



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA

Universitat Politècnica de València

TESIS DOCTORAL:

**Caracterización de materiales de almendro
y mejora del desarrollo de planta joven**

AUTORA:

Alba Mondragón-Valero

DIRECTORA DE TESIS:

Isabel López-Cortés

Valencia, febrero 2022

Resumen

Uno de los mayores retos en los que incurre la producción agrícola hoy en día reside en alimentar de forma sostenible a una población creciente a la vez que concentra sus esfuerzos en hacerlo con el menor impacto ecológico posible.

El actual sistema agroalimentario no solo impacta negativamente desde la perspectiva de la emisión de gases invernadero, sino que también favorece otros ámbitos como la degradación de los productos naturales, la pérdida de la biodiversidad o los cambios en el uso del suelo. La evidencia de este proceso de deterioro a escala mundial requiere de la puesta en marcha de planes de acción basados tanto en la mitigación del cambio climático (mediante la reducción de los gases de efecto invernadero) como en la adaptación al mismo mediante buenas prácticas agrícolas que consigan reducir la vulnerabilidad de los cultivos.

Los objetivos de esta tesis se enmarcan en las vías de actuación definidas como prioritarias por la Asamblea General de las Naciones Unidas “Transformar nuestro mundo: la Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible”. Más concretamente, en la mejora de la sostenibilidad del cultivo del almendro (*Prunus dulcis* Miller) prestando especial atención a la respuesta del sistema radical y su capacidad para mejorar la adaptación del cultivo a los nuevos escenarios derivados del proceso de cambio climático.

En esta tesis se caracterizaron química y morfológicamente tres patrones de almendro. Se observaron diferencias significativas tanto en los sistemas radiculares como vegetativos de los mismos siendo el patrón GN el más vigoroso, el GF 677 el que presentó mayor número de raíces principales y el RP-R secundarias. Además, GN destacó por presentar mayor poder antioxidante y mayor contenido en fenoles, pudiendo estas propiedades influir en los mecanismos de defensa de la planta al inducir resistencia frente a determinados estreses.

Los patrones se sometieron a diferentes medios de cultivo mediante el uso de dos sustratos. Las plantas cultivadas bajo fibra de coco presentaron un aumento masivo de raíces absorbentes y un engrosamiento del tronco mientras que las plantas cultivadas en la mezcla de turba y arena presentaron mayor longitud del sistema radical.

Se estudió la respuesta de los patrones frente al aporte de bioestimulantes de raíz en vistas a contribuir a un manejo más racional y sostenible del cultivo. La fertilización mediante bioestimulantes tuvo un impacto significativo en el desarrollo de las plantas tanto a nivel aéreo como radicular y consiguió acortar los plazos de vivero, logrando plantas con mejor o más rápida capacidad de adaptación al campo. A grandes rasgos los mejores resultados se obtuvieron con el bioestimulante compuesto por materia orgánica, aminoácidos y extractos de algas.

Adicionalmente y en respuesta a los retos medioambientales actuales se analizaron las propiedades energéticas del almendro y el posible uso de sus residuos como fuente de energía renovable atendiendo a diferentes factores que podrían influir sus propiedades energéticas como son la variedad, el patrón o el tipo de fertilización. Observamos que las variables que más influyeron en el poder calorífico del material fueron la variedad, el patrón y la interacción entre ambos. Siendo el cultivar Marcona y el patrón GF 305 los que presentaron mejores propiedades energéticas.

Un dels majors reptes en els quals incorre la producció agrícola hui dia resideix a alimentar de manera sostenible a una població creixent alhora que concentra els seus esforços a fer-ho amb el menor impacte ecològic possible.

L'actual sistema agroalimentari no sols impacta negativament des de la perspectiva de l'emissió de gasos amb efecte d'hivernacle, sinó que també afavoreix altres àmbits com la degradació dels productes naturals, la pèrdua de la biodiversitat o els canvis en l'ús del sòl. L'evidència d'aquest procés de deterioració a escala mundial requereix de la posada en marxa de plans d'acció basats tant en la mitigació del canvi climàtic (mitjançant la reducció dels gasos d'efecte d'hivernacle) com en l'adaptació al mateix mitjançant bones pràctiques agrícoles que aconseguisquen reduir la vulnerabilitat dels cultius.

Els objectius d'aquesta tesi s'emmarquen en les vies d'actuació definides com a prioritàries per l'Assemblea General de les Nacions Unides "Transformar el nostre món: l'Agenda 2030 per al Desenvolupament Sostenible". Més concretament, en la millora de la sostenibilitat del cultiu de l'ametler (*Prunus dulcis* Miller) prestant especial atenció a la resposta del sistema radical i la seua capacitat per a millorar l'adaptació del cultiu als nous escenaris derivats del procés de canvi climàtic.

En aquesta tesi es van caracteritzar química i morfològicament tres patrons d'ametler. Es van observar diferències significatives tant en els sistemes radiculars com vegetatius dels mateixos sent el patró GN el més vigorós, el GF 677 el que va presentar major nombre d'arrels principals i el RP-R secundàries. A més, GN va destacar per presentar major poder antioxidant i major contingut en fenols, podent aquestes propietats influir en els mecanismes de defensa de la planta en induir resistència enfront de determinats estressos.

Els patrons es van sotmetre a diferents mitjans de cultiu mitjançant l'ús de dos substrats. Les plantes cultivades sota fibra de coco van presentar un augment massiu d'arrels absorbents i un engruïment del tronc mentre que les plantes cultivades en la mescla de torba i arena van presentar major longitud del sistema radical.

Es va estudiar la resposta dels patrons enfront de l'aportació de bioestimulants d'arrel en vistes a contribuir a un maneig més racional i sostenible del cultiu. La fertilització mitjançant bioestimulants va tindre un impacte significatiu en el desenvolupament de les plantes tant a nivell aeri com radicular i va aconseguir acurtar els terminis de viver, aconseguint plantes amb millor o més ràpida capacitat d'adaptació al camp. A grans trets els millors resultats es van obtenir amb el bioestimulant compost per matèria orgànica, aminoàcids i extractes d'algues.

Adicionalment i en resposta als reptes mediambientals actuals es van analitzar les propietats energètiques de l'ametler i el possible ús dels seus residus com a font d'energia renovable atenent a diferents factors que podrien influir en les seues propietats energètiques com són la varietat, el patró o el tipus de fertilització. Observem que les variables que més van influir en el poder calorífic del material van ser la varietat, el patró i la interacció entre tots dos. Sent el cultivar Marcona i el patró GF 305 els que van presentar millors propietats energètiques.

Resume

One of the greatest challenges that agricultural production is facing today lies in sustainably feeding a growing population while concentrating on doing so with the least possible ecological impact.

The current agri-food system not only has a negative impact from the perspective of greenhouse gas emissions, but also favors other areas such as the degradation of natural products, the loss of biodiversity or the changes in land use. The evidence of this process of deterioration on a global scale requires the implementation of action plans based on both climate change mitigation (by reducing greenhouse gases) and climate adaptation through good agricultural practices that manage to reduce the vulnerability of crops.

The objectives of this thesis are framed in the courses of action defined as priorities by the General Assembly of the United Nations "Transforming our world: the 2030 Agenda for Sustainable Development". More specifically, in improving the sustainability of almond (*Prunus dulcis* Miller) cultivation, paying special attention to the response of the root system and its ability to improve the adaptation of the crop to the new scenarios derived from the process of climate change.

In this thesis, three almond rootstocks were chemically and morphometrically characterized. Significant differences were observed both in their root and vegetative systems, with the GN rootstock being the most vigorous, the GF 677 the one with the highest number of main roots, and the RP-R the one showing more secondary roots. In addition, GN stood out for presenting greater antioxidant power and higher phenol content, these properties being able to influence the plant's defense mechanisms by inducing resistance to certain stresses.

The rootstocks were subjected to different culture media by using two substrates. The plants grown under coconut fiber showed a massive increase in absorbent roots and a thickening of the trunk, while the plants grown in the mixture of peat and sand showed greater length of the root system.

The response of rootstocks to the contribution of root biostimulants was studied to contribute to a more rational and sustainable management of the crop. Fertilization using biostimulants had a significant impact on the development of plants both at aerial and root levels and managed to shorten nursery periods, achieving plants with a better or faster capacity to adapt to the field. Broadly, the best results were obtained with the biostimulant composed of organic matter, amino acids and algae extracts.

Additionally, and in response to current environmental challenges, the energy properties of the almond tree and the possible use of its residues as a source of renewable energy were analyzed considering different factors that could influence its energy properties, such as the variety, rootstock, or type of fertilization. We observed that the variables that most influenced the calorific power of the material were the variety, the rootstock and the interaction between both. The Marcona variety and the GF 305 rootstock were the ones that presented the best energy properties.

ÍNDICE GENERAL

CAPÍTULO 1	1
Introducción.....	1
1.1 La intensificación sostenible, el nuevo reto de la agricultura.....	1
1.2 Situación actual del cultivo del almendro, retos y perspectivas de futuro.....	3
1.2.1 Importancia del cultivo a nivel mundial.....	3
1.2.2 Situación del cultivo en España.....	7
1.3 Descripción y características de la especie	9
1.3.1 Origen botánico	9
1.3.2 Características morfológicas y fisiológicas del almendro	10
1.3.2.1 Características morfológicas del árbol.....	10
1.3.2.2 Características fisiológicas	11
1.3.2.3 Caracteres pomológicos y cualitativos del fruto.....	13
1.4 Condiciones viverísticas de cultivo	15
1.4.1 Elección de patrones.....	15
1.4.2 Programas de fertilización en almendro.....	18
1.4.2.1 Sistema de fertilización en cultivos extensivos de almendro	19
1.4.2.2 Técnicas complementarias de fertilización: uso de bioestimulantes	23
1.5 Biomasa y aprovechamiento del material vegetal.....	28
1.6 Referencias.....	32
CAPÍTULO 2	49
Justificación y objetivos	49
CAPÍTULO 3	51
Physical mechanisms produced in the development of nursery almond trees (<i>Prunus dulcis</i> Miller) as a response to the plant adaptation to different substrates.....	53
3.1 Abstract.....	53
3.2 Introduction	54
3.3 Materials and Methods.....	55
3.3.1 Samples and treatments	55
3.3.2 Evaluated parameters.....	56
3.3.2.1 Analysis of the vegetative system.....	56
3.3.3 Statistical analysis	56
3.4 Results and discussion	57
3.4.1 Comparative study of the rootstocks.....	57

3.4.2 Characteristics of the vegetative system under different substrate cultivation	58
3.4.3 Characteristics of the radical system under different substrate cultivation	58
3.5 Conclusions	62
3.6 References	62
CAPÍTULO 4	67
Changes produced by the application of biostimulants on almond rootstocks properties during the nursery process	69
4.1 Abstract	69
4.2 Introduction	70
4.3 Materials and Methods.....	71
4.3.1 Vegetal material and growth conditions	71
4.3.2 Morphometrical characterization.....	73
4.3.3 Chemical characterization.....	73
4.3.3.1 Antioxidant activity	74
4.3.3.2 Different phenolic groups content.....	75
4.3.4 Statistical analysis	75
4.4 Results.....	75
4.4.1 Physical characteristics of the rootstock	75
4.4.2 Chemical characteristics of the rootstocks	78
4.4.2.1 Antioxidant activity	78
4.4.2.2 Determination of different phenolic groups.....	78
4.5 Contribution of biostimulants to plant development.....	79
4.6 Discussion.....	83
4.7 Conclusions	87
4.8 References	88
CAPÍTULO 5	93
Influence of Fertilization and Rootstocks in the Biomass Energy characterization of <i>Prunus dulcis</i> (Miller)	95
5.1 Abstract.....	95
5.2 Introduction	95
5.3 Materials and Methods.....	97
5.3.1 Field Study.....	97
5.3.2 Vegetal Material and Treatments.....	97
5.3.3 Laboratory Analysis.....	98
5.3.3.1 Proximate Analysis.....	98
5.3.3.2 Determination of Gross Calorific Value and Elemental Composition Analysis.....	98

5.4 Results and Discussion	98
5.4.1 The variety factor	100
5.4.2 The rootstock factor	101
5.4.3 The combination variety-rootstock factor	102
5.4.4 The treatment factor	103
5.5 Conclusions	104
5.6 References	105
CAPÍTULO 6	111
The development of the radicular and vegetative systems of almond trees with different rootstocks following the application of biostimulants	112
6.1 Abstract	112
6.2 Introduction	113
6.3 Materials and Methods	114
6.3.1 Samples and experimental design	114
6.3.2 Biostimulant treatments	115
6.3.3 Analisis of vegetative and root systems	117
6.3.4 Statistical analysis	117
6.4 Results and Discussion	118
6.5 References	128
CAPÍTULO 7	133
Discusión general	133
7.1 Discusión general	133
7.1.1 Caracterización físico química del cultivo de almendro	133
7.1.2 Incidencia del aporte de bioestimulantes en el cultivo	137
7.1.3 Propiedades biomásicas del material vegetal de almendro	140
7.2 Referencias	142
CAPÍTULO 8	152
Conclusiones	152

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

- Figura 1** Producciones medias de almendra con cáscara 2016-2017 (datos en toneladas)..... 3
- Figura 2** Producción mundial de almendra con cáscara 2013-2017 (datos en toneladas)..... 4
- Figura 3** Resumen de los datos productivos medios de diferentes ensayos IRTA de cultivares de almendro en diferentes dotaciones de riego. Equivalencia de producción de almendra en grano por hectárea (kg/ha de grano). Riego total en Mas de Bover (4.500 m³/ha y año; marco de plantación: 7m x 6m), riego total en Les Borges Blanques (7.500 m³/ha y año; marco de plantación: 7m x 6m), riego deficitario en Les Borges Blanques (2.500 m³/ha y año; marco de plantación: 6m x 6m), riego deficitario en Gandesa (2.000 m³/ha y año; marco de plantación: 6m x 5,5m) y secano en Mas de Bover (pluviometría de 450 mm y año; marco de plantación: 6m x 5m). Aplicación de agua de riego en función de la ETo de cada finca experimental 5
- Figura 4** Patrones más utilizados en España para el cultivo del almendro..... 16

CAPÍTULO 3

- Figure 1** Weight parameters of radicular system with different substrates (n = 24; mean value of both rootstocks for each substrate \pm standard deviation; P <0.05) 59
- Figure 2** Physical parameters measured in the radicular system with different substrates (n = 24; mean value of both rootstocks for each substrate \pm standard deviation; P <0.05) 60

CAPÍTULO 5

- Figure 1** LSD intervals at 90% confidence level in the influence of the variety factor in residual biomass characteristics. (n = 108)..... 101
- Figure 2** LSD intervals at 90% confidence level in the influence of the variety factor in residual biomass characteristics. (n = 108)..... 102
- Figure 3** Dispersion diagram for gross calorific values (J·g⁻¹) according to the carbon and nitrogen content for each variety-rootstock combination..... 103
- Figure 4** LSD intervals at 90% level of confidence in the influence of the treatment factor in residual biomass characteristics. (n = 108)..... 104

CAPÍTULO 6

- Figure 1** Trunk, leaf and young shoots weight of almond trees with different rootstocks treated with different biostimulants (n = 5; mean \pm SD). In the same treatment, mean values with different capital letters differed significantly (p<0.05); In the same rootstock, mean values with different lowercase letters differed significantly (p<0.05) 120

Figure 2 Roots longitude of almond trees with different roots-tocks treated with various biostimulants (n = 5; mean ± SD). In the same treatment, mean values with different capital letters differed significantly (p<0.05); In the same rootstock, mean values with different lowercase letters differed significantly (p<0.05) 121

Figure 3 Visual aspect of rootstock GF-677 treated with different biostimulants: A, control; B, BS1; C, BS2; D, BS3; E,BS4; F, BS5 or nutritive solution tested 123

Figure 4 Weight variables of radicular system with different rootstocks treated with different biostimulants (n = 5; mean ± SD). In the same treatment, mean values with different capital letters differed significantly (p<0.05). In the same rootstock, mean values with different lowercase letters differed significantly (p<0.05) 124

Figure 5 Number of tap roots (A) and their diameter (B) in almond trees with different rootstocks treated with different biostimulants (n = 5; mean ± SD). In the same treatment, mean values with different capital letters differed significantly (p<0.05). In the same rootstock, mean values with different lowercase letters differed significantly (p<0.05) 125

Figure 6 Number of lateral roots (A) and their diameter (B) in almond trees with different rootstocks treated with different biostimulants (n = 5; mean ± SD). In the same treatment, mean values with different capital letters differed significantly (p<0.05). In the same rootstock, mean values with different lowercase letters differed significantly (p<0.05) 125

ÍNDICE DE TABLAS

CAPÍTULO 1

Tabla 1 Descripción de las variedades de almendro más cultivadas en España en cuanto a su origen, época de floración y parentales	13
Tabla 2 Extracciones en kg de nutriente por 1000 kg de almendra en cáscara según diferentes autores	22
Tabla 3 Contenido en macronutrientes de las diferentes partes del fruto en la almendra	22
Tabla 4 Contenidos normales foliares de elementos nutritivos en almendro (8-12 semanas tras plena floración)	23
Tabla 5 Fuentes de origen de la biomasa con destino energético	30

CAPÍTULO 3

Table 1 Vegetative parameters of the different rootstocks (n = 24; mean value \pm standard deviation; P <0.05)	57
Table 2 Radicular parameters of the different rootstocks (n = 24; mean value \pm standard deviation; P <0.05)	57
Table 3 Vegetative parameters according to the type of substrate studied (n = 24; mean value of both rootstocks for each substrate \pm standard deviation; P <0.05)	58
Table 4 Length radicular parameters according to the type of substrate studied (n = 24; mean value of both rootstocks for each substrate \pm standard deviation; P <0.05)	60

CAPÍTULO 4

Table 1 Chemical compositions of the biostimulants applied	72
Table 2 Vegetative and radicular parameters of the different rootstocks during the two year-study (n = 10; mean value \pm standard deviation)	77
Table 3 Antioxidant capacity of the leaves of different rootstocks under study through DPPH and ABTS scavenging assays (n = 9; mean value \pm standard deviation)	78
Table 4 Antioxidant capacity of the leaves of different rootstocks under study through DPPH and ABTS scavenging assays (n = 9; mean value \pm standard deviation)	79
Table 5 Effects of the different biostimulants on the rootstock development during the two year-study (n = 10; mean value \pm standard deviation)	81

CAPÍTULO 5

Table 1 Factors and levels analyzed for the characterization of almond trees biomass.....	98
Table 2 Characterization of examined biomass.....	100
Table 3 Pearson correlation coefficients analysis.....	100
Table 4 Influence of the interaction variety-rootstock factor in residual biomass characteristics (n = 108; mean value \pm standard deviation mean values with different minor letters (a-e) differ significantly).....	103

CAPÍTULO 6

Table 1 Chemical compositions (% w/w) of the biostimulants applied and the nutritive solution (B5).....	116
Table 2 Vegetative system variables of different rootstocks treated with various biostimulants (n = 5; mean \pm SD).....	119
Table 3 Radicular system variables of different rootstocks (in cm) treated with various biostimulants (n = 5; mean value \pm SD).....	122

Introducción

1.1 La intensificación sostenible, el nuevo reto de la agricultura

Es bien sabido que el sector agrícola juega hoy en día un papel fundamental en el reto de alimentar a una población mundial creciente, garantizando la denominada seguridad alimentaria que permite el acceso, tanto físico como económico, a un volumen de comida suficiente, segura y nutritiva (FAO, 2019). Sin embargo, para algunos autores, la agricultura es el principal motor causante del cambio ecológico que sufre nuestro entorno (Godfray & Garnett, 2014).

