

eman ta zabal zazu



Universidad  
del País Vasco

Euskal Herriko  
Unibertsitatea



ZTF-FCT

Zientzia eta Teknologia Fakultatea  
Facultad de Ciencia y Tecnología



Gradu Amaierako Lana / Trabajo Fin de Grado  
Biología Gradua / Grado en Biología

# Ongarri experimental baten eraginkortasunaren ebaluazioa nekazal ekoizpenaren hobekuntzan / Evaluación de la efectividad de un fertilizante experimental en la mejora de la producción agrícola

Egilea/Autor:  
Iglesias Ojanguren, Ander  
Zuzendaria/Director/a:  
Duñabeitia Aurrecoechea, Miren  
Ko-zuzendaria/Codirector/a:  
Sanchez Zabala, Joseba

© 2015, Ander Iglesias Ojanguren

Leioa, 2015eko ekainaren 23a /Leioa, 23 de junio de 2015

**El Trabajo de Fin de Grado** realizado por **Ander Iglesias Ojanguren** bajo la dirección de la **Dra. Miren K. Duñabeitia Aurrekoetxea** y la codirección del Dr. Joseba Sanchez Zabala, que ha sido **calificado** con una nota de **Sobresaliente (9)**, ha sido financiado por la empresa **Saionaimer S.L.** (CIF: B-95506457) a través del **contrato OTRI: 2014.0543** firmado con **Departamento de Biología Vegetal y Ecología de la Universidad de País Vasco (UPV-EHU)**.

## ÍNDICE

<b>RESUMEN.....</b>	<b>1</b>
<b>Palabras clave.....</b>	<b>1</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>1</b>
<b>Key words.....</b>	<b>2</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>2</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>4</b>
<b>Diseño experimental en función del sustrato de cultivo.....</b>	<b>5</b>
<b>Diseño experimental en función de la disponibilidad hídrica.....</b>	<b>6</b>
<b>Parámetros evaluados.....</b>	<b>7</b>
<b>Evaluación del estado sanitario.....</b>	<b>8</b>
<b>Análisis estadístico.....</b>	<b>8</b>
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>9</b>
<b>Efecto de la fertilización en función del sustrato de cultivo.....</b>	<b>9</b>
<b>Efecto de la fertilización en función de la disponibilidad hídrica.....</b>	<b>13</b>
<b>Efecto de la fertilización en el estado sanitario de las plantas.....</b>	<b>17</b>
<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>17</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>21</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>22</b>

## Resumen

En los últimos años la utilización de fertilizantes químicos con el fin de mejorar la producción agrícola ha aumentado sobremanera, lo que supone un mayor consumo de energía (combustibles fósiles) para su producción; contribuyendo al calentamiento global y a la contaminación del medioambiente. Ante esta problemática y aprovechando la gran cantidad de residuos vegetales que se generan de la actividad agrícola, se ha desarrollado un nuevo fertilizante de origen natural llamado Chamae como alternativa al uso de los fertilizantes químicos.

El presente estudio evaluó el efecto del fertilizante natural Chamae en el crecimiento del girasol (*Helianthus annuus* L.) en comparación con la forma tradicional de fertilización basada en el uso de fertilizantes químicos. Se realizaron tres ensayos diferentes: en el primero, se evaluó la efectividad de dicho fertilizante en función del sustrato utilizado; en el segundo, en función de la disponibilidad hídrica y; en el tercero, se evaluó el estado sanitario de las plantas.

Los resultados obtenidos muestran que la fertilización con el fertilizante natural Chamae produce plantas con un crecimiento similar a las producidas con un fertilizante químico convencional, en cualquier tipo de sustrato y bajo diferentes regímenes hídricos. Además, la fertilización natural aumenta exponencialmente la eficiencia en el uso de los nutrientes por parte de las plantas, tal y como refleja la Eficiencia Agronómica del Nitrógeno (EAN). Finalmente, se ha podido constatar como el estado sanitario de las plantas producidas con Chamae es mejor que las producidas con una fertilización nitrogenada, puesto que la incidencia de un patógeno oportunista como el oídio fue mayor en estas últimas.

Todos estos resultados presentan la fertilización natural con Chamae, frente a la fertilización nitrogenada tradicional, como una alternativa eficaz, sostenible y respetuosa con el medioambiente.

**Palabras clave:** girasol, nitrógeno, fertilizante natural, sustratos, condiciones hídricas, biometría.

## Abstract

In the last years the use of chemical fertilizers in order to improve the agricultural production has increased significantly, which supposes a major energy consumption (fossil fuels) for this production; contributing to the global warming and the pollution of the environment. Faced with this problem and taking advantage of the great amount of vegetable residues generated by agricultural activity, it has developed a new natural fertilizer called Chamae as an alternative to the use of chemical fertilizers.

The present study evaluated the effect of the natural fertilizer (Chamae) on the growth of the sunflower (*Helianthus annuus* L.) in comparison with the traditional form of fertilization based on the use of chemical fertilizers. Three different tests were realized: in the first one, the efficiency of the fertilizer depending on the used substrate; in the second one, depending on water availability; and in the third one, the health of plant was assessed.

The results revealed that the fertilization with the natural fertilizer Chamae produces plants with similar growth to the produced with a conventional chemical fertilizer, in all substrates and under different water rate. In addition, the natural fertilization exponentially increases the efficiency in the use of nutrients, as it reflects the Agronomic Efficiency of Nitrogen (EAN). Finally, it has been noted how the health status of the plants produced with Chamae is better than those produced with a nitrogenous fertilization, since the incident of a pathogenic opportunist like powdery mildew was higher in the last ones.

All these results present the natural fertilization with Chamae, opposite to the nitrogenous traditional fertilization, as an effective, sustainable and environmentally friendly alternative.

**Key words:** sunflower, nitrogen, natural fertilizer, substrates, water conditions, biometric.

## **Introducción**

El nitrógeno (N) y el fósforo (P) son dos de los elementos esenciales para el crecimiento y el desarrollo de las plantas, que desde hace décadas son proporcionados a los cultivos en forma de fertilizantes químicos con el fin de aumentar su productividad. Según la Asociación Nacional de Fabricantes de Fertilizantes Españoles (ANFFE), solo en los últimos 5 años, el consumo de fertilizantes, tanto nitrogenados (N) como totales (NPK), se ha incrementado en un 28%. Este incremento va acompañado de un aumento exponencial en el consumo de formas no renovables de energía para la síntesis de dichos fertilizantes, ya que se necesitan aproximadamente 1,3 toneladas de combustible para producir 1 tonelada de nitrógeno mediante el proceso industrial de Haber-Bosch (Martínez-Viera *et al.*, 2010). Esta insostenibilidad se agrava aún más teniendo en cuenta que las previsiones de la FAO apuntan que el consumo mundial de fertilizantes crecerá un 1,8% anual hasta 2018.

Pero además del mencionado mayor consumo de energía, satisfacer las necesidades de una población mundial en creciente aumento tiene graves implicaciones medioambientales. Tras cada abonado del suelo con un fertilizante químico, solo el 50% del N inorgánico aplicado es incorporado a N orgánico por las plantas (Ziegler, 1992), el resto del nitrógeno puede ser inmovilizado por las arcillas y los organismos del suelo, o puede perderse tanto por lixiviación como en forma gaseosa por volatilización de amoníaco en los procesos de nitrificación y desnitrificación (Fuertes de Mendizábal, 2008). El nitrógeno que se lixivia en forma de nitrato hacia las aguas subterráneas es tóxico para la salud pública (Addiscott *et al.*, 1991) y además, contamina los entornos acuáticos, causando su eutrofización. En el caso de las pérdidas gaseosas, las emisiones de gases nitrogenados contribuyen al calentamiento global y afectan de forma indirecta a la reducción de la capa de ozono (González-Murua *et al.*, 2004).

Por otra parte, la agricultura genera gran cantidad de residuos de cosecha, entendiéndose como tal aquellas fracciones de un cultivo que no constituyen la cosecha propiamente dicha, así como a aquella parte de la cosecha que no cumple con los requisitos de calidad mínima para ser comercializada como tal (Martínez, 2006). Los cultivos hortícolas son unos de los principales generadores de residuos orgánicos, especialmente los que se encuentran dentro de los sistemas hortícolas intensivos dedicados a la producción de hortalizas bajo invernadero.

La superficie de cultivo bajo cubierta en España se aproxima a las 79.000 ha, de las cuales el 95,5% corresponde a la producción de hortalizas. En Andalucía, con un 72% del total nacional, se concentra la mayor parte de la superficie de cultivo protegido, siendo en Almería donde mayor área se dedica a este sistema de producción (COAG, 2009). Se estima que en la provincia de Almería sólo los desechos vegetales de invernadero representan más de un millón de toneladas de restos orgánicos al año (Urrestarazu *et al.*, 2005). En estas explotaciones fuertemente intensivas, los residuos de los cultivos hortícolas deben ser retirados del suelo o del sustrato donde se han desarrollado antes de iniciarse el cultivo siguiente, debido fundamentalmente a razones de índole temporal y fitosanitaria (Martínez, 2006). El sistema de manejo de estos residuos vegetales, generalmente consiste en acumularlos al aire libre para facilitar su desecación y disminución de volumen, como paso previo a su vertido o incineración; lo que genera graves problemas medioambientales. Por una parte, porque el depósito y abandono de los mismo en las zonas de cultivo y cercanías de los invernaderos los convierte en fuente de lixiviados y de emisión de gases y, focos de plagas y vectores de enfermedades. Por otra parte, porque pueden estar contaminados por restos de productos fitosanitarios y, su incineración puede emitir a la atmósfera compuestos potencialmente peligrosos (De Jesús Mendoza, 2010).

Ante este escenario de deterioro medioambiental es prioritario reducir el uso de fertilizantes nitrogenados y mejorar el manejo de los cultivos, además de llevar a cabo una gestión adecuada de los residuos que minimice el impacto asociado a su producción. Son precisamente estos los planteamientos a los que pretende dar respuesta el fertilizante natural Chamae, que ha sido certificado por el organismo de control para insumos de agricultura ecológica CERES GmbH Doc. No 18.105, autorizado en la UE para la Agricultura Ecológica EU Council Reg. (EEC) 834/2007, certificado para NOP (National Organic Program of the US Department of Agriculture) y certificado para JAS (Japanese Agricultural Standard of Organic Products). Se trata de un fertilizante líquido, de muy reciente comercialización, y elaborado por la empresa Saionaimer S.L. ([www.chamae.es](http://www.chamae.es)), que se obtiene a partir del procesado de residuos vegetales procedentes de cultivos hortícolas intensivos bajo plástico de Almería. Estos residuos se cosechan antes de la senescencia vegetal, por lo que presentan alto contenido en humedad, son fácilmente biodegradables, y son fuente de materia orgánica y elementos fertilizantes. El proceso de transformación de dichos restos permite proporcionar a la planta nutrientes, pero sobre todo bioactivadores que estimulen su metabolismo y la capacidad de obtener los requerimientos que necesita para desarrollarse de una manera más natural y, por lo tanto mucho más sostenible y medioambientalmente amigable.

