

Efecto de la incorporación de leonardita en el nivel de materia orgánica y micronutrientes en un suelo inceptisol dedicado a viña (*Vitis vinifera* L.)

M.A. Olego^{1,*}, J. Cordero², M.J. Quiroga², M. Sánchez-García², J.C. Álvarez¹ y E. Garzón-Jimeno²

¹ RGA Bio-Investigación, SL. Laboratorio 29. Instituto de Recursos Naturales. Universidad de León. Avenida de Portugal, 41, CP 24071. León, España

² Instituto de Investigación de la Viña y el Vino (IIVV). Universidad de León. Avenida de Portugal, 41, CP 24071. León, España

Resumen

La materia orgánica del suelo desempeña un papel clave en las propiedades biológicas, químicas y físicas del suelo. De hecho, estas propiedades son consideradas indicadores críticos de la productividad y calidad del suelo. Uno de los principales objetivos de este trabajo, ha sido evaluar el efecto de la leonardita sobre la materia orgánica del suelo en un Inceptisol dedicado al cultivo de viña (*Vitis vinifera* L.), a través del desarrollo de un modelo predictivo para este parámetro en la superficie de capa arable afectada por la incorporación de la leonardita. Una leonardita (Humita-40[®]) ha sido empleada a dos dosis: 0,5 y 1,0 t ha⁻¹ durante los tres años que duró el estudio. El contenido en materia orgánica del suelo, así como las concentraciones de hierro, manganeso, cobre y zinc han sido monitorizadas en la capa arable del suelo (0-30 cm) durante tres años (2008-2010). Se manifestaron diferencias en los contenidos de materia orgánica del suelo ($P < 0,001$), así como en las concentraciones de hierro ($P < 0,001$), manganeso ($P < 0,001$), cobre ($P < 0,01$) y zinc ($P < 0,05$), si bien todas ellas estuvieron condicionadas por el año de muestreo ($P < 0,05$). Se propone un modelo lineal para el segundo y tercer año de incorporación de la leonardita que predice el contenido de materia orgánica del suelo en la capa arable del suelo calcáreo vitícola afectado por la incorporación de la enmienda. Finalmente, no se hallaron diferencias en la concentración de micronutrientes en hoja ($P > 0,05$) entre las distintas dosis de leonardita aplicadas.

Palabras clave: Calcáreo, limbos, modelo, Tempranillo.

Abstract

Effect of leonardite application on soil organic matter and micronutrient levels in an inceptisol soil cultivated with vine (*Vitis vinifera* L.)

Soil organic matter plays an important role in soil biological, chemical and physical properties. In fact, these properties are considered critical indicators for the quality and productivity of the soil. One of the main aims of this work was to assess the effect of leonardite on soil organic matter in an Inceptisol cultivated with vine (*Vitis vinifera* L.), through the development of a predictive model for such parameter in the topsoil area affected by the organic amendment. One leonardite material (Humita-40[®]) was

* Autor para correspondencia: molem@unileon.es

<http://dx.doi.org/10.12706/itea.2015.014>

used at two doses: 0.5 and 1.0 t ha⁻¹ during three growing seasons. The soil organic matter content as well as iron, manganese, copper and zinc levels were monitored at topsoil (0-30 cm) during three years (2008-2010). There were differences in soil organic matter levels ($P < 0.001$), as well as in iron ($P < 0.001$), manganese ($P < 0.001$), copper ($P < 0.01$) and zinc ($P < 0.05$) levels, but all of them were influenced by year of sampling ($P < 0.05$). A linear model for the second and third year after leonardite incorporation have been proposed to predict the soil organic matter content on the vineyard calcareous topsoil where amendment doses were incorporated. Finally, there were no differences on leaf micronutrient ($P > 0.05$) between the different doses of leonardite applied.

Key words: Calcareous, blades, model, Tempranillo.

Introducción

La materia orgánica del suelo (MOS), es un atributo clave en el concepto de calidad de un suelo de cultivo. Ejerce una clara influencia, bien de forma directa o indirecta, sobre diversas propiedades físicas, químicas y biológicas del medio edáfico, condicionando la productividad del suelo y su resistencia a los procesos de degradación. Dick y Gregorich (2004) han clasificado de la siguiente forma las propiedades edáficas que pueden verse afectadas en función de los niveles de materia orgánica presentes en el suelo: (i) propiedades biológicas (mineralización-inmovilización, estimulación e inhibición de las actividades enzimáticas, estimulación e inhibición del desarrollo vegetal y microbiano, diversidad biológica, reservorio de energía para el metabolismo microbiano y almacén de carbono atmosférico), (ii) propiedades químicas (intercambio catiónico, quelación de metales, solubilidad de las especies químicas en la solución del suelo, poder tampón, degradación de los pesticidas en el suelo) y, (iii) propiedades físicas (formación de agregados, capacidad de retención de agua del suelo, color).

La mayor parte de los suelos minerales contienen un porcentaje en peso de materia orgánica inferior al 5%, pero esta fracción de suelo que en principio puede parecer de poca entidad, presenta una gran importancia biológica (Osman, 2013). Así por ejemplo, los procesos de precipitación inorgánica, particular-

mente aquellos que tienen lugar en suelos con valores elevados de pH, disminuyen en gran medida la solubilidad y biodisponibilidad de gran parte de los micronutrientes. Las enmiendas orgánicas, tienen la capacidad de mejorar la biodisponibilidad de estos micronutrientes en condiciones de basicidad en el medio edáfico, de forma particular en los casos de los nutrientes hierro y zinc (Bohn *et al.*, 2001). De esta forma, el efecto de enmiendas orgánicas como las leonarditas, se muestra más aparente en suelos con bajos contenidos en materia orgánica que en aquellos cuyos niveles en este parámetro de fertilidad son más elevados (Duplessis y Mackenzie, 1983). Las leonarditas, son materiales de color negrozco de origen natural ligados a los procesos de oxidación del lignito (O'Donnel, 1973), a partir de las cuales se obtienen sustancias húmicas. Hasta la fecha, estas potenciales enmiendas orgánicas no han recibido mucha atención científica al respecto de sus efectos sobre las propiedades del suelo y el desarrollo vegetal.

Uno de los principales objetivos de este trabajo ha sido desarrollar un modelo predictivo que explique el porcentaje de materia orgánica del suelo (MOS) como punto de partida para la elaboración de un sistema de recomendación de aporte de leonarditas en suelos calcáreos de viñedo. Adicionalmente, se ha evaluado el efecto del aporte de las leonarditas en la disponibilidad de los micronutrientes hierro (Fe), manganeso (Mn), cobre (Cu) y zinc (Zn) en el suelo enmendado, así como sobre

las concentraciones de estos mismos micronutrientes en los limbos de las plantas de vid. La investigación se llevó a cabo evaluando el efecto de diversas dosis de leonarditas en la capa arable de un Inceptisol dedicado al cultivo de *Vitis vinifera* L. cv. 'Tempranillo'.

