

Protocols for feasibility study of using saline reclaimed water combined with deficit irrigation strategies in citrus

C. Romero-Trigueros, P.A. Nortes, E. Nicolás

⁽¹⁾ Departamento de Riego. Centro de Edafología y Biología Aplicada al Segura (CEBAS-CSIC). Campus Universitario de Espinardo, 30100. Espinardo, Murcia (España). cromero@cebas.csic.es

Resumen

Se presenta un protocolo experimental diseñado para evaluar la respuesta agronómica y fisiológica de los cítricos al riego deficitario controlado (RDC) con aguas regeneradas (AR). Para ello se van a evaluar sus efectos sobre la planta (fisiología, producción, calidad y seguridad de la cosecha) y el medio ambiente (acumulación de sales y disponibilidad de nutrientes), además de analizar, desde un punto de vista integral, su sostenibilidad a medio-largo plazo. Los ensayos se están realizando en una finca comercial de cítricos, ubicada al noreste de la Región de Murcia. La parcela experimental de 1 ha está cultivada con árboles de pomelo 'Star Ruby' (*Citrus paradisi* Macf) de 10 años de edad y árboles de mandarino (*Citrus clementina* cv. Orogrande) de 16 años de edad. Los objetivos del estudio son: i) evaluar la viabilidad de utilización de las AR en cultivos de cítricos, analizando su influencia en el crecimiento y producción, así como, en la calidad y seguridad de las cosechas obtenidas, ii) profundizar en el conocimiento de la respuesta de los cítricos al riego deficitario controlado (RDC), prestando especial atención a un aspecto novedoso en la aplicación de estas estrategias como es el riego con aguas de baja calidad y iii) determinar la eficiencia del uso del agua (EUA) a nivel de planta y sus patrones de extracción en función de los recursos hídricos utilizados y la eficiencia del uso del nitrógeno (EUN) para un manejo óptimo de la fertirrigación mediante técnicas de determinación de isótopos estables (¹³C, ¹⁸O y ¹⁵N).

Palabras clave: Intercambio gaseoso; isótopo estable; mandarino; pomelo; relaciones hídricas.

Abstract

We present an experimental protocol aiming to assess the agronomic and physiological response of citrus to deficit irrigation (RDI) with reclaimed water (RW). It focuses on the impact of RW use on both the plant (physiology, production, quality and safety of the harvest) and the environment (accumulation of salts and nutrient availability), and analyzing, from a holistic point of view, sustainability in the medium to long term. The trials are being conducted in a commercial citrus farm, located northeast of the Region of Murcia. The experimental plot of 1 ha is cultivated with grapefruit trees 'Star Ruby' (*Citrus paradisi* Macf) 8 years of age and mandarin trees (*Citrus clementine* cv. Orogrande) 14 years of age. The objectives are: i) the use of RW in citrus crops and its influence on the growth and production as well as in the quality and safety of crops, ii) deepen the knowledge of Citrus response to deficit irrigation (RDI), paying particular attention to the implementation of these strategies using low quality water and iii) determine the efficiency of water use (WUE) at tree scale and extraction patterns depending on water resources used and nitrogen use efficiency (NUE) for optimal management of fertilizer application to crop, both through techniques of determination of stable isotopes (¹³C, ¹⁸O and ¹⁵N).

Keywords: gas exchange; grapefruit; mandarin; stable isotope; water relations.

1. Introducción

El cítrico es uno de los cultivos leñosos más importantes del mundo, a nivel comercial, incluyendo la zona semiárida mediterránea del sureste español [1]. En esta región, el agua de riego no está siempre disponible dada la escasez de la misma y los cultivos sufren habituales periodos de sequía, principalmente en verano. Por ello, el uso de fuentes de agua no convencionales como son las aguas regeneradas (AR) salinas sería una alternativa, ya que su volumen se está incrementando en los últimos años en España (368 hm³ por año). Dichas AR

tienen ventajas agronómicas como el posible aprovechamiento de sus macronutrientes (N, P, K) como fertilizantes, pero también puede conllevar riesgos, como la salinización secundaria y la degradación del suelo, que dan lugar a impactos negativos en la fisiología de la planta y, por tanto, en el rendimiento [2]. En este sentido, es conocido que los cítricos son sensibles a la salinidad y al déficit hídrico. Los efectos fisiológicos de estos estreses son, entre otros, reducción de la conductancia estomática, g_s [3], la tasa de transpiración, T_r , y la asimilación neta de CO₂, A. La exposición de las plantas a las sales

puede afectar a su metabolismo de dos formas: i) mediante una acumulación de niveles tóxicos de Cl^- y Na^+ en las hojas cuando no hay compartimentación de estos iones en la vacuola y ii) mediante un efecto osmótico, mecanismo que las plantas usan para mantener la turgencia de la hoja sin que haya un importante cierre estomático [4]. Entre los factores ambientales que afectan a la apertura estomática, la disponibilidad de agua en el suelo y el déficit de presión de vapor (DPV) predominan en condiciones de sequía [5].

