



ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA
SECCIÓN DE INGENIERÍA AGRARIA

Grado en Ingeniería Agrícola y del Medio Rural

**DIVERSIDAD FUNCIONAL DE LA MICROBIOTA
EDÁFICA COMO INDICADOR DE SALUD DE SUELOS
DE CÍTRICOS DE TENERIFE (ISLAS CANARIAS)**

Arely Giovanna Gómez Jara

La Laguna, julio 2024

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <http://sede.ull.es/validacion>

Identificador del documento: 6557068 Código de verificación: tyEMdSSH

Firmado por: Antonio César Perdomo Molina
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 25/06/2024 20:39:21



**AUTORIZACIÓN DE PRESENTACIÓN DE TFG
INGENIERÍA AGRÍCOLA Y DEL MEDIO RURAL
CURSO: 2023/2024**

TUTOR – COORDINADOR: Antonio César Perdomo Molina

TUTOR: Marta Selma Garzón Molina

Como tutores del alumno/a Arely Giovanna Gómez Jara en el TFG titulado: Diversidad funcional de la microbiota edáfica como indicador de salud en suelos de cítricos de Tenerife (Islas Canarias), doy/damos nuestra autorización para la presentación y defensa de dicho TFG, a la vez que confirmamos que el alumno/a ha cumplido con los objetivos generales y particulares que lleva consigo la elaboración del mismo y las normas del Reglamento de Trabajo Fin de Grado de la Escuela Politécnica Superior de Ingeniería.

En San Cristóbal de La Laguna, a 24 de junio de 2024

Fdo:
(Tutor/a coordinador/a)

Firmado por MARTA
SELMA GARZÓN MOLINA
el día 25/06/2024
con un certificado
electrónico por AC FNMT
(Tutor/a)

PRESIDENTE DE LA COMISIÓN DE TRABAJO DE FIN DE GRADO

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <http://sede.ull.es/validacion>

Identificador del documento: 6557068 Código de verificación: tyEMdSSH

Firmado por: Antonio César Perdomo Molina
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 25/06/2024 20:39:21



Agradecimientos

Pienso que la vida te pone por delante las oportunidades y nosotros somos los que decidimos cogerlas o no. En este caso, decidí encaminarme hacia un nuevo mundo para mí y por ello estoy agradecida, por el hecho de poder realizar el presente trabajo sobre la vida microscópica que conforma una parte importante para los suelos.

Al igual que surgen oportunidades, también se cruzan en el camino de la vida las personas. Las cuales, estoy muy agradecida de haberlas conocido.

Gracias a Celi por ser mi mentora en el laboratorio, enseñarme a ser disciplinada y tener en cuenta todos los detalles. Así como, enseñarme que todo es un resultado y no hay que despreciarlo.

Agradezco a Mery Jaizme-Vega por creer en mí y permitirme aprender junto a grandes figuras como son Mónica González y mi tutora Marta Selma Garzón Molina.

Al igual que agradezco a Antonio César Perdomo Molina (Tony) por llevarme el trabajo y estar pendiente de mis avances.

Este trabajo no hubiera visto la luz sin el incondicional apoyo de mis padres y de mi hermano que siempre me han incentivado a seguir hacia delante.

Sobre todo, agradezco a Alberto por apoyarme en todo momento y ser el que me saca siempre una sonrisa.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <http://sede.ull.es/validacion>

Identificador del documento: 6557068 Código de verificación: tyEMdSSH

Firmado por: Antonio César Perdomo Molina
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 25/06/2024 20:39:21



Índice

1. Introducción.....	1
2. Objetivos	2
3. Revisión bibliográfica	3
3.1 Salud del suelo.....	3
3.1.1 Evaluación de la salud del suelo: indicadores.....	3
3.1.2 Respiración microbiana.....	4
3.2 Cítricos	9
3.2.1 Encuadramiento taxonómico y descripción botánica.....	9
3.2.2 Exigencias del cultivo	10
3.2.3 Principales variedades y sus usos.....	11
3.2.4 Principales patrones y su uso.....	14
3.2.5 Cultivo de cítricos en Canarias (principalmente en Tenerife).....	15
4. Material y métodos.....	17
4.1 Localización.....	17
4.2 Toma de muestras.....	18
4.3 Preparación y análisis de las muestras	19
4.4 Parámetros a evaluar	20
4.4.1 Capacidad máxima de retención de agua (WHC).....	20
4.4.2 Medición de humedad	21
4.4.3 Análisis de pH en agua destilada (norma UNE-ISO 10390)	22
4.4.4 Carbonatos cualitativo y cuantitativo	22
4.5. Determinación de la diversidad funcional mediante el método MicroResp™.....	24
4.5.1 Preparación de las placas de detección	24
4.5.2 Pre-incubación	25
4.5.3 Preparación de las fuentes de carbono.....	27
4.5.4 Lectura.....	29
4.6 Análisis estadístico de los resultados	31
5. Resultados y discusión.....	32
6. Conclusiones.....	56
7. Conclusions.....	57
8. Referencias bibliográficas	58
9. Anexos.....	60
9.1 Anexo 1. Plano y posicionamiento de los cultivos.	60
9.2. Anexo 2. Puntos de extracción de muestras	61

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <http://sede.ull.es/validacion>

Identificador del documento: 6557068 Código de verificación: tyEMdSSH

Firmado por: Antonio César Perdomo Molina
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 25/06/2024 20:39:21



9.3. Anexo 3. Estadillos para la recogida de datos necesarios para la determinación de MicroResp™	62
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <http://sede.ull.es/validacion>

Identificador del documento: 6557068 Código de verificación: tyEMdSSH

Firmado por: Antonio César Perdomo Molina
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 25/06/2024 20:39:21



Título: Diversidad funcional de la microbiota edáfica como indicador de salud en suelos de cítricos de Tenerife (Islas Canarias)

Autor/a: Arely Giovanna Gómez Jara

Tutor/a o Tutores/as: Antonio César Perdomo Molina y Marta Selma Garzón Molina.

Palabras clave: fuentes de carbono, variedades del cultivo, pre-incubación, respiración inducida y MicroResp™

Resumen

Debido a su importancia económica y sobre todo alimentaria se ha elegido estudiar la salud de los suelos en fincas de cítricos. La razón de centrar la atención en el suelo es porque funciona como un ecosistema vital que sustenta tanto a plantas, animales como a los seres humanos. Considerando que la calidad de los suelos está directamente relacionada con la cantidad y calidad de los alimentos, además, de considerarlo como un recurso clave en la biodiversidad del planeta, albergando la cuarta parte de la diversidad biológica del mismo.

Por ello, se decide que la forma de cuantificarlos es a través del estudio de la diversidad biológica funcional de la microbiota del suelo de una finca de cítricos en Tenerife. Midiendo para ello la respiración inducida por diferentes fuentes de carbono mediante el uso del método MicroResp™ en los suelos de seis variedades de cítricos presentes en la finca. Seleccionando en dicho estudio 18 sustratos o compuestos como fuentes de carbono para evaluar los resultados objeto.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <http://sede.ull.es/validacion>

Identificador del documento: 6557068 Código de verificación: tyEMdSSH

Firmado por: Antonio César Perdomo Molina
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 25/06/2024 20:39:21



Title: Edaphic microbiota functional diversity as an indicator of citrus soil health in Tenerife (Canary Islands)

Author: Arely Giovanna Gómez Jara

Director/Directors: Antonio César Perdomo Molina y Marta Selma Garzón Molina.

Key words: carbon sources, crop varieties, pre-incubation, induced respiration and MicroResp™

Abstract

Due to its economic and especially nutritional importance, it has been chosen to study soil health in citrus farms. The reason for focusing attention on soil is because it functions as a vital ecosystem that supports both plants, animals and humans. Considering that soil quality is directly related to the quantity and quality of food, in addition to considering it as a key in biodiversity resource on the planet, housing a quarter of its biological diversity.

Therefore, it was decided that the way to quantify them is to study the functional biological diversity of the soil microbiota of a citrus farm in Tenerife. Measuring respiration induced by different carbon sources using the MicroResp™ method in soils of six citrus varieties present on the farm. Selecting in this study 18 substrates or compounds as carbon sources to evaluate the results.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <http://sede.ull.es/validacion>

Identificador del documento: 6557068 Código de verificación: tyEMdSSH

Firmado por: Antonio César Perdomo Molina
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 25/06/2024 20:39:21



1. Introducción

Los cítricos han tenido y mantienen su importancia como cultivo en España, debido a que están reconocidos por su buena producción y calidad. Es tal su influencia que España se sitúa como el primer país productor de la Unión Europea con el 60% y sexto del mundo con el 5%, según la Organización de las Naciones Unidas (FAO).

Es cierto que las producciones se han visto con descensos el año 2020 a la actualidad, por una reducción de su valor en el mercado. Sin embargo, esto no elimina su importancia en el sector agrícola español.

En el caso de las Islas Canarias, el cultivo de la naranja, mandarina y limón son los cultivos situados en tercera posición con mayor importancia y superficie cultivada (ISTAC, 2022).

Por todo ello, y sumado a los continuos cambios ambientales y sociales que se están produciendo en la actualidad, se ha decidido estudiar alternativas de producir estos alimentos de una forma más consciente con el medio ambiente. Es aquí, donde el suelo juega un papel crucial para la producción de cítricos.

El suelo es un recurso multifuncional que actúa como integrador de las influencias de otros sistemas en la biosfera. Se trata de un medio formado por factores abióticos y bióticos que son los constituyentes formadores del suelo, en conjunto con las relaciones que sustentan, muestran un ecosistema lleno de vida, complejo, multifuncional y extremadamente vulnerable, donde los microorganismos son los que juegan un papel clave e influyente sobre un gran número de los procesos vitales, que incluyen la adquisición de nutrientes y el ciclado de nitrógeno y carbono.

El propósito de estudiar la vida existente en los suelos de los cítricos procede de un propósito que coincide con el propuesto por la Unión Europea para “Traer la naturaleza de vuelta a las tierras agrícolas” con el objetivo de encaminarse hacia un modelo sostenible a largo plazo tanto de la naturaleza como de la agricultura.

La Comisión Europea creó la misión titulada “un pacto sobre el suelo para Europa”, financiado por Horizonte Europa con el programa de I+D de EU, 2021-2027 en el que se propone alcanzar 5 áreas de misión, dentro de las cuales se encuentra el acuerdo sobre el suelo para Europa. Todo ello para resolver la problemática actual sobre el estado de los suelos, ocasionado por las prácticas de gestión actuales que dan como resultado que aproximadamente entre el 60% y el 70% de los suelos de la UE son insalubres, dato proporcionado por la Soil Health and Food Mission Board (MB) y el Centro Común de Investigación (JRC) de la Comisión Europea.

De ahí la búsqueda de un método que permita cuantificar de alguna manera la biomasa de cada tipo de suelo de una forma rápida y adaptable a los continuos cambios que se producen. Además, de mostrar la diversidad funcional de distintos estados de un suelo de cítricos, mediante el uso de diferentes fuentes de carbono.



2. Objetivos

El objetivo principal de este trabajo es evaluar la diversidad funcional de la microbiota edáfica como un indicador de la salud de los suelos en el caso de cultivo de cítricos.

Para ello se han desarrollado los siguientes objetivos específicos:

- Evaluación de diferentes fuentes de carbono.
- Estudio de la microbiota del suelo bajo diferentes manejos del cultivo: con cubierta vegetal o sin ella
- Estudio de la microbiota del suelo según la variedad de cítrico.



3. Revisión bibliográfica

3.1 Salud del suelo

Si miramos bajo una perspectiva de agricultura sostenible, el suelo pasa de considerarse como un soporte inerte para convertirse en un elemento activo del sistema, donde las comunidades microbianas son imprescindibles para el mantenimiento del balance biológico del mismo, pasando a ser una pieza clave en la sostenibilidad de cualquier ecosistema natural o agrícola (Kennedy y Smith; 1995).

Estos sistemas de producción sostenibles inciden en nutrir a la vida edáfica para que ésta, a su vez, sirva de sustento a la planta.

Sabiendo que el suelo está compuesto por factores físicos, químicos y biológicos interrelacionados entre sí y con una clara repercusión en el desarrollo de las plantas, los componentes biológicos son quizá los que menos atención han recibido.

Las partículas minerales y orgánicas del suelo se asocian para formar agregados, constituyendo un entramado que alberga tanto la fase gaseosa como la fase líquida o solución acuosa del suelo. El hábitat que se forma es muy favorable para los microorganismos que se sitúan tanto en el exterior como en el interior de los agregados, y se asocian a las raíces de las plantas creando una zona en torno al sistema radical de gran actividad, conocido como rizosfera. Esta es una zona con características propias, como resultado de la excreción permanente de compuestos carbonados (azúcares, aminoácidos, ácidos orgánicos, etc..) por parte de las raíces (Zancarini et al. 2013).

La abundancia y la biodiversidad de las comunidades de microorganismos del suelo dependen de la diversidad vegetal, del tipo de suelo (pH, textura...) y del uso de la tierra. La diversidad vegetal es el principal factor que afecta a los microorganismos de la rizosfera (Zancarini et al. 2013).

3.1.1 Evaluación de la salud del suelo: indicadores

Los indicadores son herramientas útiles que agregan y simplifican información de naturaleza diferente de la calidad y funcionamiento del suelo, permitiendo planificar, diseñar y evaluar prácticas agroecológicas basadas en criterios establecidos.

Si analizamos individualmente, cada uno de los indicadores edáficos arrojan información acerca de las propiedades intrínsecas de la matriz del suelo. Sin embargo, es el conjunto de ellos lo que va a expresar la calidad del biosistema, la suma de la red de múltiples interacciones que se establecen entre las propiedades y procesos escogidos como indicadores en la productividad y producción del agrosistema; con incidencia a nivel local, territorial e inclusive con alcance global (Hernández y Prager, 2020)

Son los procesos, algunas funciones biológicas, bioquímicas y propiedades emergentes del suelo, los que pueden servir como indicadores de su calidad y funcionalidad cuando se desea establecer diseños de agrosistemas bajo los principios agroecológicos (Hernández y Prager,

2020). Es necesario que sean monitoreados y diagnosticados en el tiempo, aún antes de establecerse los sistemas productivos a evaluar (Hernández-Hernández et al. 2010).

Los indicadores deben servir para tomar decisiones a tiempo para modificar el rumbo en la planificación y desarrollo de sistemas agrícolas, basados en la calidad y funcionalidad de los suelos, siendo clave para el éxito de sistemas sostenibles de producción agrícola que eviten o



mitiguen pérdidas que pongan en peligro el agrosistema con consecuencias productivas, económicas, sociales y ambientales.

Cuando se utilizan indicadores biológicos, son cuatro los aspectos a tener en cuenta (Hernández-Hernández, 2014):

- 1) El uso del conocimiento previo obtenido por registros que llevan los agricultores en los agrosistemas, el de las bases de datos para la planificación de organismos públicos y privados, los resultados de proyectos de centro de investigación, universidades u otros.
- 2) Trabajar con series de tiempo.
- 3) Incorporar el conocimiento local y ancestral de los productores, familias y comunidades agrícolas, quienes viven y conocen directamente el ambiente agroecológico donde están asentados.
- 4) Examinar sistemas de referencia con suelos cuya calidad es óptima y sistemas de referencia nativos (con suelos sin intervención agrícola).

Los indicadores biológicos los podemos clasificar en los que pertenecen a la macro y mesobiota del suelo y los microorganismos (Labrador et. al, 2020). Se puede abarcar desde evaluaciones aparentemente sencillas hasta complementar los estudios con diversos componentes: aportes de materia orgánica al suelo, metabolismo de ella, quiénes componen dicho material orgánico, tasa de degradación, captura de carbono, aporte de agua, nutrientes, mitigación al cambio climático, entre otros.

3.1.2 Respiración microbiana

Como venimos indicando la fracción biótica de la materia orgánica, formada por microorganismos vivos, desempeña un papel básico en los suelos al ser la última responsable del estado de la materia orgánica y, en general, del desarrollo y funcionalidad del ecosistema. Los microorganismos influyen sobre los ecosistemas y su fertilidad, interviniendo tanto en el establecimiento de los ciclos biológicos y químicos como en la formación de la estructura de los suelos (Hernández y García, 2003). La respiración microbiana del suelo es un proceso que refleja la actividad biológica del mismo y se pone de manifiesto a través del desprendimiento de dióxido de carbono (CO₂) o el consumo de oxígeno (O₂) resultante del metabolismo de los organismos vivos existentes en el suelo. Las células vivas de los microorganismos necesitan un suministro constante de energía, que para la microflora heterótrofa proviene de la transformación de materia orgánica, de sustancias tales como celulosa, proteínas, nucleótidos y compuestos humificados. En el proceso de respiración se produce la oxidación de la materia orgánica por los microorganismos aerobios, funcionando el O₂ como aceptor final de electrones y obteniéndose como productos finales CO₂ y agua. Por lo tanto, la actividad metabólica de los microorganismos del suelo se puede cuantificar midiendo la producción de CO₂ o el consumo de O₂ (Nannipieri et al. 1990).

Este parámetro puede medirse bien directamente en campo, bajo condiciones naturales, o en laboratorio, donde las condiciones experimentales de humedad y temperatura, que influyen enormemente sobre la respiración, se controlan para intentar reproducir las condiciones de campo. En el laboratorio, se puede medir tanto la respiración basal (RB) como la respiración inducida por sustrato (SIR, Substrate Induced Respiration). La respiración basal se define como una medida de la actividad biológica, y se obtiene mediante el cociente entre el C-CO₂ emitido durante el experimento de respiración y el tiempo de duración de este. La respiración inducida por un sustrato (glucosa, aminoácidos, etc.) es una medida de la actividad catabólica de la microbiota (Alef y Nannipieri, 1995).

Muchos de los métodos de laboratorio empleados para la medida de la respiración del suelo se basan en la medida del CO₂ desprendido durante la incubación de dicho suelo en un sistema cerrado, en condiciones adecuadas de humedad y temperatura. La diferencia entre métodos radica en el dispositivo de incubación empleado para la recogida del CO₂ desprendido por el suelo y en el método final para cuantificar el CO₂ (Hernández y García, 2003).

Entre los métodos más utilizados se encuentran los de: valoración, fumigación-extracción y el de MicroResp™.

a. Diversidad funcional por método de MicroResp™

MicroResp™ es un sistema de medida de respiración de la comunidad microbiana de un suelo. Es un método miniaturizado que permite respecto a otros métodos analizar un elevado número de muestras y/o réplicas, con la misma o diferente fuente de carbono, a pequeña escala y en un corto espacio de tiempo al medir respuestas de microorganismos de rápido crecimiento a dichas fuentes de carbono en las primeras 4-6 horas. MicroResp™ hace referencia a las publicaciones de Rowell, MJ en 1995 y Campbell et al. en 2003.



Foto 1. Elementos que componen el sistema de MicroResp™ . Foto procedente de [MicroResp](#).

En MicroResp™ una muestra pretratada, conservada, preincubada y llevada a un contenido establecido como óptimo de agua, se incuba con y sin adición de fuentes de carbono. El CO₂ desprendido se absorbe en una placa que contiene un gel indicador que cambia de color con el cambio de pH por la absorción del CO₂ y se determina espectrofotométricamente dicho cambio de color. La reacción que tiene lugar es:



En dicha reacción, el CO₂ desprendido va reaccionando con el bicarbonato y el rojo de cresol va cambiando de rosa a amarillo a medida que disminuye el pH. El cloruro potásico está presente para reducir el efecto de la fuerza iónica sobre el pH (Figura 1).

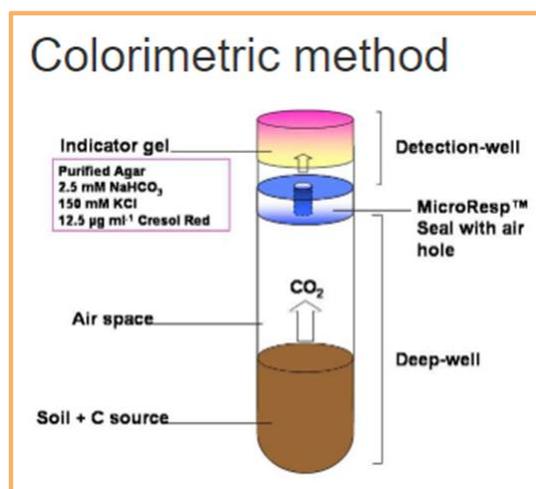


Figura 1. Esquema del sistema de medida de respiración microbiana del suelo MicroResp™. Foto procedente de [MicroResp™](http://MicroRespTM).

Si bien el método, es utilizado para evaluar la diversidad funcional de los suelos, algunos autores miden la respiración inducida por glucosa y respiración basal con la posterior aplicación con éxito, en medidas de respuesta de toxicidad de una muestra de suelo ante la presencia de contaminantes.

b. Origen y función de las fuentes de carbono

Las plantas albergan miles de millones de microorganismos en sus raíces (en un gramo de suelo rizosférico se pueden encontrar alrededor de 1×10^{11} microorganismos, algunos de ellos multifuncionales (Dykhuizen, 2005; Turner et al. 2013); constituyendo el reservorio más grande de microbioma acompañante, desconocido, biodiverso, capaz de asegurar la nutrición, sanidad y productividad de los agrosistemas (Berendsen et al. 2012).

Por ello, los microorganismos son evaluados desde distintas miradas y constituyen indicadores biológicos fundamentales de calidad y salud del suelo de los agrosistemas.

Una forma de aproximarse a ellos es a través de su papel en los ciclos biogeoquímicos como sumidero y fuente de nutrientes. En este caso, los microorganismos son vistos como una fracción viva y activa de la materia orgánica, donde importa la cantidad de carbono, nitrógeno, fósforo, azufre que es inmovilizada en su masa o es mineralizada y liberada, haciendo a estos elementos disponibles a las plantas (Hernández-Hernández, 2003).

Una parte de la energía que resulta de la fotosíntesis en las hojas es utilizada por las plantas para producir sustancias químicas que se secretan a través de sus raíces. A estas secreciones se les llama exudados y están constituidos por carbohidratos (incluidos azúcares) y proteínas, cuya funcionalidad, cantidad y tipología es diversa y depende de la especie vegetal y de un gran número de factores; muy especialmente del manejo dado al suelo (Tabla 1) (Labrador, 2020).

Su presencia va a favorecer el crecimiento de bacterias y hongos benéficos del suelo que usan como sustrato energético a los exudados y a la materia celular que se desprende de las raíces como consecuencia de su crecimiento. (Igham et al. 2000).



