos mostraron un efecto significativo (Tabla 6.5). En cuanto al estudio del efecto de las enmiendas orgánicas en la emisión de metano, no se encontraron diferencias significativas en las emisiones medias de CH<sub>4</sub> entre los tratamientos CVIT y CCOM, siendo estos tratamientos los que menores emisiones de este GEI produjeron. Sin embargo, las mayores emisiones de este GEI se observaron en los suelos enmendados con estiércol. Los valores medios de emisión de CH<sub>4</sub> obtenidos mostraron resultados negativos en todos los tratamientos, pudiéndose relacionar este hecho con una inhibición de la metanogénesis y con la actuación del suelo como sumidero de CH<sub>4</sub> atmosférico.

**Tabla 6.5:** Análisis de los efectos generados por las diferentes variables estudiadas en las emisiones de CH<sub>4</sub> (mg C-CH<sub>4</sub>/m<sup>2</sup> y día) mediante ANOVA doble vía de medidas repetidas.

Emisión CH <sub>4</sub> (mg C-CH <sub>4</sub> m <sup>-2</sup> d <sup>-1</sup> )					
Fuente	df	F	P <sup>a</sup>	Contraste	Tratamiento <sup>1</sup>
Tiempo (T)	8	31,557	***	B	-0,377 ab
Tratamiento (TR)	3	7,264	**	EST	-0,347 b
Variedad (V)	1	150,815	***	CVIT	-0,395 a
Sist. Conduc (SC)	1	368,537	***	CCOM	-0,397 a
T x TR	24	6,715	***		
T x V	8	10,901	***		
T x SC	8	8,612	***		
TR x V	3	28,834	***		
TR x SC	3	15,174	***		
T x TR x V	24	8,102	***		
T x TR x SC	24	5,331	***		

<sup>a</sup> Nivel de probabilidad del test F-ANOVA

\*\*\*: P<0,001, \*\*: P<0,01

<sup>1</sup> Valores promedio; los valores seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes (P<0,05).

Durante la mayor parte del experimento, figura 6.8, la evolución de las emisiones de metano mostró flujos con valores negativos en todas las parcelas del estudio. Shvaleva y col. (2011) también observaron que los ecosistemas secos Mediterráneos pueden representar un sumidero importante de CH<sub>4</sub> atmosférico. El bajo contenido de agua de estos suelos aumenta la velocidad de oxidación de este GEI, probablemente debido al mayor contenido de oxígeno frente a agua en los espacios porosos del suelo, permitiendo ésto también que se produzca una mayor difusión de CH<sub>4</sub> a lo largo del perfil del suelo disponible para los microorganismos metanotróficos (Otter y Scholes, 2000). Además, nuestros datos mostraron que el contenido de N mineral del suelo, era compatible con el crecimiento de las bacterias metanotróficas, ya que altas tasas de nitrificación pueden producir efectos tóxicos sobre las bacterias que consumen CH<sub>4</sub> mediante la producción de NO<sub>2</sub> y NH<sub>2</sub>OH (Bowden y col. 2000). Cruz y col. (2008) encontraron que cuando las concentraciones de nitrógeno de nitratos del suelo estaban alrededor de 40 a 50 mg/kg, se inhibía del 10-20% la oxidación del metano por los microorganismos del suelo. Las concentraciones medias de nitrógeno nítrico determinadas en los suelos de este estudio estuvieron en el intervalo de 6,87-28,03 mg/kg (Tabla 4.10), por lo

tanto se puede concluir que no hubo efecto inhibitorio por parte de este compuesto en la oxidación del metano del suelo por las bacterias metanotróficas. El bajo contenido de nitrógeno inorgánico de estos suelos fue probablemente el principal factor determinante para que sean un sumidero de metano. La inhibición de la metanogénesis también pudo haber sido debida a la textura arenosa de estos suelos, que favorece la difusión del oxígeno y del metano en el suelo y con ello la actividad de las bacterias metanotróficas (Le Mer y Roger, 2001).



6. Experimento 4. Estudio de la emisión de gases de efecto invernadero en sistemas vitivinícolas

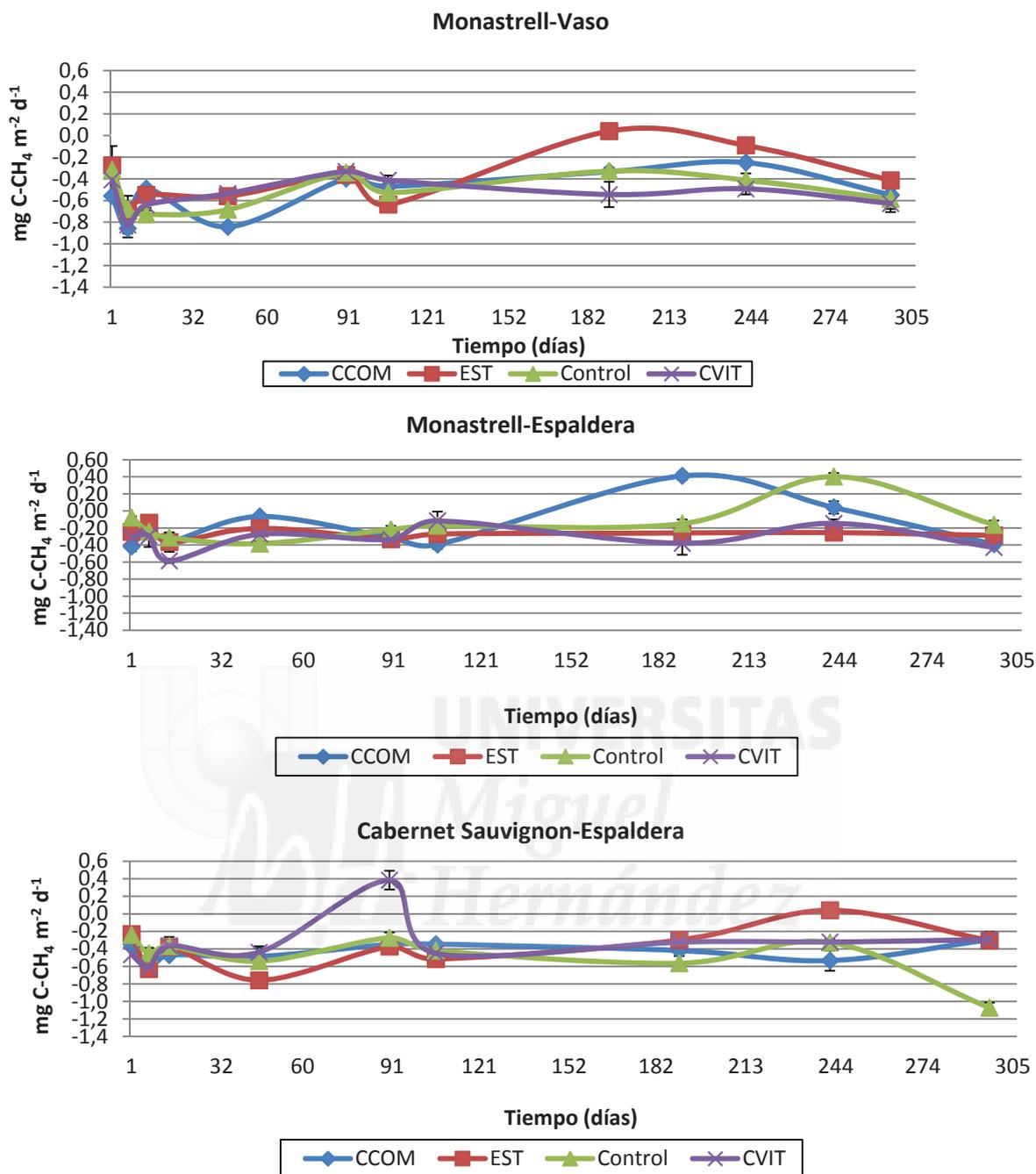


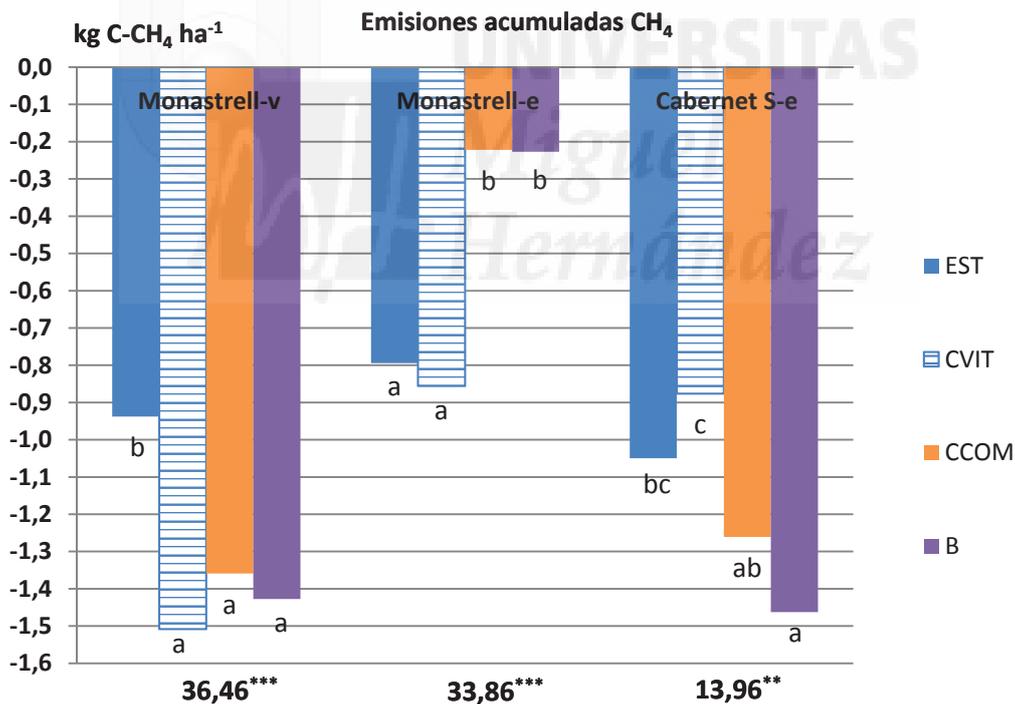
Figura 6.8: Evolución de las emisiones de CH<sub>4</sub> en las parcelas del estudio.

**Emisiones de metano acumuladas**

Como se ha comentado anteriormente, las emisiones negativas se deben a una inhibición de la metanogénesis y a la actuación del suelo como sumidero del CH<sub>4</sub> atmosférico. Existieron diferencias muy significativas entre los tratamientos ensayados en las emisiones acumuladas de este GEI en las tres parcelas del estudio (Figura 6.9).

El consumo de metano, en la parcela Monastrell en vaso fue menor en el tratamiento EST, mientras que en resto de tratamientos no hubo diferencias significativas en las emisiones negativas de CH<sub>4</sub>. En la parcela con la variedad Monastrell con formación en espaldera el consumo de metano fue mayor y estadísticamente similar en los tratamientos EST y CVIT, mientras que en los suelos control y con CCOM se observaron valores acumulados de este GEI mayores.

Por otro lado, la parcela con la variedad Cabernet Sauvignon en espaldera mostró el mayor consumo de metano en el tratamiento control, aunque estadísticamente no presentó diferencias significativas con la tasa de emisiones acumuladas negativas de CH<sub>4</sub> obtenidas con el tratamiento CCOM. Además, los tratamientos CCOM y EST no presentaron diferencias entre ellos en las emisiones acumuladas negativas de este GEI. Sin embargo, el tratamiento CVIT sí presentó diferencias en este parámetro con respecto al control y el tratamiento CCOM, siendo el tratamiento donde el consumo de metano fue menor.



**Figura 6.9:** Emisiones de metano acumuladas al final del experimento (EST: estiércol cabra-oveja; CVIT: compost de residuos vitivinícolas; CCOM: compost comercial de estiércol de cabra-oveja) (Valores en barras, dentro de una misma parcela, seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ). \*\*\* y \*\*: Significativo a  $P < 0,001$  y  $0,01$ , respectivamente)

### 6.3.3.3 Emisiones de dióxido de carbono

El análisis estadístico de la tabla 6.6, mostró que tanto los factores estudiados como la interacción entre ellos tuvieron un efecto significativo sobre la emisión de CO<sub>2</sub>, excepto en la interacción tratamiento y sistema de conducción. El efecto de las enmiendas orgánicas en los valores medios de emisión de este GEI fue mayor en todos los tratamientos respecto al control (294 mg C-CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup>d<sup>-1</sup>), siendo las emisiones más altas las encontradas en los suelos con el tratamiento EST (584 mg C-CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup>d<sup>-1</sup>) y estadísticamente iguales a las de los suelos con CCOM (548 mg C-CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup>d<sup>-1</sup>).

**Tabla 6.6:** Análisis de los efectos generados por las diferentes variables estudiadas en las emisiones de CO<sub>2</sub> (mg C-CO<sub>2</sub>/m<sup>2</sup> y día) mediante ANOVA doble vía de medidas repetidas.

Emisión CO <sub>2</sub> (mg C-CO <sub>2</sub> m <sup>-2</sup> d <sup>-1</sup> )					
Fuente	df	F	P <sup>a</sup>	Contraste	Tratamiento <sup>1</sup>
Tiempo (T)	8	104,537	***	B	294 a
Tratamiento (TR)	3	60,170	***	EST	584 c
Variedad (V)	1	36,821	***	CVIT	504 b
Sist. Conduc (SC)	1	59,638	***	CCOM	548 bc
T x TR	24	15,058	***		
T x V	8	17,971	***		
T x SC	8	23,054	***		
TR x V	3	4,755	*		
TR x SC	3	0,249	NS		
T x TR x V	24	20,882	***		
T x TR x SC	24	24,487	***		

<sup>a</sup>Nivel de probabilidad del test F-ANOVA

\*\*\*: P<0,001; \*:P<0,05; NS:P>0,05

<sup>1</sup> Valores promedio; los valores seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes (P<0,05).

En el estudio de la evolución de la emisión del CO<sub>2</sub> en la parcela Monastrell en vaso no se observaron grandes variaciones, aunque si apareció un pico tras la aplicación de los tratamientos que se manifiesta en todos ellos excepto en el tratamiento EST (Figura 6.10). También, se observó una ligera disminución de la emisión de este GEI en todos los tratamientos en el muestreo del día 106 y un posterior aumento durante el muestreo del día 242.

La evolución de la emisión de CO<sub>2</sub> en las parcelas con sistema de conducción en espaldera mostró algunos picos (Figura 6.10). En el caso de la parcela Monastrell en espaldera el suelo con CVIT mostró un aumento en la emisión de este gas en el día 7, mientras que este aumento fue en el día 14 en el caso del suelo con CCOM. Al final de la experiencia las emisiones de CO<sub>2</sub> mostraron valores similares en todos los tratamientos.

En la parcela de la variedad Cabernet Sauvignon en espaldera, se produjeron aumentos de la emisión de CO<sub>2</sub> a lo largo de los primeros 42 días del experimento en todos los tratamientos, siendo la emisión ligeramente menor en los suelos con CVIT y control (Figura 6.10). A partir del muestreo del día 85, se puede apreciar una tendencia a la estabilización, con un leve pico de los tratamientos EST, CVIT y el control en el muestreo del día 190. Al igual que en la parcela Monastrell en espaldera las emisiones de CO<sub>2</sub> toman valores similares en todos los tratamientos al final de la experiencia.

En todas las parcelas estudiadas se observó que los flujos de CO<sub>2</sub> emitidos del suelo variaron enormemente a lo largo del periodo experimental. Los valores oscilaron entre 10- 1518 mg C-CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup>d<sup>-1</sup>. Los valores mayores de emisión de este GEI se produjeron durante los primeros días del experimento debido posiblemente a la adición de las enmiendas orgánicas y a la labranza. Un incremento de emisión de CO<sub>2</sub> con la adición de enmiendas orgánicas es comúnmente atribuido a un aumento de la actividad metabólica de los microorganismos presente en el suelo debido a la fuente de alimento que supone la enmienda orgánica para estos microorganismos (Aulakh y col., 1991; Huang y col., 2004). Este aumento de la respiración relacionado con la adición de enmiendas orgánica puede reflejar el coste de energía que supone la inmovilización y mineralización de nitrógeno por parte de los microorganismos (Cayuela y col., 2009). De este modo, incrementos en el flujo de CO<sub>2</sub> en suelos agrícolas después de la adición de enmiendas orgánicas han sido observados por diferentes autores (Scott y col., 2000; de Urzedo y col., 2013; Ryals y Silver, 2013). Por otro lado, la labranza del suelo puede conducir a un aumento del flujo de CO<sub>2</sub> desde el suelo. Este incremento se inicia después de la operación de labranza y se extiende durante un periodo de tiempo. Esta respuesta puede ser debida a la ruptura de los agregados y la exposición de la materia orgánica protegida a la descomposición (Morell y col., 2010). Finalmente, los valores más bajos de emisión de CO<sub>2</sub> se produjeron en el período seco de verano (julio y agosto) (Figura 4.10), cuando el contenido de agua del suelo se espera que sea bajo, incluso en las parcelas con sistema de conducción en espaldera y con pequeños riegos. Shvaleva y col. (2011) también observaron esta reducción de la emisión de CO<sub>2</sub> del suelo en el periodo estival, incluso en las parcelas con riego, en un experimento llevado a

## 6. Experimento 4. Estudio de la emisión de gases de efecto invernadero en sistemas vitivinícolas

cabo sobre la influencia del agua recibida por la lluvia o mediante riego en las emisiones de GEI en bosques de robles en el sur de Portugal.