Por otro lado, la medida de isótopos estables, que integra un periodo de tiempo más amplio, puede ser capaz de explicar adecuadamente los cambios acontecidos en las medidas de intercambio gaseoso. Así, los modelos que explican el enriquecimiento en $\delta^{18}\text{O}$ en la biomasa foliar prevén que disminuya con el aumento de la conductancia estomática, independientemente de la evidencia experimental [6]. En el caso del análisis del isótopo estable $\delta^{13}\text{C}$, éste está íntimamente ligado con la eficiencia del uso del agua en la hoja durante todo el período de formación de la misma. Por tanto, los factores de estrés abiótico como la luz, el agua, la salinidad, etc., van a afectar a la fracción del $\delta^{13}\text{C}$ en la planta. El análisis del isótopo estable $\delta^{15}\text{N}$ nos indica el grado de eficiencia en el uso del nitrógeno de los sistemas agrarios y, además, se puede relacionar positivamente con pérdidas de N, lixiviación y desnitrificación del suelo [7], ya que cuanto mayor es la concentración de $\delta^{15}\text{N}$, más ineficiente es el sistema [8].

El comportamiento del portainjerto frente al déficit hídrico o a la salinidad ha sido descrito en varios trabajos [1], sin embargo, no existen estudios que combinen ambos estreses en condiciones de campo y AR salina a largo plazo. El objetivo principal de este trabajo es evaluar el efecto combinado de ambos estreses abióticos sobre la fisiología de la planta (estado hídrico, intercambio gaseoso, producción, calidad de la cosecha, etc.) y el medio ambiente (acumulación de sales y disponibilidad de nutrientes) de dos de los portainjertos más utilizados en el área Mediterránea: *Citrus Macrophylla* y *Carrizo Citrange*.

2. Materiales y Métodos

El ensayo se está realizando en una finca comercial de pomelo (*Citrus paradisi* L. cv 'Star Ruby' sobre patrón *Citrus Macrophylla* de 10 años de edad con marco de plantación de 6 x 4 m) y mandarino (*Citrus clementina* cv.

'Orogrande' sobre patrón Carrizo citrange - *Citrus sinensis* [L.] Osb. x *Poncirus trifoliata* [L.] de 16 años de edad en un marco de plantación de 5 x 3.5 m) que se riegan con dos fuentes de agua de riego: a) procedente del trasvase Tajo-Segura (AT), de buena calidad agronómica (Conductividad eléctrica $\text{CE} \sim 1 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$) y la segunda procedente de la Estación Depuradora de Aguas Residuales (EDAR) de Molina de Segura Norte (AR), caracterizada por generar un efluente altamente salino ($\text{CE} \geq 3 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$). Para ambas fuentes de agua y cultivo se han establecido dos tratamientos de riego; un tratamiento de riego control regado para satisfacer los requerimientos hídricos del cultivo (100% de la Evapotranspiración del cultivo, ETc) y otro de riego deficitario controlado (RDC) con idéntica dotación que el control durante todo el año excepto durante la segunda fase de acumulación de solutos y azúcares en el fruto, en la que se riega al 50% de la ETc al objeto de conseguir un déficit hídrico moderado. Los ocho tratamientos resultantes son denominados como: T0 y T6 (Tratamiento Control regado con AT para pomelo y mandarino, respectivamente), T1 y T7 (Tratamiento RDC regado con AT para pomelo y mandarino, respectivamente), T2 y T8 (Tratamiento Control regado con AR para pomelo y mandarino, respectivamente) y T3 y T9 (Tratamiento RDC regado con AR para pomelo y mandarino, respectivamente). La programación del riego es semanal a partir de los cálculos de evapotranspiración de referencia (ETO) Penman-Monteith.