El sector agrícola ha favorecido el efecto invernadero a través de las emisiones de metano, dióxido de carbono y óxido nitroso, ha contribuido a la crisis eutrófica de muchos ecosistemas acuáticos por excesivas pérdidas, principalmente de nitrógeno y fósforo, a la contaminación del aire, al agujero de la capa de ozono y al cambio climático en general (Adegbeye *et al.*, 2020). El uso intensivo de agroquímicos constituye la principal fuente de polución agraria que afecta a todos los medios. (Shah *et al.*, 2019). Según La Notte *et al.* (2017) los vertidos de nitrógeno encontrados en las cuencas de los ríos de la Unión Europea superan las 80 millones de toneladas (media del periodo 1985-2005) y la mayor parte del impacto proviene de la polución derivada de actividades agrícolas. Los excesos de nitrógeno (en sus formas NH_3 , NO_x , NO_3^- , N_2O y nitrógeno orgánico) y fósforo contaminan el aire, el suelo y el agua y contribuyen activamente al fenómeno de eutrofización que afecta directamente a la diversidad de los organismos acuáticos y a la calidad del agua para consumo humano (Rajanayaka *et al.*, 2020). Además, el exceso de nitrógeno vertido a la atmosfera causa la formación de partículas muy finas asociadas a problemas oculares, incidencia de diabetes, enfermedad de Crohn y envejecimiento prematuro del cerebro (Campbell-Lendrum & Prüss-Ustün, 2019).

El incremento de la conciencia medioambiental asociado al uso de fertilizantes minerales es cada vez mayor en la Unión Europea y ha conducido a un creciente set de regulaciones y políticas medioambientales que buscan minimizar el daño causado por el uso excesivo de la fertilización en determinados sectores agrícolas, a la par que priorizan prácticas de buen manejo nutricional para los cultivos (Expósito & Velasco, 2020).

Cabe destacar, que del mismo modo que las malas prácticas agrícolas han contribuido a la degradación del medio, la agricultura también se ha visto afectada por este cambio, especialmente en lo que refiere a desastres climáticos como la sequía o las inundaciones. Al tiempo que se producen los

efectos negativos en la biota, el aire y el agua, los cultivos requieren de más fertilizantes, más pesticidas y más agua, a la vez que son cada vez más sensibles a diferentes tipos de stress debido a la creciente aparición de resistencias producidas por el uso continuado de un reducido número de pesticidas (Clark & Tilman, 2017).

Prevenir o minimizar la degradación del entorno es un reto al que debemos enfrentarnos como sociedad global. Existen diversas estrategias que de un modo u otro contribuyen a la consecución de este importante objetivo. A nivel agrícola, las principales líneas de actuación pasan por identificar y establecer prácticas de gestión que reduzcan la pérdida de biodiversidad y limiten la degradación ambiental a la par que mejoren de la resiliencia de los cultivos al cambio ambiental (Bommarco *et al.*, 2013).

Muchos autores coinciden en la adopción de la intensificación sostenible de la agricultura como una posible solución al incremento de las necesidades de comida y energía sin un perjuicio masivo del medioambiente. En su forma más teórica, el concepto de intensificación sostenible implica la obtención de una mayor producción en un mismo terreno a la par que se reduce el impacto ambiental y se protege el ecosistema (Pretty, 1997).

El rango de medidas agrícolas adoptables dentro de un marco de intensificación sostenible es tremendamente amplio y pasa desde la puesta en marcha de prácticas culturales concretas (como el no laboreo, la implantación de cubiertas vegetales,...) o el aumento de la eficiencia en el uso de los recursos (riego deficitario, fertilización y abonado de presión,...) a la mejora de la adaptación de los cultivos al entorno o la producción de bioenergía mediante el uso de los residuos de poda u otros subproductos (Scherer *et al.*, 2018; Moleman *et al.*, 2019).

La intensificación sostenible no refiere a ninguna práctica de gestión o sistema por sí mismo dado que la dualidad entre agricultura y medioambiente varía enormemente, no solo entre los diferentes modos de intensificación, sino también a escala geográfica y en función de las diferentes particularidades de las condiciones medioambientales locales (Thomson *et al.*, 2019). Por tanto, una parte del éxito de las prácticas de producción y manejo que se lleven a cabo con el objetivo de adoptar un enfoque de intensificación sostenible dependen del contexto local y regional (Garibaldi *et al.*, 2017).

Investigaciones basadas en el conflicto de fuerzas entre impacto ambiental y productividad agrícola ponen de manifiesto que no existe ningún conjunto de prácticas que sean óptimas en todas las circunstancias. Ni todas las estrategias de conservación consiguen mantener o incrementar los

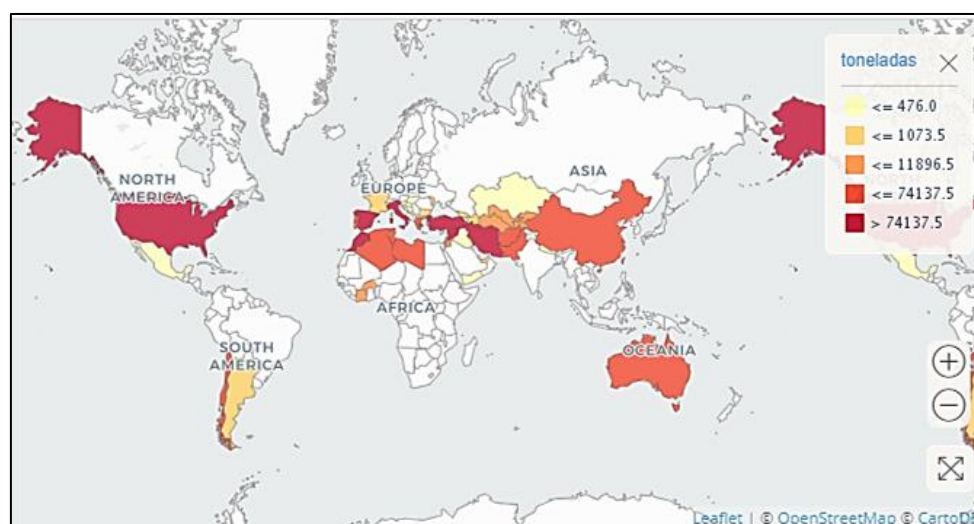
rendimientos de todos los cultivos, ni pueden considerarse universalmente beneficiosas para el medio ambiente (Seufert & Ramankutty, 2017).

La imposibilidad de poder homogeneizar a nivel global las prácticas de intensificación sostenible hace imprescindible un mayor conocimiento de los cultivos en su ámbito más local que permita, no solo una mejor adaptación al entorno, sino también un uso más eficiente de todos los recursos disponibles atendiendo tanto a los considerados como inputs como a los outputs (Moleman *et al.*, 2019).

1.2 Situación actual del cultivo del almendro, retos y perspectivas de futuro

1.2.1 Importancia del cultivo a nivel mundial

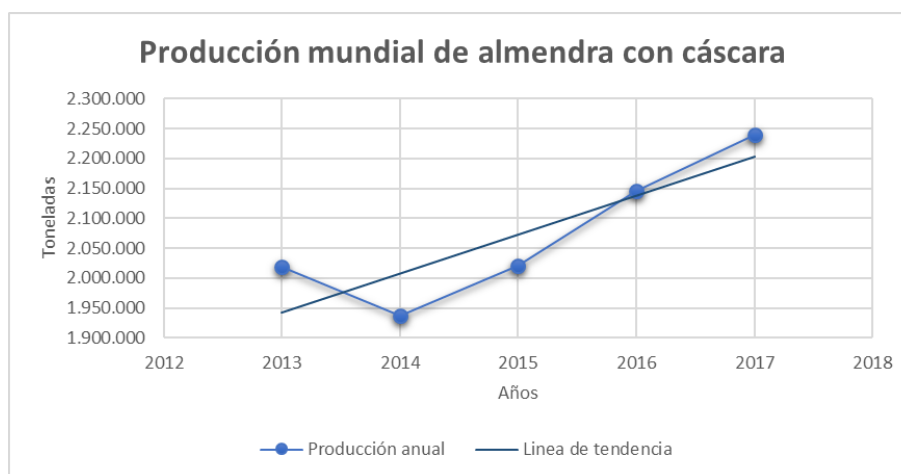
A nivel geográfico, distinguimos tres grandes áreas de cultivo de almendro (Muncharaz, 2004). Un primer area coincidiría con los centros primarios de expansión dónde reside la zona originaria de la especie y los países que le son próximos (Afganistan, Irán, Turquía...), y que destacaría por su enorme diversidad de cultivares muy antiguos y primitivos. En una segunda agrupación encontraríamos los países que fueron centros secundarios de expansión en la Cuenca Mediterránea en los que, con una alta variabilidad de materiales, se alternan plantaciones antiguas (predominantes) con explotaciones mucho más modernas. Y por último, los centros terciarios de expansión caracterizados por el uso de cultivares seleccionados, que cuentan con zonas de cultivo mucho más modernas y tecnificadas.



Fuente FAOSTAT (2019)

Figura 1. Producciones medias de almendra con cáscara 2016-2017 (datos en toneladas).

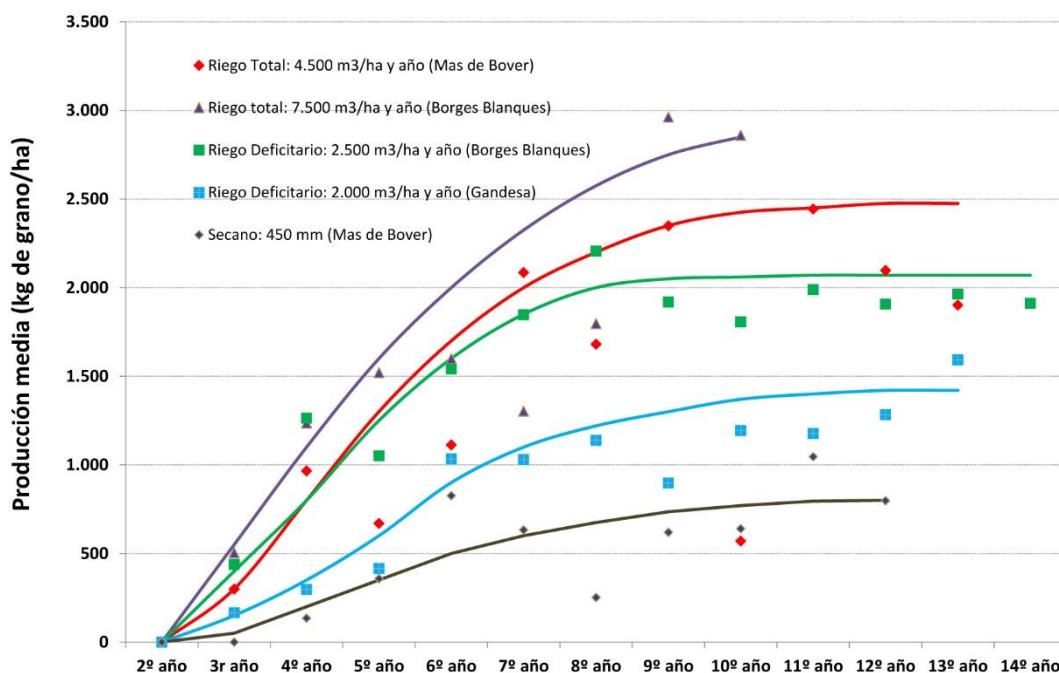
El almendro se considera actualmente un cultivo en expansión (Figura 2), en los últimos 5 años la producción de almendra ha aumentado un 11% a nivel mundial situándose en 2.239.697 toneladas producidas en 2017 en un área cosechada de 1.925.887 hectáreas (FAOSTAT,2019).



Fuente elaboración propia con datos FAOSTAT (2019)

Figura 2. Producción mundial de almendra con cáscara 2013-2017 (datos en toneladas).

Como se observa en la figura 1, la producción de almendra se concentra en un pequeño grupo de países siendo las diferencias entre productores muy notables. Estados Unidos encabeza la producción de almendra y destaca como primer productor y exportador, con más de un 45% de la producción mundial en 404.866 hectareas, cultivadas exclusivamente en el área de California. España, segundo país productor a nivel mundial, con un área de cultivo un 63% más extensa que Estados Unidos apenas produce 255.503 toneladas al año de almendra con cáscara. Estos fuertes contrastes entre primer y segundo productor mundial se explican por las diferencias en sus rendimientos medios, siendo que los españoles son entorno a 6 veces inferiores a los obtenidos por Estados Unidos. Según Girona (2007) estas diferencias se explicarían en gran medida por el menor aporte hídrico que reciben los almendros en nuestro país. Si bien es cierto que el almendro ha sido tradicionalmente conocido por su capacidad de adaptación a condiciones de secano, no es menos cierto que presenta una respuesta muy positiva a mayores aportes hídricos dandose diferencias del 28% en rendimiento entre ambas formas de cultivo (Figura 3).



Fuente: Miarnau *et al.*, 2018.

Figura 3. Resumen de los datos productivos medios de diferentes ensayos IRTA de cultivares de almendro en diferentes dotaciones de riego. Equivalencia de producción de almendra en grano por hectárea (kg/ha de grano). Riego total en Mas de Bover (4.500 m3/ha y año; marco de plantación: 7m x 6m), riego total en Les Borges Blancos (7.500 m3/ha y año; marco de plantación: 7m x 6m), riego deficitario en Les Borges Blancos (2.500 m3/ha y año; marco de plantación: 6m x 6m), riego deficitario en Gandesa (2.000 m3/ha y año; marco de plantación: 6m x 5,5m) y secano en Mas de Bover (pluviometría de 450 mm y año; marco de plantación: 6m x 5m). Aplicación de agua de riego en función de la ETo de cada finca experimental.

Felipe (2000) destaca que mientras en California, en plantaciones de tipo intensivo, el manejo agronómico del cultivo (elección del material vegetal, formación y poda, fertilización, riego y prácticas fitosanitarias) marca el éxito de la plantación, en España aún queda una importante labor de mejora que permitiría incrementar el potencial productivo de las nuevas plantaciones y superar así los umbrales de rendimiento actuales.

Recientemente han sido muchos los medios de comunicación tanto nacionales como internacionales que describían el interés por el almendro como la fiebre del oro del siglo XXI (Bowes, 2014; Li, 2014; López-Fuster & Peña de la Fuente, 2019).

Una de las principales causas de la expansión de este cultivo viene dada por el posicionamiento de la almendra como un alimento saludable y versátil en sus diferentes formas de consumo (Aznar-Sánchez & Velasco, 2016). Son muchos los autores que demuestran las propiedades saludables del consumo de almendras (Parle & Bhorja, 2010; Mandalari, 2012). La ingestión de este fruto seco tiene efectos positivos para la salud cardiovascular, el colesterol y la diabetes por su alto contenido en vitamina E, fibra dietética y grasas monoinsaturadas que han sido asociadas con un

menor riesgo de enfermedades cardíacas (Berryman *et al.*, 2015). Además, las almendras son una importante fuente de proteína, tienen un alto contenido en antioxidantes y están libres de gluten, lo que está haciendo que la harina de almendra gane popularidad como sustituto de otras harinas en la restauración.

Los esfuerzos de la industria van dirigidos a educar al consumidor en la versatilidad de la almendra para distintos usos. Organismos como el Almond Board of California han organizado numerosas campañas de promoción, tanto dentro de Estados Unidos como en países emergentes, consolidando a la almendra como un snack saludable que aporta energía y reduce el riesgo de enfermedades cardiovasculares, siendo estas la principal causa de defunción entre los hombres y mujeres estadounidenses. Hoy en día es el fruto seco más consumido del país por encima de cacahuetes, pistachos u otros frutos secos (Almond Board of California, 2019).

Aunque el mercado norteamericano es el principal consumidor del mundo, sólo absorbe en torno al 30% de la producción de California, el resto de la cosecha se exporta, convirtiéndose así la almendra en la principal partida de exportación agraria para el estado de California que genera un valor superior a los 4.300 millones de dólares en 2017 (FAOSTAT, 2019).

Entre los principales importadores en 2017 encontraríamos por un lado a países como España y Alemania con cantidades superiores a las 90.000 toneladas de almendra pelada, esto se debe a que en ambos países existe una importante industria de transformación para obtener productos repelados, triturados o laminados para su consumo en repostería (Tragsatec, 2011). Y por otro, Italia, Francia y Emiratos Árabes Unidos con cifras por debajo de las 42.000 toneladas.

Aunque en menor nivel, Estados Unidos también importa almendras para satisfacer su consumo nacional. Pese a representar un bajo porcentaje de las exportaciones mundiales, las almendras españolas presentan diversas características que las diferencian de las que se producen en Estados Unidos y que les otorgan un valor añadido en el mercado internacional. Mientras que en EE.UU los cultivares utilizados son de cáscara blanda, en España, tradicionalmente se cultivan los cultivares de cáscara dura que poseen una composición nutricional característica, generalmente con mayor contenido en aceites que potencian sus propiedades organolépticas. Estas características, junto con una mejor aptitud a determinados procesos industriales, ofrecen un plus de calidad a la almendra de origen español. Sin embargo, las recientes políticas arancelarias propuestas por la administración de Donald Trump han supuesto un descenso de las importaciones de almendra en EE.UU del 25% pasando de más de 11.000 toneladas a apenas 8.500 toneladas en el último año (FAOSTAT, 2019).

El incremento de la demanda mundial de almendra se ha traducido en un notable incremento de precios para los productores. En concreto, desde el año 2014, la demanda global de almendra supera a la oferta. Como consecuencia de este desequilibrio, la tendencia de precios ha sido alcista. Mientras que en Estados Unidos el precio al productor en 2010 se situaba en 3.946 USD/tonelada de almendra con cáscara en 2017 se situaba en 5.578 USD/tonelada.

Aunque en menor medida, los productores españoles también vieron aumentar el precio de sus cosechas pasando de media de 962 USD /tonelada en 2010 a 1647 USD/ tonelada en 2017. Cabe destacar que si bien en EE.UU casi el 40% del cultivo de almendro se corresponde con el cultivar Non-pareil, en España el mercado de la almendra está mucho más atomizado y cuenta con multitud de cultivares con mucha disparidad de precios, pasando de 1,30 euros/ kg almendra pelada del cultivar Blanca Mollar a 6,40 euros/kg almendra pelada del cultivar Marcona (Lonja de Reus, 2019). En comparación con EE.UU, en España se cultivan muchas variedades distintas de almendro, cuya cosecha se comercializa bajo el mismo nombre comercial de “Común” o “Valencias”. De modo, que lo que se gana en diversidad, si no se separan los cultivares, se pierde en homogeneidad del producto, aspecto muy importante desde el punto de vista comercial que explicaría el menor índice de precios español.

1.2.2 Situación del cultivo en España

En España, el almendro es un cultivo históricamente tradicional y con presencia en la práctica totalidad de nuestras provincias (a excepción de las comunidades autónomas de Galicia, Asturias y Cantabria). Según el último anuario de estadística del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, la superficie cultivada en 2017 es de 633.562 hectáreas de las cuales 547.073 son de secano y solo 86.489 ha de regadío. (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 2019). El almendro tiene una gran importancia económica en nuestro país generando un volumen de negocio de más de 1.000 millones de euros, pero también un papel social dado que su cultivo ayuda a mantener la población rural y a conservar el medio ambiente evitando el abandono de fincas en zonas de secano (Felipe, 2000).