El girasol (*Helianthus annuus*) pertenece a la familia de las Asteráceas. Es una planta nativa de Centroamérica y Norteamérica, que se ha expandido por todo el mundo gracias a que crece bien bajo diferentes condiciones edafoclimáticas. Además de ser muy resistente al frío y a la salinidad, su baja exigencia hídrica para su cultivo se presta para regadíos eventuales o con poca dotación de agua en época de sequía. La importancia de esta especie radica en que se pueden aprovechar muchos de los recursos que ofrece, siendo el más destacado la producción de aceite, por lo que tiene un papel fundamental en la alimentación humana y además como planta forrajera (Silva, 1997). Además, desde hace unos años, es junto con la colza y la soja una de las materias primas más utilizadas en España para la producción de biodiesel; debido a que su contenido medio en aceite es del 44%, lo que la convierte en una de las mejores opciones en cuanto a agricultura energética (García Camus y García Laborda, 2006).

El objetivo general de este trabajo es el de evaluar el efecto de la aplicación de Chamae en el crecimiento de girasol en comparación con la forma tradicional de cultivo basada en la aplicación de fertilización química. Para la consecución de dicho objetivo general se plantean los siguientes objetivos parciales:

- Evaluar la efectividad del fertilizante natural Chamae en función del sustrato de cultivo utilizado.
- Evaluar la efectividad del fertilizante natural Chamae en función de la disponibilidad hídrica de la planta durante el cultivo.
- Evaluar el estado sanitario de las plantas en función del tratamiento de fertilización aplicado.

## **Materiales y métodos**

Todos los experimentos fueron llevados a cabo en los invernaderos del “Servicio de cultivo de material vegetal en condiciones controladas: fitotrón e invernadero” que los Servicios Generales de Investigación (SGIker) de la Universidad del País Vasco (UPV/EHU) tienen en la Facultad de Ciencia y Tecnología.

Como soporte del cultivo se ha utilizado la bandeja QUICKPOT de plástico semirrígido reutilizable, de seis alveolos y 1 L de capacidad por alveolo. La semilla de *Helianthus annuus* utilizada ha sido la comercializada por Semillas Vilmorin, variedad flor grande de producción una flor por planta.

Los fertilizantes usados en los diferentes ensayos, ambos líquidos, fueron el fertilizante químico universal Flower (Productos Flower SA, Lleida) y el fertilizante orgánico Chamae (Saionaimer SL, Barakaldo, Bizkaia).

Flower es un fertilizante químico líquido que, según su etiqueta, gracias a su equilibrio en macronutrientes NPK y su contenido en micronutrientes (Tabla 1) mejora la composición nutritiva del sustrato o suelo donde se desarrollan las plantas y potencia su metabolismo.

Chamae es un fertilizante ecológico líquido de origen 100% vegetal y natural obtenido a partir de restos vegetales y frutos procedentes de la actividad agrícola que, según su etiqueta, proporciona a la planta los nutrientes necesarios en proporciones equilibradas y con una disponibilidad máxima (Tabla 1) y que, además de estimular el crecimiento, al estar interconectado con el metabolismo secundario, estimula los mecanismos de defensa naturales de las plantas frente a patógenos.

Tabla 1: Composición físico química de los fertilizantes utilizados en los ensayos

	<b>FLOWER</b>	<b>CHAMAE</b>
<b>Macronutrientes principales</b>		
Nitrógeno total (% p/p NPK)	7	0,2
Fósforo total (% p/p P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )	5	0,1
Potasio total (% p/p K <sub>2</sub> O)	6	0,5
<b>Macronutrientes secundarios</b>		
Calcio (% p/p CaO)		0,2
Magnesio (% p/p MgO)		0,1
Azufre (% p/p S)		0,5
<b>Micronutrientes</b>		
Hierro (%)	0,06	0,0029
Manganeso (%)	0,02	0,00123
Zinc (%)	0,02	0,00236
Cobre (%)	0,009	0,00102
Boro (%)	0,01	0,0024

Para la aplicación de estos dos fertilizantes, siguiendo las recomendaciones de dosificación de cada uno de los productos, el fertilizante Flower se aplicó en una proporción de 20 ml de fertilizante por cada 4 L de agua, mientras que en el caso de Chamae se aplicó en una proporción de 1 L de fertilizante por cada 4 L de agua. En ambos casos la dosis de riego consistió en la aplicación a cada planta de 50 ml de fertilizante una vez por semana (viernes) y riego solo con agua los lunes y los miércoles. De este modo, cada planta recibió 350 ml totales de su correspondiente tratamiento de fertilización; lo que supone un total de 24,5 g N/planta para el tratamiento de fertilización química y, 0,14 g N/planta para la fertilización con Chamae. Además, se establecieron tratamientos control en los que únicamente se utilizó agua para regar las plantas tres veces por semana.

### ***Diseño experimental para la evaluación en función del sustrato de cultivo***

Para evaluar el efecto de cada uno de los fertilizantes en el crecimiento de los girasoles en función del sustrato de cultivo utilizado, las semillas de girasol se sembraron en tres sustratos diferentes (Tabla 2): 1) una mezcla de perlita y vermiculita (1:1, vol:vol); 2) una mezcla de turba negra de Sphagnum y perlita (1:1, vol:vol); 3) suelo procedente del vivero Martintxune de Basalan (Diputación Foral de Bizkaia), situado en Erandio, pesado por su elevado componente arcilloso, y en el cual se había cultivado maíz el año anterior. El suelo también se mezcló con perlita (1:1, vol:vol).

En la Tabla 2 se presentan los 9 tratamientos evaluados en función del tipo de sustrato y de la fertilización aplicada.



Tabla 2: Tratamientos establecidos en función del tipo de sustrato utilizado para el crecimiento de las plantas de girasol y de la fertilización aplicada.

Tratamiento	Sustrato	Fertilizante	N aplicado (g N/planta)	pH sustrato
T1	Perlita:Vermiculita	Agua (Control)	0	6,23
T2	Turba:Perlita	Agua (Control)	0	6,28
T3	Suelo:Perlita	Agua (Control)	0	8,13
T4	Perlita:Vermiculita	Flower	24,5	6,23
T5	Turba:Perlita	Flower	24,5	6,28
T6	Suelo:Perlita	Flower	24,5	8,13
T7	Perlita:Vermiculita	Chamae	0,14	6,23
T8	Turba:Perlita	Chamae	0,14	6,28
T9	Suelo:Perlita	Chamae	0,14	8,13

Las plantas crecieron durante 7 semanas (49 días) en el invernadero en condiciones medioambientales de Temperatura, Humedad relativa y luz controladas. Las condiciones de crecimiento fueron de una temperatura media de 25°C:18°C (día/noche), una humedad relativa media de 60%:70% (día/noche), un fotoperiodo de 14 horas y una densidad fotosintética del flujo de fotones (PPFD) de 300  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

### ***Diseño experimental para la evaluación en función de la disponibilidad hídrica del sustrato***

Para evaluar el efecto de la disponibilidad hídrica del sustrato en el crecimiento de las plantas en función del tratamiento de fertilización aplicado, los contenedores “Quickpot” se colocaron en bandejas de plástico a diferentes alturas, en función del tratamiento establecido (Tabla 3): 1) Tratamiento “Saturación”, con el contenedor directamente en contacto con el fondo de la bandeja, que se mantuvo durante todo el cultivo con una capa de agua de 4 cm, lo que mantuvo el sustrato de esos contenedores siempre saturado de agua (deficiente en oxígeno); 2) Tratamiento “Riego”, sobre un lecho de piedras de unos 2-3 cm de tamaño, lo que permitía que el sustrato de cultivo drenara fácilmente, pero siempre en contacto con una capa de agua no superior a un cm, de manera que se mantuviera con una proporción equilibrada de agua y de aire; 3) Tratamiento “Déficit hídrico”, con los contenedores colocados sobre soportes plásticos que lo alejaban de la bandeja que recogía el agua de drenaje y que por lo tanto mantuvieron los sustratos con un déficit hídrico moderado durante todo el cultivo.

Tabla **¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.**3: Tratamientos aplicados a las plantas de girasol para evaluar el efecto del fertilizante en función de las condiciones de riego

<b>Tratamiento</b>	<b>Riego</b>	<b>Fertilizante</b>	<b>Contenido de agua (%)</b>
T1	Saturación	Agua (control)	8,00
T2	Riego	Agua (control)	6,08
T3	Déficit hídrico	Agua (control)	2,33
T4	Saturación	Flower	6,50
T5	Riego	Flower	5,38
T6	Déficit hídrico	Flower	1,33
T7	Saturación	Chamae	8,17
T8	Riego	Chamae	4,80
T9	Déficit hídrico	Chamae	2,00

Al igual que en el ensayo anterior, las plantas crecieron durante 7 semanas en el invernadero bajo las mismas condiciones controladas de temperatura, humedad relativa, fotoperiodo e intensidad lumínica.

### ***Parámetros evaluados***

Cada ensayo constaba de 9 tratamientos, con 6 plantas por réplica y dos réplicas por tratamiento, por lo que en total se analizaron 108 plantas por cada ensayo (efecto del sustrato y efecto del riego).

Tras siete semanas de crecimiento, una vez iniciada la diferenciación del botón floral, pero sin que la inflorescencia llegara a desarrollarse, se procedió a la determinación de los diferentes parámetros biométricos y fisiológicos.

Primeramente, en las hojas situadas justo en el nivel anterior a las que envolvían al botón floral, se determinó la fluorescencia de la clorofila (Fv/Fm) utilizando para ello un fluorímetro portátil Fluorpen Z990 (Photon Systems Instruments) y el contenido relativo en clorofilas, utilizando para ello un medidor de clorofila SPAD-502PLUS (Konica Minolta). Ambos parámetros se determinaron en la misma hoja y, para cada planta, el valor de cada parámetro era la media de dos medidas realizadas en la mitad de la hoja, donde mayor era su anchura.

A continuación se determinó el número de hojas y se midió el diámetro a nivel de cuello de raíz y la altura de la planta. Tras limpiar el sistema radical y dejarlo libre de sustrato, la planta se separó en raíz, tallo y hojas. Las hojas fueron fotografiadas, colocando una escala como referencia, y se calculó su área utilizando el programa Image J. Finalmente, se pesaron obteniendo el peso fresco por separado de cada una de las fracciones (raíz, tallo y hojas) y se dejaron secar en estufa a 80°C durante tres días, pesándolas nuevamente para obtener el peso seco.