En función del tipo de exudados que produzca la planta, será la población de hongos y bacterias de la rizosfera. Estos microorganismos se comportan como “saquitos de fertilizante”, reteniendo en sus estructuras nitrógeno y otros nutrientes que obtienen de los exudados y de la materia orgánica. Por lo tanto, nemátodos y protozoos actúan como “difusores de fertilizantes” ya que liberan los nutrientes almacenados en hongos y bacterias al digerirlos y excretan después lo sobrante como carbono y otros nutrientes.

Sin embargo, el tipo de suelo es un factor determinante en la composición de la microbiota rizosférica. Por ejemplo, la deficiencia de nutrientes incrementa la exudación de metabolitos movilizadores de formas químicas poco solubles. Una elevada concentración de algún elemento puede modificar la exudación radicular hacia el aumento de compuestos con capacidad para inmovilizarlo en la rizosfera y evitar su entrada en la planta, como sucede con la secreción de ácidos orgánicos que quelan el aluminio en concentraciones tóxicas (Ryan et al. 2001).

Los materiales liberados por las plantas más importantes incluyen una amplia variedad de grupos funcionales representados en la Tabla 1.

Grupos funcionales	Componentes del exudado
Azúcar	Glucose, fructose, sucrose, maltose, galactose, rhamnose, ribose, xylose, arabinose, raffinose, oligosaccharide
Compuestos amino	Asparagine, α -alanine, glutamine, aspartic acid, leucine/isoleucine, serine, y aminobutyric acid, glycine, cystine/cysteine, methionine, phenylalanine, tyrosine, threonine, lysine, proline, tryptophane, β -alanine, arginine, homoserine, cystathionine
Ácidos orgánicos	Tartaric, oxalic, citric, malic, proponic, butyric, succinic, fumaric, glycolic, valeric, malonic
Ácidos grasos y esteroides	Palmitic, stearic, oleic, linoleic, linolenic acids, cholestrol, campesterol, stigmasterol, sitosterol
Factores de crecimiento	Biotin, thiamine, niacin, pantothenate, choline, inositol, pyridoxine, p -aminobenzoic acid, N-methyl nicotinic acid
Nucleótidos, flavonoides y enzimas	Flavonine, adenine, guanine, uridine/cytidine, phosphatase, invertase, amylase, protease, polygalacturonase



Varios compuestos	Auxins, scopoletin, fluorescent substances, hydrocyanic acid, glycosides, saponin (glucosides), organic phosphorus compounds, nematode-cyst or egg hatching factors, nematode attractants, fungal mycelium growth stimulants and inhibitors, zoospore attractants
-------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Tabla 1. Compuestos liberados por las raíces de las plantas en el proceso de rizodeposición (Giri et al. 2005).

Los exudados liberados por las plantas desempeñan diferentes funciones, las cuales se han resumido en la Tabla 2.

Funciones de las fuentes de carbono
<ul style="list-style-type: none">• Los carbohidratos, ácidos carboxílicos y aminoácidos tienen un papel lubricante, de protección de la planta contra toxinas; quimioatrayentes, estimulación del crecimiento microbiano. Además, se difunden en el suelo aumentando el número de sitios activos para la actividad microbiana. Los ácidos carboxílicos contribuyen a hacer difícil la presencia de iones metálicos en los suelos.
<ul style="list-style-type: none">• Los ácidos orgánicos participan activamente en la solubilización de los nutrientes minerales.
<ul style="list-style-type: none">• Los aminoácidos no proteicos-fitosideróforos - mejoran la movilidad de los micronutrientes hacia las plantas.
<ul style="list-style-type: none">• La fracción más polimerizada, como los mucílagos, además de protector radicular y microbiano, es un nutriente altamente energético, pero no es soluble ni difunde lejos de la raíz. Su biodisponibilidad no es inmediata debido a su estructura más compleja y a su rápida absorción por los coloides del suelo.
<ul style="list-style-type: none">• Los residuos de las membranas celulares son compuestos más estables y tienen menos contenido energético.

Tabla 2. Algunas funciones de los compuestos orgánicos (fuentes de carbono) en la rizosfera (Labrador, 2020).



3.2 Cítricos

3.2.1 Encuadramiento taxonómico y descripción botánica

Las especies de cítricos con importancia a nivel comercial pertenecen a la familia de las *Rutaceas*, subfamilia *Aurantioideas*. Enmarcada dentro de la división *Embriophyta Siphonogama*, Subdivisión *Angiospermae*, clase *Dycotiledonae*, subclase *Rosida*, superorden *Rutanae*, orden *Rutales* (Swingle, 1967).

El género de interés es el *Citrus*, el cual posee 16 especies de hoja perenne, aunque la duración entre ellas es versátil. En cuanto al tamaño y la forma de los árboles es variable, desde erecta hasta globosa o desgarbada. Por lo general, contiene espinas en las axilas de las hojas, pero son variables en dureza y tamaño. Sus hojas unifoliadas son cambiables en tamaño en función de su especie; si son pomelos, sus hojas son grandes y si son las naranjas y los limones cuentan con hojas de tamaño mediano o pequeño (la mayor parte de los mandarinos). Las flores se organizan en inflorescencias uni y multiflorales, con o sin hojas, tienen 5 sépalos verdes, 5 pétalos blancos, 20-40 estambres soldados, con polen no siempre fértil, y de 8 a 10 carpelos soldados. Aquellas variedades que contienen semillas, cada una de ellas albergan entre 4 y 8 óvulos. Su fruto está formado por un ovario simple de 8-10 carpelos soldados (segmentos) rodeados por una corteza resistente. En cuanto a su forma encontramos, desde esféricas (naranjas) a esférico-aplanada (pomelos y mandarinas) u oval (limones). Su pulpa está formada por vesículas, que contienen el zumo, unidas por un filamento vascular a las paredes dorsales de los segmentos. La corteza contiene numerosas glándulas de aceites esenciales y su color varía desde el amarillo-verdoso (lima, limones y pomelos) hasta naranja más o menos rojizo (naranjas y mandarinos). Sus semillas, cuando existen, son ovoides o redondeadas y contienen uno o más embriones (M. Agusti, 2003).

Las especies del género *Citrus* representan la producción de frutos para consumo en fresco y para la transformación en zumo. Entre ellas, las de mayor difusión son las siguientes:

- *C. aurantifolia* (Christm.) Swing. Lima mejicana.
- *C. latifolia* L. Lima Tahití.
- *C. aurantium* L. Naranja amargo.
- *C. grandis* (L.) Osb. Pummelo.
- *C. limon* (L.) Burn. Limonero.
- *C. paradisi* Macf. Pomelo.
- *C. reticulata* Blanco. Mandarina.
- *C. sinensis* (L.) Osb. Naranja dulce.

Existen otras clasificaciones botánicas de los cítricos, como es el caso de Tanaka (1977). Donde se incluyen 162 especies en el género *Citrus*, esto se debe a que clasifica algunos híbridos y mutaciones espontáneas como especies. A pesar de estas diferencias, ambas clasificaciones están aceptadas.

Estudios más recientes basados en la quimiotaxonomía y en la morfología, sugieren la existencia de tres grupos de afinidad: el grupo *Citrus medica*, incluyendo *C. medica*, *C. aurantifolia* y *C. limon*, el grupo *Citrus reticulata*, integrado por *C. reticulata*, *C. sinensis*, *C. paradisi*, *C. aurantium* y *C. jambhiri*, y el grupo *Citrus maxima*, constituido por sólo esta especie (M. Agusti, 2003).



3.2.2 Exigencias del cultivo

Los cítricos cuentan con unas exigencias determinadas de temperatura, pluviometría, suelo y fertilización entre muchas otras. Dichas exigencias se tienen en cuenta para obtener una buena producción del cultivo, algunas de ellas son:

a. Temperatura

La acumulación de metabolitos en el fruto y, por tanto, su crecimiento, están directamente asociados a la temperatura. Las altas temperaturas en algunas fases de su desarrollo inicial (período de división celular), hacen que el fruto llegue a ser altamente susceptible, resultando en un efecto permanente que causa una reducción de su tasa de crecimiento a lo largo del ciclo de desarrollo y hasta en una abscisión masiva de frutos.

En el caso contrario, si las temperaturas son elevadas, el tiempo transcurrido entre plena floración y maduración puede verse sensiblemente reducido.

Bajo las condiciones climáticas subtropicales, como es el caso de las Islas Canarias, el ritmo de crecimiento del fruto es más lento y depende de los cambios térmicos estacionales.

Por ello, las elevadas temperaturas durante la primavera y el verano y el porcentaje de ácidos libres acumulado en el zumo siguen una relación inversa, de manera que valores elevados de aquellas son, aparentemente, acumulativos en su contribución a un bajo contenido en ácidos libres del zumo. Por tanto, en condiciones tropicales se requiere menos tiempo que en condiciones subtropicales para que el fruto alcance un mismo índice de madurez.

Cuando el fruto no crece en su periodo de maduración, este se asocia con bajas temperaturas. Las temperaturas por debajo de los 3°C inhiben significativamente el crecimiento del fruto (M.Agusti, 2003).

b. Pluviometría

Las estaciones húmedas y frescas se corresponden con períodos de semirreposo de los árboles. Sin embargo, las lluvias otoñales de los climas templados mejoran el tamaño final de los frutos, así como su contenido en zumo.

Por el contrario, las estaciones secas y calurosas se corresponden con periodos de crecimiento y desarrollo activo de los órganos (fruto).

Los déficits hídricos durante este periodo pueden provocar retrasos irreversibles en la determinación final de éste. En las condiciones mediterráneas, las lluvias estivales son factor decisivo del tamaño final del fruto (M.Agusti, 2003).

c. Suelos

Un factor importante en la determinación de la calidad de los frutos de cítricos es la textura de los suelos. Se puede decir que en parcelas de suelos arcillosos el tamaño del fruto es inferior al de suelos franco, mientras que en los suelos arenosos el tamaño del fruto es superior al de suelos francos.

Los suelos han de ser profundos para facilitar el desarrollo radicular, de esta forma garantiza un buen anclaje del árbol, una amplia exploración para asegurar una buena nutrición, y un crecimiento adecuado del árbol, han de tener una proporción equilibrada de elementos gruesos y finos (textura), permitiendo una buena aireación y facilitando el paso del agua, al mismo tiempo que proporciona una estructura capaz de mantener un buen estado de humedad y una correcta capacidad de intercambio catiónico. La permeabilidad debe permitir un buen estado hídrico y evitar, al mismo tiempo, humedades excesivas. Valores alrededor de 20-25 cm/h se consideran óptimos.

3.2.3 Principales variedades y sus usos

a. Grupo navel

Se diferencia del resto de grupos por la presencia de un segundo verticilo carpelar que, al desarrollarse, da lugar a un segundo fruto, muy pequeño, que queda incluido en el fruto principal por su zona estilar. Pueden no presentar semillas, cuando las células madre de los granos de polen degeneran o porque el saco embrionario es el que degenera, los óvulos no son fecundados. La variedad a destacar del grupo es:

- Navelina.

Árbol vigoroso, de tamaño medio y aspecto globoso. Sus hojas, grandes, tienen un color verde oscuro. Presenta tendencia a la alternancia de cosechas. Su fruto es de color rojizo intenso, su tamaño es medio, se presentan dos líneas, distinguibles por su forma redondeada y alargada. Su maduración es precoz, puede recolectarse a partir de finales de octubre (M.Agusti, 2003).

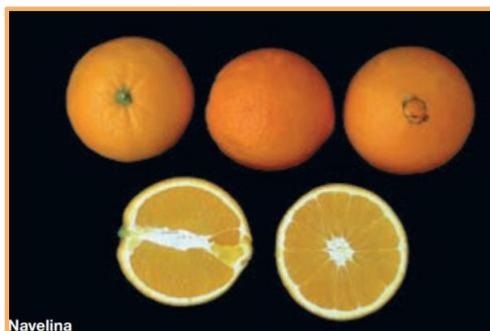


Foto 2 y 3. Imagen del cultivo del grupo Navel, en campo y del fruto cortado para observar sus características (Gema Ancillo y Alejandro Medina, 2013).

b. Grupo blancas

Las características más notables de este grupo de naranjas son la ausencia de navel en sus frutos, una acidez, en general, inferior a la de otros grupos de variedades, y una tendencia natural a la alternancia de cosechas. La variedad a destacar es:

- Valencia late.

Se trata de un árbol vigoroso que presenta un buen desarrollo, con ligera tendencia a la verticalidad, y se adapta bien a diversos climas y suelos.

Su fruto es de tamaño medio a grande, esférico o ligeramente alargado, de color intenso o algo pálido y de corteza espesa pero fina. Prácticamente no contiene semillas. Tiene un elevado contenido en zumo y acidez relativamente elevada. De maduración tardía, se recolecta a partir de marzo, aunque puede mantenerse en el árbol en buenas condiciones durante varios meses, si bien con el aumento de las temperaturas tiende a reverdecer (M.Agusti, 2003).

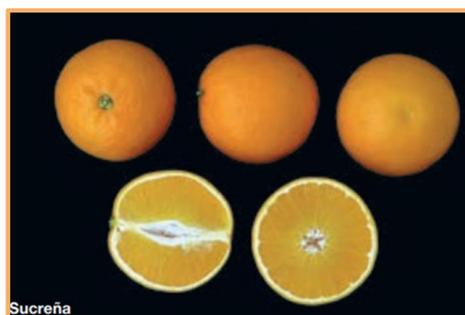


Foto 4 y 5. Flor de naranjo perteneciente al grupo variedades Blancas (Sucreña) y forma del fruto tanto dentro como fuera (Gema Ancillo y Alejandro Medina, 2013).

c. Mandarinos

- Mandarinos Clementinos

Son un grupo de mandarinas, clasificadas de esta forma por cuestiones comerciales, el tamaño del fruto es entre pequeño y mediano, originadas por mutaciones espontáneas unas de otras, y cuyo origen inicial es el del mandarino común (*Citrus reticulata* Blanco).

- Clemenules.

Procedente de la mutación espontánea de Clementina 'Fina', su fruto es de mayor tamaño que su progenitora y de maduración ligeramente posterior, de corteza algo rugosa, fácil de pelar, elevado contenido en zumo y sin semillas. Un defecto, es la pérdida rápida de zumo tras su maduración, lo cual impide mantenerla en el árbol más allá de mediados de enero, aunque la corteza se mantenga en buenas condiciones. Esto provoca la contracción de la pulpa y es la causante de la tendencia al bufado. El secado de brotes jóvenes, que generalmente ocurre también en sus mutaciones, representa un problema para su cultivo; las yemas vuelven a brotar, y dan lugar a frutos de baja calidad y por tanto, no es rentable la cosecha (M.Agusti, 2003).



Foto 6 y 7. Hoja de mandarina Clementina y fruto con sus características (Gema Ancillo y Alejandro Medina, 2013).

d. Pomelo

Cultivo relativamente reciente. Se trata de un árbol vigoroso, de gran tamaño, tolera bien las altas temperaturas, y con una resistencia al frío similar al naranjo dulce. Se adapta a un amplio rango de condiciones climáticas, pero los frutos de calidad se obtienen en áreas de clima caluroso. La variedad a destacar es:

- Star Ruby

Pertenece al grupo denominado 'Walters', se trata de una variedad de media estación, fue originado por mutación intencionada bombardeando con neutrones semillas de la variedad 'Hudson', en 1959. Su fruto es de tamaño medio a grande, corteza fina, con áreas de color rojo fuerte, pulpa roja intensa y sin semillas. El desarrollo del árbol presenta cierta heterogeneidad (M.Agusti, 2003).

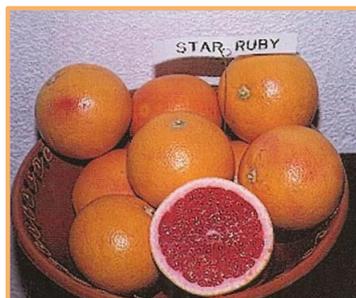


Foto 8. Fruto de Pomelo de variedad 'Star Ruby' (Fitoagícola).

e. Híbridos

Los géneros de las subfamilias *Auratioideae*, tribu *Citreae*, subtribu *Citrinae*, hibridan con facilidad y esto ha generado interés en este grupo de plantas. La variedad a destacar es:

- Tangos

Los tangos son híbridos de mandarina (*C. reticulata Blanco*) y naranjo dulce (*C. sinensis (L.) Osb.*).

Dentro de este híbrido se encuentra:

- Ortanique.

Cuyos árboles son grandes, vigorosos, con hojas grandes de color oscuro, y productiva. Sus frutos también son de tamaño medio a grande, ligeramente aplanados por su zona estilar. Además, contiene un elevado contenido en zumo, de buen sabor. Puede tener semillas, debido a presentar polinización cruzada con la mayor parte de mandarinas cultivadas. Presenta cierta tendencia al *rajado* y a la aparición de *oleocelosis*. Madura a finales de febrero y puede mantenerse en el árbol hasta finales de mayo sin pérdida apreciable de calidad (M.Agusti, 2003).

f. Limoneros

- Fino.

Procedente de la germinación de semillas de la variedad 'Común'. Árbol de tamaño mediano a grande, más vigoroso que los de variedad 'Verna', con espinas fuertes y muy productivas. Son resistentes tanto a la humedad como a la clorosis, sin embargo, más sensible al frío de la variedad 'Verna' pero se recuperan más rápidamente que estos.



Su floración de primavera es más corta que en el caso de la variedad 'Verna' y se inicia su recolección a principios de octubre y se puede prolongar hasta febrero. En el verano se produce una segunda floración, muy escasa, que da lugar a frutos de mayor tamaño. Tienen un alto contenido en zumo, de elevada acidez y un mayor número de semillas.

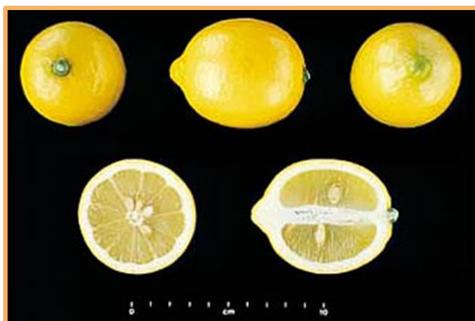


Foto 9. Fruto de variedad de limoneros 'Fino' (Vivecitrus, 2023)

3.2.4 Principales patrones y su uso

La selección de patrones representa, en la actualidad, un aspecto de la máxima importancia en citricultura. La elección del patrón es crucial para el éxito de la plantación, ya que este aporta a la planta el sistema radicular. La función de las raíces es la de absorber agua y nutrientes, acumulan los carbohidratos sintetizados en las hojas, sintetizan algunas hormonas, adaptan las variedades que soportan a las condiciones particulares del suelo, y hasta confieren tolerancia a algunas enfermedades. Cabe destacar que más de 20 características hortícolas de una variedad son influenciadas por el patrón. Sin embargo, el patrón perfecto no existe y su elección debe estar en función de los principales factores limitantes de cada región citrícola, el clima y el tipo de suelo, y la variedad a cultivar. Si el patrón se adapta perfectamente a las condiciones de una determinada área citrícola, su empleo masivo nunca es recomendable por el riesgo innecesario que ello implica frente a la infección de un posible patógeno (M.Agusti, 2003).

Los patrones de mayor interés son los siguientes:

a. Mandarino 'Cleopatra'

Patrón tolerante a la tristeza, exocortis, psoriasis y xyloporosis. También, es resistente a la clorosis férrica y muy resistente a la salinidad.

El comportamiento en vivero no es muy bueno, requiere de hasta dos años de semillero, alargando de este modo el período total de producción de plantones. Su principal defecto es la irregularidad que produce sobre el desarrollo de los árboles, a los que le puede conferir, un vigor reducido. La entrada en producción de la plantación se demora ligeramente, en comparación con otros patrones. A pesar de todo esto, la producción y calidad del fruto de las variedades injertadas sobre él son buenas. Solamente el limonero presenta algunos problemas derivados de un miriñaque pronunciado (M.Agusti, 2003).

b. *Poncirus trifoliata* (Flying Dragon)

Es tolerante a la tristeza, psoriasis, xyloporosis, a los hongos *Phytophthora spp.* y *A.mellea*, así como a nemátodos.



Además, es resistente al frío y a la asfixia radical, se puede cultivar en amplias zonas y se adapta bien a muchos suelos, entre ellos los más pesados y húmedos. El principal inconveniente es su sensibilidad a la caliza activa y a la salinidad.

Es un patrón considerado como poco vigoroso, el suelo ácido puede dar lugar a un desarrollo normal del arbolado. Induce buena productividad y buena calidad del fruto (M.Agusti, 2003).

c. Citrange

Se trata de híbridos intergenéricos, entre *C. sinensis* y *P.trifoliata*, obtenido por W.T.Swingle, el Florencia.

En España, se utiliza generalmente el Citrange ‘Carrizo’, estos presentan sensibilidad al hongo *A. mellea* y una moderada resistencia a *Phytophthora spp.*, aunque en algunas plantaciones jóvenes se han encontrado exudaciones gomosas por encima del nivel del suelo (Forner, 1979). Son tolerantes a la tristeza, psoriasis y xyloporosis, pero son sensibles a exocortis.

Además, son sensibles a la caliza, desarrollando clorosis férrica, y a la salinidad. Poseen compatibilidad con todas las variedades de naranjo dulce, mandarino y pomelo cultivados en España; sólo en algunas variedades de limoneros (‘Eureka’) se ha observado incompatibilidad.

Las variedades cultivadas en ellas presentan excelentes cosechas de una elevada calidad comercial.

d. Forner-Alcaide Nº 5

Este es un híbrido de *P.trifoliata* x *C.resnyi*; árbol de hoja caduca, mayoritariamente trifoliada y frutos pequeños, con abundantes semillas poliembriónicas. Resistente a la tristeza y a los nemátodos, posee mejor tolerancia a la caliza, a la salinidad y a la asfixia radical que el citrange Carrizo, y presenta buena resistencia a los ataques de *Phytophthora spp.*

Se encuentra calificada con semienanzante, alcanzando los árboles establecidos sobre él una reducción de tamaño de un 25% a un 50% respecto a los patrones estándar. Induce elevadas producciones, de excelente calidad, y anticipa ligeramente la maduración del fruto.

3.2.5 Cultivo de cítricos en Canarias (principalmente en Tenerife)

Para el caso de las Islas Canarias, se opta por hablar de los cítricos desde un punto de vista más comercial. Esto permite saber cuándo, cómo y qué variedades son utilizadas sobre todo en la isla de Tenerife. Además, de qué regiones o municipios se dedican al cultivo de cítricos.