Material y métodos

Zona de estudio

Se ha seleccionado un viñedo en explotación comercial localizado a 850 m de altitud en el municipio de Pesquera de Duero (Valladolid, España), con coordenadas geográficas 41° 40' latitud norte y 4° 11' longitud oeste. La evapotranspiración de referencia anual media (FAO Penman-Monteith) es de 1.129 mm, mientras que la precipitación media anual es de 414 mm (estimación realizada para el período 2000-2011) (SIAR, 2012). Atendiendo a la clasificación climática de Köppen-Geiger, se puede definir el clima como Csb (templado, con verano seco y templado), que se caracteriza por la existencia de un período marcadamente seco en verano y con una temperatura media del mes más cálido menor o igual a 22°C, y con cuatro meses o más, con una temperatura media superior a 10°C (AEMET, 2011). El suelo objeto de estudio, corresponde a un Inceptisol, Suborden Xerept, Grupo Calcixerept según Soil Survey Staff (2010).

El viñedo sobre el cual se ha realizado la investigación, presentaba plantas de *Vitis vinifera* L. cv. 'Tempranillo' injertadas sobre patrón 110 Richter que en el inicio de la toma de muestras presentaban 15 años de edad. La distancia entre vides en la línea de plantación era de 1,5 m mientras que la distancia entre líneas era de 3,0 m. Las líneas de plantación mostraban una orientación norte-sur. El sistema de conducción era en espaldera, con 2 brazos por planta y una poda invernal en la que se dejaban 3-4 pulgares de dos yemas

por brazo. Durante los períodos de vegetación de la vid se efectuó como práctica de operación en verde (en el estado fenológico de cuajado), un despunte lateral en el que se retiraban las estructuras vegetativas existentes a 20-25 cm a ambos lados de la línea de plantación. El viñedo no presentaba ningún sistema de riego de apoyo, y ni en el año anterior al comienzo de la toma de datos, ni en aquellos durante los cuales se desarrolló la investigación, se incorporó algún otro tipo de fertilizante o enmienda adicional a la planteada en esta investigación.

Dosis de leonardita y diseño estadístico

Las dosis de leonardita (Humita-40®) empleadas en el ensayo han sido de 0,5 y 1,0 t ha⁻¹. La elección de las dosis de ensayo se ha basado en el desarrollo de un modelo lineal de predicción de la MOS que en su ajuste utilizase un conjunto de dosis cuyo intervalo contuviese las dosificaciones recomendadas por el fabricante. La leonardita se encontraba en estado pulverulento y aunque su incorporación se ha realizado de forma manual, se ha simulado el método habitual de incorporación de la leonardita en la zona del estudio, mediante remolque localizador con dos rejones ubicados en la parte trasera del cajón receptor. Dicho sistema permite localizar la leonardita cerca del sistema radicular de las vides. Para ello se realizó la apertura de un surco, de aproximadamente 15 cm de profundidad, a ambos lados de cada línea de plantación (aproximadamente a 0,5 m de la línea de vides). Una vez incorporadas las dosis correspondientes de leonardita en la base del surco, se ha aportado de nuevo el suelo retirado para cubrir manualmente el surco. La incorporación de las leonardita se ha efectuado con una periodicidad anual en el momento previo al estado fenológico de brotación en el período 2008-2010.

Los tratamientos evaluados fueron 0 (control), 0,5 y 1 tonelada de leonardita por hectárea con 3 repeticiones por tratamiento dando lugar a un total de 9 parcelas experimentales. El diseño experimental fue en bloques al azar, ya que se impuso la premisa de que todas las dosis ensayadas estuvieran representadas en cada una de las líneas (bloques). Cada una de las parcelas constaba de 5 plantas de vid en la línea de plantación, de tal forma que en cada una de las parcelas de una misma línea de plantación se ha dejado 1 planta de guarda con el objeto de evitar el efecto borde. Igualmente, las 9 parcelas se repartieron en 3 líneas de plantación, dejando

entre aquellas líneas de plantación con parcelas del ensayo 1 línea de guarda con el fin de evitar el efecto borde.

Caracterización de la leonardita

La leonardita ensayada (Humita-40®), es un producto completamente natural, mezcla de un 75% de leonarditas ricas en ácidos húmicos, con un 25% de materia orgánica compostada de origen vegetal. La leonardita, en forma de producto sólido, presentaba un aspecto pulverulento con color negruzco, cuya densidad aproximada es de 700 kg m⁻³, mostrándose insoluble en agua. En la Tabla 1 se

Tabla 1. Composición química de la leonardita (Humita-40®)
Table 1. Chemical composition of leonardite (Humita-40®)

	Humita-40®
pH (1:2,5)	4,50
Materia orgánica, %	55,0
Ácidos húmicos, %	30,0
Ácidos fúlvicos, %	10,0
N, %	2,00
P ₂ O ₅ , %	0,30
K ₂ O, %	0,80
CaO, %	3,50
MgO, %	1,80
Conductividad eléctrica (25 °C), dS m ⁻¹	14,6
Fe, %	3,50
Cu, g kg ⁻¹	63,0
Mn, g kg ⁻¹	350
Zn, g kg ⁻¹	200
B, g kg ⁻¹	65,0
Capacidad de intercambio catiónico, cmol(+) kg ⁻¹	96,0
Relación C/N	11,6

indica la composición química de la leonardita ensayada según información proporcionada por el fabricante. Destaca su carácter ácido, lo que puede ser debido a la inclusión de materia vegetal compostada en su composición. Asimismo, se puede observar como presenta una mayor riqueza en ácidos húmicos que en fúlvicos. El contenido de N de la enmienda provendrá principalmente de la fracción fúlvica, pues es un componente con un menor grado de humificación que la fracción húmica.

Muestreo y análisis de suelos y hojas

Al inicio del ensayo se tomaron muestras del suelo de la parte superficial (0-30 cm) realizándose análisis de textura, materia orgánica, pH en agua, conductividad eléctrica ($CE_{1:2,5}$), bases de cambio (calcio, magnesio y potasio), caliza total, fósforo, micronutrientes (hierro, cobre, manganeso y zinc) del suelo objeto de ensayo a la profundidad de estudio (0-30 cm), con el objeto de caracterizarlo desde un punto de vista textural y de su composición química. Después de la adición de la leonardita se realizó un seguimiento de su efecto durante tres años (2008-2010), tanto sobre la MOS, como sobre la disponibilidad de los micronutrientes Fe_5 , Mn_5 , Cu_5 y Zn_5 en el suelo. Este seguimiento se realizó muestreando el suelo con periodicidad anual en el estado fenológico de envero (a mediados de Agosto) a la profundidad de 0-30 cm, en dos puntos de cada parcela correspondientes a la superficie en la cual se había incorporado la leonardita.