A partir de los datos obtenidos con el área foliar y el peso de las hojas se determinó el Área Foliar específica (SLA, siglas del inglés “Specific Leaf Area”), que es la relación del área foliar y del peso de la hoja, expresado en  $\text{m}^2.\text{Kg}^{-1}$ . Asimismo a partir de la biomasa de los diferentes tratamientos y la cantidad de nitrógeno aplicado se calculó la Eficiencia en el uso agronómico del nitrógeno (EAN), expresada en g PF/ g N planta, mediante la siguiente fórmula:

$$EAN = \frac{\text{Biomasa aérea fertilización} - \text{Biomasa aérea control}}{\text{Nitrógeno aplicado}}$$

En el ensayo de evaluación en función de la disponibilidad hídrica del sustrato se determinó además el contenido en agua del sustrato, expresado en porcentaje, utilizando para ello un higrómetro de suelo estándar.

### ***Evaluación del estado sanitario***

Para la determinación del estado sanitario de las plantas se utilizaron las 216 plantas de los 18 tratamientos evaluados (9 para el ensayo del tipo de sustrato y 9 para el ensayo del tipo de riego).

El oídio del girasol está causado por un hongo (*Oidium* sp.) parásito biotrófico, que afecta tanto al tallo como a las hojas y que causa una reducción de su rendimiento. Aparece formando manchas blancas locales sobre la hoja y en la base del tallo, pudiendo llegar a provocar necrosis de los tejidos según avanza la enfermedad. Las condiciones de elevada humedad ambiental del invernadero favorecen su aparición y expansión por lo que su presencia se incrementaba a medida que transcurría el tiempo de cultivo.

Para cada planta se determinó, por un lado, la presencia o no de oídio en el tallo, expresándose los resultados como porcentaje de plantas con el tallo afectado por la enfermedad. Por otro lado, se determinó el número de hojas afectadas por oídio, en cada planta y se calculó el porcentaje de hojas afectadas en base al número de hojas totales.

### ***Análisis estadístico***

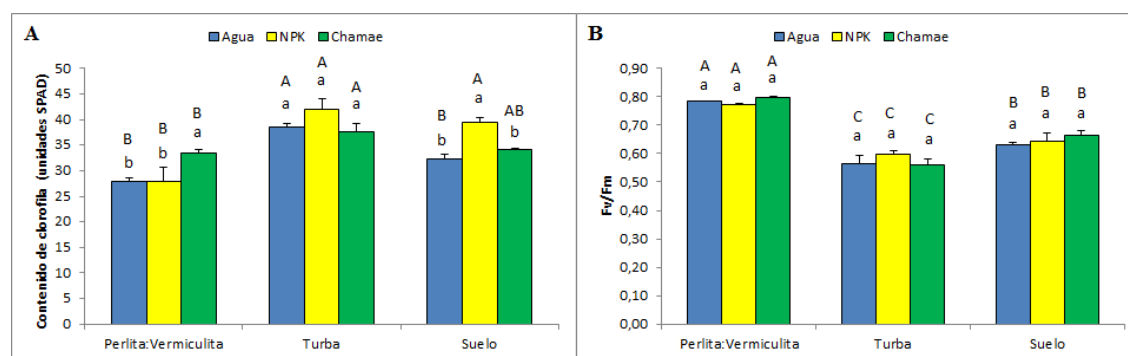
Todos los datos obtenidos fueron analizados con el paquete estadístico ©SPSS Inc. (vs. 19.0, 2011). Primero, se verificó la normalidad y homogeneidad de las varianzas mediante el test de *Kolmogorov-Smirnov*, transformándose las variables que así lo requirieran para cumplir con la normalidad y homogeneidad de las varianzas. Sin embargo, todas las medias y errores estándar mostrados en los resultados proceden de los datos no transformados. Para determinar las diferencias significativas entre más de dos grupos o muestras, se realizó un análisis de varianza (*ANOVA*) junto con una comparación múltiple *post hoc* de medias observadas mediante el test de *Duncan*. El nivel de significación para los test fue  $p \leq 0,05$ .

## Resultados

### Efecto de la fertilización en función del sustrato de cultivo:

Con respecto a la evaluación del efecto del tipo de fertilización aplicado en función del sustrato de cultivo, se han encontrado diferencias significativas entre los tratamientos de fertilización en todos los parámetros biométricos analizados, pero las diferencias no fueron tan evidentes en el caso de los parámetros fisiológicos. Así, el contenido en clorofila (Fig. 1A), medido como unidades SPAD, muestra que los valores más altos se obtienen en las plantas crecidas en turba (T) y los más bajos en las cultivadas en el sustrato inerte perlita:vermiculita (PV), siendo intermedios los valores de las plantas crecidas en suelo (S). Dentro del sustrato inerte (PV), destaca el contenido en clorofila significativamente mayor de las plantas producidas con Chamae con respecto al encontrado en las plantas crecidas en agua y el de las crecidas con el fertilizante Flower (NPK), que no difieren entre ellas. Asimismo, en el tratamiento T, no se producen diferencias significativas entre fertilizaciones. Sin embargo, cuando los girasoles crecen en S, la cantidad de clorofilas acumuladas en las hojas es significativamente mayor cuando se aplica NPK como fertilizante.

La eficiencia fotoquímica del fotosistema II, medida como el cociente Fv/Fm, muestra que no se producen diferencias entre tratamientos de fertilización (Fig. 1B), sea cual sea el sustrato de crecimiento de la planta y que los valores varían dependiendo del sustrato de cultivo, siendo los más altos los obtenidos en las plantas crecidas en PV y los más bajos los de las plantas crecidas en T.

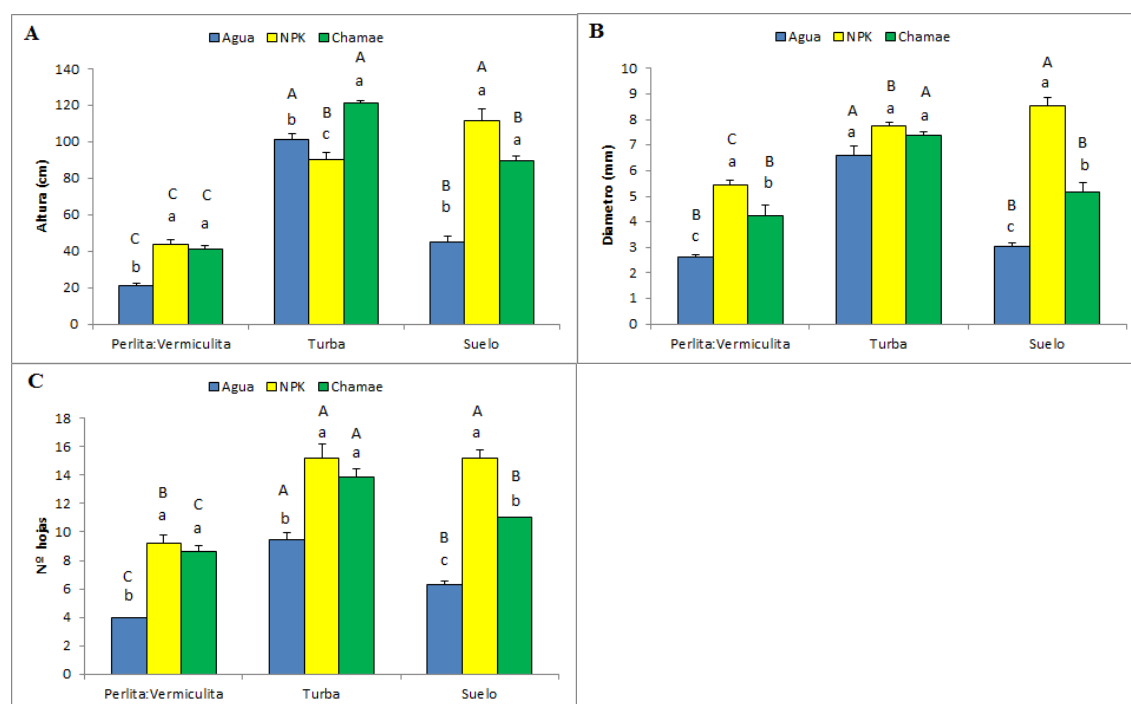


**Figura 1.** Comparación de (A) el contenido de clorofila (unidades SPAD) y (B) la eficiencia fotoquímica (Fv/Fm) de las hojas de girasol (*Helianthus annuus*) cultivado en tres sustratos diferentes (perlita:vermiculita, turba y suelo) y sometido a tres fertilizaciones diferentes: Agua, Flower (NPK) y Chamae. Letras distintas indican diferencias significativas (Duncan,  $p \leq 0,05$ ) entre fertilizaciones para cada sustrato (minúsculas) y entre sustratos para un mismo tratamiento de fertilización (mayúsculas).

En cuanto al crecimiento de las plantas, cabe destacar que las más altas son las crecidas en T, seguidas por las crecidas en S, que a su vez son significativamente más altas que las crecidas en PV (Fig. 2A). Estas diferencias son las mismas que las encontradas para el diámetro a nivel de cuello de raíz (Fig. 2B). Centrándonos en el tipo de fertilización aplicado, las diferencias cambian dependiendo del sustrato. Así, en T son las crecidas

con Chamae las más altas, a igual diámetro que las crecidas con NPK o con agua. Por el contrario, en S, son las crecidas con NPK las más altas y las de diámetro más grueso, siendo las que solo han recibido agua las que muestran el crecimiento más reducido.