La información aportada se divide en cultivo de naranja, limón y mandarina; debido a que son los cultivos más demandados.

En el caso de la naranja los municipios de la isla con mayor superficie cultivada son la de la Orotava, La Laguna, Arona y Los Realejos (MercaTenerife, 2019).

Los principales cultivares de naranjas utilizados en las Islas Canarias son:

Washington Navel, Thomson, Navelina, Newhall, Lane Late y otro grupo a destacar es la ‘Valencia Late’. Por lo general las medias de producción están por debajo de las 20 toneladas, (unos 20 o 30 kg/árbol).

Cabe destacar que en el mercado tiene más presencia en los meses comprendidos entre septiembre y abril, siendo más bajo el resto del año.

El valor del producto local está comprendido entre los 0,50 y poco más de 1 €/Kg. Los máximos se consiguen en los meses de junio y julio y los mínimos desde octubre a principios de año,



coincidiendo con su periodo de máxima producción. Por este motivo, se recomienda ir a variedades tardías y jugar con la recolección y la conservación para poder situar este producto en las épocas de mayor valor (MercaTenerife, 2019).

Para el caso del limón los municipios de la isla de Tenerife donde más se cultiva es el de Tacoronte, La Laguna y Arafo. Donde se destacan las siguientes variedades de limones:

Eureka, Verna y Fino primofiori o Mesero.

Los precios para las variedades locales oscilan entre las 0,70 y 2€/Kg, llegando a los máximos en los meses de agosto a octubre y los mínimos desde diciembre a abril. Es recomendable ir a variedades de cuatro estaciones capaces de dar mayores producciones en los meses estivales (MercaTenerife, 2019).

El siguiente cultivo y el último, es el del mandarino que es cultivado en las islas pertenecientes a la provincia de Santa Cruz de Tenerife. Más concretamente en el municipio de Santa Cruz de La Palma, el La Laguna y Arona, estas dos últimas pertenecen a la isla de Tenerife.

Los grupos cultivados son los siguientes:

Satsumas; dentro de este grupo encontramos las variedades de Okitsu y Clausellina.

Clementinas; en este grupo distinguimos tres variedades que son: Marisol, Clementina de Nules y Clementina fina.

Híbridos; Donde encontramos Ortanique, Fortuna y Clemenvilla o Nova.

Los precios son de una cantidad de entre los 0,90 y los 1,80 €/Kg. Sus máximos de venta son los meses de principios y finales de temporada (septiembre-abril) y mínimos en torno al mes de diciembre (MercaTenerife, 2019).

4. Material y métodos

Para llevar a cabo los objetivos planteados en el presente trabajo de investigación, se recogieron muestras de suelo de un cultivo de cítricos localizado en las instalaciones del Instituto Canario de Investigaciones Agrarias (ICIA) a los cuales se le realizaron una serie de determinaciones (apartado 4.4) para evaluar la diversidad funcional de la microbiota edáfica como un indicador de la salud de los suelos, estudiando la respiración microbiana mediante el método de MicroResp™.

4.1 Localización

La finca objeto de estudio está ubicada en la Isla de Tenerife, conocida bajo el nombre Isamar, que pertenece al Instituto Canario de Investigaciones Agrícolas (ICIA).

Esta parcela ocupa un área de 4.036,3 m², una altura de 278 msnm y su año de plantación fue en el año 2020, únicamente con el cultivo de cítricos.



Foto 10. Imagen obtenida de GRAFCAN (Sistema de información territorial de Canarias).

En la parcela estudiada se incluyeron dos áreas de ensayo, a la izquierda una zona donde se mantuvo el “suelo desnudo”, con la reciente adición de estiércol de vaca y restos de poda en las líneas de plantación de los cultivos de cítricos y a la derecha, una zona donde se incluyeron cubiertas vegetales y setos como infraestructuras ecológicas.

La proporción de finca con cubierta vegetal contenía tanto cubierta floral, como de *Festuca sp.* (césped), localizada en los pasillos entre las alineaciones de plantas/árboles. Por otro lado, las cubiertas vegetales florales fueron situadas en las líneas o camellones, como cubierta o tapiz debajo y alrededor de las plantas de cítricos. De forma general, las cubiertas existentes eran las siguientes:

- **Cubierta de *Festuca elatior* (gramíneas)** a modo de césped en los pasillos entre las líneas de cultivo, para potenciar la aparición de complejos de ácaros depredadores (fitoseidos), abundantes y estables.
- **Cubiertas vegetales florales por combinación de especies vegetales de diferentes familias, brassicas, asteráceas, fabáceas y apiáceas (umbelíferas)** que por sus características pueden ser de gran utilidad para ofrecer recursos alimenticios alternativos, tales como polen y néctar como fuentes de proteínas e hidratos de carbono para los enemigos naturales. En este caso las especies seleccionadas fueron: *Lobularia maritima* (Brassicaceae), *Caléndula arvensis* (Asteraceae), Alfalfa (Fabaceae), tres especies de Trébol (Fabaceae) y *Petroselinum crispum*- perejil (Apiaceae).



Foto 11 y 12. Imágenes de la finca. A la derecha cultivos cubiertos con una capa de estiércol y a la izquierda cultivos con cubierta vegetal y hotel de insectos.

La parcela contó con seis variedades injertadas en cinco patrones diferentes. Flying Dragon, Cleopatra, Citrange Carrizo, Forner Alcaide-517 y Macrophylla fueron los patrones donde se injertaron Star Ruby, Clemenules, Navelina Late, Fino 49, Valencia Late y Ortanique, que son las variedades. Fueron identificadas con un código asignado para cada cultivo, constituido por una letra que representa la variedad y un número que indica el patrón sobre el que se injertó; además, de la posición del cultivo que fue determinada a su vez por una letra y un número que indican la columna y la fila en la que se ubicaron. Es decir, el código fue el siguiente:

Variedad, patrón (columna, fila)

En el Anexo 1 se sitúan los cultivos en sus respectivas posiciones y códigos.

4.2 Toma de muestras

Al considerar que la mayor parte de la vida microbiana se encuentra en las proximidades del cultivo, se extrajeron las muestras alrededor de los árboles, eligiendo únicamente aquellas variedades injertadas sobre el patrón de "Citrange Carrizo". Estos se encuentran distribuidos por toda la finca. Dentro de la zona de plantas sin cubierta se localizaron dos ejemplares para las

variedades de Star Ruby, Valencia Late y Naveline y un ejemplar para Clemenules, Ortanique y Fino 49. Así mismo, en la parte con cubierta vegetal se obtuvieron muestras de dos ejemplares para las variedades de Fino 49, Ortanique, Star Ruby y Clemenules y un ejemplar para Valencia Late y Naveline.

Se recogieron además muestras controles (sin cultivo de cítricos) de los pasillos entre los cultivos, de forma aleatoria, tanto de la parte con cubierta como de la de sin cubierta. El total de muestras obtenidas fue de 39 muestras contando tanto la de suelo de los cultivos como las muestras control, se indica la posición de cada una de las muestras extraídas en el Anexo 2. Cabe destacar que de cada muestra recogida se obtuvieron alrededor de 500 a 1.000 g. Del tratamiento Plantas sin cubierta (PSC) sólo se recogieron 9 muestras, ya que en el momento del ensayo uno de los árboles no presentaba las mismas condiciones que el resto.

- Controles sin cubierta (CSC) = 10 muestras
- Controles con cubierta (CCC) = 10 muestras
- Plantas sin cubierta (PSC) = 9 muestras
- Plantas con cubierta (PCC) = 10 muestras

Para la extracción se hizo uso de un sacho, una barrena manual para perforación y muestreo de suelos, bolsas de plástico transparente, guantes para evitar contaminación de muestras y rotulador para referenciar las muestras.

Primero, se identificaron los árboles y se marcaron para la correcta extracción de las muestras. Con el sacho se eliminaron los restos de plantas, estiércol, cubierta vegetal etc., de la superficie. Se recogieron las muestras a una profundidad de 10 cm aproximadamente con la ayuda de una barrena manual. De cada punto de muestreo se tomaron cuatro submuestras.

4.3 Preparación y análisis de las muestras

Las muestras fueron transportadas al laboratorio en ausencia de luz y evitando el aumento de temperatura respecto a la del muestreo, lo más rápido posible.

Estas fueron distribuidas, conservadas y pretratadas según lo siguiente:

Lo antes posible, se eliminó la vegetación, fauna de gran tamaño y piedras. Dado el grado de humedad de las muestras se dejaron secar al aire hasta alcanzar un valor de humedad que permita un óptimo tamizado. Para ello, en algunas muestras se tuvo que desmenuzar con los dedos y voltear frecuentemente para evitar una desecación excesiva. El secado se realizó evitando la luz directa del sol durante dos semanas como máximo. Una vez que las muestras estaban listas para su análisis se tamizaron con un tamiz igual o inferior a 2 mm y se guardaron en bolsas, en nevera en oscuridad a $4 \pm 2^\circ\text{C}$, teniendo en cuenta el no apilar, cerrar ni introducir grandes cantidades en una misma bolsa. No se deben exceder de los tres meses para las determinaciones por lo que es recomendable analizar las muestras lo antes posible.



Foto 13 y 14. Demostración del tamizado de las muestras y su posterior embolsado con identificación correspondiente.

4.4 Parámetros a evaluar

Con el objeto de establecer la diversidad funcional desde el ensayo MicroResp™ fue necesario determinar previamente la capacidad máxima de retención de agua en muestras sólidas (WHC) y el valor del contenido en agua (humedad), para así poder estimar la cantidad de agua necesaria para el nivel de humedad óptimo y la cantidad de fuente de carbono a adicionar, tal y como se explica posteriormente. Asimismo, para caracterizar la muestra se decidió determinar el contenido en carbonatos y el pH del suelo.

4.4.1 Capacidad máxima de retención de agua (WHC)

La capacidad máxima de retención de agua también conocido como WHC (Water Holding Capacity) se puede definir de forma general como la cantidad de agua que puede contener un suelo a su capacidad de campo, en condiciones naturales. Se trata de una propiedad básica que es necesaria para el estudio del agua disponible para la planta, infiltración, drenaje, estrés hídrico sobre las plantas y movimiento de solutos. Este método estimativo está basado en lo desarrollado por Alf Nannipieri, 1995.

Para hacer esta medición se requirió de embudos de plástico, papel de filtro Albet LabScience DP400150 Y matraces aforados o matraces erlenmeyers de capacidad de 100 ml. Los resultados fueron obtenidos por diferencia de pesos transcurrido un tiempo determinado. El primer peso por realizar fue el del matraz vacío, el siguiente el del embudo con el filtro y, por último, el peso de la muestra a analizar. En esta última pesada se aplicó una cantidad de 20 g de muestra.



100 ml de agua destilada se fueron adicionando poco a poco a los 20 g de muestra colocados en el filtro. Se empezó a añadir el agua y se removió el sólido lo justo para evitar formación de bolsas de aire. Una vez se hizo pasar toda el agua por la muestra, se tapó con papel de aluminio para evitar la evaporación del agua y se dejó en reposo durante unas 20 h a temperatura ambiente. Transcurrido el tiempo requerido, se pesó tanto el agua percolada como, la muestra que absorbió el agua aplicada; de esta forma se calculó el volumen de agua retenida por el suelo. Junto a las muestras se realizó un blanco, que consistió en llevar a cabo el mismo procedimiento, pero sin muestra a agregar. Este valor de blanco se restó al valor de cada ensayo. Se realizaron dos réplicas para cada muestra.

Foto 15. Detalle de la determinación de WHC.

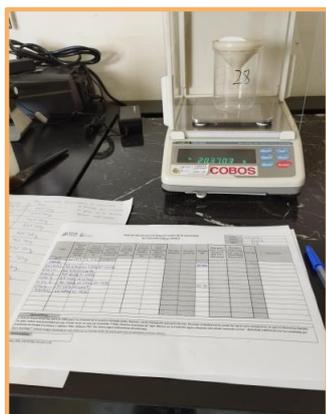


Foto 16 y 17. Muestra del procedimiento para la determinación del WHC de las muestras de Isamar.

4.4.2 Medición de humedad

La humedad se midió mediante el uso de un analizador de humedad (MB120) que al contener un sistema de fuente halógena de calor le permite tener mayor precisión.

La humedad se midió tres veces a lo largo del ensayo, al determinar la capacidad máxima de retención de agua, los carbonatos y al preincubar las muestras para hacer MicroResp™.



Foto 18. Analizador de humedad modelo MB120, marca OHAUS.

4.4.3 Análisis de pH en agua destilada (norma UNE-ISO 10390)

El pH de las muestras se analizó en agua 1:5 (v:v): determinado con electrodo combinado, según método basado en la Norma UNE-ISO 10390:2012 (AENOR, 2012). Los materiales empleados fueron: un agitador magnético, un frasco de cristal transparente de 50 ml con tapa, una cuchara de 5 ml de volumen, una espátula e imanes pequeños. Primero, con una cuchara de volumen de 5 ml se tomó la muestra por encima de dicho volumen y se introdujo en un frasco de cristal con ayuda de un embudo de plástico, a continuación, se añadió 25 ml de agua destilada y se agitó en posición horizontal durante 1 hora en agitación de vaivén a 130 rpm; se dejó en reposo en posición vertical durante otra hora. Tras ajustar el pH-metro y se midió el pH de la suspensión a 25°C con agitación a velocidad 5.



Foto 19, 20 y 21. pH-metro y detalle de la medida de pH

4.4.4 Carbonatos cualitativo y cuantitativo

El contenido de carbonatos se realizó por medición siguiendo un método volumétrico, empleando el sistema de Scheibler. Este sistema permitió medir el volumen de dióxido de carbono producido y de esta forma comparar con el volumen de dióxido de carbono producido por carbonato de calcio puro. Con este método se midieron todos los carbonatos y bicarbonatos presentes en la muestra. Muchos de ellos aparecen en forma de calcita y aragonita (CaCO_3), dolomita ($[\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2]$), siderita (FeCO_3) y rodocrosita (MnCO_3).

Cabe destacar que los suelos con un pH en H_2O inferior a 6,5 contienen carbonatos sólo en circunstancias excepcionales, por ejemplo, encalado reciente o presencia de carbonatos de baja solubilidad como las conchas. Para llevar a cabo el método se necesitó agua, con una conductividad eléctrica específica no superior a 0,2 mS/m a 25°C y ácido clorhídrico c (HCL) = 4 mol/l. Se requirió de recipientes de reacción, de 250 ml de capacidad y cuello ancho, vidrio de reloj y aparato de Scheibler.

Se utilizó un test preliminar con el objetivo de estimar la porción de muestra adecuada necesaria, denominándose medición cualitativa. Se realizó agregando un poco de ácido clorhídrico 4 mol/l a una porción de suelo en un vidrio de reloj. El contenido en carbonato se estimó en base a la intensidad y el tiempo de efervescencia, para ello existe una tabla donde en función de los parámetros mencionados anteriormente se puede determinar la cantidad de

masa de muestra a emplear. En nuestro caso, se utilizó una tabla que permitió acercarse más al valor real (Tabla 3).

Intensidad de la efervescencia	Contenido en carbonato (g/kg)	Contenido en carbonato (%)	Masa de la porción de muestra (g)
Ninguna o limitada	< 20	< 2	10
Clara, pero por poco tiempo	20 – 80	2 – 8	5
Fuerte, durante mucho tiempo	80 – 160	8 – 16	2,5
Muy fuerte, durante mucho tiempo	> 160	> 16	≤ 1

Tabla 3. Tabla para estimar el contenido de carbonato que contienen las muestras de suelo (Norma EN ISO 10693:2014. Calidad del suelo. Determinación del contenido de carbonato. Método Volumétrico. (ISO 10693:1995)).

Tras la determinación cualitativa se pasó a la medición cuantitativa. Las determinaciones se realizaron de forma simultánea en la que cada serie incluyó dos determinaciones de blanco y dos patrones de entre 0,200 g y 0,400 g de carbonato de calcio. Se pesó una cantidad representativa de cada muestra y se transfirió a los recipientes de reacción y se añadieron 20 ml de agua. Se colocaron los recipientes de reacción junto al aparato de Scheibler y se llenó el vaso con 7 ml de ácido clorhídrico 4 mol/l, se insertó con ayuda de unas pinzas en el recipiente de reacción que contenía la porción de muestra. Se llevó a cabo con cuidado para que no hubiera contacto entre el ácido y la muestra antes de conectar el recipiente de reacción al resto del equipo.

Se cerró la llave de paso al exterior y se volvió a controlar el nivel de agua en el tubo. Posteriormente, tras esperar que el sistema se estabilice, se tomaron datos del nivel al que se encontraba el agua destilada. Por último, se añadió con cuidado el ácido del vaso a la muestra inclinando el recipiente de reacción. El gas generado bajó el nivel del agua en el tubo. Para ello, se agitó durante 5 minutos y se anotó el volumen cuando este ya no varió en su valor máximo.



Foto 22. Detalle de la determinación de carbonatos

Se tomaron los valores de la muestra sin la adición de ácido clorhídrico y con la adición del mismo para calcular la diferencia de valores y obtener el contenido en carbonatos para cada muestra.

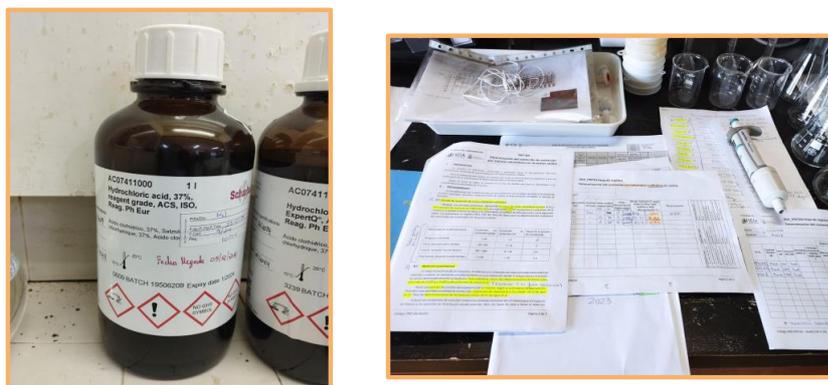


Foto 23 y 24. Material utilizado para la medición, hoja de cálculo para la determinación de Carbonatos en suelo y ácido clorhídrico utilizado para la determinación.

4.5. Determinación de la diversidad funcional mediante el método *MicroResp*TM

El método *MicroResp*TM fue utilizado por ser un sistema de medida de respiración, miniaturizado basado en el uso de microplacas que permite al usuario analizar muestras de suelo hasta en 96 posiciones. Es capaz de analizar una elevada variedad de fuentes de carbono y/o réplicas con reducidas demandas de tiempo, costo y espacio en el laboratorio. Las respuestas que brinda el método reflejan la actividad en lugar del crecimiento de las primeras 4 a 6 horas tras aplicación de las fuentes de carbono medidas con la respiración inducida. Siendo esta una forma de medir la diversidad funcional.

El procedimiento seguido es un procedimiento normalizado de trabajo desarrollado en la Unidad de Laboratorios del ICIA, basado en la optimización del método descrito por Campbell et al. (2003) y detallado en el manual técnico de *MicroResp*TM (Cameron, 2022). A continuación, se resume el procedimiento seguido para el análisis de la respiración del suelo:

4.5.1 Preparación de las placas de detección

En un vaso de precipitado se calentó en baño maría 100 ml de solución indicadora (rojo de cresol) a una temperatura próxima, pero inferior a 65° C. Mientras se prepararon 50 ml de solución agar haciendo uso para su disolución de un microondas. Rápidamente se llevó del microondas al baño maría a temperatura inferior de 65° C y se esperó a que alcance dicha temperatura.

Una vez los reactivos alcanzaron dicha temperatura, se mezclaron en proporción de 1:2 (agar: indicador).

Se dispensaron alícuotas de 150 µL a la placa de detección haciendo uso de una pipeta electrónica de dispensador múltiple para dispensar en caliente y de forma adecuada el volumen necesario. Por lo general, cuando se dispone de 150 ml de agar/indicador se pueden componer de 8 a 9 placas de detección.

Para preparar el rojo de cresol, se requirió de pesar en vasos de precipitado por separado 0,0093 g ± 0,0005 g de rojo de cresol, 8,3850 g ± 0,0010 g de cloruro de potasio y 0,1575 g ± 0,0010 g



de bicarbonato de sodio. Se fue disolviendo en la cantidad de agua destilada a temperatura ambiente mínima necesaria y se enrasó a 500 ml en un matraz aforado. Se almacenó en un recipiente de vidrio en nevera a 2-6 ° C y en oscuridad.

La solución agar (purificado) 3%, se consiguió pesando y disolviendo 1,5-0,01 g de agar en un vaso de precipitado y añadiendo con una probeta 50 ml de agua destilada, para luego ser disueltos en microondas como anteriormente se mencionó.



Foto 25 y 26. Baño maría de agar/indicador (150 ml) e imagen de la disolución dispensada en las placas de detección.

En cuanto a las placas, una vez preparadas se dejaron en oscuridad, a temperatura ambiente y descubiertas durante dos días en un recipiente cerrado para que se equilibren los reactivos. Para evitar el consumo del reactivo por contaminación de dióxido de carbono, siempre se coloca junto a las placas Sodalime y agua del grifo para garantizar el equilibrio con el grado de humedad.

4.5.2 Pre-incubación

a) Preparación de placas de muestra

Se preparó una plantilla por placa de muestra que demostró el posicionamiento de las fuentes de carbono y las muestras. Las plantillas se incluyeron en el Anexo 3, que contiene una hoja de datos primarios necesarios para la determinación de MicroResp™. Hay que tener en cuenta que la placa de detección estuvo invertida en la parte superior de la placa de muestra y se leyó en el espectrofotómetro “al revés” de la disposición de las muestras en la placa (es decir, la posición A1 correspondió con la posición A12).

Para este caso se decidió dispensar en todas las placas la muestra en 88 pocillos y los 8 restantes se dejaron libres.

Pi	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

Imagen 1. Representación de una placa de muestra con la distribución escogida para el estudio.

Las placas de muestra o placas Deepwell, se prepararon agregando la muestra al pocillo y se pre-incubaron antes de agregar las fuentes de carbono. A modo de orientación la cantidad media de muestra necesaria para una placa de 96 pocillos fue de 35 a 60 g de peso en fresco. Fue importante conseguir que las muestras tuvieran el contenido en humedad ideal permitiendo caer fácilmente a través del dispositivo de llenado. Se determinó el contenido en humedad de cada una de las muestras el día de la pre-incubación.