Periódicamente se miden los parámetros de control de la situación hídrica de la planta (potencial hídrico de tallo) con una cámara de presión tipo Scholander y los niveles de intercambio gaseoso a nivel foliar (fotosíntesis neta, A, y la conductancia estomática, g_s) con un equipo portátil de fotosíntesis (LI-6400 Li-Cor, Lincoln, NE, EE.UU) equipado con cámara de fluorescencia, en los árboles centrales de cada repetición de los distintos tratamientos de riego, seleccionando días claros de máxima demanda evaporativa, entre 08:00-10:00 GMT. Se determina el peso seco, el área foliar y el contenido en nitrógeno (Flash EA 112 Series, England and Leco Truspec, Sant Joseph, USA). Además, se analiza el contenido de clorofila total, a y b con un espectrómetro (Thermo Spectronic, England) mediante el método de Inskeep and Bloom. Se realizarán medidas de la dinámica del crecimiento vegetativo, cobertura del dosel, y crecimiento del fruto para todos los tratamientos considerados. Asimismo, se evalúa el estado

nutricional de la planta en los diferentes estados fenológicos mediante análisis foliares.

Al final de cada ciclo de cultivo se evaluará la producción final y la distribución de los calibres de los frutos obtenidos en cada uno de los árboles testigos de cada tratamiento. Se medirán parámetros físicos de calidad de la fruta (firmeza y color) y químicos (pH, sólidos solubles, acidez total).

Para la determinación de los parámetros de intercambio gaseoso y fluorescencia de la clorofila se realizarán curvas de respuesta a la luz de las que obtendremos información sobre el rendimiento cuántico máximo aparente (pendiente inicial) y la intensidad de luz de saturación (irradiancia a la cual la fotosíntesis es máxima); y también curvas de respuesta A-Ci, que nos permitirán obtener información sobre la capacidad fotosintética de las hojas. La información de las curvas de respuesta de la fotosíntesis a la variación de la concentración interna de CO₂ (curvas de respuesta A-Ci) se verá respaldada y completada por la estima de otros parámetros como la medida del transporte electrónico a partir de la fluorescencia de clorofila, actividad del fotosistema I y II, determinación de la tasa de fotorrespiración y de la conductancia del mesófilo.

Se evalúan los valores de eficiencia del uso del agua (EUA) y grado de control estomático y de la transpiración a nivel de planta por medio de la determinación de los isótopos ¹³C y ¹⁸O en tejido foliar. Se determinan los patrones de extracción de agua del suelo por la planta en función de los recursos hídricos aportados (cantidad y calidad), mediante la medida del ¹⁸O en agua extraída del tejido leñoso y a distintas profundidades del suelo muestreado. Para el caso de la medida del $\delta^{18}\text{O}$ en medio líquido, se va a extraer el agua del tejido leñoso y suelo mediante una línea criogénica de extracción al vacío. Por último, con el objetivo de analizar la eficiencia de uso del nitrógeno (EUN) por el cultivo, se determina también el $\delta^{15}\text{N}$ de muestras de suelo y agua aportada en el riego (AT y AR) además de una muestra de los fertilizantes nitrogenados aplicados al cultivo, con objeto de estimar aproximadamente, de la composición isotópica $\delta^{15}\text{N}$ del tejido foliar, la fracción que procede del fertilizante, agua y/o suelo. Todas las medidas de isótopos estables se realizarán en

colaboración con el “Stable Isotope Facility” de la Universidad de California (Davis, EEUU).

3. Resultados y Discusión

La novedad del presente trabajo radica en el planteamiento experimental utilizado, en donde de forma conjunta se evalúan los efectos acumulados de la estrategia de riego y del uso de aguas regeneradas. Aspectos relevantes a destacar:

1. Evaluación de los efectos que tiene la utilización de las aguas regeneradas sobre la producción y calidad de la cosecha a medio largo plazo. Se evaluarán los efectos que la utilización de aguas regeneradas y su combinación con estrategias de RDC tienen en la producción de cítricos y sobre los principales parámetros físico-químicos de las cosechas obtenidas. Con este objetivo, se realizarán también medidas de la situación hídrica de la planta (potencial hídrico de tallo), evolución de los niveles de intercambio gaseoso (conductancia estomática y fotosíntesis) y estudio del estado nutricional del cultivo en los diferentes estados fenológicos (análisis foliar).

2. Evaluación y análisis de la capacidad de asimilación de CO₂ de cítricos en función de las distintas estrategias de riego y calidad de agua empleadas. Se cuantificará el papel de la demanda atmosférica en la limitación a la difusión de CO₂, tanto estomática como del mesófilo, en distintas condiciones de agua en suelo y de calidad de la misma. Esta actividad se abordará a lo largo de todo el proceso experimental, y sus resultados serán de gran relevancia tanto para mejorar la eficiencia en el uso del agua de los cítricos, como para valorar la capacidad de estas plantas como sumidero de CO₂ ambiental.