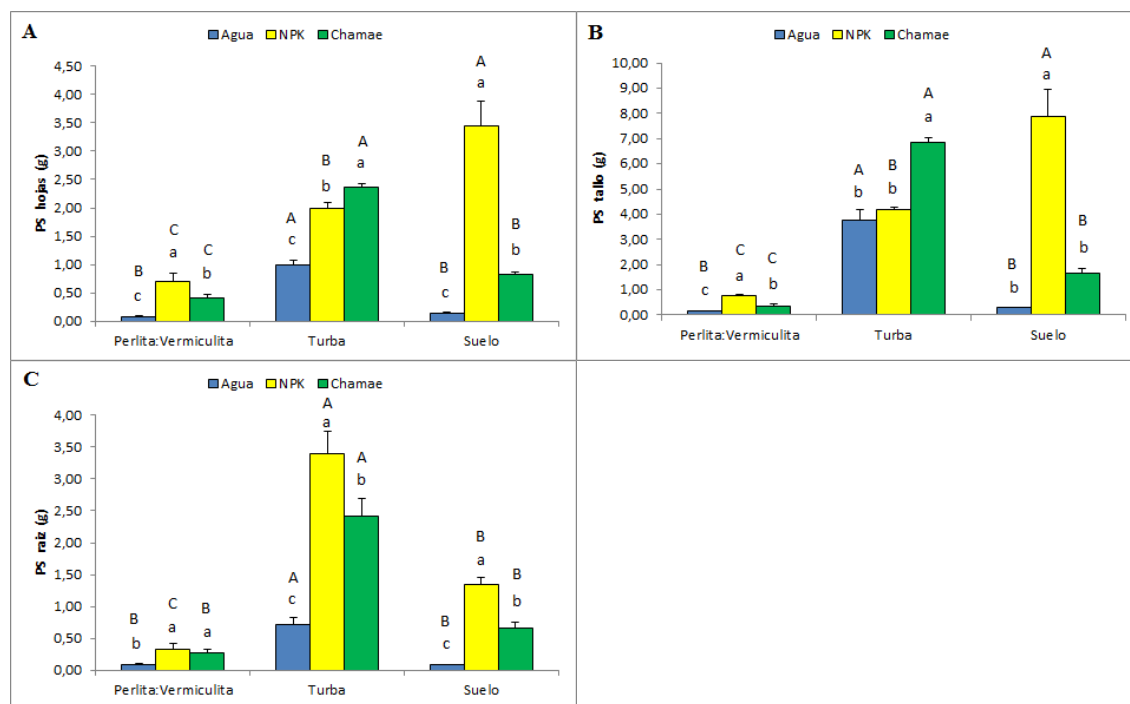
El número de hojas por planta es prácticamente el mismo en las crecidas en NPK y en las crecidas en Chamae cuando el sustrato es PV o T, con la diferencia de que en PV no desarrollan más de 9 hojas mientras que en T las hojas son 14. Sin embargo en S, las plantas crecidas con NPK desarrollan 15 hojas mientras que las crecidas con Chamae no pasan de 12, número que es significativamente mayor al de las 6 hojas de las plantas crecidas solo con agua.



**Figura 2.** Comparación de (A) altura (cm), (B) diámetro (mm) y (C) número de hojas de las plantas de girasol (*Helianthus annuus*) cultivadas en tres sustratos diferentes (perlita:vermiculita, turba y suelo) y sometidas a tres fertilizaciones diferentes: Agua, Flower (NPK) y Chamae. Letras distintas indican diferencias significativas (Duncan,  $p \leq 0,05$ ) entre fertilizaciones para cada sustrato (minúsculas) y entre sustratos para un mismo tratamiento de fertilización (mayúsculas).

Con respecto a la biomasa de cada una de las fracciones de la planta, el peso seco de las hojas crecidas con Chamae ha sido significativamente mayor que el de las crecidas con NPK cuando se utiliza T como sustrato (Fig. 3A), valores que han sido, a su vez, significativamente superiores a los de las plantas crecidas solo con agua. Estas diferencias son aún más marcadas en el caso del tallo (Fig. 3B), con valores al aplicar Chamae que casi doblan a los obtenidos al fertilizar con NPK. Sin embargo, cuando las plantas crecen en PV o en S, son las plantas que han recibido NPK las que desarrollan más biomasa que las crecidas con Chamae tanto en hojas como en tallo. La biomasa radical muestra también la existencia de diferencias significativas entre tratamientos (Fig.

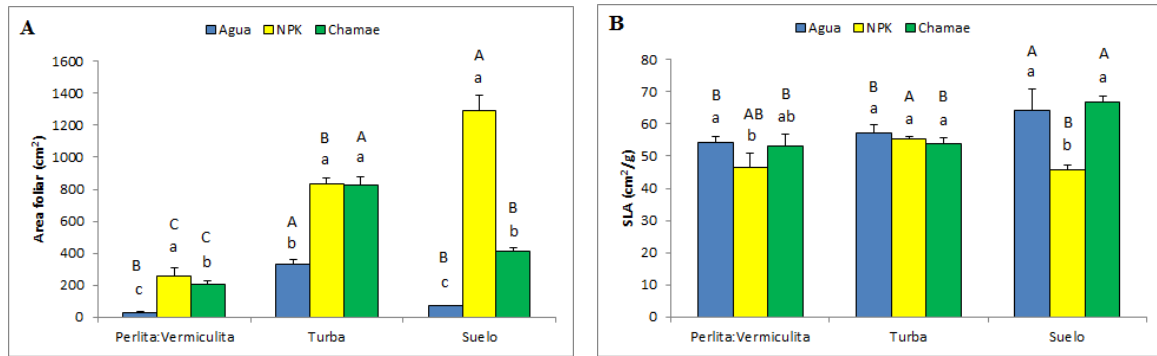
3C), siendo las plantas crecidas con NPK las que mayor peso radical han presentado, tanto en T como en S. Sin embargo, la inspección visual del cepellón en el alveolo indicaba la formación de un sistema radical más abundante y ramificado en los girasoles crecidos con Chamae respecto a los crecidos con NPK. Esta discordancia con respecto a los resultados observados en la gráfica pueden ser debidas a la dificultad para extraer y limpiar de sustrato el sistema radical de la forma más completa posible, produciéndose pérdidas de raíces que han podido alterar los resultados.



**Figura 3.** Comparación del peso seco (g) de (A) las hojas, (B) el tallo y (C) las raíces de las plantas de girasol (*Helianthus annuus*) cultivadas en tres sustratos diferentes (perlita:vermiculita, turba y suelo) y sometidas a tres fertilizaciones diferentes: Agua, Flower (NPK) y Chamae. Letras distintas indican diferencias significativas (Duncan,  $p \leq 0,05$ ) entre fertilizaciones para cada sustrato (minúsculas) y entre sustratos para un mismo tratamiento de fertilización (mayúsculas).

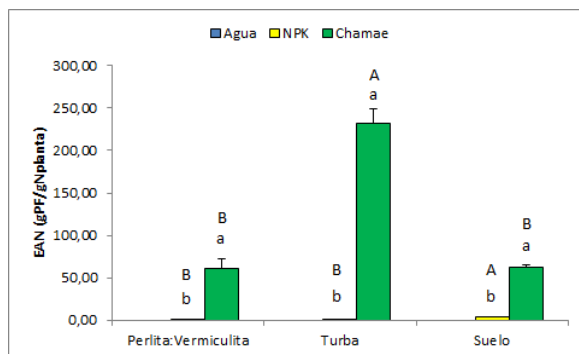
Los valores de área foliar por planta (Fig. 4A), parámetro que nos da idea de la superficie con capacidad fotosintética, indican, por un lado, que el riego solo con agua produce una grave limitación del crecimiento foliar y, por otro, que en PV y T, la aplicación de Chamae posibilita el desarrollo de una superficie foliar prácticamente idéntica a la que se produce cuando crece con NPK. Nuevamente, en el caso del crecimiento en S, se observa un desarrollo significativamente diferente ya que con Chamae el área foliar es 6 veces superior al control (agua), mientras que con NPK es 16 veces superior.

Por otra parte, el mencionado mayor peso de las hojas de las plantas crecidas en S y PV con NPK hace que el área específica foliar (SLA) sea significativamente más baja que la de las hojas de las plantas crecidas con Chamae (Fig. 4B). Sin embargo, cuando las plantas crecen en T, tanto el área como la biomasa media de las hojas es muy similar en ambos tratamientos, lo que hace que no haya diferencias a nivel de SLA.



**Figura 4.** Comparación de (A) el área foliar total (cm<sup>2</sup>) y (B) el área específica foliar (SLA, cm<sup>2</sup>/g) de las plantas de girasol (*Helianthus annuus*) cultivadas en tres sustratos diferentes (perlita:vermiculita, turba y suelo) y sometidas a tres fertilizaciones diferentes: Agua, Flower (NPK) y Chamae. Letras distintas indican diferencias significativas (Duncan,  $p \leq 0,05$ ) entre fertilizaciones para cada sustrato (minúsculas) y entre sustratos para un mismo tratamiento de fertilización (mayúsculas).

Finalmente, son especialmente destacables los resultados obtenidos con respecto a la eficiencia agronómica del nitrógeno (EAN), que como puede observarse en la Figura 5, es llamativamente mayor en los girasoles a los que se les ha aplicado Chamae, destacando especialmente el obtenido cuando crecen en T, en el que la aplicación de Chamae incrementa en 387 veces la EAN respecto a la obtenida al fertilizar con NPK.



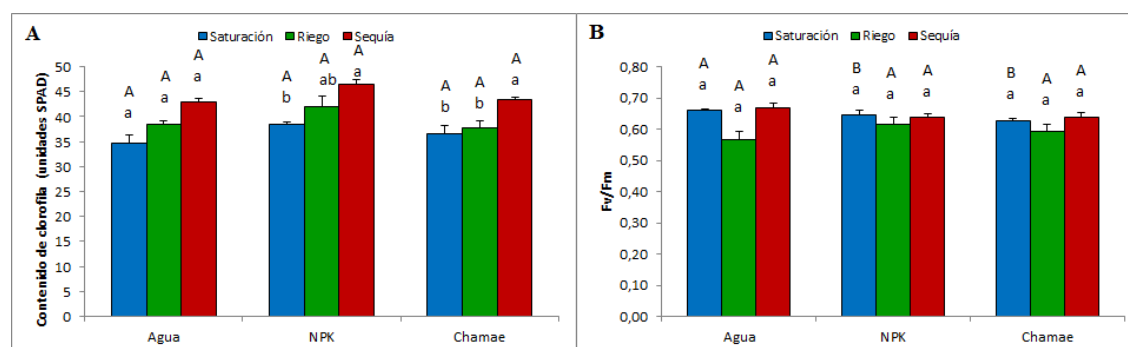
**Figura 5.** Comparación de la eficiencia agronómica del nitrógeno (EAN; g PF/ g N planta) del girasol (*Helianthus annuus*) cultivado en tres sustratos diferentes (perlita:vermiculita, turba y suelo) y sometido a tres fertilizaciones diferentes: Agua, Flower (NPK) y Chamae. Letras distintas indican diferencias significativas (Duncan,  $p \leq 0,05$ ) entre fertilizaciones para cada sustrato (minúsculas) y entre sustratos para un mismo tratamiento de fertilización (mayúsculas).

### Efecto de la fertilización en función de la disponibilidad hídrica de la planta:

Con respecto a la evaluación del efecto del tipo de fertilización aplicado en función de la disponibilidad hídrica del sustrato, se han encontrado diferencias significativas entre tratamientos tanto en los parámetros fisiológicos como en los parámetros biométricos analizados.

