





# Efectos de la micorrización y relación de las condiciones ambientales con el cultivo de plantas de fresa

# Autor:

Alejandro Montero Hueso

Trabajo entregado para la obtención del grado de Máster en Tecnología Ambiental

Modalidad: Investigación

Septiembre 2022

Directores:

Pedro Palencia García

Fátima Martínez Ruíz

D. Pedro Palencia García, DNI: 2983095G y cargo Titular de universidad, departamento Biología de Organismos y Sistemas y Área de producción Vegetal de la Universidad de Oviedo.

**Dña. Fátima Martínez Ruíz**, DNI: 44207843X cargo titular de universidad, departamento de Ciencias Agroforestales de la Universidad de Huelva.

# **INFORMAN:**

Que el trabajo titulado "Efectos de la micorrización y relación de las condiciones ambientales con el cultivo de plantas de fresa" presentado por D. Alejandro Montero Hueso, con D.N.I.: 20502284S, ha sido realizado en "AgroMIS-ceiA3", bajo nuestra dirección, y autorizamos su presentación y defensa como Trabajo Fin de Máster (Modalidad: Trabajo de Investigación), para el Máster Universitario en Tecnología Ambiental de la Universidad de Huelva.

En Huelva, a 19 de septiembre de 2022.

PALENCIA Digitally signed by PALENCIA GARCIA FEDRO PEDRO - 29783095G
- 29783095G
Date: 2022.09.11
17:46:26 +02'00'

Fdo.: Pedro Palencia García

MARTINEZ Firmado digitalmente por MARTINEZ RUIZ FATIMA FATIMA MILAGROS - 44207643X Fecha: 2022.09.16 13:26:33 +02'00'

Fátima Martínez Ruíz

#### RESUMEN

Este estudio se realizó para evaluar los efectos de los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) en el cultivo de plantas de fresas de las variedades 'Fortuna' y 'Marisma'. El ensayo tuvo lugar en una finca situada en Palos de la Frontera (Huelva, España), en el periodo de diciembre de 2021 a mayo de 2022. Las plantas se cultivaron en un sistema de macrotúneles en suelo y fueron sometidas a tratamiento de inoculación con el producto MYC Plus, formulado a partir del hongo Glomus intraradices y la bacteria Bacillus velezensis. La evaluación del tratamiento micorrícico se efectuó por medio de diversos análisis en los parámetros de crecimiento de las plantas de fresa y de calidad de fruto. Además, se llevó a cabo un estudio de las condiciones ambientales durante la campaña de producción, que tuvo como objetivo relacionar las variaciones ambientales y los rendimiento de producción, utilizando de apoyo un sistema de lisímetros en el que se medía la lixiviación de los macronutrientes en el perfil del suelo; conjunto con la realización de un análisis periódico de macronutrientes en la savia de los peciolos de las hojas. Los análisis constataron que los efectos de la micorrización mejoraron fundamentalmente la tolerancia de las plantas de fresas, ante situaciones de estrés hídrico y salino, y no tuvo efectos notorios en la calidad de fruto, ni en el crecimiento vegetativo.

• Palabras claves: Fortuna; Marisma; micorrizas; HMA; calidad de fresa; condiciones ambientales.

# **ABSTRACT**

This study was conducted to evaluate the effects of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on the cultivation of strawberry plants of the varieties 'Fortuna' and 'Marisma'. The growing was in Palos de la Frontera (Huelva, Spain), since December 2021 to May 2022. The plants were grown in a macro-tunnel system in soil and were subjected to inoculation treatment with the product MYC Plus, formulated from the fungus Glomus intraradices and the bacterium Bacillus velezensis. The evaluation of the mycorrhizal treatment was carried out by the measure of various growth parameters of the strawberry plants and fruit quality. In addition, it was made a study of the environmental conditions during the production season, with the aim of relating environmental variations and the effect on production yields, using as support a lysimeter system in which the leaching of macronutrients in the soil profile was measured, together with a periodic analysis of macronutrients in the sap of the leaf petioles. The analyses showed that the effects of mycorrhization mainly improved the tolerance of the strawberry plants to water and salt stress, and had no noticeable effects on fruit quality or vegetative growth.

 Keywords: Fortuna; Marisma; mycorrhizae; AMF; strawberry quality; environmental factors.

# **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar, quiero agradecer al Dr. Pedro Palencia y a la Dra. Fátima Martínez, mis tutores, quienes con sus conocimientos y experiencias han colaborado desde el comienzo en la realización de este TFM.

Tengo que agradecer al Proyecto Singular de Transferencia AgroMIS CEIA3, por financiar la línea de proyecto AgroMIS Programa Operativo FEDER de Andalucía y permitir la realización del trabajo. A la empresa FresOdiel, que nos otorgó el espacio y permitió realizar el ensayo en sus tierras de cultivos, junto a las empresas colaboradoras IntraRadice S.L. y InfoCultivo Agronomía.

A Francisco Molina y Jorge Mayorga, estudiantes del Grado de Ingeniería Agrícola, con quienes he colaborado en la obtención de los datos, visitas de campos y los análisis de laboratorio. Además, de brindarme recursos e información sobre el proyecto.

También quiero dar las gracias a mis compañeros del Máster, con quienes he compartido tantos momentos y vivencias.

Por último, quiero dar una especial mención a mi familia y amigos, que me han guiado y apoyado en cada decisión tomada para llegar donde estoy hoy.

A todos ellos, mis más sinceras gracias por haber participado y apoyado de una forma u otra el trabajo.

# ÍNDICE

| 1. | INTRODUCCIÓN  | 1  |
|----|---|----|
|    | 1.1.Reseña histórica breve  | 1  |
|    | 1.2.La fresa  | 1  |
|    | 1.3.Los hongos micorrícicos arbusculares                              | 6  |
|    | 1.4.Macronutrientes principales                                       | 9  |
|    | 1.5.Climatología de la zona   | 11 |
| 2. | OBJETIVOS   | 13 |
| 3. | MATERIALES Y MÉTODOS  | 14 |
|    | 3.1.Localización del ensayo   | 14 |
|    | 3.2.Fechas de planificación del ensayo                                | 15 |
|    | 3.3.Tratamiento y delineamiento por diseño                            | 17 |
|    | 3.4. Validación en el cultivo de fresas                               | 18 |
|    | 3.5.Parámetros y métodos de análisis                                  | 20 |
|    | 3.5.1.Parámetro vegetativo: Contenido relativo de clorofila (SPAD).   | 20 |
|    | 3.5.2.Parámetros de calidad del fruto                                 | 20 |
|    | 3.5.3.Parámetro de calidad post-cosecha: Peso medio del fruto         | 23 |
|    | 3.6.Estaciones meteorológicas   | 23 |
|    | 3.7.Solución nutritiva  | 25 |
|    | 3.8.Instalaciones lisimétricas  | 26 |
|    | 3.9.Sistema de riego  |    |
|    | 3.10.Seguimiento nutricional  | 26 |
|    | 3.11. Extracción de las raíces para calcular la tasa de micorrización | 27 |
|    | 3.12.Modelo del análisis estadístico                                  | 28 |
| 4. | RESULTADOS Y DISCUSIÓN  | 29 |
|    | 4.1. Análisis estadístico de los parámetros vegetativo y de calidad   | 29 |
|    | 4.2.Observación y cuantificación de la micorrización                  | 37 |
|    | 4.3. Variables ambientales y los efectos en el cultivo                | 38 |
|    | 4.4.Dinámica de los nutrientes en savia y lisímetros                  | 43 |
| 5. | CONCLUSIONES  | 57 |
| 6. | BIBLIOGRAFÍA  | 58 |
|    | ANEXOS  | 63 |

# **INDICE DE FIGURAS**

| Figura 1. Estructura de la planta2  |
|---|
| Figura 2. A) Hoja de planta de fresa. B) Flor de fresa y esquema de corte transversal con partes  |
| <b>Figura 3</b> . Promedio diario de horas solares al mes en Palos de la Frontera. Fuente: Climate-data.org, modificado   |
| <b>Figura 4</b> . Localización geográfica del área de estudio. Fuente: Modificado de la Web de Infocutivo   |
| <b>Figura 5</b> . Geolocalización del área de ensayo, cámara a 3000 m de altura. Fuente: Google Earth 2022  |
| <b>Figura 6</b> . Localización de los macrotúneles, cámara a 500 m de altura. Fuente: Google Earth 2022   |
| <b>Figura 7</b> . Distribución del experimento del cultivo de fresa para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' con sus respectivos tratamientos por línea T0 = no inoculado; T1 = inoculado. Fuente: Elaboración propia  |
| <b>Figura 8.</b> Localización del cultivo de ensayo respecto a la estación meteorológica. Fuente: Google Earth modificado   |
| <b>Figura 9</b> . Imágenes del proceso de recolección de las raíces para el análisis de micorrización. Fuente: Elaboración propia   |
| <b>Figura 10</b> . Contenido total de clorofila (SPAD) en hojas para las dos variedades 'Fortuna' y 'Marisma' cultivadas en suelo e inoculadas con una solución de hongos micorrícicos y bacterias, para los tratamientos: T0 = no inoculado y T1 = inoculado, en el Ciclo tardío. Fuente: Elaboración propia.30    |
| <b>Figura 11</b> . Gráficos comparativos de Firmeza de fruto para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' expuestas al tratamiento T0 y T1 en los ciclos productivos. Fuente: Elaboración propia   |
| <b>Figura 12.</b> Gráficos comparativos de pH de fruto para el tratamiento T0 y T1 en los ciclos productivos. Fuente: Elaboración propia  |
| <b>Figura 13</b> . Gráficos comparativos de ATT de fruto para el tratamiento T0 y T1 en los ciclos productivos. Fuente: Elaboración propia  |
| <b>Figura 14</b> . Gráficos comparativos de la Relación SST/ATT para el tratamiento T0 y T1 en los ciclos productivos. Fuente: Elaboración propia.34  |
| <b>Figura 15</b> . Gráficos comparativos de vitamina C en los frutos para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' expuestas al tratamiento T0 y T1 en los ciclos productivos. Fuente: Elaboración propia   |
| <b>Figura 16</b> . Imágenes de las tres situaciones del estudio, observadas a microscopio óptico a x20 aumentos. A: Muestra de Marisma con micorrización natural (12%). B: Muestra de Fortuna con micorrización por el tratamiento con MYC Plus (8%). C: Muestra de Fortuna sin micorrización. Fuente: Intra Radice |

| Figura 17. Evolución de la temperatura ambiental a lo largo de la campaña 2021/2239  |
|--|
| Figura 18. Evolución de la humedad relativa ambiental y en el invernadero a lo largo de la campaña 2021/22   |
| Figura 19. Evolución de evapotranspiración a lo largo de la campaña 2021/22  |
| Figura 20. Evolución de la temperatura en los macrotúneles a lo largo de la campaña 2021/22  |
| Figura 21. Evolución de la radiación solar a lo largo de la campaña 2021/22.   |
| Figura 22. Evolución de la radiación solar a lo largo de la campaña 2021/22.   |
| Figura 23. Representación gráfica de los valores obtenidos de cosecha total en el ciclo temprano para 'Fortuna' y 'Marisma'  |
| <b>Figura 24</b> . Evolución de la concentración de NO <sub>3</sub> - a lo largo del ciclo productivo en el tratamiento T0, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCultivo                                       |
| <b>Figura 25</b> . Evolución de la concentración de NO <sub>3</sub> - a lo largo del ciclo productivo en el tratamiento T1, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCultivo                                       |
| Figura 26. Evolución de la concentración de NO <sub>3</sub> - a lo largo del ciclo productivo a distintas profundidades en el suelo en el tratamiento T0, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCultivo.45      |
| Figura 27. Evolución de la concentración de NO <sub>3</sub> - a lo largo del ciclo productivo a distintas profundidades en el suelo en el tratamiento T1, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCultivo.45      |
| <b>Figura 28</b> . Evolución de la concentración de K <sup>+</sup> a lo largo del ciclo productivo en el tratamiento T0, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCultivo  |
| <b>Figura 29</b> . Evolución de la concentración de K <sup>+</sup> a lo largo del ciclo productivo en el tratamiento T1, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCultivo  |
| <b>Figura 30</b> . Evolución de la concentración de K+ a lo largo del ciclo productivo a distintas profundidades en el suelo en el tratamiento T0, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCultivo 47             |
| <b>Figura 31</b> . Evolución de la concentración de K <sup>+</sup> a lo largo del ciclo productivo a distintas profundidades en el suelo en el tratamiento T0, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCultivo 47 |
| <b>Figura 32</b> . Evolución de la concentración de Ca <sup>++</sup> a lo largo del ciclo productivo en el tratamiento T0, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCultivo  |

| Figura 33. Evolución de la concentración de Ca++ a lo largo de  |         |
|---|---------|
| productivo en el tratamiento T1, para las variedades 'Fortuna' y 'Ma respectivamente. Fuente: InfoCultivo   | risma'  |
| <b>Figura 34</b> . Evolución de la concentración de Ca <sup>++</sup> a lo largo de productivo a distintas profundidades en el suelo en el tratamiento T0 las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCult | , para  |
| Figura 35. Evolución de la concentración de Ca <sup>++</sup> a lo largo de productivo a distintas profundidades en el suelo en el tratamiento T1 las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCult         | , para  |
| Figura 36. Evolución de la concentración de Na+ a lo largo de productivo en el tratamiento T0, para las variedades 'Fortuna' y 'Ma respectivamente. Fuente: InfoCultivo   | risma'  |
| Figura 37. Evolución de la concentración de Na <sup>+</sup> a lo largo de productivo en el tratamiento T1, para las variedades 'Fortuna' y 'Ma respectivamente. Fuente: InfoCultivo   | risma'  |
| Figura 38. Evolución de la concentración de Na <sup>+</sup> a lo largo de productivo a distintas profundidades en el suelo en el tratamiento T0 las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCult          | , para  |
| Figura 40. Evolución de la concentración de Na <sup>+</sup> a lo largo de productivo a distintas profundidades en el suelo en el tratamiento T1 las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCult          | , para  |
| Figura 41. Evolución de la concentración de NaCl a lo largo de productivo a distintas profundidades en el suelo en el tratamiento T0 las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCult                     | , para  |
| Figura 42. Evolución de la concentración de NaCl a lo largo de productivo a distintas profundidades en el suelo en el tratamiento T1 las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCult                     | , para  |
| <b>Figura 43</b> . Evolución de la CE a lo largo del ciclo productivo en el tratar T0, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. F InfoCultivo   | uente:  |
| <b>Figura 44</b> . Evolución de la CE a lo largo del ciclo productivo en el tratar T1, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. F InfoCultivo   | uente:  |
| <b>Figura 45</b> . Evolución de CE a lo largo del ciclo productivo a disprofundidades en el suelo en el tratamiento T0, para las variedades 'Foy 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCultivo                                 | ortuna' |
| <b>Figura 46</b> . Evolución de CE a lo largo del ciclo productivo a disprofundidades en el suelo en el tratamiento T0, para las variedades 'Foy 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCultivo                                 | ortuna' |
| Figura 47. Evolución del pH a lo largo del ciclo productivo en el tratar T0, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. F   | niento  |

| <b>Figura 48</b> . Evolución del pH a lo largo del ciclo productivo en el tratamiento T1, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCultivo                   |
|--|
| <b>Figura 49</b> . Evolución de los <sup>o</sup> Brix a lo largo del ciclo productivo en el tratamiento T0, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCultivo |
| <b>Figura 50</b> . Evolución de los <sup>o</sup> Brix a lo largo del ciclo productivo en el tratamiento T1, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCultivo |

# **ÍNDICE DE TABLAS**

| Tabla I. Recogida de datos en función de semana de ensayo.    16   |
|--|
| Tabla II. Descripción del embalaje del producto micorrícico  |
| <b>Tabla III</b> . Solución nutritiva incorporada al ensayo, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma'   |
| Tabla IV: Análisis de la varianza simple (McIntosh,1983)   |
| Tabla V. Datos promedios de SPAD por tratamiento y variedad 29   |
| Tabla VI.         Valores promedios de los parámetros de calidad para el ciclo de producción precoz.           31  |
| Tabla VII.       Valores promedios de los parámetros de calidad para el ciclo de producción tardío.         31   |
| <b>Tabla VIII</b> . Valores promedios de rendimiento del fruto y resultados de experimento de 48 horas de refrigeración, para evaluar la pérdida de masa fresca del fruto, para los dos periodos productivos |
| <b>Tabla IX.</b> Análisis de tasa de micorrización, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma'. Fuente: Intra Radice S.L  |

# 1. INTRODUCCIÓN

#### 1.1. Reseña histórica breve

Las fresas y las especies relacionadas pertenecen a la familia *Rosaceae*, subfamilia *Rosoideae*, tribu *Potentilleae*, subtribu *Fragariinae*, género *Fragaria L*. (Kirschbaum, 2021).

Los primeros escritos que nombran a las plantas de fresas se remontan a la época de los romanos, mencionando su aroma y sabor (Verdier, 1987). Pero no fue hasta entrado el siglo XIV, cuando el cultivo de fresas se extendió por Europa, el comercio tardó más en surgir hasta el s. XIX (Galletta, 1990).

Las especies inicialmente cultivadas de plantas de fresas difieren en función de la región del mundo, una de las primeras documentadas fue *Fragaria vesca L*, su cultivo comenzaba con estolones silvestres que eran trasplantados (Medina, 1993).

Durante las primeras expediciones al continente americano se descubrió en la región de Virginia (EE. UU.) una planta de fresa de frutos grandes y sabrosos que se denominó, *Fragaria virginiana Duch*. Junto a esta, se descubrió otra variedad de planta de fresa, denominada *Fragaria chiloensis Duch*. Esta variedad tiene como área de distribución toda la costa del Pacífico norteamericano desde Alaska hasta Santa Bárbara (California, EE. UU.) y todo el oeste de sur de América (Galletta, 1990).

En la actualidad, la planta de fresa comercial cultivada es la hibridación de estas dos especies ancestrales: *F. chiloensis* y *F. virginiana*, que fueron introducidas en Europa, donde comenzaron a ser cultivadas, y en algún momento a mediados del s. XVIII formaron híbridos (Darrow, 1966). Estas nuevas fresas se volvieron a introducir en América del Norte como un híbrido domesticado, que fue mejorado para producir las frutas grandes y deliciosas que ahora se producen ahora en todo el mundo.

Las variedades cultivadas comercialmente son híbridos, la especie más cultivada es *Fragaria x ananassa Duch.*, que ha reemplazado casi universalmente a la especie silvestre, *F. vesca*, por el tamaño superior de sus frutos (Kirschbaum, 2021).

#### 1.2. La fresa

## 1.2.1. Características botánicas

La planta de fresa se considera perenne, aunque veces se describa como herbácea. Es una planta leñosa, ya que produce xilema secundario en tallos y raíz. Su tallo central se denomina corona, tiene 2-3 cm de longitud y es de forma cilíndrica, constituye el eje principal de crecimiento de la planta, de él surge la formación de estolones, hojas, raíces, e inflorescencias (Figura 1).

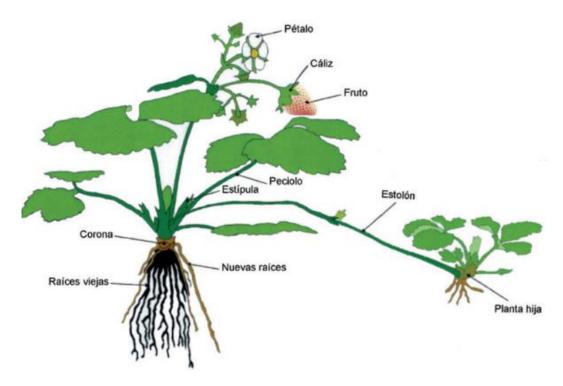


Figura 1. Estructura de la planta. Fuente: infoagro.com, 2022.

Los estolones son tallos delgados que crecen horizontales al suelo, de cada estolón se puede formar una nueva planta (Figura 1).

El sistema radicular es fasciculado, fibroso y de desarrollo superficial generalmente, alcanzando en la horizontal 30 cm y 30-50 cm de profundidad en el terreno, dependiendo de las condiciones patogénicas y edáficas del medio. Está formado por raíces principales gruesas, siendo las jóvenes de color blanco y se tornan a marrón oscuro a medida que envejecen. Su número suele ser de unas 20, de estas salen raíces jóvenes más finas y pequeñas de color blanco, denominadas raicillas (Figura 1).

Las hojas son pinnadas y trifoliadas, la longevidad de estas suele ser de unos pocos meses, influenciada por la variedad y la fertilización nitrogenada (Figura 2A).