Contrariamente a lo que ocurre en Estados Unidos o en Australia, el almendro en España se ha tratado como un cultivo complementario a otros en la explotación agrícola, relegándose en muchas ocasiones a plantaciones de tipo marginal (Vargas, 2007) con suelos poco apropiados para otro tipo de cultivo generalmente por su alto porcentaje en caliza activa (Socias, 1999).

Además de esta tendencia histórica, multitud de autores coinciden en que, a nivel general en la Península, el cultivo del almendro se ve afectado por toda una serie de problemáticas que impiden que se obtengan, buenos niveles de rentabilidad.

Se considera que, en el cultivo del almendro, la productividad viene determinada principalmente por el número de flores producidas, del porcentaje de cuajado y del peso del fruto, parámetros conocidos como los componentes del rendimiento productivo. Estos componentes dependen del genotipo, pero están modulados tanto por las condiciones agroclimáticas como por el manejo agronómico de la plantación (Miarnau *et al.*, 2018). Socías *et al.* (2009) y Miarnau *et al.* (2017) señalan un aparente desconocimiento del material vegetal de los productores con el uso de cultivares de floración temprana que se ven afectados con asiduidad por las heladas y que limitan geográficamente la implantación de plantaciones de almendro a áreas con inviernos suaves en latitudes más bien bajas.

En este sentido y en cuanto a selección varietal se refiere, Dicenta & Egea (2005) ponen de manifiesto la especial relevancia de la autoincompatibilidad de los cultivares tradicionales en la rentabilidad del cultivo. En cultivares autoincompatibles es imprescindible que en el diseño de la plantación el cultivar principal se alterne junto con otros cultivares intercompatibles, que no sólo florezcan al mismo tiempo, sino que, además, no sean veceros dado que la ausencia de flor del polinizador conllevaría la anulación de la producción en el cultivar principal. Los programas de mejora genética llevados a cabo por diferentes organismos en España en los últimos años han hecho hincapié en la consecución de cultivares autofértiles de forma que, actualmente, la mayoría de las plantaciones ya se establecen con este tipo de variedades cultivadas mediante un diseño monovarietal que mejora el rendimiento agronómico y el posterior precio de la almendra en el mercado (Vargas *et al.*, 2009; Miarnau *et al.*, 2013; Miarnau *et al.*, 2016).

El establecimiento de una plantación de frutales implica previamente un estudio pormenorizado de las numerosas variables que influyen en el correcto diseño de la misma (Navarro, 2013). En numerosas plantaciones de almendro las labores de preparación del terreno se han descrito como insuficientes o inadecuadas produciendo comúnmente una elevada mortalidad de árboles por hongos como *Armillaria mellea* (Vargas, 2007). Señala además este autor que la aportación de fertilizantes y/o tratamientos fitosanitarios en las formas de cultivo más tradicionales viene condicionada por la producción prevista y la tendencia de los precios de mercado y no por las necesidades reales de la plantación.

El optimismo existente en el mercado de los frutos secos unido a la difícil situación de precios en la que se encuentra el cereal ha llevado a muchos agricultores a realizar plantaciones de almendro

en espacios que habitualmente se destinaban al cereal (Iglesias, 2019). El cultivo del almendro en España se encuentra en plena fase de transformación, si bien es cierto que en los últimos años se han producido importantes avances en cuanto a reconversión varietal, transformación de plantaciones marginales, introducción de sistemas de riego y otras técnicas de cultivo, es necesario que se siga estudiando este cultivo desde la perspectiva de la mejora continua para aprovechar todas las oportunidades económicas que brinda el mercado.

1.3 Descripción y características de la especie

1.3.1 Origen botánico

La descripción botánica del almendro cultivado ha sido motivo de controversia a lo largo de los años. Tomando como punto de partida la nomenclatura binomial desarrollada por Linneo en 1753 Batsch denominó al almendro como *Prunus communis* L. perteneciente a la familia de las *Rosáceas* subfamilia *Prunoideas* (Salazar y Melgarejo, 2002). Más tarde, y teniendo en cuenta el especial proceder del mesocarpo de la drupa del almendro que se marchita y se abre en la madurez dejando ver el endocarpo (Rodríguez y Carrascosa, 2010), el almendro fue separado de la subfamilia *Prunoideas* circunscribiéndose en la nueva subfamilia de las *Amigdaláceas* dentro del género *Amygdalus* y catalogándose como *Amygdalus communis* (Grasselly y Crossa-Raynaud, 1984). Años más tarde, se vuelve a incluir al almendro dentro del género *Prunus* como *Prunus amygdalus* Batsch.

Ante estas discrepancias, el Comité General de Nomenclatura Botánica en 1964 determinó que la nomenclatura apropiada para el almendro cultivado se establecía como *Prunus dulcis* (Miller) considerándose sinónimos *Prunus amygdalus* (Batsch) y *Prunus communis* (Archangeli) (Mc. Neill *et al.*, 2012).

Al igual que ocurre con la taxonomía, el origen del almendro ha sido motivo de diferentes hipótesis no libres de controversia. Mientras que algunos autores como Evreinoff abogan por que los materiales actuales proceden de una especie espontánea *Amygdalus communis* Korchinsky, otros, como Kovaleff y Kostini consideran que proceden de híbridos interespecíficos naturales de *Prunus bucharica* K. y *Prunus fenzliana* F. (Grasselly, 1976; Salazar & Melgarejo, 2002).

Fuese cual fuese su origen inicial, parece haber cierta aceptación en que el almendro procede de la zona IV de Vavilov (Centro de origen de las especies de Oriente Próximo) que encuentra las primeras evidencias de su cultivo en regiones de la actual Siria (Vavilov, 1951). Persas y hebreos lo cultivaron 4.000 años antes de Cristo, posteriormente los fenicios lo difundieron, aunque de forma muy limitada, hasta que finalmente los griegos lo transmitieron al Imperio Romano que terminó por expandir el cultivo por toda la Cuenca Mediterránea unos 600 años antes de Cristo. La difusión en esta

área fue lenta, y se caracterizó especialmente por la selección natural de los genotipos con mejor grado de adaptación a las diferentes condiciones ambientales y por la selección humana, que sembraba aquellas semillas que aunaban buen comportamiento agronómico y buen sabor de fruto.

La expansión de las zonas de cultivo mediante la siembra de semillas favoreció la heterozigosis en el almendro (Grasselly, 1972). Posteriormente, y gracias a la generalización del injerto fueron surgiendo cultivares locales adaptados a sus zonas de cultivo. De ahí que la Cuenca Mediterránea se considere un centro secundario de domesticación de la especie (Grasselly, 1972).

Los padres Franciscanos llevaron el almendro en el siglo XVII a California, pero no fue hasta un siglo después que se implantó con éxito allí. El conjunto de los cultivares de California procede de descendientes seleccionados de los cultivares introducidos desde Europa lo que originó, con el tiempo, ecotipos locales (Kester *et al.*, 1990) Los magníficos niveles productivos del cultivar Nonpareil lo convirtieron rápidamente en el cultivar de referencia para usar como genitor en los programas de mejora americanos, explicándose así que la casi totalidad de cultivares americanos presente caracteres relativamente homogéneos.

Posteriormente el almendro siguió expandiéndose por los centros terciarios (Australia, África del Sur y Sudamérica) en donde su cultivo se instaló en regiones específicas con características de clima mediterráneo. El tipo de cultivo de estas nuevas regiones de expansión se ha caracterizado por el uso de cultivares seleccionados en plantaciones más tecnificadas donde destaca la influencia de cultivares y sistemas de cultivo de California (Fernández i Martí, 2010).

1.3.2 Características morfológicas y fisiológicas del almendro

1.3.2.1 Características morfológicas del árbol

Las características morfológicas de un frutal son de especial relevancia tanto desde el punto de vista agronómico como comercial. En el almendro se observa una considerable variabilidad en cuanto al vigor, el porte y los tipos de fructificación siendo todas estas características definitorias de la estructura típica de cada cultivar.

El porte natural de un árbol viene determinado por su vigor, por el ángulo de inserción de sus ramos y por el peso de la cosecha (Felipe, 2002). En el caso del almendro, los árboles suelen tender a la verticalidad con una cierta predisposición a separarse del eje central que hace que este carácter varíe desde caedizo hasta muy erecto en función del cultivar (Gülcan, 1985). Habitualmente en los programas de mejora se ha abogado por los portes de tipo medio que facilitan las operaciones de mecanización cultural (Felipe, 2000), aunque los portes semi-erectos resultan de vital importancia en

zonas de áridas, por considerarse que una arquitectura vertical y cerrada del árbol es una buena estrategia para controlar la pérdida de agua y aumentar la eficacia en la absorción de la luz (Savé *et al.*, 1993).

En el almendro, los tipos de ramificación también vienen condicionados por el cultivar, mientras unos cuentan con crecimientos largos y poco ramificados, como el cultivar Cristomorto, otros se caracterizan por ramificaciones mucho más abundantes y crecimientos anuales más rápidos, como el cultivar Marcona. Siendo que este carácter se ha demostrado estar bajo control poligénico con un porcentaje de heredabilidad relativamente alto (Grasselly, 1972; Kester & Asay, 1975), han sido varios los programas de mejora que lo han tenido en cuenta de cara a obtener cultivares con poca ramificación y por tanto con menor coste de poda (Socias i Company, 1998).

En la mayor parte de los cultivares, las hojas aparecen después de la floración siendo estas comúnmente de tipo lanceolado, largas, estrechas y puntiaguadas (Grasselly & Crossa-Raynaud, 1980).

Su sistema radical es muy potente con una raíz pivotante en los inicios pero muy ramificada posteriormente, que le permite una alta capacidad de exploración del suelo, siendo, a grandes rasgos, el volumen de suelo explorado por el sistema radical de un almendro adulto entre 5 y 8 veces el volumen de su copa (Salazar y Melgarejo, 2002). La capacidad de profundizar de la raíz del almendro unido al rápido crecimiento de su barabada ha permitido que históricamente se haya adaptado con relativa facilidad a suelos pobres y secos considerándose un árbol rústico aunque, como se ha demostrado reiteradas veces, su nivel productivo y por tanto su rentabilidad están estrechamente vinculados con las condiciones en las que se desarrolle el cultivo.

1.3.2.2 Características fisiológicas

En el almendro la densidad floral o floribundidad se considera un atributo varietal (Socias i Company, 1988). Las flores del almendro son hermafroditas, tremendamente vistosas y en general muy numerosas. El proceso de floración comienza con la inducción floral produciendo cambios de tipo fisiológico en las yemas vegetativas. Este momento determina la transformación de las yemas vegetativas en yemas florales y se traduce en una serie de cambios morfológicos que llevan a la aparición de primordios florales derivando en la diferenciación floral (Felipe, 2000). Durante esta fase, fenómenos como el stress hídrico o la caída prematura de hojas por estrés biótico o por una inadecuada aplicación de productos fitosanitarios, pueden dañar fuertemente la formación de yemas florales y por lo tanto repercutir en la producción del año siguiente (Grasselly & Crossa-Raynaud, 1980).

Los autores coinciden en que tradicionalmente el almendro es una especie autoincompatible y requiere de polinización cruzada para la producción de fruto (Vargas, 2005; Muncharaz, 2004; Salazar y Melgarejo, 2002; Kester *et al.*, 1991; Rigau, 1988).

La autoincompatibilidad es la imposibilidad de una planta hermafrodita para producir semillas mediante su autopolinización aunque presente gametos viables. Es una estrategia reproductiva para promover la fecundación entre individuos que no estén relacionados y, por tanto, es una herramienta facilitadora de variabilidad genética (De Nettancourt, 2001). En el almendro se da un tipo de autoincompatibilidad denominada prezigótica de tipo gametofítico, controlada por el locus multialélico S (Ortega *et al.* 2002), en la que la interacción polen-pistilo antes de la fecundación da lugar a una inhibición del crecimiento de los tubos polínicos incompatibles en el pistilo (Socias i Company, 1977; Socias i Company *et al.*, 1976).

Es por tanto necesario a la hora de establecer la plantación tener en cuenta que es obligatoria la combinación de dos cultivares intercompatibles que coincidan en época de floración teniendo en cuenta que el periodo efectivo de polinización en el almendro es de 4 a 5 días, en función del cultivar (Ortega *et al.*, 2004).

El almendro, como la mayoría de las Rosáceas, es una especie hermafrodita de polinización básicamente entomófila (Wyatt, 1983). La polinización es realizada la mayoría de las veces por abejas (*Apis mellifera*). En Estados Unidos, se comercializan, además de las melíferas, colmenas de abejas de especies autóctonas como *Osmia lignaria propinqua* y *Osmia cornuta*. Otra alternativa en expansión es la comercialización de abejorros (*Bombus occidentalis*) (López-Fuster & Peña de la Fuente, 2019). La menor o mayor actividad de las abejas depende de las condiciones climáticas, en especial de la temperatura, el viento y la lluvia. Las abejas desarrollan su mayor actividad cuando las temperaturas ambientales están comprendidas entre 15 y 26°C, decreciendo esta a medida que decrecen las temperaturas e interrumpiéndola en condiciones de niebla, de lluvia y vientos superiores a 24 Km/h (Ortiz *et al.*, 1993; Martínez & Johanna, 2003; Carreño & Gustavo, 2004).

Si bien, como se ha reseñado previamente, la mayoría de las variedades cultivadas son autoincompatibles, el hallazgo de cultivares autocompatibles en el sur de Italia como “Filippo Ceo”, “Tuono” o “Genco” (Grasselly y Olivier, 1976) promovió el interés sobre la heredabilidad de este carácter en los diferentes programas de mejora del almendro. La investigación pública ha permitido que centros como el CITA de Aragón, CEBAS-CSIC en Murcia e IRTA en Cataluña así como el INRA francés hayan desarrollado cultivares autocompatibles que son la base de las plantaciones de los últimos años.

Tabla 1. Descripción de las variedades de almendro más cultivadas en España en cuanto a su origen, época de floración y parentales.

Cultivar	Origen	Floración	Parentales	Auto fertilidad
Marcona				No
D. Largueta	Cultivares tradicionales españoles	Temprana	Selección en poblaciones nacionales	No
Desmayo				No
Garrigues				No
Marta	CEBAS (Murcia)		Ferragnés x Tuono	Sí
Antoñeta			Ferragnés x Tuono	Sí
Moncayo			Tardive de la Verdierie x Tuono	Sí
Ayles	CITA (Aragón)		Polinización libre Tuono	Sí
Guara			Selección	Sí
Soleta			Blanquerna x Belle d'Aurons	Sí
Belona			Blanquerna x Belle d'Aurons	Sí
Ferragnès	INRA (Francia)	Tardía	Aï x Cristomorto	No
Ferraduel			Aï x Cristomorto	No
Lauranne			Ferragnés x Tuono	Sí
Tarraco			FLTU-18 x Anxaneta	No
Glorieta			Primorsky x Cristomorto	No
Masbovera			Primorsky x Cristomorto	No
Francolí	IRTA (Cataluña)		Cristomorto x Tuono	No
Constantí			FGFD 2 x Polinización libre	Sí
Vairo			4-665 x Lauranne	Sí
Marinada			Lauranne x Glorieta	Sí
Penta	CEBAS (Murcia)		S5133 x Lauranne	Sí
Tardona		Extra tardía		S5133 x R1000
Mardía	CITA (Aragón)			Felisia x Bertina
Felisia				Titan x Tuono

Fuente: López-Fuster & Peña de la Fuente, 2019

1.3.2.3 Caracteres pomológicos y cualitativos del fruto

El fruto del almendro es una drupa con mesocarpio carnoso de color verde, dehiscente en la madurez que aloja una almendra, que en función del cultivar, puede ser bien de cáscara dura o bien

de cáscara blanda (Felipe 2000). La forma y tamaño de la almendra con cáscara son importantes en cuanto a que se correlacionan con el tamaño y la forma de la pepita. Pese a que el tamaño del fruto se considera una característica varietal (Gülcan, 1985), tanto las condiciones ambientales como la carga del árbol pueden afectar al desarrollo de este (Godini, 2002). Uno de los caracteres más importantes del fruto es la dureza de la cáscara que ejerce un papel protector de la pepita y que, durante muchos años, se ha relacionado con la estabilidad de la calidad del fruto durante su almacenaje, retrasando el proceso de enranciamiento (Socias i Company, 1998; Harris *et al.*, 1972).

La parte comestible de la almendra es la pepita siendo tanto sus características físicas como químicas las que definen su calidad y comerciabilidad (Kester *et al.*, 1980). El concepto de calidad es tremendamente ambiguo, varía con el tiempo en función de la evolución de los gustos de los consumidores (Krings y Berger, 2001) y engloba la combinación de propiedades tanto físicas, como químicas y sensoriales (Romojaro, 2003).

La calidad sensorial refiere a las sensaciones que percibe el consumidor respecto a los aspectos gustativos (amargor, dulzor, etc.), olfativos (aroma) y táctiles (dureza, finura, rugosidad, etc.) (Kodad, 2016). En este sentido, el consumidor prefiere pepitas con superficie lisa (Arteaga & Socias i Company, 2005) coincidiendo en este caso también con las preferencias de la industria, dado que las pepitas arrugadas o con surcos profundos son mucho más complejas de reperlar.

El sabor de la almendra es un carácter muy estudiado y su importancia no solo reside en el aspecto gustativo sino también en la toxicidad de los componentes amargos de la pepita (Aroca *et al.*, 2016; Morales-Padilla *et al.*, 2018). Además, cabe destacar que en el almendro, la oxidación de la pepita produce su enranciamiento afectando a la calidad de la misma. La velocidad de la reacción de degradación varía en función del nivel de ácidos grasos insaturados, la temperatura, la luz y la presencia de antioxidantes en la pepita (Gou *et al.*, 2000) así como de la presencia del tegumento (Rizzolo *et al.*, 1994)

La calidad alimenticia viene descrita por los nutrientes que el alimento aporta al organismo y su incidencia en la salud. El valor nutritivo de la almendra deriva principalmente de su alto contenido en ácidos grasos insaturados (Saura-Calixto *et al.*, 1981) así como en α -tocoferol (Saura-Calixto *et al.*, 1982; Zacheo *et al.*, 2000) ambos asociados a la disminución de riesgo de enfermedades vasculares (Kamal-Eldin & Appelqvist, 1996). Además presenta altos contenidos en fibra, riboflavina y minerales tales como calcio, magnesio, fósforo, potasio, zinc, cobre y manganeso (Kalita *et al.*, 2018).

1.4 Condiciones viverísticas de cultivo

1.4.1 Elección de patrones

Hoy en día, el papel de los patrones y su uso en diferentes frutales condiciona de gran manera la producción, dado que, los patrones influyen en la arquitectura del árbol, la absorción de nutrientes, la floración, el rendimiento y la calidad de los frutos (Atkinson & Else, 2001). Además, los patrones ofrecen, en mayor o menor medida, cierta resistencia frente a determinados estreses bióticos o abióticos (Reddy *et al.*, 2003; Browne *et al.*, 2006; Huang *et al.*, 2009), este factor es determinante en tanto en cuanto, debido a la escasez de tierras fértiles y al incremento en la demanda de frutales, se están estableciendo multitud de plantaciones en zonas con condiciones desfavorables tales como suelos pobres, sequías, salinidad etc. (Tworkoski *et al.*, 2016; Santana-Vieira *et al.*, 2016; Córdoba *et al.*, 2018 ; Rahneshan *et al.*, 2018).