Las emisiones de CO<sub>2</sub> observadas en este experimento estuvieron dentro del intervalo de valores observados por Lardo y col. (2015) en un estudio realizado para evaluar la dinámica de la respiración total edáfica durante un periodo de tres años en suelos vitivinícolas del sur de Italia (213-11978 mg C-CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup>d<sup>-1</sup>).

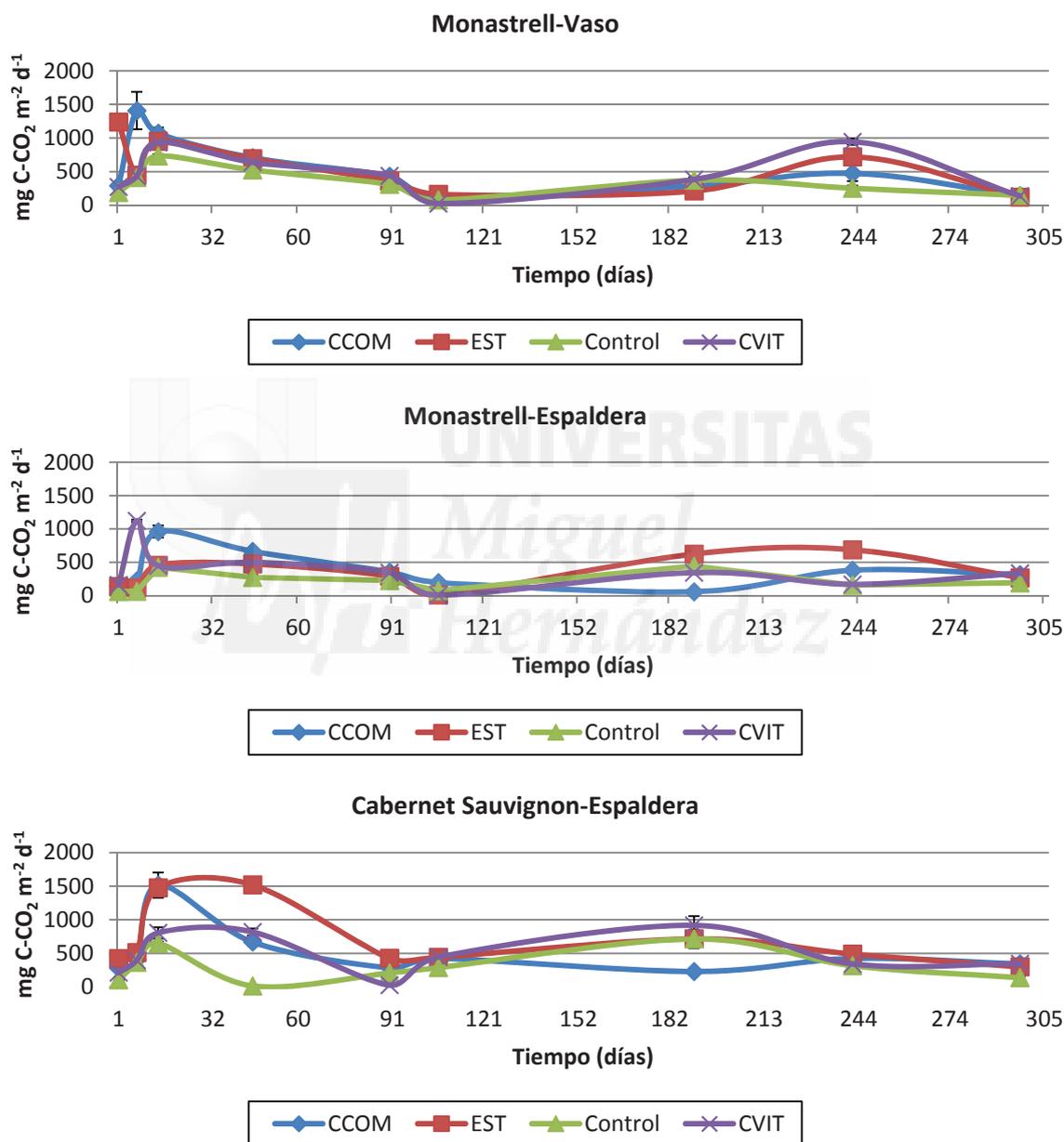


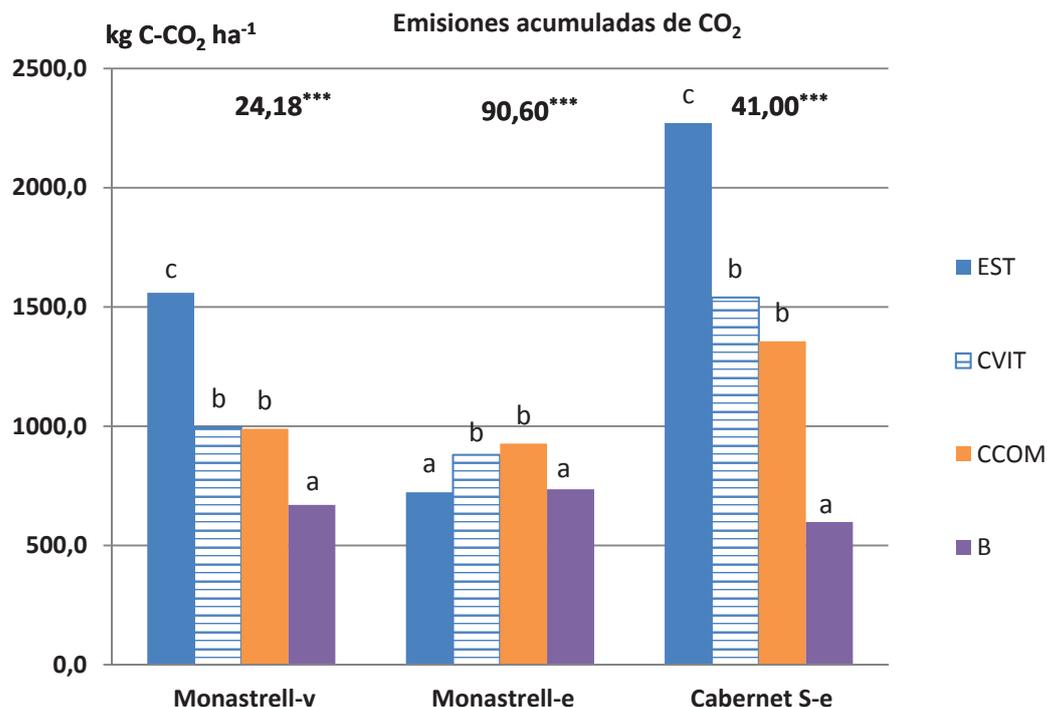
Figura 6.10: Evolución de las emisiones CO<sub>2</sub> en las parcelas del estudio.

### **Emisiones de dióxido de carbono acumuladas**

En las emisiones acumuladas de CO<sub>2</sub>, se encontró que en la parcela Monastrell en vaso los tratamientos que produjeron mayores y menores emisiones acumuladas de este GEI fueron EST y control, respectivamente (Figura 6.11). Sin embargo, en la parcela con la variedad Monastrell en espaldera no se encontraron diferencias significativas en las emisiones acumuladas de CO<sub>2</sub> en los suelos control y con EST, siendo en estos suelos donde estas emisiones fueron menores. Los tratamientos CCOM y CVIT fueron los que conllevaron a una mayor emisión acumulada de este GEI.

Por último, en la parcela con la variedad Cabernet Sauvignon en espaldera, existieron diferencias significativas en las emisiones acumuladas de CO<sub>2</sub> en todos los tratamientos respecto al control. La mayor emisión de este GEI correspondió al tratamiento EST, seguido de los tratamientos CVIT y CCOM.

En general, se puede concluir que la enmienda orgánica que generó mayores emisiones acumuladas en los sistemas vitivinícolas estudiados fue el estiércol de cabra-oveja frente a los compost utilizados. Este hecho se puede atribuir a que la magnitud de las emisiones de CO<sub>2</sub> están relacionadas con la tasa de descomposición de los materiales orgánicos utilizados (de Urzedo y col., 2013), presentando el estiércol una materia orgánica más lábil y menos estabilizada que en el caso de los compost empleados.



**Figura 6.11:** Emisiones CO<sub>2</sub> acumuladas al final del experimento (EST: estiércol cabra-oveja; CVIT: compost de residuos vitivinícolas; CCOM: compost comercial de estiércol de cabra-oveja) (Valores en barras, dentro de una misma parcela, seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ). \*\*\*: Significativo a  $P < 0,001$ )

#### 6.3.4 Análisis factorial de los resultados

Con el análisis de componentes principales de los parámetros estudiados lo que se pretende es agrupar las variables que guardan mayor relación de entre los parámetros de emisiones de GEI y los parámetros analizados en el suelo ( $n = 10$ ). En el modelo propuesto, el valor obtenido de KMO (Medida de adecuación muestral de Kaiser-Meyer-Olkin) fue superior a 0,5 ( $KMO = 0,613$ ) y el P-valor fue de 0,000 para la prueba de esfericidad de Barlett. Adicionalmente, ninguna de las variables consideradas presentó un valor de extracción  $< 0,5$ . Todo esto indicó que el modelo considerado fue el adecuado.

El modelo agrupó los parámetros en dos componentes principales, de forma que se pudo explicar con el 71% de la variabilidad, donde el primer componente explicó el 51,3 % de la variabilidad y el segundo componente principal explicó el 19,7%. En la tabla 6.7 se muestra la matriz de componentes rotados. En sombreado se han representado las diferentes variables agrupadas en cada componente, en función de su mayor valor absoluto, siendo este valor directamente proporcional a la capacidad del componente para explicar la variabilidad

observada en cada variable, agrupándose cada componente en aquellas variables que poseen comportamientos similares entre sí, de modo que se permiten reducir las variables.

En el primer componente vemos agrupados los parámetros SueloN-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, GEIN-N<sub>2</sub>O, SueloCoox, SuelopH, SueloNorg, SueloCE y SueloResp. Todos guardan una correlación positiva entre ellos excepto SuelopH, que tiene una correlación negativa.

Como ya se ha comentado anteriormente, el nitrógeno en forma de amonio del suelo y la emisión de N<sub>2</sub>O guarda una relación positiva en este caso, debido a que en los sistemas vitivinícolas estudiados los procesos de nitrificación contribuyen en mayor medida a las emisiones de este GEI que los procesos de desnitrificación. Al mismo tiempo el Norg en el suelo se correlaciona positivamente con esto dos parámetros, ya que el Norg es una de las principales fuentes para la formación de amonio.

Por otro lado, la correlación negativa del pH del suelo con los otros parámetros, puede ser explicada debido a una disminución del pH que se produce en el proceso de nitrificación, donde la necesidad de O<sub>2</sub> y la liberación de iones hidrógeno trae como consecuencia una acidificación del suelo cuando los fertilizantes orgánicos son convertidos a nitratos (Navarro Blaya y Navarro García, 2000).

Finalmente, la respiración del suelo se correlaciona positivamente con el incremento de Coox y Norg, debido al incremento de la actividad microbiana en el suelo que se produce al aplicar compuestos carbonados y nitrogenados fácilmente degradables procedentes de las enmiendas orgánicas. La correlación positiva de la CE con el Coox y Norg puede ser debida al aumento de sales en el suelo por la adición de los fertilizantes orgánicos estudiados.

El componente principal 2 agrupó y correlacionó positivamente los parámetros SueloN-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, GEIC-CH<sub>4</sub> y GEIC-CO<sub>2</sub>. Una correlación positiva entre las emisiones de CO<sub>2</sub> y CH<sub>4</sub> fue también observada por Shvaleva y col. (2011) en un experimento llevado a cabo sobre la influencia del agua recibida por la lluvia o mediante riego en las emisiones de GEI en bosques de robles en el sur de Portugal. Estos autores explican esta correlación debido a la estrecha relación entre los ciclos de C y N, que involucran microorganismos que contribuyen directamente en los flujos de CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O y CH<sub>4</sub> del suelo. La correlación positiva entre el contenido de nitrógeno en forma de nitratos y las emisiones de CH<sub>4</sub> puede ser debida a que la oxidación del metano por los microorganismos del suelo es inhibida cuando la concentración de nitratos del suelo es alta, produciéndose mayores emisiones de CH<sub>4</sub>, tal y como se ha comentado anteriormente.

**Tabla 6.7:** Matriz de componente rotado

	Factor 1	Factor 2
<i>Varianza explicada (%)</i>	51,3	19,7
<i>Varianza acumulada (%)</i>	51,3	71,0
SueloResp	0,934	0,201
SueloCE	0,931	0,110
SueloNorg	0,876	0,283
SueloPH	-0,851	-0,406
SueloCoox	0,849	-0,089
GEIN-N <sub>2</sub> O	0,702	0,113
SueloN-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0,446	0,042
SueloN-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0,217	0,816
GEIC-CH <sub>4</sub>	-0,008	0,785
GEIC-CO <sub>2</sub>	0,123	0,631

SueloPH: pH del suelo; SueloN-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>: nitrógeno amónico del suelo; SueloN-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>: nitrógeno nítrico del suelo; SueloCoox: Carbono orgánico oxidable del suelo; SueloNorg: Nitrógeno orgánico del suelo; SueloResp: respiración edáfica del suelo; SueloCE: Conductividad eléctrica del suelo ;GEIN-N<sub>2</sub>O: emisiones de óxido nítrico; GEIC-CH<sub>4</sub>: emisiones de metano;GEIC-CO<sub>2</sub>: emisiones de dióxido de carbono.

#### 6.4 CONCLUSIONES DEL EXPERIMENTO

Las conclusiones obtenidas en el experimento son las siguientes:

- ✓ En general, todas las variables estudiadas (tiempo, tratamiento, variedad y sistema de conducción) afectaron de forma significativa al carbono acumulado en el suelo y fijado en el material vegetal, así como a la evolución de la emisión de los gases efecto invernadero estudiados.
- ✓ Un adecuado manejo agrícola de la vid puede suponer un aumento del carbono acumulado en el suelo y fijado en el material vegetal, siendo mayor este potencial en sistemas en regadío que en secano y con viñedos jóvenes.
- ✓ Los niveles de humedad de los suelos en las zonas del sureste mediterráneo no son suficientes para provocar emisiones de  $N_2O$  por desnitrificación, por tanto las principales emisiones gaseosas de este GEI se produjeron por el proceso de nitrificación. Este hecho explicó que la parcela con la variedad Monastrell en vaso tuviera unas mayores emisiones acumuladas de  $N_2O$ , debidas probablemente a la mayor mineralización del nitrógeno orgánico observada.
- ✓ Los bajos contenidos de agua y de nitrógeno mineral de los suelos y su textura gruesa contribuyeron a que los sistemas vitivinícolas estudiados representen un sumidero importante de  $CH_4$  atmosférico.
- ✓ Las emisiones de  $CO_2$  fueron dependientes de la disponibilidad de materia orgánica fácilmente degradable aportada con la aplicación de las enmiendas orgánicas o por la destrucción de los agregados del suelo, que protegen la materia orgánica del suelo, cuando se lleva a cabo las operaciones de labranza. En general, la aplicación de enmiendas con materia orgánica no estabilizada, tales como el estiércol de cabra-oveja empleado, aumentaron las emisiones de este GEI.
- ✓ En general se puede concluir, que los sistemas vitivinícolas mediterráneos estudiados presentan bajas emisiones de los gases efecto invernadero determinados ( $N_2O$ ,  $CH_4$  y  $CO_2$ ).