**Figura 2.** A) Hoja de planta de fresa. B) Flor de fresa y esquema de corte transversal con partes. Fuente: infoagro.com

La inflorescencia de la fresa es una cima cónica terminada en una flor primaria, después hay dos secundarias, cuatro terciarias y ocho cuaternarias. Una flor

típica es hermafrodita y presenta los cuatro ciclos florales: cáliz, corola, androceo y gineceo. Con lo que respecta a la polinización se estima que la realizada por insectos aporta un 30% del rendimiento en el cultivo, fundamentalmente abejas (Figura 2B).

El fruto, conocido como "fresa" (Figura 3), en realidad es un fruto agregado (eterio) siendo un engrosamiento del receptáculo floral, los verdaderos son frutos son los aquenios situados en la superficie del receptáculo (Kirschbaum, 2021).

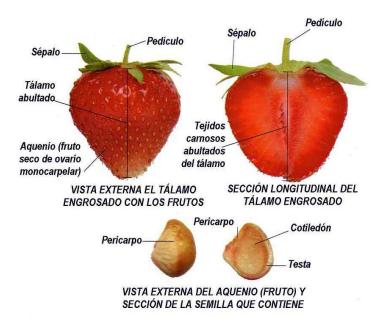


Figura 3. Esquema de la infrutescencia de fresa y su fruto. Fuente: Partesdel.com, 2022.

El desarrollo vegetativo y reproductivo de la fresa se encuentra condicionado por un conjunto complejo de señales ambientales y fisiológicas. La aparición y el crecimiento de hojas, coronas, raíces, estolones e inflorescencias, están marcados e influenciados por el genotipo, y por varios factores ambientales, principalmente la intensidad lumínica, la calidad de la luz, el fotoperiodo, la temperatura, la concentración de CO<sub>2</sub> y la disponibilidad de agua. Estos factores modulan las tasas de fotosíntesis y de intercambio gaseoso, las relaciones hídricas, los procesos fotomorfogénicos y el metabolismo secundario. Lo cual se traduce en una serie de respuestas en término de crecimiento, partición de asimilados, fenología, rendimiento agronómico y la composición química del fruto (Hancock, 2008).

El desarrollo de la fresa tiene un patrón cíclico, en las regiones con inviernos fríos, las flores se forman normalmente a finales del verano y otoño, la planta entra en reposo invernal y los brotes crecen la primavera siguiente, cuando las temperaturas son lo suficientemente cálidas para su desarrollo.

La tasa de desarrollo está relacionada con la temperatura. La mayor parte de la ramificación de la corona se produce durante el otoño con temperaturas frescas y los días son cortos (Kirschbaum, 2021).

Las plantas de fresa pueden ser de día neutro, corto y largo. Dependiendo de la inducción a la floración. Las variedades de día corto y de día largo es inducida por el fotoperíodo, que son los cambios de iluminación recibidos por la planta, alternancia día/noche. El fotoperiodo depende del ciclo solar y las estaciones. En variedades de día neutro, el fotoperiodo no interfiere en la floración, al inducirse a florecer con fotoperíodos <14h, o temperaturas >15°C (Sánchez-Gracia et al., 2008).

# 1.2.2. Condiciones agroclimáticas de la fresa

El cultivo de la fresa se adapta bien a diferentes climas, aunque con ciertas condiciones. Concretamente, en la zona de Huelva, Andalucía (España), región con clima mediterráneo, las condiciones climáticas que condicionan los estados fenológicos de las plantas de fresas son las siguientes:

En otoño cuando el fotoperíodo y termoperíodo decrecen, finaliza la etapa de estolonado y la diferenciación floral. En la región de Huelva por el clima de la zona no sucede el período de latencia, se da en regiones más frías con inviernos más acusados, en el que los factores son mínimos y se inicia la parada vegetativa.

Por lo que, al no darse parada vegetativa en el cultivo, este se mantiene activo para todo el año, presentando niveles de actividad más bajo en los meses de invierno. Una vez comienza a aumentar la temperatura a finales del invierno e inicio de primavera, el fotoperiodo y termoperíodo crecen, la actividad vegetativa aumenta, dando comienzo a la floración-fructificación, así como el estolonado. Por último, con la entrada del verano cuando las temperaturas y la longitud del día son máximas, se disminuye el proceso de floración-fructificación y aumenta el estolonado. Ese modelo puede tener modificaciones, según las condiciones ambientales del año, si se retrasa la época nival se puede prolongar más la actividad elevada del período vegetativo. En definitiva, para el cultivo de fresas en la zona de Huelva existen dos periodos diferentes dentro de la temporada de cultivo: una temporada de cultivo temprana y fría (bajas temperaturas y alta humedad relativa) entre enero y marzo (Ciclo de producción temprana) y una temporada de cultivo tardía y más cálida (altas temperaturas y baja humedad relativa) entre abril y mayo (Ciclo de producción tardía).

La fresa necesita acumular una serie de horas frío con temperaturas entre 0 y 7°C. Su parte vegetativa es muy resistente a las heladas, aunque se destruyen los órganos florales. La temperatura óptima para obtener resultados de producción adecuados oscila entre los 15-20°C, con una temperatura vegetativa mínima de 2°C y máxima de 40°C, dependiendo de la variedad.

Es un cultivo poco exigente en cuanto a las condiciones del suelo, pero de respuesta rápida a cualquier estrés biótico o abiótico, dando como resultado una caída importante en los rendimientos comerciales. Las plantas de fresas requieren para unas óptimas condiciones de cultivo un suelo equilibrado rico en

materia orgánica (M.O. > 2%), drenado pero que tenga cierta capacidad de retención de agua. Sobre suelos arcillosos o suelos con capa freática alta, el contenido de materia orgánica no es tan importante. Un suelo franco-arenoso sería el ideal para el cultivo de la fresa (Medina-Minguez, 2003).

La fresa soporta bien valores de pH entre 6 y 7, pero el óptimo es menor o igual a pH 6,5. Las necesidades hídricas del cultivo son altas y debe de estar el agua bien distribuida por todo el cultivo. Respecto a la calidad del agua, la concentración de sales disueltas superior a 0,8-1 dS/m disminuyen el rendimiento (Guerrero – Guerrero, 2020).

El proceso de maduración del fruto es rápido, la cosecha de las fresas normalmente es entre 20 y 40 días después de la polinización, dependiendo de la variedad y las condiciones climáticas (Medina-Minguez, 2003)

# 1.2.3. Características varietales de las plantas de fresa cultivadas

#### Florida Fortuna

La variedad *Florida Fortuna*, es un cultivar de día corto desarrollada por la Universidad de Florida (EE. UU.). Siendo la variedad mayormente cultivada por 8 años consecutivos en la provincia de Huelva, con una tasa de cultivo del 31,1% para la campaña 2021/22, un 4,5% menos que la campaña 2020/21 (Medina Mínguez, J., 2021).

Sus características principales son su precocidad en dar fruto, calidad de fruta y productividad. La variedad se adapta a regiones de producción invernal y al mercado de productos frescos de elevado valor. Su producción es estable en todo el ciclo productivo dando frutos de elevado tamaño, de color rojo brillante y de forma uniforme.

La planta tiene arquitectura abierta y la fruta se produce sobre largos pedúnculos, que facilitan su polinización y cosecha. Las semillas en el receptáculo se encuentran ligeramente hundidas bajo la superficie, dando un color vivo y brillante. Además, tolera muy bien el transporte y posee un sabor atractivo para el consumidor.

Florida Fortuna es altamente susceptible al hongo *Phytophthora cactorum*, el cual puede causar retraso en el crecimiento de la planta y mortalidad (EMCO CAL, 2022).

#### Marisma FNM

La variedad *Marisma FNM* es un novedoso cultivar de día corto desarrollada por la empresa 'Fresas Nuevos Materiales S.A.' (Huelva, España), que para su primer año de presencia comercial (campaña 2021/22) ha tenido una representación en el cultivo total del 1,7% (Medina Mínguez, J., 2021).

Las características principales de la planta son: porte semierecto, densidad foliar media a densa, tallos vigorosos, hojas grandes, gran número de inflorescencias de diámetro grande y posición de las inflorescencias a la misma altura que las hojas.

Las flores producidas por *Marisma* son grandes con el cáliz mayor que la corola, que resulta en frutos de gran tamaño, firmes, de forma cónica, pueden tener cavidad en su interior y color rojo medio con posible irregularidad de la tonalidad en la superficie.

La fruta tiene un tiempo de maduración medio (20-30 días). Se trata de una fruta dura y con buena resistencia al transporte.

Además, la planta es muy tolerante con la mayoría de las enfermedades del suelo como los hongos *Phytophthora cactorum y Colletotrichum acutatum* (Sánchez Sevilla, 2020).

# 1.3. Los hongos micorrícicos arbusculares

Los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) son un conjunto de microorganismos de la rizosfera (Tapia et al., 2010), biótrofos obligados en los que su desarrollo depende de la asociación mutualista entre el hongo y las raíces de las plantas hospedadoras. Las relaciones de asociación simbiótica de los HMA pueden ser aproximadamente con el 80% de las plantas terrestres al asociarse con angiospermas, gymnospermas, pteridófitas y briofitas (Carvalho et al., 2010).

Cuando ocurre la simbiosis existen dos factores que influyen al determinar la relación del HMA con la planta: la infectividad y la efectividad. El factor infectividad, es la capacidad del hongo para penetrar e invadir las raíces consiguiendo así una amplia exploración del suelo. El factor efectividad, se refiere a la mejora que presentan las plantas al formar relación con el HMA

La distribución de los HMA es global, ocupan todos los ecosistemas terrestres con plantas, por lo que existen cepas adaptadas a cualquier región y a diferentes condiciones ambientales, las cuales determinan la bondad o desfavorecimiento de la asociación (Tapia et al., 2010).

Hay diferentes especies de HMA que han tenido una evolución de forma independiente y complementarios entre sí, debido a que hay diferentes familias que son efectivas cubriendo distintas funciones en la planta, tal es el caso de la familia *Glomeraceae* que es especifica en la protección contra patógenos, mientras la familia *Gigasporaceae* favorece la disponibilidad y absorción de fósforo. Por lo tanto, hay vías de investigación en la suplementación de cultivos vegetales con diferentes especies de HMA que interaccionen entre sí, para ver si se obtienen resultados satisfactorios en los sistemas de producción agrícola (Martínez y Pugnaire, 2009).

# 1.3.1. Relación entre la planta y los HMA

La relación entre las plantas y los HMA se establece por medio de señales específicas bioquímicas y genéticas en las fases del desarrollo de la simbiosis, participando en todas las fases: el reconocimiento, la colonización y el intercambio de nutrientes. La simbiosis de HMA con las plantas, necesita del reconocimiento y armonización de procesos complejos que permiten el establecimiento de la simbiosis entre el hongo y la planta La propia planta es el verdadero organismo que controla esa simbiosis, es la encargada de enviar la primera señal de reconocimiento que permite la entrada del HMA al interior de sus células disminuyendo la actividad de su sistema de defensa y propiciando la entrada del hongo a su interior (Valdés Ramírez, M., 2010).

Las interacciones entre el HMA y una planta comienzan cuando la hifa de una espora germinada del hongo hace contacto con la raíz del hospedador. A continuación, comienza la formación de un apresorio que facilita la penetración de la hifa. Las hifas son ramificaciones fúngicas que se extienden en el suelo de forma horizontal y vertical, favoreciendo el paso y la asimilación de nutrientes alejados de la planta formando la simbiosis (Rodríguez, 2005). En los puntos de penetración de las hifas crece el micelo interno entre las células epidérmicas, que a su vez, pasa por la hipodermis a colonizar el parénquima de la raíz. En el parénquima el micelo interno prolifera inter e intracelularmente, el desarrollo del hongo culmina cuando forma arbúsculos (Castellanos Morales, 2007), que forman un gran contacto con el protoplasto de la planta, los arbúsculos son estructuras de intercambio de nutrientes entre el hongo y la planta. Algunos hongos también forman vesículas en el micelio interno, que sirven como estructuras de reserva al hongo (Árciga, 2008).

Debido al envejecimiento de la colonización micorrícica, también se desarrollan vesículas, que son estructuras fúngicas que contienen grandes cantidades de lípidos, que sirven de almacenamiento. Estas estructuras no son producidas por todos los hongos. (Varela y Trejo, 2001).

#### 1.3.2. Desarrollo de la simbiosis

Cuando se va a establecer la relación de simbiosis planta-hongo e incluso antes, el hongo experimenta tres fases de desarrollo: la asimbiótica, la presimbiótica y la simbiótica.

- La fase asimbiótica, se produce la germinación de la espora y una mínima producción de micelio. Este fenómeno se puede generar en ausencia de la planta, ya que en esta fase el hongo vive de las reservas de triglicéridos.

- La fase presimbiótica tiene lugar antes de establecer la relación planta-hongo, pero el hongo ya es estimulado por la transpiración de las raíces y comienza a generar una ramificación extensa de hifas, para entrar en contacto con la superficie de la raíz, formando un apresorio achatado en la epidermis, previo a la penetración de las hifas. El apresorio es la estructura fúngica responsable de la penetración al tejido radical, que genera una reorganización en el citoplasma.
- La fase simbiótica comienza una vez se forma el apresorio que se produce en las células corticales de la raíz e implica la formación de arbúsculos intracelulares y producción de micelio extraradical formador de esporas. La colonización fúngica de la célula lleva al desarrollo de arbúsculos, que se caracterizan por ser interfase raíz-hongo y el sitio del intercambio de nutrientes y metabolitos (De la Rosa Mera, 2009).

En la simbiosis mutualista la planta proporciona entre un 4-20% de todos los metabolitos fotoasimilados al hongo, para nutrirlo y así mantener la asociación (Ochoa et al., 2009).

En la práctica el uso de pesticidas, mala gestión de fertilizantes, rotaciones de cultivos y los factores ambientales, son causas que pueden llegar a dañar la micorriza arbuscular (Guerra, 2008).

# 1.3.3. Beneficios de los HMA y PGPR's para las plantas

En la actualidad, es conocido el beneficio que los HMA les otorgan a las plantas y al propio suelo, al haber sido ampliamente estudiados desde diferentes enfoques en distintos tipos de cultivos y en condiciones bióticas y abióticas concretas, demostrando resultados satisfactorios del importante papel de los HMA en el desarrollo de múltiples cultivos y el papel que juegan en los ecosistemas.

Uno de principales efectos de los HMA en las plantas es el favorecimiento de la nutrición vegetal, fundamentalmente del nitrógeno (N) y fósforo (P), que pueden llegar a mejorar el aporte hasta un 80% de P, 25% de N, 10% de potasio (K) y 60% de cobre (Cu) (Harris et al., 2009). Otro efecto de gran interés la mejora en la resistencia al estrés hídrico (Castellanos Morales, 2007). Además, del aumento de la producción (Díaz y Garza, 2007), estabilización de suelos (Guerra, 2008), protección ante patógenos e incremento en la síntesis de sustancias de pigmentación (Pucheta Díaz, et al., 2006).

Con lo que respecta a las plantas de fresas, las asociaciones simbióticas con hongos micorrízicos arbusculares son la relación que en mayor medida se da entre las raíces de las plantas y los microorganismos de la rizosfera. La planta de fresa es altamente dependiente de las características de la rizosfera para su productividad y rendimiento, debido a esto, es una especie posee un elevado índice de colonización por HMA.

Otro grupo de organismos que habitan en la rizosfera son las PGPR's "Plant Growth Promoting Rhizobacteria". Estas fueron definidos por Kloepper en 1978, como un grupo de bacterias de diferentes géneros que habitan en el suelo y actúan en simbiosis con plantas de diversas formas, como: aumentar el crecimiento y desarrollo de las plantas, además de proporcionar protección frente a patógenos. Dentro de este grupo también hay diferentes géneros de PGPR's que intervienen en los procesos de colonización micorrícica, conocidas como bacterias ayudadoras de la micorrización (Inno Plant, 2021).

En definitiva, se ha demostrado que los HMA en conjunto con otros simbiontes de la rizosfera, como los PGPR's, producen efectos beneficiosos para el cultivo de plantas de fresas de diferentes especies. Estos hallazgos han traído mejoras e innovación al cultivo de las plantas de fresas, y las marcas comerciales comenzaron a formular productos con dichos organismos para la inoculación en los cultivos.

Hoy día, se están empleando para superar los efectos adversos de los fertilizantes químicos. La tendencia es a utilizar los llamados biofertilizantes de PGPR, como es la bacteria *Bacillus velezensis sp.* Esta bacteria ha sido aislada durante un programa de investigación para descubrir nuevas cepas bacterianas capaces de sintetizar nuevos lipopéptidos con actividad surfactante y/o antimicrobiana.

Algunos de los efectos positivos de la inoculación de cultivos de plantas de fresas con estos productos son:

El aumento en el número de flores y frutos en plantas de fresa inoculadas. Mayor número de estolones, como el caso estudiado por Botham et al. (2009), realizando un ensayo de micorrización con *Entrophospora colombiana* y *G. intraradices* en *Fragaria virginiana* (silvestre) que dio como resultado un aumento del número de flores (Palencia et al., 2015).

# 1.4. Macronutrientes principales

#### Nitrógeno

El N es uno de los macronutrientes principales en la nutrición de las plantas de fresas, forma parte principal de las proteínas, enzimas y clorofilas que forman los compuestos orgánicos de la planta y acelera la división celular. Otra característica es su carácter estructural, debido a que la mayoría de los componentes protoplasmáticos celulares son complejos proteínicos.

Su absorción en la planta es en forma de nitrato (NO<sub>3</sub>- ) y amonio (NH<sub>4</sub> +). Una deficiencia de N se manifiesta por medio de clorosis, apareciendo primero en las hojas más viejas.

#### Potasio

El K es un elemento muy importante en el crecimiento y desarrollo de la planta, participando en diferentes procesos bioquímicos y fisiológicos de las mismas. Se presenta en forma inorgánica al no formar ninguna molécula orgánica, es poco móvil y con carga positiva (K+). Su función principal en la planta es: crea potencial osmótico en las células y neutraliza cargas eléctricas negativas.

Además, realiza funciones esenciales en la activación enzimática, síntesis de proteínas, fotosíntesis, actividad estomática, y para el movimiento de azúcares en el floema, etc. Mantiene altos los niveles de turgencia de la planta, ya que es un elemento clave en la relación planta-agua.

El fruto al ser un órgano sumidero, recibe a través de los vasos conductores del floema, el flujo de azucares y aminoácidos metabolizados en la fotosíntesis, y el K resulta ser clave en la translocación de estos productos desde la hoja hacia el floema. En la fotosíntesis un déficit de K+ en el transporte, afecta ralentizando la acumulando azucares y aminoácidos en las hojas. Los cultivos exigen K durante todo su ciclo, pero especialmente a partir del cuajado del fruto.

#### Calcio

El Ca tiene un papel muy importante en la planta, ya que actúa en los procesos vitales a nivel celular, principalmente como elemento esencial de cohesión y permeabilidad de la pared celular.

Siendo un activador y regulador de la división y alargamiento celular. Es un elemento que resulta imprescindible en el desarrollo de órganos de crecimiento. Además, el calcio interviene en la translocación de carbohidratos y es un elemento fundamental para la absorción de elementos nutritivos, tiene una relación directa con la utilización de nitrógeno. Está directamente relacionado con la calidad de fruto al formar parte de la estructura de la pared celular, mejorando la firmeza del fruto. El aporte de calcio proporciona a la planta un mejor crecimiento meristemático en los apicales de las raíces y nuevos brotes. Por lo que, la mejora de la pared celular aumenta la resistencia a enfermedades, mejora la calidad de fruto y la capacidad de resistir estrés hídrico y térmico.

#### Fósforo

El P no forma parte de ninguna molécula orgánica, es poco móvil y presenta carga positiva. Las funciones principales de este son el crear potencial osmótico en las células y neutralizar las cargas eléctricas negativas. También es empleado

en la fotosíntesis, es activador de varias enzimas, necesario para la síntesis de proteínas y para el movimiento de azucares por el floema.

#### Sodio

El Na no es un elemento esencial para las plantas, pero es empleado en pequeñas cantidades como un micronutriente auxiliar para el metabolismo y la síntesis de clorofila. Hay algunas plantas que pueden emplearlo como sustituto parcial de potasio. Por otra parte, el cloruro de sodio (NaCl) conocido como la sal común, una de las sales con mayor presencia en la mayoría de las aguas, es necesario en pequeñas cantidades al intervenir en el metabolismo, la fotosíntesis, la osmosis y equilibrio iónico. La deficiencia de sodio no muestra síntomas evidentes puesto que no se trata de un elemento esencial, pero la deficiencia de cloruro se puede presentar de forma permanente si el sustrato en el que se encuentra la planta contiene menos de 2 ppm (Agüero, 2012).