Sobre las muestras secas al aire y tamizadas a 2 mm de diámetro se determinaron las clases texturales mediante el método del hidrómetro de Bouyoucos (1962). Se emplearon métodos oficiales de análisis (MAPA, 1993) para la determinación de: (i) MOS (se determinó el carbono orgánico según el método de oxidación húmeda, multiplicándose

el contenido de carbono orgánico por 1,724 para la estimación de la MOS fácilmente oxidable), (ii) pH en una suspensión suelo/agua (pHw) (1:2,5), (iii) conductividad eléctrica (CE) a 25°C en una suspensión suelo:agua (1:2,5), (iv) carbonatos totales y (v) contenidos de cationes intercambiables (Ca, Mg y K) extra-yéndolos con sucesivas alícuotas de acetato amónico (1 N) y posterior determinación mediante espectroscopia de absorción atómica (AA) a excepción del K, cuya determinación se realizó por emisión atómica (EA). Los micronutrientes (Fe, Cu, Mn y Zn), se han extraído de acuerdo al método de Lindsay y Norwell (1978), mediante una solución extractante de ácido dietilentriaminopentaacético (DTPA) (0,005 M) y cloruro cálcico ($CaCl_2$) (0,01 M) tamponada a pH 7,3 y posterior lectura mediante AA. El fósforo (P), se ha determinado mediante extracción con sucesivas alícuotas de bicarbonato sódico, siguiendo el método propuesto por Olsen *et al.* (1954), y posterior determinación mediante espectroscopia molecular de absorción visible.

Para estudiar el efecto de los tratamientos aplicados sobre el cultivo, se determinaron las concentraciones de los micronutrientes en los limbos de las plantas de vid (Fe_L , Mn_L , Cu_L y Zn_L) en el estado fenológico de envero durante los tres años de estudio (2008-2010). El muestreo de hojas se realizó tomando un número aproximado de 20 limbos por parcela, cuya posición en el pámpano era opuesta a los racimos (Fregoni, 2005). Los limbos así muestreados fueron transportados en nevera refrigerada hasta el laboratorio donde se analizó su contenido en micronutrientes. Para ello, las muestras se secaron en estufa a 60°C hasta alcanzar peso constante y se molieron. Una submuestra de 0,5 g fue sometida a un proceso de digestión húmeda con una mezcla ternaria de ácidos (sulfúrico-nítrico-perclórico) (Calleja, 1978) y la determinación se realizó mediante espectrometría de emisión atómica por plasma acoplado inductivamente (ICP-AES).

Tratamiento estadístico de los resultados obtenidos

En un análisis estadístico descriptivo previo al tratamiento estadístico de las muestras de suelo y material vegetal, se ha procedido a contrastar la normalidad de los parámetros estudiados a través del test de Shapiro-Wilk. Los resultados del test de normalidad para el conjunto de datos del período de estudio se mostraron no significativos ($p > 0,05$), indicando la distribución normal de los datos analizados.

Se ha descompuesto la varianza de los parámetros estudiados para seguir el efecto de la leonardita (en el suelo y en la planta) mediante un análisis factorial de la varianza (ANOVA factorial) en varias fuentes de variabilidad procedentes de las siguientes variables independientes: dosis de leonardita con tres niveles (Control, 0,5 y 1,0 t ha⁻¹) y año de tratamiento con tres niveles (2008, 2009 y 2010). Cuando el efecto resultó significativo ($p < 0,05$) sobre alguna de los parámetros analizados en el ANOVA factorial, se realizó una comparación múltiple utilizando la prueba de las diferencias honestamente significativas de Tukey. Con el objeto de estimar mediante un modelo de regresión lineal los niveles del parámetro MOS en función de la dosis de leonardita (D), se ha descompuesto la varianza de la variable dependiente (MOS) en niveles de la variable independiente (D) en un término lineal y otro cuadrático para averiguar la naturaleza del modelo de regresión más adecuada (Webster, 2007). De igual modo que en el caso de los parámetros de fertilidad del suelo, se ha realizado un ANOVA factorial para estudiar la dependencia de las concentraciones de los micronutrientes (Fe_L, Mn_L, Cu_L y Zn_L) en los limbos de las plantas de vid respecto de la dosis aplicada de leonardita (D) y el año de estudio (A). El tratamiento estadístico de la información ha sido llevado a cabo empleando los procedimientos disponibles en R Core Team (2013).

Resultados

Caracterización inicial del suelo de estudio

La Tabla 2 muestra los principales datos físico-químicos del suelo (0-30 cm) antes de comenzar el estudio. Resultan especialmente reseñables las bajas concentraciones de los micronutrientes (Fe, Mn, Cu y Zn) así como el elevado pH. De igual modo, es reseñable destacar el bajo contenido en materia orgánica, así como el valor moderado de carbonatos en estos primeros 30 cm.

Parámetros de fertilidad del suelo

Los resultados del test de normalidad (tanto para el conjunto de datos del período de estudio como para cada año de forma individual), se mostraron no significativos ($P > 0,05$) en todos los parámetros de suelo. Se ha realizado un ANOVA factorial para estudiar el efecto de la dosis de leonardita sobre las variables MOS, Fe_s, Mn_s, Cu_s y Zn_s durante los tres años que duró el experimento. Los resultados del mismo se presentan en la Tabla 3. En los resultados del ANOVA factorial se puede observar como ejercen una influencia significativa sobre todos los parámetros de fertilidad monitoreados tanto la dosis de leonardita (D), como el año de seguimiento (A). Sin embargo, la interacción entre los factores dosis y año de aplicación solamente fue significativa en el caso de la variable Fe_s, indicando que el efecto de las dosis de leonardita sobre el contenido de hierro en el suelo varió de forma diferente dependiendo del año en el cual se realizó el tratamiento. En base a los resultados proporcionados por el ANOVA factorial, el efecto de cada dosis de leonardita sobre los parámetros de fertilidad del suelo ha sido estudiado para cada año de forma independiente. De esta forma, se ha procedido a realizar los tests de comparación múltiple al 95% de confianza en función de la dosis de leonardita para cada uno de los años de seguimiento (Figura 1).