Se montó el sistema, placa Deepwell y dispositivo de llenado con la lámina flexible deslizante en medio. Se completó con muestra el dispositivo de llenado, añadiendo la muestra con la ayuda de una cuchara sobre los orificios del dispositivo de llenado, y se realizaron movimientos circulares con las yemas de los dedos para llenar los orificios. Evitando la compactación, sin presionar la muestra con demasiada fuerza en los orificios.

Una vez lleno, se sostuvo el dispositivo de llenado y la placa juntos y se dió un golpe fuerte y así se asentó la muestra. Se volvió a llenar la muestra asegurando que los orificios estuvieran llenos uniformemente.

Seguidamente, mientras se sujetaba el dispositivo de llenado, se retiró la lámina flexible deslizante con un movimiento rápido. Dando un golpe a la placa para asegurar que ha bajado toda la muestra.

Para poder realizar los cálculos de la muestra en cada pocillo se pesó la placa de muestra antes y después de cada dispensación y se dividió entre el número de pocillos que se han ocupado.



Foto 27. Dispensación de las muestras en placas de muestra.

b) Pre incubación de las muestras

Previo a colocar las placas dentro de la incubadora para la pre incubación, las placas de muestra dispensadas fueron ajustadas al 60 % de la capacidad máxima de retención de agua (WHC), añadiendo agua destilada libre de dióxido de carbono.

Las placas de muestra se pre incubaron durante 7 días en incubadora a 22 ± 2 ° C. Estas se colocaron en un recipiente cerrado que permitió la circulación de aire para controlar el nivel de oxígeno y evitar condiciones anóxicas; en el fondo del recipiente se añadió agua a razón de 4 ml por litro de recipiente para mantener la humedad de la muestra y Sodalime para la absorción de las emisiones de dióxido de carbono durante la preincubación. El recipiente se abrió cada tres días para permitir la completa renovación del aire.



Foto 28. Cajas de plástico utilizadas para la pre-incubación de las placas de muestra en la incubadora.

4.5.3 Preparación de las fuentes de carbono

A la hora de preparar las fuentes de carbono para la determinación de la respiración inducida con el método de *MicroRespTM*, se siguió el protocolo otorgado por la misma empresa.

Dichas fuentes de carbono se prepararon a razón de 30 mg por gramo de agua del suelo.

Para este cálculo se necesitó saber:

- Peso (g) de suelo en cada pozo
- Contenido de humedad del suelo (Smc)

Se utilizó la siguiente fórmula: $((\%smc/100) \times g \text{ suelo por pozo}) \times 30$

En total se estudiaron 18 fuentes de carbono, cuya fuente varió desde un azúcar, un aminoácido, un ácido carboxílico, un polisacárido, una amina hasta un fenol.

Se creó una tabla con la información de mayor relevancia de cada una de las fuentes de carbono elegidos (Tabla 4).

Fuentes de carbono	g recipiente	PM	FÓRMULA	TIPO DE FUENTE	mg sustrato/g agua	Grupo funcional
(C2) D(+)-Glucose	1.000	180,16	C6H12O6	C	30	sugar
(C3) D-Fructose	250	180,16	C6H12O6	C	30	sugar
(C4) D-(+)-Galactosa	100	180,16	C6H12O6	C	30	sugar
(C5) D-trehalose anhydrous	100	342,3	C12H22O11	C	30	sugar
(C6) L-(+)-arabinose	100	150,13	C5H10O5	C	30	sugar
(C7) ácido cítrico anhidro	500	192,13	(HOOCCH ₂) ₂ C(OH)COOH	C	30	carboxylic acid
(C8) L(-)-Malic acid	100	134,09	C4H6O5	C	30	carboxylic acid
(C9) 2-ketoglutaric acid	100	146,11	C5H6O5	C	30	carboxylic acid
(C10) 4-Aminibutyric acid	100	103,12	C4H9NO2	C + N	30	amino acid
(C11) L(+)-lysine monohydrochloride	250	182,65	C6H14N2O2·HCl	C + N	30	amino acid
(C12) L-Cysteine hydrochloride monohydrate	100	175,63	C3H7NO2S·HCl·H2O	C + N	30	amino acid
(C13) 2-acetamido-2-deoxy-D-glucopyranose	100	221,21	C8H15NO	C + N	30	amine
(C14) oxalic acid anhydrous	250	90,034	C2H2O4	C	15	carboxylic acid
(C15) alpha-cyclodextrin hydrate	25	972,85	C36H60O30	C	7,5	polysaccharide
(C16) L-arginina	100	174,2	C6H14N4O2	C + N	7,5	amino acid
(C17) 3,4-Dihydroxybenzoic acid	100	154,12	C7H6O4	C	3	phenolic
(C18) Syringic acid	25	198,17	C9H10O5	C	3	phenolic
(C19) 4-hydroxy-3-methoxybenzoic acid	25	168,15	C8H8O4	C	3	phenolic

Tabla 4. Fuentes de carbono elegidas para determinar la respiración inducida de las muestras con sus características y los mg de fuentes de carbono requeridas por g de agua. C1 representa el agua agregada en RB (que no se consideró a la hora de obtener los resultados) y los sustratos comienzan desde C2. (Solubilidades aportadas por [MicroResp™](#) y elaboración propia).

Una vez clara la solubilidad de cada una de las fuentes de carbono se realizaron pruebas para comprobar la veracidad de los datos proporcionados y se observó cómo actuaron, es decir, si estos precipitaron a temperatura ambiente transcurrido un tiempo determinado o si lo hicieron una vez almacenados en nevera a 4°C durante dos semanas.

Para facilitar el manejo de las 18 fuentes de carbono se decidió enumerarlos y de esta forma identificarlos de una forma más sencilla como la que se muestra en la Tabla 4.

Las 16 primeras se lograron disolver a temperatura ambiente y con agitación mecánica, mediante el uso de un vortex.

Syringic acid y 4-hydroxy-3-methoxybenzoic acid; recibieron un tratamiento distinto que el resto.

Estas se lograron disolver en ultrasonido con temperatura comprendida entre 45-60 ° C y durante aproximadamente 30 minutos. Ambas fuentes de carbono, tras las 24-48 horas en nevera, precipitaron, por lo que cada vez que se fueron a emplear, pasaron por ultrasonido a la temperatura y el tiempo mencionados.

Al contar con 18 fuentes de carbono se debió adaptar a cada uno de los pocillos para tener en cuenta la cantidad de agua existente en el suelo de dichos pocillos; teniendo que preparar por cada pocillo 18 disoluciones de las distintas fuentes de carbono convirtiéndose en un sistema laborioso y difícil de realizar. Por ello, se decidió obtener un fuente de carbono madre de aquel pocillo que contenía mayor cantidad de agua en el suelo y de esta muestra derivar las demás disoluciones en función de sus contenidos



Foto 29. Detalle de las fuentes de carbono empleadas.



en agua. Esto se realizó de dicha forma porque al tratarse de muestras de suelo de una misma finca, las características son similares.

Los resultados se proporcionaron en μL de sustancia madre y μL de agua para diluir en el caso de las fuentes de carbono que no sean la sustancia madre. Para el caso de la sustancia madre los resultados se dieron en g de sustrato en 10 ml para "x" mg de sustrato/ g agua en alícuotas de 25 μL .

Por lo general, las disoluciones fueron preparadas el día antes de la lectura de las muestras pre-incubadas para ser añadidas el día que se va a realizar la lectura de los pocillos.

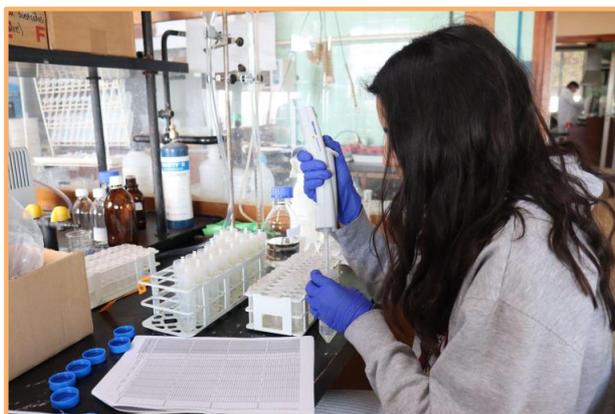


Foto 30. Preparación de las disoluciones de las fuentes de carbono necesarias para la lectura del día posterior a la preparación.

4.5.4 Lectura

Previo al momento del ensayo se prepararon y se sacaron de la nevera las disoluciones necesarias de fuentes de carbono para que alcanzaran temperatura ambiente. Además, se sacaron las muestras pre-incubadas para llevarlas a temperatura ambiente. Se verificó que el suelo no contenía plantas germinadas.

Las medidas de absorbancia se obtuvieron mediante espectrofotómetro que se encendió al menos 30 minutos antes de su uso. Es recomendable pasar diariamente antes de su uso, el test de aptitud del fabricante del equipo.

Las placas de detección se sacaron de la nevera 24 horas antes de realizar la lectura para conseguir una estabilización de temperatura, almacenando las placas en oscuridad a temperatura ambiente en un desecador de vacío con 50 ml de agua del grifo y 10 ml de Sodalime sólido por cada 8 a 9 placas.

Se realizó la primera lectura a tiempo 0 horas a 572 nm de longitud de onda para confirmar que cumple con el criterio establecido y obtener la lectura en dicho tiempo.

Se detectó con esta práctica el cumplimiento del criterio establecido de coeficiente de variación $\leq 5\%$.

Tras la conformidad de la placa de detección y lo antes posible, se añadió 25 μL de agua destilada en ausencia de dióxido de carbono para respiración basal y 25 μL de la concentración de las

fuentes de carbono para respiración inducida a los pocillos planificados para cada caso según la Hoja de datos primarios necesarios para la determinación de MicroResp™ presentada en el Anexo 3. Para ello se empleó pipeta electrónica de dispensador múltiple con puntas de pipeta de desplazamiento positivo.

Se obtuvieron:

- 4 réplicas para cada fuente de carbono.
- 16 réplicas para respiración basal

ENS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C				C18	C16	C14	C12	C10	C8	C6	C4	C2
D												
E												
F				C19	C17	C15	C13	C11	C9	C7	C5	C3
G												
H												

Imagen 2. Distribución de las fuentes de carbono y agua a aplicar en las placas de muestras.

Posteriormente, se colocó el sello de goma entre la placa de detección y el pocillo presionando uniformemente, asegurando el sistema con las abrazaderas e introduciendo en la incubadora a $22 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 4 horas.

Transcurridas las 4 horas, se desmontó el sistema y se leyeron las placas de detección en el espectrofotómetro con lector de placas a la misma longitud de onda.

Los resultados otorgados por el espectrofotómetro a tiempo 0 y 4 horas, son tratados para calcular la cantidad de $C - \text{CO}_2$ x kg de suelo y hora.



Foto 31 y 32. Sistema de abrazaderas instalado para esperar a la actuación del agua y las fuentes de carbono añadidos y foto del espectrofotómetro utilizado para la obtención de datos de capacidad de 572 nm de longitud de onda.



4.6 Análisis estadístico de los resultados

Los resultados fueron analizados estadísticamente, usando el programa estadístico Statgraphics Centurion 18, v18.1.14. Se aplicaron dos pruebas, el test de Dixon y gráficos de cajas y bigotes, con el objetivo de detectar datos anómalos en el grupo de datos, después de comprobar su normalidad mediante estadístico W de Shapiro-Wilk. Mediante análisis de la varianza (ANOVA) se evaluó el efecto de las distintas fuentes de carbono estudiadas en las variedades de cítricos ensayados bajo diferente manejo agroecológico (cubierta y sin cubierta vegetal). Las medidas se compararon mediante el test de rango múltiple de LSD (Least significant difference) de Fisher ($p \leq 0,050$).



5. Resultados y discusión

Para cumplir con los objetivos de este trabajo se realizó un ensayo con suelos de cítricos bajo diferentes manejos agroecológicos a los cuales se adicionaron una serie de fuentes de carbono para poder evaluar mediante la respiración microbiana, la diversidad funcional de la microbiota edáfica de este cultivo.

A continuación, se muestran los efectos de los diferentes tratamientos sobre las determinaciones realizadas para el método miniaturizado de MicroResp™ en las distintas variedades estudiadas.

- Capacidad de retención máxima de agua (WHC)

Se muestran en la Tabla 5 los valores promedios obtenidos en WHC (Water Holding Capacity, %) para los diferentes tratamientos realizados en las seis variedades de cítricos de la finca estudiada.

Tabla 5. Efecto de la presencia o ausencia de cubiertas vegetales y del cultivo de diferentes variedades injertadas de cítricos, sobre la capacidad de retención de agua de los suelos estudiados.

WHC (Water Holding Capacity, %)		
Variedades	Tratamientos	
	Con Cubierta	Sin Cubierta
Control	51,6 a/B	57 a/A
Fino 49	55,6 a/ A	51,5 ab/ A
Clemenules	49,2 a/B	52,2 ab/A
Ortanique	54,6 a/A	47,5 b/A
Valencia Late	57,4 a/A	47,9 b/A
Star Ruby	58,1 a/A	57,9 a/A
Navelina	51,5 a/A	48,0 b/A

Los resultados de la WHC son media de 10 réplicas independientes para los controles y 1-2 réplicas independientes para cada variedad de cítrico y al menos 2 réplicas de laboratorio, Letras minúsculas distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre variedades. Letras mayúsculas distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre tratamientos con cubierta y sin cubierta para cada variedad por separado.

En el momento del ensayo, las capacidades de retención de agua de las muestras obtenidas de la parte con cubierta vegetal no presentaron diferencias significativas entre las variedades de cítricos estudiadas y el control (sin planta). Sin embargo, sí que hubo diferencias en las muestras recogidas de la parte sin cubierta.

- Humedad

Se muestran en la Tabla 6 los valores promedios obtenidos en Humedad (%) para los diferentes tratamientos realizados en las seis variedades de cítricos de la finca estudiada.



Tabla 6. Efecto de la presencia o ausencia de cubiertas vegetales y del cultivo de diferentes variedades injertadas de cítricos, sobre la humedad de los suelos estudiados.

Humedad (%)		
Variedades	Tratamientos	
	Con Cubierta	Sin Cubierta
Control	17,5 a/A	15,2 a/B
Fino 49	19 a/A	16,5 a/A
Ortanique	18,4 a/A	15,6 a/A
Valencia Late	20,3 a/A	16,7 a/B
Star Ruby	19,5 a/A	19,2 a/A
Clemenules	18,3 a/A	18,1 a/A
Navelina	18,1 a/A	18,2 a/A

Los resultados de Humedad son media de 10 réplicas independientes para los controles y 1-2 réplicas independientes para cada variedad de cítrico y 1 réplicas de laboratorio, Letras minúsculas distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre variedades. Letras mayúsculas distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre tratamientos con cubierta y sin cubierta para cada variedad por separado.

No se mostraron diferencias significativas entre las distintas variedades estudiadas y el control independientemente de que dispusieran de cubierta vegetal o no, En general las muestras provenientes de los suelos con cubierta presentaron unos porcentajes de humedad mayores debido a la presencia de las especies vegetales utilizadas en la cubierta.

- **pH en agua destilada**

Se muestran en la Tabla 7 los valores promedios obtenidos en pH para los diferentes tratamientos realizados en las seis variedades de cítricos de la finca estudiada.

Tabla 7. Efecto de la presencia o ausencia de cubiertas vegetales y del cultivo de diferentes variedades injertadas de cítricos, sobre el pH de los suelos estudiados.

pH en H2O 1:5		
Variedades	Tratamientos	
	Con Cubierta	Sin Cubierta
Control	8,8 a/A	7,8 a/B
Fino 49	8,5 bc/A	7,6 a/B
Ortanique	8,6 ab/A	7,9 a/B
Valencia Late	8,1 c/A	7,9 a/A
Star Ruby	8,4 bc/A	7,9 a/A
Clemenules	8,3 bc/A	7,8 a/B
Navelina	8,2 c/A	7,8 a/A

Los resultados de pH son media de 10 réplicas independientes para los controles y 1-2 réplicas independientes para cada variedad de cítrico y 1 réplica de laboratorio. Letras minúsculas distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre variedades, Letras mayúsculas distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre tratamientos con cubierta y sin cubierta para cada variedad por separado.

Los valores de pH de todas las muestras varían en torno a 7,6-8,8, valores habituales en esta finca. Cuando las distintas variedades y los controles disponen de cubierta vegetal existen



diferencias significativas obteniéndose el mayor valor para los controles provenientes de los pasillos donde solo había una especie vegetal sembrada.

- **Carbonatos cuantitativos**

Se muestran en la Tabla 8 los valores promedios obtenidos en carbonatos (g/kg equivalentes de CaCO₃) para los diferentes tratamientos realizados en las seis variedades de cítricos de la finca estudiada.

Tabla 8. Efecto de la presencia o ausencia de cubiertas vegetales y del cultivo de diferentes variedades injertadas de cítricos, sobre los carbonatos de los suelos estudiados.

Carbonatos (g/kg equivalentes de CaCO ₃)		
Variedades	Tratamientos	
	Con Cubierta	Sin Cubierta
Control	0,47 ab/A	0,24 a/B
Fino 49	0,31 b/A	0,33 a/A
Ortanique	0,75 a/A	0,12 a/A
Valencia Late	0,30 ab/A	0,21 a/A
Star Ruby	0,63 ab/A	0,29 a/A
Clemenules	0,36 ab/A	0,22 a/A
Navelina	0,42 ab/A	0,29 a/A

Los resultados de Carbonatos son media de 10 réplicas independientes para los controles y 1-2 réplicas independientes para cada variedad de cítrico y al menos 1 réplicas de laboratorio. Letras minúsculas distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre variedades, Letras mayúsculas distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre tratamientos con cubierta y sin cubierta para cada variedad por separado.

En el momento del ensayo, cabe destacar que para los tratamientos con y sin cubierta solo existen diferencias significativas entre los controles. Las muestras obtenidas de la parte con cubierta vegetal presentaron diferencias significativas entre las variedades de cítricos estudiadas y el control (sin planta), sin embargo, no ocurrió lo mismo para las muestras sin cubierta donde no hubo diferencias.



- **Evaluación de la respiración inducida por variedad de cítrico para cada fuente de carbono analizadas según tratamiento con cubierta vegetal y sin cubierta vegetal.**

Se muestran en las Tabla 9, 10, 11 y 12 los valores promedios obtenidos en la respiración inducida SIR, para los diferentes tratamientos realizados en las seis variedades de cítricos de la finca estudiada.

- **Variedades con cubierta vegetal**

Tablas 9 y 10. Efecto de la adición de distintas fuentes de carbono, sobre la respiración inducida, (SIR) en las seis variedades de cítricos con diferentes manejos agroecológicos (presencia de cubiertas vegetales).

	Variedades	Respiración inducida, SIR (mg C-CO ₂ /Kg muestra seca/día)								
		C18	C19	C16	C17	C14	C15	C12	C13	C10
Con Cubierta	Control	3,1 ± 1,53 bc	1,1 ± 1,32 b	-1,8 ± 0,80 bc	3,8 ± 1,98 b	10,1 ± 4,51 b	0,9 ± 0,91 abc	8,1 ± 2,70 b	2,6 ± 1,38 d	94,57 ± 28,23 b
	Fino 49	5,2 ± 2,61 a	2,2 ± 1,42 ab	-1,3 ± 0,94 b	6,7 ± 3,06 a	11,9 ± 4,32 ab	2,04 ± 0,52 a	9,9 ± 1,73 ab	7,2 ± 1,58 ab	108,91 ± 24,17 b
	Ortanique	2,3 ± 1,24 c	-0,3 ± 1,19 c	-2,5 ± 1,07 c	3,0 ± 2,09 b	14,1 ± 2,02 a	0,38 ± 1,74 c	8,6 ± 2,42 ab	2,2 ± 1,14 d	91,38 ± 36,53 b
	Valencia Late	3,32 ± 0,44 abc	1,45 ± 0,26 b	-2,7 ± 0,15 c	5,49 ± 2,57 ab	10,39 ± 1,09 ab	1,83 ± 0,29 ab	7,97 ± 0,38 b	3,01 ± 0,34 cd	157,60 ± 17,82 a
	Star Ruby	4,2 ± 0,71 ab	1,5 ± 0,60 b	-1,1 ± 0,57 b	5,7 ± 2,32 a	14,8 ± 2,15 a	0,9 ± 1,26 abc	11,4 ± 3,56 a	5,0 ± 2,93 bc	97,23 ± 36 b
	Clemenules	4,1 ± 1,96 abc	3,1 ± 1,49 a	0,3 ± 1,05 a	5,8 ± 1,76 a	11,3 ± 2,92 ab	0,88 ± 0,23 abc	8,4 ± 3,46 ab	7,8 ± 4,64 a	77,96 ± 13,67 b
	Naveline	3,7 ± 0,08 abc	2,5 ± 0,19 ab	0,2 ± 0,20 a	6,5 ± 0,38 a	13,8 ± 2,93 ab	1,3 ± 0,24 abc	11,4 ± 0,29 a	4,4 ± 0,32 bcd	95,29 ± 13,57 b
	p	0.041	0.0007	0.0000	0.0088	0.0766	0.1045	0.0855	0.0000	0.0115

Los resultados de la respiración son media ± desviación estándar de 10 réplicas independientes para los controles y 1-2 réplicas independientes para cada variedad de cítrico y al menos 3-4 réplicas de laboratorio. Letras minúsculas distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre el control y las diferentes variedades injertadas para cada fuente de carbono.