UNIVERSITAS

*Miguel  
Hernández*

## **7. CONCLUSIONES**



## 7. CONCLUSIONES GENERALES

Del estudio realizado se pueden obtener las siguientes conclusiones generales:

*Respecto a la caracterización de suelos:*

- ✓ *Los suelos estudiados del sureste mediterráneo en la comarca del Vinalopó-Medio tuvieron una granulometría y textura adecuada para el cultivo de la vid, clasificándose la mayoría de los suelos como arenosos y areno-francos, lo cual reduce el encharcamiento y con ello la proliferación de hongos.*
- ✓ *Los suelos presentaron valores de pH y porcentajes de caliza activa y carbonato cálcico altos, característico de los suelos mediterráneos, lo cual lleva a la necesidad de fertilizaciones para corregir el déficit que provoca la “clorosis férrica”.*
- ✓ *El contenido de materia orgánica, carbono orgánico y la capacidad de intercambio catiónico no fueron adecuados para el cultivo de la vid, reflejando la necesidad de reposición de materia orgánica para contrarrestar la pérdida de suelo debida a la alta mineralización y la toma de nutrientes por parte de la planta.*

*En relación al estudio agronómico:*

- ✓ *El empleo de enmiendas orgánica mejoró la fertilidad del suelo, aumentando el contenido en carbono orgánico oxidable, nitrógeno orgánico e inorgánico del suelo, así como la actividad biológica del suelo. Esta capacidad fertilizante se vio reducida después de cada ciclo de cultivo, excepto en el tratamiento CCOM cuya capacidad fertilizante residual se mantuvo debido a la alta dosis de aplicación empleada.*
- ✓ *Las enmiendas orgánicas redujeron el pH del suelo y aumentaron su contenido de sales durante el desarrollo del experimento. Sin embargo, al final del periodo experimental ambos parámetros se estabilizaron, alcanzando valores similares a los del suelo control. La reducción del pH observada en los suelos enmendados fue positiva como acción de mejora frente a la clorosis férrica que sufre el viñedo en la zona de estudio.*
- ✓ *La mineralización del nitrógeno orgánico se produjo de forma gradual a lo largo del periodo experimental, en función de la demanda de nutrientes por parte de la planta. De este modo, no se produjo una acumulación de nitrógeno inorgánico en el suelo que conllevara a la contaminación de aguas subterráneas por nitratos en la zona de estudio considerada como vulnerable.*

*En cuanto a la calidad de la uva:*

- ✓ *La adición de enmiendas orgánicas aumentó la producción de uva respecto al tratamiento control. El sistema de conducción en espaldera que contaba con riego por goteo favoreció la producción de la planta frente al sistema de conducción en vaso. Sin embargo las uvas del sistema de conducción en vaso presentaron, en general, una mejor calidad para vinificación. La variable tipo de variedad no presentó una pauta determinada en la calidad de la uva.*
- ✓ *Las diferentes condiciones climáticas observadas en los dos años del experimento conllevaron a que la variable tiempo fuera muy significativa sobre la producción y la calidad de la uva. En el primer año experimental se obtuvo una mayor calidad de la uva en las parcelas en vaso y mayor producción en las parcelas con sistema de conducción en espaldera. Sin embargo, el segundo año fue más caluroso y seco que el primero y esto redujo la producción en todas las parcelas y la calidad de las uvas del sistema de conducción en vaso, donde estas condiciones climáticas fueron más extremas.*

*Finalmente, respecto a la acumulación de carbono en el suelo y su fijación en el cultivo de la vid, así como a la emisión de gases:*

- ✓ *Los sistemas vitivinícolas estudiados presentaron unas condiciones adecuadas para actuar como sumideros de carbono, a través del almacenamiento de carbono en el suelo y su fijación en planta, siendo este potencial mayor en las parcelas en regadío y con viñedo joven.*
- ✓ *Los bajos contenidos de agua y de nitrógeno mineral de los suelos estudiado y su textura gruesa, así como el escaso laboreo realizado conllevaron a que las emisiones de gases efecto invernadero ( $\text{NO}_2$ ,  $\text{CH}_4$  y  $\text{CO}_2$ ) fueran bajas en estos sistemas agrícolas.*



UNIVERSITAS

*Miguel  
Hernández*

## 8. BIBLIOGRAFÍA



- Abiven, S., Menasseri, S. y Chenu, C. (2009).** The effects of organic inputs over time on soil aggregate stability. A literature analysis. *Soil Biology and Biochemistry*. 41, 1-12.
- Abrisqueta, C. y Romero, M. (1969).** Digestión húmeda rápida de suelos y materiales orgánicos. *Anales de Edafología y Agrobiología*. 27, 855-867.
- Abrisqueta, C., Artes, F. y Romero, M. (1962).** Estudio crítico del método Bower y Huss para la determinación de yeso en suelos calizos de Murcia. *Anales de Edafología y Agrobiología*. 21, 531-538.
- Aguilera, E., Lassaletta, L., Sanz-Cobena, A., Garnier, J. y Vallejo, A. (2013).** The potential of organic fertilizers and water management to reduce N<sub>2</sub>O emissions in Mediterranean climate cropping systems. A review. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 164, 32-52.
- Akassou, A., Kaanane, A., Crolla, A. y Kinsley, C. (2010).** Statistical modeling of the impact of some polyphenols on the efficiency of anaerobic digestion and co-digestion of the wine distillery wastewater with dairy cattle manure and cheese whey. *Water Science Technology*. 62, 475-483.
- Albadalejo, J., Ortiz Silla, R., y Martínez-Mena, M. (1988).** Evaluation and mapping of erosion risks: an example from S.E Spain. *Soil Technology*. 11, 77-87.
- Aleixandre, J.L. y Álvarez, I. (2003).** "Tecnología Enológica". Ed. Síntesis. Madrid.
- Álvarez, R (2006).** Balance de carbono en los suelos. INTA- Estación Experimental Agropecuaria Rafaela. Publicación Miscelánea nº 105. En [www.inta.gov.ar/rafaela](http://www.inta.gov.ar/rafaela).
- Anderson, J.P.E. (1982).** Soil Respiration. En: *methods of Soils Analysis, Part 2. Chemical and Microbiological Properties*. Agronomy Monograph nº 9 (2nd Edition). American Society of Agriculture- Soil Science Society of America, Madison, USA. 831-871.
- Amligner, F., Götz, B., Dreher, P., Getsti, J. y Weissteiner, C. (2003).** Nitrogen in biowaste and yard waste compost: dynamics of mobilisation and availability a review. *European Journal of Soil Biology*. 39, 107-116.
- Amrani Joutei, K. y Glories, Y. (1994).** Etude en conditions modèles de l'extractibilité des composés phenoliques des pellicules et des pepins de raisin rouges. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*. 28, 303-317.

- Arias-Navarro, C., Díaz-Pinés, E., Kiese, R., Rosenstock, T.S., Rufino, M.C., Stern, D., Neufeldt, H., Verchot, L.V. y Butterbach-Bahl, K. (2013).** Gas pooling: A sampling technique to overcome spatial heterogeneity of soil carbon dioxide and nitrous oxide fluxes. *Soil Biology and Biochemistry*. 67, 20-23.
- Arvanitoyannis, I., Ladas, D. y Mavromatis, A. (2006a).** Potential uses and applications of treated wine waste: a review. *International Journal of Food Science and Technology*. 41, 475-487.
- Arvanitoyannis, I., Ladas, D. y Mavromatis, A. (2006b).** Wine waste treatment methodology. *International Journal of Food Science and Technology*. 41, 1117-1151.
- Aulakh, M.S J.W., Doran, D.T. y Walters, J.F. (1991).** Power legume residue and soil water effects on denitrification in soils of different textures *Soil Biology and Biochemistry*. 23, 1161–1167.
- Balsari, P. y Scienza, A. (2004).** Formas de Cultivo de la Vid y Modalidades de Distribución de los Productos Fitosanitarios. Mundi-Prensa, Madrid, España. 323.
- Bastida, F., Kandeler, E., Moreno, J.L., Ros, M., García, C. y Hernández, T. (2008).** Application of fresh and composted organic wastes modifies structure, size and activity of soil microbial community under semiarid climate. *Applied Soil Ecology*. 40, 318–329.
- Bastida, F., Morenom J.L., García, C. y Hernández, T. (2007).** Addition of urban waste to semiarid degraded soil: long-term. *Pedosphere*. 17, 557-567.
- Beare, M.H., Gregorich, E.G y, St-Georges, P. (2009).** Compaction effects on CO<sub>2</sub> and N<sub>2</sub>O production during drying and rewetting of soil. *Soil Biology and Biochemistry*. 41, 611–621.
- Bertrán, E., Sort, X., Soliva y M., Trillas, I. (2004).** Composting winery waste: sludges and grape stalks. *Bioresource Technology*, 95, 203-208.
- Beltrán de Heredia, J., Domínguez, J.R. y Partido, E. (2005).** Physico-chemical treatment for the depuration of wine distillery wastewater (vinasses). *Water Science and Technology*. 51, 159-166.
- Beltrán, F.J., García-Araya, J.F. y Álvarez, P. (2001).** pH sequential ozonation of domestic and winery distillery wastewaters. *Water Research*. 35, 929-936.
- Biddlestone, A.J. y Gray, K.R. (1991).** Aerobic processing of solid organic wastes for the production of a peat alternative: a review. *Process Biochemistry*. 26, 275-279.

- Bowden, R.D., Rullo, G., Stevens, G.R. y Steudler, P.A. (2000).** Soil fluxes of carbon dioxide, nitrous oxide, and methane at a productive temperate deciduous forest. *Journal of Environmental Quality*. 29, 268–276.
- Brady, N.C. y Weil, R.R. (2004).** *Elements of the Nature and Properties of Soils*. 2ºE. Ed. Pearson.
- Bremner, J.M. y Breitenbeck, G.A., (1983).** A simple method for determination of ammonium in semimicro-kjeldahl analysis of soils and plant materials using a block digester. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 14, 905-913.
- Brito, E. (2008).** Optimización del compostaje de residuos procedentes de la elaboración de cerveza en la isla de Tenerife. Trabajo Fin de Master. Universidad Miguel Hernández.
- Bronick, C.J. y Lal, R (2005).** Soil Structure and management: a review. *Geoderma*. 12, 3-22.
- Bueno-Márquez, P., Díaz Blanco, M.J. y Cabrera Capitan, F. (2008).** Factores que afectan al proceso de compostaje. *Compostaje*. Ed. Mundi-prensa. Madrid. 93-109.
- Bustamante, M.A., Said-Pullicino, D., Agulló, E., Andreu, J., Paredes, C. y Moral, R. (2011).** Application of winery and distillery waste composts to a Jumilla (SE Spain) vineyard: Effects on the characteristics of a calcareous sandy-loam soil. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 140, 80-87.
- Bustamante, M.A., Moral, R., Paredes, C., Pérez-Espinosa, A., Moreno-Caselles, J. y Pérez-Murcia, M.D. (2008a).** Agrochemical characterisation of the solid by products and residues from the winery and distillery industry. *Waste Management*. 28, 372-380.
- Bustamante, M.A., Paredes, C., Marhuenda-Egea, F.C., Pérez-Espinosa, A., Bernal, M.P. y Moral, R. (2008b).** Co-composting distillery wastes with animal manure: carbon and nitrogen transformations and evaluation of compost stability. *Chemosphere*. 72, 551–557.
- Bustamante, M.A., Paredes, C., Moral, R., Moreno-Caselles, J., Pérez-Murcia, M.D., Pérez-Espinosa, A. y Bernal, M.P. (2007a).** Co-composting of distillery and winery wastes with sewage sludge. *Water Science and Technology*. 56, 187-192.
- Bustamante, M.A., Pérez-Murcia, M.D., Paredes, C., Moral, R., Pérez-Espinosa, A. y Moreno-Caselles, J. (2007b).** Short-term carbon and nitrogen mineralisation in soil amended with winery and distillery organic wastes. *Bioresource Technology*. 97, 3269-3277.
- Bustamante, M.A., Paredes, C., Moral, R., Moreno-Caselles, J., Pérez Espinosa, A. y Pérez-Murcia, M.D. (2005).** Uses of winery and distillery effluents in agriculture:

Characterisation of nutrient and hazardous components. *Water Science and Technology*. 51, 145-151.

**Caravaca, F., Lax, A. y Albadalejo, J. (2004).** Aggregate stability and carbon characteristics of particle-size fractions in cultivated and forested soils of semiarid Spain. *Soil & Tillage Research*. 78, 83-90.

**Carvajal, M., Mota, C., Alcaraz-López, M.I. y Martínez-Ballesta, M.C. (2010).** Investigación sobre la absorción de CO<sub>2</sub> por los cultivos más representativos de la Región de Murcia. Iniciativas para una economía baja en carbono. Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia. 65-91.

**Casassa L.F., Keller, M., y Harbertson J.F. (2015).** Regulated Deficit Irrigation Alters Anthocyanins, Tannins and Sensory Properties of Cabernet Sauvignon Grapes and Wines. *Molecules*. 20, 7820-7844.

**Cayuela M.L., Sinicco, T. y Mondini, C. (2009).** Mineralization dynamics and biochemical properties during initial decomposition of plant and animal residues in soil. *Applied Soil Ecology*. 41, 118–127.

**Celik, I. (2005).** Land-use effects on organic matter and physical properties of soil in a southern Mediterranean Highland of Turkey. *Soil and Tillage Research*. 83, 270-277.

**Chen, Y. e Inbar, Y. (1993).** Chemical and spectroscopical analyses of organic matter transformations during composting in relation to compost maturity. *Science and engineering of composting: desing, environmental, microbiological and utilization aspects*. Ed.\_H.A.J. Hpitink y H.M. Keener. Reissance Publications. Ohio. 551-600.

**Chica Pérez., A y García Morales, J.L., (2008).** Aspectos técnicos en el desarrollo y control del proceso de compostaje. *Compostaje*. Ed. Mundi-prensa. 570.

**Christen, E.W., Quayle, W.C., Marcoux, M.A., Arienzo, M. y Jayawardane, N.S. (2010).** Winery wastewater treatment using the land filter technique. *Journal of Environmental Management*. 9, 1665-4673.

**Christou, M., Avramides, E.J. y Jones, D.L., (2006).** Dissolved organic nitrogen dynamics in a Mediterranean vineyard soil. *Soil Biology and Biochemistry*. 38, 2265-2277.

**COM, 2006.** Propuestas de la Comisión al Parlamento Europeo y al Consejo de la Directiva por la que se establece un marco para la protección del suelo y se modifica la Directiva 24/35/CE.

- Crisosto, C.H., y Mitchell, F.G. (2007).** Factores precosecha que afectan la calidad de frutas y hortalizas. Kader, A. Ed. Tecnología Poscosecha de Productos Hortofrutícolas. 3ª Edición. University of California. Division of Agriculture and Natural Resources. Oakland, California. USA. 55-62.
- Cros, S.A. (1983).** Manual de suelos vegetales y aguas de riego. Servicio Agronómico.
- Cruz, C., Bio, A.M.F., Jullioti, A., Tavares, A., Dias, T. y Martins-Loução, M.A. (2008).** Heterogeneity of soil surface ammonium concentration and other characteristics, related to plant specific variability in a Mediterranean-type ecosystem. *Environmental Pollution*. 154, 414–423.
- De Bertoldi, M., Vallini, G. y Pera, A. (1985).** Technological aspects of composting including modelling and microbiology. *Composting of agricultural and other wastes*. 27-40.
- De Neve, S., Van De Steene, J., Hartman, R. y Hofman, G., (2000).** Using time domain reflectometry for monitoring mineralization of nitrogen from soil organic matter. *European Journal of Soil Science*. 51, 295–304.
- De Urzedo, D. Pires-Franco, M., Machado-Pitombo, L.; Braga do Carmo, J. (2013):** Effects of organic and inorganic fertilizers on greenhouse gas (GHG) emissions in tropical forestry. *Forest Ecol. Manage.*, 23: 46–59.
- Díaz, E., Roldán, A., Lax, A. y Albadalejo, J. (1994).** Formation of stable aggregates in degraded soils by amendment with urban refuse and peat. *Geoderma*. 63, 277-288.
- Dick-Peddie, W.A. (1991).** Semiarid and arid lands: a Worldwide scope. (Eds) Skujins J. Marcel Dekker, Semiarid lands and deserts: Soils resource and reclamation. New York, USA. 3-32.
- DIRECTIVA 676 DEL CONSEJO de 12 de diciembre de 1991** relativa a la protección de las aguas contra la contaminación producida por nitratos utilizados en la agricultura
- Dorich, R.A. y Nelson, D.W. (1983).** Direct colorimetric measurements of ammonium in potassium chloride extracts of soils. *Soil Science Society of America Journal*. 47, 833-836.
- Duchaufour, Ph. (2001).** Introduction à la Science du Sol. Sol, Végétation, Environnement. John Wiley & Sons Inc. New York. Dunod. 352.