La elección del patrón es por tanto un factor determinante en la consecución del éxito de la plantación. El estudio y la comprensión de las particularidades edafoclimáticas y agronómicas del terreno son el punto de partida para decidir acerca de la mejor combinación patrón/cultivar. El objetivo del patrón pasa por garantizar la absorción de nutrientes y el anclaje del árbol y debe considerarse como un centro de síntesis de señales bioquímicas, capacitadas para modificar la fisiología del árbol, y por tanto determinantes en el desarrollo, el vigor, la fenología y el nivel productivo (Bielsa *et al.*, 2016) .

Concretamente, en el cultivo del almendro, la estrategia de uso de patrones difiere mucho en las dos mayores áreas de producción: España y California.

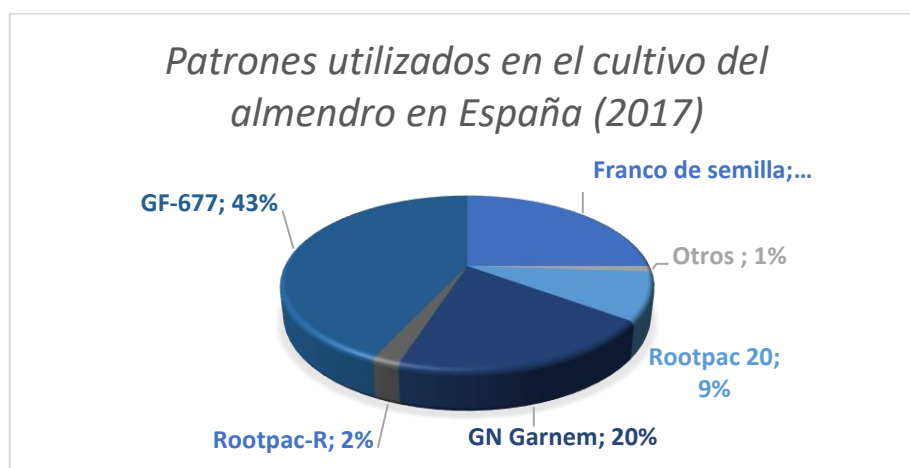
Mientras que en California el patrón más utilizado sigue siendo el tradicional “Nemaguard” debido a la presencia de nematodos en sus suelos de tipo arenoso, en España, hemos sido testigos de una enorme evolución, pasando de injertar sobre “pies francos” procedentes de determinadas semillas de almendro o sobre almendro amargo (Felipe, 1989) , a híbridos de almendro x melocotonero que muestran un muy buen comportamiento incluso en condiciones de secano (Felipe, 2000). El híbrido INRA GF 677 ha sido el patrón más utilizado recientemente mientras que la tendencia actual es a un mayor uso de las nuevas obtenciones de los diferentes programas de mejora llevados a cabo en España desde los años 80 y que se han centrado principalmente en la consecución de los siguientes objetivos (López-Cortés *et al.*, 2017):

- Creación de cultivares de bajo vigor para facilitar las labores de cultivo y mecanizar la recolección.
- Mejora de la adaptación de los patrones a diferentes tipos de suelo.

- Mejora del grado de compatibilidad entre especies y cultivares.
- Aumento de la resistencia a determinados patógenos y enfermedades.
- Establecimiento de cultivares que faciliten la multiplicación in vitro en los viveros en vistas a mejorar los costes de producción.

En este ámbito, cabe destacar los resultados de los programas de mejora genética de patrones llevados a cabo por el Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón que, en vista de los graves problemas de nematodos en algunas zonas del sur de España y la falta de resistencia del patrón GF-677 frente a este problema, hibridaron el melocotonero ‘Nemared’, resistente a tres de las más comunes cepas de nematodos: *M. arenaria*, *M. incognita* y *M. javanica* con el cultivar de almendro ‘Garfi’ que poseía una morfología muy homogénea de raíces y un buen crecimiento erecto in vivo, obteniendo los patrones conocidos como GxN que hoy en día representan el 20% de los patrones utilizados en España en el cultivo del almendro (Rubio-Cabetas *et al.*, 2017).

Importantes han sido también las obtenciones de la empresa Agromillora Group en su gama de patrones Rootpac, en especial en lo que respecta al desarrollo de patrones para su uso en plantaciones de alta densidad como el híbrido de ciruelo (*Prunus besseyi* x *Prunus cerasifera*) Rootpac 20.



Fuente: Rubio-Cabetas *et al.*, 2017

Figura 4. Patrones más utilizados en España para el cultivo del almendro.

A continuación se resumen las principales características de los patrones de almendro más utilizados en España:

- Patrón franco

Los patrones francos de almendro, proceden de la siembra de semillas (almendras) obtenidas por polinización cruzada de dos cultivares por lo que, debido a su origen genético, es común que

produzcan plantas poco homogéneas en su desarrollo y comportamiento. Mediante la polinización controlada se pueden obtener semillas que darán lugar a patrones francos más homogéneos evitando además el uso de progenitores con el carácter amargo para limitar la difusión y producción de almendras amargas. (Felipe, 2018). Se caracterizan por su afinidad total con los diferentes cultivares de almendro y su muy buena respuesta a la escasez hídrica por su potente raíz pivotante (Felipe, 2000). Son tolerantes a la clorosis férrica y a los suelos pobres pero bastante sensibles a la asfixia radicular y a los nematodos de ahí que se recomienden en secanos con pluviometrías inferiores a 300 mm anuales (Mateos *et al.*, 2018).

- GF 677

Patrón obtenido en Francia por el INRA (Institut National de la Recherche Agronomique), se trata de un cruzamiento de melocotón (*Prunus persica*) por almendro (*Prunus dulcis*) (Bernhard y Grasselly, 1981). Este híbrido ha sido el patrón más utilizado en la fruticultura europea en las últimas décadas (Rubio Cabetas, 2015). Se trata de un patrón más vigoroso que el franco (Espada *et al.*, 2013; Zarrouk *et al.*, 2005), que facilita la entrada en producción y proporciona elevados rendimientos (Bussi *et al.*, 1995) tanto en condiciones de secano como de regadío (Socias i Company *et al.*, 1998). El GF 677 se adapta bien a suelos calizos (Font i Forcada *et al.*, 2012) y tolera la clorosis férrica (Moreno *et al.*, 2008) pero, presenta graves problemas de sensibilidad frente a los nematodos del género *Meloidogyne* (Atli *et al.*, 2013; Özarıslandan & Tanriver, 2018).

- GxN Garnem®

Obtención del Servicio de Investigación Agraria de la Diputación General de Aragón (CITA-DGA). Es el resultado de la selección de las descendencias del cruce de un híbrido entre *Prunus dulcis* (cv. Garfi) y *Prunus persica* (cv. Nemared). Tal y como ocurría con el GF 677, el patrón GxN Garnem® confiere un vigor elevado al árbol, con tasas productivas y niveles de precocidad muy similares al patrón francés (Felipe, 2009). Las hojas son grandes y se caracterizan por su color rojizo que facilita su manejo en vivero (Espada *et al.*, 2013). Este patrón tolera adecuadamente condiciones de baja disponibilidad de agua y aunque está preparado para implantarse en condiciones de regadío hay que tener en cuenta que es poco tolerante a la asfixia radical por lo que necesita suelos bien drenados (Felipe *et al.*, 1997; Gómez-Aparisi *et al.*, 2009). Una de las principales ventajas de este patrón es su resistencia a los principales nematodos que afectan al género *Prunus*, especialmente a *Meloidogyne arenaria* (Neal) Chitwood, *Meloidogyne hapla* Chitwood, *Meloidogyne hispanica* Hirschmann, *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood, y *Meloidogyne javanica* (Treb) Chitwood (Marull *et al.*, 1991; Gain, 2010) pero es sin embargo sensible a *Agrobacterium tumefaciens* (Felipe,

2009). Se recomienda en replantaciones tanto de secano como de regadío siempre que no esté sometido a problemas de asfixia radicular.

- ROOTPAC[®] R

Patrón obtenido en España por la empresa Agromillora Iberia, S.L. Se trata de un híbrido natural entre un ciruelo Myrobalan (*Prunus cerasifera Ehr.*) y un almendro (*Prunus dulcis*) ambos de origen desconocido (Gainza *et al.*, 2015). Aunque fue inicialmente desarrollado para su uso en otras especies del género *Prunus* sus buenas características agronómicas han propiciado su uso en almendro (Pinochet, 2010). Se trata de un portainjerto vigoroso con poca tendencia a emitir sierpes lo que facilita el ahorro de labores de cultivo. Ha mostrado ser altamente productivo en California especialmente con el cultivar Non Pareil (Gainza *et al.*, 2011).

Su principal ventaja frente al resto de patrones reside en su facilidad de adaptación a suelos de textura arcillosa donde los híbridos de melocotonero x almendro presentan problemas de desarrollo. ROOTPAC[®] R muestra buena tolerancia a la asfixia radical, a la clorosis férrica y a la caliza activa y tolerancia media a la salinidad (Pinochet, 2010). Al igual que GxN Garnem[®] presenta tolerancia frente a nematodos agalladores (*Meloidogyne spp*) por lo que se recomienda en replantaciones tanto de secano como de regadío.

Habitualmente la descripción y caracterización de los patrones de almendro se limita a sus propiedades morfométricas y a la influencia que estas ejercen en el cultivar injertado. Sería sin embargo interesante que esta caracterización morfométrica fuese acompañada de ciertos análisis químicos como el estudio de la composición fenólica que nos permitiesen entender el alcance de la influencia de los diferentes patrones en determinados mecanismos de defensa de las plantas (Zrig *et al.*, 2011; Giorgi *et al.*, 2015; Zrig *et al.*, 2018).

1.4.2 Programas de fertilización en almendro

Los fertilizantes, tanto de origen mineral, sintético como orgánico, constituyen un recurso de vital importancia en la agricultura puesto que ayudan a contribuir a la seguridad alimentaria a nivel global, mejorando los medios de vida de los agricultores y haciendo posible la nutrición humana básica (FAO, 2019). Además, la utilización racional de estos insumos puede contribuir a la lucha contra la deforestación y otros cambios de uso de la tierra al incrementar la productividad de los cultivos y, por tanto, reducir la necesidad de tierras adicionales para tal fin.

El uso de fertilizantes contribuye a incrementar las producciones agrícolas mediante diferentes vías. Por un lado permite la reposición de los nutrientes del suelo, mantiene y mejora su

fertilidad (Cakmak, 2002) supliendo así la disminución de la productividad de los suelos a nivel global debida a la erosión, el agotamiento de nutrientes, la acidificación, la salinización y la escasez de materia orgánica (Smith *et al.*, 2001). Y por otro, no menos importante, un buen programa de fertilización es la base para la posible implantación de cultivares de alto rendimiento que facilitan responder a la demanda creciente de alimentos (Flies *et al.*, 2018).

Sin embargo y pese a lo expuesto anteriormente, desde los años 90, los fertilizantes se han situado de forma ininterrumpida en el punto de mira convirtiéndose en objetivo de crítica principalmente por el uso desmesurado que se hace o se ha hecho de ellos, especialmente en los países desarrollados. El uso no racional de la fertilización ha conllevado a la eutrofización de los ecosistemas (Galloway *et al.*, 2008), al aumento de gases de tipo invernadero (Sutton *et al.*, 2011; Sutton *et al.*, 2013) y a la acumulación de metales pesados en suelos y plantas produciendo inevitablemente efectos adversos en la salud humana (Van Grinsven *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2018).

De ahí que, un desafío importante ligado a la gestión agrícola es el manejo de los nutrientes del suelo que enfrenta dos retos aparentemente opuestos (IPPC, 2019). Por un lado la reducción de la emisión de gases de efecto invernadero y la contaminación de los suelos (Diakosavvas *et al.*, 2019) y de las aguas por un uso indebido de fertilizantes (Directiva 91/676/CEE del Consejo, de 12 de diciembre de 1991, relativa a la protección de las aguas contra la contaminación producida por nitratos utilizados en la agricultura) y por otro, los bajos rendimientos asociados con el uso insuficiente de fertilizantes (García-Serrano *et al.*; 2009). Siendo estos riesgos cada vez más graves a la luz de una población en rápido crecimiento, Erisman *et al.* (2008) estimaron que más de 3.000 millones de personas alrededor del mundo no podrían haber sido alimentadas sin el aumento de la productividad que emana del uso de la fertilización nitrogenada.

Las estrategias de manejo sostenible del suelo deben por tanto abordarse desde la doble perspectiva de la seguridad alimentaria y de la protección del medio ambiente.

1.4.2.1 Sistema de fertilización en cultivos extensivos de almendro

El almendro se ha considerado tradicionalmente en la Cuenca Mediterránea un cultivo rústico, tolerante a suelos pobres y sequía. Sin embargo está sobradamente demostrado que la productividad y por tanto su rentabilidad depende tanto del aporte de agua como de nutrientes (Ortega & Dicenta, 2006; Valverde *et al.*, 2006; Sánchez *et al.*, 2008; Macci *et al.*, 2012).

La fertilización del almendro, como ocurre en el resto de cultivos, requiere de un estudio pormenorizado de los aportes necesarios de cada elemento así como de la distribución temporal de los mismos a lo largo de la campaña (Salazar & Melgarejo, 2002; Muncharaz, 2017).

Tradicionalmente el manejo de la fertilización en almendros se ha basado en el análisis foliar y la comparación de los valores obtenidos en el mismo con los valores críticos propios de cada uno de los cultivares (Smith & Loneragan, 1997; Saa *et al.*, 2014). Si bien esta herramienta ha sido de gran utilidad para el diagnóstico de deficiencias o excesos nutricionales, se ha reconocido recientemente que no aporta información suficiente para definir las dosis y momentos de aplicación óptimos (Gradziel, 2017).

El objetivo de todo programa de fertilización es asegurar la adecuada disponibilidad de nutrientes en los momentos en los que la planta los demanda. Bruulsema *et al.* (2016) abogan por implantar un sistema de fertilización basado en el balance de nutrientes pero completado por el enfoque 4R (right rate, right time, right source, right place). En vistas a maximizar el efecto de los fertilizantes y reducir pérdidas que derivan en contaminación estos deben aplicarse en función de las necesidades de la planta (right rate, right source) en los periodos de máximo consumo de la misma (right time) y en la zona activa de las raíces (right place).

El programa de fertilización ha de adaptarse a las características particulares de la plantación prestando especial interés al cultivar, al sistema de riego y composición del agua de riego, al tipo de poda y tratamiento de los restos, al sistema de control de fauna arvense y al análisis tanto del suelo como de las hojas (López-Fuster & Peña de la Fuente, 2019).

Gruhn *et al.* (2000) y Tagliavini y Scandellari (2012) instan a conocer los denominados “ciclos de nutrientes” como un flujo continuo de reaprovechamiento de nutrientes desde y hacia el suelo que implican interacciones biológicas y químicas que, en ocasiones, siguen sin estar totalmente explicadas (Hamdi y Abadia, 2013). El ciclo incluye aportes que añaden nutrientes al suelo tales como fertilizantes minerales, materia orgánica, deposición atmosférica, fijación biológica de nitrógeno y sedimentación. Además de extracciones que incluyen tanto la cosecha como otras pérdidas del árbol, así como también aquellos nutrientes perdidos por lixiviación en forma de gases o erosión.

El almendro requiere 17 elementos esenciales para su correcto crecimiento y desarrollo: carbono (C), hidrógeno (H), oxígeno (O), nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K), azufre (S), calcio (Ca), magnesio (Mg), boro (B), zinc (Zn), cobre (Cu), hierro (Fe), manganeso (Mn), cloro (Cl), molibdeno (Mo) y níquel (Ni). Carbono, hidrógeno y oxígeno provienen del aire o del agua mientras que el resto de los elementos se obtienen bien del suelo bien a través de aportes a través de fertilizantes sintéticos (Muhammad *et al.*, 2017). Si bien una deficiencia en cualquiera de estos elementos repercutirá en el crecimiento y la producción de los almendros, nitrógeno y potasio son los nutrientes que se requieren en mayor cantidad para un correcto desarrollo del frutal.

El nitrógeno es un constituyente esencial de proteínas, ácidos nucleicos, clorofilas, coenzimas, fitohormonas y metabolitos secundarios (Marschner, 2012). Una deficiencia de nitrógeno reduce la fotosíntesis y el crecimiento de la planta, produciendo árboles de menor tamaño con menos brotes y hojas pálidas o amarillentas y estrechas. Al tratarse de un elemento móvil los síntomas aparecen primero en las hojas más viejas trasladándose posteriormente, si la deficiencia persiste, a las más jóvenes. En los casos de deficiencia severa se aprecia caída de frutos y un empeoramiento de la calidad de la almendra al reducir su nivel proteico (Saa *et al.*, 2014). Por el contrario, un exceso de nitrógeno producirá un crecimiento vegetativo excesivo en detrimento de la fructificación y aumentará la susceptibilidad del almendro a determinadas enfermedades como fúngicas como las causadas por *Rhizopus stolonifer* (Saa *et al.*, 2016).

El potasio interviene en varios procesos cruciales de la relación hídrica del frutal como la apertura de las estomas y la adaptación al déficit hídrico, favorece el crecimiento de la planta y la expansión celular. Además, el potasio también es necesario para el transporte de carbohidratos por el floema (Basile *et al.*, 2003) y mejora la resistencia a plagas y enfermedades (García-Serrano *et al.*, 2010). Las deficiencias de potasio perjudican la fotosíntesis y el transporte de carbohidratos en la planta y acelera el envejecimiento de las hojas y su caída prematura (Reidel *et al.*, 2001)

Según los ensayos de Saa *et al.* (2012), la cantidad de nitrógeno extraída, en árboles de más de 7 años, por los frutos (pepita + cáscara + corteza) varía entre 50 y 75 kg de nitrógeno por 1000 kg de almendra sin cáscara en función del periodo del año y del nivel inicial de nitrógeno del árbol. En el caso del potasio la extracción fue de entre 67 y 83 kg de potasio por cada 1000 kg de almendra sin cáscara. Contrariamente a lo que ocurre para el nitrógeno, la mayoría del potasio en el almendro se encuentra en la corteza del fruto por lo que si esta se devuelve al terreno la extracción se reduce a 10-15 kg por cada 1000 kg de grano (Tabla 2). De ahí que, en vistas a hacer un cálculo lo más certero posible de las extracciones de la cosecha se debe tener en cuenta el sistema de recolección empleado dado que los aportes variarán en función de si la almendra se descortezaba a medida que se va recolectando quedando el mesocarpio en la parcela o si por el contrario el descortezado se produce posteriormente y por tanto debe considerarse como una extracción (Tabla 3).

Tabla 2. Extracciones en kg de nutriente por 1000 kg de almendra en cáscara según diferentes autores.

UF/ha y año	López Ritas (1973)	Molné (1993)	Grasselly et al. (1997)	Arbonés i Sio (2004)	Saa et al. (2012)	Orden 30 junio 2016 Producción integrada secano Murcia	Orden 30 junio 2016 Producción integrada riego Murcia
N	40	25	10-20	24	68	30-60	50-80
P₂O₅	22	10	1,5-2,5	5,5	-	25-50	60-70
K₂O	18	60	13-15	26	74	50-75	80-100

Fuente: Lamarca (2007); Salazar y Melgarejo (2002); Saa et al. (2012); Región de Murcia, Orden de 30 de junio de 2016

Tabla 3. Contenido en macronutrientes de las diferentes partes del fruto en la almendra.