# 1.5. Climatología de la zona

# Temperaturas

El ensayo al haber sido realizado en Palos de la Frontera (Huelva, España), que es una región que tiene un clima mediterráneo típico, caracterizado por temperaturas regulares. Para un año estándar por lo general, la temperatura varía de 8° C a 30° C, siendo 18° C la temperatura promedio anual.

Los inviernos son cortos, ventosos y parcialmente nublados, en el que raramente se alcanzan temperaturas bajo 0° C. Durante la época estival es cuando las temperaturas son más extremas, superándose hasta los 45° C en algunos días de los meses de julio y agosto. Por lo que, el clima de la zona corresponde al tipo Csa (templado, verano seco y caluroso) según la clasificación climática de Köppen-Geiger (IGN, 2022).

#### Vientos

Los vientos de la zona son variados, siendo los de componente N los más constantes y predominantes en la zona durante todo el año. Además, a lo largo del año también hay una variación en la dirección del viento, suceso producido por los cambios de estaciones que intervienen en los flujos de presiones que hacen cambiar la dirección de los vientos de la zona. En invierno, el viento predominante es de componentes N-E y en verano pasa a ser predominante el viento de componente S-O (Weather Spark, 2022).

#### Precipitaciones

Las precipitaciones presentan variabilidad propia del clima mediterráneo, debido a que se alternan periodos de sequía con periodos de inundaciones, por lo que, su valor promedio resulta ser poco significativo y está entorno a los 422 mm por

año. El mes más seco es julio con 0,30 días lluviosos (1 mm) de media y el más lluvioso es octubre con 7,00 días de lluvias (66 mm) (Weather Spark, 2022).

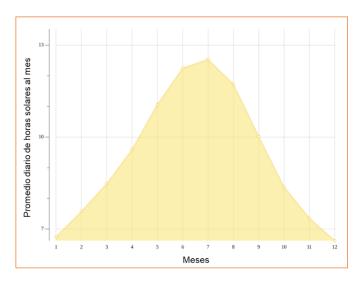
#### Humedad relativa

La humedad relativa es la relación entre la humedad absoluta y la cantidad de saturación, se expresa en %. La humedad absoluta es la cantidad de vapor de agua contenida en un m³ de aire se expresa en g/m³ (Arundel et al., 1986). Las variables temperatura y precipitaciones tienen un efecto directo en la humedad relativa; altas temperaturas producen un descenso de la humedad relativa por el aumentar de volumen de la masa de aire, por el contrario, las precipitaciones aumentan los valores de humedad, al aumentar la presencia de vapor de agua en la atmósfera.

En cuanto a la humedad relativa en el ambiente, los valores más bajos se miden en julio (46,51%) y los mayores en diciembre (77,18%). Estos valores se ven influidos por el paso de las estaciones. Aunque no se aprecian grandes cambios a lo largo del año, por las propias características del clima de la zona (Weather Spark, 2022).

#### Día Solar

Otra variable de interés de cara al estudio es las horas de luz solar que recibe el cultivo. Para el periodo de cultivo de octubre a mayo, los datos de horas de luz presentan una caída inicial en los primeros estadios del cultivo en los meses nivales, seguido de un aumento acusado y paulatino hasta la final de la campaña (Figura 3). Las horas de luz está directamente relacionada con la radiación solar captada en la zona.



**Figura 3**. Promedio diario de horas solares al mes en Palos de la Frontera. Fuente: Climate-data.org, modificado.

El mes julio es el que presenta un número mayor de horas solares diarias. El promedio de horas solares al día es de 12,54 y al mes un total de 388,59 horas de sol. Por el contrario, enero es el mes con el número menor de horas diarias

de sol, con una media de 6,62 horas de sol al día y un total de 205,29 horas de sol. En total son 3420,27 horas de sol al año (Climate-data.org, 2022).

# 2. OBJETIVOS

# Objetivo principal

Este trabajo fin de máster tiene como objetivo principal valorar el estado nutricional de un cultivo de plantas de fresas sujetas a tratamiento de micorrización en suelo.

# Objetivos específicos

- Determinar el efecto tratamiento con inoculo de hongo micorrízico (G. intraradices) y la bacteria (B. velezensis) en los rendimientos del cultivo de fresas. Aplicando análisis en los parámetros de crecimiento: análisis de contenido de clorofila (SPAD) y análisis de contenido de nutrientes en savia, en los peciolos de las hojas; a dos cultivares de fresa sembrados en un sistema de macrotúneles.
- Relacionar como las condiciones ambientales han afectado al cultivo y la calidad de producción.

# 3. MATERIALES Y MÉTODOS

# 3.1. Localización del ensayo

El ensayo fue realizado en la finca productiva de la empresa 'FresOdiel', situada en el polígono 5, parcela 87 de Palos de la Frontera (Huelva) en el paraje denominado Coto de su Excelencia (Figura 4). La empresa está asociada a la cooperativa 'Fresón de Palos', la cual se dedica a la producción de frutos rojos en la provincia de Huelva (Andalucía, España).



**Figura 4**. Localización geográfica del área de estudio. Fuente: Modificado de la Web de Infocutivo.

El acceso vial al área de trabajo se encuentra ubicado en la carreta A-494 salida 18-A, a unos 2 km de distancia respecto al municipio de Palos de la Frontera. La carretera conecta con Mazagón (Palos de la Frontera) hacia el sur y con el municipio de Moguer en dirección norte.

La geolocalización de área es la siguiente: latitud 37°11' Norte, longitud 6°52' Oeste (figura 5).



**Figura 5**. Geolocalización del área de ensayo, cámara a 3000 m de altura. Fuente: Google Earth 2022.

El cultivo se emplazaba en dos macrotúneles, el macrotúnel situado a la derecha del carril, albergaba las plantas de fresa de la variedad 'Marisma' y el situado a la izquierda albergaba las plantas de la variedad 'Fortuna' (Figura 6).



**Figura 6**. Localización de los macrotúneles, cámara a 500 m de altura. Fuente: Google Earth 2022.

# 3.2. Fechas de planificación del ensayo

El estudio se ha dividido en semanas, con una duración total de 30 semanas.

La plantación de las plantas de fresas se realizó 10 de octubre de 2021 y se tomó como semana 0 de inicio del cultivo, la semana siguiente a la plantación correspondiendo con la semana del lunes 18 de octubre. La semana 30 de fin del ensayo, fue la semana del lunes 16 de mayo del 2022.

Al iniciarse el ensayo hay una etapa 0, denominada ciclo de crecimiento y desarrollo, en la que las plantas se desarrollan vegetativamente, este abarca desde la semana 0 a la 11 (3 de enero), por lo que, en este periodo no se realizaron mediciones.

Seguida de esta comienzan los ciclos de producción:

En los ciclos de producción temprano y tardío, se realizaron las labores de toma de muestra y análisis. Las tareas realizadas semanalmente en el estudio se recogen a modo de resumen en la tabla I.

Las medidas del parámetro vegetativo: SPAD, se tomaban semanalmente en el campo. El resto de los parámetros de análisis de la calidad y cosecha, se realizaban cada dos semanas en el ciclo temprano y pasaron a ser semanalmente en el tardío, debido al aumento de la producción.

- El ciclo temprano se inició en la semana 12 de cultivo (10 de enero de 2022) y finalizó la semana 23 (28 de marzo).
- El ciclo tardío comenzó en la semana 24 de cultivo (4 de abril) y finalizó la semana 30 (16 de mayo de 2022).

**Tabla I**. Recogida de datos en función de semana de ensayo.

| Semana Fecha |            | Ciclo       | Toma de Datos   |  |  |
|--------------|------------|-------------|-----------------|--|--|
| 0            | 18/10/2021 | Crecimiento | No Medición     |  |  |
| 1            | 25/10/2021 | Crecimiento | No Medición     |  |  |
| 2            | 01/11/2021 | Crecimiento | No Medición     |  |  |
| 3            | 08/11/2021 | Crecimiento | No Medición     |  |  |
| 4            | 15/11/2021 | Crecimiento | No Medición     |  |  |
| 5            | 22/11/2021 | Crecimiento | No Medición     |  |  |
| 6            | 29/11/2021 | Crecimiento | No Medición     |  |  |
| 7            | 06/12/2021 | Crecimiento | No Medición     |  |  |
| 8            | 13/12/2021 | Crecimiento | No Medición     |  |  |
| 9 20/12/2021 |            | Crecimiento | No Medición     |  |  |
| 10           | 27/12/2021 | Crecimiento | No Medición     |  |  |
| 11           | 03/01/2022 | Crecimiento | No Medición     |  |  |
| 12           | 10/01/2022 | Temprano    | SPAD            |  |  |
| 13           | 17/01/2022 | Temprano    | SPAD y Análisis |  |  |
| 14           | 24/01/2022 | Temprano    | SPAD            |  |  |
| 15           | 31/01/2022 | Temprano    | SPAD y Análisis |  |  |
| 16           | 07/02/2022 | Temprano    | SPAD            |  |  |
| 17           | 14/02/2022 | Temprano    | SPAD y Análisis |  |  |
| 18           | 21/02/2022 | Temprano    | SPAD            |  |  |
| 19           | 28/02/2022 | Temprano    | SPAD y Análisis |  |  |
| 20           | 07/03/2022 | Temprano    | SPAD            |  |  |

| 21 | 14/03/2022 | Temprano | SPAD y Análisis        |  |  |
|----|------------|----------|------------------------|--|--|
| 22 | 21/03/2022 | Temprano | SPAD                   |  |  |
| 23 | 28/03/2022 | Temprano | SPAD y Análisis        |  |  |
| 24 | 04/04/2022 | Tardío   | Análisis: *Peso, Vit C |  |  |
| 25 | 11/04/2022 | Tardío   | No medición            |  |  |
| 26 | 18/04/2022 | Tardío   | SPAD y Análisis        |  |  |
| 27 | 25/04/2022 | Tardío   | SPAD y Análisis        |  |  |
| 28 | 02/05/2022 | Tardío   | No medición            |  |  |
| 29 | 09/05/2022 | Tardío   | SPAD y Análisis        |  |  |
| 30 | 16/05/2022 | Tardío   | SPAD y Análisis        |  |  |

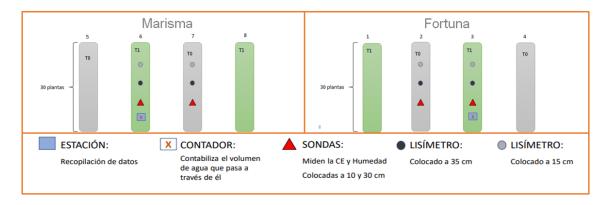
# 3.3. Tratamiento y delineamiento por diseño

Para los objetivos inicialmente propuestos se optó por el cultivo de plantas de fresa de día corto y se seleccionaron las variedades 'Fortuna' y 'Marisma', procedentes de los viveros de 'Fresón de Palos' localizados en la provincia de Ávila. El trasplante se realizó en octubre de 2021 y las inoculaciones del tratamiento se aplicaron en diciembre de 2021. Para el tratamiento se utilizó un inóculo de micorrizas con nombre comercial: 'MYC Plus®', formulado a partir de hongos arbusculares endomicorrízicos y bacterias (tabla II). La inoculación se realizó con una jeringuilla de 100 mL, previa dilución del producto en agua destilada hasta tener una concentración de 1g/L. El producto se le suministro a cada planta en las proximidades del sistema radicular, siguiendo las instrucciones del fabricante.

Tabla II. Descripción del embalaje del producto micorrícico.

| Marca Reg.    | Producto | Composición         | Dosis aplicación       |
|---------------|----------|---------------------|------------------------|
| Lallemand     | MYC Plus | Bacillus velezensis | 1 g/L H <sub>2</sub> O |
| (Reino Unido) |          | 1x10 9 UFC/g +      |                        |
|               |          | Glomus intraradices |                        |
|               |          | 3330                |                        |
|               |          | Esporas/g.          |                        |
|               |          | Micorrizas y        |                        |
|               |          | rizobacterias.      |                        |
|               |          | Tipo de formulado:  |                        |
|               |          | Polvo soluble.      |                        |

El diseño experimental se basó en la inoculación o no de la planta, por lo tanto, el tratamiento fue el siguiente: T0 = planta sin inocular; T1 = planta inoculada. Para la delimitación del estudio se escogieron 4 líneas, por cada variedad ('Fortuna' y 'Marisma') y cada variedad se cultivó en un macrotúnel diferente. Se emplazaron 30 plantas por cada línea, con un total de 120 plantas por variedad, en 60 de ellas se realizó el tratamiento 'T1' y en las 60 restante 'T0' (Figura 7). Por lo que, en total fueron estudiadas 240 plantas.



**Figura 7**. Distribución del experimento del cultivo de fresa para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' con sus respectivos tratamientos por línea T0 = no inoculado; T1 = inoculado. Fuente: Elaboración propia.

En el transcurso del proceso se realizaron 4 repeticiones de cada tratamiento para cada variedad, buscando una mayor calidad y rendimiento para la fruta. La primera inoculación se llevó a cabo a las 7 semana desde la plantación, la segunda a las 10 semanas, la tercera a las 12 semanas y la cuarta a las 15 semanas.

Por otra parte, la empresa 'InfoCultivo', situada en Lucena del Puerto (Huelva), instaló en la semana 7 un conjunto de sondas para la determinación de la conductividad eléctrica (CE) y humedad del suelo (H), a 10 y 30 cm profundidad. Además, se instalaron lisímetros a 15 y 35 cm para poder analizar la concentración de nutrientes de la solución nutritiva del cultivo y comprobar como fluctuaba el aporte a la planta en función de la profundidad. Estos equipos una vez instalados tomaron datos hasta el final del ensayo.

#### 3.4. Validación en el cultivo de fresas

Criterios y técnicas de cosecha empleados para validar los datos obtenidos del cultivo de ensayo.

#### 3.4.1. Rendimiento

Los frutos recolectados de cada tratamiento y variedad debían cumplir con los criterios de calidad básicos: ser frutos con el 100% de su superficie rojiza y no ser amorfos o presentar deterioro.

# • Cosecha y preparado para el análisis

La cosecha siguió siempre el mismo esquema para toda la campaña. La metodología fue la siguiente:

Se recolectaban todas las fresas producidas por las plantas del estudio y se seleccionaban 5 frutos aleatorios, por cada una de las líneas de cultivo.

En total, al ser dos tratamientos 'T0 y T1', que pertenecen a 2 variedades distintas 'Fortuna' (V1) y' Marisma' (V2). El espacio muestral era de 40 fresas por cosecha, 20 fresas por cada variedad y 10 por cada tratamiento.

Para el análisis del parámetro vegetativo se realizó el análisis de contenido relativo de clorofila con el equipo SPAD, se llevaba a cabo en el campo semanalmente. A diferencia, del resto de los análisis y medidas, que eran realizados en laboratorio cada 2 semanas, el SPAD se hacía semanalmente en campo de cultivo (Tabla I).

Siguiendo con el desglose del proceso de análisis, una vez cosechados los frutos estos eran traslados a los laboratorios de cultivos y fitotecnia del Edificio Manuel Martínez Bolaño en las instalaciones del Campus de La Rábida, Universidad de Huelva (Palos de la Frontera).

En el laboratorio, se preparaban las muestras para realizar los análisis de peso, diámetro, sólidos solubles totales (SST) y acidez total titulable (ATT), firmeza, pH y vitamina C.

Primero, se procedía con la selección de los ejemplares de fruto de cada línea. En los análisis eran empleados 3 frutos de cada tratamiento y variedad. Una vez seleccionados, se procedía con la toma del pesaje, diámetro, contenido en azucares solubles (°BRIX) y firmeza del fruto.

Seguido a esto, se preparaban los materiales para realizar el triturado de la muestra, y así formar un macerado de los frutos de fresas. Este paso es necesario para realizar los análisis de pH, vitamina C, SST y ATT. Para ello, las frutas empleadas en la etapa de análisis anterior se trituraban en una batidora estándar con recipiente cerrado. El resultado era un macerado de frutas trituradas, que se depositaba en un vaso de precipitados de 150 mL, según tratamiento y variedad.

Los otros 2 frutos apartados en el paso previo se reservaban para realizar los parámetros de calidad post-cosecha: pesado a 0 horas y pesado a 48 horas.

#### Frecuencia de análisis

La frecuencia de recolección en el ciclo temprano fue de una cosecha cada 2 semanas. La primera cosecha se realizó en la semana 13 de ensayo (17 de enero de 2022) y la última se tomó en la semana 23 de ensayo (28 de marzo) (tabla I).

Los análisis aplicados en el ciclo temprano fueron los siguientes: SPAD, peso medio, peso 0 h y peso 48 h, diámetro, firmeza, relación SST y ATT, pH y vitamina C (el análisis de vitamina C, que se hizo por primera vez a partir de la semana 18 de cultivo, debido a que hasta ese momento no se consideraban los niveles y la calidad de la producción óptimas para la recogida de esos datos).

Por otra parte, la frecuencia de recolección en el ciclo tardío pasó a ser semanal, debido al aumento de la producción en la etapa final del cultivo. La primera semana del ciclo tardío es la semana 24 (4 de abril) y la final es la semana 30 de ensayo. A excepción de las semanas 25 y 28 de ensayo, en la que no fueron posibles realizar las mediciones.

# 3.5. Parámetros y métodos de análisis

Los datos resultantes de los análisis se anotaban periódicamente en una hoja de cálculo el programa Excel, para facilitar el procesado de los datos y realizar el análisis estadístico, una vez recogidos los datos del ciclo de estudio.

# 3.5.1. Parámetro vegetativo: Contenido relativo de clorofila (SPAD)

Para conocer el contenido relativo de clorofila, se empleó un clorofilómetro de la marca: MINOLTA, modelo: SPAD 502 Plus®.

El método de recogida de datos empleado en el cultivo consistió en realizar mediciones con el equipo en hojas de plantas, por cada línea de tratamiento (T0, T1) y variedad (V1, V2). La hoja debía estar en buenas condiciones (sin deterioro o color anormal), se median 5 hojas de cada planta independiente seleccionada, por lo que, en total recopilaban 8 datos semanales, que procedían de la media de las 5 mediciones por línea de tratamiento y variedad.

#### 3.5.2. Parámetros de calidad del fruto

#### 3.5.2.1. Diámetro de fruto

Los datos de diámetro de fruto se obtuvieron empleando de equipo de medición un pie de rey digital, la medición se realizaba en la parte transversal de los frutos. Los datos fueron tomados individualmente de cada uno de los 8 frutos de cada línea de tratamiento (T0, T1) y variedad (V1, V2), por lo que, en total se obtenían 8 medidas.

#### 3.5.2.2. Firmeza del fruto

Para la prueba de la firmeza del fruto se empleó un penetrómetro manual con un percutor de 3,5 mm, con el objetivo de medir la resistencia compresiva del fruto. La medición era efectuada en la zona media del mismo. Los resultados se expresaban en kg/cm².

# 3.5.2.3. pH

Para el análisis de pH se utilizaban 10 g del macerado de fruto de cada variedad y tratamiento. El macerado era el mismo para realizar el análisis de relación de la SST/ATT y el resto del análisis que lo precisaban.

El método usaba de equipo de medición un potenciómetro de la marca: TECNAL®. La toma de los datos se realizaba con la muestra situada en el agitador magnético, introduciendo en el recipiente del analito una barra de agitación, para homogeneizar la muestra y obtener una medida de pH real en cada muestra.

#### 3.5.2.4. Relación SST/ATT

La relación entre los parámetros sólidos solubles totales (%SS o ºBRIX) y acidez total titulable (ATT) o índice de madurez, es un parámetro indicador del cociente de las determinaciones, llamado relación SST/ATT. Este análisis se emplea para determinar si los niveles de ácidos y azucares encontrados en el fruto, satisfacen al consumidor (Suárez et al., 2009).

Un estudio de Osterloh et al. (1996) confirma la importancia de la relación entre SST y ATT en el sabor del fruto y del jugo. Hay que tener en cuenta que cuando el fruto tiene un contenido alto de azúcares, el nivel de los ácidos debe ser suficientemente elevado para satisfacer el gusto del consumidor. Esta relación se ve afectada por el periodo o número de días entre cosechas de recogidas, la acidez titulable tenderá a bajar y los grados Brix a subir, para una variedad determinada, a un mayor número de días entre cosecha. Este parámetro tiene interés al ser un indicador de sabor al relacionar los valores de dulzor y acidez (ºBrix/Acidez). En un principio, es interesante que el puré o macerado de frutos tenga el mayor valor posible para este parámetro; sin embargo, puede considerarse adecuado un valor de 14%± 2 (R.A.E.A., 2005).