- Duong, T.T.T., Bauman, K. y Marschner, P. (2009).** Frequent addition of wheat straw residues to soil enhances carbon mineralization rate. *Soil Biology and Biochemistry*. 41, 1475–1482.
- Elorriota, MA., Suarez-Estrella, F., Lopez, MJ., Vargas-García, MC. Y Moreno, J. (2003).** Survival of phytopathogenic bacteria during waste composting. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 96, 141-146.
- Estévez, A., Vera, J.A., Alfaro, P., Andreu, J.M., Tent-Manclús. J.E. y Yébenes, A. (2004).** Alicante en la Cordillera Bética. En: *Geología de la provincia de Alicante*. (Eds.) Alfaro. Libro guía de las excursiones del XIII Simposio sobre Enseñanza de la Geología. Instituto de Ciencias de la Educación, Universidad de Alicante. 39-50.
- F.A.O. (2015).** (<http://www.fao.org>).
- Fernández, J.M., Senesi, N., Plaza, C., Bruneti, G. y Polo, A. (2009).** Effects of composted and thermally dried sewage sludges on soil and soil humic acid properties. *Pedosphere*. 19, 281-291.
- Ferreira, R., Sellés, G., Ruiz, R. y Sellés, I. (2003).** Efecto del estrés hídrico aplicado en distintos períodos de desarrollo de la vid cv. Chardonnay en la producción y calidad del vino. *Agricultura Técnica (Chile)*. 63, 180-191.
- Finstein, M.S. y Miller, F.C. (1985).** Principles of composting leading to maximization of decomposition rate, odour control and cost effectiveness. *Composting of Agricultural and Other Wastes*. 13-26.
- Francaviglia, R., Benedetti, A., Doro, L., Madrau, S. y Ledda, L. (2014).** Influence of land use on soil quality and stratification ratios underagro-silvo-pastoral Mediterranean management systems. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 183, 86–92.
- Freibauer, A., Rounsevell, M.D.A., Smith, P. y Verhagen, J. (2004).** Carbon sequestration in the agricultural soils of Europe. *Geoderma*. 122, 1-23.
- Ganesh, R., Rajinikanth, R., Thanikal, J.V., Ramanujam, R.A. y Torrijos, M. (2010).** Anaerobic treatment of winery wastewater in fixed bed reactors. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 33, 619-628.
- García Izquierdo, C., Hernández Fernández, T. y Costa Yagüe, F. (1998).** Suelos erosionados: bioindicadores de su calidad biológica y bioquímica. *Boletín de la Sociedad Española de la Ciencia del Suelo*. N°4, 165-175.

- García-Orenes, F., Guerrero, C., Mataix-Soler, J., Navarro-Pedreño, J., Gómez, I. y Mataix-Beneyto, J. (2005).** Factors controlling the aggregate stability and bulk density in two different degraded soils amended with biosolids. *Soil and Tillage Research*. 82, 65-76.
- Garland, G.M., Suddick, E., Burger, M., Horwath, W.R. y Six, J. (2011)** Direct N<sub>2</sub>O emissions following transition from conventional till to no-till in a cover cropped Mediterranean vineyard (*Vitisvinifera*). *Agriculture, Ecosystem and Environment*. 141, 234–239.
- Gil, M. y Yuste, J. (2004).** Maturation phénologique des raisins rouges du cépage Tempranillo conduit en gobelet dans différentes conditions édapho-climatiques de la Vallée du Douro. *Journal International des Sciences de la Vigne et du vin*. 38, 81-88.
- Gil, M.; Gutiérrez, I. y Yuste, J. (2003).** Efecto del riego moderado en el desarrollo foliar, el rendimiento y la maduración de la variedad Tempranillo cultivada en espaldera en el Valle del Duero. *Viticultura Enologica Profesional*. 87, 5-18.
- Gillabel, J., Denef, K., Brenner, J., Merckx, R. y Paustian, K., (2007).** Carbon sequestration and soil aggregation in center-pivot irrigated and dryland cultivated farming systems. *Soil Science Society of America Journal*. 71, 1020–1028.
- Glories, Y. y Saucier, C. (2000).** Tannin evolution from grape to wine. Effects on wine taste. *Proceedings of the ASEV 50th Anniversary Annual Meeting, Seattle, Washington*. 353-355.
- Glories, Y. (1999).** La maturità fenolica delle uve: primo parámetro da controllare per una corretta vinificazione in rosso. *Vignevine*. 3, 46-50.
- Gobat, J.M., Aragno, M. y Matthey, W. (2004).** The living soil. *Fundamentals of Soil Science and Soil Biology*. Science Publishers. 475.
- González Caballero, Virginia. 2012.** “Determinación no destructiva de parámetros de calidad en uvas, racimos y mostos mediante Espectroscopía de Reflectancia en el Infrarrojo Cercano”. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba.
- Guerrero, C., Gómez, I., Moral, R., Mataix-Solera, J., Mataix-Beneyto, J. y Hernández, T., (2001).** Reclamation of a burned forest soil with municipal waste compost: macronutrient dynamic and improved vegetation cover recovery. *Bioresource Technology*. 76, 221–227.
- Guo, L.B., Gifford, R.M. (2002).** Soil carbon stocks and land use change: a meta-analysis. *Global Change Biology*. 8, 345-360.

- Hamoda, M.F., Abu Qdais, H.A. y Newham, J. (1998).** Evaluation of municipal solid waste composting kinetics. *Resources, Conservation and Recycling*. 23, 209-223.
- Hannachi, N., Cocco, S., Fornasier, F., Agnelli, A., Brecciaroli, G., Massaccesi, L., Weindorf, D. y Corti, G. (2015):** Effects of cultivation on chemical and biochemical properties of dryland soils from southern Tunisia. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 199, 249-260.
- Heller, H., Bar-Tal, A., Tamir, G., Bloom, P., Venterea, R.T., Chen, D., Zhang, Y., Clapp, C.E. y Fine, P. (2010).** Effects of manure and cultivation on carbon dioxide and nitrous oxide emissions from a corn field under Mediterranean conditions. *Journal Environment. Quality*. 39, 437–448.
- Heeper, E.N., Buschiazzo, D.E., Hevia, G.G., Urioste, A., Antón, L., Hepper, E.N., Buschiazzo, D.E., Hevia, G.G., Urioste, A. y Antón, L. (2006).** Clay mineralogy, cation exchange capacity and specific surface area of loess soils with different volcanic ash contents. *Geoderma*. 135, 216-223.
- Hidalgo Tогores, J. (2006).** La calidad del vino desde el viñedo. Mundi-Prensa. Madrid.
- Hidalgo, L. (2006).** Tratado de Viticultura General. Mundi-Prensa, Madrid.
- Houghton, R., Hackler, J.L. y Lawrence, K.T. (1999).** The U.S. carbon budget: contribution from land-use Change. *Science*. 285, 574-577.
- Huang, Y., Zou, J., Zheng X., Wang, Y. y Xu., X. (2004).** Nitrous oxide emissions as influenced by amendment of plant residues with different C:N ratios. *Soil Biology and Biochemistry*. 36, 973–981.
- Hütsch, B.W., Russell, P. y Mengel, K. (1996).** CH<sub>4</sub> oxidation in two temperate arable soils as affected by nitrate and ammonium application. *Biology and Fertility of Soils*. 23, 86–92.
- Ingelmo, F y Delgado, J.L. (2008).** Efecto de la aplicación del compost sobre las propiedades físicas y químicas del suelo. *Compostaje*. Ed Mundi-prensa. Madrid.
- Ioannou, L.A., Michael, C., Vakondios, N., Drosou, K., Xekoukoulotakis, N.P., Diamadopoulos, E. y Fatta-Kassinou, D. (2013).** Winery wastewater purification by reverse osmosis and oxidation of the concentrate by solar photo-Fenton. *Separation and Purification Technolog.* 118, 659-669.
- IPCC. (2014).** Climate change, Cambridge University Press, Cambridge UK.
- IPCC. (2006).** Climate change, Cambridge University Press, Cambridge UK.
- IPCC. (1990).** Climate change, Cambridge University Press, Cambridge UK.

- Izcara, E. y Gonzalez-San Jose, M. L. (2001).** Análisis de métodos rápidos de extracción para la maduración fenólica de la uva. *Enólogos*. 14, 14-28.
- Jumilla, F.V., Costa, I., Castro, T., García, T., García, R., Romojaro, M.C. y Mesa del Castillo, M<sup>a</sup>. L. (2010).** Metodología para la determinación de las emisiones de CO<sub>2</sub> equivalente en explotaciones agrarias. [www.lessCO2.es](http://www.lessCO2.es) . Consejería de agricultura y agua de la Región de Murcia.
- Kara, S., Gurbulak, E., Eyvaz, M. y Yuksel, E. (2013).** Treatment of winery wastewater by electrocoagulation process. *Desalination and Water Treatment*. 51, 5421-5429.
- Keeney, A.C. y Nelson, D.W., (1982).** Nitrogen-inorganic forms. Page y col., (Eds.), *Methods of Soils Analysis: Part 2, Chemical and Microbiological Properties*, 2nd ed., American Society of Agronomy, Madison, WI, 643-698.
- Kennedy, J. A.; Hayasaka, Y. Vidal, S. Waters, E. J. y Jones, G. P. (2001).** Composition of grape skin proanthocyanidins at different stages of berry development. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49, 5348-5355.
- KEPOS, (2000).** Impactos ambientales en la bodega. Fundación Caja Rioja. Logroño. 20.
- Kitson, R.E. y Mellon, M.G. (1944).** Colorimetric determination of P as molibdovanado phosphoric acid. *Industrial and Engineering Chemistry Analytical*. Ed. 16, 379-383.
- Knudsen, D., Peterson, G.A. y Pratt, P.F. (1982).** Lithium, sodium and potassium. *Methods of soil analysis*. In: American Society of Agronomy -Soil Science Society of America (Eds), vol. 2, Madison. 225-246.
- Lackner, K.S. (2002).** Carbonate chemistry for sequestering fossil carbon. *Annual Review of Energy and the Environment*. 27, 193-232.
- Lal, R. (2009).** Sequestering carbon in soil of arid ecosystems. *Land Degradation and Development*. 20, 441-454.
- Lal, R. (2004a).** Soil carbon sequestration impacts on global climate change and food security. *Science*. 304, 1623-1627.
- Lal, R. (2004b).** Soil carbon sequestration to mitigate climate change. *Geoderma*. 123,1-22.
- Lal, R. (2001).** Soil degradation by erosion. *Land Degradation and Development*. 12, 519-539.
- Lal R. (1997).** Residue management, conservation tillage and soil restoration for mitigating greenhouse effect by CO<sub>2</sub>-enrichment. *Soil and Tillage Research*. 43, 81-107.

- Lamadon, F. (1995).** Protocole pour l'évaluation de la richesse polyphénolique des raisins. *Revue des Oenologues*. 76, 37-38.
- Lardo, E., Palese, A.M., Nuzzo, V., Xiloyannis, C. y Celano, G. (2015).** Variability of total soil respiration in a Mediterranean vineyard. *Soil Research*. 53, 531-541.
- Larson, W. E. y Pierce, F. J. (1994).** The dynamics of soil quality as a measure of sustainable management. Pages 37 - 51 in J. W. Doran, D. C. Coleman, D. F. Bezdicek and B. A. Stewart, eds. *Defining soil quality for a sustainable environment*. SSSA- Special Publication 35. Soil Science Society of America, Madison, WI, USA.
- Le Bissonnais, Y., Blavet, D., De Noni, G., Laurent, J.Y., Asseline, J. y Chenu, C. (2007).** Erodibility of Mediterranean vineyard soils: relevant aggregate stability methods and significant soil variables. *European Journal of Soil Science*. 58, 188–195.
- Le Mer, J. y Roger, P. (2001).** Production, oxidation, emission and consumption of methane by soils: A review. *European Journal of Soil Science*. 37, 25-50.
- López-Fernández, S., Díez, J.A., Hernaiz, P., Arce, A., García-Torres, L. y Vallejo, A. (2007).** Effects of fertilizer type and the presence or absence of plants on nitrous oxide emissions from irrigated soils. *Nutrient Cycling in Agroecosystem*. 78, 279–289.
- López Bermudez, F. y Albadalejo, J. (1990).** Factores ambientales de la degradación del suelo en el área mediterránea. *Degradación y regeneración del suelo en condiciones ambientales mediterráneas*. CSIC (Consejo Superior de Investigaciones Científicas). 15-42.
- Lucas, M.S., Peres, J.A. y Puma, G.L. (2010).** Treatment of winery wastewater by ozone-based advanced oxidation processes (O<sub>3</sub>, O<sub>3</sub>/UV and O<sub>3</sub>/UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) in a pilot-scale bubble column reactor and process economics. *Separation and Purification Technology*. 72, 235–241.
- Madejón, E., Díaz, M.J., López, R. y Cabrera, F. (2001).** Co-composting of sugarbeet vinasse: influence of the organic matter nature of the bulking agents used. *Bioresource Technology*. 76, 275-278.
- MAGRAMA (2015).** Red de estaciones agrometeorológicas de SIAR. Disponible en:<http://eportal.magrama.gob.es/websiar/SeleccionParametrosMap.aspx?dst=1> (Acceso Marzo 2015)
- Maher, M.J., Magette, W.L., Smyth, S. y Duggan, J. (2000).** Managing spent mushroom compost. *Irish Farmer's Journal*. 52, 35–40.

- M.A.P.A. (2004).** Hechos y cifras de la agricultura, la pesca y la alimentación en España, Madrid.
- M.A.P.A. (1994).** Métodos oficiales de análisis. Volumen III. Ed. Secretaría Técnica General, Madrid.
- Mårtensson, A.M. y Torstensson, L. (1996).** Monitoring sewage sludge using heterotrophic nitrogen fixing microorganisms. *Soil Biology and Biochemistry*. 28, 1621–1630.
- Martinez-Casasnovas, J.A. y Ramos, M.C. (2009).** Soil alteration due to erosion, ploughing and levelling of vineyards in north east Spain. *Soil Use Manage*. 25, 183–192.
- Martínez de Toda, F. (2011).** Claves de la Viticultura de Calidad: nuevas técnicas de estimulación y control de la calidad de la uva en el viñedo. 2ª Edición. Mundi-Prensa, Madrid, España.
- Mazza, G., Fukumoto, L., Delaquis, P., Girard, B. y Ewert, B. (1999).** Anthocyanins, phenolics and color of Cabernet Franc, Merlot and Pinot Noir wines from British Columbia. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 47, 4009-4017.
- Meijide, A., Garcia-Torres, L., Arce, A. y Vallejo, A. (2009).** Nitrogen oxide emissions affected by organic fertilization in a non-irrigated Mediterranean barley field. *Agricultural Ecosystem and Environment*. 132, 106-115.
- Meijide, A., Díez, J.A., Sánchez-Martín, L., López-Fernández, S. y Vallejo, A. (2007).** Nitrogen oxide emissions from an irrigated maize crop amended with treated pig slurries and composts in a Mediterranean climate. *Agricultural Ecosystem and Environment*. 121, 383–394.
- Miller, F.C y Finstein, M.S. (1985).** Material balance in the composting of wastewater sludge as affected by process control strategy. *Journal Water Pollution Control Federation*. 57, 122-127.
- Mondini, C., Cayuela, M.L., Sinicco, T., Sánchez-Monedero, M.A., Bertolone, E. y Bardi, L., (2008).** Soil application of meat and bone meal. Short-term effects on mineralization dynamics and soil biochemical and microbiological properties. *Soil Biology and Biochemistry*. 40, 462–474.
- Monterroso, C., Gil Bueno, A., Pérez Varela, S. y Macías, F. (2004).** Restauración de suelos de mina: contribución a la fijación de carbono en el ecosistema terrestre. *Edafología*. 11, 135-148.
- MOPT. (Ministerio de Obras Públicas y Transportes)- IGN (Instituto Geográfico Nacional). (1992)- VARIOS AUTORES.** Problemas medioambientales. Atlas Nacional de España.

- Morell, F.J., Álvaro-Fuentes, J., Lampurlanés, J. y Cantero-Martínez, C. (2010).** Soil CO<sub>2</sub> fluxes following tillage and rainfall events in a semiarid Mediterranean agroecosystem: effects of tillage systems and nitrogen fertilization. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 139, 167–173.
- Moreno, J. y Mormeneo, S. (2008).** Microbiología y bioquímica del proceso de compostaje. Moreno, J., Moral, R., (Eds). *Compostaje*, Mundi Prensa, Madrid. 111-140.
- Morlat, R. y Chaussod, R. (2008).** Long-term additions of organic amendments in a Loire Valley vineyard. I. Effects on properties of a calcareous sandy soil. *American Journal Enology Viticulture*. 59, 353-363.
- Morlat, R. (2008).** Long-Term additions of Organic Amendments in a Loire Valley Vineyard on a Calcareous Sandy Soil. II. Effects on Root System, Growth, Grape Yield, and Foliar Nutrient Status of a Cabernet franc vine. *American Journal Enology Viticulture*. 59, 364-374.
- Morlat, R y Symoneaux, R (2008).** Long-Term Additions of Organic Amendments in a Loire Valley Vineyard on a Calcareous Sandy Soil. III. Effects on Fruit Composition and Chemical and Sensory Characteristics of Cabernet franc Wine. *American Journal Enology Viticulture*. 59, 375-386.
- Mugnai, S., Masi, E., Azzarello, E. y Mancuso, S. (2012).** Influence of Long-Term Application of Green Waste Compost ON Soil Characteristics and Growth, Yield ad Quality of Grape (vitis vinífera L.) ,*Compost Science & Utilization*.20, 29-33.
- Musee, N., Lorenzen, L. y Aldrich, C. (2007).** Cellar waste minimization in the wine industry: a systems approach. *Journal of Cleaner Production*. 15, 417-431.
- Navarro, A.F., Cegarra, J., Roig, A. y García, D. (1993).** Relationships between organic matter and carbon contents of organic wastes. *Bioresource Technology*. 44, 203-207.
- Navarro, A.F., Cegarra, J., Roig, A. y Bernal, M.P. (1991).** An automatic microanalysis method for the determination of organic carbon in wastes. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 22, 2137-2144.
- Navarro Blaya, S. y Navarro García, G. (2000).** *Química Agrícola: el suelo y los elementos químicos esenciales para la vida vegetal*. 2º edición. Ed Mundi-prensa. 487.