	Nitrógeno (kg/t)	Fósforo (kg/t)	Potasio (kg/t)
Grano	30-50	6,3	8,3
Mesocarpio	8,5	1,2	20,2
Endocarpio	3,3	0,15	1,5

Fuente: López-Fuster & Peña de la Fuente (2019)

Salazar y Melgarejo (2002) destacan la importancia que tiene el fósforo en la formación de raíces del almendro al favorecer el desarrollo de meristemas. Ambos autores coinciden con Gil-Albert (1999) en que el fósforo debe ser aportado de forma precoz en el ciclo anual del almendro dada su relevancia en la formación de flores, cuajado y desarrollo de frutos jóvenes.

Merece además especial atención el papel tanto del boro como del zinc en las funciones relativas a la floración del almendro. Los primeros síntomas de deficiencia de zinc se traducen en un retraso de la apertura de yemas (tanto vegetativas como de flor) dificultando la polinización y reduciendo notablemente los rendimientos (Sotomayor et al., 2001). Por su lado, la carencia de boro produce un aumento muy considerable de las anomalías florales, un descenso del cuajado y una caída excesiva de fruto (Brown, 2007).

Los contenidos foliares de elementos nutritivos más habituales se describen en la siguiente tabla (Tabla 4).

Tabla 4. Contenidos normales foliares de elementos nutritivos en almendro (8-12 semanas tras plena floración).

Elemento	Bajo	Normal	Alto
N (%)	≤ 2,00	2,10 - 2,50	≥ 2,60
P (%)	≤ 0,10	0,10 - 0,30	≥ 0,40
K (%)	≤ 1,00	1,10 - 1,30	≥ 1,40
Ca (%)	≤ 2,00	2,00 - 3,00	≥ 3,10
Mg (%)	≤ 0,60	0,70 - 1,00	≥ 1,10
Fe (ppm)	≤ 100	100 - 130	≥ 150
Mn (ppm)	≤ 70	80 - 100	≥ 110
Zn (ppm)	≤ 20	30 - 40	≥ 50
B (ppm)	≤ 25	30 - 65	≥ 66

Fuente: Instituto Técnico Agronómico Provincial de Albacete (2014)

El papel de otros elementos nutricionales básicos en el almendro como el calcio o el magnesio no se describe en este estudio por ser muy rara su carencia en nuestras condiciones de cultivo.

1.4.2.2 Técnicas complementarias de fertilización: uso de bioestimulantes

En respuesta a la cada vez mayor sensibilidad de la sociedad acerca de la salud humana y el medio ambiente, la España reguló en 2002 mediante el Real Decreto 1201/2002 de 20 de noviembre las normas de producción integrada que establecen como objetivo conseguir una agricultura sostenible. Más tarde y siguiendo lo dispuesto en el Reglamento (CE) n.º 2003/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo de 13 de octubre de 2003 relativo a los abonos, en 2013 el Estado publica el Real Decreto 506/2013, de 28 de junio, sobre productos fertilizantes que tiene por objeto establecer la normativa básica en materia de productos fertilizantes y las normas necesarias de coordinación con las comunidades autónomas.

La implantación de regulación cada vez más estricta, unido al cambio de mentalidad acerca del uso de productos fertilizantes y fitosanitarios y el auge de las plantaciones en régimen ecológico han estimulado el interés por métodos alternativos de fertilización y sanidad vegetal (Wells *et al.*, 2003)

En este sentido, uno de los sectores con mejores perspectivas a este respecto es el de los bioestimulantes agrícolas también conocido como fitofortificantes.

La industria europea de los bioestimulantes es líder mundial con más de un 42% de la cuota de mercado (European Biostimulant Industry Council, 2013), con una cifra de ventas en Europa que supera los 578 millones de euros y una tasa de crecimiento anual de entre el 10 y el 12%.

Caradonia *et al.* (2019) definen los bioestimulantes como productos que, independientemente de su composición, estimulan los procesos nutricionales de las plantas con el objetivo último de mejorar uno o varios de los siguientes procesos: eficiencia en el uso de los nutrientes, tolerancia al estrés abiótico, mejora en las propiedades cualitativas del producto o aumento de la disponibilidad de nutrientes inmovilizados en el suelo o la rizosfera.

Ocurre que, generalmente, el modo de acción por el que actúan los bioestimulantes es desconocido debido a que incluyen diferentes compuestos que producen diferentes efectos en función del tipo de planta (Du Jardin, 2015). Es común que los bioestimulantes vengan formulados en base a múltiples componentes y que su actividad en la planta dependa de la interacción de los mismos más que del efecto individual de cada uno de ellos, lo que dificulta aún más que se pueda determinar su modo o mecanismo de acción (Johnson, 2006; Parađiković *et al.*, 2011; Yakhin *et al.*, 2017). Rafiee *et al.* (2016) sugieren que el efecto que los bioestimulantes ejercen sobre las plantas viene derivado de su influencia en el metabolismo de estas en el sentido más amplio de la palabra.

Ante la dificultad de determinar el modo de acción de un bioestimulante, Yakhin *et al.* (2017) sugieren que, en el caso de los bioestimulantes, se debería distinguir entre el modo de acción (que describe las características principales de una molécula y su acción bioquímica específica) y el mecanismo de acción que es un concepto mucho más amplio que engloba a todos los cambios bioquímicos identificados en la planta tras la aplicación del bioestimulante. Siendo en este caso, el mecanismo de acción el que generaría una serie de impactos positivos en la planta a través de la mejora de procesos como la fotosíntesis, la senescencia, la modulación de las fitohormonas o la absorción de nutrientes y agua (Khan *et al.*, 2009; Sharma *et al.*, 2012).

Estas y otras controversias acerca del uso de bioestimulantes se han visto reflejadas en la dificultad de encontrar un marco legislativo apropiado para estos productos. La directiva 91/414/CEE fue un primer intento de legislar la comercialización y uso de los bioestimulantes en Europa, sin embargo, dicha directiva fue trasladada a la legislación nacional de cada Estado Miembro provocando que un mismo producto pudiese considerarse o no fitofortificante en función de la normativa interna de cada país. (Villaverde *et al.*, 2015).

Con la entrada en vigor del Reglamento (CE) nº 1107/2009 se consigue solventar este problema y se armoniza la comercialización y uso de productos fitosanitarios en todos los estados

miembros de la Unión Europea. Este reglamento aplicaba a todos los productos compuestos de sustancias activas (tanto químicas como microorganismos como protectores o sinergistas) destinadas a proteger a los vegetales de organismos nocivos o a influir en los procesos vitales de los mismos de forma diferente a los nutrientes. De ahí que, algunos productos como los bioestimulantes, antes considerados dentro del marco legislativo de Otros Medios de Defensa Fitosanitaria (OMDF) (ORDEN APA/1470/2007), pasasen a regirse dentro del ámbito del Reglamento (CE) nº 1107/2009 relativo a la comercialización de productos fitosanitarios.

Tras varios años de negociaciones, no ha sido hasta 2019 que el Parlamento europeo ha publicado el Reglamento (UE) 2019/1009 por el que se establecen disposiciones relativas a la puesta a disposición en el mercado de los productos fertilizantes UE y se modifican los Reglamentos (CE) n. o 1069/2009 y (CE) n. o 1107/2009 y se deroga el Reglamento (CE) n. o 2003/2003. En este nuevo reglamento, la Unión Europea asume que “determinadas sustancias, mezclas y microorganismos, denominadas bioestimulantes de las plantas, no son aportes de nutrientes propiamente dichos, si bien estimulan los procesos naturales de nutrición. Cuando solo sirven para mejorar la eficiencia en el uso de nutrientes de los vegetales, su tolerancia al estrés abiótico, sus propiedades de calidad, o para incrementar la disponibilidad de nutrientes inmovilizados en el suelo o la rizosfera, tales productos son por naturaleza más similares a los productos fertilizantes que a la mayor parte de las categorías de productos fitosanitarios. Actúan además de los fertilizantes, con el objetivo de optimizar la eficiencia de dichos fertilizantes y reducir las dosis de aplicación de los nutrientes. Por tanto, deben poder ser objeto del mercado CE con arreglo al presente Reglamento y quedar excluidos del ámbito de aplicación del Reglamento (CE) n. o 1107/2009 del Parlamento Europeo y del Consejo. Procede, por tanto, modificar en consecuencia el Reglamento (CE) n. o 1107/2009.” Con este reglamento, la Unión Europea se convierte en el primer organismo de gobierno que reconoce los bioestimulantes como una categoría propia dentro de los aportes agrícolas.

Du Jardin (2012; 2015) proporcionó el primer análisis en profundidad acerca de los bioestimulantes clasificándolos en ocho grupos diferentes: sustancias húmicas, materias orgánicas complejas, elementos químicos beneficiosos, sales inorgánicas, extractos de algas, derivados de la quitina y el quitosano, antitranspirantes y aminoácidos libres y otras sustancias a base de nitrógeno, y haciendo hincapié en que las categorías no son excluyentes pudiendo estar un mismo producto en varias categorías al mismo tiempo. Los estudios de Du Jardin (2015) insisten en que cualquier definición del concepto de bioestimulante debe centrarse en sus funciones de mejora en el rendimiento, la calidad o la eficiencia del cultivo y no en la naturaleza de sus constituyentes o en sus modos de acción. Siendo este enfoque el que sirvió de base para la posterior regulación de los bioestimulantes en la Unión Europea (Yakhin *et al.*, 2017).

Las sustancias húmicas son compuestos naturales que provienen de la descomposición microbiana y de la degradación química de la biota muerta de los suelos (Asli y Neumann, 2010; Wells *et al.*, 2003). Este complejo conjunto de moléculas derivadas de desechos de plantas y animales, representa uno de los materiales orgánicos más abundantes en la tierra (Simpson *et al.*, 2002; Nardi *et al.*, 2002).

Perminova *et al.* (2019) recalcan el notable papel de las sustancias húmicas en varias interacciones suelo-planta-atmósfera entre las que se encuentran: la disponibilidad de nutrientes, el intercambio de gases y la transformación y transporte de elementos tóxicos (Meng *et al.*, 2017). Estas sustancias intervienen en la fisiología de la planta y producen cambios en la composición y función de los microorganismos de la rizosfera (Calvo *et al.*, 2014). Varios estudios inciden en los cambios derivados del aporte de ácidos húmicos en el sistema radical. Vaughan (1974) observó que los ácidos húmicos favorecían el crecimiento radical mediante la elongación de las células de la raíz viéndose incrementas por un lado el número de ramificaciones y por otro el número de raicillas. Nardi *et al.* (2017) consideran que el efecto que producen las sustancias húmicas en la inducción de raíces laterales y el crecimiento de barbada puede ser causado por cambios en las vías energéticas y de transporte a través de las membranas.

Las materias orgánicas complejas derivan de compostajes, estiércol, lodos de depuradoras y otros residuos urbanos. Comúnmente se aplican en vistas a aumentar el porcentaje de materia orgánica del suelo mejorando sus características físico-químicas e incorporando nutrientes que promueven la actividad de las bacterias de la rizosfera. Habitualmente estos compuestos orgánicos suelen contener sustancias de tipo húmico pero también otro tipo de elementos minerales, orgánicos o microbiológicos que juegan papeles muy reveladores en la salud del suelo (Du Jardin, 2012).

Se han identificado 10 elementos químicos beneficiosos que, sin ser esenciales para la fisiología de la planta, pueden mejorar indicadores de crecimiento, desarrollo, respuestas a estímulos ambientales y aprovechamiento de nutrimentos para la planta. Hasta la fecha, los elementos beneficiosos que se contemplan son : aluminio (Al), cerio (Ce), cobalto (Co), yodo (I), lantano (La), sodio (Na), selenio (Se), silicio (Si), titanio (Ti) y vanadio (V), y se ha postulado que plata (Ag), cromo (Cr), flúor (F) y tungsteno o wolframio (W) también puedan tener efectos benéficos en la fisiología de las plantas (Trejo-Télliz & Gómez-Merino, 2012; Cuacua-Temiz & Gómez-Merino, 2017). Entre los efectos descritos de los elementos beneficiosos destacan su capacidad para aumentar la resistencia a los estreses bióticos como patógenos u organismos herbívoros y a los bióticos como sequía, salinidad y toxicidad (Pilon-Smits *et al.*, 2009).

Deliopoulos *et al.*, (2010) y Jabnoun-Khiareddine *et al.* (2016) estudiaron en efecto del aporte de sales inorgánicas en la protección de la planta frente a hongos bien de forma directa bien indirecta estimulando las defensas naturales de la planta. Sus efectos en la fisiología, su respuesta frente a diversos tipos de estreses y su implicación en los rendimientos explican porque estos compuestos inorgánicos son en ocasiones considerados bioestimulantes.

Las algas marinas se consideran uno de los recursos sostenibles con potencial industrial más importantes (Godlewska *et al.*, 2016), si bien su uso en la agricultura es muy antiguo, no ha sido hasta recientemente que, gracias a análisis químicos, inmuno y bioensayos, se han identificado numerosos compuestos de las algas que contribuyen al desarrollo de las plantas (Du Jardin, 2012). Al uso de algas en diferentes cultivos se le han atribuido numerosas ventajas como aumento del desarrollo radical, protección frente a bajas temperaturas, sequia y salinidad, mejora de la actividad fotosintética (Shekhar *et al.*, 2014; Khan *et al.*, 2009), cierta protección frente a hongos, bacterias y virus (Pereira *et al.*, 2019) y aumento de las cosechas y de los rendimientos (Rouphael *et al.*, 2018).

La quitina se encuentra distribuida ampliamente en la naturaleza y pero a nivel industrial habitualmente se obtiene de conchas de crustáceos provenientes de plantas de desecho (Lárez, 2006). El quitosano actúa por un lado específicamente contra hongos (Robledo Moreno *et al.*, 2017) y, además, estimula la expresión de diversos mecanismos defensivos de las plantas (Hernández, 2004). El Hadrami *et al.* (2010) y Yin *et al.* (2010) destacan su rol en la protección contra virus, bacterias, hongos e insectos gracias a la activación de genes de defensa y al desarrollo de la llamada respuesta inmune mediante metabolitos secundarios, quelantes, hidrolasas de las paredes celulares, enzimas inhibidoras y polisacáridos que actúan como barreras físicas.

El uso de antitranspirantes por su lado puede mejorar la eficiencia del uso del agua (Rosati *et al.*, 2006; Evans y Sadler, 2008). Percival y Boyle (2009) y Walters (2006) describen un efecto dual de los antitranspirantes dado que la formación de una película protectora no solo modifica la eficiencia del uso del agua disminuyendo la evapotranspiración, sino que, al mismo tiempo, dificulta el establecimiento y proliferación de patógenos en la superficie de la hoja.

Los aminoácidos han sido relacionados con múltiples procesos fisiológicos y celulares en las plantas. Estudios acerca del efecto de las proteínas hidrolizadas en el metabolismo de determinadas plantas concluyen que se produce una mejora en la eficiencia del uso del nitrógeno lo que conlleva un estímulo de la fotosíntesis y a un mayor crecimiento de la planta (Baroccio *et al.*, 2017). Numerosos autores evidencian que tanto las proteínas hidrolizadas como ciertos aminoácidos específicos como la prolina, la betaina, y sus derivados y precursores, pueden incitar respuestas de defensa en las plantas y acrecentar su tolerancia a ciertos estreses abióticos como la sequía o la salinidad (Nardi *et*

al., 2016; Apone *et al.*, 2010). Bhattacharjee *et al.* (2019) encontraron que los aminoácidos ácido beta-amino butírico (BABA) y ácido gamma-amino butírico (GABA) actúan como señales moleculares endógenas aumentando la resistencia del material vegetal frente a determinados estreses bióticos y abióticos.

Numerosos estudios han demostrado que el uso de bioestimulantes no conlleva peligros para la salud humana ni es fuente de impactos negativos para el medio ambiente. Esto se debe al origen biológico de sus componentes, se caracterizan además, por bajas tasas de aplicación, baja toxicidad, rápida degradación, baja tasa de movilidad en el suelo y por la no aparición de residuos en los alimentos (Mladenova *et al.*, 1998; Ghannam *et al.*, 2003; Thomas *et al.*, 2003; Jannin *et al.*, 2012; Vijayanand *et al.*, 2014; Hernández-Hernández, 2019). El uso de los bioestimulantes puede llegar a ser crucial en la mejora de la sostenibilidad agrícola dado que permitiría aumentar los niveles productivos disminuyendo el impacto ambiental de estos (Ertani *et al.*, 2015). En este sentido, el European Biostimulant Industry Council propone el uso de bioestimulantes como una herramienta innovadora que contribuye a muchos de los objetivos de la Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible aprobada por la Asamblea General de las Naciones Unidas en 2015 dado que su uso complementario con otros tratamientos fertilizantes o sanitarios puede desencadenar un descenso de estos y por tanto producir de forma indirecta efectos positivos en la conservación del medio ambiente.

1.5 Biomasa y aprovechamiento del material vegetal

En los últimos años, y en consecuencia del crecimiento demográfico a nivel mundial, ha quedado patente la creciente necesidad de energía tanto en países desarrollados como en aquellos en vías de desarrollo o subdesarrollados (Cabrera *et al.*, 2014). El foco puesto sobre el medio ambiente, el cambio climático y la sostenibilidad global ha llevado cuestionar la utilización de energías fósiles abogando en su defecto por un mayor uso de fuentes de energía renovables.

En España, el Plan de Energías Renovables (PER) 2011-2020 aprobado por Acuerdo del Consejo de Ministros de 11 de noviembre de 2011, y siguiendo con lo dispuesto por la Directiva 2009/28/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 23 de abril de 2009, relativa al fomento del uso de energía procedente de fuentes renovables tiene como objetivo lograr que al menos el 20 % del consumo final bruto de energía en España proceda del aprovechamiento de las fuentes renovables.

La biomasa es la forma más común de energía renovable, ampliamente utilizada en el tercer mundo, pero hasta hace poco, menos explotada en el mundo occidental (McKendry, 2002).

Hoy en día, existen numerosos tipos de biomasa provenientes de diferentes fuentes. Velázquez (2018) distingue entre dos grandes grupos, por un lado, aquellos que provienen de

plantaciones energéticas y por otro los que derivan de biomasa procedente de residuos o actividades humanas (Tabla 5).

Entendemos por plantaciones energéticas aquellas plantaciones que desde su inicio fueron concebidas con el objetivo principal de obtener recursos que posteriormente se transforman en biocombustibles. En ellas se establecen los denominados cultivos energéticos que se caracterizan por su alto potencial energético y su rápido crecimiento siendo idealmente menor el gasto energético empleado para su producción que el que se obtiene procesando su biomasa (Anawar & Strezov, 2018). Se suelen distinguir dentro de los cultivos energéticos aquellos que producen materiales lignocelulósicos (destinados mayoritariamente a la combustión o gasificación), cultivos cuyo fin es la obtención de granos o semillas cuyo aceite posteriormente se transformará en biodiesel y cereales para la obtención de almidón destinado a producir etanol (Velázquez, 2018).

Por otro lado, la biomasa procedente de residuos o actividades humanas es material vegetal que se obtiene a través de otros productos principales, habitualmente en sus procesos de producción o transformación (Callejón-Ferre, 2011), y su origen puede ser bien agrícola (como por ejemplo en el caso de residuos de poda) bien industrial (como la elaboración del vino o el aceite o las industrias madereras) (Morales, 2008).

Tabla 5. Fuentes de origen de la biomasa con destino energético.