	Variedades	Respiración inducida, SIR (mg C-CO ₂ /Kg muestra seca/día)								
		C11	C8	C9	C6	C7	C4	C5	C2	C3
Con Cubierta	Control	6,18 ± 12,58 a	3,65 ± 1,21 c	16,56 ± 10,32 c	34,33 ± 13,80 c	1,54 ± 1,14 bc	7,30 ± 11,09 a	4,37 ± 1,33 cd	6,65 ± 2,04 c	6,78 ± 2,62 b
	Fino 49	2,86 ± 1,77 a	5,73 ± 0,66 ab	29,07 ± 15,34 bc	43,30 ± 4,07 bc	2,92 ± 1,02 a	7,38 ± 0,72 a	6,80 ± 0,91 b	12,19 ± 3,04 a	11,87 ± 1,17 a
	Ortanique	0,50 ± 0,63 a	3,86 ± 1,22 c	24,77 ± 3,50 bc	43,20 ± 12,42 bc	0,93 ± 0,65 c	4,51 ± 1,24 a	2,96 ± 1,75 d	7,67 ± 3,71 bc	6,45 ± 2,74 b
	Valencia Late	1,34 ± 0,37 a	4,06 ± 0,22 bc	26,52 ± 1,95 a	67,00 ± 8,28 a	2,81 ± 0,36 ab	6,74 ± 1,0 a	6,72 ± 0,77 bc	8,83 ± 0,99 abc	8,55 ± 0,97 ab
	Star Ruby	1,99 ± 1,32 a	5,97 ± 0,63 a	29,34 ± 7,11 b	46,95 ± 18,0 b	3,10 ± 1,52 a	7,30 ± 1,61 a	5,59 ± 2,09 bc	9,68 ± 2,89 ab	9,75 ± 1,85 a
	Clemenules	2,11 ± 1,27 a	5,71 ± 0,95 ab	22,87 ± 4,57 c	30,25 ± 2,03 c	2,68 ± 1,15 a	7,37 ± 2,69 a	6,23 ± 4,19 b	10,37 ± 2,82 ab	9,92 ± 1,93 a
	Naveline	2,68 ± 0,21 a	4,24 ± 0,20 abc	35,30 ± 4,97 abc	46,92 ± 3,90 abc	2,54 ± 0,11 ab	8,74 ± 0,75 a	10,14 ± 3,97 a	10,39 ± 1,71 ab	9,75 ± 0,13 a
	p	0.835	0.0000	0.0011	0.0011	0.0017	0.9932	0.0001	0.0001	0.0002

Los resultados de la respiración son media ± desviación estándar de 10 réplicas independientes para los controles y 1-2 réplicas independientes para cada variedad de cítrico y al menos 3-4 réplicas de laboratorio. Letras minúsculas distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre el control y las diferentes variedades injertadas para cada fuente de carbono.

Para la mayoría de las fuentes de carbono estudiadas, existen diferencias significativas entre las distintas variedades injertadas y el control, siendo las variedades Fino 49, Clemenules y Star Ruby las de mayores resultados en los suelos con cubiertas.

- **Variedades sin cubierta vegetal**

Tablas 11 y 12. Efecto de la adición de distintas fuentes de carbono sobre la respiración inducida, (SIR) en las seis variedades de cítricos con diferentes manejos agroecológicos (ausencia de cubiertas vegetales).



	Variedades	Respiración inducida, SIR (mg C-CO ₂ /Kg muestra seca/día)								
		C18	C19	C16	C17	C14	C15	C12	C13	C10
Sin Cubierta	Control	7,0 ± 3,3 ab	5,1 ± 1,75 b	2,2 ± 4,12 a	8,3 ± 3,49 a	10,7 ± 5,06 a	5,0 ± 2,12 ab	9,3 ± 3,75 b	8,8 ± 2,49 b	84,4 ± 12,18 b
	Fino 49	9,6 ± 1,87 a	9,3 ± 1,94 a	0,8 ± 1,37 a	9,5 ± 1,45 a	13,8 ± 3,80 a	6,4 ± 2,70 a	15,4 ± 2,56 a	17,9 ± 4,75 a	111,05 ± 8,86 a
	Ortanique	6,4 ± 0,08 abc	3,6 ± 0,79 bc	-0,7 ± 0,06 a	5,2 ± 0,94 ab	7,5 ± 0,28 a	1,5 ± 0,01 c	7,0 ± 0,27 b	3,8 ± 0,27 c	104,51 ± 3,41 b
	Valencia Late	4,28 ± 0,94 bc	3,0 ± 1,77 c	1,03 ± 2,78 a	4,4 ± 3,46 b	9,5 ± 4,44 a	2,3 ± 1,02 c	7,43 ± 2,74 b	5,01 ± 3,43 c	77,8 ± 24,54 b
	Star Ruby	2,9 ± 1,44 c	3,9 ± 0,67 bc	3,4 ± 4,96 a	3,9 ± 1,19 b	10,6 ± 3,57 a	3,2 ± 2,22 bc	10,3 ± 1,48 b	4,8 ± 1,37 c	111,63 ± 14,08a
	Clemenules	6,8 ± 2,07abc	3,9 ± 0,76 bc	2,6 ± 0,30 a	7,6 ± 0,09 ab	13,3 ± 0,57a	2,8 ± 0,23 bc	8,5 ± 0,57 b	5,7 ± 0,38 c	113,81 ± 7,17 a
	Navelina	4,8 ± 4,86 bc	4,2 ± 3,79 bc	-0,41 ± 0,84 a	4,7 ± 3,79 b	8,8 ± 3,95 a	2,2 ± 2,48 c	6,6 ± 3,78 b	6,2 ± 4,50 c	94,78 ± 21,67ab
<i>p</i>	0.0227	0.0012	0.4657	0.008	0.5109	0.0034	0.014	0.0000	0.0001	

Los resultados de la respiración son media ± desviación estándar de 10 réplicas independientes para los controles y 1-2 réplicas independientes para cada variedad de cítrico y al menos 3-4 réplicas de laboratorio. Letras minúsculas distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre el control y las diferentes variedades injertadas para cada fuente de carbono.

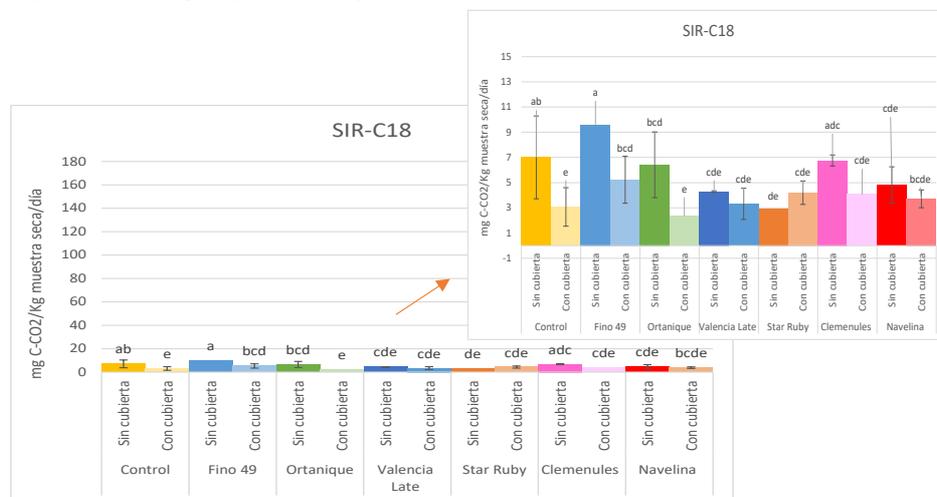
	Variedades	Respiración inducida, SIR (mg C-CO ₂ /Kg muestra seca/día)								
		C11	C8	C9	C6	C7	C4	C5	C2	C3
Sin Cubierta	Control	4,57 ± 2,21 b	8,72 ± 2,52 a	26,47 ± 4,90 a	34,95 ± 5,21 bc	6,47 ± 2,77 a	14,90 ± 4,02 a	11,30 ± 5,09 ab	20,47 ± 6,91 a	17,93 ± 4,06 a
	Fino 49	3,25 ± 2,20 b	8,03 ± 1,94 abc	27,51 ± 4,25 a	55,49 ± 20,08 a	8,06 ± 1,49 a	18,21 ± 1,49 a	14,92 ± 3,06 a	23,76 ± 2,81 ab	11,69 ± 4,88 b
	Ortanique	2,77 ± 0,41 b	4,39 ± 0,28 bcd	20,84 ± 0,53 ab	43,32 ± 3,80 ab	4,62 ± 1,06 ab	5,78 ± 0,28 b	4,94 ± 0,80 c	8,42 ± 0,01 c	7,00 ± 0,62 b
	Valencia Late	3,18 ± 3,09 b	7,22 ± 5,05 abc	18,51 ± 4,69 b	36,99 ± 6,66 bc	4,51 ± 4,64 ab	9,82 ± 6,53 b	7,38 ± 3,44 c	10,14 ± 3,91 c	9,23 ± 4,42 b
	Star Ruby	2,75 ± 0,69 a	8,18 ± 2,42 ab	27,27 ± 5,74 a	48,14 ± 15,61 a	4,22 ± 3,04 ab	8,45 ± 4,24 b	7,28 ± 1,51 c	11,54 ± 4,13 c	11,54 ± 3,81 b
	Clemenules	2,96 ± 0,87 b	5,96 ± 0,53 abcd	27,88 ± 2,05 a	42,68 ± 1,10 b	3,99 ± 0,80 ab	7,39 ± 1,33 b	7,53 ± 1,37 bc	13,06 ± 1,36 bc	9,96 ± 1,10 b
	Navelina	1,32 ± 0,87 a	4,92 ± 2,83 cd	15,36 ± 5,70 b	33,86 ± 6,70 bc	3,17 ± 2,24 b	7,95 ± 4,84 b	5,55 ± 2,75 c	11,46 ± 5,60 c	8,68 ± 4,28 b
<i>p</i>	0.0000	0.0008	0.0000	0.0000	0.0574	0.0000	0.0045	0.0001	0.0000	

Los resultados de la respiración son media ± desviación estándar de 10 réplicas independientes para los controles y 1-2 réplicas independientes para cada variedad de cítrico y al menos 3-4 réplicas de laboratorio. Letras minúsculas distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre el control y las diferentes variedades injertadas para cada fuente de carbono.

Para la mayoría de las fuentes de carbono estudiadas, existen diferencias significativas entre las distintas variedades injertadas y el control, siendo la variedad Fino 49 la que dio mejores resultados en los suelos sin cubiertas. Además, se ven aumentados los efectos en los suelos pertenecientes a la zona sin cubierta vegetal frente a las que si tenían cubierta.

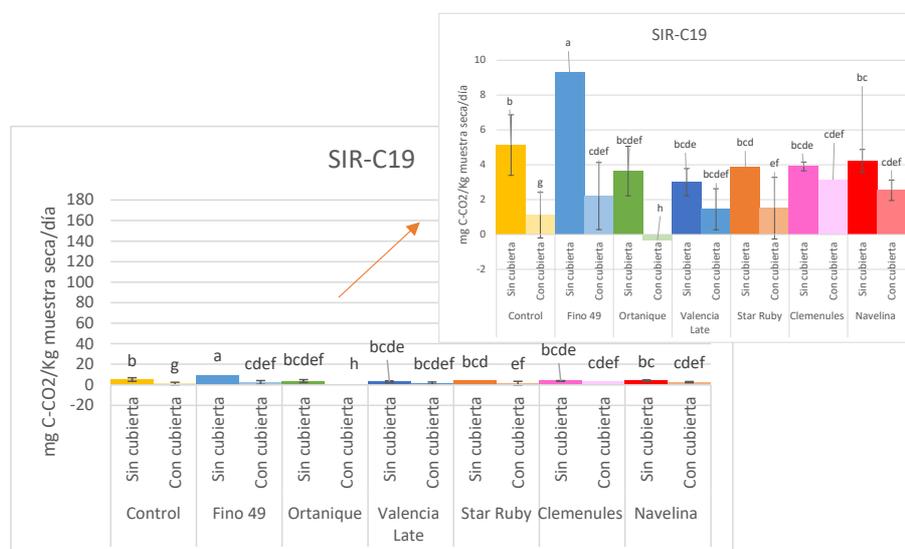
En las siguientes Figuras (2 a la 19) que constan de una a dos gráficas, se muestran los efectos de la respiración inducida (SIR) de cada una de las fuentes de carbono sobre los suelos de las variedades injertadas y del control con cubiertas vegetales y sin cubiertas vegetales. La gráfica más grande de cada figura está ajustada al valor mayor obtenido de todas las fuentes de carbono utilizadas y la gráfica más pequeña es una ampliación de la misma para observar de forma más detallada las diferencias entre variedades de cítricos estudiadas para esa fuente de carbono, sin ajuste del eje.

Figura 2. Efecto sobre la biomasa microbiana (respiración inducida, SIR) de los suelos de diferentes variedades de cítricos y un control sin planta en presencia y ausencia de cubiertas vegetales, a los que se les ha incorporado la fuente de carbono C18 (Syringic acid). Incluye ampliación de la figura para una mejor visualización.



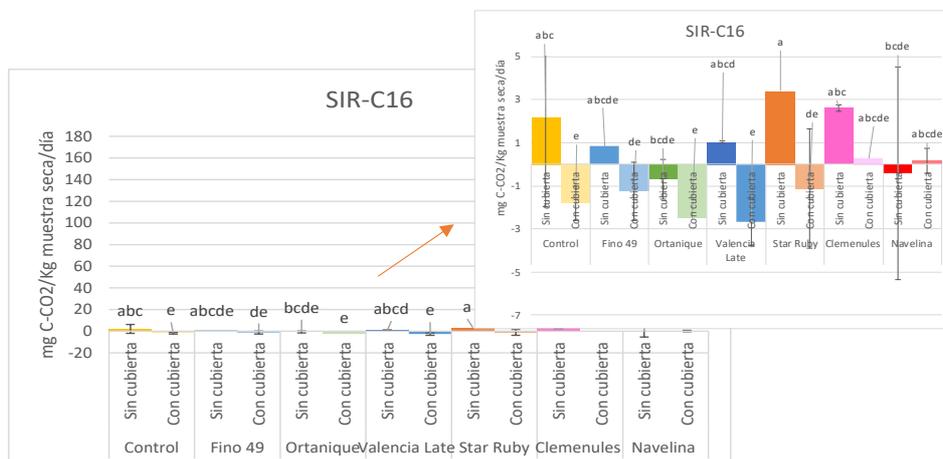
Los resultados de la SIR son media \pm desviación estándar de 4 réplicas independientes, para controles y variedades respectivamente. Letras distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre el control y las distintas variedades para la fuente de carbono C18 en presencia y ausencia de cubiertas vegetales.

Figura 3. Efecto sobre la biomasa microbiana (respiración inducida, SIR) de los suelos de diferentes variedades de cítricos y un control sin planta en presencia y ausencia de cubiertas vegetales, a los que se les ha incorporado la fuente de carbono C19 (4-hydroxy-3-methoxybenzoic acid). Incluye ampliación de la figura para una mejor visualización.



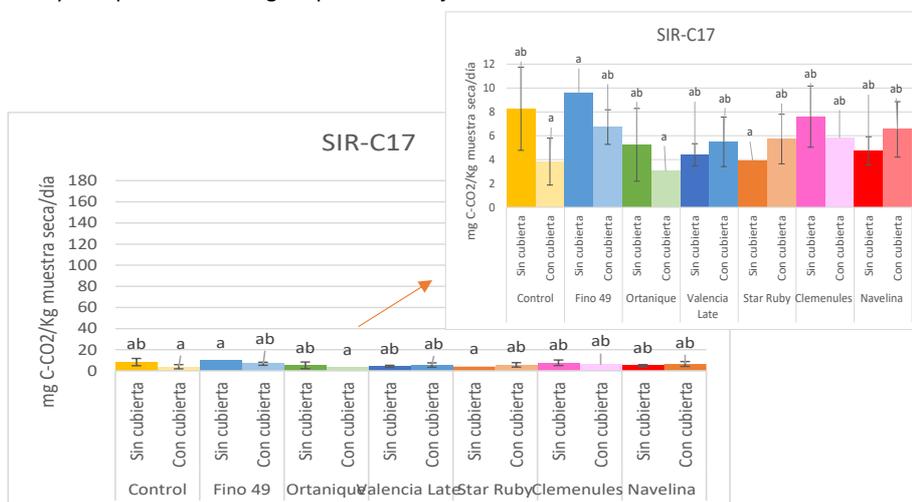
Los resultados de la SIR son media \pm desviación estándar de 4 réplicas independientes, para controles y variedades respectivamente. Letras distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre el control y las distintas variedades para la fuente de carbono C19 en presencia y ausencia de cubiertas vegetales.

Figura 4. Efecto sobre la biomasa microbiana (respiración inducida, SIR) de los suelos de diferentes variedades de cítricos y un control sin planta en presencia y ausencia de cubiertas vegetales, a los que se les ha incorporado la fuente de carbono C16 (L-arginina). Incluye ampliación de la figura para una mejor visualización.



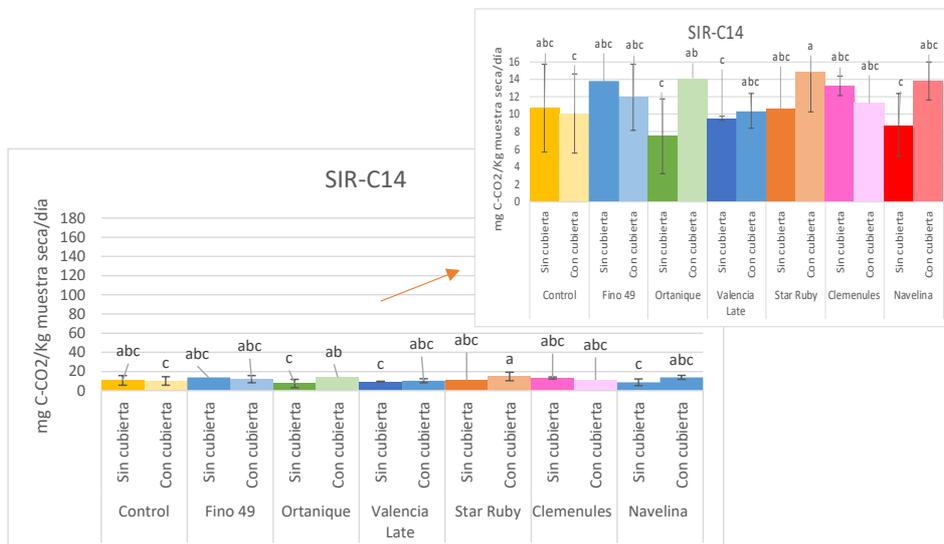
Los resultados de la SIR son media \pm desviación estándar de 4 réplicas independientes, para controles y variedades respectivamente. Letras distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre el control y las distintas variedades para la fuente de carbono C16 en presencia y ausencia de cubiertas vegetales.

Figura 5. Efecto sobre la biomasa microbiana (respiración inducida, SIR) de los suelos de diferentes variedades de cítricos y un control sin planta en presencia y ausencia de cubiertas vegetales, a los que se les ha incorporado la fuente de carbono C17 (3,4-Dihydroxybenzoic acid). Incluye ampliación de la figura para una mejor visualización.



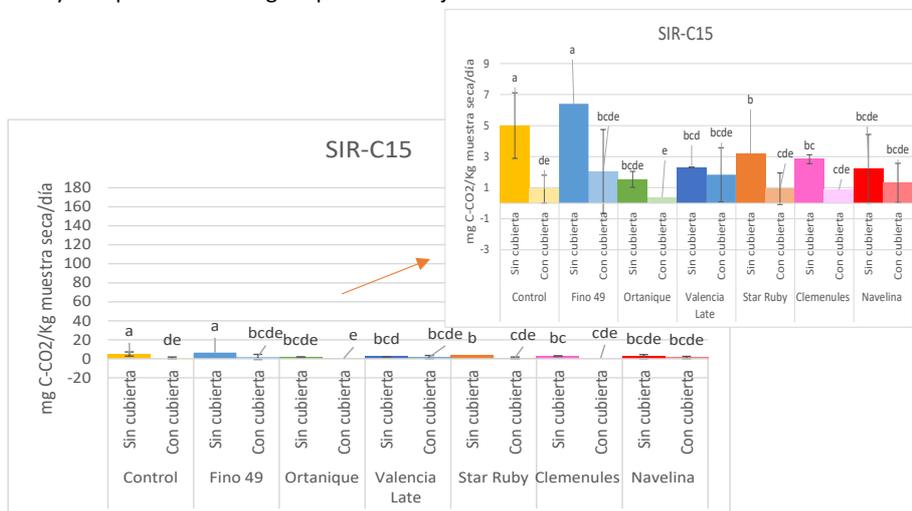
Los resultados de la SIR son media \pm desviación estándar de 4 réplicas independientes, para controles y variedades respectivamente. Letras distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre el control y las distintas variedades para la fuente de carbono C17 en presencia y ausencia de cubiertas vegetales.

Figura 6. Efecto sobre la biomasa microbiana (respiración inducida, SIR) de los suelos de diferentes variedades de cítricos y un control sin planta en presencia y ausencia de cubiertas vegetales, a los que se les ha incorporado la fuente de carbono C14 (oxalic acid anhydrous). Incluye ampliación de la figura para una mejor visualización.



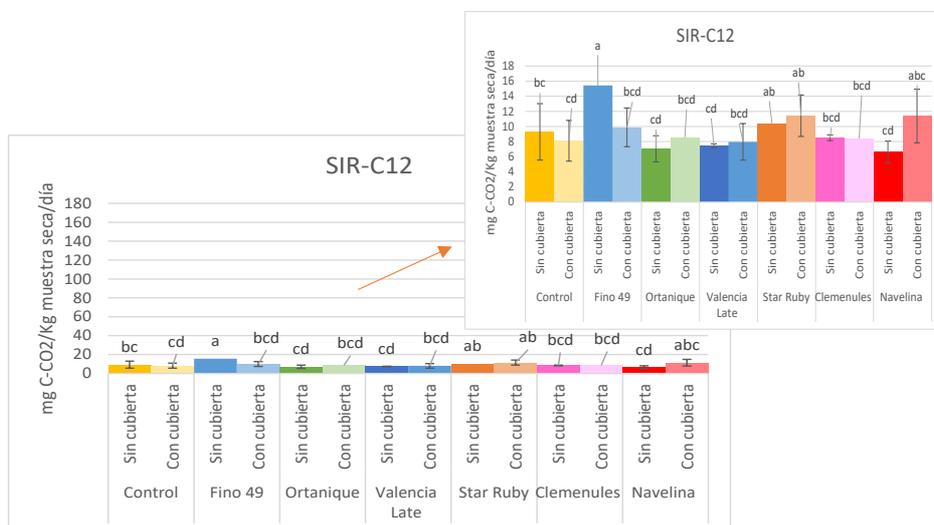
Los resultados de la SIR son media \pm desviación estándar de 4 réplicas independientes, para controles y variedades respectivamente. Letras distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre el control y las distintas variedades para la fuente de carbono C14 en presencia y ausencia de cubiertas vegetales.

Figura 7. Efecto sobre la biomasa microbiana (respiración inducida, SIR) de los suelos de diferentes variedades de cítricos y un control sin planta en presencia y ausencia de cubiertas vegetales, a los que se les ha incorporado la fuente de carbono C15 (Alpha-cyclodextrin hydrate). Incluye ampliación de la figura para una mejor visualización.