El higrómetro confirma que el contenido en agua de los sustratos, tanto en los girasoles crecidos con NPK como en los crecidos con Chamae, es significativamente diferente en función del tratamiento de riego aplicado (Tabla 3). Así, el mayor contenido de humedad se da en el riego a saturación, mientras que la menor disponibilidad hídrica se da en el tratamiento de déficit hídrico (sequía moderada), apareciendo en situación intermedia el contenido de los suelos regados a capacidad de campo.

El contenido en clorofilas de las hojas muestra que no existen diferencias en función del tratamiento de fertilización aplicado y que las diferencias encontradas se deben a la cantidad de agua disponible en el sustrato de turba (Fig. 6A). Cuando la planta crece en condiciones de déficit hídrico su contenido en clorofilas es significativamente mayor que el que acumula cuando el agua no es limitante para su crecimiento. A pesar de los efectos a nivel de contenido en clorofilas, la relación Fv/Fm no muestra la existencia de diferencias ni entre tratamientos de fertilización ni entre la diferente disponibilidad hídrica de los sustratos (Fig. 6B), manteniéndose la relación entre valores de 0,6 y 0,7.

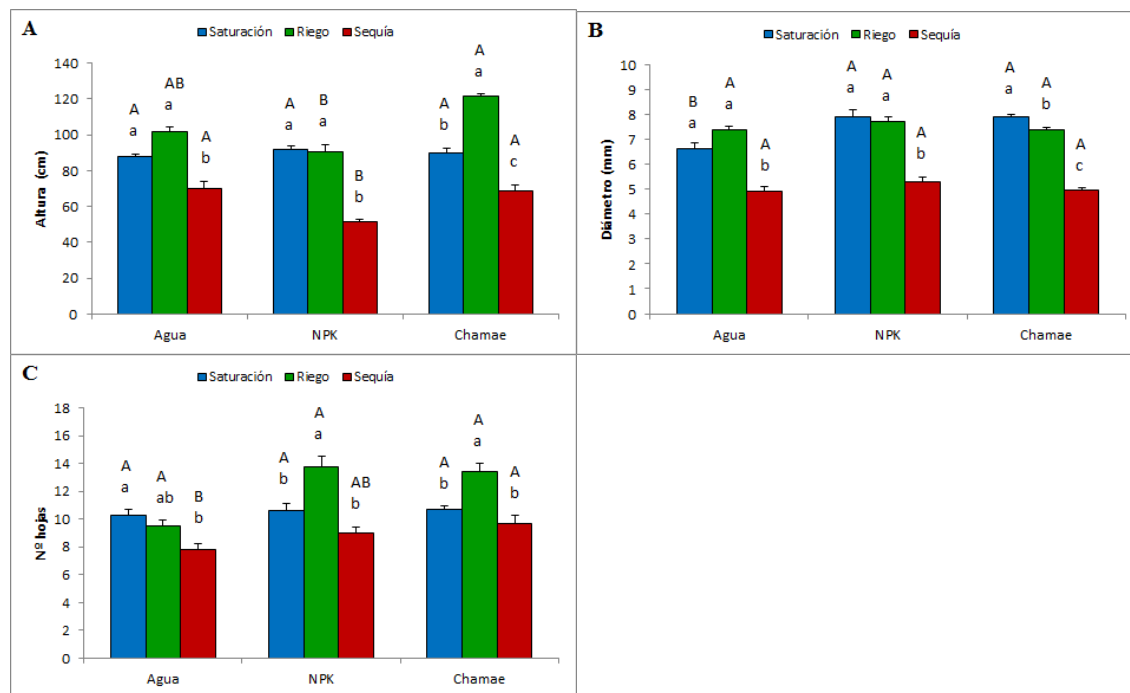


**Figura 6.** Comparación del (A) contenido de clorofila (unidades SPAD) y (B) la eficiencia fotoquímica (Fv/Fm) de las hojas de girasol (*Helianthus annuus*) cultivado en turba de *Sphagnum* bajo tres niveles de disponibilidad hídrica diferentes (saturación, riego a capacidad de campo y sequía moderada) y sometido a tres fertilizaciones diferentes: Agua, Flower (NPK) y Chamae. Letras distintas indican diferencias significativas (Duncan,  $p \leq 0,05$ ) entre el nivel de disponibilidad hídrica para cada tratamiento de fertilización (minúsculas) y entre tratamientos de fertilización para un mismo nivel de disponibilidad hídrica (mayúsculas).

Con respecto al crecimiento, destacar que no se observan diferencias significativas en la altura de las plantas crecidas a saturación en función del tipo de fertilización aplicado (Fig. 7A). Sin embargo, sí que hay diferencias cuando las plantas crecen a capacidad de campo o en condiciones de déficit hídrico. Son las plantas crecidas con Chamae las que más crecen en altura cuando no hay problemas de abastecimiento de agua y de oxígeno en las raíces y, son también las plantas crecidas con Chamae, junto con las crecidas solo con agua, las que son significativamente más altas que las crecidas con NPK bajo condiciones limitantes de agua. A nivel de diámetro, lo más destacable es la reducción del diámetro a nivel de cuello de raíz cuando las plantas crecen en



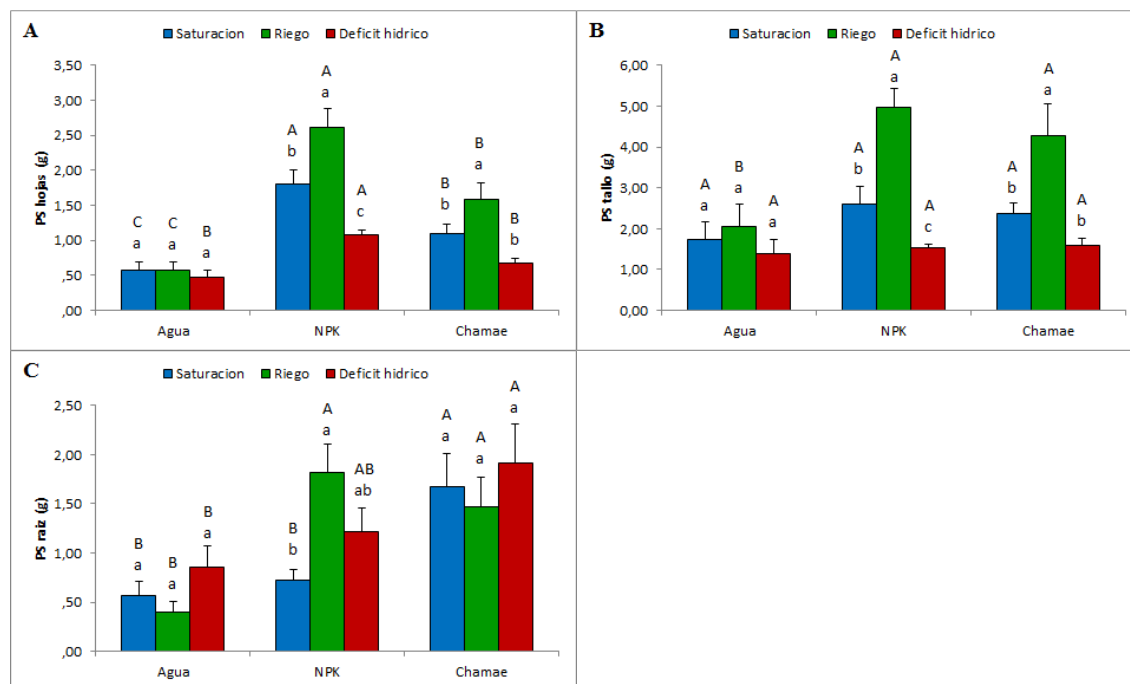
condiciones de déficit hídrico (Fig. 7B). La disponibilidad hídrica limitante también afecta negativamente al número de hojas por planta (Fig. 7C), manteniéndose en 8 el número de hojas en las plantas regadas solo con agua y en 9 en las regadas con NPK y con Chamae; valores que contrastan con las 14 hojas desarrolladas por las plantas crecidas con riego a capacidad de campo y fertilizadas tanto con NPK como con Chamae. La saturación del sustrato también afecta negativamente al crecimiento de las plantas ya que en esas condiciones el número de hojas por planta se limita a 10.



**Figura 7.** Comparación de (A) altura (cm), (B) diámetro (mm) y (C) número de hojas de las plantas de girasol (*Helianthus annuus*) cultivadas en turba de *Sphagnum* bajo tres niveles de disponibilidad hídrica diferentes (saturación, riego a capacidad de campo y sequía moderada) y sometido a tres fertilizaciones diferentes: Agua, Flower (NPK) y Chamae. Letras distintas indican diferencias significativas (Duncan,  $p \leq 0,05$ ) entre el nivel de disponibilidad hídrica para cada tratamiento de fertilización (minúsculas) y entre tratamientos de fertilización para un mismo nivel de disponibilidad hídrica (mayúsculas).

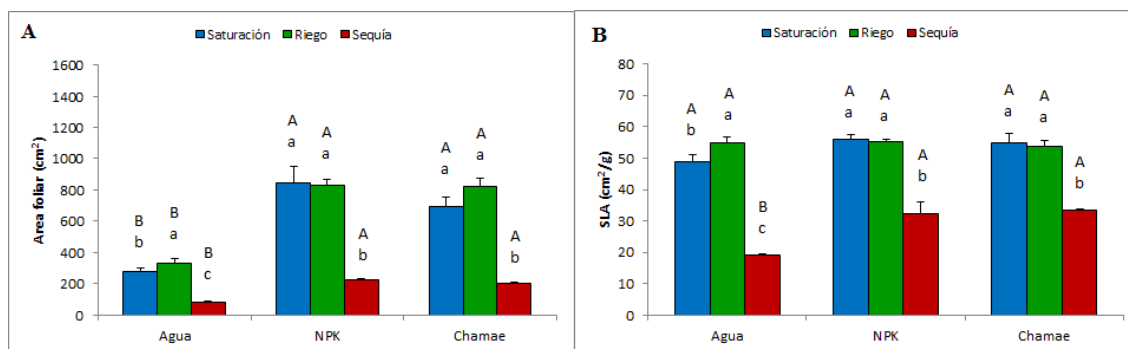
Con respecto a la biomasa de cada una de las fracciones de la planta, el peso seco de las hojas y el tallo que han crecido a capacidad de campo ha sido mayor al de las crecidas a saturación y déficit hídrico, cuando se utiliza NPK o Chamae como fertilizante (Fig. 8A). Estas diferencias son aún más marcadas para el tallo (Fig. 8B). Sin embargo, no existen diferencias significativas cuando crecen solo con agua. Asimismo, en todos los tratamientos de riego, el peso seco de las hojas de las plantas tratadas con NPK es significativamente superior al de las tratadas con Chamae, el cual es superior a las tratadas solo con agua. Sin embargo, para el peso seco del tallo, solo existen diferencias significativas entre las tratadas con NPK y Chamae respecto a las regadas solo con agua a capacidad de campo. La biomasa radical solo muestra diferencias significativas entre la diferente disponibilidad hídrica en aquellas plantas tratadas con NPK, donde es superior a capacidad de campo respecto a saturación (Fig. 8C). Además, las plantas tratadas con NPK y Chamae presentan un mayor peso seco radical respecto a las tratadas con agua, existiendo diferencias significativas entre ambos tipos de fertilización solo en

aquellas plantas sometidas a saturación, donde el peso seco radical es superior en las plantas tratadas con Chamae.