Cultivos energéticos	Herbáceos	Cardo, sorgo, miscanto, girasol, soja, maíz, trigo, cebada, remolacha, especies C4 agrícolas
	Leñosos	Chopos, sauces, eucaliptos, robinas, acacias y especies C4 forestales
Restos y residuos	Restos de cultivos agrícolas	Herbáceos: Paja, restos de cereales, restos de cultivos hortícolas Leñosos: Poda o eliminación de plantaciones de frutales de hueso y pepita, olivo, vid, cítricos etc.
	Restos de operaciones silvícolas	Cortas finales, podas, claras, clareos, apertura de vías y pistas forestales, limpieza de monte para prevención de incendios etc.
	Restos de industrias agroalimentarias	Piel de frutos, cáscaras, huesos, pulpa en industrias de zumos, etc.
	Restos de industrias forestales	Serrines y virutas, polvo de lijado, corteza, tacos y recortes
	Restos de explotaciones ganaderas	Purines, cama animal, animales fallecidos
	Productos o restos marinos	Algas, conchas etc.
	Actividades humanas	Residuos alimenticios, papel y otros residuos industriales

Fuente: Velázquez (2018)

El uso energético de la biomasa proveniente de podas agrarias y renovación de plantaciones en el mercado europeo es a grandes rasgos mucho más reducido que el proveniente de madera forestal u otros cultivos energéticos.

Una gran cantidad de biomasa residual con posible uso energético puede obtenerse de la gestión de la agricultura mediterránea, especialmente en operaciones de poda, renovación de plantaciones o restos de cosecha (González, 2010). El aprovechamiento de esta biomasa no solo supone un input importante para la obtención de energía renovable, sino que también presenta beneficios ambientales como la prevención de incendios (Álvarez *et al.*, 2015) e incluso a través de una gestión eficaz, puede suponer un ingreso adicional para los agricultores.

La rentabilidad obtenida de la gestión de estos recursos para su uso como fuente de energía viene condicionada tanto por el volumen efectivo de biomasa en las parcelas como por la eficiencia de los sistemas de recogida, que deben de facilitar el abastecimiento a las plantas de transformación con el menor coste posible (Budí, 2016). Resulta por tanto imprescindible que esta fuente energética se caracterice mediante análisis físico-químicos y posteriormente se cuantifique y valore (Askew & Holmes, 2002) atendiendo a su carácter bidireccional dado que, por un lado hay que tener en cuenta características del cultivo, como especies, cultivares y edad, y por otro, el manejo del mismo, que a menudo se asocia a hábitos y condiciones locales, como el sistema de formación, el tipo de plantación, la densidad de cultivo, los métodos de poda, el riego y clima (Pari *et al.*, 2018).

Muchos han sido los cultivos estudiados recientemente en vistas al aprovechamiento de sus residuos como fuente primaria de bioenergía: olivo (Fernández *et al.*, 2019; Peinado *et al.*, 2019; Fernández-Sarría *et al.*, 2019); viña (Manzone *et al.*, 2016; Hamedani *et al.*, 2019; Matese *et al.*, 2019); cultivos herbáceos (Liu *et al.*, 2019), manzanos (Dyjakon *et al.*, 2019; Kowaluk *et al.*, 2019; Dyjakon, 2018), ornamentales (Świechowski *et al.*, 2019), ciruelos (Velázquez-Martí & Cazco-Logroño, 2018), almendros (De Hoyos-Martínez *et al.*, 2018, Aguado *et al.*, 2020), naranjos (Velázquez-Martí *et al.*, 2016; Kadyampakeni *et al.*, 2018, Velázquez-Martí *et al.*, 2017).

La posible explotación de la biomasa se debería tener en cuenta como otro factor a considerar en el diseño de nuevas plantaciones. Su uso dependerá del inventario de especies leñosas de cada zona y necesariamente requerirá un conocimiento profundo del volumen, la accesibilidad y el valor calorífico de las especies implantadas (Velázquez-Martí *et al.*, 2014), así como los factores que afectan el crecimiento de los árboles, como las prácticas de manejo (McHale *et al.*, 2009; Droppelmann & Berliner, 2000; Kuyah *et al.*, 2012) o la recolección y eliminación de restos (Dyjakon, 2019) o logística de recogida del material con interés biomásico (Gebresenbet *et al.*, 2018).

Mucho menos conocido es sin embargo el interés por la poda de árboles urbanos siendo el nivel de biomasa obtenido de la poda de árboles urbanos una fuente potencial de energía infravalorada en la actualidad que continúa creciendo con la expansión de las áreas urbanas (Niinemets & Peñuelas, 2008) y que podría contribuir significativamente a las bioeconomías regionales y nacionales en el futuro (MacFarlane, 2009; Li *et al.*, 2017).

La hipótesis de que los bosques urbanos pueden considerarse una fuente subestimada y subutilizada de biomasa de madera está ampliamente respaldada por estudios recientes (Kraxner *et al.*, 2016; Alberdi *et al.*, 2016, Dong *et al.*, 2019, Estornell *et al.*, 2018). El interés en realizar los inventarios de árboles urbanos en vistas a cuantificar sus recursos madereros asociados es creciente y en ocasiones se ha acelerado a un ritmo más rápido del que permite identificar con cierta exactitud

sus características. Es por ejemplo común aplicar modelos alométricos y valores de propiedades de la madera desarrollados a partir de estudios de árboles de bosques rurales a árboles urbanos, a pesar de los grados de inexactitud que puedan existir por la variabilidad en sus condiciones de cultivo (Westfall *et al.*, 2019).

Muestra del interés que suscita el uso de los residuos leñosos de poda agrícola y renovación de plantaciones es la puesta en marcha del proyecto uP_running dentro del programa de financiación europeo Horizonte 2020, liderado por el centro de investigación aragonés CIRCE y, que reúne a 11 socios de 7 países europeos con el fin de promover e impulsar el despegue de este tipo de biomasa con fines energéticos (uP-running, 2018).

Resulta fundamental de cara al aprovechamiento de los residuos leñosos seguir investigando y profundizar en una gama más amplia de especies y ubicaciones geográficas para refinar los resultados y apoyar mejor el análisis de los inventarios de árboles tanto provenientes de plantaciones de cultivos como de índole urbana, que se utilizan cada vez más para el balance del carbono y la evaluación de las materias primas y su uso en la obtención de biocombustibles.

1.6 Referencias

- Aguado, R., Cuevas, M., Pérez-Villarejo, L., Martínez-Cartas, M. L., & Sánchez, S. (2020). Upgrading via wet torrefaction. *Renewable Energy*, 145, 2091-2100.
- Alberdi, I., Gschwantner, T., Bosela, M., Redmond, J., Riedel, T., Snorrason, A., Kulbokas, G. (2016). Harmonisation of Data and Information on the Potential Supply of Wood Resources. In C. Vidal, I. Alberdi, L. Hernández, & J. Redmond (Eds.), *National Forest Inventories* (pp. 55-79). Cham: Springer.
- Adegbeye, M. J., Reddy, P. R. K., Obaisi, A. I., Elghandour, M. M. M. Y., Oyebamiji, K. J., Salem, A. Z. M., & Camacho-Díaz, L. M. (2020). Sustainable agriculture options for production, greenhouse gasses and pollution alleviation, and nutrient recycling in emerging and transitional nations- An overview. *Journal of Cleaner Production*, 242, 118319.
- Almond Almanac 2019*, Almond Board of California. (2019). Recuperado de: http://www.almonds.com/sites/default/files/Almanac_2019_Web_0.pdf
- Álvarez, A., Pizarro, C., García, R., & Bueno, J. L. (2015). Spanish biofuels heating value estimation based on structural analysis. *Industrial Crops and Products*, 77, 983-991.
- Anawar, H. M., & Strezov, V. (2018). Renewable Energy Production from Energy Crops: Effect of Agronomic Practices, Policy, and Environmental and Economic Sustainability. In *Renewable Energy Systems from Biomass* (pp. 89-101). CRC Press.
- Apone, F., Tito, A., Carola, A., Arciello, S., Tortora, A., Filippini, L., Colucci, G. (2010). A mixture of peptides and sugars derived from plant cell walls increases plant defense responses to stress and attenuates ageing-associated molecular changes in cultured skin cells. *Journal of Biotechnology*, 145,(4), 367-376.

- Aroca, A. R., Caravaca, I. B., Alegre, S., Prim, X. M., Gracia, A., & Vichi, S. (2016). Almendras amargas en España: una limitación para su comercio mundial. *Revista de fruticultura*, (49), 184-188.
- Arteaga N., Socias i Company, R. 2005. Heritability of fruit and kernel traits in almond. *Acta Horticulturae*, 591:269-274.
- Askew, M. F., & Holmes, C. A. (2002). The potential for biomass and energy crops in agriculture in Europe, in land use, policy and rural economy terms. *International sugar journal*, 104(1247), 482-492.
- Asli, S., & Neumann, P. (2010). Rhizosphere humic acid interacts with root cell walls to reduce hydraulic conductivity and plant development. *Plant Soil*, 336, 313-322.
- Atkinson, C., & Else, M. (2001). Understanding how rootstocks dwarf fruit trees. *Compact Fruit Tree*, 34(2), 46-49.
- Atli, H. S., Sarpkaya, K., Bozkurt, H., & Ilikcioglu, E. (2013). Nursery performance of GN22 and GF677 almond rootstocks. In *VI International Symposium on Almonds and Pistachios*, 1028, 285-288.
- Aznar-Sánchez, José A., & Velasco-Muñoz, J. (2016). El mercado mundial de la almendra. *Boletín Económico de ICE*. doi: 10.32796/bice.2016.3079.5590.
- Baroccio, F., Barilaro, N., Tolomei, P., & Mascini, M. (2017). Classification of biostimulants origin using amino acids composition of hydrolyzed proteins. *Journal of Horticultural Science and Research*, 1(2), 30-35.
- Basile, B., Reidel, E. J., Weinbaum, S. A., & DeJong, T. M. (2003). Leaf potassium concentration, CO₂ exchange and light interception in almond trees (*Prunus dulcis* (Mill) DA Webb). *Scientia Horticulturae*, 98(2), 185-194.
- Berryman, C., West, S., Fleming, J., & Bordi, P. (2015). Effects of Daily Almond Consumption on Cardiometabolic Risk and Abdominal Adiposity in Healthy Adults With Elevated LDL-Cholesterol: A Randomized Controlled Trial. *Journal American Heart Association*. doi: 10.1161/JAHA.114.000993
- Bhattacharjee, P., Chakraborti, S., Chakraborty, S., & Paul, K. (2018). The Role of Gamma Aminobutyric Acid (GABA) During Abiotic Stress in Plants. In A. Ramakrihna., G. Singh. (Ed.) *Metabolic Adaptations in Plants During Abiotic Stress* (pp. 239-248). Boca Ratón: CRC Press.
- Bielsa, B., Leida, C., & Rubio-Cabetas, M. J. (2016). Physiological characterization of drought stress response and expression of two transcription factors and two LEA genes in three *Prunus* genotypes. *Scientia horticulturae*, 213, 260-269.
- Bommarco, R., Kleijn, D., & Potts, S. G. (2013). Ecological intensification: harnessing ecosystem services for food security. *Trends in ecology & evolution*, 28(4), 230-238.
- Bowes, P. (2014). *Why are almond so expensive?* . [Artículo en Página Web]. Recuperado de: <https://www.bbc.com/news/magazine-26118225>
- Brown, P. (2007). Is there a biological rationale for foliar fertilizers in almond production? *Plant & Soil Conference* (pp. 53-62). Davis, California: University of California.

- Browne, G. T., Connell, J. H., & Schneider, S. M. (2006). Almond replant disease and its management with alternative pre-plant soil fumigation treatments and rootstocks. *Plant disease*, 90(7), 869-876.
- Bruulsema, T. W., Fixen, P. E., & Sulewski, G. D. (Eds.). (2016). *4R plant nutrition: a manual for improving the management of plant nutrition*. Canada: International Plant Nutrition Institute.
- Budí-Orduña, A. (2016). *Estimación del potencial energético de la biomasa residual agrícola y análisis de aprovechamiento en los municipios de la comarca del Alto Palancia*. (Tesis de Maestría). Universitat Jaume I, España.
- Bussi, C., Huguet, J., Besset, J., & Girard, T. (1995). Rootstock effects on the growth and fruit yield of peach. *European Journal of Agronomy*, 4(3), 387-393.
- Cabrera, A., Tozzini, C., Espinoza, S., Santelices, R., & Bonari, E. (2014). Cálculo del balance energético de una plantación de *Populus deltoides* clon Lux con fines energéticos en un sitio con ambiente mediterráneo. *Bosque (Valdivia)*, 35(2), 133-139.
- Cakmak, I. (2002). Plant nutrition research: Priorities to meet human needs for food in sustainable ways. In *Progress in Plant Nutrition: Plenary Lectures of the XIV International Plant Nutrition Colloquium* (pp. 3-24). Netherlands: Springer.
- Callejón Ferre, Á. J. (2011). La biomasa procedente de cultivos agrarios: energía renovable. *Idesia (Arica)*, 29(1), 5-6.
- Campbell-Lendrum, D., & Prüss-Ustün, A. (2019). Climate change, air pollution and non-communicable diseases. *Bulletin of the World Health Organization*, 97(2), 160.
- Caradonia, F., Battaglia, V., Righi, L., Pascali, G., & La Torre, A. (2019). Plant biostimulant regulatory framework: prospects in Europe and current situation at international level. *Journal of Plant Growth Regulation*, 38(2), 438-448.
- Carreño, C. (2004). Determinación del porcentaje de cuaja de frutos en almendro (*Prunus dulcis* (Mill) Webb) cv. Non Pareil, en relación a la influencia de dos cultivares polinizantes ya la actividad polinizadora de *Apis mellifera* L., en la localidad de Nogales quinta region. (Tesis de grado). Pontificia Universidad de Valparaíso. Chile.
- Clark, M., & Tilman, D. (2017). Comparative analysis of environmental impacts of agricultural production systems, agricultural input efficiency, and food choice. *Environmental Research Letters*, 12(6), 064016.
- Company, R., Gómez-Aparisi, J., Alonso-Segura, J. M., Rubio Cabetas, M. J., & Kodad, O. (2009). Retos y perspectivas de los nuevos cultivares y patrones de almendro para un cultivo sostenible. *Información Técnica Económica Agraria*, 105,99-116.
- Córdoba, F., López-Pérez, A. J., Navarro-García, N., & Pérez-Tornero, O. (2018). Mutant citrus rootstocks tolerant to salinity: in vitro assessment of the growth changes produced by salt. *Acta Horticulturae*, 1230, 59-66.
- Cuacua-Temiz, C., Trejo-Téllez, L. I., Velasco-Velasco, J., & Gómez-Merino, F. C. (2017). Efecto de los elementos benéficos Al, Co, Se y Si en la nutrición de heliconias (*Heliconia* sp.). *AGROProductividad*, 10(3), 62-69.

- De Hoyos-Martínez, P. L., Erdocia, X., Charrier-El Bouhtoury, F., Prado, R., & Labidi, J. (2018). Multistage treatment of almonds waste biomass: Characterization and assessment of the potential applications of raw material and products. *Waste management*, *80*, 40-50.
- De Nettancourt, D. (2001). Incompatibility and incongruity in wild and cultivated plants. Verlag, Berlin: Springer
- Deliopoulos, T., Kettlewell, P., & Hare, M. (2010). Fungal disease suppression by inorganic salts. A review. *Crop Protection*, *29*, 1059-1075.
- Diakosavvas, D., & Frezal, C (2019). Bio-economy and the sustainability of the agriculture and food system: Opportunities and policy challenges, *OECD Food, Agriculture and Fisheries Papers*, *136*. doi: 10.1787/d0ad045d-en.
- Directiva 91/414/CEE del consejo, de 15 de julio de 1991, relativa a la Comercialización de productos fitosanitarios. *Diario Oficial*. 19 de agosto de 1991, núm. 230, pp 001-032.
- Dong, C., Wang, Y., Wang, H., Lin, C. S. K., Hsu, H. Y., & Leu, S. Y. (2019). New Generation Urban Biorefinery toward Complete Utilization of Waste Derived Lignocellulosic Biomass for Biofuels and Value-Added Products. *Energy Procedia*, *158*, 918-925.
- Droppelmann, K. J., & Berliner, P. R. (2000). Biometric relationships and growth of pruned and non-pruned *Acacia saligna* under runoff irrigation in northern Kenya. *Forest Ecology and Management*, *126*(3), 349-359.
- Du jardin, P. (2012). *The Science of Plant Biostimulants - A bibliographic analysis, Ad hoc study report*. Liège: European Commission.
- Du Jardin, P. (2015). Plant biostimulants: definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae*, *195*, 3-14.
- Dyjakon, A. (2018). Harvesting and baling of pruned biomass in apple orchards for energy production. *Energies*, *11*(7), 1680. doi: 10.3390/en11071680
- Dyjakon, A. (2019). The Influence of Apple Orchard Management on Energy Performance and Pruned Biomass Harvesting for Energetic Applications. *Energies*, *12*(4), 632. doi: 10.3390/en12040632.
- Dyjakon, A., den Boer, J., Szumny, A., & den Boer, E. (2019). Local Energy Use of Biomass from Apple Orchards—An LCA Study. *Sustainability*, *11*(6), 1604. doi:10.3390/su11061604
- Egea, J., & Dicenta, F. (2005). Deficiencias productivas y soluciones propuestas para el almendro . *Vida Rural*, 62-65.
- Erismann, J. W., Sutton, M. A., Galloway, J., Klimont, Z., & Winiwarer, W. (2008). How a century of ammonia synthesis changed the world. *Nature Geoscience*, *1*(10), 636.
- Ertani, A., Sambo, P., Nicoletto, C., Santagata, S., Schiavon, M., & Nardi, S. (2015). The use of organic biostimulants in hotpepper plants to help low input sustainable agriculture. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, *2*, 11. doi: 10.1186/s40538-015-0039-z
- Espada, J., Romero, J., Camuñas, F., & Alonso, J. (2013). *Nuevos patrones para el melocotonero: mejora de la eficiencia y calidad del fruto*. Zaragoza: Gobierno de Aragón.

- Estornell, J., Velázquez-Martí, B., Fernández-Sarría, A., & Martí, J. (2018). Lidar methods for measurement of trees in urban forests. *Journal of Applied Remote Sensing*, 12(4), 046009. doi: 10.1117/1.JRR.12.046009
- European Biostimulant Industry Council. (17 de abril de 2013). *Economic overview of the biostimulants sector in Europe*. Recuperado de: http://www.biostimulants.eu/wp-content/uploads/2013/04/Biostimulant_economics_17April2013.pdf.
- Expósito, A., & Velasco, F. (2020). Exploring environmental efficiency of the European agricultural sector in the use of mineral fertilizers. *Journal of Cleaner Production*, 253, 119971.
- FAO. 2019. Código Internacional de Conducta para el Uso y Manejo de Fertilizantes. Roma.
- Felipe Mansergas, A. (29 de agosto de 2018). Patrones para el cultivo del almendro. [Publicación de Blog]. Recuperado de: <http://hdl.handle.net/10532/4188>
- Felipe, A. (2000). Perspectivas sobre el cultivo del almendro. *Horticultura*, 142, 16-22.
- Felipe, A. J. (1989). Almendro: comportamiento de algunas variedades frente a heladas tardías. *Fruticultura Profesional*, 27, 45-50.
- Felipe, A. J. (2000). *El almendro: el material vegetal. I*. Zaragoza: Mira Editores S.A.
- Felipe, A. J. (2002). Overlook on almond cultivars and rootstocks: a Life Experience. *Acta Horticulturae*, 591, 29-44.
- Fernández i Martí, A. V. (2010). *La autocompatibilidad en el almendro (Prunus amygdalus Batsch): estructura genética del alelo Sf y modificaciones de su expresión* (Doctoral dissertation), Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón, España.
- Fernández, J. L., Sáez, F., Castro, E., Manzanares, P., Ballesteros, M., & Negro, M. J. (2019). Determination of the Lignocellulosic Components of Olive Tree Pruning Biomass by Near Infrared Spectroscopy. *Energies*, 12(13), 2497. doi: 10.3390/en12132497
- Fernández-Sarría, A., López-Cortés, I., Estornell, J., Velázquez-Martí, B., & Salazar, D. (2019). Estimating residual biomass of olive tree crops using terrestrial laser scanning. *International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation*, 75, 163-170.
- Flies, E. J., Brook, B. W., Blomqvist, L., & Buettel, J. C. (2018). Forecasting future global food demand: A systematic review and meta-analysis of model complexity. *Environment international*, 120, 93-103.
- Font i Forcada, C., Gogorcena, Y., & Moreno, M. Á. (2012). Agronomical and fruit quality traits of two peach cultivars on peach-almond hybrid rootstocks growing on Mediterranean conditions. *Scientia Horticulturae*, 140, 157-163.
- Gainza, F., Opazo, I., Guajardo, V., Meza, P., Ortiz, M., Pinochet, J., & Muñoz, C. (2015). Rootstock breeding in *Prunus* species: Ongoing efforts and new challenges. *Chilean journal of agricultural research*, 75, 6-16.
- Galloway, J. N., Townsend, A. R., Erisman, J. W., Bekunda, M., Cai, Z., Freney, J. R., ... Sutton, M. A. (2008). Transformation of the nitrogen cycle: Recent trends, questions, and potential solutions. *Science*, 320, 889- 892.