#### Contenido en sólidos solubles totales (SST)

En la determinación del contenido de sólidos solubles totales (SST) fue empleado el macerado de frutos por variedad y tratamiento.

Este parámetro fue medido por medio de un refractómetro digital de la marca: HANNA® y modelo: NR-101; el resultado de la espectrofotometría era obtenido en ºBRIX y este representa el contenido de sólidos solubles de la muestra. Se realizaba una medición por cada muestra, por lo que se obtenían 8 mediciones.

#### Acidez total titulable (ATT)

En el análisis de la ATT se empleaba la muestra de macerado de fruto. Primero se pesaban 10 gramos en un vaso de precipitados, para cada tratamiento y variedad. A cada muestra se le adicionaba 10 mL de agua destilada y se vertía en un recipiente de 50 mL. Seguidamente, se añadía NaOH 0,1 M en una bureta de 25 mL hasta enrasar, para realizar la técnica volumétrica.

La bureta se situaba encima de un agitador magnético, en este se colocaba el recipiente con el macerado diluido con una barra de agitación, para mantener la mezcla homogénea en todo el proceso de medida.

Una vez todo listo, se abría el dosificador de la bureta y se dejaba caer gota a gota, incorporándose a la mezcla de jugo de fruta y agua destilada. El siguiente paso era medir la muestra, empleando para ello un potenciómetro electrónico. Se hacía un seguimiento de este para concluir el goteo cuando el pH virase a pH 8,1 y se anotaban los mL de NaOH consumidos.

Una vez se tenía el volumen gastado de NaOH, se emplea la siguiente fórmula para obtener la acidez titulable, como porcentaje de ácido cítrico o vitamina C, siguiendo el método de análisis de la AOAC INTERNATIONAL™ (Suárez et al., 2009). Para calcular el % de ácido cítrico:

Siendo: M = Miliequivalentes de ácido cítrico; V = Volumen de la bureta en mL; Vb = Volumen de NaOH consumido; N = Normalidad de base estandarizada (0,1).

De la relación entre los sólidos solubles y acidez total titulable, se obtiene la ecuación indicador cociente de la determinación (Suárez et al., 2009).

• Ecuación de la relación SST/ATT

$$\frac{SST}{ATT} = \frac{{}^{\circ}Brix}{acidez\ total\ titulable}$$

Donde:

SST/ATT = relación sólidos solubles / acidez total titulable.

<sup>o</sup>Brix = grados brix en el macerado de las frutas de fresas.

Acidez titulable = expresada en ácido ascórbico.

#### 3.5.2.5. Vitamina C

En el análisis de ácido ascórbico o vitamina C, también se empleó el macerado de los tres frutos por para cada variedad y tratamiento. La técnica instrumental empleada en este método de análisis fue la reflectometría. El equipo utilizado era un reflectómetro de la marca: Merck, modelo: RQFlex® 10 Plus.

El método consistía en coger para analizar 3 g del macerado de frutas y diluirlo en 20 mililitros de agua destilada, en un vaso de precipitados. Seguido de esto, se introducía en el interior del recipiente una tira reactiva de medición, empleada por el equipo para realizar la lectura de los datos. El tiempo que esta debía estar dentro de la muestra era de unos cinco segundos, y una vez pasado el tiempo, se colocaba la tira reactiva en el sensor del refractómetro, que automáticamente mostraba el contenido de ácido ascórbico de la muestra.

El resultado del contenido de ácido ascórbico se expresó en mg de vitamina C. 100 g<sup>-1</sup> de peso fresco (mg VitC/100 g peso fresco). El análisis se realizaba por

variedad y muestra, se efectuaban dos repeticiones y se tomaba como dato el valor promedio de ambas.

# 3.5.3. Parámetro de calidad post-cosecha: Peso medio del fruto

Los datos de peso se tomaban con una báscula de precisión de la marca: Cobos presión y modelo: A-100-CS. En ella se obtenían los datos de peso total de las 8 muestras, de cada tratamiento y variedad. Además, también se calculaba el valor de peso promedio del fruto, en base al valor total, con el fin de tener un valor representativo al que realizar el posterior análisis estadístico.

# Peso post-cosecha

Uno de los principales problemas al que se enfrenta el cultivo de fresa en la provincia de Huelva, es la calidad de post-cosecha del fruto. En determinadas fases del ciclo productivo, sobre todo al final de la temporada (donde se concentra la mayor parte de la producción) una proporción importante de los frutos no soportan adecuadamente el proceso de manipulación y el periodo de vida de post-cosecha necesario en la cadena de distribución y consumo (que se establece en unos 7 días). Por lo que, en esta fase de la campaña la proporción de fruta que le mercado rechaza es importante (frutos con lesiones en la piel, blandos, con pudriciones, etc.) lo que ocasiona importantes pérdidas al productor, además de limitar la comercialización.

Así pues, en el estudio se ha realizado un ensayo de análisis de calidad postcosecha de cámara de refrigeración, para simular las condiciones de transporte a las que está expuesta la fruta, para así conocer desde su cosecha (0 horas) hasta su llegada al comercio (aproximadamente 48 horas), la pérdida de masa fresca que esta sufre.

Primero se pesaban los frutos a las 0 horas, individualmente. Posteriormente, se introducían en una bolsa de plástico cerrada herméticamente y se guardaban en un frigorífico 48 horas a una temperatura aproximada de 5°C. Una vez pasadas las 48 horas, se volvían a pesar cada fruto y se determinaba la pérdida de masa fresca, por diferencia de pesos.

#### 3.6. Estaciones meteorológicas

Para el estudio climático del periodo de estudio se han usado los datos aportados por las estaciones agroclimáticas automáticas de la Red de Información Agroclimática de Andalucía (RIA) perteneciente al Instituto Andaluz de Investigación y Formación Agraria, Pecuaria, Alimentaria y de la Producción Ecológica de la Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Desarrollo Sostenible de la Junta de Andalucía.

La RIA lleva operativa desde 1999 y actualmente tiene en funcionamiento 100 estaciones meteorológicas automáticas distribuidas por todo el territorio de

Andalucía, situadas en las zonas regables. Así pues, desempeña un papel fundamental en las decisiones sobre el ahorro de agua, es utilizado cada vez más por los agricultores y técnicos en su trabajo diario.

La red suministra información de las principales variables meteorológicas, como son la temperatura, humedad relativa del aire, la velocidad y dirección del viento, la radiación solar y precipitaciones en forma de lluvia, permitiendo calcular la evapotranspiración de referencia (ETo) (Inst. Andaluz de Investigación y Formación Agraria, 2022).

En el estudio se han empleado 2 estaciones meteorológicas agroclimáticas:

• Estación meteorológica bajo plástico de invernadero de Palos de la Frontera (Huelva)

Código de Estación: 107

El registro inicio el 02/06/2021 y sigue registrando datos en la actualidad (2022).

Datos de la localización: Latitud: 37º12' 26" N; Longitud: 06º51' 47" W

Altitud: 11

Coordenadas UTM: X: 157141,75; Y: 4124863,2

Al encontrarse la estación meteorológica bajo plástico de invernadero y estar próxima a la zona de estudio, obtiene datos muy semejantes a los datos que se podrían medir en los propios macrotúneles del ensayo. Motivo por el que se empleó esa estación en la obtención de datos climáticos del cultivo.

Las variables que se emplearon en el estudio fueron: temperatura, humedad relativa del aire y radiación solar. La frecuencia de la recogida de los datos en la estación meteorológica era de un dato diario, representando el valor promedio de ese día, en el caso de la radiación solar. Para las variables temperatura y humedad relativa del aire, los datos se expresan en máximos (TMax), mínimos (TMin) y medios (TMed), para día en cuestión.

 Estación meteorológica de IFAPA, Centro Las Torres-Tomejil. Finca El Cebollar (Moguer, Huelva)

Código de Estación: 101.

El registro inicio el 17-09-2001 y sigue registrando datos en la actualidad (2022).

Datos de localización: Latitud: 37º 14' 25" N; Longitud: 06º 48' 08" W.

Altitud: 63

Coordenadas UTM: X: 162674; Y: 4128310.

La estación meteorológica de la finca El Cebollar hace mediciones de los datos climáticos en el medio exterior. Esta es la estación meteorológica al exterior más

cercana al cultivo estando aproximadamente a 7,720 Km de distancia respecto al ensayo (Figura 8). Motivo por el que se optó en usar sus datos meteorológicos para evaluar las condiciones ambientales del medio.



**Figura 8.** Localización del cultivo de ensayo respecto a la estación meteorológica. Fuente: Google Earth modificado.

Las variables estudiadas de dicha estación fueron la temperatura, humedad relativa del aire, velocidad del viento, radiación solar, precipitaciones y evapotranspiración.

El periodo de estudio de los datos climáticos utilizado en ambas estaciones discurrió desde la semana 0 (18 de octubre de 2021), hasta la semana 30 (18 de mayo de 2022).

El procesado y preparación para la manipulación de las bases de datos se realizó mediante el programa Excel.

#### 3.7. Solución nutritiva

La solución nutritiva que se le incorporo al cultivo por medio del sistema de regadío fue la misma solución durante toda la campaña agrícola 2021/22 para las dos variedades de fresa 'Fortuna' y 'Marisma' (Tabla III).

Tabla III . Solución nutritiva incorporada al ensayo, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma'.

|                                   | NO3- | РО4Н2- | SO4- | созн- | CL- | NH4+ | <b>K</b> + | Ca++ | Mg++ | Na+  |
|-----------------------------------|------|--------|------|-------|-----|------|------------|------|------|------|
| Solución<br>Propuesta<br>(Mmol/L) | 3.4  | 1      | 0    | 0.6   | 0   | 0.75 | 1.37       | 1.75 | 0.75 | 0    |
| Agua<br>(Mmol/L)                  | 0.07 | 0      | 0.28 | 1.25  | 1   | 0    | 0.09       | 0.53 | 0.44 | 0.82 |
| Aportes (Mmol/L)                  | 3.33 | 1      | 0    | -0.65 | 0   | 0.75 | 1.28       | 1.22 | 0.31 | 0    |

#### 3.8. Instalaciones lisimétricas

Se instalaron en el suelo (carácter arenoso) 4 lisímetros de drenaje en ambas variedades, en las plantas micorrizadas no entraron en funcionamiento hasta que el tratamiento fue efectuado, en la semana 7 de ensayo. Los lisímetros se emplearon para conocer los requerimientos hídricos y nutricionales de las plantas de fresa, para así optimizar el manejo de riego al saber la cantidad de agua que hay que aportar, ya que esto permite medir con exactitud las entradas y salidas del sistema.

Se colocaron dos a 15 cm de profundidad en el suelo del lomo, uno por cada variedad y los otros dos a 35 cm de profundidad. Las variables captadas por los lisímetros eran las siguientes: conductividad eléctrica (CE) en dS.m<sup>-1</sup>, pH, nitrato, potasio, calcio, sodio, todos ellos en meq/L, a excepción del cloruro sódico en % (Figura 7).

## 3.9. Sistema de riego

Al mismo tiempo que se instaló el sistema de lisímetros, se instalaron en el cultivo un sistema de cuatro sondas capacitivas. Los equipos eran del modelo: 5TE de la marca: DecagonDecives, Inc. (New York, EE. UU.). La instalación se realizó en los 2 macrotúneles, para cada variedad y tratamiento (Figura 7).

Las sondas determinaban valores de conductividad eléctrica (CE) en dS.m<sup>-1</sup> y humedad a distintas profundidades (Anexo IV). También fueron medidos caudal diario en m³/ha (Anexo III), conductividad eléctrica del gotero en dS/m<sup>-1</sup> y tiempo de riego en minutos. El primer sensor fue colocado a 10 cm de profundidad, donde se encuentra la mayor actividad y proporción de biomasa radiculares, permitiendo un estricto seguimiento de la disponibilidad de agua en el bulbo radicular. El segundo sensor fue colocado a 30 cm de profundidad, controlando así los tiempos de riego y consumos o pérdidas en profundidad. El tiempo entre mediciones era cada 15 minutos y los datos fueron tomados durante toda la campaña.

#### 3.10. Seguimiento nutricional

Durante el proyecto hubo un seguimiento nutricional de la planta por medio de un análisis de savia. Este fue realizado por la empresa 'InfoCultivo', la cual era responsable de la recolección de los pecíolos de hojas para su posterior análisis, este se realizaba empleando un equipo: Laquatwint de la empresa Horiba (Nevada, EE. UU.). Este equipo es un kit de medidores de los nutrientes, se considera en el sector uno de los métodos más eficaces para realizar análisis de savia, ya que permite ajustar con mayor precisión las necesidades de nutrientes en cultivos hortícolas en invernadero y mejorar la gestión en tiempo real del aporte de fertilizantes mediante fertirrigación. Para ello, se hizo un seguimiento de la concentración de los nutrientes principales como son: nitrato (NO<sub>3</sub>-), potasio

(K<sup>+</sup>), calcio (Ca<sup>++</sup>) y sodio (Na<sup>+</sup>), además de la conductividad eléctrica (CE) y pH, tanto en la savia como en la solución nutritiva.

Para el análisis de Horiba en laboratorio se siguieron los siguientes pasos:

- 1. Picado de la muestra (peciolo de hojas).
- 2. Prensado de la muestra para extracción de savia.
- 3. Análisis en Horiba.
- 4. Graficado de los resultados.

#### 3.11. Extracción de las raíces para calcular la tasa de micorrización

En mayo de 2022 se muestrearon un conjunto de plantas de fresa para la realización de un análisis de tasa de micorrización en el cultivo, el análisis fue realizado por la empresa 'Intra Radice' S.L. (Granada, España), en el proceso de muestreo se recolectaron raíces de 15 plantas de tratamiento no inoculadas (T0) y otras 15 inoculadas (T1), en ambas variedades. En total se recolectaron 60 plantas.

Los materiales empleados en el proceso fueron: guantes, tijeras, bolígrafo permanente y bolsas de plástico.

El proceso de preparado de las muestras consistió en recolectar cada ejemplar de planta completa (parte aérea y raíz), para ello se tomaron 10-15 cm de profundidad, siempre intentando mantener la mayor cantidad de raíces posibles en cada ejemplar y quitando el excedente de arena no adherido a la raíz. Posteriormente, se cortaba la parte aérea y se introducían la corona y la raíz, en unas bolsas rotulada, para cada ejemplar (Figura 9).







**Figura 9**. Imágenes del proceso de recolección de las raíces para el análisis de micorrización. Fuente: Elaboración propia.

Una vez recolectadas las plantas eran mandadas a analizar al laboratorio de la empresa 'Intra Radice' en Granada, quienes aplicaron la técnica de tinción diferencial de Brundrett et al. (1996), modificada según Vierheilig et al. (1998). La observación de las raíces se hizo bajo un microscopio de campo claro, en la

cuantificación se siguió el método de intersección de líneas (Giovanetti y Mosse, 1980). Los datos obtenidos en el análisis son el promedio de las tres repeticiones que se hicieron en la cuantificación de cada muestra.

#### 3.12. Modelo del análisis estadístico

Los datos de los diversos análisis aplicados para el estudio del cultivo se han sometido un análisis estadístico para una comparación más exhaustiva, con el fin de analizar las diferencias significativas que puedan tener las variables implicadas. Para ello, se ha empleado un análisis de la varianza (ANOVA; prueba F), utilizando el programa estadístico: SPSS Statistics para Mac Versión 27.0 de IBM®, Corp. (Armonk, N.Y., EE. UU.). El análisis estadístico se ha realizado para todos los tratamientos y variedades. Para el análisis se compararon las medias se ha usado la prueba de Tukey al 5% de probabilidad de error (p<0,05)) (Abdi y Williams, 2010).

El modelo lineal seguido para la determinación de actividad fotosintética en las hojas (SPAD) y el resto de los parámetros de calidad, de cada variedad y tratamientos, es el siguiente:

$$X_{ijm} = \mu + r_i + t_j + f_m + t_j * fm + \epsilon_{ijm}$$

Donde

- **X**<sub>ijm</sub>: Observación para la variedad 'm' realizada en el tratamiento 'j' dentro de la repetición 'i'.
- μ: Media general ; r<sub>i</sub>: Efecto de la repetición 'i' ; t<sub>j</sub>: Efecto del tratamiento 'j' ; f<sub>m</sub>: Efecto de la variedad 'm' ; t<sub>j</sub> \* f<sub>m</sub>: Efecto de la interacción entre el tratamiento 'j' y la variedad 'm' ; ε<sub>ijm</sub>: Error experimental de la variedad 'm' realizado para el tratamiento 'j' en la repetición.

El análisis sistema de la varianza se recoge en la Tabla IV.

Tabla IV: Análisis de la varianza simple (McIntosh,1983).

| Fuentes de varianza    | Grados de<br>Libertad | Medias cuadráticas | Test de Fisher |
|------------------------|-----------------------|--------------------|----------------|
| Repeticiones           | (i-1)                 | MCr                | MCr/Mce        |
| Tratamiento            | (j-1)                 | MCt                | MCt/Mce        |
| Variedad               | (m-1)                 | MCm                | MCm/Mce        |
| Tratamiento x Variedad | (j-1)(m-1)            | MCtxm              | MCtm/Mce       |
| Error                  | (i-1)(j-1)(m-1)       | Mce                |                |

# 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

# 4.1. Análisis estadístico de los parámetros vegetativo y de calidad

Las pruebas realizadas de efecto inter-sujeto proporcionan un cuadro ANOVA (Análisis de la varianza), que aporta de forma resumida las etiquetas de valor de cada parámetro y la interacción entre las medias evaluadas, los resultados de estos análisis serán comentados en los siguientes apartados.

# 4.1.1. Efectos del tratamiento en el parámetro vegetativo: cantidad de clorofila (SPAD)

La cantidad de clorofila presentes en las hojas pueden variar según múltiples factores como: tipo de cultivo, periodo vegetativo (Karele, I., 2001), climatología, solución nutritiva (Estrada-Ortiz et al., 2011), estrés hídrico, etc.

Partiendo de estos conocimientos y aplicándolos de cara al estudio, se midieron los niveles de clorofila en las hojas adultas expresando los datos en SPAD, basándose en que un mayor contenido de clorofila es beneficioso por su papel en la fotosíntesis (Ruiz-Espinoza et al., 2010).

El análisis de SPAD se efectuó con el programa SPSS a los valores promedios de SPAD para cada variedad y tratamiento, en él se realizó el Test HDS Tukey, los resultados obtenidos para toda la campaña y se recogen en la Tabla V.

| Tabla V. Datos | promedios de | SPAD po | r tratamiento y | variedad |
|----------------|--------------|---------|-----------------|----------|
|                |              |         |                 |          |

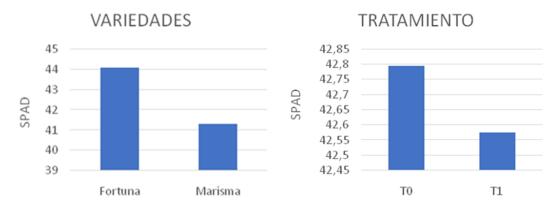
| SPAD                |         |               |                |  |  |
|---------------------|---------|---------------|----------------|--|--|
| Tratamien           | to (T)  | Varie         | Variedades (V) |  |  |
| No inoculado        | 50,2245 | Fortuna       | 51,6052        |  |  |
| Inoculado           | 51,5111 | Marisma       | 50,1303        |  |  |
| Significación       | NS      | Significación | NS             |  |  |
| Interacción TxV: NS |         |               |                |  |  |

Los datos son expresados como media. Las diferencias significativas (p ≤ 0,05) entre los parámetros se indican con letras diferentes. Los parámetros significativos se indican de la siguiente manera: \*\*\* P < 0,001, \*\* P < 0,01, \* P < 0,05, NS: no significativo.</p>

El análisis muestra que no fue significativa la diferencia entre el contenido de clorofila (SPAD) por tratamiento o variedad.

Al realizar el análisis de ambos ciclos por separados, se obtuvo que en el ciclo temprano no se aprecian diferencias entre variedades, debido a que las condiciones climáticas, en concreto, la temperatura, horas de luz y radiación solar, no han llegado al punto óptimo en la campaña para que se desarrollen las áreas foliares de las plantas de fresas de día corto (Palencia et al., 2013).

Una vez el periodo del ciclo temprano va llegando a su fin y comienza el ciclo tardío, la variedad 'Fortuna' obtuvo una actividad fotosintética mayor con un valor de 44,08 SPAD, frente a un valor de 42,28 SPAD en la variedad 'Marisma' (Figura 10). Este resultado es atribuido a la diferencia varietal, ya que, la variedad 'Fortuna' tiene un mayor índice de área foliar y área fotosintéticamente activa, con respecto a 'Marisma'.