Tabla 2. Características principales y datos analíticos del suelo en el inicio de la investigación a la profundidad de 0-30 cm
 Table 2. Baseline soil characteristics and analytical data in the beginning of the research for depth of 0-30 cm

	Profundidad (0-30 cm)
Arena, %	23,1
Limo, %	49,8
Arcilla%	27,1
Clase textural (USDA)	Franco arcillosa
pHw	8,29
conductividad eléctrica, dS m ⁻¹	0,16
Materia orgánica, %	1,09
Carbonatos, %	34,8
P, mg kg ⁻¹	7,77
Ca, cmol(+) kg ⁻¹	30,5
Mg, cmol(+) kg ⁻¹	1,57
K, cmol(+) kg ⁻¹	0,38
Fe, mg kg ⁻¹	1,43
Mn, mg kg ⁻¹	3,86
Cu, mg kg ⁻¹	0,40
Zn, mg kg ⁻¹	0,25

Los tests de comparación múltiple revelaron que la aplicación de leonardita incrementó los niveles de MOS ($P < 0,05$) y Fe_5 ($P < 0,05$) para la dosis de $1,0 \text{ t ha}^{-1}$ con respecto al control, durante los años 2009 y 2010. En el caso de los parámetros Mn_5 , Cu_5 y Zn_5 , esta misma dosis provocó un incremento de las concentraciones en el suelo con respecto al control en los años 2009 para el caso del nutriente Mn_5 ($P < 0,05$), y en el año 2010 para el caso de los nutrientes Cu_5 ($P < 0,05$) y Zn_5 ($P < 0,05$). Por su parte, la dosis de $0,5 \text{ t ha}^{-1}$ incrementó únicamente los niveles de los parámetros MOS ($P < 0,05$), Fe_5 ($P < 0,05$) y Cu_5 ($P < 0,05$) con respecto al control, en los años

2009, 2009-10 y 2008 respectivamente. Finalmente, a excepción del parámetro Cu_5 en el año 2008, en ningún otro año de estudio se presentaron diferencias ($P > 0,05$) entre las dosis $0,5$ y $1,0 \text{ t ha}^{-1}$ en los niveles de los parámetros de fertilidad del suelo estudiados.

Finalmente, se investigó la relación existente entre el incremento de la MOS y el nivel de disponibilidad de los distintos micronutrientes (Fe_5 , Mn_5 , Cu_5 y Zn_5) analizados (Figura 2), pues todos ellos mostraron incrementos en sus niveles de disponibilidad en el suelo como consecuencia de la aplicación de la leonardita en algún momento del seguimiento efectuado

Tabla 3. Análisis factorial de la varianza desarrollado sobre los parámetros de fertilidad del suelo (MOS, Fe_s, Mn_s, Cu_s y Zn_s)

Table 3. Factorial analysis of variance performed on soil fertility parameters (SOM, Fe_s, Mn_s, Cu_s and Zn_s)

	Grados de libertad	F	P-valor
Materia Orgánica			
Dosis	2	13,3	***
Año	2	3,54	*
Dosis x Año	4	1,15	0,37
Fe_s			
Dosis	2	22,5	***
Año	2	20,0	***
Dosis x Año	4	4,21	*
Mn_s			
Dosis	2	12,5	***
Año	2	17,1	***
Dosis x Año	4	0,86	0,51
Cu_s			
Dosis	2	8,01	**
Año	2	41,0	***
Dosis x Año	4	2,39	0,09
Zn_s			
Dosis	2	4,80	*
Año	2	14,5	***
Dosis x Año	4	2,74	0,06

(P<0,05). Existió correlación entre MOS y Fe_s (r = 0,68; P<0,05) y entre MOS y Mn_s (r = 0,75; P<0,05) en la dosis de leonardita de 1,0 t ha⁻¹, así como entre MOS y Cu_s (r = -0,74; P<0,05) en el tratamiento control.

Elaboración del modelo predictivo del nivel de materia orgánica del suelo

En base a los resultados del ANOVA factorial realizado para estudiar la dependencia de los parámetros edáficos monitoreados en los que se mostró la influencia significativa sobre el parámetro MOS de los factores dosis (D) y