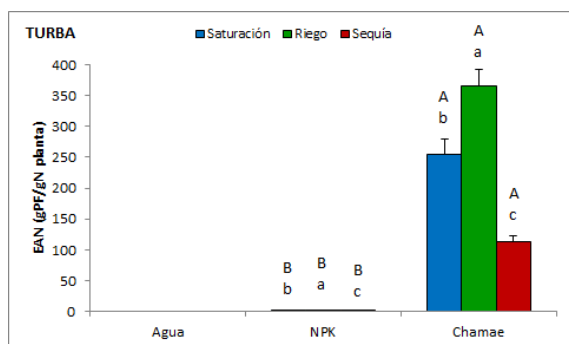
**Figura 8.** Comparación del peso seco (g) de (A) las hojas, (B) el tallo y (C) las raíces de las plantas de girasol (*Helianthus annuus*) cultivadas en turba de *Sphagnum* bajo tres niveles de disponibilidad hídrica diferentes (saturación, riego a capacidad de campo y sequía moderada) y sometido a tres fertilizaciones diferentes: Agua, Flower (NPK) y Chamae. Letras distintas indican diferencias significativas (Duncan,  $p \leq 0,05$ ) entre el nivel de disponibilidad hídrica para cada tratamiento de fertilización (minúsculas) y entre tratamientos de fertilización para un mismo nivel de disponibilidad hídrica (mayúsculas).

Al igual que ocurre con la biomasa, el área foliar total por planta se ve negativamente afectada por la falta de agua durante el cultivo en los tres tratamientos de fertilización aplicados (Fig. 9A). Además, regar solo con agua condiciona el crecimiento foliar, reduciendo su área con respecto a las plantas fertilizadas con NPK o con Chamae, bajo todas las condiciones hídricas establecidas. Es de destacar que, cuando las plantas crecen con Chamae, desarrollan la misma área foliar que cuando crecen con NPK, sea cual sea la disponibilidad hídrica del sustrato. Las mencionadas diferencias se ven también reflejadas a nivel de área específica foliar (Fig. 9B), destacando el marcado descenso cuando el agua en el sustrato es limitante y la ausencia de diferencias entre la fertilización con NPK y con Chamae.



**Figura 9.** Comparación del A) área foliar (cm<sup>2</sup>) total y B) el área específica foliar (SLA, cm<sup>2</sup>/g) de las plantas de girasol (*Helianthus annuus*) cultivadas en turba de *Sphagnum* bajo tres niveles de disponibilidad hídrica diferentes (saturación, riego a capacidad de campo y sequía moderada) y sometido a tres fertilizaciones diferentes: Agua, Flower (NPK) y Chamae. Letras distintas indican diferencias significativas (Duncan  $p \leq 0,05$ ) entre el nivel de disponibilidad hídrica para cada tratamiento de fertilización (minúsculas) y entre tratamientos de fertilización para un mismo nivel de disponibilidad hídrica (mayúsculas).

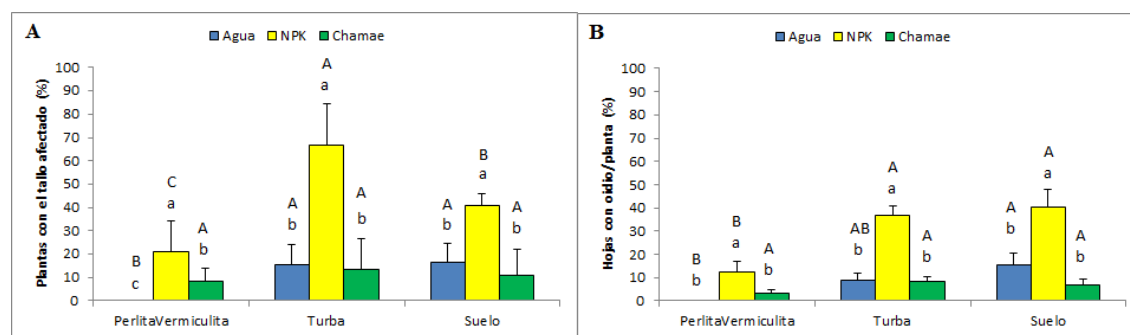
Al igual que en el ensayo anterior, son especialmente destacables los resultados obtenidos con respecto a la EAN, habiéndose encontrado diferencias significativas en función del tipo de riego aplicado, siendo a capacidad de campo el tratamiento que muestra los valores más altos y el de déficit hídrico el que muestra los más bajos (Fig. 10). Además, cuando las plantas crecen con Chamae su EAN es 373, 217 y 978 veces superior a las crecidas con NPK en condiciones de saturación, riego a capacidad de campo y déficit hídrico, respectivamente.



**Figura 10.** Comparación de la eficiencia agronómica del nitrógeno (EAN; g PF/ g N planta) del girasol (*Helianthus annuus*) cultivado en turba de *Sphagnum* bajo tres niveles de disponibilidad hídrica diferentes (saturación, riego a capacidad de campo y sequía moderada) y sometido a tres fertilizaciones diferentes: Agua, Flower (NPK) y Chamae. Letras distintas indican diferencias significativas (Duncan,  $p \leq 0,05$ ) entre el nivel de disponibilidad hídrica para cada tratamiento de fertilización (minúsculas) y entre tratamientos de fertilización para un mismo nivel de disponibilidad hídrica (mayúsculas).

### Efecto de la fertilización en el estado sanitario de las plantas durante su cultivo:

Finalmente, la evaluación del aspecto sanitario de las plantas en relación al ataque por oídio muestra que únicamente en el caso de las plantas crecidas en PV y regadas solo con agua no se observa afección por este hongo tanto en tallo (Fig. 11A) como en hojas (Fig. 11B). Tanto en los girasoles crecidos con NPK como en los crecidos con Chamae se desarrolla oídio ya sea en los tallos como en las hojas (Fig. 11A,B), siendo el grado de afección significativamente mayor en las fertilizadas con NPK. Tanto en las crecidas en turba como en las crecidas en suelo se desarrolla oídio en los tallos, pero mientras que en las regadas con agua o con Chamae el porcentaje de plantas afectadas no alcanza el 20%, en las regadas con NPK alcanza el 40% en las crecidas en suelo y el 60% en las crecidas en turba (Fig. 11A). De un modo similar, el porcentaje de hojas afectadas por oídio no supera el 10% en las plantas crecidas con Chamae, mientras que ronda el 40% en las crecidas con NPK, tanto en turba como en suelo. En el caso de los girasoles crecidos en perlita:vermiculita, aunque el nivel de infección es más bajo, siguen manteniéndose las diferencias respecto al fertilizante, con valores del 2% para Chamae frente al 12% de las fertilizadas con NPK (Fig. 11B).



**Figura 11.** Grado de afectación de las plantas en base al (A) porcentaje de plantas con el tallo afectado por oídio y (B) el porcentaje de hojas por planta colonizadas por el oídio.

### Discusión

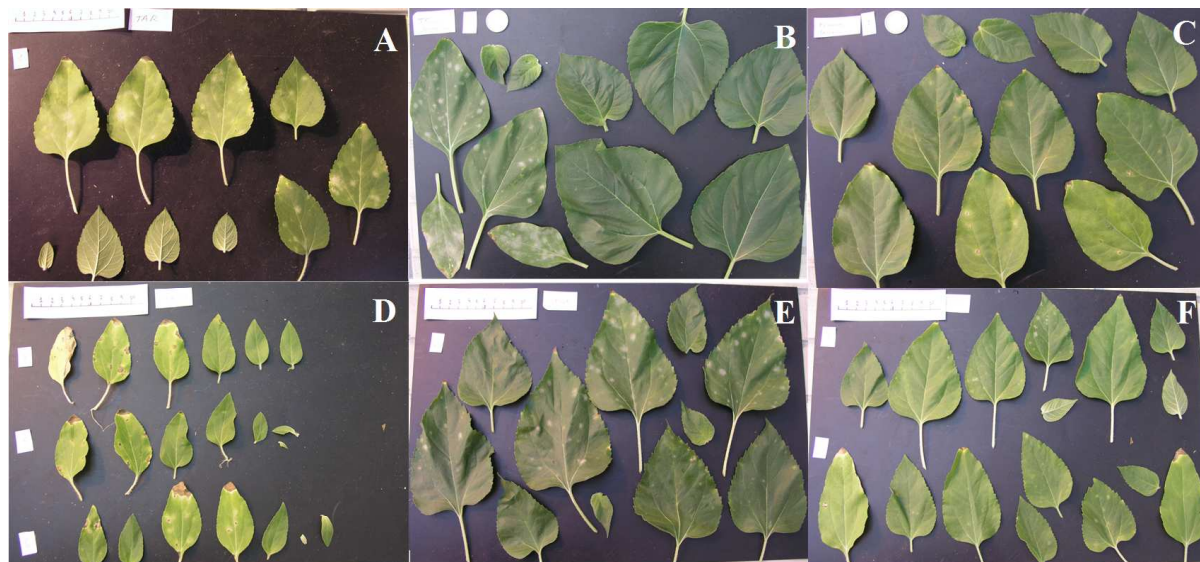
Al comparar el crecimiento de las plantas de girasol en diferentes sustratos a los que, junto con el riego, se les ha aplicado dos tipos de fertilizante (químico y natural) o solo se les ha regado con agua, se ha observado que todos los parámetros de crecimiento estudiados se incrementaban con los tratamientos de fertilización. Este resultado era el esperado puesto que, aunque en los suelos fértiles la planta puede obtener los requerimientos nutritivos esenciales en cantidad suficiente, en suelos pobres, en sustratos artificiales o cuando crecen en contenedor, solo obtiene pequeñas cantidades directamente del sustrato y no puede crecer y desarrollarse bien si dichos requerimientos no son aportados con regularidad. Esto ha sido demostrado por los ensayos llevados a cabo en muchos países en los que, comparando aplicación y no aplicación de fertilizantes, se ha demostrado que cuando no se aplican nutrientes, la fertilidad del suelo disminuye y, como consecuencia, también su capacidad para proporcionar buen crecimiento a las plantas (García-Serrano *et al.*, 2010). Asimismo, se ha observado que una disponibilidad hídrica reducida en el sustrato afecta negativamente al desarrollo de las plantas, y de un modo muy similar en ambos tipos de fertilización. La reducción del crecimiento de las plantas es un efecto

ampliamente descrito del estrés por déficit hídrico (Taiz y Zieger, 2006) En este estudio, el déficit hídrico impuesto a las plantas se puede considerar moderado, ya que limita su crecimiento, pero los parámetros de fluorescencia de la clorofila y el contenido en clorofila de las hojas indican que no existe daño de la maquinaria fotosintética, y sugieren que la disminución del crecimiento puede estar directamente relacionada con la pérdida de turgencia de los tejidos, e indirectamente vía población microbiana de su rizosfera que también se puede ver alterada por la falta de agua.