**Figura 10**. Contenido total de clorofila (SPAD) en hojas para las dos variedades 'Fortuna' y 'Marisma' cultivadas en suelo e inoculadas con una solución de hongos micorrícicos y bacterias, para los tratamientos: T0 = no inoculado y T1 = inoculado, en el Ciclo tardío.

Fuente: Elaboración propia.

En lo que se refiere al tratamiento de suplementación con la solución micorrícica y bacteriana, no hay beneficios aparentes en ninguno de los dos ciclos. Por lo que, en base a los resultados obtenidos y comparando estos con bibliografía relacionada (Palencia et al., 2015). Parece ser que el tratamiento no posee efectos perceptibles en mejorar de la concentración de clorofila en las variedades de plantas de fresas seleccionadas. No obstante, se han encontrado otros estudios en los que la suplementación con esta solución sí parece poseer efectos positivos en la actividad fotosintéticas de otras plantas como son el *Agave tequilana* (Pimienta et al., 2009).

#### 4.1.2. Efectos del tratamiento en los parámetros de calidad

Los parámetros de calidad de fruto: diámetro del fruto, firmeza, pH, relación sólidos solubles totales (SST) y acidez total titulable (ATT), vitamina C; presentan los resultados promedios de las variables en cada ciclo, en la tabla VI (Ciclo temprano) y la tabla VII (Ciclo tardío). Cada variable ha sido desarrollada y discutida en los siguientes subapartados.

Tabla VI. Valores promedios de los parámetros de calidad para el ciclo de producción precoz.

| Precoz             | Diámetro | Firmeza       | рН      | ⁰Brix      | Acidez | Vitamina<br>C |
|--------------------|----------|---------------|---------|------------|--------|---------------|
|                    |          | Tratamie      | nto (T) |            |        |               |
| No inoculado       | 44,383   | 321,8981      | 4,2542  | 6,468      | 0,2132 | 93,60         |
| Inoculado          | 43,890   | 311,3963      | 4,2754  | 6,146      | 0,1997 | 97,65         |
| Significación      | NS       | NS            | NS      | NS         | NS     | NS            |
|                    |          | Variedad      | les (V) |            |        |               |
| Fortuna            | 42,369   | 274,3241<br>b | 4,2308  | 5,676<br>b | 0,2219 | 98,50         |
| Marisma            | 45,903   | 358,9704<br>a | 4,2987  | 6,938<br>a | 0,1911 | 92,75         |
| Significación      | NS       | ***           | NS      | *          | NS     | NS            |
| Interacción<br>TxC | NS       | NS            | NS      | NS         | NS     | NS            |

Tabla VII. Valores promedios de los parámetros de calidad para el ciclo de producción tardío.

| Tardío             | Diámetro | Firmeza       | рН       | ⁰Brix | Acidez      | Vitamina<br>C |
|--------------------|----------|---------------|----------|-------|-------------|---------------|
|                    |          | Tratamie      | ento (T) | •     | •           |               |
| No inoculado       | 38,188   | 311,5972      | 3,5969   | 5,194 | 0,2965      | 88,95         |
| Inoculado          | 38,363   | 319,3056      | 3,5794   | 5,038 | 0,2999      | 90,75         |
| Significación      | NS       | NS            | NS       | NS    | NS          | NS            |
| -                  |          | Variedad      | des (V)  |       |             |               |
| Fortuna            | 38,475   | 286,5972<br>b | 3,5613   | 4,556 | 0,3280<br>a | 83,15         |
| Marisma            | 38,075   | 344,3056<br>a | 3,6150   | 5,675 | 0,2687<br>b | 96,55         |
| Significación      | NS       | ***           | NS       | ***   | **          | NS            |
| Interacción<br>TxV | NS       | NS            | NS       | NS    | NS          | NS            |

Los datos son expresados como media. Las diferencias significativas (p ≤ 0,05) entre los parámetros se indican con letras diferentes. Los parámetros significativos se indican de la siguiente manera: \*\*\* P < 0,001, \*\* P < 0,01, \* P < 0,05, NS: no significativo.</p>

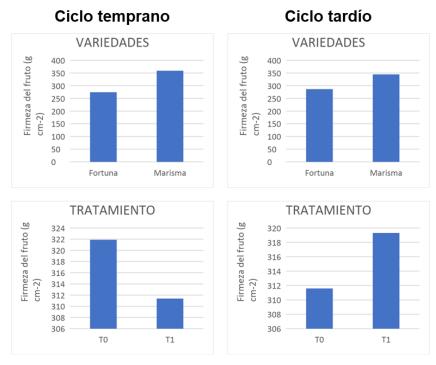
# 4.1.2.1. Diámetro del fruto

Los resultados obtenidos para la variable diámetro del fruto en los dos ciclos productivos, no muestran una diferenciación significativa en general, aunque entre las variedades si hay una leve diferencia si presentar aun significación.

Parece ser que la variedad 'Marisma' presenta un desarrollo de fruto mayor en condiciones de ciclo temprano, siendo el valor de diámetro medio de 45,903 mm, sin ser una gran diferencia respecto la otra variedad 'Fortuna', que tiene un valor promedio de 42,369 mm. Por el contrario, para 'Fortuna' las condiciones del ciclo tardío han sido más favorables. La selección al azar de los frutos pudo influir en los resultados. Respecto a la aplicación del tratamiento, no hay efectos perceptibles significantes en el diámetro de fruto (Tablas VI y VII).

#### 4.1.2.2. Firmeza

Para la variable firmeza si hubo diferencias significativas (\*\*\*p≤0,001) entre variedades, siendo 'Marisma' la que presentó mayor firmeza de frutos. Por el contrario, en el tratamiento 'T0', los frutos de las plantas no inoculadas presentaron mayor firmeza, que las plantas inoculadas 'T1', sin ser esta una diferencia significativa (Tabla VI y VII). Para el ciclo tardío, se invirtió esta condición y pasaron a ser las 'T1' las frutas con mayor firmeza, aunque no muestra diferencia significativa respecto a las plantas no inoculadas 'T0' (Figura 11).



**Figura 11**. Gráficos comparativos de Firmeza de fruto para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' expuestas al tratamiento T0 y T1 en los ciclos productivos. Fuente: Elaboración propia.

#### 4.1.2.3. pH

Para la variable pH de fruto, la variedad 'Fortuna' presentó un pH más ácido respecto al de la variedad 'Marisma' durante todo el estudio. Por otra parte, en cuanto al tratamiento, los frutos provenientes de las plantas inoculadas 'T1', presentan un mayor pH frente a las plantas no inoculadas 'T0' durante el ciclo productivo temprano (Tabla VI). Esta situación se invierte en el ciclo tardío (Tabla VII) y los frutos provenientes de las plantas del tratamiento 'T0' son ahora las que presentan unos valores mayores de pH. Ambas comparativas no muestran diferencia significativa observable en el estudio estadístico (Figura 12).

# Ciclo temprano

# TRATAMIENTO 4.28 4.275 4.27 4.265 4.265 4.265 4.255 4.255 4.245 4.245 4.245 4.240 TO T1

#### Ciclo tardío



**Figura 12.** Gráficos comparativos de pH de fruto para el tratamiento T0 y T1 en los ciclos productivos. Fuente: Elaboración propia.

#### 4.1.2.4. SST, ATT y relación SST/ATT

Primero se han analizado los resultados de SST y ATT individualmente, para relacionarlos a posteriori en la relación SST/ATT.

# Sólidos solubles totales (ºBrix)

Respecto al contenido de SST, hubo diferencias significativas (\*p≤0,05) entre variedades. La variedad 'Marisma' presenta mayores niveles de azúcares que la variedad 'Fortuna' en ambos ciclos productivos. En el ciclo temprano 'Marisma' obtuvo un valor promedio de 6,938 °BRIX en la cosecha y 'Fortuna' 5,676 °BRIX (Tabla VII). Para el ciclo tardío los valores de azúcares descendieron en ambas variedades, 'Marisma' presentó 5,675 °BRIX y 'Fortuna' 4,556 °BRIX (Tabla VII).

En cuanto a tratamientos, ambos presentan niveles de azúcares semejantes, pero resaltó que las plantas con tratamiento 'T0' tenían mayores °BRIX que las tratadas con 'T1'. Al contrastar los resultados en el análisis estadístico, no hay diferenciación significativa entre ambos tratamientos (tablas VI y VII). Por lo que, parece indicar que el efecto del tratamiento de micorrización no tiene efectos aparentes en el dulzor del fruto al tener una influencia baja en ellos. Los resultados de sólidos solubles totales se mantuvieron con esta relación y dinámica durante todo el periodo de estudio.

#### Acidez total titulable

En los resultados de acidez total titulable (ATT) la variedad 'Fortuna' presentó mayores niveles de acidez (0,2219 % Vit. C), que la variedad 'Marisma' (0,1911 % Vit. C) durante el ciclo temprano, siendo estos valores no significantes y propios de las diferenciación varietal (Tabla VI). Para el ciclo tardío, la diferencia se incrementó siendo el porcentaje de acidez mayor en los frutos provenientes de la variedad 'Fortuna', y la diferencia pasó a ser significante (\*\* P < 0,01), presentó 'Fortuna' un 0,3280 %Vit. C y 'Marisma' un 0,2687 % Vit. C (Tabla VII). Por lo que 'Fortuna' siempre obtuvo frutos con mayor acidez, como también se reflejaba en el análisis de pH.

En cuanto al tratamiento, los valores son semejantes, no muestran diferencias significativas entre ciclo. En el ciclo temprano, las plantas del tratamiento 'T0' muestran un porcentaje mayor de ácido cítrico que las 'T1' siendo una diferencia mínima (Tabla VI). Por el contrario, en el ciclo tardío, se invierte la situación y son las plantas de tratamiento 'T1' las que presentan mayor ATT promedio (Tabla VII), aun siendo valores muy similares (Figura 13).



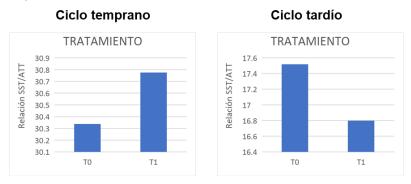
**Figura 13**. Gráficos comparativos de ATT de fruto para el tratamiento T0 y T1 en los ciclos productivos. Fuente: Elaboración propia.

En el caso de los frutos de fresas, si su acidez titulable tiene valores superiores a 1,0-1,1 % de ácido cítrico, pueden llegar a ser problemáticos para la aptitud de purés de fresa para industria (R.A.E.A., 2005). Las muestras analizadas (Tabla VI y VII) están dentro del rango de los valores normales para este parámetro.

#### Relación SST/ATT o índice de madurez

El índice de madurez o relación SST/ATT se obtiene como cociente de sólidos solubles totales y acidez titulable del fruto.

En vista de los resultados obtenidos al aplicar la ecuación de relación SST/ATT para cada ciclo, se ha obtenido que en el ciclo de producción temprano la relación SST/ATT para el tratamiento 'T1', ha sido levemente mayor. Por el contrario, para el ciclo tardío la relación aumentó al tratamiento 'T0' con un valor promedio de 17,5 de relación SST/ATT, respecto a un valor promedio del tratamiento 'T1' de 16,8 de relación SST/ATT (Figura 14). En ambos casos, no presentan relación significativa y los valores promedios son similares (Tabla VI y VII).

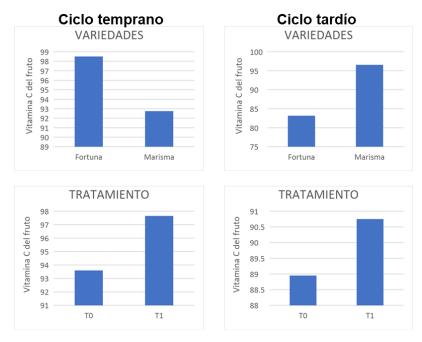


**Figura 14**. Gráficos comparativos de la Relación SST/ATT para el tratamiento T0 y T1 en los ciclos productivos. Fuente: Elaboración propia.

#### 4.1.2.5. Vitamina C

En cuanto a los resultados del contenido de vitamina C del fruto, no se obtuvieron diferencias significativas entre ambas comparativas (Tabla VI y VII). En el caso de la variedad 'Fortuna', se obtuvo en ella niveles más altos de vitamina C, con respecto a los obtenidos en 'Marisma', para todo el ciclo productivo.

Con respecto a los tratamientos, los frutos de las plantas inoculadas 'T1', presentan mayores niveles de ácido ascórbico que las plantas no inoculadas 'T0' para ambos ciclos productivos (Figura 15).



**Figura 15**. Gráficos comparativos de vitamina C en los frutos para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' expuestas al tratamiento T0 y T1 en los ciclos productivos. Fuente: Elaboración propia.

Lo que parece relacionar la micorrización con niveles más elevados de vitaminas en los frutos de plantas micorrizadas. Una de las hipótesis por la que se fundamenta esta hipótesis es que las plantas micorrizadas no necesitan gastar tanta energía, como las no micorrizadas en la generación de raíces, ya que las micorrizas facilitan parte de esa función sustituyendo a parte de las raíces de la planta y en consecuencia, usar esa energía en la producción de hojas, vitaminas, etc. (Org, 2018).

# 4.1.3. Efectos del tratamiento en los parámetros de calidad postcosecha

Los resultados de peso medio de fruto no presentaron diferencias significativas entre la variedad y tratamiento, en ambos periodos productivos (Tabla VIII).

**Tabla VIII**. Valores promedios de rendimiento del fruto y resultados del experimento de 48 horas de refrigeración, para evaluar la pérdida de masa fresca del fruto, para los dos periodos productivos.

| Periodo         | Peso medio del | Peso 0h | Peso 48h (g) |  |  |  |
|-----------------|----------------|---------|--------------|--|--|--|
| temprano        | fruto (g)      | (g)     |              |  |  |  |
|                 | Tratamien      | to (T)  |              |  |  |  |
| No inoculado    | 59,40          | 118,79  | 113,08       |  |  |  |
| Inoculado       | 57,50          | 115,00  | 109,33       |  |  |  |
| Significación   | NS             | NS      | NS           |  |  |  |
|                 | Variedad       | l (V)   |              |  |  |  |
| Fortuna         | 54,31          | 108,63  | 102,67       |  |  |  |
| Marisma         | 62,58          | 125,17  | 119,75       |  |  |  |
| Significación   | NS             | NS      | NS           |  |  |  |
| Interacción TxV | NS             | NS      | NS           |  |  |  |
| Periodo tardío  | Peso medio del | Peso 0h | Peso 48h (g) |  |  |  |
|                 | fruto (g)      | (g)     |              |  |  |  |
| Tratamiento (T) |                |         |              |  |  |  |
| No inoculado    | 32,03          | 64,06   | 61,69        |  |  |  |
| Inoculado       | 31,63          | 63,25   | 61,13        |  |  |  |
| Significación   | NS             | NS      | NS           |  |  |  |
| Variedad (V)    |                |         |              |  |  |  |
| Fortuna         | 33,38          | 66,75   | 64,38        |  |  |  |
| Marisma         | 30,28          | 60,56   | 58,44        |  |  |  |
| Significación   | NS             | NS      | NS           |  |  |  |
| Interacción TxV | NS             | NS      | NS           |  |  |  |

<sup>♣</sup> Los datos son expresados como media. Los parámetros significativos se indican de la siguiente manera: \*\*\* p < 0,001, \*\* p < 0,01, \* p < 0,05, NS: no significativo.</p>

Se observaron leves diferencias en el peso promedio de fruto, siendo mayor el de los frutos no inoculados, que el de los sometidos a tratamiento de micorrización. La diferencia se acentúa el periodo productivo temprano 59,4 g 'T0' y 57,5 g 'T1', siendo esta diferencia de 1,9 gramos en los valores promedios. El ciclo tardío, también presentó diferencia de peso entre tratamientos, pero al ser menores los valores de peso registrado en este ciclo productivo, las diferencias se ven mermadas, 0,41 g de diferencia. Se ha supuesto que esta situación es debida al aumento de las temperaturas y radiación solar que favorecen el crecimiento vegetativo de la planta, concordando con la situación climática del periodo tardío. Además de afectar a la fructificación, que también se ve mermada al ser un proceso más sensible a los cambios de temperaturas. Las condiciones de producción óptimas para el cultivo de plantas de fresas son obtenidas con temperaturas entre 15°C<Ta<20°C, por lo que las condiciones del ciclo tardío al presentar mayores temperaturas favorecen el crecimiento vegetativo. En consecuencia, esta situación deriva en el descenso del tamaño de fruto y la maduración más temprana de estos (Palencia et al., 2013).

Las diferencias de peso fresco entre tratamiento fueron mayores en 'T1' que en 'T0'; al estar sujetas a la selección al azar de los frutos y ser mínimas, sin

presentar significación estadística, no se han considerado como una consecuencia desfavorable de la inoculación de tratamiento 'T1'.

En cuanto a los resultados del experimento de pérdida de masa fresca del fruto tras 48 horas en refrigeración, se observó que no hubo interacción entre los tratamientos y las variedades, al igual que no hubo diferencia significativa entre los ciclos productivos en cuanto a lo que se refiere pérdida de masa fresca, la variedad 'Fortuna' tuvo una perdida levemente más elevada que 'Marisma' para ambos ciclos productivos (Tabla VIII).

# 4.2. Observación y cuantificación de la micorrización

Los resultados del análisis de micorrización, realizado por la empresa 'Intra Radice' se han recogido en la Tabla IX. Los datos obtenidos son el promedio de la realización de tres repeticiones por cada muestra.

**Tabla IX.** Análisis de tasa de micorrización, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma'. Fuente: Intra Radice S.L.

| 'Fortuna'   | Tasa de          | 'Marisma'    | Tasa de                  |  |  |
|-------------|------------------|--------------|--------------------------|--|--|
| planta no   | micorrización    | planta no    | micorrización            |  |  |
| inoculada   | (%)              | inoculada    | (%)                      |  |  |
| 1           | 0                | 31           | $0.33 \pm 0.58$          |  |  |
| 2           | 0,67 ± 0,58      | 32           | 0                        |  |  |
| 3           | 0                | 33           | 0                        |  |  |
| 4           | 0                | 34           | $4.0 \pm 1.00$           |  |  |
| 5           | 0                | 35           | 0                        |  |  |
| 6           | 0                | 36           | 1,00 ± 1,00              |  |  |
| 7           | 0                | 37           | 10,33 ± 1,15             |  |  |
| 8           | 0                | 38           | $2,00 \pm 1,00$          |  |  |
| 9           | 0                | 39           | 0                        |  |  |
| 10          | 0                | 40           | 12,00 ± 1,00             |  |  |
| 11          | 0                | 41           | $6,67 \pm 0,58$          |  |  |
| 12          | $1,67 \pm 0,58$  | 42           | $3,67 \pm 0,58$          |  |  |
| 13          | $0.33 \pm 0.58$  | 43           | $5,33 \pm 0,58$          |  |  |
| 14          | 0                | 44           | $1,33 \pm 0,58$          |  |  |
| 15          | 0                | 45           | 0                        |  |  |
| Fortuna pla | nta inoculada    | Marisma plan | Marisma planta inoculada |  |  |
| 16          | $0.33 \pm 0.58$  | 46           | $3,00 \pm 0,00$          |  |  |
| 17          | $3,00 \pm 1,00$  | 47           | $3,33 \pm 0,58$          |  |  |
| 18          | 1,33 ± 0,58      | 48           | $8,00 \pm 1,00$          |  |  |
| 19          | 1,33 ± 1,15      | 49           | $7,00 \pm 1,00$          |  |  |
| 20          | 7,33 ± 1,15      | 50           | $5,67 \pm 0,58$          |  |  |
| 21          | 0                | 51           | 0                        |  |  |
| 22          | $10,67 \pm 0,58$ | 52           | 1,67 ± 1,15              |  |  |
| 23          | 4,33 ± 1,15      | 53           | $4,33 \pm 0,58$          |  |  |
| 24          | 11,67 ± 0,58     | 54           | 0                        |  |  |
| 25          | 1,67 ± 1,15      | 55           | $0,67 \pm 0,58$          |  |  |
| 26          | $0,33 \pm 0,58$  | 56           | $0,67 \pm 0,58$          |  |  |
| 27          | 0                | 57           | 0                        |  |  |
| 28          | 2,67 ± 0,58      | 58           | $1,00 \pm 0,00$          |  |  |
| 29          | 0                | 59           | 2,00 ± 1,00              |  |  |
| 30          | $5,00 \pm 1,00$  | 60           | $3,33 \pm 0,5$           |  |  |

Tras el procesado de los datos no se han considerado que una variedad tenga más afinidad que otra para la micorrización con el producto, ambas presentan un porcentaje de micorrización similares en los ejemplares sujetos a tratamiento 'T1', siendo este superior en la variedad 'Fortuna' que tiene de micorrización total en sumatorio de las 15 plantas un valor de 49 y 'Marisma' presenta un valor de 40,34. En las plantas no inoculadas, hubo casos de micorrización. Para la variedad 'Fortuna' fueron menores los casos y porcentajes, solo se dieron 3 plantas con micorrización en las 15 plantas no inoculadas. Con respecto a los resultados de la variedad 'Marisma' en las plantas no inoculadas, se registraron 10 plantas que presentaban micorrización. Además, también se registró el valor más alto de micorrización del estudio (12%), y los valores más bajos fuero <1,5% y se presentaron en el resto de los tratamientos. En el estudio los porcentajes más elevados de colonización total, vesículas e hifas se encontraron en las plantas no inoculadas (Figura 16).