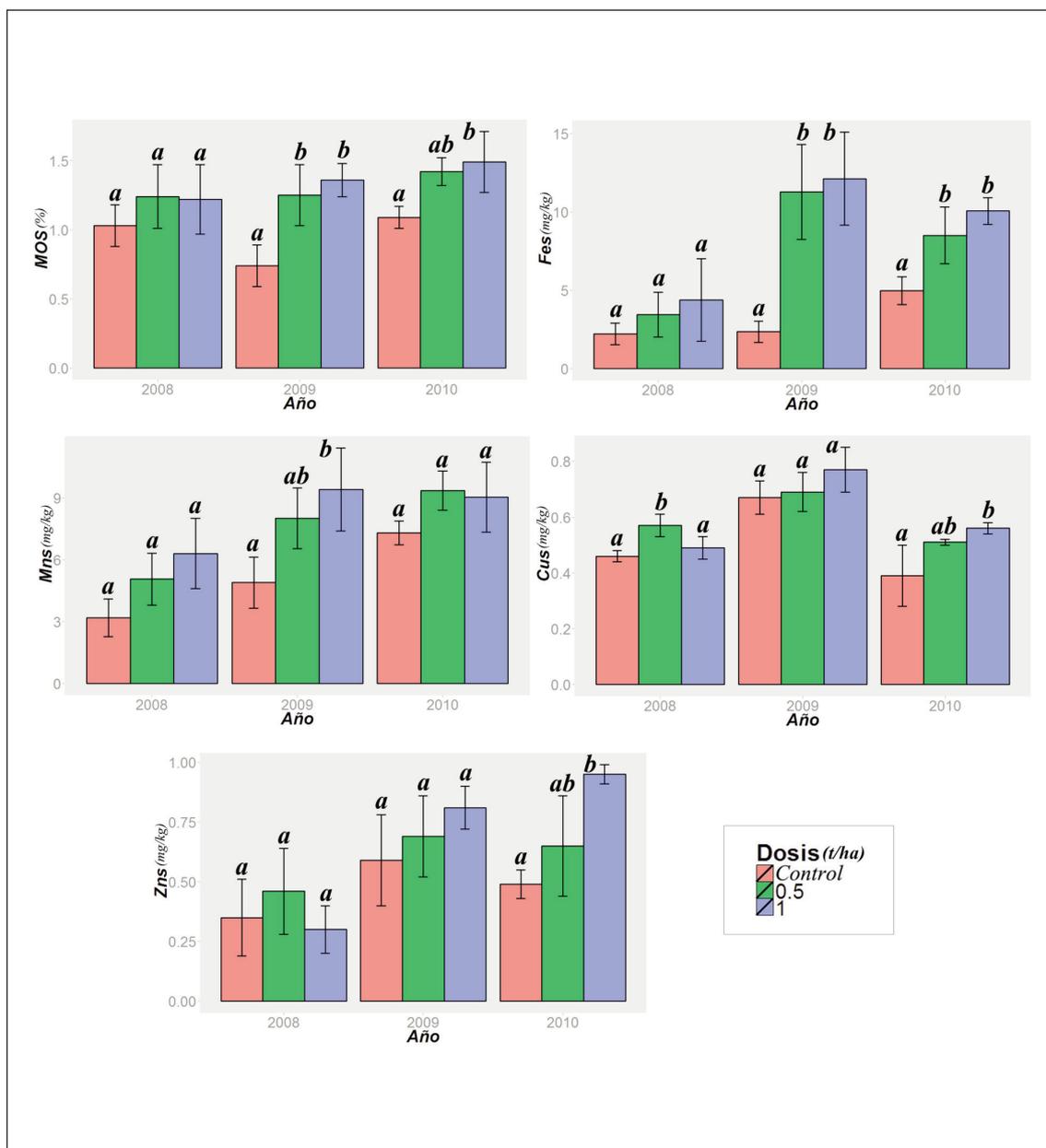


Figura 1. Valores medios de las variables materia orgánica (MOS) y micronutrientes (Fes, Mns, Cus, Zns) en el suelo en los tres tratamientos de leonardita evaluados (Control, 0,5 t/ha, 1 t/ha) y durante los 3 años del estudio (2008-2010). Para cada año y variable, barras con la misma letra indica diferencias no significativas ($P > 0,05$).

Figure 1. Averaged values of soil organic matter (MOS) and micronutrients (Fes, Mns, Cus, Zns) in soil at three evaluated leonardite treatments (Control, 0,5 t/ha, 1 t/ha) during the seasons (2008-2010).

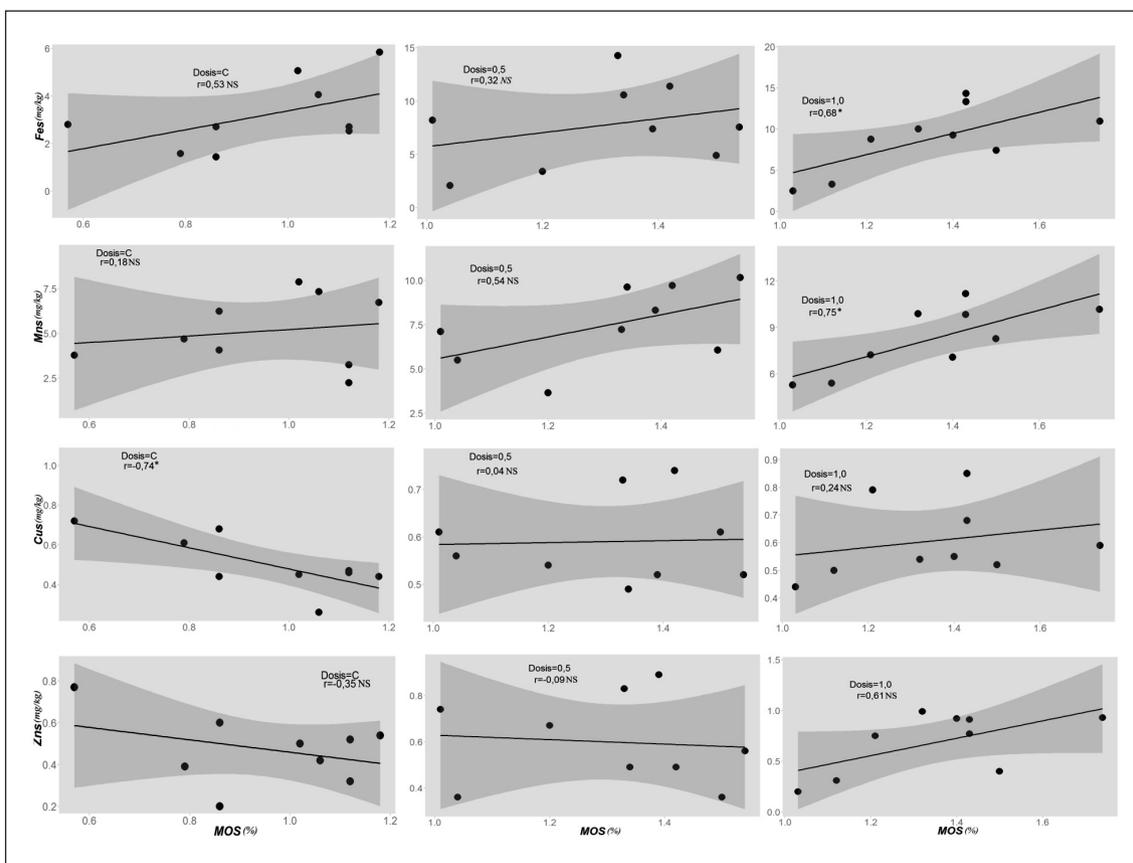


Figura 2. Relación entre la Materia orgánica del suelo (MOS) y la disponibilidad de los micronutrientes (Fe_s , Mn_s , Cu_s y Zn_s) en función de la dosis de leonardita en el estado fenológico de envero (2008–2010). Se muestran las regiones de ajuste al 95% de confianza.

Dosis (C = Control; 0,5 t/ha; 1,0 t/ha); r: coeficiente de correlación lineal.

Figure 2. Relationship between soil organic matter (SOM) and micronutrient availability (Fe_s , Mn_s , Cu_s and Zn_s) by leonardite dose at veraison stage (2008–2010).

año (A), se ha desarrollado un modelo predictivo para cada uno de los años de seguimiento, ya que parece observarse la existencia de un efecto acumulado. Los resultados, se muestran en la Tabla 4.

La dosis de leonardita incrementó la MOS ($P < 0,05$), en los años de muestreo 2009 y 2010, pero no en 2008 ($P = 0,47$). Por ello, se desarrolló el modelo predictivo únicamente para los años de muestreo 2009 y 2010. La adición

de un término de orden cuadrático al modelo lineal (Tabla 4) no fue significativa en ninguno de los años estudiados, por lo que se utilizó un modelo lineal para predecir el nivel de materia orgánica del suelo en función de la dosis de leonardita aplicada para los años 2009 y 2010 (Figura 3). En los modelos de regresión lineales propuestos para el parámetro MOS, la dosis de leonardita explicó un 69% y un 58% de la variabilidad de los valores de MOS en los años 2009 y 2010 respectivamente.

Tabla 4. Análisis de la varianza del parámetro materia orgánica del suelo (MOS) en respuesta a la aplicación de tres dosis de leonarditas durante un período de tres años (2008-2010)

Table 4. Analysis of variance for the parameter soil organic matter (SOM) in response to three levels of leonardite dose after three years (2008-2010)

	Año 2008			Año 2009		Año 2010	
	gl ¹	F	P-valor	F	P-valor	F	P-valor
Dosis de leonardita	2	0,86	0,47	11,5	***	6,16	**
Regresión lineal	1	1,09	0,34	20,0	**	10,7	*
Regresión cuadrática	1	0,64	0,46	2,95	0,14	1,66	0,25
Residual	6						
Total	8						

¹gl (grados de libertad).