- García-Serrano, P., Lucena, J. J., Ruano, S., & Nogales, M. (2009). Guía práctica de la fertilización racional de los cultivos en España. Parte I-El suelo, los nutrientes, los fertilizantes y la fertilización. Madrid: Editorial Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino,.
- García-Serrano, P., Ruano, S., & Lucena, J. N. (2010). *Guía práctica de la fertilización racional de los cultivos en España*. Madrid, España: Ministerio de medio ambiente y del medio rural y marino.
- Garibaldi, L. A., Gemmill-Herren, B., D'Annolfo, R., Graeub, B. E., Cunningham, S. A., & Breeze, T. D. (2017). Farming approaches for greater biodiversity, livelihoods, and food security. *Trends in ecology & evolution*, 32(1), 68-80.
- Gebresenbet, G., Bosona, T., Olsson, S. O., & Garcia, D. (2018). Smart System for the optimization of logistics performance of the pruning biomass value chain. *Applied Sciences*, 8(7), 1162. doi: 10.3390/app8071162
- Ghannam, A., Abbas, A., Alek, H., Al-Waari, Z., & Al-Ktaifani, M. (2013). Enhancement of local plant immunity against tobacco mosaic virus infection after treatment with sulphated-carrageenan from red alga (*Hypnea musciformis*). *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 84:19-27.
- Giorgi, M., Capocasa, F., Scalzo, J., Murri, G., Battino, M., & Mezzetti, B. (2005). The rootstock effects on plant adaptability, production, fruit quality, and nutrition in the peach (cv. 'Suncrest'). *Scientia Horticulturae*, 107(1), 36-42.
- Girona, J. (2007). Respuesta productiva del almendro al riego. *Dossier tècnic : El almendro*, 22, 1-28.
- Godfray, H.C.J., & Garnett, T. (2014). Food security and sustainable intensification. *Philosophical transactions of the Royal Society B: biological sciences*, 369(1639), 20120273.
- Godini, A. (2002). Almond fruitfulness and role of self-fertility. *Acta Horticulturae*, 591: 191-204.
- Godlewska, K., Michalak, I., Tuhy, Ł., & Chojnacka, K. (2016). Plant growth biostimulants based on different methods of seaweed extraction with water. *BioMed research international*. doi: 10.1155/2016/5973760
- González, E. F. (2010). *Análisis de los procesos de producción de biomasa residual procedente del cultivo de frutales mediterráneos. Cuantificación, cosecha y caracterización* (Doctoral dissertation), Universitat Politècnica de València, España.
- Gou, P., Díaz, I., Guerrero, L., Valero, A., & Arnau, J. (2000). Physico-chemical and sensory property changes in almonds of Desmayo Largueta variety during roasting. *Food Science and Technology International*, 6: 1-7.
- Gradziel, T. M. (2017). *Almonds: Botany, Production and Uses*. CABI.
- Grasselly C., & Olivier G. (1976). Mise en évidence de quelques types auto compatibles parmi les cultivars d'amandier (*P. amygdalus* Batsch) de la population des pouilles. *Annales de l'Amélioration des Plantes*, 26: 107-108.
- Grasselly, C. (1972). L'amandier: Caractères morphologiques et physiologiques des variétés, modalité de leur transmission chez les hybrides de première génération (Tesis doctoral). Université de Bordeaux. Francia.
- Grasselly, C. (1976). Origine et évolution de l'amandier cultivé. *Options Méditerranéennes*, 32, 45-50.

- Grasselly, C., & Crossa-Raynaud, P. (1980). *L'amandier*. G.P. Paris : Maisonneuve et Larouse.
- Grasselly, C., & Crossa-Raynaud, P. (1984). *El almendro*. Madrid: Mundi-Prensa Ed.
- Gruhn, P., Goletti, F., & Yudelman, M. (2000). *Integrated nutrient management, soil fertility and sustainable agriculture: Current issues and future challenges*. Washington: International Food Policy Research Institute.
- Gülcan, R. (1985). *Almond descriptors (revised)*. Rome: IBPGR.
- Hamdi, E., & Abadía, J. (2013). Estimación de las necesidades de nutrientes en frutales de hoja caduca: el caso del melocotonero. *Vida Rural*, 32-36.
- Hamedani, S. R., Colantoni, A., Gallucci, F., Salerno, M., Silvestri, C., & Villarini, M. (2019). Comparative energy and environmental analysis of agro-pellet production from orchard woody biomass. *Biomass and Bioenergy*, 129, 105334. doi: 10.1016/j.biombioe.2019.105334
- Harris, N.E., Wescott, D.E., & Enick, A.S. (1972). Rancidity in almonds: shelf life studies. *Journal of Food Science*, 37, 824-827.
- Hernández-Hernández, G., Salazar, D. M., Martínez-Tomé, J., & López-Cortés, I. (2019). The Use of Biostimulants in High-density Olive Growing: Quality and Production. *Asian Journal of Advances in Agricultural Research*, 10(4), 1-11.
- Huang, Y., Tang, R., Cao, Q., & Bie, Z. (2009). Improving the fruit yield and quality of cucumber by grafting onto the salt tolerant rootstock under NaCl stress. *Scientia Horticulturae*, 122(1), 26-31.
- Iglesias, I. (2019). El almendro en seto autoenraizado: una nueva alternativa productiva para los secanos. *Horticultura*, 10, 219.
- Instituto Técnico Agronómico Provincial de Albacete (2014). *Jornada Técnica del Almendro 2014*. Albacete, España.
- Jabnoun-Khiareddine, H., Abdallah, R., El-Mohamedy, R., Abdel-Kareem, F., Gueddes-Chahed, M., Hajlaoui, A., & Daami-Remadi, M. (2016). Comparative efficacy of potassium salts against soil-borne and air-borne fungi and their ability to suppress tomato wilt and fruit rots. *Journal of Microbial and Biochemical Technology*, 8(2), 45-55.
- Jannin, L., Arkoun, M., Ourry, A., Laîné, P., Goux, D., Garnica, M.,... Etienne, P. (2012). Microarray analysis of humic acid effects on Brassica napus growth: involvement of N, C and S metabolisms. *Plant and Soil*, 359:297-319.
- Johnson, C. W. (2006). What are emergent properties and how do they affect the engineering of complex systems?. *Reliability Engineering and System Safety*, 91, 1475-1481.
- Kadyampakeni, D. M., Morgan, K. T., & Schumann, A. W. (2016). Biomass, nutrient accumulation and tree size relationships for drip-and microsprinkler-irrigated orange trees. *Journal of Plant Nutrition*, 39(5), 589-599.
- Kalita, S., Khandelwal, S., Madan, J., Pandya, H., Sesikeran, B., & Krishnaswamy, K. (2018). Almonds and cardiovascular health: A review. *Nutrients*, 10(4), 468. doi: 10.3390/nu10040468.

- Kamal-Eldin A., & Appelqvist L.A. (1996). The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids*, 31: 671-701.
- Kester, D. E., Micke, W.C., Morrison, D., & Curtis, R. (1980). Almond variety evaluation. *California Agriculture*, 34: 4-7.
- Kester, D., Gradziel, T., & Grasselly, C. (1991). *Almonds (Prunus) in Genetic Resources of Temperate Fruit and Nut Crops I*. Wageningen: The International Society for Horticultural Science.
- Kester, D.E., Gradziel, T.M., & Grasselly, C. (1990). Almond. In: J.N. Moore., & J.R. Ballington, jr. (Eds). *Genetic resources of temperate fruit and nut crops*. (pp 699-758). The Netherlands, Wageningen: ISHS.
- Khan, W., Rayirath, UP., Subramanian, S., Jithesh, MN., Rayorath, P., Hodges, DM.,... Prithiviraj, B. (2009). Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. *Journal of Plant Growth Regulation*, 28:386-399.
- Kodad, O. (2006). Criterios de selección y de evaluación de nuevas obtenciones autocompatibles en un programa de mejora genética del almendro (*Prunus amygdalus* Batsch). (Tesis Doctoral). Universitat de Lleida. España.
- Kowaluk, G., Szymanowski, K., Kozłowski, P., Kukula, W., Sala, C., Robles, E., & Czarniak, P. (2019). Functional Assessment of Particleboards Made of Apple and Plum Orchard Pruning. *Waste and Biomass Valorization*, 1-10. doi: 10.1007/s12649-018-00568-8
- Kraxner, F., Aoki, K., Kindermann, G., Leduc, S., Albrecht, F., Liu, J., & Yamagata, Y. (2016). Bioenergy and the city-what can urban forests contribute?. *Applied Energy*, 165, 990-1003.
- Krings, U., & Berger, R.G. (2001). Antioxidant activity of some roasted foods. *Food Chemistry*, 72, 223-229.
- Kuyah, S., Dietz, J., Muthuri, C., Jamnadass, R., Mwangi, P., Coe, R., & Neufeldt, H. (2012). Allometric equations for estimating biomass in agricultural landscapes: II. Belowground biomass. *Agriculture, ecosystems & environment*, 158, 225-234.
- La Notte, A., Maes, J., Dalmazzone, S., Crossman, N. D., Grizzetti, B., & Bidoglio, G. (2017). Physical and monetary ecosystem service accounts for Europe: A case study for in-stream nitrogen retention. *Ecosystem services*, 23, 18-29.
- Lárez, C. (2006). Quitina y quitosano: materiales del pasado para el presente y el futuro. *Avances en química*, 1(2), 15-21.
- Li, S. (2014). Almonds Are Sucking the Life Out of California. *The Atlantic*, 1-4.
- Li, T., Zhang, W., Yin, J., Chadwick, D., Norse, D., Lu, Y., Dou, Z. (2018). Enhanced-efficiency fertilizers are not a panacea for resolving the nitrogen problem. *Global change biology*, 24(2), e511-e521.
- Li, Y., Zhou, L. W., & Wang, R. Z. (2017). Urban biomass and methods of estimating municipal biomass resources. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 80, 1017-1030.
- Liu, E. X., & Takahashi, T. (2019). Effect of urban green biomass (pruning materials) compost on the growth of komatsuna (*Brassica rapa* L. var. *perviridis* LH Bailey) in different soils. *IOP*

Conference Series: Earth and Environmental Science, 346(1), 012079. doi: 10.1088/1755-1315/346/1/012079

- Lonja de Reus (2019). *Histórico de precios de la Lonja de Reus*. [Página Web]. Recuperado de: <http://www.llotjadereus.org/?go=e6598a7e63ddfde8a9557f334d3f9063f1a92bcf0018cd07976fe59ff9f4f7d6fe76da618ed95779d7c71aeeec80bf31503cc89adc29c274ceb1c339f88d604ad>
- López-Cortés, I., Mondragón-Valero, A., Salazar, D.M. (2017). Patrones de almendro: evaluación de la evolución del desarrollo de raíces ante el uso de fitofortificantes. *Revista de fruticultura*, (57), 16-31.
- López-Fuster, P., & Peña de la Fuente, M. (2019). *El almendro. Guía práctica de cultivo*. España: Mundi-Prensa Libros.
- Macci, C., Doni, S., Peruzzi, E., Masciandaro, G., Mennone, C., & Ceccanti, B. (2012). Almond tree and organic fertilization for soil quality improvement in southern Italy. *Journal of environmental management*, 95, S215-S222.
- MacFarlane, D. W. (2009). Potential availability of urban wood biomass in Michigan: Implications for energy production, carbon sequestration and sustainable forest management in the USA. *Biomass and bioenergy*, 33(4), 628-634.
- Mandalari, G. (2012). Potential Health Benefits of Almond Skin. *Bioprocessing & Biotechniques*, 2(5). doi: 10.4172/2155-9821.1000e110
- Manzone, M., Paravidino, E., Bonifacino, G., & Balsari, P. (2016). Biomass availability and quality produced by vineyard management during a period of 15 years. *Renewable energy*, 99, 465-471.
- Marschner, H. (2012). *Marschner's mineral nutrition of higher plants*. Estados Unidos de América: Academic Press.
- Martínez, M. (2003). Evaluación de la actividad polinizadora de *Apis mellifera* L. y otros insectos asociados a la floración de tres cultivares de almendro (*Prunus dulcis* (Mill) Webb) y tres cultivares de peral asiático (*Pyrus pyrifolia* Nakai), en la localidad de Nogales, quinta región. (Tesis de grado). Pontificia Universidad de Valparaíso. Chile.
- Marull, J., Pinochet, J., Verdejo, S., & Soler, A. (1991). Reaction of *Prunus rootstocks* to *Meloidogyne incognita* and *M. arenaria* in Spain. *Journal of Nematology*, 23: 564-569.
- Mateos, J. L., Dicenta, F., & Egea, J. (2018). Elección del patrón para el cultivo del almendro en secano. *Revista de fruticultura*, (61), 44-53.
- Matese, A., Cinat, P., Romboli, Y., Berton, A., & Di Gennaro, S. F. (2019). Missing plant detection and biomass estimation from 3D models generated from UAV in a vineyard. In *Precision agriculture'19* (p. 111). Wageningen, The Netherlands: Wageningen Academic Publishers.
- McNeill, J., Barrie, F., Buck, W., Demoulin, V., Greuter, W., Hawksworth, P. S.,...Wiersema, J. (2012). *International Code of Nomenclature for algae, fungi and plants (Melbourne Code)*. Koenigstein: Koeltz scientific books.

- McHale, M. R., Burke, I. C., Lefsky, M. A., Peper, P. J., & McPherson, E. G. (2009). Urban forest biomass estimates: is it important to use allometric relationships developed specifically for urban trees?. *Urban Ecosystems*, 12(1), 95-113.
- McKendry, P. (2002). Energy production from biomass (Part 2): conversion technologies. *Bioresource technology*, 83(1), 47-54.
- Meng, F., Yuan, G., Wei, J., Bi, D., Ok, Y. S., & Wang, H. (2017). Humic substances as a washing agent for Cd-contaminated soils. *Chemosphere*, 181, 461-467.
- Miarnau, X., Vargas, F.J., Batlle, I., Rovira, M., & Alegre, S. (2018). *l'ametller, una alternativa de cultiu*. Recuperado de: https://ruralcat.gencat.cat/c/document_library/get_file?uuid=3b2427e2-31a7-4c92-bc62-03bba1f48f0&groupId=20181
- Miarnau, X., Rovira, M., Batlle, I., Alegre, S., & Vargas, F.J. (2013). Improving fruit set in self-fertile almond cultivars with bumblebees. In *VI International Symposium of Almonds and Pistachios, March 27-31, Murcia, España*. Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/253651677_Improving_fruit_set_in_self-fertile_almond_cultivars_with_bumblebees
- Miarnau, X., Torguet, L., Batlle, I., Alegre, S. & Rovira, M. (2017). Differences in flower and fruit drop patterns in almond cultivars. In *VII International Symposium on Almond and Pistachios, Noviembre 5-7 2017*. Simposio llevado a cabo en Adelaide, Australia.
- Miarnau, X., Torguet, L., Batlle, I., Romero, A., Rovira, M. y Alegre, S. (2016). Comportamiento Agronómico y productivo de las nuevas variedades de almendro. *Fruticultura Profesional, Almendro*: 42-59.
- Miarnau, X., Torguet, L., Zazurca, L., Maldonado, M., Girabet, R., Batlle, I., & Rovira, M. (2018). El futuro del almendro en España: ¿Será posible producir 4.000 kg de grano/ha?. *Horticultura* (22), 21-35.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (2019). Anuario de Estadística, avance 2018. Madrid, Catálogo de Publicaciones de la Administración General del Estado.
- Mladenova, YI., Maini, P., Mallegni, C., Goltsev, V., Vladova, R., Vinarova, K., & Rocheva, S. (1998). Siapton—an amino-acid-based biostimulant reducing osmotic stress metabolic changes in maize. *Agro Food Industry Hi Tech*, 9, 18-22.
- Moleman, A. L., Schulp, C. J., & Verburg, P. H. (2019). Assessing the environmental impacts of production-and consumption-side measures in sustainable agriculture intensification in the European Union. *Geoderma*, 338, 555-567.
- Morales Calvo, G. (2008). Los residuos biomásicos: algunos ejemplos de aprovechamiento integral. In J. Rodríguez. (Ed.), *Hacia un uso sostenible de los recursos naturales* (pp. 79-90). Sevilla, España: Universidad Internacional de Andalucía.
- Morales-Padilla, M. M., del Rocío Ávila-Jácome, J., & Barrera-Alina, P. (2018). Optimización de las condiciones de extracción y parámetros cromatográficos en la determinación de amígdalina en las almendras dulces y amargas. *Polo del Conocimiento*, 3(6), 194-207.
- Moreno, M., Gogorcena, Y., & Pinochet, J. (2008). Mejora y selección de patrones de *Prunus* tolerantes a estreses abióticos. En *La adaptación al ambiente y los estreses abióticos en la mejora vegetal*

- (pp. 451-475). Sevilla: Junta de Andalucía, Dirección General de Planificación y Análisis de Mercados, Servicio de Publicaciones y Divulgación.
- Muhammad, S., Saa, S., Khalsa, S. D. S., Weinbaum, S., & Brown, P. (2017). Almond Tree Nutrition. *Almonds: Botany, Production and Uses*, 291.
- Muncharaz, M. (2004). *El Almendro. Manual Técnico*. Madrid: Mundi-Prensa Libros.
- Muncharaz, M. (2017). *El almendro. Manual técnico*. Mundi-Prensa Libros.
- Nardi, S., Ertani, A., & Francioso, O. (2017). Soil-root cross-talking: The role of humic substances. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 180(1), 5-13.
- Nardi, S., Pizzeghello, D., Muscolo, A., & Vianello, A. (2002). Physiological effects of humic substances on higher plants. *Soil Biology and Biochemistry*, 34, 1527-1536.
- Nardi, S., Pizzeghello, D., Schiavon, M., & Ertani, A. (2016). Plant biostimulants: physiological responses induced by protein hydrolyzed-based products and humic substances in plant metabolism. *Scientia Agricola*, 73(1), 18-23.
- Navarro, J. M. S. (2013). *Preparación del terreno para la instalación de infraestructuras y plantación de frutales. AGAF0108*. IC Editorial.
- Niinemets, Ü., & Peñuelas, J. (2008). Gardening and urban landscaping: significant players in global change. *Trends in Plant Science*, 13(2), 60-65.
- Organización de las Naciones Unidas. (25 de septiembre de 2015). La resolución 70/01 de la Asamblea General "Transformar nuestro mundo: la Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible" [Página web]. Recuperado de https://www.un.org/ga/search/view_doc.asp?symbol=A/RES/70/1&Lang=S
- Ortega, E., & Dicenta, F. (2006). Self-fertilization in homozygous and heterozygous self-compatible almonds. *Scientia horticultrae*, 109(3), 288-292.
- Ortega, E., Egea, J., & Dicenta, F. (2004). Effective pollination period in almond cultivars. *Hort Science*, 39: 19-22.
- Ortega, E., Egea, J., Cánovas, J., & Dicenta, F. (2002). Pollen tube dynamics following half-and fully-compatible pollinations in self-compatible almond cultivars. *Sexual Plant Reproduction*, 15(1), 47-51.
- Ortiz-Sánchez, F. J., & Tinaut, A. (1993). Composición y variación latitudinal de la fauna de polinizadores potenciales del almendro, *Prunus dulcis* (Mill.), en la provincia de Granada (sur de España). *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas*, 19(3), 491-502.
- Özarslandan, A., & Tanriver, E. (2018). Evaluation of some stone fruit rootstocks against resistance to root knot nematode (*Meloidogyne incognita*). *International Journal of Agricultural and Natural Sciences*, 1(2), 137-141.
- Parađiković, N., Vinković, T., Vinković Vrček, I., Žuntar, I., Bojić, M., & Medić-Šarić, M. (2011). Effect of natural biostimulants on yield and nutritional quality: an example of sweet yellow pepper (*Capsicum annuum* L.) plants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91, 2146-2152.