- Navas, A., Machín, J. y Navas, B. (1999).** Use of biosolids to restore the natural vegetation cover on degraded soils in the badlands of Zaragoza (NE Spain). *Bioresource Technology*. 69, 199-205.
- Nishio, T. y Fujimoto, T. (1990).** Kinetics of nitrification of various amounts of ammonium added to soils. *Soil Biology and Biochemistry*. 22, 51-55.
- OIV (2009).** Compendium of international methods of wine and must analysis. Organisation Internationale de la Vigne et du Vin. Paris.
- Olsen, S.R., Xole, C.V., Watanabe, F.S. y Dean, L.A. (1954).** Estimation of available phosphorous in soils by extraction with sodium bicarbonate. US Department of Agriculture. Circular 939.
- Otter, L.B. y Scholes, M.C. (2000).** Methane sources and sinks in a periodically flooded South African savanna. *Global Biogeochemical Cycles*, 14: 97–111.
- Pascual R, Gil Muñoz, R., Fernandez-Fernandez, J.I., Del Amor, F.M. y Martinez-Cutillas., A., García-García, J. (2015).** Improvement of yield and grape and wine composition in field-grown Monastrell grapevines by partial root zone irrigation, in comparison with regulated deficit irrigation. *Agricultural Water Management*. 149, 55-73.
- Pascual, J.A., García, C. y Hernández, T. (1999).** Lasting microbiological and biochemical effects of the addition of the municipal solid waste to an arid soil. *Biology and Fertility of Soils*. 30, 1-6.
- Paredes, C., Bernal M.P. y Cegarra, J. (2001).** Effects of olive mill wastewater addition in composting of agroindustrial and urban wastes. *Biodegradation*. 12, 225-234.
- Paredes, C., Roig, A., Bernal, M.P., Sanchez -Monedero, M.A. y Cegarra, J. (2000).** Evolution of organic matter and nitrogen during co-composting of olive mill wastewater with solid organic wastes. *Biology and Fertility Soils*. 32, 222-227.
- Paredes, C., Cegarra, J., Roig, A., Sanchez-Monedero, M.A y Bernal, M.P. (1999).** Characterization of olive mill wastewater (alpechín) and its sludge for agricultural purposes. *Bioresource Technology*. 67, 111-115.
- Paredes Gil, C. (1997).** Compostaje del alpechín mediante el Sistema Rutgers y evaluación agronómica de los compost. Tesis doctoral, Universidad de Murcia.

- Peregrina, F., Pérez-Álvarez, E. P. y García-Escudero, E. (2012).** Efecto de dos tipos de cubiertas vegetales en la asimilación de carbono por la biomasa aérea y en el secuestro de carbono del suelo de un viñedo de la D.O. Ca. Rioja (España). II Workshop Red Remedia, Zaragoza.
- Petersen, S.O., Regina, K., Pollinger, A., Rigler, E., Valli, L. Yamulki, S., Esala, M., Fabbri, E. Syvasalo, C. y Vinther, F.P. (2006).** Nitrous oxide emissions from organic and conventional crop rotations in five European countries. *Agriculture Ecosystem and Environment*. 112, 200–206.
- Piccolo, A. (2002).** The supramolecular structure of humic substances: A novel understanding of humus chemistry and implications in soil science. *Advances in Agronomy*. 75, 57-134.
- Pinamonti, F. (1998).** Compost mulch effects on soil fertility, nutritional status and performance of grapevine. *Nutrient Cycling and Agroecosystem*. 51, 239-248.
- Porta, J., López-Acevo, M. y Ponch, R.P. (2014).** Edafología: Uso y protección de los suelos. Ed: Mundiprensa. 608.
- Porta, J., López Acevedo, M. y Roquero, C. (2003).** Edafología para la agricultura y el medio ambiente. Ed. Mundi-Prensa. Madrid. 807.
- Quayle, W.C., Christen, E.W., Jayawardane, N.S., Blackwell, J., Corell, R. y Fattore, A., (2006).** Innovation in management of wastewater in the Australian wine industry. *Aust. N. Z. Grapegrow. Winemak*. 41-49.
- Ranalli, G., Bottura, G., Taddei, P., Garavani, M., Marchetti, R. y Sorlini, C. (2001).** Composting of solid and sludge residues from agricultural and food industries. Bioindicators of monitoring a compost maturity. *Journal of Environmental Science and Health. Part A*, 36, 415-436.
- Real Decreto 1079/2014 de 19 de diciembre,** para la aplicación de las medidas del programa de apoyo 2014-2018 al sector vitivinícola.
- Real Decreto 506/2013 de 28 de junio,** sobre productos fertilizantes.
- REGLAMENTO (UE) No 1308/2013 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO** de 17 de diciembre de 2013 por el que se crea la organización común de mercados de los productos agrarios.
- Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Dòneche, B. y Lonvaud, A. (2000).** “Handbook of Enology”. Volume 1. “The microbiology of Wine and Vinifications”. Ed. John Wiley and sons Ltd. Chichester. Reino Unido.

- Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Donéche, B. y Lonvaud, A. (2003).** Tratado de enología. vol 1. Microbiología del vino. Vinificaciones. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. 651.
- Richards, B.N. (1987).**The microbiology of terrestrial ecosystems. Ed. Longman Scientific & Technical. Singapur.
- Rodríguez, L., Villaseñor, J., Fernández, F.J. y Sánchez, V. (2006).** Co-composting winery sludge with different Biowastes. Proceeding IV Internacional Specialized Conference on Sustainable Viticultura: Winery Wastes and Ecologic Impact Management. 227-234. Viña del Mar, Chile.
- Rodríguez-Murillo, J.C. (2001).** Organic carbon content under different types of land use and soil in peninsular Spain. *Biology and Fertility of Soils*. 33, 53–61.
- Roldan, A., Lax, A., Díaz, E. y Albadalejo, J. (1994).** Formation of stable aggregates in a degraded soil by amendment with urban refuse and peat. *Geoderma*. 63, 277-288.
- Romero Cascales, Inmaculada. (2008).** Tesis Doctoral “Extracción de Compuestos Fenólicos de La uva al vino. Papel de Los Enzimas de Maceración”. Universidad de Murcia. Departamento de Tecnología de Alimentos, Nutrición y Bromatología.
- Rostagno, C.M. y Sosebee, R.E. (2001).** Biosolid application in the Chihuahuan desert: Effect on runoff wáter quality. *Journal of Enviromental Quality*. 30, 160—170.
- Rubio, R., Pérez-Murcia, M.D., Agulló, E.; Bustamante, M.A., Sánchez, C., Paredes, C. y Moral, R. (2013):** Recycling of agro-food wastes into vineyards by composting: Agronomic validation in field conditions .*Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 44, 502-516.
- Ryals, R. y Silver, W.L. (2013).** Effects of organic matter amendments on net primary productivity and greenhouse gas emissions in annual grasslands. *Ecology Applied*. 23, 46–59.
- Saint-Cricq, N., Vivas, N. y Glories, Y. (1998).** Maturité phenolique: définition et contrôle. *Revue Francaise d’ OEnologie*. 173, 22-25.
- Salazar, D.M. y Melgarejo, P. (2005).**Viticultura. Técnicas de cultivo de la vid, calidad de la uva y atributos de los vinos. Ed. Mundiprensa. 325.
- Sánchez-Martín, L., Arce, A., Benito, A., García-Torres, L. y Vallejo, A. (2008).** Influence of drip and furrow irrigation systems on nitrogen oxide emissions from a horticultural crop. *Soil Biology Biochemistry*. 40, 1698–1706.

- Sánchez-Monedero, M.A., Mondini, C., de Nobili, M., Leita, L. y Roig, A. (2004).** Land application of biosolids. Soil response to different stabilization degree of the treated organic matter. *Waste Manage.* 24, 325–332.
- Saña, J., More, J. C., Cohí, A. (1996).** La gestión de la fertilidad del suelo. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Secretaría General Técnica, Madrid.
- Schmidt, H.P., Kammann, C., Niggli, C., Evangelou, M.W.H., Mackie, K.A. y Abiven, S., (2014).** Biochar and biochar-compost as soil amendments to a vineyard soil influences on plant growth, nutrient uptake, plant health and grape quality. *Agriculture Ecosystem and Environment.* 191, 117–123.
- Scott, A., Ball, B.C., Crichton, I.J. y Aitken, M.N. (2000).** Nitrous oxide and carbón dioxide emissions from grassland amended with sewage sludge. *Soil Use Manage.* 16, 36–41.
- Sella, J. y Espinàs, E. (2001).** Comportamiento de diferentes tipos de conducción de la viña. Reunión del Grupo de Trabajo de Experimentación en Viticultura y Enología. La Alberca (Murcia).
- Sempere, A. Oliver, J. y Ramos, C. (1993).** Simple determination of nitrate in soils by second-derivate spectroscopy. *Journal Soil Science.* 44, 633-639.
- Shukla, M.K., Lal, R. y Ebinger, M. (2006).** Determining soil quality indicators by factor analysis. *Soil & Tillage Research.* 87, 194-204.
- Shvaleva, A., Lobo-do-Vale, R., Cruz, C., Castaldi, S., Rosa, A.P., Chaves, M.M. y Pereira, J.S (2011).** Soil-atmosphere greenhouse gases (CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> and N<sub>2</sub>O) exchange in evergreen oak woodland in southern Portugal. *Plant Soil Environment.* 57, 471–477.
- SIGPAC. (2015).** <http://sigpac.magrama.es>;
- Six, J., y K. Paustian. (2014).** Citation Classic XII: Aggregate-associated soil organic matter as an ecosystem property and a measurement tool. *Soil Biology and Biochemistry.* 68, A4-A9
- Six, J., Bossuyt, H., Degryze, S. y Denef, K. (2004).** A history of research on the link between (micro) aggregates, soil biota and soil organic matter dynamics. *Soil Journal of Soil Science.* 33, 141-163.
- Six, J., Conant, R.T., Paul, E.A., Paustian, K. (2002).** Stabilization mechanisms of soil organic matter. Implications for C-saturation of soils. *Plant and Soil.* 241, 155-176.
- Smith, P. (2004):** Carbon sequestration in croplands: the potential in Europe and the global context. *European Journal of Agronomy.* 20, 229- 236

- Soil Survey Staff (2014):** Keys to Soil Taxonomy. 12<sup>th</sup> ed. USDA-Natural Resources Conservation Service Washington USA.
- Soliva, M., Huerta, O., Lopez, M. y Zaloña, M. (2008).** Compostatge residus municipals: control del proces, rendiment i qualitat del producte. Informe final proyecto ESAB Agencia de Residus de Catalunya. 230.
- Solomon, S., D. Qin, M. Manning, R.B. Alley, T. Berntsen, N.L. Bindoff, Z. Chen, A. Chidthaisong, J.M. Gregory, G.C. Hegerl, M. Heimann, B. Hewitson, B.J. Hoskins, F. Joos, J. Jouzel, V. Kattsov, U. Lohmann, T. Matsuno, M. Molina, N. Nicholls, J. Overpeck, G. Raga, V. Ramaswamy, J. Ren, M. Rusticucci, R. Somerville, T.F. Stocker, P. Whetton, R.A. Wood y D. Wratt. (2007).** "Technical Summary". Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge y New York: Solomon, S., D. Qin, M. Manning, Z. Chen, M. Marquis, K.B. Averyt, M. Tignor y H.L. Miller ed. Pp, 25.
- Spayd , S.E., Wample, R.L., Evans, R.G., Stevens, R.G., Seymour, B.J y Nagel C.W. (1994).** Nitrogen fertilization of White Riesling grapes in Washington. Must and wine composition. American Journal Enology and Viticulture. 45, 34-42.
- Steenwerth, K. y Belina, K.M. (2008).** Cover crops and cultivation: impacts on soil N dynamics and microbiological function in a Mediterranean vineyard agroecosystem. Applied Soil Ecology. 40, 370–380.
- Stentiford, E.I (1996).** Composting control: principles and practice. The Science of composting. Part I. Blakie Academic and Professional, Glasgow, UK.
- Studler P.A., Bowden R.D., Melillo J.M., Aber J.D .(1989).** Influence of nitrogen fertilisation on methane uptake in forest soils. Nature. 341, 314–316.
- Strong, P.J. y Burgess, J.E. (2008).** Fungal and enzymatic remediation of a wine lees and five wine-related distillery wastewaters. 99, 6134-6142.
- Torrijos, M. y Moletta, R. (2000).** Efluentes vinícolas y procedimientos de tratamiento. Enología: fundamentos científicos y tecnológicos. AMV Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, 769-783.
- Vallejo, A., García-Torres, L., Díez, J.A., Arce, A., López-Fernández, S. (2005).** Comparison of N losses ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{N}_2\text{O}$ ,  $\text{NO}$ ) from surface applied, injected or amended (DCD) pig slurry of an irrigated soil in a Mediterranean climate. Plant Soil. 272, 313–325.

- Vallejo, V.R., Díaz Fierros, F. y De La Rosa, D. (2005).** Impacto sobre los recursos edáficos. Evaluación preliminar de los impactos en España por efecto del cambio climático. Secretaría General Técnica MMA, Madrid. 355-398.
- Van Leeuwen, C. y Seguin, G., (2006).** The Concept of Terroir in Viticulture. *Journal of Wine Research*. 17, 1-10
- Vargas-García, M.C., Suarez-Estrella, F., Lopez, M.J. y Moreno, J. (2007).** Effect of inoculation in composting processes: Modifications in lignocellulosic fraction. *Waste Management*. 27, 1099-1107.
- Vázquez, N., Pardo, A., Suso, M.L. y Quemada, M. (2006).** Drainage and nitrate leaching under processing tomato growth with drip irrigation and plastic mulching. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 112, 313-323.
- Vilain, G., Garnier, J., Tallec, G. y Cellier, P. (2010).** Effect of slope position and land use on nitrous oxide (N<sub>2</sub>O) emissions (Seine Basin, France). *Agricultural and Forest Meteorology*. 150, 1192–1202.
- Vogt, J. y Lemperle, W. (1986).** El vino: obtención, elaboración y análisis. Ed. Acribia S.A.
- Walkley, A. y Black, I.A. (1934).** An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*. 37, 29-38.
- Wattel-Koekkoek, E.J.W., Buurman, P., van der Plicht, J., Wattel, E. y van Breemen, N. (2003).** Mean residence time of soil organic matter associated with kaolinite and smectite. *European Journal of Soil Science*. 54, 269-278.
- White, R.E. (2009).** Understanding vineyard soils. Oxford University Press, New York.240.
- Yanez, J. (1989).** Análisis de suelos y su interpretación. *Horticultura*. 49, 75-89.
- Yeomans, J. y Bremner, J.M. (1989).** A rapid and precise method for routine determination of organic carbon in soil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 19, 1467-1476.
- Zdruli, P., Jones, R.J.A. y Montanarella, L. (2004).** Organic matter in the soils of Southern Europe. European Soil Bureau Research Report No. 15. OOP EC, EUR 21083 EN, Luxembourg.

**Zerbarth, B.J., Neilsen, G.H., Hogue, E. y Neilsen, D. (1999).** Influence of organic waste amendments on selected soil physical and chemical properties. *Canadian Journal of Soil Science*. 79, 501-504.

**Zucconi F. y de Bertoldi M. (1987).** Compost specifications for the production and characterization of compost from municipal solid waste. *Compost: Production, Quality and Use*. 30-50.







UNIVERSITAS

## 9. ANEXO DE MÉTODOS ANALÍTICOS

*Miguel  
Hernández*



## ANEXO DE MÉTODOS ANALÍTICOS

### 1. Residuos orgánicos

#### 1.1 Preparación de la muestra

La muestra recogida es secada al aire y molida en un molino a través de una malla de 0,5 mm de luz

#### 1.2 Humedad

Se considera como humedad el porcentaje de agua con respecto a muestra húmeda, por diferencia de peso entre material húmedo y seco.

##### *Procedimiento*

Se pesan de 1 a 3 g de muestra seca al aire y molida, en un pesa-sustancias de peso conocido. Se calienta a 105°C durante 12 horas. Se deja enfriar en un desecador de vacío y se pesa. La pérdida de peso se da como humedad, expresando el resultado como porcentaje respecto a peso de muestra húmeda. Todos los demás datos que se obtengan, se corregirán con este valor, para referirlos a peso seco.

#### 1.3 Pérdida de peso por calcinación

Se toma como “materia orgánica total” la pérdida de peso por calcinación a 430°C. Se determina según el método de Navarro y col. (1993). La pérdida de peso se expresa como porcentaje respecto a peso de muestra seca.