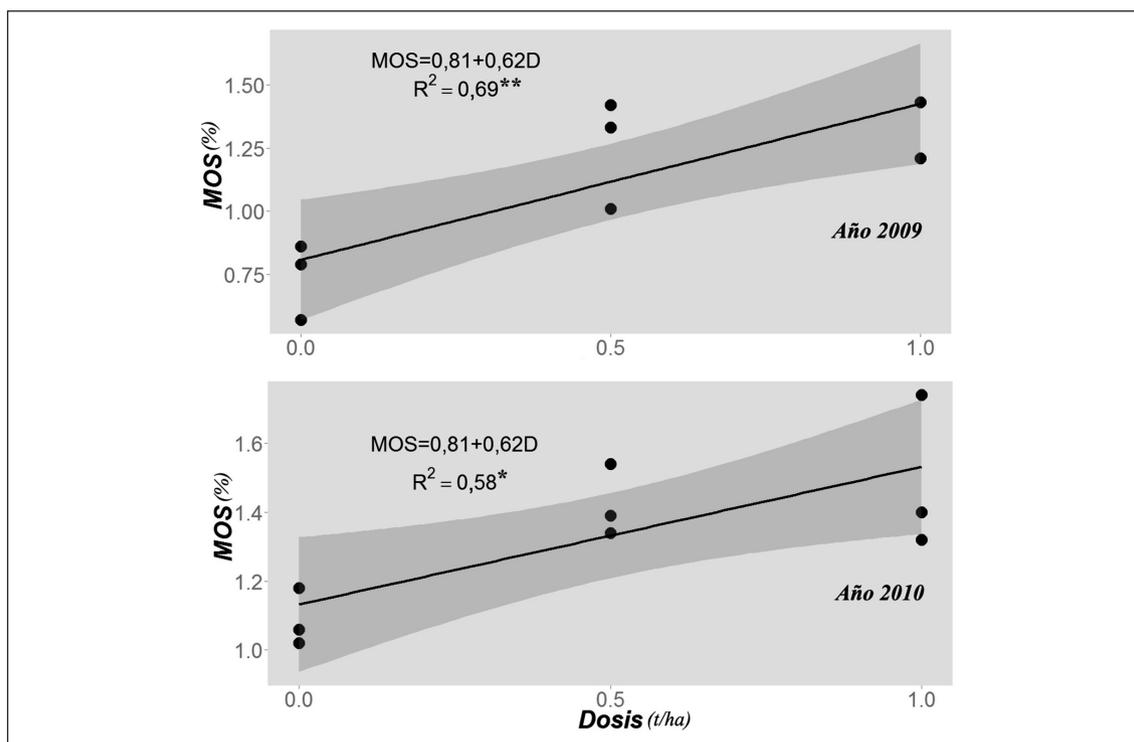


Figura 3. Modelos lineales para la predicción de la materia orgánica del suelo (MOS) en función de la dosis de leonardita (D) por año de muestreo.

Se muestran las regiones de ajuste al 95% de confianza.

Figure 3. Linear models for prediction of soil organic matter (SOM) depending on the leonardite dose (D) by sampling year.

Niveles nutricionales en limbos

La significación de los efectos de la dosis aplicada de leonardita y el año de estudio sobre los micronutrientes en el limbo se pueden observar en la Tabla 5. La interacción entre la dosis aplicada de leonardita y el año de estudio no fue significativa para ninguno de los micronutrientes estudiados ($P > 0,05$). La dosis de leonardita no ejerce una influencia sobre los micronutrientes estudiados ($P > 0,05$),

mientras que el año de estudio únicamente ha mostrado una influencia significativa sobre los micronutrientes Fe_L ($P < 0,001$) y Mn_L ($P < 0,001$). En la tabla 6 se muestran los valores medios y las desviaciones estándar de los micronutrientes monitorizados en limbos de vid en el estado fenológico de envero, observándose que la dosis de leonardita no tuvo influencia en la acumulación de micronutrientes en las hojas ($P > 0,05$).

Tabla 5. Análisis factorial de la varianza desarrollado sobre los niveles nutricionales en limbos (Fe_L , Mn_L , Cu_L y Zn_L)
Table 5. Factorial analysis of variance performed on leaf blade nutritional levels (Fe_L , Mn_L , Cu_L and Zn_L)

	Grados de libertad	F	P-valor
Fe_L			
Dosis	2	2,37	0,12
Año	2	21,0	0,001
Dosis × Año	4	0,80	0,54
Mn_L			
Dosis	2	0,84	0,45
Año	2	19,9	0,001
Dosis × Año	4	0,74	0,58
Cu_L			
Dosis	2	1,27	0,31
Año	2	1,18	0,33
Dosis × Año	4	0,74	0,58
Zn_L			
Dosis	2	0,62	0,55
Año	2	3,08	0,07
Dosis × Año	4	1,83	0,17

Tabla 6. Contenido medio (\pm desviación estándar) de micronutrientes (Fe_L , Mn_L , Cu_L y Zn_L) en limbos de hojas en el estado fenológico de envero (2008-2010)

Table 6. Average content (\pm standard deviation) of micronutrients (Fe_L , Mn_L , Cu_L and Zn_L) in blade-leaves during the veraison stage (2008-2010)

	Dosis, t ha ⁻¹		
	0	0,5	1,0
Fe_L , mg kg ⁻¹	93,3 \pm 40,5	96,3 \pm 31,8	122 \pm 68,6
Mn_L , mg kg ⁻¹	91,3 \pm 40,8	84,4 \pm 28,2	78,9 \pm 26,6
Cu_L , mg kg ⁻¹	3,04 \pm 1,12	4,00 \pm 0,99	4,02 \pm 2,02
Zn_L , mg kg ⁻¹	17,9 \pm 11,7	14,5 \pm 4,42	18,2 \pm 9,43

Discusión

Toda vez que el aporte de leonardita ha supuesto la incorporación de ácidos húmicos de forma predominante, el hecho de que la disponibilidad del nutriente Fe se haya visto incrementada de forma significativa (años 2009 y 2010), muestra consistencia con los trabajos realizados por Gamble (1986; citado por Kabata-Pendias y Pendias, 2001). Este investigador indicó que el metal Fe mostraba una mayor afinidad de sorción por los ácidos húmicos en comparación con los metales Mn, Cu y Zn. Esta mayor afinidad de sorción podría posibilitar una menor precipitación del Fe en las condiciones calcáreas del ensayo, cuestión de gran interés frente a los problemas de nutrición férrica de la vid en condiciones con elevadas concentraciones de iones bicarbonato en la solución del suelo (clorosis férrica). De forma adicional, Tagliavini y Rombolà (2011) han indicado que el efecto beneficioso ejercido por la incorporación de enmiendas orgánicas frente a potenciales problemas de clorosis férrica en las vides se encuentra también relacionado con el efecto estimulante que los componentes orgánicos ejercen sobre la actividad microbiana.