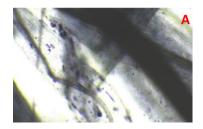






Figura 16. Imágenes de las tres situaciones del estudio, observadas a microscopio óptico a x20 aumentos. A: Muestra de Marisma con micorrización natural (12%). B: Muestra de Fortuna con micorrización por el tratamiento con MYC Plus (8%). C: Muestra de Fortuna sin micorrización. Fuente: Intra Radice.

Esta situación le ha atribuido a la presencia natural de los PGPR's, por lo que las propias bacterias de la rizosfera en conjunto con los y HMA del suelo han sido captados en el experimento y han producido efectos en el cultivo 'T0' no sujeto a tratamiento, en las plantas con micorrización natural se aprecian mayor cantidad de hifas prolongadas. Por lo tanto, la variedad 'Marisma' es una variedad de plantas de fresa más predispuesta a formar relación de micorrización natural con las PGPR's y los HMA de la propia rizosfera del suelo, que la variedad 'Fortuna'.

# 4.3. Variables ambientales y los efectos en el cultivo

En la actualidad, existen pocos estudios que evalúen los efectos de estas variables sobre la calidad de las frutas y verduras, por lo que es de vital importancia conocerlas y analizarlas, para el correcto manejo del cultivo.

Las variables ambientales con mayor repercusión en el cultivo de plantas de fresas son la temperatura, humedad y radiación solar, una vez se sobre pasan los rangos óptimos para que las plantas realicen la fotosíntesis y la obtención de los nutrientes del suelo.

La producción de frutos de fresa se correlaciona negativamente con nivel elevados la radiación solar directa fundamentalmente la ultravioleta (UV), por lo

que alta radiación solar y las altas temperaturas, se asocian a pérdida de agua y ejercen una influencia negativa en las respuestas de las plantas de fresa, que conlleva una reducción en la formación de flores y en consecuencia, deriva en descensos en la producción de frutos (Li et al., 2010).

# 4.3.1. Temperatura, humedad y evapotranspiración

La variable temperatura está estrechamente relacionada con la humedad relativa del aire y condicionan la demanda de evaporativa y transpiraría de la planta, tanto a nivel de hoja como de fruto, en conjunto dan como resultado la evapotranspiración, y esta tiene un impacto directo en el contenido de agua de la planta, en el tamaño y la concentración de componentes bioactivos de la planta (Li et al., 2010). Motivo por el cual se ha realizado de manera conjunta la evaluación de estas tres variables.

En el periodo de estudio (18 octubre de 2021 a 16 de mayo 2022) la temperatura en la zona de cultivo ha presentado unos valores típicos de clima mediterráneo en principio de una época de sequía (Figura 17), la temperatura promedio durante todo el periodo de estudio en el ambiente, ha sido de 14,08°C.

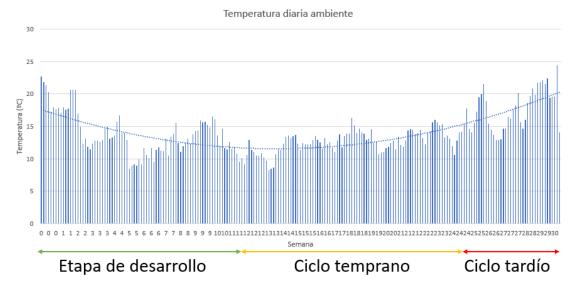
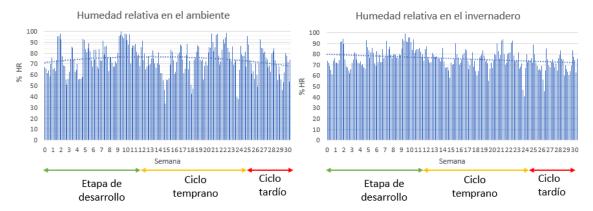


Figura 17. Evolución de la temperatura ambiental a lo largo de la campaña 2021/22.

A esta situación hay que añadir el aliciente de un corto y retrasado periodo de lluvias, respecto a un año estándar. La precipitación total acumulada durante el periodo de estudio fueron 311mm. La temporada de lluvias abarca 8,5 meses en la zona, desde el 12 de septiembre al 28 de mayo, teniendo en cuenta que el mes de septiembre y principios de octubre están fuera del periodo de cultivo (22,4 mm). En total, para el año hídrico en la región se han captado 333,4 mm, lo cual está por debajo del promedio de una temporada de lluvias habitual de 422mm.

Estas condiciones de temperaturas y precipitaciones han afectado la humedad relativa ambiental, siendo esta menor de lo habitual, presentando un valor promedio de 74,37 % (Figura 18), su comportamiento se ha mantenido entorno a ese valor durante todo el periodo, con fluctuaciones puntuales. La evapotranspiración evolucionó conforme avanzaba la campaña, mínima en

invierno, por la reducción en la actividad vegetativa general y máxima al final de la campaña al final de la primavera, época de máxima actividad vegetativa (Figura 19).



**Figura 18**. Evolución de la humedad relativa ambiental y en el invernadero a lo largo de la campaña 2021/22.

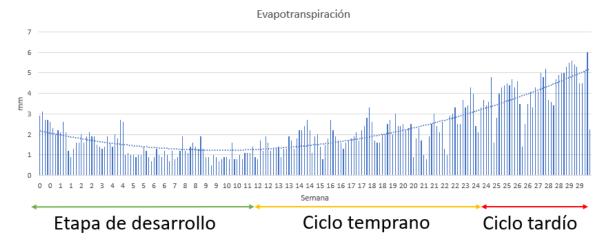
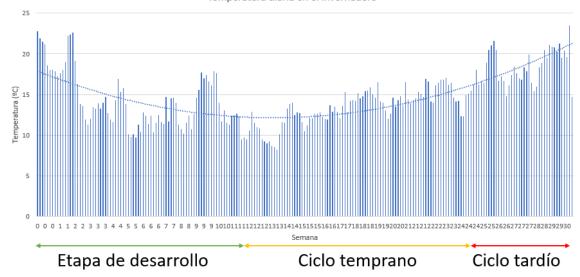


Figura 19. Evolución de evapotranspiración a lo largo de la campaña 2021/22.

El tener el cultivo en macrotúneles permite unas condiciones de temperatura y humedad con valores más altos y estables en el tiempo, debido a que los cambios dentro de los macrotúneles se producen de forma más paulatina que en el ambiente exterior gracias al aislamiento de plástico que favorece a las plantas a adaptarse mejor frente a las condiciones ambientales del medio, y no tener situaciones de estrés elevado que repercutan negativamente a su desarrollo y producción (Khammayom et al., 2022). La temperatura media del invernadero fue de 14,71°C (Figura 20) y la humedad relativa de 75,70 % (Figura 18), que son valores óptimos para el desarrollo.



**Figura 20**. Evolución de la temperatura en los macrotúneles a lo largo de la campaña 2021/22. Las gráficas comparativas de temperatura y humedad (máxima, media y mínima) durante el periodo de estudio en los macrotúneles y exterior, se encuentran representadas en el Anexo I.

#### 4.3.2. Radiación solar

La radiación solar puede considerarse uno de los factores ambiental más importante en los cultivos bajo invernadero, puesto que influye en procesos relacionados con la fotosíntesis, los balances de agua-energía, y el crecimiento y desarrollo del cultivo (Li et al., 2010).

La radiación solar en la superficie terrestre comienza a aumentar a la salida del sol por las mañanas alcanzando su máximo al mediodía y disminuye conforme el sol cae hasta llegar a su mínimo por las noches, también se ve afectada en función de la época del año: aumenta en las épocas estivales y disminuye en los nivales.

Con lo que respecta al estudio, la radiación diaria total fue aumentando conforme finalizo el invierno, hasta el final de la temporada en primavera, pero esta evolución se ha visto alterada en momentos puntuales por diferentes motivos. El principal ha sido el albedo, producido por periodos de mayor nubosidad. Las nubes producen el reflejo de parte la radiación solar incidente hacia la superficie terrestre y la devuelven al espacio. En consecuencia, en los meses de mayor nubosidad hay descensos de la radiación solar. Concretamente en el estudio, esto se aprecia en las semanas del 8-10 (13 de diciembre de 2021 a 1 de enero 2022) y del 21-23 (14 de marzo a 4 de abril de 2022), en estas semanas se produjeron descensos de radiación solar prolongados, que corresponden con épocas de mayor nubosidad y pluviometría. Además, hay otros factores que afectan a la radiación, como son las partículas en suspensión o aerosoles que también contribuyen a disminuir la radiación solar incidente, debido a que absorben esta antes de llegar a la superficie terrestre. Por lo que, los episodios de calima proveniente del norte del Sahara, que se produjeron a lo largo del mes

marzo (semanas 20-21), afectaron junto con la nubosidad en la disminución de la radiación solar incidente en la superficie (Figura 21).

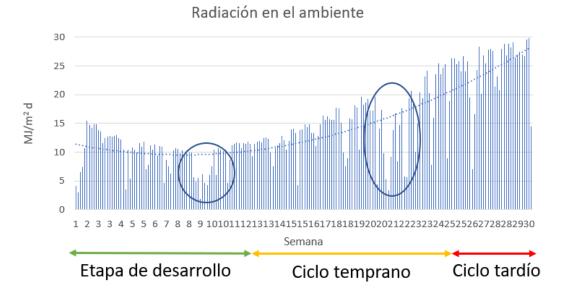


Figura 21. Evolución de la radiación solar a lo largo de la campaña 2021/22.

La radiación solar siempre es mayor en el exterior que en el interior de los macrotúneles (Figura 22), ya que el plástico (polietileno de 600 galgas o 150 micras) que cubre el macrotúnel protege de parte de la radiación UV incidente. El valor promedio de radiación solar en el exterior fue de 14,54 MJ/m².d y en el interior del túnel fue de 11,74 MJ/m².d. Por lo que, la transmitancia media de la radiación solar era de aproximadamente del 80,7 %.

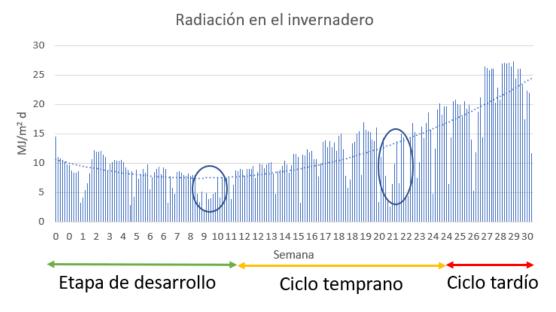
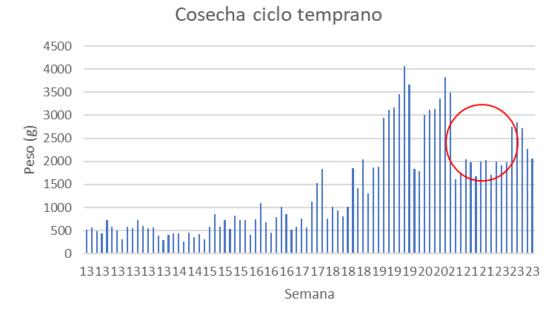


Figura 22. Evolución de la radiación solar a lo largo de la campaña 2021/22.

En definitiva, la radiación solar produjo efectos negativos en el cultivo por descenso en momentos puntuales. En la semana 19, 21 y 23 de cultivo, se produjo un descenso en la cosecha total, debido a de la situación de baja

radiación (Figura 23), una vez pasado el periodo de inestabilidad la cosecha aumentó a niveles de producción esperados para esas fechas.



**Figura 23.** Representación gráfica de los valores obtenidos de cosecha total en el ciclo temprano para 'Fortuna' y 'Marisma'.

Las variables: precipitaciones y velocidad del viento; se encuentran representadas en el Anexo II al no tener un efecto tan representativo en los valores de producción.

## 4.4. Dinámica de los nutrientes en savia y lisímetros

Se van a analizar los nutrientes en savia y lisímetros. Además, se evaluarán los posibles efectos de las variables ambientales en los valores nutricionales.

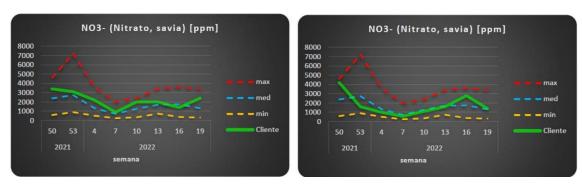
En la dinámica de nutrientes no existe un valor fijo de suficiencia o deficiencia, este cambia dependiendo del estadio fenológico en el que se encuentra la planta (Hochmuth et al., 1994). Después del agua, el nitrógeno es el elemento más importante para el desarrollo de las plantas (Lemaire y Gastal, 1997). Nitrógenos, fosforo y potasio, son los tres principales nutrientes para el desarrollo de los cultivos (Solís, 2019).

Las gráficas de savia y lisímetros (Figura 24 a 50) representan los valores de la variedad 'Fortuna' imagen de la izquierda y 'Marisma' imagen de la derecha. Las líneas discontinuas de las gráficas representan las concentraciones (ppm, Meq/L, %) o conductividad: máximos, medios y mínimos, en cada momento, para los estados fenológicos. La línea continua de color verde representa el valor real obtenido en el cultivo. Las gráficas de savia muestran los resultados del análisis nutricional de savia, respecto las semanas en el año.

# 4.4.1. Dinámica del nitrógeno en savia y lisímetros

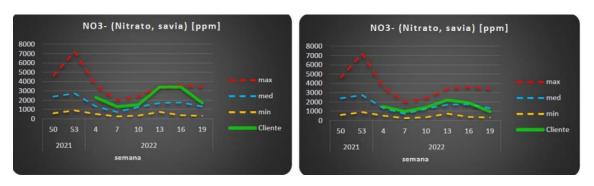
En 1996, Raynal y Cousin, establecieron como valores de suficiencia en el cultivo de la fresa, los comprendidos entre 1000-1500 mg/L de nitrato (NO<sub>3</sub>-), por medio de un test en savia de peciolos de hojas. Determinando valores críticos para la deficiencia de NO<sub>3</sub>- entre 500-700 mg/L o ppm.

Para el tratamiento 'T0' en las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente (Figura 24), se representa el comportamiento de la concentración de NO<sub>3</sub>- en savia de peciolo de hojas. Se observan que los valores se mantienen por encima de los valores promedios esperados en el caso de 'Fortuna', decayendo al principio del muestreo en el caso de 'Marisma', el valor coincide con un nivel alto en <sup>o</sup>Brix lo que indica una buena metabolización de la planta.



**Figura 24**. Evolución de la concentración de NO<sub>3</sub>- a lo largo del ciclo productivo en el tratamiento T0, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCultivo.

En el tratamiento 'T1' el comportamiento de la concentración de NO<sub>3+</sub> en savia de peciolo de hojas (Figura 25) muestra valores por encima del promedio esperado, teniendo un repunte próximo a máximos en el caso de 'Fortuna'. En 'Marisma', se observa un máximo durante dos muestreos que coinciden con bajos niveles de <sup>o</sup>Brix en ese mismo periodo, lo que puede indicar mala metabolización de los nutrientes.



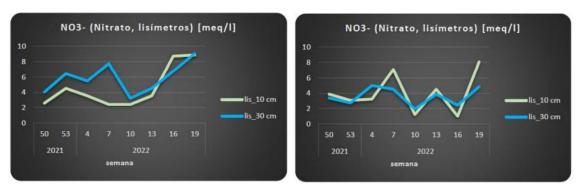
**Figura 25**. Evolución de la concentración de NO<sub>3</sub>- a lo largo del ciclo productivo en el tratamiento T1, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente.

Fuente: InfoCultivo.

El N medido en savia está en forma de NO<sub>3</sub>-, que es la forma del N que se encuentra libre y todavía sin metabolizar en la savia. Cuando se observan valores bajos de NO<sub>3</sub>- en los análisis suelen coincidir con valores altos de <sup>o</sup>Brix.

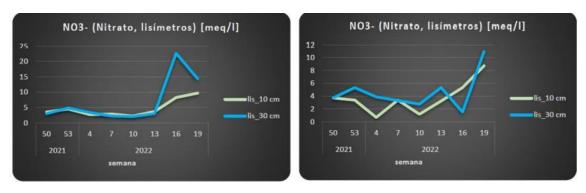
Debido a que el NO<sub>3</sub>- ha pasado a formar parte de otros compuestos. La situación no quiere decir que, si se observan niveles bajos de NO<sub>3</sub>-, se esté ante una carencia de N, sino ante una buena metabolización de este. En el supuesto caso de bajos niveles de NO<sub>3</sub>- en savia y bajos niveles de <sup>0</sup>Brix en savia, entonces sí se puede decir que existe una carencia de N en la planta (Mixquititla Casbis et al., 2020).

En los lisímetros (Figura 26) se observaron que los valores de NO<sub>3-</sub> para el tratamiento 'TO' de 'Fortuna' presentaba dos curvas prácticamente simétricas que muestran una mayor concentración de NO<sub>3</sub>- a más profundidad, que indican cierto lixiviado de nitratos. En el caso de 'Marisma', se observaron valores de concentración NO<sub>3</sub>- en profundidad, más irregulares . Los valores se encuentran dentro del rango de suficiencia (Mills y Jones, 1996).



**Figura 26**. Evolución de la concentración de NO<sub>3</sub>- a lo largo del ciclo productivo a distintas profundidades en el suelo en el tratamiento T0, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCultivo.

Por el contrario, el tratamiento 'T1' para 'Fortuna' presenta dos curvas solapadas lo que muestran un aprovechamiento de nitrógeno, no mostrando prácticamente lixiviado, exceptuando el final del ciclo. En la sonda 30 cm de 'Marisma' se observa una mayor concentración de nitrato, esta situación parece ser que fue producto de la presencia de HMA que facilitaron la incorporación del nitrógeno a la planta (Figura 27).

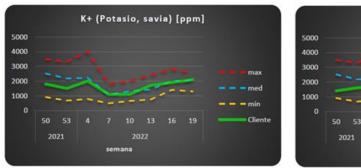


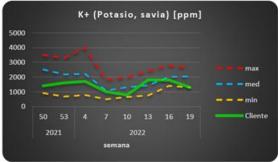
**Figura 27**. Evolución de la concentración de NO<sub>3</sub>- a lo largo del ciclo productivo a distintas profundidades en el suelo en el tratamiento T1, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCultivo.

## 4.4.2. Dinámica del potasio en savia y lisímetros

El contenido de K<sup>+</sup> en la planta varía a lo largo del ciclo, aumentando en periodos de floración y disminuyendo en periodos de maduración (Guaqueta, 2019).

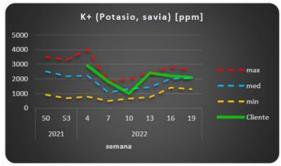
Respecto al comportamiento de la concentración de K<sup>+</sup> en savia de peciolo de hojas en el tratamiento 'T0' (Figura 28), se observan que los valores se mantienen por debajo de los valores medios <2000ppm, teniendo un repunte que estabiliza la curva entorno a la media teórica, en el caso de 'Fortuna'. Para 'Marisma', los valores se mantienen por debajo de la media, con tendencia más irregular.

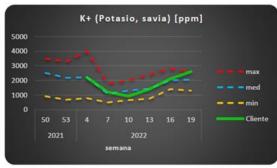




**Figura 28**. Evolución de la concentración de K<sup>+</sup> a lo largo del ciclo productivo en el tratamiento T0, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCultivo.

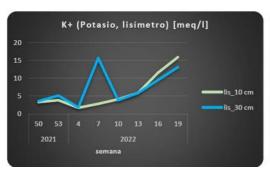
En el tratamiento 'T1' los valores se mantienen por encima de los valores medios (Figura 29), exceptuando una caída en la semana 10 en el caso de 'Fortuna'. Para 'Marisma', los valores se mantienen entorno a la media ±1500 ppm, con una caída de los mismos entorno a la semana 10.