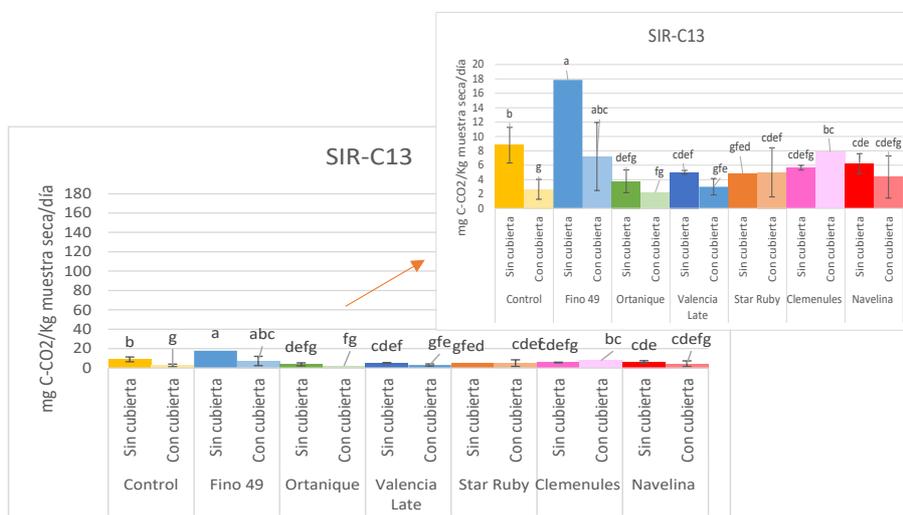
Los resultados de la SIR son media \pm desviación estándar de 4 réplicas independientes, para controles y variedades respectivamente. Letras distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre el control y las distintas variedades para la fuente de carbono C15 en presencia y ausencia de cubiertas vegetales.

Figura 8. Efecto sobre la biomasa microbiana (respiración inducida, SIR) de los suelos de diferentes variedades de cítricos y un control sin planta en presencia y ausencia de cubiertas vegetales, a los que se les ha incorporado la fuente de carbono C12 (L-Cysteine hydrochloride monohydrate). Incluye ampliación de la figura para una mejor visualización.



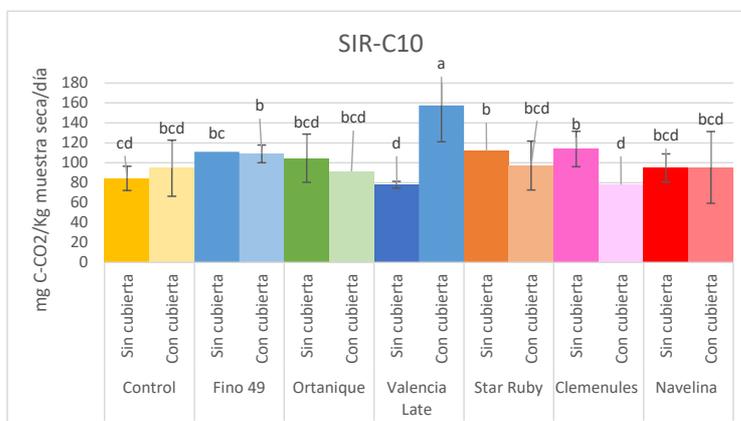
Los resultados de la SIR son media \pm desviación estándar de 4 réplicas independientes, para controles y variedades respectivamente. Letras distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre el control y las distintas variedades para la fuente de carbono C12 en presencia y ausencia de cubiertas vegetales.

Figura 9. Efecto sobre la biomasa microbiana (respiración inducida, SIR) de los suelos de diferentes variedades de cítricos y un control sin planta en presencia y ausencia de cubiertas vegetales, a los que se les ha incorporado la fuente de carbono C13 (2-acetamido-2-deoxy-D-glucopyranose). Incluye ampliación de la figura para una mejor visualización.



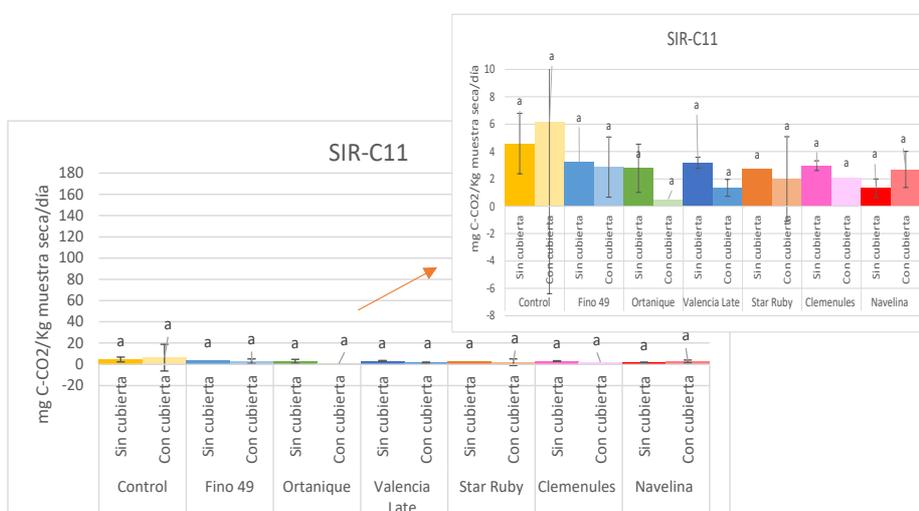
Los resultados de la SIR son media \pm desviación estándar de 4 réplicas independientes, para controles y variedades respectivamente. Letras distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre el control y las distintas variedades para la fuente de carbono C13 en presencia y ausencia de cubiertas vegetales.

Figura 10. Efecto sobre la biomasa microbiana (respiración inducida, SIR) de los suelos de diferentes variedades de cítricos y un control sin planta en presencia y ausencia de cubiertas vegetales, a los que se les ha incorporado la fuente de carbono C10 (4-Aminobutyric acid).



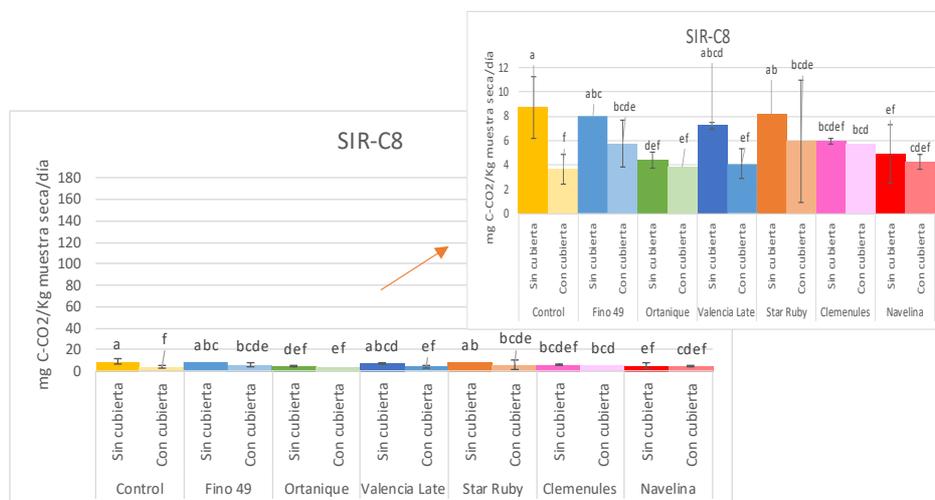
Los resultados de la SIR son media \pm desviación estándar de 4 réplicas independientes, para controles y variedades respectivamente. Letras distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre el control y las distintas variedades para la fuente de carbono C10 en presencia y ausencia de cubiertas vegetales.

Figura 11. Efecto sobre la biomasa microbiana (respiración inducida, SIR) de los suelos de diferentes variedades de cítricos y un control sin planta en presencia y ausencia de cubiertas vegetales, a los que se les ha incorporado la fuente de carbono C11 (L(+)-lysine monohydrochloride). Incluye ampliación de la figura para una mejor visualización.



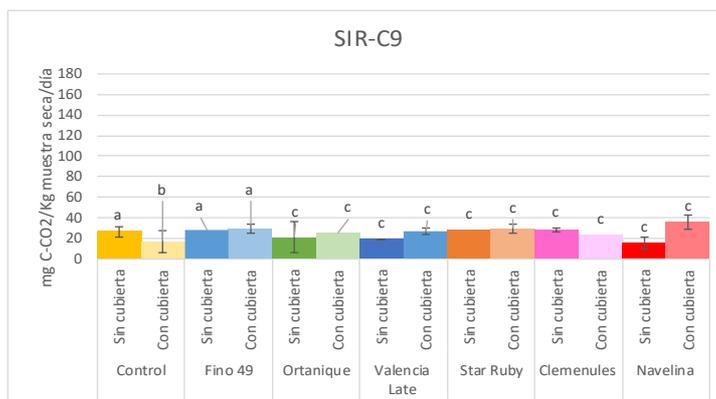
Los resultados de la SIR son media \pm desviación estándar de 4 réplicas independientes, para controles y variedades respectivamente. Letras distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre el control y las distintas variedades para la fuente de carbono C11 en presencia y ausencia de cubiertas vegetales.

Figura 12. Efecto sobre la biomasa microbiana (respiración inducida, SIR) de los suelos de diferentes variedades de cítricos y un control sin planta en presencia y ausencia de cubiertas vegetales, a los que se les ha incorporado la fuente de carbono C8 (L (-)-Malic acid). Incluye ampliación de la figura para una mejor visualización.



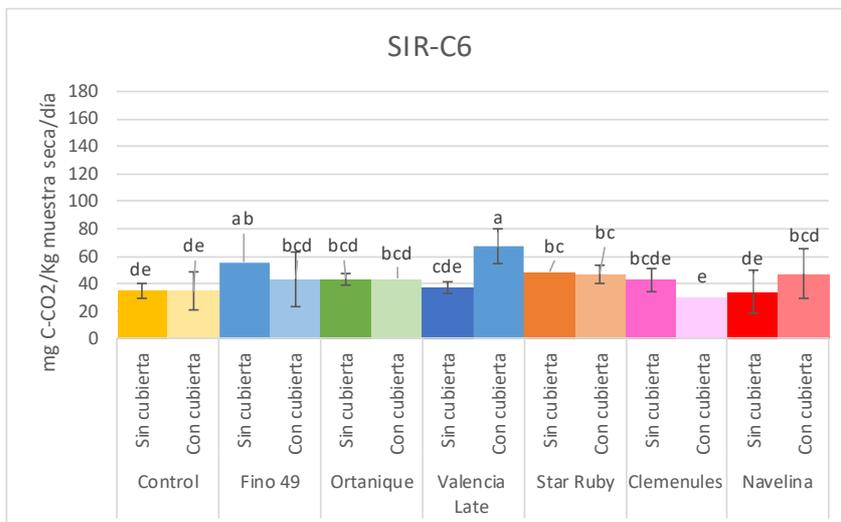
Los resultados de la SIR son media \pm desviación estándar de 4 réplicas independientes, para controles y variedades respectivamente. Letras distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre el control y las distintas variedades para la fuente de carbono C8 en presencia y ausencia de cubiertas vegetales.

Figura 13. Efecto sobre la biomasa microbiana (respiración inducida, SIR) de los suelos de diferentes variedades de cítricos y un control sin planta en presencia y ausencia de cubiertas vegetales, a los que se les ha incorporado la fuente de carbono C9 (2-ketoglutaric acid).



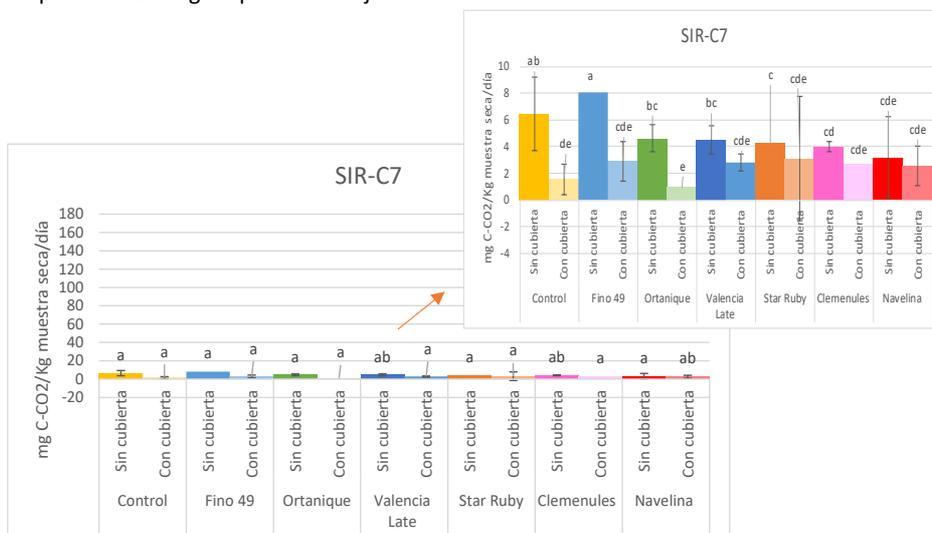
Los resultados de la SIR son media \pm desviación estándar de 4 réplicas independientes, para controles y variedades respectivamente. Letras distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre el control y las distintas variedades para la fuente de carbono C9 en presencia y ausencia de cubiertas vegetales.

Figura 14. Efecto sobre la biomasa microbiana (respiración inducida, SIR) de los suelos de diferentes variedades de cítricos y un control sin planta en presencia y ausencia de cubiertas vegetales, a los que se les ha incorporado la fuente de carbono C6 (L-(+)-arabinose).



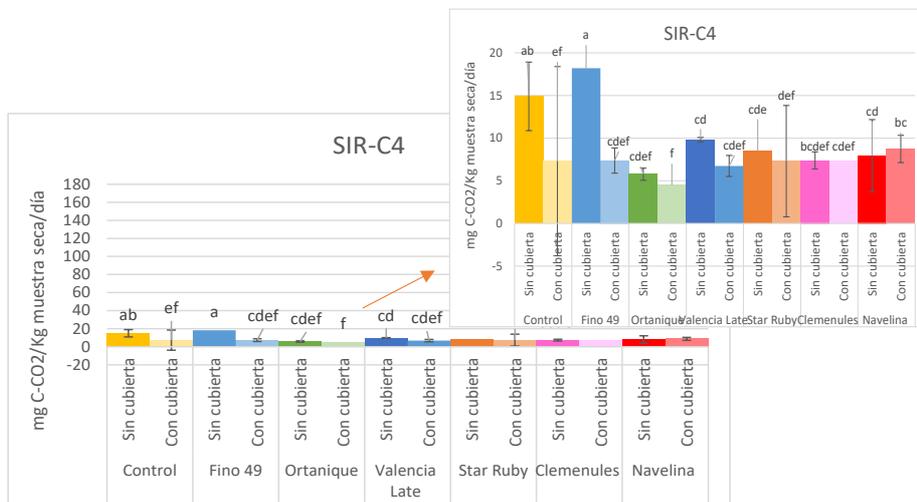
Los resultados de la SIR son media \pm desviación estándar de 4 réplicas independientes, para controles y variedades respectivamente. Letras distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre el control y las distintas variedades para la fuente de carbono C6 en presencia y ausencia de cubiertas vegetales.

Figura 15. Efecto sobre la biomasa microbiana (respiración inducida, SIR) de los suelos de diferentes variedades de cítricos y un control sin planta en presencia y ausencia de cubiertas vegetales, a los que se les ha incorporado la fuente de carbono C7 (ácido cítrico anhidro). Incluye ampliación de la figura para una mejor visualización.



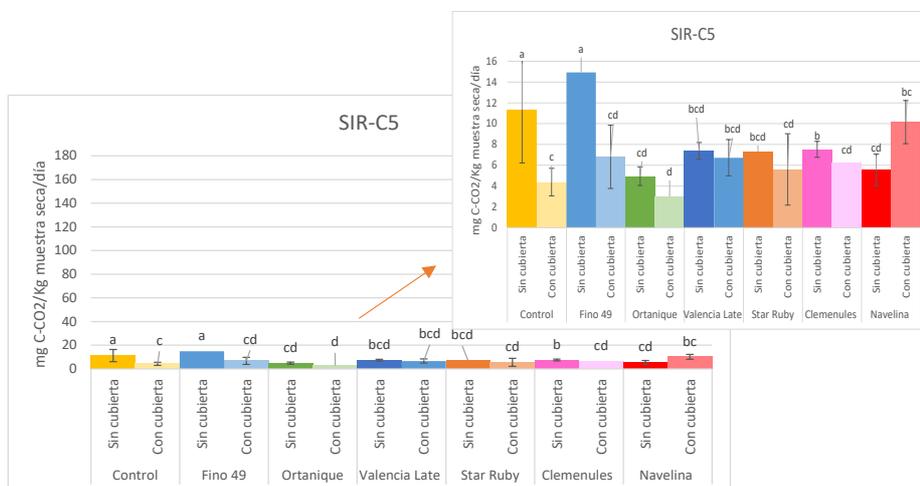
Los resultados de la SIR son media \pm desviación estándar de 4 réplicas independientes, para controles y variedades respectivamente. Letras distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre el control y las distintas variedades para la fuente de carbono C7 en presencia y ausencia de cubiertas vegetales.

Figura 16. Efecto sobre la biomasa microbiana (respiración inducida, SIR) de los suelos de diferentes variedades de cítricos y un control sin planta en presencia y ausencia de cubiertas vegetales, a los que se les ha incorporado la fuente de carbono C4 (D-(+)-Galactosa). Incluye ampliación de la figura para una mejor visualización.



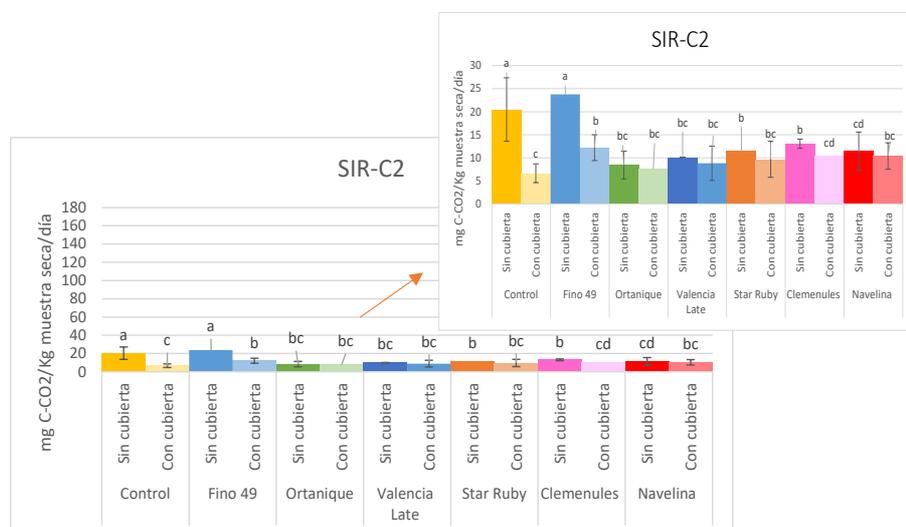
Los resultados de la SIR son media \pm desviación estándar de 4 réplicas independientes, para controles y variedades respectivamente. Letras distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre el control y las distintas variedades para la fuente de carbono C4 en presencia y ausencia de cubiertas vegetales.

Figura 17. Efecto sobre la biomasa microbiana (respiración inducida, SIR) de los suelos de diferentes variedades de cítricos y un control sin planta en presencia y ausencia de cubiertas vegetales, a los que se les ha incorporado la fuente de carbono C5 (D-trehalose anhydrous). Incluye ampliación de la figura para una mejor visualización.



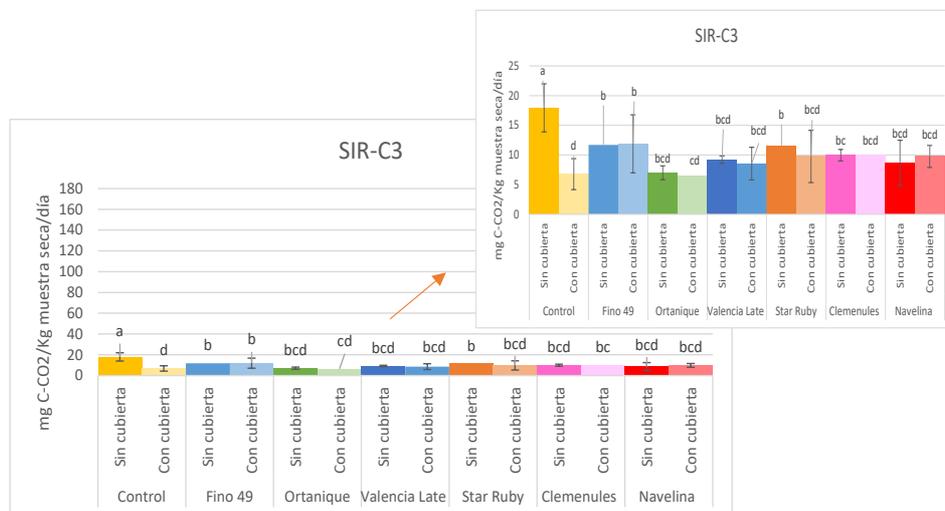
Los resultados de la SIR son media \pm desviación estándar de 4 réplicas independientes, para controles y variedades respectivamente. Letras distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre el control y las distintas variedades para la fuente de carbono C5 en presencia y ausencia de cubiertas vegetales.

Figura 18. Efecto sobre la biomasa microbiana (respiración inducida, SIR) de los suelos de diferentes variedades de cítricos y un control sin planta en presencia y ausencia de cubiertas vegetales, a los que se les ha incorporado la fuente de carbono C2 (D(+)-Glucose). Incluye ampliación de la figura para una mejor visualización.



Los resultados de la SIR, son media \pm desviación estándar de 4 réplicas independientes, para controles y variedades respectivamente, Letras distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre el control y las distintas variedades para la fuente de carbono C2 en presencia y ausencia de cubiertas vegetales.

Figura 19. Efecto sobre la biomasa microbiana (respiración inducida, SIR) de los suelos de diferentes variedades de cítricos y un control sin planta en presencia y ausencia de cubiertas vegetales, a los que se les ha incorporado la fuente de carbono C3 (D-Fructose). Incluye ampliación de la figura para una mejor visualización.