Lo novedoso de este trabajo es que se ha comprobado que, cuando la planta crece en turba, la aplicación del fertilizante natural *Chamae* produce un crecimiento mayor que el de las plantas cultivadas con el fertilizante químico, destacando especialmente el elevado peso seco del tallo y la mayor biomasa foliar. En cuanto a la parte radicular son las plantas crecidas con el fertilizante químico las que presentan un mayor peso seco, sin embargo, estos datos no son fiables debido al error cometido al procesarlas debido a la dificultad para extraer el sistema radical y dejarlo libre de sustrato sin pérdida parcial de raíces.

El fertilizante natural *Chamae*, al igual que otros insumos de este tipo, muchos de los cuales son considerados genéricamente como bioestimulantes, influye positivamente en el crecimiento de las plantas, aunque no es posible determinar el modo en el que lo hace. Se trata de un extracto obtenido a partir de materias primas orgánicas que es metabólicamente activo. Se considera que la mejora de los parámetros de crecimiento puede atribuirse, en parte, a la presencia de hormonas de crecimiento (Gomaa 1995), aunque los componentes más comunes de este tipo de extractos son elementos minerales, vitaminas, aminoácidos, ácidos orgánicos, quitina, quitosano, y poli- y oligosacáridos (Berlyn y Russo, 1990; Kauffman *et al.* 2007). En el caso de la quitina y el quitosano, cabe destacar que son dos biopolímeros con propiedades antimicrobianas (Lárez-Velásquez, 2008), cuya capacidad para inducir los mecanismos de defensa se ha comprobado en algunas especies como el trigo (Pearce y Ride, 1982) o la soja (Khan *et al.*, 2003). Entre las sustancias cuya inducción se ve favorecida por estos compuestos están las fitoalexinas, proteínas relacionadas con la patogénesis, inhibidores proteicos y ligninas (Lárez-Velásquez, 2008). Algunos de estos efectos se han observado principalmente en ensayos llevados a cabo con bioestimulantes elaborados a partir de algas y frente a patógenos como *Botrytis cinerea* Pers.:Fr. y *Plasmopara viticola* Berk. & Curt (Aziz *et al.* 2003; Stadnik y Freitas, 2014). Sean estos compuestos u otros, lo evidente es que la aplicación periódica de *Chamae* posibilita una producción de girasol con una baja incidencia de oídio. Este hongo oportunista se caracteriza, en el caso de las hojas, por el aspecto de polvillo blanquecino ceniciento, formado por los conidióforos y las conidias, que cubre parcialmente la superficie del haz y, en el caso del tallo, por formar manchas difusas con tonalidades achocolatadas y, posteriormente pardo-negruzcas. En las condiciones de elevada humedad y temperatura ambiental del invernadero se propaga con mucha facilidad, convirtiéndose en una plaga difícil de combatir si no se aplican pesticidas. En el caso de los girasoles cultivados con el fertilizante químico, tanto en turba como en suelo, casi el 50% de las plantas presentaban en el tallo abundantes manchas indicadoras de presencia de oídio. El porcentaje de afectación era mayor en hoja, alcanzando valores del 70% de hojas afectadas en las plantas crecidas en turba y además, con gran parte de la superficie foliar colonizada por el hongo. Por el contrario, menos de un 10% de los girasoles cultivados con *Chamae*, tanto en turba como en suelo, presentaban los tallos afectados por oídio y menos de un 40% de las hojas por planta estaba afectada por oídio. Además, lo más destacado en este caso es

que las manchas blanquecinas formadas por el oídio eran, a simple vista, de menor tamaño y más dispersas (Fig. 12) que las encontradas en los girasoles cultivados con el fertilizante químico (datos no mostrados). Estos resultados concuerdan con trabajos previos realizados con otros pato-sistemas donde se concluye que la fertilización nitrogenada reduce la resistencia de las plantas frente al ataque de diferentes patógenos (insectos, hongos) (Blodgett *et al.*, 2005; Herms, 2002; Kyto *et al.*, 1996)



**Figura 12.** Hojas de girasol afectadas por oídio. Arriba las cultivadas en turba regadas solo con agua (A), con Flower (B) y Chamae (C) y abajo las cultivadas en suelo regadas solo con agua (D), con Flower (E) y Chamae (F).

En definitiva, los resultados obtenidos con la aplicación del fertilizante natural Chamae resultan muy prometedores ya que al mismo tiempo que se estimula el crecimiento vegetal, se observa una mayor tolerancia de la planta al ataque de un organismo patógeno, aunque el mecanismo por el que se consigue este por determinar. Lo cierto es que en la composición de este tipo de extractos vegetales hay una parte totalmente desconocida. La amplia gama de moléculas contenidas en la solución hace que sea muy difícil saber cuáles son los compuestos más activos o estimulantes, efecto que a menudo es el resultado de la combinación y la acción sinérgica de diferentes compuestos (Bulgari *et al.*, 2015). Es por ello que los mecanismos activados son difíciles de identificar y se encuentran aún bajo investigación. Es probable que, al igual que muchos bioestimulantes, actúe directamente sobre la fisiología de las plantas y el metabolismo, o indirectamente mediante la mejora de las condiciones físicas y biológicas del suelo (Nardi *et al.* 2009), o incluso por ambas vías. Como sugieren Agamy y cols. (2012), la aplicación al sustrato del fertilizante natural puede favorecer el desarrollo de unas condiciones favorables para la actividad microbiana, y en especial la bacteriana, que juega un papel clave en la movilización de nutrientes, incrementando la disponibilidad de macro y micronutrientes para la planta.

Por otra parte, otro de los resultados más destacados es que cuando el sustrato de cultivo es suelo en lugar de turba, las plantas con mejor desarrollo son las crecidas con el fertilizante químico, para todos los parámetros biométricos determinados. Sin embargo, los parámetros fisiológicos analizados nos indican que las diferencias en crecimiento entre tratamientos de fertilización no parecen estar relacionadas con el funcionamiento del aparato fotosintético. El estudio de la fluorescencia de la clorofila, medida como relación

Fv/Fm, es un parámetro que indica la eficiencia en la luz absorbida por la antena del fotosistema II (PSII) y que es convertida en energía química (rendimiento cuántico máximo del PSII), y es uno de los parámetros de fluorescencia más ampliamente usados para estimar *in vivo* posibles alteraciones en el PSII ya que los cambios estacionales en esta relación reflejan el grado de estrés de la planta (Larcher, 2003). Por su parte, los valores del índice de clorofila medidos con el SPAD, dan idea de la cantidad de clorofila presente y, en consecuencia, del grado de verdor de las hojas (Baker y Rosenqvist, 2004). Mientras más alto es el valor determinado, más verde oscura es la tonalidad presentada por las hojas. A medida que se producen procesos conducentes a la degradación de los pigmentos, como por ejemplo deficiencias nutricionales o estrés hídrico, tanto por déficit como por exceso, los valores tienden a disminuir (Castro *et al.*, 2011). La mayoría del N de las hojas está contenido en las moléculas de clorofila (Peterson *et al.*, 1993) por lo que el contenido de clorofila en la hoja esta estrecha y positivamente relacionado con la concentración de N y, por lo tanto, refleja la condición nitrogenada de la planta (Wolfe *et al.*, 1988) y da idea de la capacidad fotosintética de las hojas.

En ninguno de los dos ensayos realizados se encontraron diferencias destacables entre tratamientos en estos parámetros, por lo que se puede asegurar que no se producen diferencias a nivel de eficiencia fotosintética del PSII ni del contenido en clorofilas de las hojas que indiquen problemas de deficiencia en nutrientes o daño del aparato fotosintético. Por lo tanto, la diferencia observada con respecto a los resultados obtenidos con la turba parece estar relacionada con la diferente retención de agua en función del tipo de sustrato. En este mismo sentido apuntan los resultados obtenidos en el ensayo de evaluación del efecto del tipo de fertilizante en función de la disponibilidad hídrica. En el mencionado ensayo se ha visto que las condiciones de crecimiento a saturación no afectan negativamente al crecimiento de las plantas cuando crecen con Chamae, pero en este caso el sustrato ha sido turba de *Sphagnum* y no suelo. En el suelo utilizado para los ensayos, de estructura bastante arcillosa, se ha podido constatar, a simple vista, que la retención de agua ha sido mucho mayor que en la turba de *Sphagnum*, que se caracteriza por ser un sustrato muy aireado. Esto supone una menor oxigenación de las raíces crecidas en el suelo y, además, en su rizosfera puede producirse una estimulación del metabolismo microbiano anaerobio tras la aplicación de Chamae que limite el normal funcionamiento y crecimiento de las raíces y, en consecuencia el de la parte aérea de la planta. Estos resultados nos están indicando que las condiciones edáficas juegan un importante papel fundamental tanto en el crecimiento de la planta como en la composición y actividad de las poblaciones microbianas de la rizosfera, y establecen la necesidad de llevar a cabo estudios más específicos y profundos en relación al efecto que algunos parámetros edáficos de interés, como pueden ser la textura, la composición del sustrato, la porosidad o el pH, tienen en la modulación del efecto que el fertilizante natural Chamae produce en el crecimiento de la planta.