##### *Procedimiento*

Se pesan de 1 a 3 gramos de muestra en un crisol de peso conocido. Se calcina por espacio de 24 horas a 430°C, se deha enfriar en un desecador de vacío y se pesa. EL contenido en “cenizas” se expresa en porcentaje respecto de muestra seca.

#### 1.4 Medida de pH

Se mide sobre la suspensión acuosa obtenida por agitación mecánica durante dos horas de la proporción 1:10, sólido/líquido, con un pH-metro.

### 1.5 Conductividad eléctrica

Se determina sobre la suspensión acuosa anterior, previamente centrifugada y filtrada, con un conductímetro.

### 1.6 Carbono orgánico total

Medida del dióxido de carbono producido al quemar la muestra a 1020°C en un analizador elemental, previa destrucción de los carbonatos (Navarro y col., 1991), siendo el aparato utilizado un analizador CN leco Truspec.

#### *Reactivos*

- ✓ Ácido etilendiaminotetraacético (EDTA)
- ✓ Ácido clorhídrico 1:10 v/v

#### *Procedimiento*

Se pesan de 0,10 a 0,15 g de muestra, dependiendo de la humedad de la muestra con precisión de 0,0001 g, en una cápsula de estaño. Se destruyen los carbonatos mediante adiciones sucesivas de 10 a 12 gotas de una disolución de HCL 1:10 (v/v). Posteriormente, se seca en estufa de aire forzado a 40°C. Una vez seco, se introduce en el analizador previamente calibrado con EDTA.

### 1.7 Nitrógeno total

Se realiza quemando la muestra a 1020°C en un analizador elemental (Paredes, 1997)

#### *Reactivos*

- ✓ Ácido etilendiamonotetracético (EDTA)

#### *Procedimiento*

Se pesan de 0,10 a 0,15 g de muestra, dependiendo de la humedad de la muestra con precisión de 0,0001 g, en una cápsula de estaño. Se introduce en el analizador previamente una recta de calibrado con EDTA. El nitrógeno total se calcula sumando el nitrógeno que da el analizador y el nitrógeno en forma amónica perdido durante el secado de la muestras.

### 1.8 Mineralización de la muestra

Digestión nítrico-perclórica de las muestras según el método recomendado por Abrisqueta y Romero (1969).

#### *Reactivos*

- ✓ Ácido nítrico concentrado (d=1,33)
- ✓ Ácido perclórico 60%
- ✓ Ácido clorhídrico 0,5N

#### *Procedimiento*

En un tubo de digestión de 50 ml se pesa 0,5 g de muestra seca al aire y molida a través de una maya de 0,5mm de luz, con una precisión de 0,0001 g. Se añaden 6 mL de mezcla nítrico-perclórica 2:1 y se deja macerar durante toda la noche. Se calienta a 150°C durante una hora y a 210°C durante 2 horas en un bloque digestor. Las paredes y fondo se lavan con HCL 0,5 N hasta llevar el volumen a 50 mL y a continuación se filtra con papel lavado a los ácidos.

### 1.9 Fósforo total

Se determina por medida espectrofotométrica de la intensidad de coloración amarilla producida por el complejo fosfovanadato molibdato amónico (Kitson y Mellon, 1944), obtenido sobre una fracción del extracto de mineralización.

#### *Reactivos*

- ✓ Fosfato monopotásico
- ✓ Reactivo A: 100g de molibdato de amonio, 10 mL de hidróxido de amonio y enrase a 1L con agua desionizada.
- ✓ Reactivo B: 2,35 g de metavanadato de amonio en agua desionizada previamente calentada, 7 mL de ácido nítrico concentrado y enrase a 1 L con agua desionizada.
- ✓ Reactivo C: 100 mL reactivo A, 100 mL reactivo B, 95 mL de ácido nítrico concentrado y enrase con agua desionizada a 500 mL.

### *Procedimiento*

#### a. Preparación de la curva patrón

Se pesan exactamente 4,3937 g de fosfato monopotásico R.A seco y se llevan hasta 1 L con agua desionizada en matraz aforado. Esta disolución contiene 1 mg de fósforo po mL. Se toman exactamente 10 mL de esta disolución y se llevan hasta 100 mL en matraz aforado con agua desionizada. Esta nueva disolución contiene 100 mg/L de fósforo. A partir de la disolución de 100 mg/L se toman 40 mL de la misma y se llevan a 100 mL en un matraz aforado, esta disolución contienen 40 mg/L de fósforo. En tubos de ensayo se ponen: 0; 0,25; 0,5; 1; 2; 3; 4; y 5 mL de la disolución anterior, se añaden 5; 4,75; 4,5; 4; 3; 2; 1 y 0 mL de agua desionizada respectivamente y se mezcla bien. Estas disoluciones son equivalente a muestras de extracto que contengan : 0, 2, 4, 8, 16, 24, 32 y 40 ppm de fósforo. Se agrega a cada uno de los tubos 5 mL de la disolución C, se mezclan bien y se procede de igual forma que para la muestra problema.

#### b. Preparación de la muestra y determinación

Se toma 1mL del extracto de mineralización de la muestra y se le adicionan 4 mL de agua desionizada y 5 mL de la disolución del reactivo C, se mezclan bien y se deja desarrollar el color durante unos 10 minutos. Pasado este tiempo se mide la absorbancia en un espectrofotómetro UV-Visible a una longitud de onda de 460nm y se compara con las absorbancias obtenidas para los patrones.

### 1.10 Sodio, potasio, hierro, cobre, manganeso y zinc

El sodio y el potasio, se miden por fotometría de llama, en disoluciones adecuada del extracto de mineralización. El resto de los elementos se determinan por espectrometría de absorción atómica, en disoluciones adecuadas del extracto de mineralización de las muestras.

## **2. Suelo**

### 2.1 Preparación de la muestra

Las muestras de suelo (alrededor de 500 g de suelo) se tomaron en los primeros 25 cm de suelo, ya que esta parte del suelo en la que tiene lugar el desarrollo vegetal y es la más

interesante estudiar. Estas muestras se llevaron al laboratorio y se tomó una submuestra de cada una que se guardó en frigorífico para su posterior análisis del nitrógeno en forma amónica y la respiración del suelo y el resto de muestra se extendió en bandejas de plástico para que se secase a temperatura ambiente y una vez seca se tamizó ( $\phi < 2$  mm).

## 2.2 pH

Pesar 10 g de suelo seco al aire y tamizado a 2 mm  $\phi$ , añadirles 25 mL de agua desionizada y agitar durante treinta minutos. Dejar reposar unos minutos y, a continuación, filtrar la suspensión a través de papel de filtro, desechando las primeras porciones turbias y medir en un pH-metro previamente calibrado (MAPA, 1994).

## 2.3 Conductividad eléctrica

En un suelo tamizado a 2 mm, la medida de la conductividad eléctrica se realiza en el extracto acuoso, obtenido por filtración de la suspensión suelo-agua desionizada con una relación 1:5 (p/v), previa agitación de la muestra durante 1 hora (MAPA, 1994).

## 2.4 Estabilidad de agregados

La estabilidad de agregados se determinó en la fracción de suelo entre 1-2 mm mediante un aparato automático. El cálculo de este parámetro se realizó a partir de la fracción de suelo estable al agua de forma natural o una vez destruidos los agregados mediante una disolución dispersante de hexametáfosfato de sodio. Para ello se empleó la siguiente ecuación.

$$\text{Fracción estable (\%)} = P_{\text{ext}} / (P_{\text{ext}} + P_w) \times 100$$

Donde:

$P_{\text{ext}}$  = Fracción de suelo no estable una vez que se han destruido los agregados mediante una disolución dispersante.

$P_w$  = Fracción del suelo natural no estable.

### 2.5 Elementos gruesos

El porcentaje de elementos gruesos ( $\phi > 2 \text{ mm}$ ) se determinó pesando los materiales que quedaron en el tamiz, después de tamizar una muestra de suelo de peso conocido a través de un tamiz  $\phi=2\text{mm}$ .

### 2.6 Granulometría y textura

La determinación se basa en la relación entre la concentración de partículas en una suspensión acuosa y la densidad de dicha suspensión a una temperatura y en un tiempo dado. Midiendo la densidad de la suspensión a diferentes tiempos de sedimentación, se determina la distribución de las partículas, según tamaños. La concentración de sólidos totales en suspensión (g/L), indicada por la escala del densímetro a los cuarenta segundos después de la agitación corresponde a partículas de diámetro  $<20 \mu\text{m}$  (arcilla + limo) y a las dos horas corresponde a partículas de diámetro  $<2 \mu\text{m}$  (arcilla) (Porta, 1986).

#### *Reactivos y material*

- ✓ Densímetro Bouyoucos
- ✓ Peróxido de hidrógeno al 30%
- ✓ Hexametáfosfato de sodio (calgón) (1L): Pesar 37 g de hexametáfosfato de sódico y 7,94 g de carbonato de sodio, disolver y enrasar a 1 L.
- ✓ Carbonato de sodio
- ✓ Permanganato de potasio 0,1 N (1L): Pesar 15,803 g de permanganato de potasio, disolver y enrasar a un 1 L.

#### *Procedimiento*

##### a. Destrucción de la materia orgánica

Pesar con exactitud de 30 a 40 gramos de suelo tamizado a 2 mm y seco al aire. Colocar en un vaso de precipitados de 800 mL y añadir 20 mL de agua oxigenada al 30% y 150 mL de agua desionizada, agitar frecuentemente con una varilla de vidrio. Cubrir el vaso con vidrio de reloj. Verificar por la efervescencia que se produce que hay exceso de agua oxigenada, en caso contrario añadir otros 20 mL. En el caso de producirse mucha espuma, romper ésta, añadiendo unas goas de alcohol. Para suelos con mucha materia orgánica, dejar reaccionar toda una noche con el agua oxigenada, antes de aportar calor. Calentar a  $80^{\circ}\text{C}$  en placa calefactora o baño de

arena. Durante este tratamiento térmico, se debe evitar la ebullición y la consistencia pastosa, para ello, añadir agua si fuera necesario. Cuando ha cesado la efervescencia, eliminar el exceso de agua oxigenada calentando unas dos horas más. La desaparición de agua oxigenada se comprueba, mediante la decoloración que experimenta el permanganato potásico 0,1 N al añadir unas gotas de este reactivo. A continuación, dejar enfriar.

b. Dispersión

Pasar la muestra contenida en el vaso, a través de un embudo, a una botella de plástico de boca ancha, provista de tapón de rosca y de un litro de capacidad, lavando las paredes del vaso con porciones de agua desionizada no sobrepasando los 400-600 mL y procurando arrastrar toda la muestra de suelo. A continuación añadir exactamente 10 mL de disolución dispersante de hexametafosfato sódico (calgón) y agitar durante 2 horas en un agitador rotativo.

c. Sedimentación

Transcurrido el tiempo de agitación, trasvasar el contenido de la botella a una probeta de 1000 mL provista de tapón, lavando bien las paredes con agua desionizada. Enrasar a un litro y agitar la probeta, con movimiento periódicos de inversión para la homogeneización completa de la suspensión. Deja reposar la probeta sobre una mesa nivelada y mediante un cronómetro, medir los tiempos de sedimentación. Paralelamente, realizar un ensayo en blanco, consiste en colocar en otra probeta de 1000 mL la misma cantidad de disolución dispersante de hexametafosfato sódico que la añadida la muestra (10 mL) y desionizada hasta un litro.

d. Medida de la densidad

Agitar la probeta, con movimiento de inversión durante 1 minuto y dejar reposar sobre una mesa nivelada. A continuación, accionar el cronómetro e introducir cuidadosamente, el densímetro y la temperatura de la suspensión. Seguir el mismo procedimiento para la muestra en blanco. Sacar el densímetro de la suspensión y dejar sedimentar ésta. A las dos horas del cese de la agitación, introducir de nuevo el densímetro y tomar la segunda lectura de la densidad y de la temperatura. Proceder de igual forma para la muestra en blanco. Para calcular los porcentajes de arena, limo y arcilla se utiliza la siguiente ecuación:

$$X(\%) = \frac{(d - d_0) \times (T - 20) \times 0,36}{P} \times 100$$

$$Y(\%) = \frac{(d' - d'_0) \times (T' - 20) \times 0,36}{P} \times 100$$

% arena = 100-x

% limo= x-y

% arcilla= y

Donde:

P= peso de muestra de suelo seco y tamizado (g)

X= Porcentaje de limo + arcilla

Y= porcentaje de arcilla

d=Densidad de la suspensión (g/L) a los 40 segundos

d'=Densidad de la suspensión (g/L) a las 2 horas

d<sub>0</sub>=Densidad de la suspensión (g/L) en el blanco a los 40 segundos

d'<sub>0</sub>=Densidad de la suspensión (g/L) en el blanco a las 2 horas

T= temperatura de la suspensión cuando se realiza la lectura del densímetro a los 40 segundos

T'= temperatura de la suspensión cuando se realiza la lectura del densímetro a las 2 horas

Para la determinación de la clase textural se utiliza el diagrama triangular de texturas (criterio USDA). En este diagrama se representan los porcentajes de las fracciones granulométricas, arena, arcilla y limo en los lados de un triángulo equilátero, siguiendo el sentido de las agujas del reloj.

### 2.7 Carbonato cálcico equivalente

La determinación de los carbonatos del suelo se basa en la medida gaseométrica del dióxido de carbono desprendido por la acción del ácido clorhídrico sobre los carbonatos del suelo, utilizando un calcímetro Bernard, que permite la determinación volumétrica en condiciones atmosféricas. Se realizan determinaciones análogas con carbonato cálcico puro,

relacionando así los volúmenes de dióxido de carbono desprendidos por el carbonato cálcico y por el suelo (MAPA, 1994).

#### *Material y reactivos*

- ✓ Calcímetro Bernard
- ✓ Matraces erlenmeyer con deposito interno de 100 ml
- ✓ Disolución del calcímetro: Pesar 100 g de cloruro de sodio y 1 g de hidrogenocarbonato de sodio, disolver ambos, en 350 mL de agua desionizada. Añadir unas gotas de indicador rojo de metilo y ácido sulfúrico hasta reacción ácida. Agitar la disolución para eliminar el exceso de dióxido de carbono.
- ✓ Ácido clorhídrico 1:1
- ✓ Carbonato de calcio anhidro

#### *Procedimiento*

Pesar exactamente de 0,3 a 5 g, según el contenido de carbonatos, de suelo secado al aire, tamizado a 2 mm  $\varnothing$  y molido, e introducirlo en un matraz Erlenmeyer con depósito de 100 mL. Colocar en el interior del depósito 5 mL de disolución de ácido clorhídrico 1:1, procurando que no entre en contacto con el suelo. Conectar el Erlenmeyer, conteniendo la muestra de suelo y el depósito con ácido clorhídrico, al calcímetro, colocando y apretando bien el tapón de caucho y con la llave del calcímetro abierta para mantener la presión atmosférica. Enrasar la bureta a cero moviendo el depósito del calcímetro a lo largo de la guía. A continuación, verter el ácido sobre la muestra inclinando el Erlenmeyer y favorecer la reacción mediante agitación suave. Mantener la presión interior del Erlenmeyer igual a la atmosférica bajando el depósito a medida que va teniendo lugar la reacción (desprendimiento de CO<sub>2</sub>). Cuando los niveles de ambas ramas se igualan se considera que la reacción ha terminado, pudiendo anotar el volumen de CO<sub>2</sub> desprendido. Paralelamente se realiza un ensayo con carbonato cálcico puro, pesando exactamente alrededor de 0,2 g del producto y procediendo del modo descrito anteriormente. La concentración del carbonato total equivalente de un suelo se calcula con la siguiente ecuación:

$$\text{Carbonato total equivalente (\%)} = \frac{V \times P'}{V' \times P} \times 100$$

Donde:

V= mL de CO<sub>2</sub> desprendido por la muestra de suelo

V' = mL de CO<sub>2</sub> desprendido por la carbonato de calcio puro

P' = peso de carbonato de calcio puro (g)

P = peso de la muestra

### 2.8 Caliza activa

La determinación de la caliza activa del suelo se basa en la capacidad de reacción de ésta, con una disolución de oxalato de amonio, en medio ácido, dando un precipitado de oxalato de calcio. El oxalato de amonio (exceso) que no ha reaccionado con la caliza activa del suelo, se determina mediante una valoración con permanganato de potasio en caliente (MAPA, 1994).

#### *Reactivos*

- ✓ Oxalato de amonio 0,2 N:
- ✓ Permanganato de potasio 0,1 N
- ✓ Ácido sulfúrico 1:10 (v/v)

#### *Procedimiento*

Pesar exactamente entre 2,5 y 10 g de suelo seco al aire y molido e introducirlos en una botella de un litro. Añadir 250 mL de disolución de oxalato de amonio 0,2 N y agitar durante 2 horas en un agitador rotativo. A continuación, filtrar despreciando las primeras porciones más turbias. Introducir 10 mL de líquido filtrado claro en un vaso de 100 mL y añadir 10 mL de disolución de ácido sulfúrico 1:10. Colocar el vaso en un agitador magnético y valorar con permanganato de potasio 0,1 N en caliente, hasta la aparición de color rosa persistente.