Los resultados de la SIR, son media \pm desviación estándar de 4 réplicas independientes, para controles y variedades respectivamente, Letras distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre el control y las distintas variedades para la fuente de carbono C3 en presencia y ausencia de cubiertas vegetales.

Las figuras anteriormente mostradas indican que las fuentes de carbono con mayores resultados de mg de C-CO₂ /kg de muestra seca/día es para C10 (4-Aminibutyric acid), C6 (L-(+)-arabinose) y C9 (2-ketoglutaric acid), destacando la variedad Valencia Late con cubierta en las dos primeras fuentes de carbono y para la última, destaca la variedad de cítrico Fino 49 con cubierta. Para el caso de C6 (L-arginina) los resultados obtenidos de mg de C-CO₂ /kg de muestra seca/día fueron negativos mostrando su nula o baja respiración con la metodología MicroResp™ empleada.

- **Evaluación de la respiración inducida por variedad de cítricos analizados con los dos tratamientos para cada una de las diferentes fuentes de carbono.**

Se muestran en las Tablas de la 13 a la 19 los valores promedios obtenidos en la respiración inducida SIR con todas las fuentes de carbono, para las seis variedades de cítricos de la finca estudiada por separado con cubierta vegetal y sin cubierta vegetal.

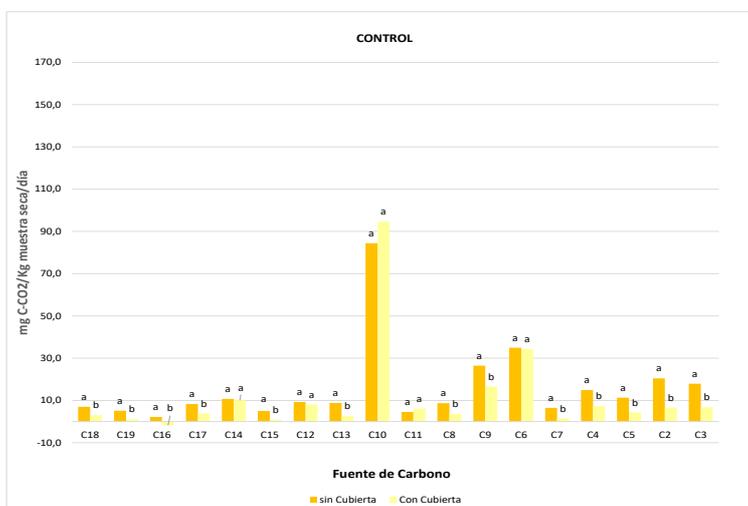
Tabla 13. Efecto de la adición de distintas fuentes de carbono sobre la respiración inducida, (SIR) en los controles con diferentes manejos agroecológicos (ausencia de cubiertas vegetales).

		Respiración inducida, SIR (mg C-CO ₂ /kg muestra seca/día)								
		C18	C19	C16	C17	C14	C15	C12	C13	C10
CONTROL	Sin Cubierta	7,0 a	5,12 a	2,16 a	8,26 a	10,69 a	5,0 a	9,28 a	8,78 a	84,44 a
	Con Cubierta	3,07 b	1,1 b	-1,8 b	3,83 b	10,11 a	0,9 b	8,11 a	2,64 b	94,57 a
	p	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,6521	0,0000	0,1749	0,0000	0,0772

		Respiración inducida, SIR (mg C-CO ₂ /kg muestra seca/día)								
		C11	C8	C9	C6	C7	C4	C5	C2	C3
CONTROL	Sin Cubierta	4,57 a	8,72 a	26,47 a	34,95 a	6,47 a	14,90 a	11,30 a	20,47 a	17,93 a
	Con Cubierta	6,18 a	3,65 b	16,56 b	34,33 a	1,54 b	7,30 b	4,37 b	6,65 b	6,78 b
	p	0,4972	0,0000	0,0000	0,8177	0,0000	0,0012	0,0000	0,0000	0,0000

Los resultados de la respiración son media ± desviación estándar de 10 réplicas independientes para la variedad de cítrico y al menos 3-4 réplicas de laboratorio. Letras minúsculas distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre los tratamientos con cubierta vegetal y sin cubierta vegetal.

Figura 20. Efecto de las diferentes fuentes de carbono sobre la biomasa microbiana (respiración inducida, SIR) de los suelos control sin cubierta vegetal y con cubierta vegetal.



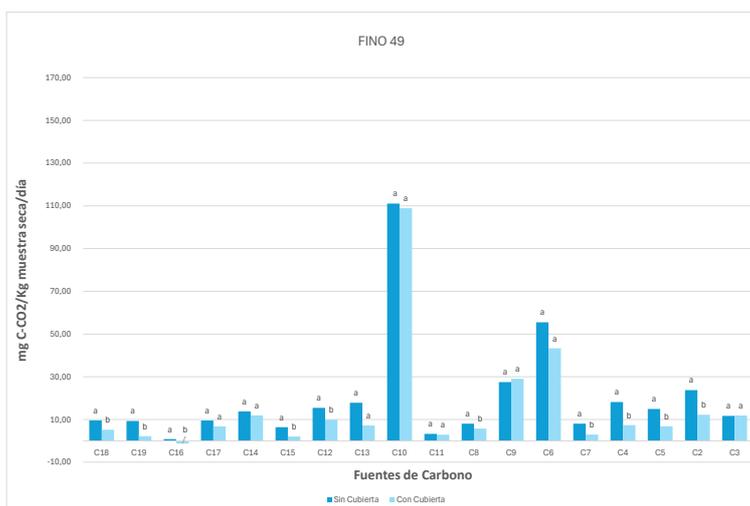
Los resultados de la SIR son media ± desviación estándar de 4 réplicas independientes. Letras distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre las distintas fuentes de carbono en presencia y ausencia de cubiertas vegetales para los controles.

Tabla 14. Efecto de la adición de distintas fuentes de carbono, sobre la biomasa microbiana (respiración inducida, SIR) de la variedad Fino 49 bajo diferente manejo agroecológico (presencia o ausencia de cubiertas vegetales).

		Respiración inducida, SIR (mg C-CO ₂ /Kg muestra seca/día)								
		C18	C19	C16	C17	C14	C15	C12	C13	C10
Fino 49	Sin Cubierta	9,6 a	9,31 a	0,84 a	9,54 a	13,79 a	6,4 a	15,44 a	17,85 a	111,05 a
	Con Cubierta	5,22 b	2,2 b	-1,25 b	6,72 a	11,94 a	2,04 b	9,88 b	7,21 a	108,91 a
	<i>p</i>	0,0377	0,0009	0,0284	0,1979	0,5512	0,0095	0,0061	0,012	0,888

Los resultados de la respiración son media ± desviación estándar de 1-2 réplicas independientes para la variedad de cítrico y al menos 3-4 réplicas de laboratorio. Letras minúsculas distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre los tratamientos con cubierta vegetal y sin cubierta vegetal.

Figura 21. Efecto de las diferentes fuentes de carbono sobre la biomasa microbiana (respiración inducida, SIR) de los suelos de la variedad de cítricos Fino 49, en presencia de cubiertas vegetales y sin cubierta vegetal.



Los resultados de la SIR son media ± desviación estándar de 4 réplicas independientes. Letras distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre las distintas fuentes de carbono en presencia y ausencia de cubiertas vegetales para la variedad Fino 49.

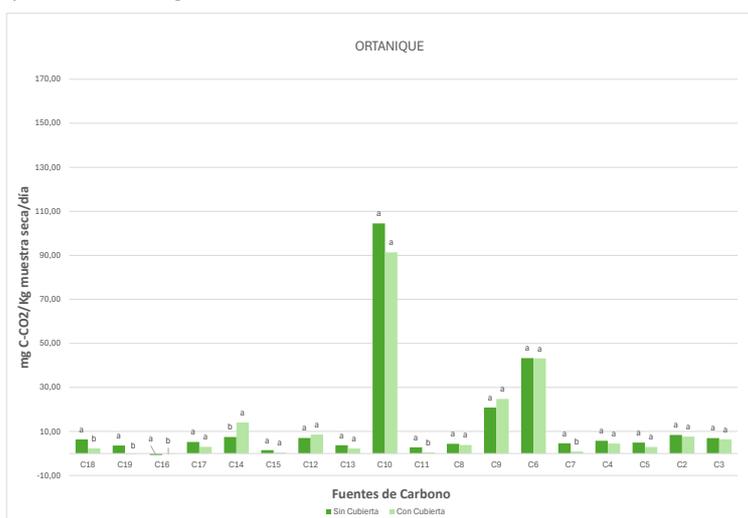
Tabla 15. Efecto de la adición de distintas fuentes de carbono, sobre la biomasa microbiana (respiración inducida, SIR) de la variedad Ortanique bajo diferente manejo agroecológico (presencia o ausencia de cubiertas vegetales).

		Respiración inducida, SIR (mg C-CO ₂ /Kg muestra seca/día)								
		C18	C19	C16	C17	C14	C15	C12	C13	C10
Ortanique	Sin Cubierta	6,41 a	3,63 a	-0,7 a	5,24 a	7,5 b	1,53 a	7,04 a	3,75 a	104,51 a
	Con Cubierta	2,32 b	-0,32 b	-2 b	3,04 a	14,08 a	0,38 a	8,57 a	2,23 a	91,38 a
	<i>p</i>	0,0009	0,0012	0,0381	0,1273	0,0009	0,4189	0,3271	0,0573	0,5675

		Respiración inducida, SIR (mg C-CO ₂ /Kg muestra seca/día)								
		C11	C8	C9	C6	C7	C4	C5	C2	C3
Ortanique	Sin Cubierta	2,77 a	4,39 a	20,84 a	43,32 a	4,62 a	5,78 a	4,94 a	8,42 a	7,0 a
	Con Cubierta	0,5 b	3,86 a	24,77 a	43,2 a	0,93 b	4,51 a	2,96 a	7,67 a	6,45 a
	<i>p</i>	0,0009	0,4946	0,1007	0,9431	0,0003	0,1325	0,1117	0,8041	0,8035

Los resultados de la respiración son media ± desviación estándar de 1-2 réplicas independientes para la variedad de cítrico y al menos 3-4 réplicas de laboratorio. Letras minúsculas distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre los tratamientos con cubierta vegetal y sin cubierta vegetal.

Figura 22. Efecto de las diferentes fuentes de carbono sobre la biomasa microbiana (respiración inducida, SIR) de los suelos de la variedad de cítricos Ortanique, en presencia de cubiertas vegetales y sin cubierta vegetal.



Los resultados de la SIR son media ± desviación estándar de 4 réplicas independientes. Letras distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre las distintas fuentes de carbono en presencia y ausencia de cubiertas vegetales para la variedad Ortanique.

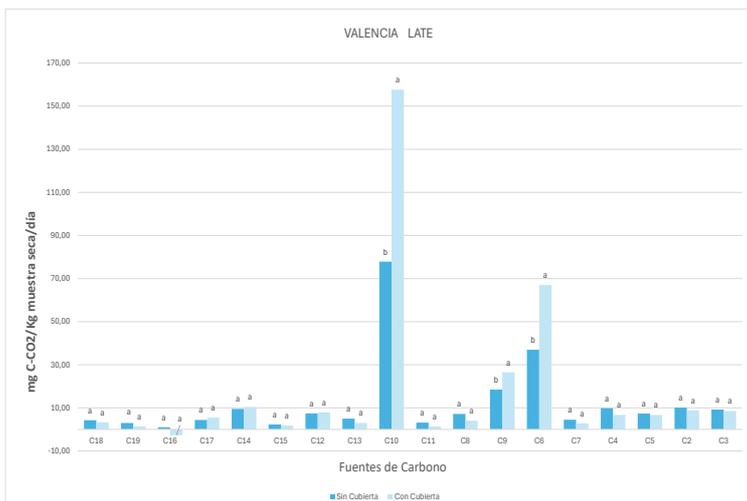
Tabla 16. Efecto de la adición de distintas fuentes de carbono, sobre la biomasa microbiana (respiración inducida, SIR) de la variedad Valencia Late bajo diferente manejo agroecológico (presencia o ausencia de cubiertas vegetales).

		Respiración inducida, SIR (mg C-CO ₂ /Kg muestra seca/día)								
		C18	C19	C16	C17	C14	C15	C12	C13	C10
Valencia Late	Sin Cubierta	4,28 a	3 a	1,03 a	4,39 a	9,52 a	2,3 a	7,43 a	5,01 a	77,88 b
	Con Cubierta	3,31 a	1,44 a	-2,67a	5,49 a	10,38 a	1,83 a	7,96 a	3,01 a	157,6 a
	<i>p</i>	0,1458	0,2053	0,0616	0,6350	0,7616	0,4628	0,7457	0,4691	0,0017

		Respiración inducida, SIR (mg C-CO ₂ /Kg muestra seca/día)								
		C11	C8	C9	C6	C7	C4	C5	C2	C3
Valencia Late	Sin Cubierta	3,18 a	7,22 a	18,51 b	36,99 b	4,51 a	9,82 a	7,38 a	10,14 a	9,23 a
	Con Cubierta	1,34 a	4,06 a	26,52 a	67 a	2,81 a	6,74 a	6,72 a	8,83 a	8,55 a
	<i>p</i>	0,3565	0,3330	0,0272	0,0006	0,5604	0,4608	0,7523	0,5988	0,8098

Los resultados de la respiración son media \pm desviación estándar de 1-2 réplicas independientes para la variedad de cítrico y al menos 3-4 réplicas de laboratorio. Letras minúsculas distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre los tratamientos con cubierta vegetal y sin cubierta vegetal.

Figura 23. Efecto de las diferentes fuentes de carbono sobre la biomasa microbiana (respiración inducida, SIR) de los suelos de la variedad de cítricos Valencia Late, en presencia de cubiertas vegetales y sin cubierta vegetal.



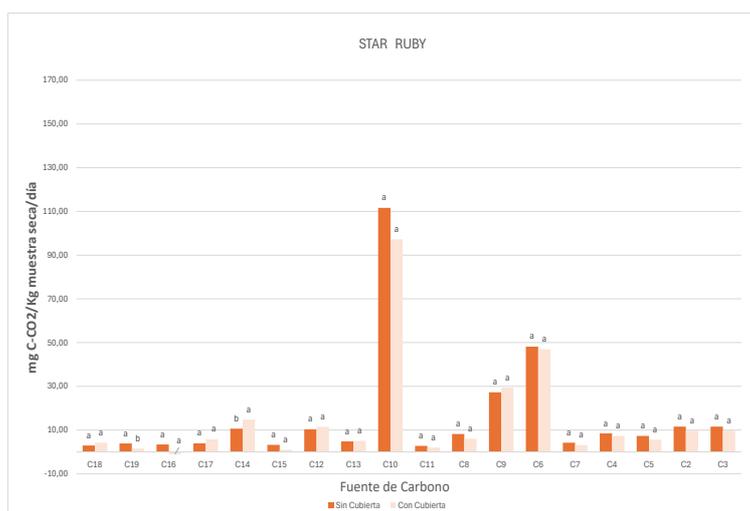
Los resultados de la SIR son media \pm desviación estándar de 4 réplicas independientes. Letras distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre las distintas fuentes de carbono en presencia y ausencia de cubiertas vegetales para la variedad Valencia Late.

Tabla 17. Efecto de la adición de distintas fuentes de carbono, sobre la biomasa microbiana (respiración inducida, SIR) de la variedad Star Ruby bajo diferente manejo agroecológico (presencia o ausencia de cubiertas vegetales).

		Respiración inducida, SIR (mg C-CO ₂ /Kg muestra seca/día)								
		C18	C19	C16	C17	C14	C15	C12	C13	C10
Star Ruby	Sin Cubierta	2,94 a	3,87 a	3,39 a	3,92 a	10,64 b	3,18 a	10,31 a	4,78 a	111,63 a
	Con Cubierta	4,19 a	1,5 b	-1,12 a	5,72 a	14,78 a	0,93 a	11,42 a	5 a	97,23 a
	<i>p</i>	0,0906	0,0001	0,0502	0,1223	0,0349	0,0723	0,4949	0,8731	0,383
		Respiración inducida, SIR (mg C-CO ₂ /Kg muestra seca/día)								
		C11	C8	C9	C6	C7	C4	C5	C2	C3
Star Ruby	Sin Cubierta	2,75 a	8,18 a	27,27 a	48,14 a	4,22 a	8,45 a	7,28 a	11,54 a	11,54 a
	Con Cubierta	1,99 a	5,97 a	29,34 a	46,95 a	3,1 a	7,3 a	5,59 a	9,68 a	9,75 a
	<i>p</i>	0,2484	0,0541	0,592	0,9056	0,4686	0,5474	0,1364	0,3874	0,3704

Los resultados de la respiración son media ± desviación estándar de 1-2 réplicas independientes para la variedad de cítrico y al menos 3-4 réplicas de laboratorio. Letras minúsculas distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre los tratamientos con cubierta vegetal y sin cubierta vegetal.

Figura 24. Efecto de las diferentes fuentes de carbono sobre la biomasa microbiana (respiración inducida, SIR) de los suelos de la variedad de cítricos Star Ruby, en presencia de cubiertas vegetales y sin cubierta vegetal.



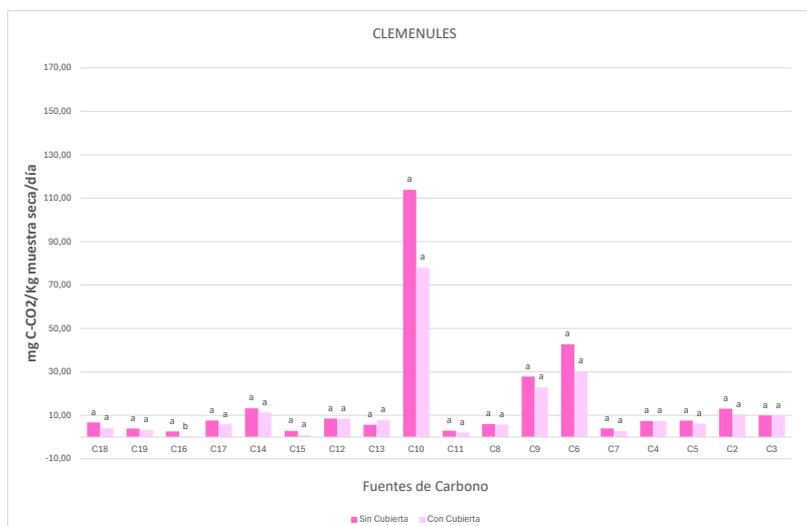
Los resultados de la SIR son media ± desviación estándar de 4 réplicas independientes. Letras distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre las distintas fuentes de carbono en presencia y ausencia de cubiertas vegetales para la variedad Star Ruby.

Tabla 18. Efecto de la adición de distintas fuentes de carbono, sobre la biomasa microbiana (respiración inducida, SIR) de la variedad Clemenules bajo diferente manejo agroecológico (presencia o ausencia de cubiertas vegetales).

		Respiración inducida, SIR (mg C-CO ₂ /Kg muestra seca/día)								
		C18	C19	C16	C17	C14	C15	C12	C13	C10
Clemenules	Sin Cubierta	6,75 a	3,9 a	2,59 a	7,6 a	13,25 a	2,83 a	8,5 a	5,65 a	113,81 a
	Con Cubierta	4,06 a	3,13 a	0,28 b	5,82 a	11,32 a	0,88 b	8,43 a	7,83 a	77,96 b
	<i>p</i>	0,0987	0,4503	0,0116	0,2255	0,3112	0,0000	0,9692	0,4483	0,0042
		Respiración inducida, SIR (mg C-CO ₂ /Kg muestra seca/día)								
		C11	C8	C9	C6	C7	C4	C5	C2	C3
Clemenules	Sin Cubierta	2,96 a	5,96 a	27,88 a	42,68 a	3,99 a	7,39 a	7,53 a	13,06 a	9,96 a
	Con Cubierta	2,11 a	5,71 a	22,87 a	30,25 a	2,68 a	7,37 a	6,238 a	10,37 a	9,92 a
	<i>p</i>	0,3470	0,6857	0,1319	0,1572	0,1296	0,9847	0,6243	0,1665	1,0000

Los resultados de la respiración son media \pm desviación estándar de 1-2 réplicas independientes para la variedad de cítrico y al menos 3-4 réplicas de laboratorio. Letras minúsculas distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre los tratamientos con cubierta vegetal y sin cubierta vegetal.

Figura 25. Efecto de las diferentes fuentes de carbono sobre la biomasa microbiana (respiración inducida, SIR) de los suelos de la variedad de cítricos Clemenules, en presencia de cubiertas vegetales y sin cubierta vegetal.



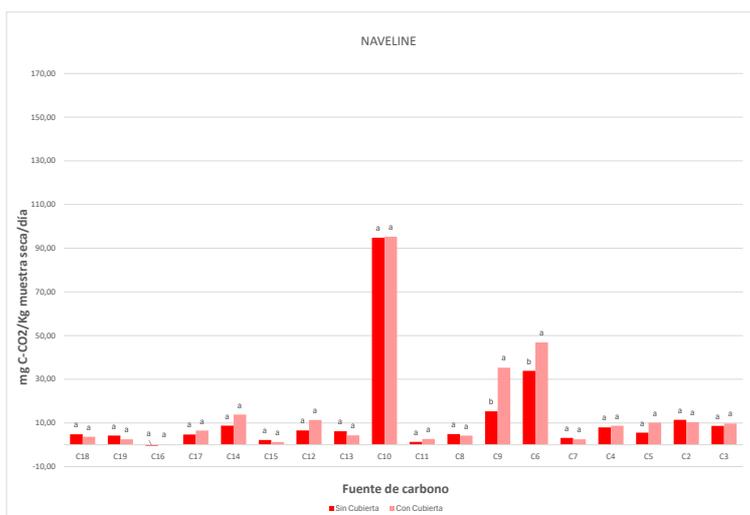
Los resultados de la SIR son media \pm desviación estándar de 4 réplicas independientes. Letras distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre las distintas fuentes de carbono en presencia y ausencia de cubiertas vegetales para la variedad Clemenules.

Tablas 19. Efecto de la adición de distintas fuentes de carbono, sobre la biomasa microbiana (respiración inducida, SIR) de la variedad Naveline bajo diferente manejo agroecológico (presencia o ausencia de cubiertas vegetales).