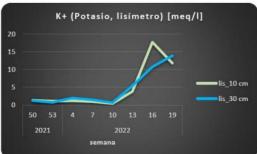




**Figura 29**. Evolución de la concentración de K<sup>+</sup> a lo largo del ciclo productivo en el tratamiento T1, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCultivo.

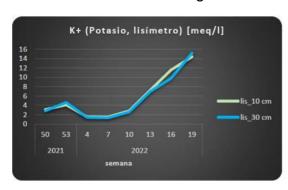
Respecto a los lisímetros, los valores de K<sup>+</sup> han sido similares en las dos profundidades para el tratamiento 'T0' (Figura 30). Estos valores se encuentran dentro del rango de suficiencia obtenido (Rincón et al.,1995).

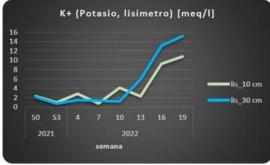




**Figura 30**. Evolución de la concentración de K+ a lo largo del ciclo productivo a distintas profundidades en el suelo en el tratamiento T0, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCultivo.

Para el tratamiento 'T1', 'Fortuna' muestra similitud de las curvas en ambas profundidades y 'Marisma' presenta un patrón más irregular. Estos valores se encuentran dentro del rango de suficiencia (Figura 31).





**Figura 31**. Evolución de la concentración de K<sup>+</sup> a lo largo del ciclo productivo a distintas profundidades en el suelo en el tratamiento T0, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCultivo.

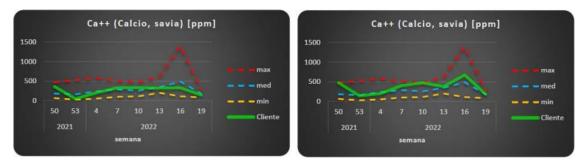
El contenido de las plantas en potasio también puede verse afectado por la cantidad de radiación que reciben los cultivos (Santos y Ríos, 2016). En ambas variedades la concentración de K<sup>+</sup> en el suelo han ido en aumento a lo largo del tiempo.

# 4.4.3. Dinámica de calcio en savia y lisímetros

El calcio (Ca<sup>++</sup>) no es un elemento móvil dentro de la planta, por lo que, depende del proceso de transpiración, para que las raíces absorban el calcio de la solución de suelo. Cualquier factor que ralentice la transpiración afecta, como pueden ser humedades muy altas o bajas, temperaturas extremas; estas pueden acarrear deficiencias de calcio en la planta, aun cuando el elemento está en niveles adecuados en el suelo. El calcio en forma de pectato de calcio, es responsable de mantener unidas las paredes celulares de las plantas y por ello está estrechamente relacionado con la firmeza de los frutos (Mixquititla Casbis et al., 2020).

Para el caso de 'Fortuna' en el 'T0', muestra una estabilización entorno al valor medio sin superar los 500 ppm (Figura 32). En 'Marisma', los valores se

mantienen por encima de la media, siendo una curva más irregular, llegando a superar los 500 ppm en uno de los muestreos.



**Figura 32**. Evolución de la concentración de Ca<sup>++</sup> a lo largo del ciclo productivo en el tratamiento T0, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCultivo.

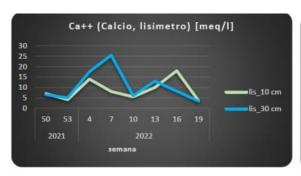
En el tratamiento 'T1' el comportamiento de la concentración de Ca<sup>++</sup> en savia de peciolo de hojas, se observa como en 'Fortuna' la curva se desestabiliza formando un máximo antes de caer, teniendo valores con tendencias bajas. En el caso de 'Marisma', los valores se mantienen entorno a la media, presentando valores más estables (Figura 33).

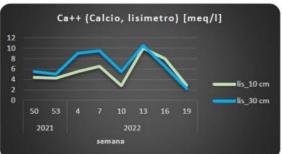


**Figura 33**. Evolución de la concentración de Ca<sup>++</sup> a lo largo del ciclo productivo en el tratamiento T1, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCultivo.

El potasio tiene efecto antagónico con el calcio (Santos y Ríos, 2016) y esto se puede observar en las gráficas de ambos elementos, los momentos de caída de Ca<sup>++</sup> coinciden con los de subida de K<sup>+</sup> y viceversa.

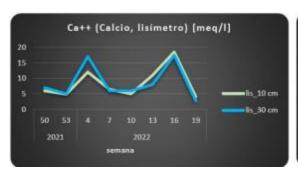
Los lisímetros respecto al Ca<sup>++</sup> para el tratamiento 'T0' (Figura 34), presentaron curvas de comportamiento similar, 'Fortuna' obtuvo valores en profundidad más irregulares a lo largo de la campaña que 'marisma'. En ambas variedades los valores se encuentran dentro del rango de suficiencia >40 ppm (Rincón et al.,1995).

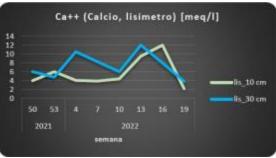




**Figura 34**. Evolución de la concentración de Ca<sup>++</sup> a lo largo del ciclo productivo a distintas profundidades en el suelo en el tratamiento T0, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCultivo.

Respeto al tratamiento 'T1', los valores de Ca<sup>++</sup> en lisímetros presentaron similitud entre las curvas (Figura 35). En 'Marisma' los valores son más irregulares lo que parece indicar un desajuste en cuanto a la absorción de este elemento, siendo mayor la concentración a 30 cm, lo que podría indicar lixiviación. Las condiciones se invierten al final del ciclo.



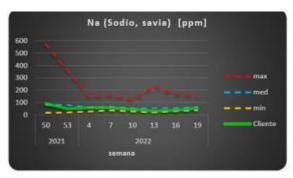


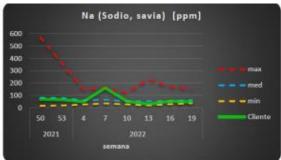
**Figura 35**. Evolución de la concentración de Ca<sup>++</sup> a lo largo del ciclo productivo a distintas profundidades en el suelo en el tratamiento T1, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCultivo.

# 4.4.4. Dinámica del sodio en savia, junto al sodio y cloruro sódico en los lisímetros

El sodio (Na<sup>+</sup>) es conocido como un antagonismo con el potasio. En momentos de déficit hídrico, se produce una mayor absorción de este elemento. Es importante tener en cuenta las relaciones K/Na y Na/CE.

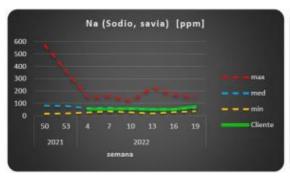
Para el tratamiento T0, se representa el comportamiento de la concentración de Na<sup>+</sup> en savia de peciolo de hojas (figura 36). Se observan valores dentro de la media ±50 ppm que no difieren con el 'T1'. En 'Marisma' se aprecia un pico de unos 150 ppm que coincide valores elevados de CE en el propio tratamiento (T0) que puede ser causado por un momento puntual de mayor salobridad del agua de riego.

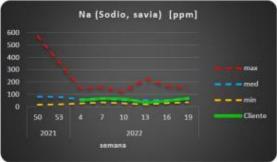




**Figura 36**. Evolución de la concentración de Na+ a lo largo del ciclo productivo en el tratamiento T0, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCultivo.

Por otra parte, en el tratamiento 'T1' presenta un comportamiento de la concentración de Na<sup>+</sup> (Figura 37) regular muy próximo al valor medio. En este caso para 'Marisma', no han mostrado valores elevados de sodio en la semana siete como si ocurre con el tratamiento 'T0', lo cual parece indicar que los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) han complido su función en la amortiguación del estrés, ante la falta de agua (Raúl y Navarro, 2007).



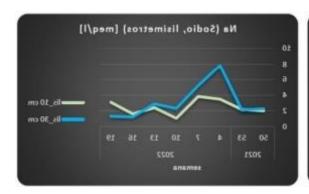


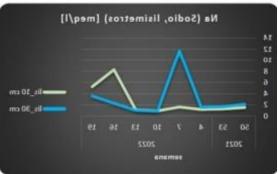
**Figura 37**. Evolución de la concentración de Na<sup>+</sup> a lo largo del ciclo productivo en el tratamiento T1, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCultivo.

Se considera 50 ppm como valor óptimo de Na<sup>+</sup> en el cultivo del tomate en invernadero (Burgueño, 1999), que es extrapolable al de plantas de fresa del cultivo, con salvando las distancias entre cultivos. Por lo que, los valores de sodio en savia se mantuvieron en niveles óptimos durante todo el ciclo productivo en los dos tratamientos y variedades, exceptuando el pico anómalo por estrés hídrico ocurrido en la semana 13 de cultivo.

Respecto a los valores de los lisímetros, el alto contenido de sodio y de cloruro sódico, aparte de favorecer la salinización del suelo, puede conducir a problemas de toxicidad (Rhoades et al., 1992). El rango de suficiencia estaría comprendido entre 4-17 meq/L.

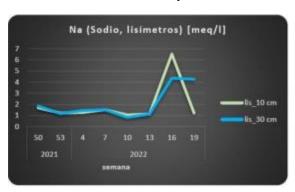
En los valores de Na<sup>+</sup> en lisímetros para el tratamiento T0 (Figura 38), la variedad 'Fortuna' ha mostrado niveles dispares en las primeras semanas, siendo los más altos a 30 cm, esta situación se invierte al final del periodo. En el caso de 'Marisma' se han observado niveles sodio más elevados en profundidad al igual que le sucedió a 'Fortuna'.

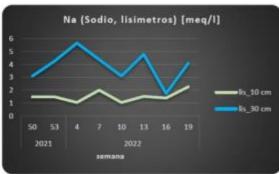




**Figura 38**. Evolución de la concentración de Na<sup>+</sup> a lo largo del ciclo productivo a distintas profundidades en el suelo en el tratamiento T0, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCultivo.

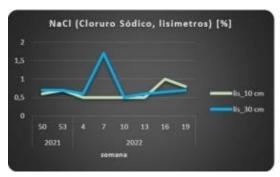
Para el tratamiento T1 (Figura 40), 'Fortuna' ha presentado niveles similares en ambas profundidades con una subida al final del ciclo. En el caso de 'Marisma', se observan niveles mayores de sodio a 30 cm.

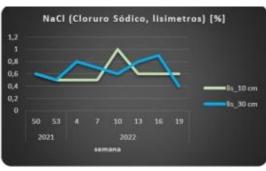




**Figura 40**. Evolución de la concentración de Na<sup>+</sup> a lo largo del ciclo productivo a distintas profundidades en el suelo en el tratamiento T1, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCultivo.

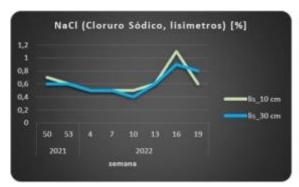
Respecto a los valores de cloruro de sodio (NaCl) en lisímetros los gráficos han presentado comportamientos similares al Na. Para el tratamiento 'T0' (Figura 41), 'Fortuna' ha presentado niveles mayores a 30 cm, exceptuando la penúltima semana de muestreo. En el caso de 'Marisma' hubo disparidad entre profundidades, al igual que sucedió con el Na<sup>+</sup>.

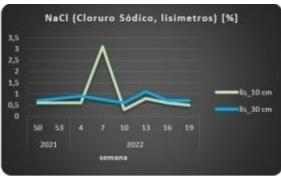




**Figura 41**. Evolución de la concentración de NaCl a lo largo del ciclo productivo a distintas profundidades en el suelo en el tratamiento T0, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCultivo.

Para el tratamiento 'T1', 'Fortuna' ha presentado niveles similares en ambas profundidades con un repunte al final. En el caso de 'Marisma' se apreciaban niveles elevados en la semana 7 que llegan al 3%, esta situación anómala no parece haber influido drásticamente a las plantas, al haber sido una situación puntual toleraron el estrés, su prolongación en el tiempo sí que pudiese haber afectado notablemente al cultivo (Figura 42).





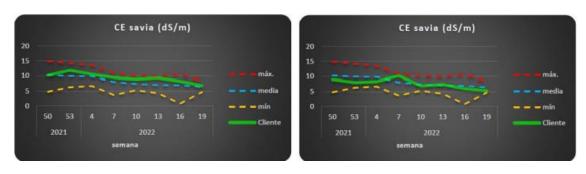
**Figura 42**. Evolución de la concentración de NaCl a lo largo del ciclo productivo a distintas profundidades en el suelo en el tratamiento T1, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCultivo.

#### 4.4.6. Conductividad eléctrica en savia y lisímetros

El cultivo de fresa es sensible a una mala calidad de aguas de riego (Casierra-Posada et al., 2006). La conductividad eléctrica (CE) es una medida que permite conocer si la planta contiene niveles suficientes de nutrientes necesarios para su correcto desarrollo. La CE en savia ha de oscilar entre 12-15 dS/m, todos los valores por debajo de este rango, provocan una absorción insuficiente por parte de la planta, por el efecto que esta acarrea en la presión osmótica, la reduce dificultando así la absorción de dichos nutrientes (González, 2015).

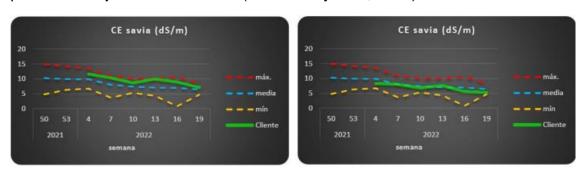
En el tratamiento 'T0' el resultado del comportamiento de la CE en savia de peciolo de hojas fue el siguiente:

Para la variedad 'Fortuna' ha mostrado valores estables entorno al promedio estimado, estos se tornaron más próximos a máximos entorno a la semana 13, para luego decaer y estabilizarse entorno a la media. En el caso de 'Marisma', la CE fue menor con tendencias a mínimos, mostrando un pico próximo valores máximos entorno a la semana 7(Figura 43).



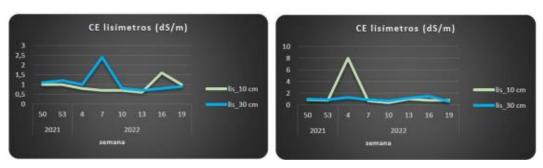
**Figura 43**. Evolución de la CE a lo largo del ciclo productivo en el tratamiento T0, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCultivo.

Los valores obtenidos para el tratamiento 'T1' muestran una CE más estable en sendas variedades (Figura 44), por lo que, la actividad de los HMA tuvo efectos amortiguadores en la CE, evitando para el caso de 'Marisma' que presentasen las plantas del 'T1' unos valores elevados en la semana 7, a diferencia de las plantas no sujetas a tratamiento (Giovanetti y Avio, 2002).



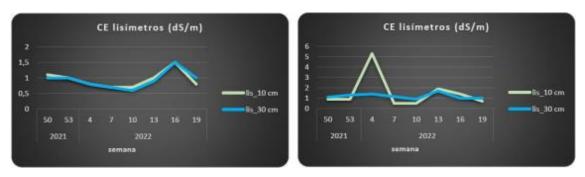
**Figura 44**. Evolución de la CE a lo largo del ciclo productivo en el tratamiento T1, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCultivo.

Respecto a los valores de CE captados por los lisímetros, para el tratamiento 'T0', 'Fortuna' ha presentado por lo general, niveles estables en ambas profundidades, exceptuando un máximo en el lisímetro más profundo durante la semana 7 y otro máximo durante la semana 16, esta vez en el lisímetro más superficial. En el caso de 'Marisma', la CE aumentó durante la semana 4 en el lisímetro más superficial. Estas subidas de CE han sido debidas a que el agua de riego en esos momentos presentó una salinidad mayor, debido una mayor concentración de cationes, como el Na<sup>+</sup> (Figura 45).



**Figura 45**. Evolución de CE a lo largo del ciclo productivo a distintas profundidades en el suelo en el tratamiento T0, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCultivo.

Para el tratamiento 'T1' (Figura 46), 'Fortuna' ha presentado niveles estables en ambas profundidades exceptuando un máximo durante la semana 16. En el caso de 'Marisma' la CE se dispara durante la semana 4 en el lisímetro más superficial.



**Figura 46**. Evolución de CE a lo largo del ciclo productivo a distintas profundidades en el suelo en el tratamiento T0, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente.

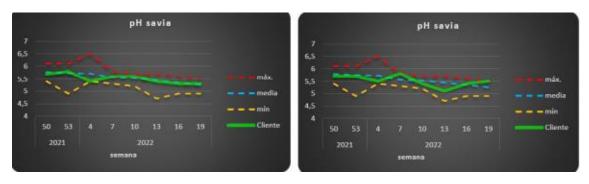
Fuente: InfoCultivo.

En vista a los resultados de savia y lisímetros, las plantas con 'T1' de inoculación de HMA toleran mejor y son más estables ante las variaciones de CE. Por esta característica las plantas con HMA podrían cultivarse y ser regadas con agua con una CE mayor, que las que no presentan HMA (Giovanetti y Avio, 2002).

# 4.4.7. pH en savia y lisímetros

El pH para la mayoría de los cultivos considerados como buenos oscila entre 5,5-6 pH (González, 2015). Los valores de pH en savia bajos se deben a un desequilibrio entre cationes, mientras que valores altos, indican la deficiencia aniones.

El comportamiento del pH en savia de peciolo de hojas en las plantas de 'T0', presentan niveles de pH que se mantienen cercanos a la media, pero por debajo del rango óptimo en ambas variedades (Figura 47).

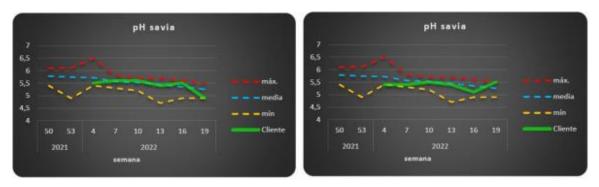


**Figura 47**. Evolución del pH a lo largo del ciclo productivo en el tratamiento T0, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCultivo.

Para el tratamiento 'T1', no se observan variaciones atribuibles al tratamiento, resultados equivalentes al 'T0' (Figura 48).

Por lo que, el pH en los lisímetros para el tratamiento 'T0 yT1' de 'Fortuna' y 'Marisma', tuvieron valores de pH que se han mantenido entre los niveles 4-7 pH

durante todo el ciclo productivo, niveles óptimos para la absorción de nutrientes (González, 2015).



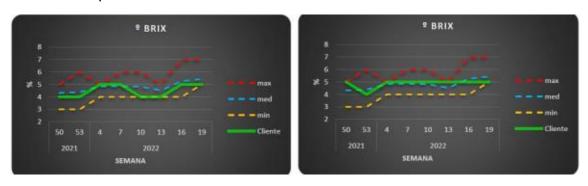
**Figura 48**. Evolución del pH a lo largo del ciclo productivo en el tratamiento T1, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCultivo

#### 4.4.8. ºBrix en savia

Los <sup>o</sup>Brix indican la cantidad de hidratos de carbono que contiene el flujo de savia y la cantidad de minerales disueltos que hay en la savia de la planta. De manera que es un indicador como la planta está aprovechando los nutrientes que se le aporta, es decir, que proporción de esos nutrientes están siendo transformados tras la fotosíntesis, lo que indica la eficiencia del abonado.

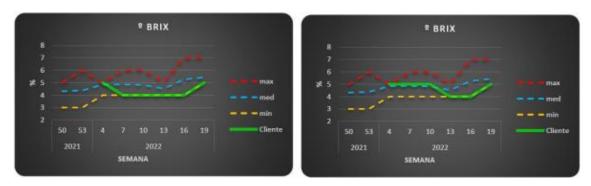
Incluso puede ser indicador de deficiencias en la iluminación, una planta que metaboliza gran cantidad de azucares, es una planta que recibe una buena radiación. Los cultivos con valores altos en este parámetro tienen más sólidos disueltos en savia, por lo tanto, su punto de congelación es inferior, lo que hace al cultivo más resistente a heladas (Suárez et al., 2009).

En el cultivo el comportamiento de azucares en savia de peciolo de hojas en el tratamiento T0 (Figura 49) ha presentado, para la variedad 'Fortuna' niveles adecuados de azucares, estos cayeron al mínimo durante dos muestreos que son coincidentes con el mes de marzo, mes en el que la radiación solar fue menor de lo normal (Figura 22). No obstante, en 'Marisma' se mantuvieron los niveles óptimos.



**Figura 49**. Evolución de los <sup>o</sup>Brix a lo largo del ciclo productivo en el tratamiento T0, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCultivo.