La formación de complejos que incrementan la disponibilidad del nutriente Fe a con-

secuencia de su asociación con los agentes quelantes de la materia orgánica (Cesco et al., 2000), es una estrategia de manejo que ha sido ampliamente difundida en los suelos de cultivo con condiciones calcáreas. Sin embargo, la mayor disponibilidad de este nutriente en el suelo no se ha visto reflejada en un incremento de sus concentraciones en los limbos de la vid. No obstante, en suelos calcáreos como en el que se ha desarrollado el presente estudio la concentración de Fe total en hojas de vid no es un indicador óptimo de la eficiencia de un tratamiento frente a la clorosis férrica, de tal forma que sería recomendable implementar la evaluación de parámetros foliares adicionales como la medición de niveles periódicos de clorofila o el contenido de Fe en forma activa (aquellas formas solubles que poseen la facultad de intervenir en la formación de la clorofila).

Aunque un elevado contenido en MOS puede provocar en los cultivos estados carenciales de Mn (particularmente en aquellos suelos con un pH próximo a la neutralidad) (Allison, 1973), en el presente estudio el incremento de MOS a consecuencia de la aplicación de la leonardita ha derivado en una mayor disponibilidad del Mn en el suelo, si bien este aumento de disponibilidad con respecto al control sólo se ha mostrado durante

el año 2009 y para la dosis de 1 t ha^{-1} . Lo anterior indica que aunque la MOS adsorbe tanto el Mn naturalmente disponible en el suelo como aquel aportado en forma de enmiendas o fertilizantes, los niveles de MOS alcanzados a consecuencia de la aplicación de las dosis de leonardita ensayadas en esta investigación no han sido tan elevadas como para promover una disminución de la disponibilidad del Mn en el medio edáfico. De hecho, tanto en el caso del nutriente Mn como en el caso del nutriente Fe, los mayores niveles de disponibilidad en suelo se presentaron de forma predominante para la dosis de leonardita ensayada más elevada ($1,0 \text{ t ha}^{-1}$).

Si bien es cierto que tanto los niveles de MOS como la disponibilidad de los nutrientes Fe y Mn en el medio edáfico se han visto incrementados (no siempre de forma significativa) como consecuencia de la incorporación de la leonardita, cabe destacar que a pesar de que la incorporación de esta enmienda se ha realizado con regularidad anual, los citados incrementos sólo se han manifestado a partir del segundo año de muestreo (Figura 1). Este hecho da lugar a que en futuras actuaciones podría resultar de interés evaluar una aportación inicial única de leonardita y estudiar su estabilidad en el medio edáfico siguiendo su evolución en el tiempo. Todo ello podría provocar cambios en la recomendación de las dosis de leonardita a incorporar en las condiciones locales de suelos de viñedo calcáreos.

El efecto de la incorporación de la leonardita sobre la disponibilidad de los micronutrientes Cu_5 y Zn_5 en el medio edáfico no parece ser tan evidente como en el caso de los micronutriente Fe_5 y Mn_5 (especialmente en el caso del Cu_5). Esta circunstancia podría ser explicada, en parte, debido a que ambos micronutrientes (Cu_5 y Zn_5) muestran una gran capacidad de complejación orgánica. Esta capacidad ha sido evidenciada de manera especial entre el micronutriente Cu_5 y los ácidos húmicos (Logan et al., 1997), que en el caso

de la leonardita ensayada constituyen una proporción importante de su materia seca (30%). Este hecho evidenciaría que la complejación orgánica de ambos micronutrientes (Cu_5 y Zn_5) presenta importantes implicaciones en el gobierno de la disponibilidad en el medio edáfico de ambos micronutrientes. El aumento de los niveles de MOS a causa del empleo de la leonardita, también podría mostrar mucha importancia en la movilidad del micronutriente Zn_5 , pues se ha demostrado que en regímenes de pH como los mostrados por el suelo de la presente investigación, tal movilidad puede verse muy influenciada por la intensa capacidad de adsorción del micronutriente Zn_5 por la MOS (Peganova y Edler, 2004).

No obstante, parece observarse, de forma general, un efecto acumulativo de la leonardita sobre la MOS y sobre las formas disponibles de los micronutrientes. Es muy probable que esta circunstancia se encuentre condicionada por la incorporación anual de las dosis de leonardita y por la fracción húmica de su composición, la cual proporciona a las enmiendas orgánicas un efecto más estable en el tiempo que la fracción lábil a causa de la mayor dificultad para ser metabolizada por los microorganismos del suelo (Lejon et al., 2007).

En los modelos predictivos lineales propuestos para el parámetro MOS, el coeficiente de determinación R^2 ha resultado ser modesto a causa de la dispersión de los datos del parámetro MOS para cada dosis de leonardita. De esta forma, en los modelos propuestos la dosis de leonardita ha podido explicar un 69 y un 58% de la variabilidad de los valores de MOS en el año 2009 y 2010 respectivamente. Esto indica la variabilidad inherente de los estudios llevados en condiciones de campo frente a la posible obtención de datos más homogéneos en condiciones de laboratorio. La variabilidad mostrada por el modelo predictivo y el hecho de que el aporte anual de

la leonardita haya mostrado un potencial efecto acumulativo, hace recomendable la realización de futuros ensayos en otros suelos de naturaleza calcárea que validen los modelos propuestos en esta investigación. Igualmente, las posibles variaciones en el sistema de incorporación de la leonardita al medio edáfico (como por ejemplo la realización de una distribución de la enmienda que afecte a toda la superficie de las calles del viñedo), podrían ocasionar diferencias apreciables tanto en el ajuste de los modelos predictivos para el parámetro MOS propuestos, como en los resultados obtenidos en los niveles de disponibilidad de los micronutrientes investigados en el presente trabajo (Fe_s , Mn_s , Cu_s y Zn_s).

El mayor nivel de disponibilidad de los micronutrientes estudiados en el suelo de viñedo debido a la aplicación de leonardita, no se ha reflejado en un aumento de niveles de dichos nutrientes en las hojas de plantas de vid próximas a la zona donde se realizó la aplicación. De hecho, las concentraciones en limbos en alguno de los nutrientes monitorizados (Mn_L y Zn_L) no han mostrado valores más bajos en los controles que en aquellas en parcelas las cuales se incorporó la leonardita (Tabla 6). Esta circunstancia pone de manifiesto que si bien la disponibilidad de nutrientes en el medio edáfico constituye un hecho de primer orden en la absorción de estos por parte de las vides, los procesos de acumulación de los nutrientes absorbidos en los tejidos leñosos podría explicar la falta de respuesta en los tejidos foliares a la aplicación de las diferentes dosis de leonardita. No obstante, la zona de consumo de lujo en los micronutrientes es más estrecha que en el caso de los macronutrientes (Correndo y García, 2012), de tal forma que cualquier acción encaminada a incrementar la dosis de leonardita con el objeto de buscar una relación directa en el incremento de niveles nutricionales tanto en suelo como en limbos, puede llegar a presentar potenciales desequilibrios nutricionales no deseados.