		Respiración inducida, SIR (mg C-CO ₂ /Kg muestra seca/día)									
		C18	C19	C16	C17	C14	C15	C12	C13	C10	
Naveline	Sin Cubierta	4,82 a	4,21 a	-0,41 a	4,73 a	8,78 a	2,22 a	6,6 a	6,22 a	94,78 a	
	Con Cubierta	3,71 a	2,53 a	0,16 a	6,53 a	13,82 a	1,3 a	11,38 a	4,36 a	95,29 a	
	<i>p</i>	0.7813	0.4892	0.2837	0.4507	0.0931	0.5646	0.0719	0.5146	0.9705	
		Respiración inducida, SIR (mg C-CO ₂ /Kg muestra seca/día)									
		C11	C8	C9	C6	C7	C4	C5	C2	C3	
Naveline	Sin Cubierta	1,32 a	4,92 a	15,36 b	33,86 b	3,17 a	7,95 a	5,55 a	11,46 a	8,68 a	
	Con Cubierta	2,68 a	4,24 a	35,3 a	46,92 a	2,54 a	8,74 a	10,14 a	10,39 a	9,75 a	
	<i>p</i>	0.1441	0.6283	0.0014	0.0183	0.6512	0.7991	0.0960	0.7698	0.6809	

Los resultados de la respiración son media ± desviación estándar de 1-2 réplicas independientes para la variedad de cítrico y al menos 3-4 réplicas de laboratorio. Letras minúsculas distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre los tratamientos con cubierta vegetal y sin cubierta vegetal.

Figura 26. Efecto de las diferentes fuentes de carbono sobre la biomasa microbiana (respiración inducida, SIR) de los suelos de la variedad de cítricos Naveline, en presencia de cubiertas vegetales y sin cubierta vegetal.



Los resultados de la SIR son media ± desviación estándar de 4 réplicas independientes. Letras distintas denotan diferencias significativas ($p \leq 0,050$) entre las distintas fuentes de carbono en presencia y ausencia de cubiertas vegetales para la variedad Naveline.

Aunque predomina un mayor efecto de la actividad microbiana en los suelos con ausencia de cubiertas vegetales, son las variedades Valencia Late y Naveline las que presentan un efecto contrario para la mayoría de las fuentes de carbono. Se corrobora que de todas las variedades

estudiadas los valores mayores de respiración se obtuvieron con las fuentes de carbono C10, C6 y C9.

- **Evaluación de la respiración inducida por variedad de cítrico para las diferentes fuentes de carbono separados según su funcionalidad, analizadas según tratamiento con cubierta vegetal y sin cubierta vegetal.**

Se muestran en las Tablas 20 y 21 los valores promedios obtenidos en la respiración inducida SIR, para los diferentes grupos de fuentes de carbono en las seis variedades de cítricos de la finca estudiada.

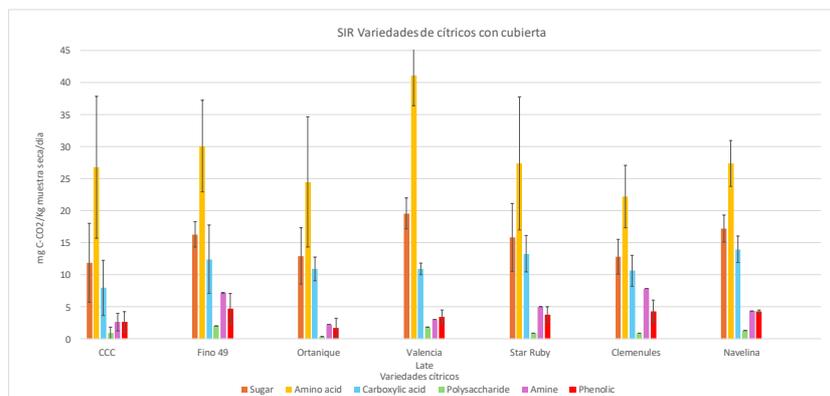
- **Variedades con cubierta vegetal**

Tabla 20. Efecto de la adición de distintas fuentes de carbono, separadas según su funcionalidad, sobre la biomasa microbiana (respiración inducida, SIR) en las seis variedades de cítricos con diferentes manejos agroecológicos (presencia de cubiertas vegetales).

		Respiración inducida, SIR por grupos funcionales (mg C-CO ₂ /Kg muestra seca/día)					
		Sugar	Amino acid	Carboxylic acid	Polysaccharide	Amine	Phenolic
Con Cubierta	Control	11,89 ± 6,18	26,77 ± 11,08	7,97 ± 4,29	0,91*	2,65*	2,67 ± 1,61
	Fino 49	16,32 ± 1,98	30,10 ± 7,15	12,40 ± 5,33	2,03*	7,22*	4,96 ± 2,37
	Ortanique	12,96 ± 4,37	24,49 ± 10,16	10,92 ± 1,85	0,38*	2,24*	1,68 ± 1,51
	Valencia Late	19,57 ± 2,40	41,06 ± 4,68	10,95 ± 0,91	1,83*	3,01*	3,42 ± 1,09
	Star Ruby	15,92 ± 5,29	27,38 ± 10,36	13,24 ± 2,85	0,97*	5,01*	3,81 ± 1,21
	Clemenules	12,81 ± 2,73	22,16 ± 4,86	10,50 ± 2,40	0,90*	7,84*	4,26 ± 1,74
	Navelina	17,20 ± 2,09	27,38 ± 3,57	13,98 ± 2,05	1,31*	4,36*	4,26 ± 0,22

Los resultados de la SIR son media ± desviación estándar de 1 - 5 réplicas para cada grupo de fuente de carbono. (*) Valor individual, a este grupo solo pertenece una única fuente de carbono.

Figura 27. Efecto de las diferentes fuentes de carbono según su funcionalidad, sobre la biomasa microbiana (respiración inducida, SIR) de los suelos de diferentes variedades de cítricos, en presencia de cubiertas vegetales.



Se diferencian tres grupos funcionales mayoritarios para todas las variedades de cítricos estudiadas, los aminoácidos, azúcares y ácido carboxílico, mientras que los minoritarios son los grupos de polisacáridos, aminas y fenoles. Parece ser que la variedad Valencia Late es la más afín a estos compuestos.

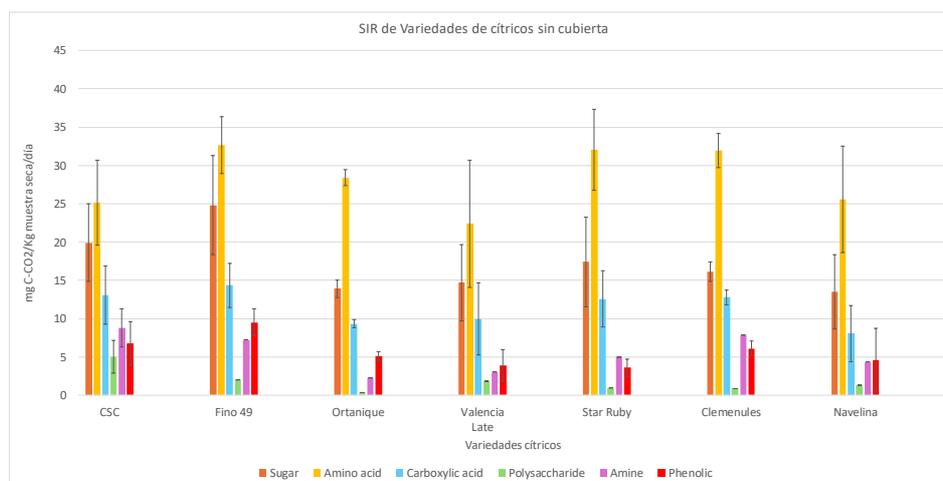
- **Variedades sin cubierta vegetal**

Tabla 21. Efecto de la adición de distintas fuentes de carbono separados según su funcionalidad, sobre la biomasa microbiana (respiración inducida, SIR) en las seis variedades de cítricos con diferentes manejos agroecológicos (ausencia de cubiertas vegetales).

		Respiración inducida, SIR por grupos funcionales (mg C-CO ₂ /Kg muestra seca/día)					
		Sugar	Amino acid	Carboxylic acid	Polysaccharide	Amine	Phenolic
Sin Cubierta	Control	19,91 ± 5,06	25,12 ± 5,56	13,09 ± 3,81	5 *	8,78 *	6,79 ± 2,84
	Fino 49	24,82 ± 6,46	32,65 ± 3,75	14,35 ± 2,87	2.04 *	7.22 *	9,48 ± 1,75
	Ortanique	13,89 ± 1,10	28,40 ± 1,04	9,34 ± 0,54	0.38 *	2.24 *	5,09 ± 0,60
	Valencia Late	14,72 ± 4,99	22,38 ± 8,29	9,94 ± 4,70	1.83 *	3.01 *	3,89 ± 2,06
	Star Ruby	17,39 ± 5,86	32,02 ± 5,30	12,58 ± 3,69	0.93 *	5.01 *	3,58 ± 1,10
	Clemenules	13,50 ± 1,25	25,57 ± 2,23	8,05 ± 0,99	0.88 *	7.84 *	4,59 ± 0,97
	Navelina	13,50 ± 4,83	25,57 ± 6,92	8,05 ± 3,68	1.31 *	4.36 *	4,59 ± 4,15

Los resultados de la SIR son media ± desviación estándar de 1 - 5 réplicas para cada grupo de fuente de carbono. (*) Valor individual, a este grupo solo pertenece una única fuente de carbono.

Figura 28. Efecto de las diferentes fuentes de carbono según su funcionalidad, sobre la biomasa microbiana (respiración inducida, SIR) de los suelos de diferentes variedades de cítricos, en ausencia de cubiertas vegetales.



Al igual que para el tratamiento con cubierta vegetal, se diferencian tres grupos mayoritarios para todas las variedades de cítricos estudiadas, los aminoácidos, azúcares y el ácido carboxílico, mientras que los resultados más bajos se obtienen para los grupos de polisacáridos, aminas y fenoles. En este caso las muestras que mejor responden a estos compuestos son Fino 49, Star Ruby, Clemenules y los controles sin planta.



Nota aclaratoria: Se decide evaluar los resultados obtenidos para SIR (respiración inducida) que determinan la diversidad funcional objetivo de dicho estudio y se desprecia la RB (respiración basal) que no es relevante en dicho trabajo.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <http://sede.ull.es/validacion>

Identificador del documento: 6557068 Código de verificación: tyEMdSSH

Firmado por: Antonio César Perdomo Molina
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 25/06/2024 20:39:21



6. Conclusiones

- En general se aprecia que los parámetros estudiados para contenido máximo de retención de agua (WHC), pH y Humedad para las diferentes variedades de cítricos son homogéneas ya que todas las muestras de suelo recogidas pertenecen a la misma finca objeto de estudio. Si es verdad que se encuentran algunas diferencias entre la parte con cubierta y sin ella que puede deberse a los diferentes manejos realizados en la misma. La posible razón por la que los valores son mayores para el suelo con cubierta que para el suelo sin cubierta puede estar influenciada por la reciente adición de estiércol de vaca y restos de poda en esta última parte.
- En los tratamientos sin cubierta vegetal destaca la variedad Fino 49 como la de mayor diversidad funcional a diferencia de los tratamientos con cubierta vegetal donde las diferencias entre variedades no fueron tan evidentes.
- Las fuentes de carbono con mayores resultados de actividad microbiana tanto para los suelos con cubierta y sin cubierta fueron los que pertenecen al grupo funcional de los aminoácidos con claras diferencias, seguidos de azúcares y ácidos carboxílicos. Demostrando la diversidad funcional presente en dicha finca donde predominan microorganismos que emplean estas fuentes de carbono.

Para un mejor aprovechamiento de estos resultados y una adecuada transferencia de conclusiones al sector, sería deseable continuar este trabajo en el tiempo con el fin de confirmar los efectos positivos del uso de las cubiertas vegetales sobre la diversidad funcional de la microbiota edáfica, así como sería recomendable completar estos resultados con análisis fisicoquímicos de los suelos.



7. Conclusions

- In general, the parameters studied for maximum water retention content (WHC), pH and moisture for different citrus varieties are homogeneous because all the soil samples collected belong to the same farm study. It is true that there are some differences between parts with and without cover, which may be due to different management practices. The possible reason why the values are higher for the soil with cover than for the soil without cover may be influenced by the recent addition of cow manure and pruning residues in the latter par.
- In treatments without vegetative cover, the Fino 49 variety stands out as the one with the greatest functional diversity, in contrast to treatments with vegetative cover where differences between varieties were not so evident.
- The carbon sources with the highest microbial activity results with both covered and uncovered soils were those belonging to the functional group of amino acids with clear differences, followed by sugars and carboxylic acids. This demonstrates the functional diversity present on the farm, where microorganisms predominantly use these carbon sources.

For a better use of results and an adequate transfer of conclusions to the sector, it would be desirable to continue this work in time to confirm the positive effects of the use of plant covers of plant covers on functional diversity of soil microbiota, it would be advisable to complete these results with physical-chemical analysis of soils.



8. Referencias bibliográficas

- A. Deubel & W. Merbach (2005). Influence of Microorganisms on Phosphorus Bioavailability in Soils. En F. Buscot & A. Varma (Eds.), *Microorganisms in Soils: Roles in Genesis and Functions* (pp. 178-184). Editorial Springer.
- AENOR. (2012). Norma UNE-ISO 10390:2012. Calidad del suelo. Determinación del pH. Editorial Aenor. Madrid.
- B. Giri, P. Huong Giang, R. Kumari, R. Prasad, M. Sachdev, A.P. Garg, R. Oelmüller, A. Varma (2005). Mycorrhizosphere: Strategies and Functions. En F. Buscot & A. Varma (Eds.), *Microorganisms in Soils: Roles in Genesis and Functions*. (pp. 214-223). Editorial Springer.
- B.M. Lalor, W.R. Cookson, D.V. Murphy (2006). Comparison of two methods that assess soil community level physiological profiles in a forest ecosystem. *Soil Biology & Biochemistry* (39), 454-462.
- B.P. Bougnom, B.A. Knapp, D. Elhottová, D. Koubová, F.X. Etoa, H. Insam (2010). Designer compost with biomass ashes for ameliorating acid tropical soils: Effects on the microbiota. *Applied Soil Ecology* (45), 319-324. DOI 10.1016/j.apsoil.2012.05.009
- C.M. Cameron (2022). MicroResp™. Technical manual; A versatile soil respiration system (v5). Editorial James Hutton Ltd. Aberdeen, Escocia. 40 pp.
- C.D. Campbell, S.J. Chapman, C.M. Cameron, M.S. Davidson, & J.M. Potts (2003). A rapid microtiter plate method to measure carbon dioxide evolved from carbon substrate amendments so as to determine the physiological profiles of soil microbial communities by using whole soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(6), 3593-3599.
- D. Dalmocech, A. Lagomarsino, M.C. Moscatelli, T. Chili, R. Valentini (2010). Microbial performance under increasing nitrogen availability in a Mediterranean forest soil. *Soil Biology & Biochemistry* 42, 1596-1606. DOI 10.1016/j.soilbio.2010.05.034
- H. Yao, Z. He, M.J. Wilson, C.D. Campbell (2000). Microbial Biomass and Community Structure in a Sequence of Soils with Increasing Fertility and Changing Land Use. *Microb Ecol*, 40, 223-237. DOI 10.1007/s002480000053
- J. Labrador (2020). El papel de la vida en el suelo, en la generación, protección y estabilización de la materia orgánica. En J. Labrador, J.L. Porcuna, M.C. Jaizme-Vega (coordinadores), *Vivificar el suelo. Conocimientos y prácticas agroecológicas* (pp.34-50). FIAES y SEAE.
- M. Agustí (2003). *Citricultura*. Mundi-Prensa.
- M. Brtnicky, A. Mustafa, T. Hammerschmiedt, J. Holatko (2023). Pre-activated biochar by fertilizers mitigates nutrient leaching and stimulates soil microbial activity. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 1-14.
- M.C. Jaizme-Vega (2015). Los microorganismos del suelo como bioindicadores de sostenibilidad. En J. Marquina, J.L. Porcuna, M.C. Jaizme-Vega, (coord.), *La sociedad, la agricultura y el suelo* (pp.49-56).
- MercaTenerife. Naranja. <https://mercatenerife.com/wp-content/uploads/2021/08/2021-Naranja-1.pdf>
- MercaTenerife. Mandarina. <https://mercatenerife.com/wp-content/uploads/2021/08/2021-Mandarina.pdf>



Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. (2016-2020). Campaña de cítricos. https://www.mapa.gob.es/es/agricultura/temas/producciones-agricolas/frutas-y-hortalizas/Informacion_subsectorial.aspx#:~:text=Espa%C3%B1a%2C%20con%20una%20superficie%20de,del%20mundo%20con%20el%205%25.

M. Stutter, S.J. Langan and D.G. Lumsdon (2009). Vegetated Buffer Strips Can Lead to Increased Release of Phosphorus to Waters: A Biogeochemical Assessment of the Mechanisms. *Environ. Sci. Technol* (43), 1858-1863.

Nathalie J.A. Curlevski, Rebekka R.E. Artz, Ian C. Anderson, John W.G. Cairney (2011). Response of soil microbial communities to management strategies for enhancing Scots pine (*Pinus sylvestris*) establishment on heather (*Calluna vulgaris*) moorland. *Plant soil*, 339, 413-424. DOI 10.1007/s11104-010-0593-x

P. Bernabé, F. Martín. (17 de abril de 2024). Secretaria de estado de relaciones con las cortes y asuntos constitucionales. Pregunta escrita senado (684). Respuesta del Gobierno. <https://www.senado.es/web/expedientdocblobServlet?legis=15&id=199590>

R. Hernández., & M. Sánchez (2020). Indicadores biológicos de la salud del suelo. En J. Labrador, J.L. Porcuna, M.C. Jaizme-Vega (coord.), *Vivificar el suelo. Conocimientos y prácticas agroecológicas* (pp.177-192). FIAES y SEAE.

Rodríguez Rodríguez A (2015). Carbono orgánico y propiedades biológicas como indicadores de calidad del suelo en cultivos ecológicos y convencionales de platanera. En J. Marquina, J.L. Porcuna, M.C. Jaizme-Vega (coord.), *La sociedad, la agricultura y el suelo* (pp. 61-62).

S. Chapman & M. Davidson (2023). *MicroRespTM* Tecnical Manual. A Versatil Soil Rspiration System. *Lames Hulton Limited*.

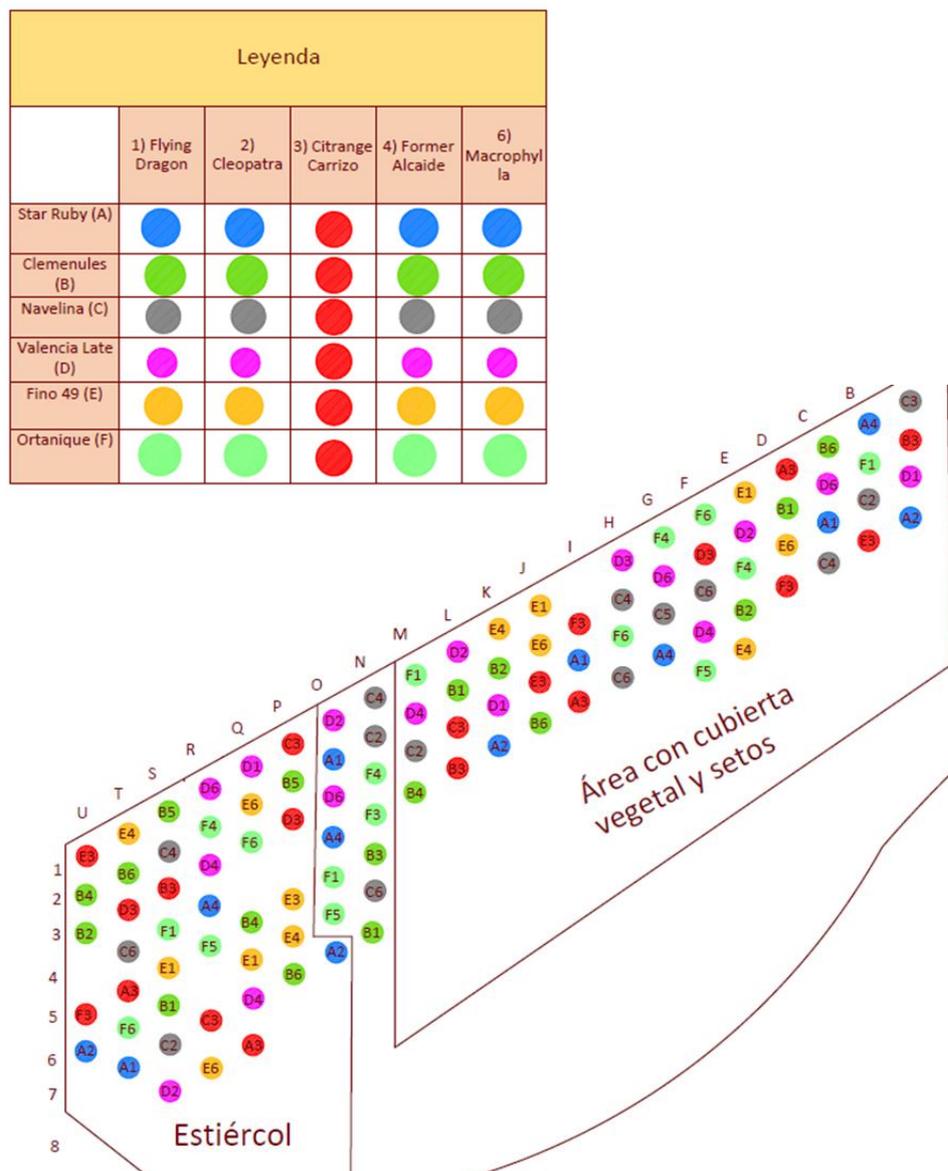
Sophie Dirven (2023). *Misión de la UE “Un pacto sobre el suelo para Europa” 90 millones de euros para 17 nuevos proyectos en favor de unos suelos sanos.*

Visor GRAFCAN [Fotografía], Infraestructura de datos espaciales de Canarias, 2020. <https://visor.grafcan.es/visorweb/default.php?svc=svcCultivos#>

9. Anexos

9.1 Anexo 1. Plano y posicionamiento de los cultivos.

En este anexo se presenta un plano de la finca Isamar con el posicionamiento de los cultivos y leyenda con información en la parte superior de los patrones existentes y en la parte inferior las variedades de cítricos, diferenciados por colores. Elaboración propia con la utilización de AutoCad.



9.2. Anexo 2. Puntos de extracción de muestras

En dicho anexo se presenta un plano con la representación de los puntos de extracción de las muestras marcadas con círculos y cruces rojas (Elaboración propia con la utilización de Autocad).