3. Determinación de la eficiencia en el uso del agua de los cítricos, y de sus patrones de extracción y aprovechamiento de agua y fertilizantes. Para ello, se utilizarán técnicas de determinación de isótopos estables (¹³C, ¹⁸O y ¹⁵N) con el objetivo de determinar la EUA a nivel de planta por medio de la determinación del ¹³C, los patrones de extracción de agua por medio de la determinación del ¹⁸O y la capacidad de absorción de fertilizantes por medio de la determinación del ¹⁵N. Esta actividad pionera permitirá profundizar en la fisiología de las plantas y en la optimización de los procesos de fertirrigación, por medio de la aplicación de

técnicas isotópicas escasamente utilizadas, hasta el momento, en las ciencias agrarias.

4. Conclusiones

El uso de agua regenerada para riego de cítricos es una importante alternativa a considerar, pero es necesario evaluar sus efectos a medio-largo plazo. Por ello, tras ocho años de riego con este tipo de agua, combinada con estrategias de riego deficitario controlado, se pretende conseguir una estimación completa de sus efectos a nivel fisiológico, así como las estrategias de riego adecuadas para evitar posibles riesgos en la sostenibilidad de los cultivos. Además, se pretende demostrar la utilidad de las medidas de discriminación isotópica como indicadores capaces de predecir y evaluar los niveles de eficiencia en el uso del agua y del nitrógeno en el cultivo de pomelo y mandarino.

5. Agradecimientos

Esta investigación se financia por los proyectos SIRRIMED (KBBE-2009-1-2-03, PROPOSAL Nº 245159), SENECA (05665/PI/07 y 11872/PI/09), CONSOLIDER INGENIO 2010 (MEC CSD2006-0067) y CICYT (AGL2013-49047-C2-2-R). Romero-Trigueros agradece el apoyo financiero del programa JAE-CSIC.

6. Referencias bibliográficas

[1] Pérez-Pérez J.G., Robles J.M., Botía P. 2014. Effects of deficit irrigation in different fruit growth stages on 'Star Ruby' grapefruit trees in semi-arid conditions. *Agr Water Manage.* 133:44– 54.

[2] Romero-Trigueros C., Nortes P.A., Pedrero F., Mounzer O., Alarcón J.J, Bayona J.M. and Nicolás E. 2014. Assessment of the viability of using saline reclaimed water in grapefruit in medium to long term. *Span J Agric Res.* 12(4): 1137-1148.

[3] Grattan S. 2013. Evaluation of the impact of Boron on citrus orchards in riverside country. *Crop. Salin. Consult.*

[4] Álvarez S., Gomez-Bellot M.J., Castillo M., Banon S., Sanchez-Blanco M.J. 2012. Osmotic and saline effect on growth, water relations, and ion uptake and translocation in *Phlomis purpurea* plants. *Environ Exp Bot.* 78:138-145.

[5] Pantin F., Monnet F., Jannaud D., Costa J.M., Renaud J., Muller B., Simonneau T., Genty B. 2013. The dual effect of abscisic acid on stomata. *New Phytol.* 97(1): 65-72.

[6] Sheshshayeea M.S., Bindumadhavaa H.R., Rameshb R., Prasada T.G. and Udayakumara M. 2010. Relationship between 18O enrichment in

leaf biomass and stomatal conductance. *Isot Environ Healt S.* 46(1):122–129.

[7] Destain J.P., Fonder N., Xanthoulis D., Reuter V. (2010). Stable N-15 isotope and lysimeter, complementary tools in order to study the nitrogen leaching in agricultural soils. *Biotechno Agron Soc.* 14:91-96.

[8] Kriszan M., Amelung W., Schellberg J., Gebbing T., Kuhbauch W. 2009. Long-term changes of the delta N-15 natural abundance of plants and soil in a temperate grassland. *Plant Soil.* 325:157-169.

Figuras



Figura 1. Diseño experimental de la parcela de pomelo. Los árboles sombreados son los utilizados para la toma de muestras.

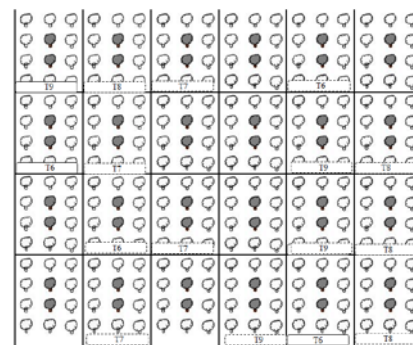


Figura 2. Diseño experimental de la parcela de mandarino. Los árboles sombreados son los utilizados para la toma de muestras.