Paralelamente, realizar una determinación en blanco. Para ello, introducir 10 mL de la disolución de oxalato de amonio 0,2 N en un vaso de 100 mL y añadir 10 mL de disolución de ácido sulfúrico 1:10. A continuación, proceder a su valoración como la muestra. EL contenido en carbonato cálcico activo ó caliza activa del suelo, expresado en %, se obtiene mediante la siguiente expresión:

$$\text{Caliza activa}(\%) = \frac{(Vb - Vm)}{P} \times N \times 125$$

Donde:

Vb= volumen de permanganato gastado en el blanco (mL)

Vm= volumen de permanganato gastado en la muestra (mL)

N= Normalidad del permanganato de potasio

P= peso de muestra (g)

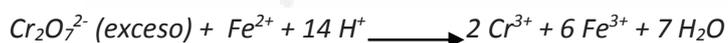
### 2.9 Carbono orgánico oxidable

La determinación del carbono orgánico del suelo se basa en la oxidación parcial del carbono con dicromato potásico en medio ácido sulfúrico. El exceso de dicromato que no ha reaccionado se determina por valoración con sulfato de amonio y hierro (II) hexahidratado (sal de Mohr), utilizando ferroína como indicador, método Walkley-Black, (1934) modificado por Yeomans y Bremner (1989).

1ª Etapa. *Oxidación del carbono orgánico*



2ª Etapa. *Valoración del exceso de dicromato*



*Reactivos*

- ✓ Ácido sulfúrico concentrado
- ✓ Ácido fosfórico concentrado
- ✓ Dicromato de potasio 1N
- ✓ Ferroína
- ✓ Sal de Mohr (sulfato ferroso de amonio) 0,5 N

*Procedimiento*

Se pesa exactamente alrededor de 1,5 g de muestra de suelo, se añaden 10 mL de dicromato potásico y a continuación 20 mL de ácido sulfúrico concentrado y se agita suavemente. Se deja reposar durante 30 minutos y se le añaden 200 mL de agua desionizada.

Se deja enfriar y se le añade 10 mL ácido fosfórico concentrado y 4 ó 5 gotas de ferroína. Se valora con sulfato ferroso de amonio 0,5 N hasta observar un viraje de color verde a pardo rojizo. Paralelamente, se realiza una determinación en blanco. Para ello, se procede de igual manera que con la muestra, pero sin la misma, es decir, sustituyéndola por agua desionizada, añadiendo los mismos reactivos y valorando también con Sal de Mohr. El blanco se utiliza para determinar la normalidad exacta de la disolución de sulfato ferroso amónico. El carbono orgánico oxidable se calcula mediante la siguiente expresión:

$$C_{\text{organico oxidable}} (\%) = \frac{(Vb - Vm) \times N \times 0,3}{P}$$

Donde:

Vb= Volumen de sal de Mohr gastado por el blanco (mL)

Vm= Volumen de sal de Mohr gastado por la muestra (mL)

N= Normalidad de la sal de Mohr

P= peso seco de muestra (g)

### 2.10 Materia orgánica y carbono orgánico

El contenido de materia orgánica se calcula multiplicando el porcentaje de carbono orgánico por el coeficiente de Van Bemmelen (1,724). Para el cálculo del porcentaje de carbono orgánico se multiplica el porcentaje de carbono oxidable por el factor de recuperación de la técnica seguida, que en este caso es de 1,29 (MAPA, 1994).

$$\text{Carbono orgánico (\%)} = \text{Carbono oxidable} \times 1,29$$

$$\text{Materia orgánica (\%)} = \text{Carbono orgánico} \times 1,724$$

### 2.11 Nitrógeno total Kjeldahl

El método de Kjeldahl para muestras sólidas consiste en la transformación de nitrógeno orgánico en amoniacal mediante digestión de la muestra con ácido sulfúrico, sulfato de potasio, sulfato de cobre (II) y selenio. En una segunda etapa, el amoniaco formado es destilado en medio básico, mediante arrastre de vapor, recogiendo el destilado en una disolución de

ácido bórico-indicar. Posteriormente, se determina el amoníaco por valoración con un ácido mineral patrón.

#### Material y reactivos

- ✓ Bloque digestor
- ✓ Equipo de destilación con arrastre de vapor
- ✓ Ácido sulfúrico concentrado
- ✓ Mezcla catalizadora: mezclar 9,05 g de selenio, 66,7 g de sulfato de potasio y 23,8 g de sulfato de cobre (II) penta hidratado hasta homogeneizar bien la mezcla.
- ✓ Disolución de hidróxido de sodio al 40%
- ✓ Disolución indicadora mixta: disolver 0,015 g de verde de bromocresol y 0,030 g de rojo de metilo en 100 mL de etanol. Preparar mensualmente
- ✓ Disolución indicadora de ácido bórico: disolver 20 g de ácido bórico en unos 600 mL de agua desionizada, añadir 10 mL de disolución indicadora mixta y enrasar a 1 L con agua desionizada. Preparar mensualmente.
- ✓ Disolución normalizada de ácido clorhídrico 0,05N

#### Procedimiento

##### a. Digestión de la muestra

Pesar, con precisión 1 mg, 1 g de suelo seco al aire, tamizado a 2 mm  $\phi$  y molido e introducirlo en un matraz Kjeldahl de 100 mL. Se añade a continuación la mezcla catalizadora y 10 mL de ácido sulfúrico concentrado. Se coloca un pequeño embudo en la boca del tubo y se calienta en un bloque digestor durante 2 horas con una rampa de temperaturas hasta 300°C. Se deja enfriar y posteriormente se lava el tubo y el embudo con agua destilada, diluyendo la muestra hasta unos 20 mL.

##### b. Destilación y valoración

Se deposita la muestra diluida en el equipo de destilación y se añade 40 mL de hidróxido de sodio al 40% hasta su neutralización. A continuación, se destila con arrastre de vapor, recogiendo el amoníaco destilado en un erlenmeyer de 100 mL que contenga 15 mL de disolución indicadora de ácido bórico. El proceso finaliza cuando se ha recogido un volumen de

unos 50 mL de destilado. Se valora el amoníaco recogido en la disolución indicadora de ácido bórico con la disolución de ácido clorhídrico 0,1 hasta que la solución vire de verde a rosa.

El contenido de nitrógeno total Kjeldahl en una muestra sólida se determina mediante la siguiente expresión:

$$Nt(\%) = \frac{V \times N \times 1,4}{P}$$

Donde:

V= disolución de HCL gastado para valorar la muestra (mL)

N= normalidad del HCL

P=peso de la muestra seca (g)

### 2.12 Nitratos

El nitrato es extraído del suelo, mediante agitación con una solución saturada de sulfato de calcio y posteriormente, se determina en el extracto obtenido por espectrofotometría V-UV. Los iones nitrato presentes en el extracto de suelo absorben radiación ultravioleta a la longitud de onda de 220 nm. La medida de la radiación absorbida en un espectrofotómetro V-UV es proporcional a la concentración de nitrato en el extracto. La presencia de materia orgánica disuelta puede interferir en la absorción de la radiación, debiendo realizar una segunda medida a la longitud de onda de 275 nm y restar a la primera para corregir del valor del nitrato la posible interferencia de la materia orgánica (Sempere y col., 1993)

#### *Reactivos*

- ✓ Sulfato de calcio saturado: pesar 2,77 g de sulfato de calcio dihidratado, disolver en agua desionizada y enrasar a un litro en un matraz aforado.
- ✓ Patrón de nitrato de 100 mg/L

#### *Procedimiento*

##### a. Extracción

Pesar, con precisión de 1 mg, 10 g de suelo seco y tamizado a 2 mm  $\phi$ . Introducirlos en un bote de plástico resistente de 100 mL y añadir 30 mL de la disolución de sulfato de calcio; agitar durante 20 min en un equipo agitador rotativo. A continuación filtrar o centrifugar a 3000 rpm durante 5 minutos.

b. Preparación de la curva de calibrado

Preparar una curva de calibrado de nitrato en el rango de 0-40 mg/L, introducir en matraces aforados de 100 mL, volúmenes de 0,5,10,20,30 y 40 mL de la disolución patrón de nitrato de 100 mg/L y completar con la disolución saturada de sulfato de calcio hasta el enrase. Las concentraciones resultantes serán respectivamente, de 0,5, 10, 20, 30 y 40 mg/L.

c. Determinación

Medir en un espectrofotómetro V-UV las absorbancias a las longitudes de onda 220 nm y 275nm, de cada uno de los patrones de la curva de calibrado y de la muestra frente a un blanco. La absorbancia debida al ión nitrato se obtiene por diferencia entre el valor de absorbancia medido a 220 nm y dos veces el valor de absorbancia medido a 275 nm.

$$A = a_{220} - 2 \times A_{275}$$

### 2.13 Amonio

El amonio es extraído del suelo con una disolución de cloruro potásico (relación 1:10, p/v), mediante agitación durante 1 h, y posteriormente se determina en el extracto obtenido, por espectrofotometría visible-ultravioleta. Los iones amonio forman con el fenol, en presencia de hipoclorito y nitroprusiato de sodio, un azo-compuesto de color azul (indofenol), medible a una longitud de onda de 636nm en un espectrofotómetro visible-ultravioleta. La disolución de hipoclorito de sódico y la de nitroprusiato de sodio son utilizadas como oxidante y catalizador de la reacción, respectivamente. La solución de sal disódica del ácido etilendiaminotetracético se utiliza para complejar los iones metálicos que pueden precipitar como hidróxidos en el medio básico donde transcurre la reacción (Keeney y Nelson, 1982; Dorich y Nelson, 1983).

#### *Reactivos*

- ✓ Cloruro potásico 2M
- ✓ Cloruro amónico
- ✓ Sal disódica del ácido etilendiaminotetracético dihidratado
- ✓ Nitroprusiato de sodio
- ✓ Fenol (90%)
- ✓ Hidróxido sódico
- ✓ Hipoclorito de sódico (40% de cloro activo)

### *Procedimiento*

#### a. Preparación de la muestra

Se realiza una extracción con KCL 2M en la proporción 1:20, sólido/líquido, de la muestra congelada. Se agita mecánicamente durante 1 hora, se centrifuga y se filtra a través de un filtro lavado a los ácidos.

#### b. Curva patrón

Introducir en tubos de vidrio o de plástico de 50 mL 0;0,25;0,50;1;2;3;4 y 5 mL de la disolución de 10ppm de amonio, a continuación añadir 5;4,75;4,5;4;3;2;1 y 0 mL de agua desionizada. Estas disoluciones tienen una concentración resultante de 0; 0, 5; 1; 2; 4; 6; 8; y 10 mg de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/L. A continuación, adicionar a cada tubo, 1 mL de la disolución de cloruro de potasio 2 M; 1 mL del reactivo A; 2 mL del reactivo B; 4mL del reactivo C y 13 mL de agua desionizada; agitando después de la adición de cada reactivo. Medir en un espectrofotómetro visible-ultravioleta y a la longitud de onda 636 nm, absorbancias de cada uno de los patrones de la curva de calibrado frente al blanco, una hora después de iniciada la reacción y tras agitación de los patrones. Se toman 5 mL del extracto de cloruro de potasio, diluido o concentrado dependiendo de la concentración de amonio que tenga la muestra y se añaden 1 mL del reactivo A; 2 mL del reactivo B; 4 ml del reactivo C y 13 mL de agua desionizada; agitando después de cada adición de cada reactivo. Se procede de igual forma que en la curva patrón.

### 2.14 Nitrógeno orgánico

El contenido de nitrógeno orgánico se calculó restando a la concentración de nitrógeno total Kjeldahl el contenido de nitrógeno en forma amónica

$$\text{Norg (mg/kg)} = \text{NTK (mg/kg)} - \text{N-NH}_4^+ \text{ (mg/kg)}$$

### 2.15 Respiración edáfica

La respiración del suelo o microbiana es una medida de la actividad de los microorganismos. Su determinación se basa en la cuantificación de la producción de CO<sub>2</sub> cuando el suelo es incubado en condiciones de temperatura y humedad controladas (Anderson, 1982).

### *Instrumental y reactivos*

- ✓ Botes y reactivos de 1000 mL con cierre hermético
- ✓ Hidróxido de sodio 0,1 M
- ✓ Cloruro de bario 1 M
- ✓ Ácido clorhídrico 0,05 N
- ✓ Fenoltaleína

### Procedimiento

Pesar con precisión de 1 mg, entre 5 y 10 g de suelo recién muestreado y tamizado a 2 mm  $\phi$ , según su contenido en materia orgánica y colocarlo en recipientes herméticos de vidrio de 1000 mL de capacidad y con ajuste hermético de cierre a presión. Humedecer el suelo en el interior del recipiente para que esté al 60 % de su capacidad de retención hídrica. Puesto que se usa suelo fresco (recién muestreado), debe conocerse previamente su contenido en humedad mediante termobalanza, ya que la cantidad de agua a añadir será menor que si estuviera seco. A continuación colocar, en el interior de los recipientes, botes de plástico de 50 mL, conteniendo 10 mL de la disolución de hidróxido sódico 0,1 N. Procurar no ponerlos encima del suelo. Paralelamente, se procede a efectuar controles, realizando la misma operación que se ha descrito en el párrafo anterior, pero sin suelo. Se realizarán al menos, tres controles con recipientes herméticos sin suelo. Se realizarán al menos, tres controles con recipientes herméticos sin suelo, introduciendo en cada uno de ellos botes de plástico de 50 mL conteniendo 10 mL de la disolución de hidróxido sódico 0,1 N. Colocar todos los recipientes en una cámara de incubación a 25°C durante 5 días. A los 2 días se deben abrir todos los botes durante 10 segundos, para evitar problemas de anaerobiosis. Transcurridos los 5 días se procede a valorar las disoluciones de hidróxido de sodio de los botes, con una disolución de bario, para precipitar, como carbonato de bario, el CO<sub>2</sub> absorbido por la disolución de hidróxido sódico restante, con disolución de ácido clorhídrico 0,05N hasta viraje de color de rosa-fucsia a incoloro. La respiración del suelo se obtiene mediante la siguiente expresión:

$$\text{mg CO}_2/\text{g de suelo día} = \frac{(Vb - Vm) \times N \times 22}{P \times n^{\circ} \text{ días}}$$

Donde:

Vb= volumen de disolución de ácido clorhídrico gastados para valorar el blanco (mL)

Vm= disolución de ácido clorhídrico gastados para valorar la muestra (mL)

N= normalidad del ácido clorhídrico

P= peso muestra suelo fresco (g)

### 2.16 Humedad

Se procede de la misma manera que para la humedad del apartado 1.1

### 2.17 Fósforo asimilable

Esta determinación se basa en la extracción con bicarbonato de sodio del fósforo asimilable del suelo y posterior determinación mediante espectrofotometría V-UV. Los iones fosfato forman con el molibdato de amonio en medio ácido fosfomolibdato de amonio, compuesto que es reducido, con ácido ascórbico, formándose un complejo de color azul, medible a una longitud de onda de 882 nm. La medida de la radiación absorbida en un espectrofotómetro V-UV es proporcional a la concentración de fósforo en el extracto (Olsen y col., 1954)

#### *Reactivos*

- ✓ Tolueno
- ✓ Hidrógenocarbonato de sodio 0,5M
- ✓ Tartrato de antimonio y de potasio
- ✓ Molibdato de amonio
- ✓ Ácido sulfúrico 5N y 1,5N
- ✓ Hidróxido de sodio 1N

#### *Procedimiento*

##### a. Extracción

Pesar con precisión de 1 mg, 5 g de suelo seco al aire y tamizado a 0,5 mm  $\phi$ , introducirlos en un bote de plástico de 250 mL, añadir 1 g de carbón activo y 100 mL de disolución extractora de bicarbonato de sodio 0,5 M. Agitar durante media hora en agitador rotativo. A continuación, filtrar la suspensión a través de filtro Whatman nº 40 o similar. Agitar la suspensión inmediatamente antes de filtrar, despreciando las primeras porciones más turbias.

##### b. Preparación de la curva de calibrado

Para preparar una curva de calibrado de fósforo en el rango 0-1 mg/L, introducir en vasos de precipitado de 100 mL, volúmenes de 0,1,2,3,4 y 5 mL de la disolución patrón de fósforo

de 10 mg/L. Añadir en cada vaso, 10 mL de la disolución extractora de bicarbonato de sodio 0,5 M; ajustar el pH a 5 con la disolución de ácido sulfúrico 1,5 M, esperar algún tiempo para que se desprendan las burbujas de CO<sub>2</sub> y a continuación, pasar a matraces aforados de 50 mL. Adicionar a cada uno de ellos, 8 mL de la disolución de ácido ascórbico y enrasar con agua desionizada. Las concentraciones resultantes serán respectivamente, de 0, 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 y 1 mg/L de fósforo.

c. Preparación de la muestra

Introducir 10 mL de filtrado en un vaso de 100 mL, ajustar pH a 5 usando la disolución de ácido sulfúrico 1,5 M y esperar algún tiempo para que se desprendan las burbujas de CO<sub>2</sub>. Pasar a un matraz aforado de 50 mL; añadir 8 mL de la disolución de ácido ascórbico y enrasar con agua desionizada hasta 50 mL.

d. Determinación

Medir en el espectrofotómetro V-UV y a una longitud de onda de 882 nm, las absorbancias de cada uno de los patrones de la curva de calibrado y de la muestra frente a un blanco, 15 minutos después y antes de 24 horas del inicio de la reacción.