En cuanto a las limitaciones del estudio, en el presente trabajo de investigación se ha de valorar con cautela la generalización de los resultados expuestos debido, en primer lugar, a la variabilidad espacial inherente del propio medio edáfico, y en segundo lugar, tanto a la metodología de incorporación de la leonardita como al procedimiento de obtención de las muestras de suelo a lo largo del período de investigación. Por ello, los resultados obtenidos tanto para el modelo predictivo del parámetro MOS, como para los niveles de disponibilidad de los micronutrientes (Fe_s , Mn_s , Cu_s y Zn_s) en la capa arable del medio edáfico deben de restringirse a la zona de muestreo.

Conclusiones

La leonardita se ha mostrado como una enmienda efectiva para conseguir un incremento del nivel de materia orgánica en la zona próxima a las raíces de las viñas en suelos calcáreos. De forma adicional, la leonardita ensayada ha mostrado el valor añadido de evitar la precipitación de las formas disponibles del hierro en suelos calcáreos, provocando un incremento de la disponibilidad de este nutriente para la vid, lo que puede resultar de utilidad para evitar problemas por clorosis férrica, desorden nutricional con gran prevalencia en este tipo de suelos, y que limita el potencial productivo del viñedo.

La presente investigación se ha desarrollado mediante la incorporación de la leonardita de forma periódica, anual y localizada. En futuras investigaciones podría resultar de interés estudiar la evolución de los parámetros de fertilidad abordados en el presente trabajo de investigación realizando modificaciones tanto en la temporalidad del aporte de las dosis a ensayar mediante la realización de un único aporte, como en el procedimiento de la incorporación de la leonardita al medio edáfico, de tal forma que la superficie de suelo

cubierta por la leonardita pueda modificarse en función del marco de plantación de la vid, el cual condicionará la distribución del sistema radicular de las plantas.

Agradecimientos

A SEPHU S.A. por el suministro de la leonardita (Humita-40®), y a Bodegas Emilio Moro S.L. por la cesión del viñedo en el cual se llevó a cabo el ensayo.

Bibliografía

- AEMET (2011). Atlas climático ibérico. Agencia Estatal de Meteorología. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, Madrid, España. 79 p.
- Allison (1973). Soil organic matter and its role in crop production. Elsevier Scientific Publishing, Amsterdam, Holanda. 637 p.
- Bohn H, McNeal BL, O'Connor GA (2001). Soil Chemistry, 3th. Ed. John Wiley & Sons, Nueva York, EE.UU. 307 p.
- Bouyoucos GJ (1962). Hydrometer method improved for making particle size analyses of soils. *Agronomy Journal* 54: 464-465.
- Calleja A (1978). La mineralización de muestras vegetales para el análisis de minerales por espectrofotometría y colorimetría. *Anales de la Facultad de Veterinaria de León* 24: 175-177.
- Cesco S, Römheld V, Varanini Z, Pinton R (2000). Solubilization of iron by water-extractable humic substances. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 163: 285-290.
- Collins JF, Buol SW (1970). Patterns of iron and manganese precipitation under specified Eh-pH conditions. *Soil Science* 110: 157-162.
- Correndo AA, García FO (2012). Concentración de nutrientes en planta como herramienta de diagnóstico: cultivos extensivos. *Archivo Agronómico* Marzo: 1-8.
- Dick WA, Gregorich EG (2004). Developing and maintaining soil organic matter levels. En: *Managing soil quality. Challenges in modern agriculture* (Ed. Schjønning P, Elmholt S, Christensen BT). CABI Publishing, Wallingford, Oxon, Reino Unido. 344 p.
- Duplessis G L, Mackenzie A F (1983). Effects of leonardite applications on phosphorus availability and corn growth. *Canadian Journal of Soil Science* 63: 749-751.
- Fregoni M (2005). *Viticultura di qualità. Tecniche Nuove*, Milano, Italia. 819 p.
- IDEE (2012). Infraestructura de Datos Espaciales de España. Consejo Superior Geográfico, Ministerio de Fomento. Disponible en <http://www.ideo.es/> (30 junio 2012).
- Kabata-Pendias A, Pendias H (2001). *Trace elements in soils and plants*, 3th. Ed. CRC Press, Boca Raton, Florida, EE.UU. 432 p.
- Lejon DPH, Sebastia J, Lamy I, Chaussod R, Ranjard L (2007). Relationships between soil organic status and microbial community density and genetic structure in two agricultural soils submitted to various types of organic management. *Microbial Ecology* 53: 650-663.
- Lindsay WL, Norvell WA (1978). Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper. *Soil Science Society of America Journal* 42: 421-428.
- Logan EM, Pulford ID, Cook GT, Mackenzie AB (1997). Complexation of Cu²⁺ and Pb²⁺ by peat and humic acid. *Eurasian Journal of Soil Science* 48: 685-696.
- MAPA (1993). *Métodos oficiales de análisis*, tomo III. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid, España. 662 p.
- O'Donnel RW (1973). The auxin-like effects of humic preparations from leonardite. *Soil Science* 116: 106-112.
- Olsen SR, Cole CV, Watanabe FS, Dean LA (1954). Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. U.S.D.A. Circular 939.

- Osman KT (2013). Soils. Principles, properties and management. Springer, Dordrecht, Holanda. 271 p.
- Peganova S, Edler K (2004). Zinc. En: Elements and their compounds in the environment, 2nd. Ed. (Eds. Merian E, Anke M, Ihnat M, Stoeppler M). Wiley-VCH, Weinheim, Alemania. 1773 p.
- R Core Team (2013). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponible en <http://www.R-project.org/> (1 enero 2013).
- SIAR (2012). Sistema de Información Agroclimática para el Regadío. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Disponible en <http://www.magrama.gob.es/siar/> (31 julio 2012).
- Soil Survey Staff (2010). Claves para la taxonomía de suelos, 11ª Ed. USDA-Natural Resources Conservation Service, Washington DC, EE. UU. 365 p.
- Tagliavini M, Rombolà A D (2001). Iron deficiency and chlorosis in orchard and vineyard ecosystems. *European Journal of Agronomy* 15: 71-92.
- Webster R (2007). Analysis of variance, inference, multiple comparisons and sampling effects in soil research. *European Journal of Soil Science* 58: 74-82.
- (Aceptado para publicación el 21 de noviembre de 2014)