Finalmente, mencionar que son especialmente destacables los resultados obtenidos en relación a la Eficiencia Agronómica del Nitrógeno (EAN) en las plantas crecidas con Chamae, en todos los tipos de sustrato y a cualquier grado de disponibilidad hídrica, aunque cuando los girasoles crecen en turba, la diferencia con respecto a las crecidas con el fertilizante químico es mucho mayor. La EAN es un parámetro que relaciona desarrollo vegetativo con la aplicación de N, y pone de manifiesto claramente que con Chamae se obtienen desarrollos vegetativos similares a los de una fertilización química pero con una **baja aplicación de N**. Este aspecto tiene gran importancia en lo que a términos ecológicos y de sostenibilidad se refiere, ya que con Chamae

los aportes de N al suelo disminuyen drásticamente, reduciendo: 1) la emisión de gases de efecto invernadero y 2) la lixiviación de N al medio acuático; contribuyendo así a **mitigar el cambio climático** y, a **reducir la eutrofización y contaminación de las aguas superficiales y subterráneas (acuíferos)**.

El suelo no es un mero soporte mecánico de la planta sino que es un sistema complejo con propiedades físicas, químicas y biológicas que son de capital importancia para el logro de un desarrollo óptimo de las plantas. Un uso inadecuado o abusivo de abonos químicos, además de causar problemas medioambientales, conduce a un agotamiento acelerado de la materia orgánica y a un desbalance de nutrientes, que con el paso del tiempo lleva a la pérdida de la fertilidad y la capacidad productiva del suelo (García y Monge-Najera, 1995). Los abonos de tipo orgánico, por el contrario, mejoran las condiciones físico-químicas y biológicas del suelo, lo que ayuda al desarrollo y crecimiento de las plantas (Muñoz, 1994). Como se ha podido comprobar, la aplicación del fertilizante natural *Chamae* puede dar muy buenos resultados a nivel de crecimiento vegetal, pero lo que es aún más importante, lo hace con mayores niveles de sostenibilidad. Por un lado, se basa en el reciclado y la valorización de los residuos vegetales, lo que constituye una manera eficaz de evitar la degradación y contaminación del medio; por otro, aprovecha los recursos naturales y los aplica para satisfacer los requerimientos nutricionales de las plantas de girasol, permitiendo un modelo de producción más sostenible y medioambientalmente amigable, incrementando al mismo tiempo su tolerancia al estrés biótico y haciendo que responda mejor al ataque de los patógenos.

## Conclusiones

- La fertilización natural resulta tan efectiva como una fertilización química convencional en términos de crecimiento en las plantas de girasol (*Helianthus annuus*) en un sustrato tipo turba.
- Las reducidas aportaciones de N realizadas vía fertilizante natural, no afectan negativamente a la fisiología de las plantas, en términos de contenido en clorofilas y funcionamiento del aparato fotosintético.
- Los resultados obtenidos con *Chamae* en los diferentes sustratos indican que las condiciones edáficas tienen una gran importancia en el efecto que éste produce sobre el crecimiento de esta planta, por lo que serían necesarios estudios más exhaustivos sobre los parámetros edáficos del suelo.
- La Eficiencia Agronómica del Nitrógeno es muy superior en las plantas crecidas con *Chamae* en cualquier tipo de sustrato y bajo cualquier régimen hídrico, lo que permite una mayor sostenibilidad de la producción, sin mermarla. Su utilización reduce el uso de fertilizantes químicos y, en consecuencia la contaminación medioambiental, al mismo tiempo que ofrece el valor añadido de la revalorización de los residuos vegetales.
- *Chamae* proporciona a la planta una mayor protección frente estreses bióticos (oídio).



## Bibliografía

- Addiscott TM, Whitmore AP, Powlson DS. 1991. Farming, fertilizers and the nitrate problema. CAB International. Wallingford, United Kingdom, pp 304.
- Agamy RA, Mohamed GG and Rady MM. 2012. Influence of the application of fertilizer type on growth, yield, anatomical structure and some chemical components of wheat (*Triticum aestivum* L.) growth in newly reclaimed soil. Aust. J. Basic & Appl. Sci., 6: 561- 570
- Anderson V.L. and McLean R.A. 1974. Design of Experiments. Marcel Dekker Inc., New York
- Aziz A, Poinssot B, Daire X, Adrian M, Bézier A, Lambert B, Joubert JM and Pugin A. 2003. Lamoinarin elicits defense responses in grapevine and induces protection against *Botrytis cinerea* and *Plasmopora viticola*. Mol. Plant Microb. Interact. 16: 1118-1128.
- Baker NR and Rosenqvist E. 2004. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. Journal Experimental Botany, 55: 1607-1621.
- Berlyn GP and Russo RO. 1990. The use of organic biostimulants to promote root growth. Belowground Ecol. 2:12.
- Blodgett JT, Herms DA and Bonello P. 2005. Effects of fertilization on red pine defense chemistry and resistance to *Sphaeropsis sapinea*. For. Ecol. Manage., 208: 373-382.
- Bulgari R, Cocetta G, Trivellini A, Vernieri P and Ferrante A. 2015. Biostimulants and crop responses: a review, Biological Agriculture & Horticulture: An International Journal for Sustainable Production Systems, 31:1, 1-17, DOI: 10.1080/01448765.2014.964649
- Castro F, Campostrini E, Torres-Netto A and Hespanhol L. 2011. Relationship between photochemical efficiency (JIP-Test parameters) and portable chlorophyll meter reading in papaya plants. Braz. J. Plant Physiol, 23: 295-304.
- COAG (Coordinadora de Organizaciones de Agricultores y Ganaderos) 2009. Anuario Agrario 2009. Planta ornamental y flor cortada. URL:[http://www.coag.org/rep\\_ficheros:web/df6a16f7eeb7ad8fdd3731f080c7d398.pdf](http://www.coag.org/rep_ficheros:web/df6a16f7eeb7ad8fdd3731f080c7d398.pdf) (09/04/10).
- De Jesús Mendoza N. 2010. Vermicompost y compost de residuos hortícolas como componentes de sustratos para la producción de planta ornamental y aromática. caracterización de los materiales y respuesta vegetal. Tesis Doctoral, Universidad de Valencia.
- Fuertes de Mendizábal T. 2008. Fisiología del cultivo de trigo y calidad del grano bajo diferentes regímenes de fertilización nitrogenada. Tesis Doctoral. Universidad del País Vasco/EHU.

- García Camus JM, García Laborda JA. 2006. Biocarburantes líquidos: biodiesel y bioetanol. Informe de vigilancia tecnológica. Colección "vt", CITME, Consejería de Educación de la Comunidad de Madrid. [www.madrimasd.org](http://www.madrimasd.org).
- García C and Monge-Najera N. 1995. Agricultura orgánica. EUNED. Costa Rica. 457 p.
- García-Serrano P and Ruano S. 2010. Guía Práctica de la Fertilización Racional de los cultivos en España. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural Marino.
- Gomaa AMH. 1995. Response of certain vegetable crops to biofertilization. Ph.D. Thesis, Fac. Agric, Cairo, Univ.
- González-Murua C, González-Moro MB, Estavillo JM. 2004. Nitrógeno, agricultura y medio ambiente. En: Reigosa Roser MJ, Pedrol Bonjoch N, Sánchez Moreiras A (Eds.). La Ecofisiología Vegetal, una ciencia de síntesis. Thompson Paraninfo, Madrid. pp 49-58.
- Herms DA. 2002. Effects of fertilization on insect resistance of woody ornamental plants: reassessing and entrenched paradigm. *Environ. Entomol.*, 31: 923-933.
- Kauffman GL, Kneivel DP and Watschke TL. 2007. Effects of a biostimulant on the heat tolerance associated with photosynthetic capacity, membrane thermostability, and polyphenol production of perennial ryegrass. *Crop Sci.* 47:261-267.
- Khan W, Prithiviraj B and Smith D. 2003. Chitosan and chitin oligomers increase phenylalanine ammonia-lyase and tyrosine ammonia-lyase activities in soybean leaves. *Journal of Plant Physiology*, 160: 859-863.
- Kyto M, Niemela P. and Annala E. 1996. Vitality and bark beetle resistance of fertilized Norway spruce. *For. Ecol. Manage.*, 84: 149-157.
- Larcher W. 2003. *Physiological Plant Ecology. Ecophysiology and stress physiology of functional groups.* 4th Edition. Springer. pp. 513.
- Larez-Velásquez C. 2008. Algunas potencialidades de la quitina y el quitosano para usos relacionados con la agricultura en latinoamérica. *Revista UDO Agrícola*, 8: 1-22.
- Martínez FX. 2006. Gestión y tratamiento de residuos agrícolas. *Revista técnica de medio ambiente* 111: 62-75.
- Martínez-Viera R, Dibut B, Ríos Y. 2010. Efecto de la integración de aplicaciones agrícolas de biofertilizantes y fertilizantes minerales sobre las relaciones suelo-planta. *Cultivos Tropicales* 31: 27-31.
- Muñoz AR. 1994. Los abonos orgánicos y su uso en la agricultura. En: Silva, M.F. (ed.). Fertilidad de suelos, diagnóstico y control. Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo. Santa Fe de Bogotá. Colombia. pp. 293-304.

- Nardi S, Carletti P, Pizzeghello D and Muscolo A. 2009. Biological activities of humic substances. In: Senesi N, Xing B, Huang PM, editors. Biophysico-chemical processes involving natural nonliving organic matter in environmental systems. Vol 2. Hoboken, NJ: Wiley; p. 305–340.
- Pearce RB and Ride JP. 1982. Chitin and related compounds as elicitors of the lignification response in wounded wheat leaves. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 20: 119–123.
- Peterson TA, Blackmer TM, Francis DD and Schepers JS. 1993. Using a chlorophyll meter to improve N management. Nebguide G93-117-A. 4 p. Cooperative Extension Service, Institute of Agriculture and Natural Resources, University of Nebraska, Lincoln, USA.
- Stadnik MJ and Freitas MBD. 2014. Algal polysaccharides as source of plant resistance inducers. *Trop Plant Pathol.* 39: 111-118.
- Silva MN. 1997. *Cultura do Girassol*. FUNEP. Jaboticabal, 67p.
- Taiz L, Zeiger E. 2006. *Plant Physiology*. 5th Edition. Sinauer Associates.
- Urrestarazu M, Mazuela PC, Boukhalfa A, Arán A, Salas MC. 2005. Oxygen content and its diurnal variation in a new recirculating water soilless culture for horticultural crops. *HortScience* 40: 1726-1730
- Wolfe DW, Henderson DW, Hsiao TC y Alvino A. 1988. Interactive water and nitrogen effects on senescence of maize. II. Photosynthetic decline and longevity of individual leaves. *Agron. J.* 80: 865-870.
- Ziegler K, Nemeth K, Mengel K. 1992. Relationship between electroultrafiltration (EUF) extractable nitrogen, grain-yield, and optimum nitrogen-fertilizer rates for winter-wheat. *FertilizerResearch*, 32: 37-43