Respecto al tratamiento 'T1'. Ambas variedades tienen periodos de niveles mínimos, coincidentes con periodos de baja radiación solar, consecuencia de la nubosidad. No se ha observado mejoría respecto del tratamiento 'T0' (Figura 50).



**Figura 50**. Evolución de los <sup>o</sup>Brix a lo largo del ciclo productivo en el tratamiento T1, para las variedades 'Fortuna' y 'Marisma' respectivamente. Fuente: InfoCultivo.

#### 5. CONCLUSIONES

A partir de la información obtenida por medio de los diferentes análisis empleados en la realización de este trabajo fin de máster, se ha concluido que:

- ✓ Los niveles de colonización radicular tuvieron una incidencia moderada para ambas variedades. Las estructuras dadas con mayor frecuencia fueron hifas y esporas, hubo poca presencia de arbúsculos.
- ✓ Los parámetros de calidad presentaron valores similares para todo el cultivo, sin ser significante el tratamiento de micorrización, las mayores diferencias fueron ente variedades.
- ✓ La influencia principal de los HMA en el cultivo ha sido la mejora en el sistema radical, consiguiendo una mejor capacidad nutritiva e hídrica. Además, de amortiguar los posibles efectos del estrés hídrico o salino en momentos puntuales.
- ✓ Para el parámetro vegetativo (SPAD), la influencia de los HMA no tuvo efectos perceptibles.
- ✓ Las condiciones ambientales por lo general fueron propicias para el cultivo. El fotoperiodo fue estable durante todo el periodo productivo, salvo en situaciones de mayor nubosidad. El termoperíodo presentó temperaturas altas para todo el año, lo que adelantó la etapa de crecimiento vegetativo estival y conllevó una finalización adelantada ciclo productivo (mediados del mes de mayo).

# 6. BIBLIOGRAFÍA

Arciga García F. (2008). Selección de plantas hospedadoras adecuadas para producción de inoculo de hongos formadores de micorrización arbuscular por el método de cultivo en macetas. U.M.S.N.H.

Brundrett, M.; Bougher, N.; Dell, B.; Grove, T. & Malajczuk, N. (1996). Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. ACIAR monograph 32, 372 págs. ISBN I 86320 181 5.

Burgueño H., Uribe F. y Valenzuela M. (1999). Extracción de nutrientes por los cultivos de tomate y bell pepper en el valle de Culiacan, México. Inofrmación tecnica Bursag SA de CV.

Carvalho L, Antunes P, Martins-Louçao M, Klironomos J (2010) Disturbance influences the outcome of plant–soil biota interactions in the invasive Acacia longifolia and in native species. Oikos 119: 1172–1180.

Casierra-Posada, F. y García Riaño, N. (2006). Producción y calidad de fruta en cultivares de fresa (Fragaria sp.) afectados por estrés salino. Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín, 59(2), 3527-3542.

Castellanos Morales, M.V. del C. (2007). La interacción Glomus intraradices- Fertilización nitrogenada y su efecto sobre el crecimiento, el estado nitrogenado y la calidad de frutos de plantas de fresa (*Fragaria x ananassa Duch*) CV Aromas, cultivadas en hidroponía [Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo].

https://www.researchgate.net/publication/269107473\_What\_is\_governance/link/548173090cf22525dcb61443/download%0Ahttp://www.econ.upf.edu/~reynal/Civil wars\_12December2010.pdf%0Ahttps://think-

asia.org/handle/11540/8282%0Ahttps://www.jstor.org/stable/41857625

Climate-data.org. (2022). Clima Palos de la Frontera: Temperatura, Climograma y Temperatura del agua de Palos de la Frontera - Climate-Data.org. https://es.climate-data.org/europe/espana/andalucia/palos-de-la-frontera-414155/#climate-graph

Díaz-Moreno, R., Díaz-Franco, A., Garza-Cano, I., y Ramírez-De León, A. (2007). Brassinoesteroides e inoculación con Glomus intraradices en el crecimiento y la producción de sorgo en campo. Terra Latinoamericana, 25(1), 77-83.

Domínguez, O., Ramos, M., Sánchez, A., Guerra, G., Manzano, A. M., Sánchez, M. I., ... y Argüelles, J. (2008). Biodegradación de DDT por hongos de la podredumbre blanca. Fitosanidad.

EMCO CAL. (2022). FortunaTM (FL 01 116 cv.). https://www.emcocal.com/fresa-florida-fortuna/?lang=es

Galletta, G., Himelrick, D. y Chandler, L. E. (1990). Small Fruit Crop Management Prentice Hall, Ed.

Giovanetti & Mosse. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular infection on roots. New Phytologist 84: 489-500.

Giovannetti, M. y Avio, L. (2002). Biotecnología de micorrizas arbusculares. En *Micología aplicada y biotecnología* (Vol. 2, pp. 275-310). Elsevier.

González Barba, J. (2015). El análisis de sabia como ayuda a la fertilización. Haifa Negevtechnologies LTD. https://www.haifa-group.com/es/haifa-blog/el-analisis-de savia-como-ayuda-la-fertilizaci%C3%B

Guaqueta Huguet, S. D. D. P. (2019). Efectos de los factores climáticos de producción sobre la extracción de nitrógeno, calcio y potasio en cultivos de fresa (*Fragaria ananassa Duch cv Albión*). Universidad Nacional de Colombia, Fact. de Ingeniería, Dpto. de Ing. Civil y Agrícola. Bogotá, Colombia.

Hancock, J., Sjulin, T.M. y Lobos, G. (2008). Strawberries. 10.1007/978-1-4020-6907-9-13.

Harris-Valle, C., Esqueda, M., Valenzuela-Soto, E. M. y Castellanos, A. E. (2009). Tolerancia al estrés hídrico en la interacción planta-hongo micorrízico arbuscular: metabolismo energético y fisiología. Revista fitotecnia mexicana, 32(4), 265-271.

Hochmuth, GJ (1994). Rangos de eficiencia de nitrato-nitrógeno y potasio para pruebas rápidas de savia de peciolo vegetal. HortTechnology, 4 (3), 218-222.

IGN. (2022, junio 16). Atlas Nacional de España. Instituto Geográfico Nacional. Clima. http://atlasnacional.ign.es/wane/Clima

Inno Plant. (2021, mayo 26). ¿Qué son las bacterias PGPR? https://innoplant.es/2021/05/26/que-son-las-bacterias-pgpr/

Agüero, J.J. (2012). Bases nutricionales del cultivo de frutilla. 10.13140/RG.2.1.2290.9041.

Karele, I. (2001). Distribución del contenido de clorofila en hojas, tallos y mazorcas en trigo de invierno. En Nutrición Vegetal (págs. 720-721). Springer, Dordrecht.

Khammayom, N., Maruyama, N. y Chaichana, C. (2022). The Effect of Climatic Parameters on Strawberry Production in a Small Walk-In Greenhouse. AgriEngineering, 4(1), 104–121.

https://doi.org/10.3390/agriengineering4010007

Kirschbaum, D. S. (2021). Características botánicas, fisiología y tipos de variedades de fresas. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Argentina Índice, 2, 15. https://www.researchgate.net/publication/356251371

- Kirschbaum, D. S. (2021). Características botánicas, fisiología y tipos de variedades de fresas plantas (Issue November).
- Lemaire, G. y Gastal, F. (1997). Absorción y distribución de N en las copas de las plantas. En Diagnóstico del estado del nitrógeno en los cultivos (págs. 3-43). Springer, Berlín, Heidelberg.
- Li, H., Li, T., Gordon, R. J., Asiedu, S. K. y Hu, K. (2010). Strawberry plant fruiting efficiency and its correlation with solar irradiance, temperature and reflectance water index variation. Environmental and Experimental Botany, 68(2), 165–174. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.12.001
- M. Darrow, G. (1966). The Strawberry (1st ed., Vol. 1). Holt, Rinehart and Winston.
- Martínez, L. B. y Pugnaire, F. I. (2009). Interacciones entre las comunidades de hongos formadores de micorrizas arbusculares y de plantas. Algunos ejemplos en los ecosistemas semiáridos. Ecosistemas, 18(2).
- Medina Garcia, L. (2016). La agricultura, la salinidad y los hongos micorrizicos arbusculares: una necesidad, un problema y una alternativa. Cultivos tropicales, 37(3), 42–. https://doi.org/10.13140/RG.2.1.1117.9765
- Medina-Minguez, J. J. (2003). Evaluación agronómica de la adaptación de variedades de fresa ("Fragaria x ananassa" Duch.) a diferentes ambientes culturales. In Historia (Issue 1).
- Mera, R. (2009). Micorriza arbuscular y estrés abiótico en el contenido de alcaloides (vinblastima y vincristina) de Catharanthus roseus (L.) G. Don (Master's thesis).
- Mills, H.A. y J.B. Jones (1996). Plant Analysis Handbook II. MicroMacro Pub. Athens, Georgia.
- Mixquititla Casbis, G., Villegas-Torres, O. G., Andrade-Rodríguez, M., Sotelo-Nava, H. y Cardoso-Taketa, A. T. (2020). Crecimiento, rendimiento y calidad de fresa por efecto del régimen nutrimental. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, 11(6), 1337–1348.
- https://doi.org/10.29312/remexca.v11i6.2329
- Ochoa, M. C., Madrigal, R. P., Martínez, M. T. y Carreón, A. (2010). Plantas, hongos micorrízicos y bacterias: su compleja red de interacciones. Biológicas, 12(1), 65-71.
- Palencia, P., Martínez, F., Pestana, M. y Oliveira, J. A. (2015). Effect of Bacillus velezensis and Glomus intraradices on Fruit Quality and Growth Parameters in Strawberry Soilless Growing System Effect of Bacillus velezensis and Glomus intraradices on Fruit Quality and Growth Parameters in Strawberry Soilless Growing System. April. https://doi.org/10.2503/hortj.MI-002

Pellicer C., Pérez A., Rincón L., Abadía A., Sáez J., Saura MA. (2008). Balance de agua y nutrientes en un cultivo de pimiento de carne gruesa con fertilización ecológica. VIII Congreso SEAE, IV Congreso Iberoamericano Agroecología, Bullas-Murcia.

Pucheta Díaz, M., Flores Macías, A., Rodríguez Navarro, S. y De La Torre, M. (2006). Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos. Interciencia, 31(12), 856-860.

Raúl, C. D. C. y Navarro, C. (2007). Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo. Inst. de Investigaciones Químoc-B iologicas. Morelia, Mich., México.

Raynal Lacroix, C. y Cousin, I. (1996). Nitrato de savia peciolar como guía en la fertilización de fresa. En III Simposio Internacional de la Fresa 439 (pp. 753-762).

Rhoades, JD, Kandiah, A. y Mashali, AM (1992). El uso de aguas salinas para la producción de cultivos-FAO riego y drenaje papel 48. FAO, Roma, 133.

Rodríguez, Y. (2005). Revisión bibliográfica: Aspectos relacionados con las bases bioquímicas de la simbiosis micorrízica-arbuscular. Cultivos tropicales, 26(1).

Sánchez Sevilla, J. F. (2020). Descripción de Variedad Marisma FNM.

Sánchez-García, P. Ceja-Torres, L. F., Mora-Aguilera, G., Téliz, D., Mora-Aguilera, A., Muñoz-Ruíz, C. y La Torre-Almaraz, D. (2008). Ocurrencia de hongos y etiología de la secadera de la fresa con diferentes sistemas de manejo agronómico. Agrociencia, 42(4), 451-461.

Santos, C. B. y Ríos, M. D. (2016). Cálculo de soluciones nutritivas. http://www.agrocabildo.org/publica/Publicaciones/otro\_622\_soluciones\_nutritivas.s.pdf

Solis Santistevan, V. A. (2019). El nitrógeno como base de la producción agrícola en cultivos de ciclo corto (Bachelor's thesis, Babahoyo: UTB, 2019).

Suárez, J., Pérez de Camacaro, M. y Giménez, A. (2009). Efecto de la temperatura y estado de madurez sobre la calidad poscosecha de la fruta de guayaba (Psidium guajava L.) procedente de MERCABAR, estado lara, Venezuela. Revista Científica UDO Agricola, 9(1), 60–69.

Tapia Goné JJ., Ferrera Cerrato R. Varela-Fregoso L., Rodríguez Ortiz JC., Soria Colunga JC., Tiscareño Iracheta MA., Loredo osti C., Alcala Jáuregui J., Villar Morales (2010). Infectividad y efectividad de hongos micorrícicos arbusculares nativos de suelos salinos en el cultivo de lechugas (Lactuca sativa). Revista Mexicana de Micología. Vol. 31. pp4-33.

Valdés Ramírez, M., Ambriz Parra, E., Camacho Vera, A. y Fierros González, A. M. (2010). Inoculación de plántulas de pinos con diferentes

hongos e identificación visual de la ectomicorriza. Revista mexicana de ciencias forestales, 1(2), 53-63.

Varela, L. y Trejo, D. (2001). Los hongos micorrizógenos arbusculares como componentes de la biodiversidad del suelo en México. Acta Zoológica mexicana (nueva serie), (Es1), 39-51.

Verdier, M., (1987). Cultivo del fresón en climas templados. Ediciones Agrarias, Caja Rural Provincial de Huelva.

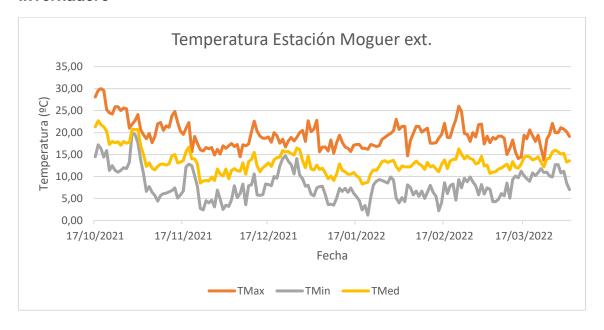
Vierheilig, H., Coughlan, A.P. & Piche, Y. (1998). Ink and Vinegar, a Simple Staining Technique for Arbuscular Mycorrhizal Fungi. Applied and Environmental Microbiology, 64 (12): 5004–5007.

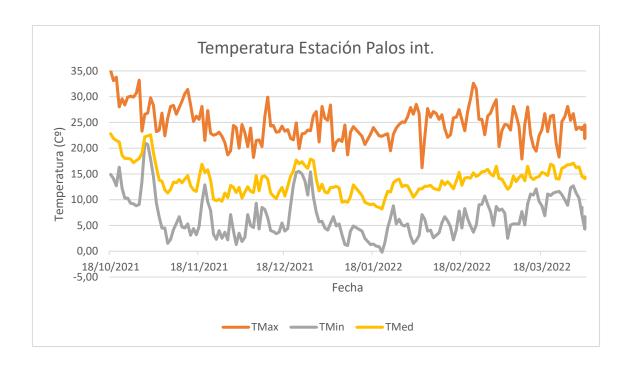
Weather Spark. (2022). El clima y el tiempo promedio en todo el año en Palos de la Frontera - Weather Spark.

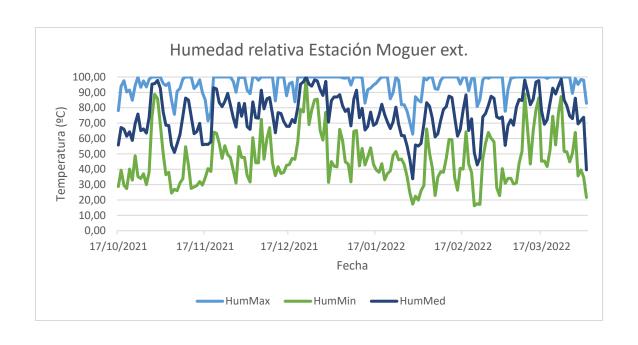
https://es.weatherspark.com/y/33209/Clima-promedio-en-Palos-de-la-Frontera-España-durante-todo-el-año

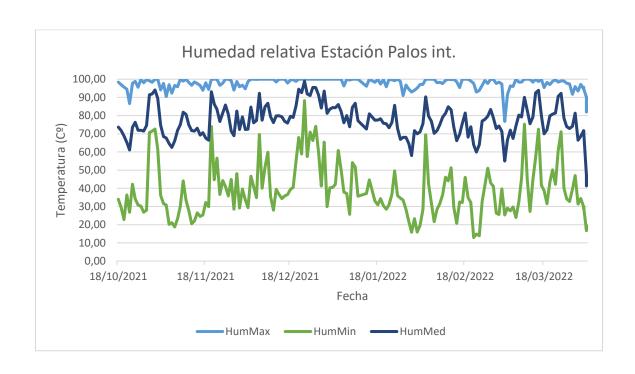
# **ANEXOS**

Anexo I. Gráficas de temperatura y humedad en el exterior e interior del invernadero

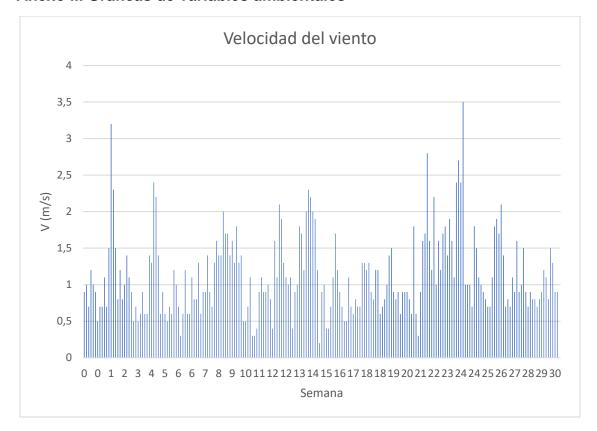


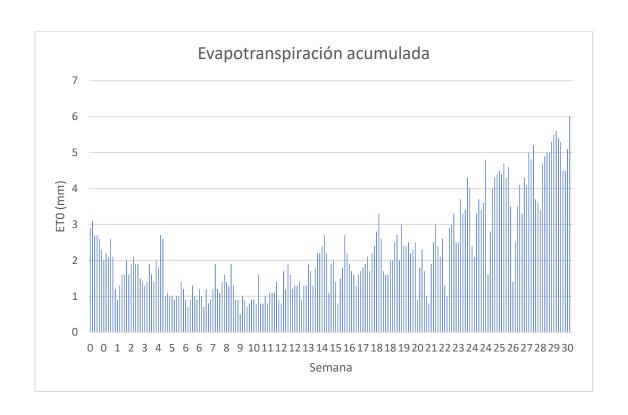


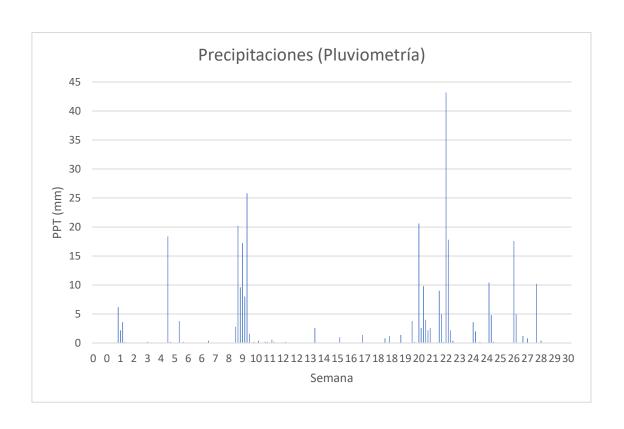




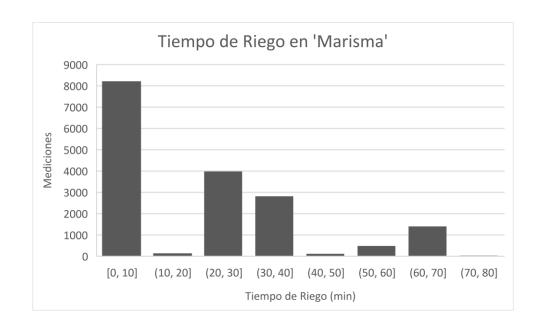
# Anexo II. Gráficas de variables ambientales

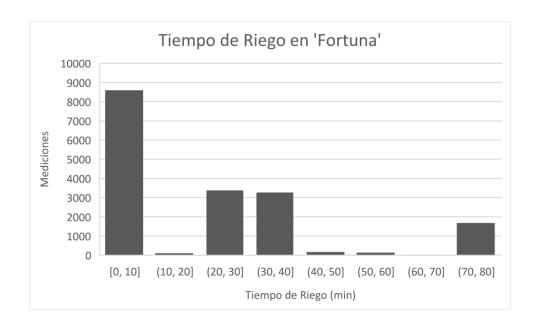






Anexo III. Frecuencias de caudal de riego en el macrotúnel





# Anexo IV. Humedad relativa en el suelo del cultivo