El contenido en fósforo asimilable en una muestra de suelo se calcula mediante la siguiente expresión:

$$\text{mg P/kg suelo} = \frac{C \times V_f \times V}{V_{ext} \times P}$$

Donde:

C= concentración obtenida en la lectura espectrofotométrica (mg/L)

V<sub>f</sub>= Volumen final de disolución (mL)

V= volumen de disolución de extractante (mL)

V<sub>ext</sub>= Volumen de extracto (mL)

P= Peso de la muestra de suelo (g)

### 2.18 Potasio asimilable

El contenido en macronutrientes asimilables se determina mediante extracción del suelo con agitación, con una disolución de acetato de amonio 1 N a pH 7 (Knudsen y col., 1982) y posteriormente, se determinan en el extracto obtenido, mediante fotometría de llama.

*Reactivos*

- ✓ Ácido clorhídrico 1:1
- ✓ Acetato de amonio 1 N pH 7

*Procedimiento*

a. Extracción

Pesar, con precisión de 1 mg, 2 g de suelo seco al aire y tamizado a 2 mm  $\phi$  e introducirlos en un bote de plástico resistente de 50 mL. Añadir 20 mL de disolución extractora de acetato de amonio 1 N y agitar durante 30 minutos, en un agitador rotativo. A continuación, centrifugar a 2500 rpm durante 5 minutos y filtrar usando doble filtro. Los macronutrientes asimilables se miden como se indica en el apartado 1.10. El contenido en macronutrientes asimilables en una muestra de suelo se calcula mediante la siguiente expresión:

$$M \text{ (mg/kg suelo)} = \frac{C \times 20 \times d}{P}$$

Donde:

C= concentración obtenida en la lectura espectrométrica por fotometría de llama (mg/L)

d= factor de dilución

20= volumen de la disolución extractora de acetato de amonio (mg/L)

P= peso de muestra de suelo (g)

2.19 Sulfatos

La determinación de yeso se realizó mediante una turbidimetría en el extracto acuoso 1:5 (p/v), empleando como reactivo precipitante el BaCl<sub>2</sub> y la goma arábica como coloide protector (Abrisqueta y col., 1962).

Reactivos

- ✓ K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
- ✓ Reactivo turbidimétrico:
  - 1,5 gramos de goma arábica
  - 80 gramos de BaCl<sub>2</sub>
  - 50 gramos de HCL
  - Se enrasa con agua desionizada hasta 1 litro

### Procedimiento

#### a. Curva patrón

Se prepara una disolución al 0,0263% de  $\text{SO}_4^{2-}$  que es equivalente a una disolución de  $\text{CaSO}_4$  de 0,04%. A partir de esta se preparan en tubos de ensayo 10 ml de disoluciones con concentraciones equivalentes en  $\text{CaSO}_4$  de 0,040, 0,032, 0,024, 0,016, 0,008 y 0,000%. Se añaden a cada uno de los tubos 2 ml de reactivo turbidimétrico, se agitan y a los 10 minutos se mide la absorbancia en un espectrofotómetro a 650 nm. Se calcula la ecuación correspondiente a la recta obtenida.

#### b. Determinación de sulfato como sulfato cálcico.

Del extracto salino 1:5 del suelo, se coloca en un tubo de ensayo 10, 5,2 o 1 ml según la conductividad sea menor de 0,4, de 0,4 a 0,7, de 0,7 a 1,2 o mayor de 1,2  $\mu\text{S cm}^{-1}$  respectivamente. Se diluyen con agua destilada hasta 10 ml y se adicionan 2 ml de reactivo turbidimétrico, se mezcla bien y se deja reposar 10 minutos. Pasado este tiempo se mide en el espectrofotómetro igual que para la curva patrón.

### 2.20 Capacidad de intercambio catiónico

Método de cloruro de bario-trietanolamina a pH 8,1. Este método se basa en el completo reemplazamiento de los cationes de cambio existentes en el suelo por el catión bario, al saturar el suelo con un exceso de bario a pH 8,1 y posterior determinación gravimétrica, del bario no retenido por el suelo por precipitación con sulfato amónico.

Este método es adecuado para suelos calizos, por su elevado pH de trabajo, y además, porque el ión bario forma una película de  $\text{BaCO}_3$  sobre solubilización. Sin embargo no funciona en suelos salinos y particularmente yesosos.

#### *Instrumental y reactivos*

- ✓ pHmetro
- ✓ Balanza
- ✓ Horno mufla
- ✓ Placa calefactora
- ✓ Tubos de percolación de 100 mL con lla ve de cierre
- ✓ Crisoles de porcelana
- ✓ Matraces aforados de 200 mL
- ✓ Filtros para análisis gravimétrico

- ✓ Lana de vidrio
- ✓ Sulfato de amonio 0,5 M
- ✓ Ácido clorhídrico 1:10
- ✓ Cloruro de bario dihidratado
- ✓ Trietilonamina

#### *Procedimiento*

##### a. Preparación de la muestra

Pesar, con precisión de 1 mg, 5 g de suelo seca y tamizado a 2 mm. Introducirlos en un tubo de percolación cuyo fondo ha sido cerrado con lana de vidrio o algodón mojado, ligeramente apretado y cerrar el drenaje del mismo; añadir 5 mL de agua desionizada para humectar el suelo y mantener el contacto al menos 12 horas. Transcurrido ese tiempo abrir la llave y si percola, despreciarla.

Colocar bajo el tubo de percolación un vaso de precipitados de 250 mL conteniendo 5 mL de ácido clorhídrico 1:1. Verter en el tubo 25 mL de la disolución A y abrir la llave de drenaje de forma que el líquido percole gota a gota, en no menos de 20 minutos. A continuación, añadir sobre el mismo tubo, 25 mL de la disolución B y dejar percollar de igual modo, recogiendo el lixiviado sobre el mismo vaso. Efectuar 3 lavado con agua desionizada de unos 20 mL cada uno de ellos, recogiendo los percolados en el vaso.

Paralelamente, preparar un blanco que contenga: 5 mL de ácido clorhídrico 1:1, 25 mL de la disolución A; 25 mL de la disolución B y agua desionizada hasta aproximadamente 125 mL.

Colocar los vasos conteniendo la disolución problema y el blanco en una plancha calefactora y calentar hasta 60-70 °C. Añadir a cada uno de ellos, 15 mL de sulfato de amonio 0,5 M y dejar en la plancha 15 minutos más, para que se forme el precipitado.

Enfriar y dejar reposar el precipitado unas 8 horas (proceso de digestión). Posteriormente, filtrar sobre el papel de filtro gravimétrico, recogiendo el filtrado de la disolución problema en un matraz aforado de 200 mL.

Lavar el precipitado con agua desionizada acidificada con HCL 1:1, incorporando los lavados al matraz. Enrasar con agua desionizada y guardar para la determinación de los cationes de cambio.

Introducir los filtros conteniendo los precipitados de la muestra de suelo y del ensayo en blanco, en crisoles de porcelana previamente desecados y tarados, y calcinar en un horno mufla a 500 °C durante 2 horas. A continuación, dejar enfriar y colocar en un desecador hasta peso constante.

La capacidad de cambio catiónico de un suelo, expresada como  $\frac{1}{2}$  cmol Ba<sup>2+</sup> por kg de suelo, se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$CIC = \frac{p-p'}{Pm} \times 857,12$$

Donde:

Pm= g de suelo

P= g de precipitado de sulfato de bario del blanco

P'= g de precipitado de sulfato de bario en la muestra

### 2.21 Almacenamiento de carbono en el suelo

El almacenamiento de carbono en el suelo se calculó de acuerdo con Guo y Gifford (2002).

$$C \text{ acumulado en el suelo} = BD \times \% \text{ Corg} \times D$$

Donde,

BD = densidad aparente del suelo (g/cm<sup>3</sup>)

D = Profundidad a la que se ha muestreado el suelo (cm)

Corg= carbono orgánico total

La densidad aparente del suelo se calculó con la siguiente ecuación:

$$BD = \frac{100}{\%MO/0,244+(100-\%MO)/1,64}$$

Donde,

MO = materia orgánica

## **3. Parámetros de calidad enológica en la uva**

### 3.1 Medida de pH

Este parámetro se determinó mediante la medida de la diferencia de potencial entre dos electrodos sumergidos en el mosto exprimido que se estudió. Uno tiene un potencial que es una función definida del pH del líquido, el otro tiene un potencial fijo y conocido y constituye el electrodo de referencia. Inicialmente se procedió a la calibración del pHmetro, que se realiza antes de efectuar las medidas o diariamente como mínimo. Se efectúa habitualmente a 20°C,

primero con la disolución tampón de pH 7 y posteriormente con el tampón de pH 4 para el calibrado de la escala. El aparato constaba de una sonda de temperatura para que la medida fuera referida a 20°C.

### 3.2 Acidez total

La determinación se realizó mediante la neutralización de una muestra de 10 mL de mosto con NaOH 0,1 N. La valoración se realizó con azul de bromotimol como indicador del final de reacción. Los resultados se expresaron en g de ácido tartárico/L.

#### *Reactivos y material*

- ✓ Bureta de 25 mL
- ✓ Agitador
- ✓ Disolución factorizada de 0,1 N de NaOH
- ✓ Azul de bromotimol de 4 g/L
- ✓ Probeta de 100 mL
- ✓ Vasos de precipitado de 100 mL
- ✓ Pipeta de doble enrase

A los 10 mL de mosto se adicionan 30 mL de agua y 1 mL de disolución de azul de bromotimol. Se añade la disolución 0,1 N de NaOH hasta obtener una coloración verde azulado.

- ✓ Acidez total expresada en eq/L (A) será:  $A = 0,01n$

Siendo n los mililitros de NaOH 0,1 N utilizados.

- ✓ La acidez total expresada en g/L de ácido tartárico (A') será:  $A' = 75 A$

### 3.3 Grados Brix

Se obtuvo utilizando un refractómetro digital, con corrección incorporada de temperatura, ajustando el cero con agua destilada. El resultado se expresa en % de sacarosa, tal y como se obtiene directamente del refractómetro, o grado Brix. A partir del grado Brix se calculan por tablas los valores de grado Baumé.

### 3.4 Antocianos totales

Los antocianos totales y extraíbles se determinaron mediante el método Saint-Cricq. Este método consiste en la extracción de los antocianos totales (antocianos pH1, ApH1) y

fácilmente extraíbles (antocianos pH 3,2, ApH3,2) de una muestra de uva triturada con una disolución de HCl o de ácido tartárico, respectivamente, mediante maceración durante 4 horas. Posteriormente, en los extractos obtenidos se determinan los antocianos espectrofotométricamente, realizando la medida de la absorbancia a la  $\lambda = 520$  nm, antes y después de decolorar los antocianos con SO<sub>2</sub> (Saint-Cricq y col., 1998)

*Reactivos:*

- ✓ Alcohol ácido al 0,1% con HCl.
- ✓ HCl al 2%.
- ✓ Bisulfito sódico al 15%.
- ✓ Ácido tartárico 4 g/L
- ✓ Disolución patrón de malvina (1 g/L)
- ✓ *Procedimientos:*

En un vaso de precipitado (A) mezclamos:

- ✓ 50 g de triturado
- ✓ 1 mL de Alcohol ácido. (Estabiliza el color).
- ✓ 50 ml de HCl al 10%

En otro vaso de precipitado (B) mezclamos:

- ✓ 50 g de triturado
- ✓ 50 ml de ácido tartárico 4 g/L
- ✓ Se ajusta el pH a 3,2 con disolución de NaOH

Macerar 4 horas y se filtra sobre lana de vidrio en tubos de ensayo. Se distribuye en dos tubos de ensayo:

Tubo 1

- ✓ 1 mL de tubo A anterior, 20 mL de HCl al 2% y 1 mL de alcohol ácido.

Tubo 1.2

- ✓ 10 mL tubo 1 y 4 mL de agua desionizada.

Tubo 1.3

- ✓ 10 mL tubo 1 y 4ml. de sol. de bisulfito.

Tubo2

- ✓ 1 mL de tubo B anterior, 20 mL de HCL al 2% y 1 mL de alcohol ácido.

Tubo 2.2

- ✓ 10 mL tubo 1 y 4 mL de agua desionizada.

Tubo 2.3

- ✓ 10 mL tubo 1 y 4ml. de sol. de bisulfito.

Se cierran los dos tubos, el tubo con la solución de bisulfito debe de estar perfectamente cerrado. Agitamos los dos tubos esperamos 20 minutos a que se establezca la reacción. Medimos la absorbancia a 520 nm. en una cubeta de 1 cm. Hacemos el cero con agua destilada.

*Recta de calibrado*

Se toman seis tubo y se añade: 0,05; 0,10; 0,15; 0,20; 0,25; 0,30 mL de malvina patrón, y de alcohol al 15%, 0,95; 0,90; 0,85; 0,80; 0,75; 0,70 mL, a todos los tubos se le añaden por igual 1 mL de etanol ácido, 10 mL de HCL al 10 % y se enrasa con agua desionizada hasta 50 mL, consiguiendo unas concentraciones de 1; 2;3;4;5;6 mg/L de malvina respetivamente.

$$D.O. = D.O. \text{ tubo 2 (agua)} - D.O. \text{ tubo 1 (decolorado)}$$

Si esta diferencia está entre 0,43 y 0,04 lo consideramos un valor válido, si la diferencia es superior tendremos que diluir, y el resultado final habrá que multiplicarlo por la dilución.

A partir de los datos de antocianos totales y extraíbles se puede calcular la extractabilidad de antocianos (EA):

$$EA (\%) = [(A_{pH1} - A_{pH3,2})/A_{pH1}] * 100$$

### 3.5 Polifenoles totales

Para la determinación de los polifenoles totales de la uva, se mide la absorbancia (DO) de una alícuota del extracto a pH 3,2, anterior, diluida 50 veces con agua destilada, a la  $\lambda=280$  nm, en una cubeta de 1 cm de camino óptico (Saint-Cricq y col., 1998).

$$IPT = A_{280} * 50$$

## **4. Material Vegetal**

### 4.1 Producción de biomasa

#### 4.1.1 Hojas

Se contaron el número de hojas por un sarmiento y se pesaron, multiplicadas posteriormente por el número de sarmiento se obtuvo el peso total de hojas por planta.

#### 4.1.2 Sarmientos

Se contaron y pesaron el número de sarmiento por planta.

#### 4.1.3 Uva

Se pesaron y contaron todos los racimos de uva por cada planta. Al peso del racimo se le restó el peso del raspón.

#### 4.1.4 Raspón

Se desgranaron un número representativo de racimos por cada planta para obtener el peso medio del raspón por planta.

#### 4.1.5 Madera de poda

Se pesó por planta toda la madera resultante de la poda.

#### 4.2 Carbono total de las diferentes partes de biomasa aérea de la vid

Medida del dióxido de carbono producido al quemar la muestra a 1020 °C en un analizador elemental, previa destrucción de los carbonatos (Navarro y col., 1991), siendo el aparato utilizado un analizador CN leco Truspec.

Se pesaba con precisión entre 0,1 y 0,3 µg en capsulas de estaño que posteriormente se introducirían en el analizador elemental.

#### **5. Medición de gases efecto invernadero (CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> y N<sub>2</sub>O) emitidos por el suelo mediante cromatografía**

Las concentraciones de GEI en las muestras de gas se determinaron por cromatografía de gases, usando un cromatógrafo de gases HP-6890 equipado con un autoanalizador de espacio de cabeza (HT3), ambos de Agilent Technologies (Barcelona, España). La exactitud de los datos de cromatografía de gases fue del 1% o mejor.

##### *Calibración*

Dos estándares de gas que comprenden una mezcla de gases con diferentes concentraciones (alto nivel con 1,500 ± 7,50 ppm de CO<sub>2</sub>, 10 ± 0,25 ppm CH<sub>4</sub> y 2 ± 0,05 ppm de N<sub>2</sub>O y de bajo nivel con 200 ± 1,00 ppm de CO<sub>2</sub>, 2 ± 0,10 ppm CH<sub>4</sub> y 200 ± 6,00 ppb N<sub>2</sub>O) fueron proporcionados por Carburos Metálicos SA y Air Products SA / NV, respectivamente, y se utiliza para determinar una curva estándar para cada gas. La respuesta de la GC fue lineal dentro 200-1500 ppm para CO<sub>2</sub> y 2-10 ppm CH<sub>4</sub> y cuadrática dentro de 200-2000 ppb para el N<sub>2</sub>O.