- Pari, L., Alfano, V., Garcia-Galindo, D., Suardi, A., & Santangelo, E. (2018). Pruning biomass potential in Italy related to crop characteristics, agricultural practices and agro-climatic conditions. *Energies*, *11*(6), 1-16.
- Parle, M. y Bhorja, M. (2010). Almond: a health diamond. *Annals of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, *1*(2), 147-151.
- Peinado, S., Mateo, S., Sánchez, S., & Moya, A. J. (2019). Effectiveness of Sodium Borohydride Treatment on Acid Hydrolyzates from Olive-Tree Pruning Biomass for Bioethanol Production. *BioEnergy Research*, *12*(2), 302-311.
- Pereira, L., Bahcevandziev, K., & Joshi, N. H. (Eds.). (2019). *Seaweeds as Plant Fertilizer, Agricultural Biostimulants and Animal Fodder*. CRC Press.
- Perminova, I. V., García-Mina, J. M., Knicker, H., & Miano, T. (2019). Humic substances and nature-like technologies. *Journal of Soils and Sediments*, *19*(6), 2663-2664.
- Pilon-Smits, E., Quinn, C., Tapken, W., Malagoli, M., & Shavon, M. (2009). Physiological functions of beneficial elements. *Current Opinion Plant Biology*, *12*, 267-274.
- Pinochet, J. (2010). 'Replantpac'(Rootpac® R), a plum-almond hybrid rootstock for replant situations. *HortScience*, *45*(2), 299-301.
- Pretty, J. N. (1997, November). The sustainable intensification of agriculture. In Natural resources forum (Vol. 21, No. 4, pp. 247-256). Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd.
- Rafiee, H., Naghdi Badi, H., Mehrafarin, A., Qaderi, A., Zarinpanjeh, N., Sekara, A., & Zand, E. (2016). Application of plant biostimulants as new approach to improve the biological responses of medicinal plants—a critical review. *Journal of Medicinal Plants Research*, *15*, 6-39.
- Rahneshan, Z., Nasibi, F., & Moghadam, A. A. (2018). Effects of salinity stress on some growth, physiological, biochemical parameters and nutrients in two pistachio (*Pistacia vera* L.) rootstocks. *Journal of Plant Interactions*, *13*(1), 73-82.
- Rajanayaka, C., Weir, J., Barkle, G., Griffiths, G., & Hadfield, J. (2020). Assessing changes in nitrogen contamination in groundwater using water aging: Waikato River, New Zealand. *Journal of Contaminant Hydrology*, 103686.
- Real Decreto 1201/2002, de 20 de noviembre, por el que se regula la producción integrada de productos agrícolas. *Boletín Oficial del Estado*. Madrid, 30 de noviembre de 2002, núm. 287, pp. 42028 - 42040
- Real Decreto 506/2013, de 28 de junio, sobre productos fertilizantes. *Boletín Oficial del Estado*. Madrid, 10 de julio de 2013, núm. 164, pp. 51119 - 51207.
- Reddy, Y. T. N., Kurian, R. M., Ramachander, P. R., Singh, G., & Kohli, R. R. (2003). Long-term effects of rootstocks on growth and fruit yielding patterns of 'Alphonso' mango (*Mangifera indica* L.). *Scientia Horticulturae*, *97*(2), 95-108.
- Región de Murcia, Orden de 30 de junio de 2016, de la Consejería de Agua, Agricultura y Medio Ambiente por la que se modifican las Órdenes de 29 de mayo de 2014, de la Consejería de Agricultura y Agua, por las que se regulan las normas técnicas de producción integrada en los

cultivos de almendro, cerezo, peral y olivo. *Boletín oficial de la Región de Murcia*, 07 de julio de 2016, núm. 156, pp. 21801 - 21834.

Reglamento (CE) nº 1107/2009 del parlamento europeo y del consejo, de 21 de octubre de 2009, relativo a la comercialización de productos fitosanitarios y por el que se derogan las Directivas 79/117/CEE y 91/414/CEE del Consejo. DOUE-L-2009-82202. *Diario Oficial de la Unión Europea*. 24 de noviembre de 2009, núm. 309, pp.1-50.

Reglamento (UE) 2019/1009 del parlamento europeo y del consejo, de 5 de junio de 2019, por el que se establecen disposiciones relativas a la puesta a disposición en el mercado de los productos fertilizantes UE y se modifican los Reglamentos (CE) n. o 1069/2009 y (CE) n. o 1107/2009 y se deroga el Reglamento (CE) n. o 2003/2003. *Diario Oficial de la Unión Europea*. 25 de junio de 2019, núm. 170, pp. 1-114.

Reidel, E., Brown, P., Duncan, R., & Weinbaum, S. (2001). Almond productivity as related to tissue potassium. *Better Crops With Plant Food*(3), 21-23.

Rigau, A. (1988). *Cultivo del almendro*. Barcelona: Sintes Ed.

Rizzolo, A., Senesi E., & Colombo, C. (1994). Studies on the storage of shelled and in-shelled almonds. *Acta Horticulturae*. 373: 259-261.

Robledo Moreno, A. M., Argel Roldan, L. E., & Meneses Ramírez, E. A. (2017). *Detección de sustancias antifúngicas en plantas de banano (Musa spp.) tratadas con quitina y su efecto contra Mycosphaerella fijiensis*. (Tesis de pregrado). Universidad CES, Colombia.

Rodriguez, I., & Carrascosa, M. (2010). El almendro: Confusión nomenclatural y problemática del cultivo en España. *III Congreso de Estudiantes Universitarios de Ciencia, Tecnología e Ingeniería Agronómica* . (pp. 19-22). Madrid : Universidad Politécnica de Madrid.

Romero F. (2003). *La calidad de la almendra*. Curso técnico de frutos secos. Confederación de Cooperativas Agrarias de España.

Rouphael, Y., Giordano, M., Cardarelli, M., Cozzolino, E., Mori, M., Kyriacou, M., & Colla, G. (2018). Plant-and seaweed-based extracts increase yield but differentially modulate nutritional quality of greenhouse spinach through biostimulant action. *Agronomy*, 8(7), 126. doi:10.3390/agronomy8070126

Rubio Cabetas, M. J. (2015). Innovación varietal de almendro. Recuperado de <http://www.agro-alimentarias.coop/ficheros/doc/05978.pdf>

Rubio-Cabetas, M. J., Felipe, A. J., & Reighard, G. L. (2017). Rootstock Development. R. Socias i Company., T. M, Gradziel (Eds.), *Almonds. Botany, Production and Uses* (pp. 209-227). Estados Unidos de América: CABI.

Saa, S., Brown, P. H., Muhammad, S., Olivos-Del Rio, A., Sanden, B. L., & Laca, E. A. (2014). Prediction of leaf nitrogen from early season samples and development of field sampling protocols for nitrogen management in Almond (*Prunus dulcis* [Mill.] DA Webb). *Plant and soil*, 380(1-2), 153-163.

Saa, S., Muhammad, S., & Brown, P. H. (2012). Development of leaf sampling and interpretation methods and nutrient budget approach to nutrient management in almond (*Prunus dulcis* (Mill.) DA Webb). *Acta Horticulturae*, 984, 291-296.

- Saa, S., Peach-Fine, E., Brown, P., Michailides, T., Castro, S., Bostock, R., & Laca, E. (2016). Nitrogen increases hull rot and interferes with the hull split phenology in almond (*Prunus dulcis*). *Scientia horticulturae*, 199, 41-48.
- Salazar, D., & Melgarejo, P. (2002). *Frutales leñosos: Frutales de zonas áridas. El cultivo del almendro*. Madrid: mundi-prensa ed.
- Sánchez-Bel, P., Egea, I., Martínez-Madrid, M. C., Flores, B., & Romojaro, F. (2008). Influence of irrigation and organic/inorganic fertilization on chemical quality of almond (*Prunus amygdalus* cv. Guara). *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(21), 10056-10062.
- Santana-Vieira, D. D. S., Freschi, L., da Hora Almeida, L. A., De Moraes, D. H. S., Neves, D. M., Dos Santos, L. M., da Silva Gesteira, A. (2016). Survival strategies of citrus rootstocks subjected to drought. *Scientific reports*, 6, 38775. doi: 10.1038/srep38775
- Saura-Calixto F., & Cañellas J. (1982). Mineral composition of almond varieties (*Prunus amygdalus*). *Z. Lebensm.-Unters Forsch*, 174: 129-131.
- Saura-Calixto, F., Bauzá, M., Martínez de Toda, F., & Argamentería, A. (1981). Amino acids, sugars, and inorganic elements in the sweet almond. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 29: 509-511.
- Savé, R., Peñuelas, J., Marfá, O., & Serrano, L. (1993). Changes in leaf osmotic and elastic properties and canopy structure of strawberries under mild water stress. *HortScience* 28: 925-927.
- Shah, S. M., Liu, G., Yang, Q., Wang, X., Casazza, M., Agostinho, F., & Giannetti, B. F. (2019). Emergy-based valuation of agriculture ecosystem services and dis-services. *Journal of Cleaner Production*, 239, 118019.
- Scherer, L. A., Verburg, P. H., & Schulp, C. J. (2018). Opportunities for sustainable intensification in European agriculture. *Global Environmental Change*, 48, 43-55.
- Seufert, V., & Ramankutty, N. (2017). Many shades of gray—The context-dependent performance of organic agriculture. *Science advances*, 3(3).
- Sharma, SHS., Lyons, G., McRoberts, C., McCall, D., Carmichael, E., Andrews, F., McCormack, R. (2012). Brown seaweed species from Strangford Lough: compositional analyses of seaweed species and biostimulant formulations by rapid instrumental methods. *Journal of Applied Phycology*, 24:1141-1157.
- Shukla, P. R., Skea, J., Calvo-Buendia, E., Masson-Delmotte, V., Pörtner, H., Roberts, D., Malley, J. (Eds.). (2019). *IPCC, 2019: Climate Change and Land: an IPCC special report on climate change, desertification, land degradation, sustainable land management, food security, and greenhouse gas fluxes in terrestrial ecosystem*. Recuperado de: <https://www.ipcc.ch/srccl/>
- Smith, F. W., & Loneragan, J. F. (1997). Interpretation of plant analysis: concepts and principles. In D.J Reuter., J.B Robinson. (Ed.), *Plant analysis: an interpretation manual*. (pp. 3-33). Australia: CSIRO.
- Smith, S., Renwick, W., Buddemeier, R., & Crossland, C. (2001). Budgets of soil erosion and deposition for sediments and sedimentary organic carbon across the conterminous United States. *Global Biogeochemical Cycles*(15), 697-707.

- Socias i Company R. (1977). La autocompatibilidad en el almendro. *Información Técnica Económica Agraria*, 8, 41-47.
- Socias i Company R. (1979). Aportación a las técnicas de observación de tubos polinicos. Caso del almendro. *Investigación agraria Producción y Protección Vegetal*, 10: 233-236.
- Socias i Company R. (1988). La densité florale comme critère variétal chez l'amandier. *Rap. EUR*, 11557: 119-122.
- Socias i Company R. (1998). Fruit tree genetics at a turning point: the almond example. *Theoretical and Applied Genetics*, 96, 588-601.
- Socias i Company, R., Gomez-Aparisi, J., Alonso, J., Rubio-Cabetas, M., & Kodad, O. (2009). *Retos y perspectivas de los nuevos cultivares y patrones de almendro para un cultivo sostenible*. ITEA: Información Técnica Económica Agraria.
- Socias i Company, R. (1999). Situación actual del cultivo del almendro en España. *Vida Rural*, 56-60.
- Sotomayor, C., Silva, H., & Castro, J. (2001). Effectiveness of boron and zinc foliar sprays on fruit setting of two almond cultivars. *ISHS Acta Horticulturae*, 591, 437-440.
- Sutton, M. A., Bleeker, A., Howard, C. M., Bekunda, M., Grizzetti, B., Vries, W., ... Zhang, F. S. (2013). *Our nutrient world: The challenge to produce more food and energy with less pollution*. Edinburgh, UK: NERC/Centre for Ecology & Hydrology.
- Sutton, M. A., Howard, C. M., Erisman, J. W., Billen, G., & Bleeker, A. (2011). *The European nitrogen assessment: Sources, effects and policy perspectives*. New York: Cambridge University Press.
- Świechowski, K., Liszewski, M., Bąbelewski, P., Koziel, J. A., & Białowiec, A. (2019). Fuel Properties of Torrefied Biomass from Pruning of Oxytree. *Data*, 4(2), 55. doi:10.3390/data4020055
- Tagliavini, M., & Scandellari, F. (2012). Nutrient uptake requirements and partitioning in fruit trees. *Acta Horticulturae*, 395-397.
- Thomas, M., Chauhan, D., Patel, J., & Panchal, T. (2013). Analysis of biostimulants made by fermentation of *Sargassum tenerimum* seaweed. *International Journal of Current Trends in Research*, 2: 405-407.
- Thomson, A. M., Ellis, E. C., Grau, H. R., Kuemmerle, T., Meyfroidt, P., Ramankutty, N., & Zeleke, G. (2019). Sustainable intensification in land systems: trade-offs, scales, and contexts. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 38, 37-43.
- Tragsatec (2011). Estudio del sector de frutos de cáscara. Madrid: Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino.
- Trejo-Téllez, L.I., Gómez-Merino, F.C. 2012. Nutrient solutions for hydroponic systems. In T. Asao. (Ed.) *Hydroponics - A Standard Methodology for Plant Biological Researches* (pp.1-22).Rijeka, Croatia: InTech Open.
- Tworowski, T., Fazio, G., & Glenn, D. M. (2016). Apple rootstock resistance to drought. *Scientia horticulturae*, 204, 70-78.

- Unión Europea. Directiva (UE) 91/676/CEE del Consejo, de 12 de diciembre de 1991, relativa a la protección de las aguas contra la contaminación producida por nitratos utilizados en la agricultura. *Diario Oficial de la Unión Europea*. 31 de diciembre de 1991, núm.375, pp. 1-18.
- uP_running deliverable D2.2, "Sector analysis and strategic plan at national and EU level, 2018, available at: <http://www.up-running.eu/project-materials/>
- Valverde, M., Madrid, R., & Garcia, A. L. (2006). Effect of the irrigation regime, type of fertilization, and culture year on the physical properties of almond (cv. Guara). *Journal of Food Engineering*, 76(4), 584-593.
- Van Grinsven, H. J. M., Holland, M., Jacobsen, B. H., Klimont, Z., Sutton, M. A., & Willems, W. J. (2013). Costs and benefits of nitrogen for Europe and implications for mitigation. *Environmental Science and Technology*, 47, 3571- 3579.
- Vargas, F. (2007). El almendro: un cultivo en proceso de cambio. In *Dossier Tècnic nº 22 El Almendro* (pp.3-6). Barcelona: Generalitat de Catalunya.
- Vargas, F.J., Romero, M., Clave, J., Batlle, I, Alegre, S., & Miarnau, X. (2009). Important traits in IRTA's new almond cultivars. 5th International Symposium on Pistachios and Almonds, Octubre, 2009, Sanliurfa, Turquía. *Acta Horticulturae*, 912: 359-365.
- Velázquez Martí, B. (2018). *Aprovechamiento de la biomasa para uso energético*. España: Editorial Universitat Politècnica de València.
- Velázquez-Martí, B., & Cazco-Logroño, C. (2018). Structure analysis and biomass models for plum tree (*Prunus domestica* L.) in Ecuador. *Experimental Agriculture*, 54(1), 133-141.
- Velázquez-Martí, B., Gaibor-Chávez, J., & Pérez-Pacheco, S. (2016). Quantification based on dimensionless dendrometry and drying of residual biomass from the pruning of orange trees in Bolivar province (Ecuador). *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 10(2), 175-185.
- Velázquez-Martí, B., López-Cortés, I., Salazar-Hernández, D., & Callejón-Ferre, Á. J. (2017). Modeling the Calorific Value of Biomass from Fruit Trees Using Elemental Analysis Data. *Biomass Volume Estimation and Valorization for Energy*. doi: 10.5772/65276
- Velázquez-Martí, B., Sajdak, M., López-Cortés, I., & Callejón-Ferre, A. J. (2014). Wood characterization for energy application proceeding from pruning *Morus alba* L., *Platanus hispanica* Münchh. and *Sophora japonica* L. in urban areas. *Renewable Energy*, 62, 478-483.
- Vijayanand, N., Ramya, SS., & Rathinavel, S. (2014). Potential of liquid extracts of *Sargassum wightii* on growth, biochemical and yield parameters of cluster bean plant. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, 3:150-155.
- Villaverde, J., Fernández, A., & Alonso, J. (2015). Los fitofortificantes dentro del ámbito del Reglamento (CE) nº 1107/2009. *Phytoma* (266), 48-53.
- Wells, C., Labranche, A., Mccarty, I., & Skipper, H. (2003). Biostimulants encourage strong root growth. *Turfgrass Trends*, 56- 59.
- Westfall, J. A., Sonti, N. F., Wiemann, M. C., Eberhardt, T. L., & So, C. L. (2019). Urban tree specific gravity and ash content: a case study from Baltimore, Maryland USA. *Urban Forestry & Urban Greening*, 126556.

- Wyatt, R. (1983). Pollinator-plant interactions and the evolution of breeding systems. In: L. Real (Ed.): *Pollination biology* (pp. 57-61). Orlando, Florida: Academic Press.
- Yakhin, O. I., Lubyanov, A. A., Yakhin, I. A., & Brown, P. H. (2017). Biostimulants in plant science: a global perspective. *Frontiers in plant science*, 7, 2049. doi:10.3389/fpls.2016.02049
- Yakhin, OI., Lubyanov, AA., Yakhin, IA., & Brown, PH. (2017). Biostimulants in plant science: a global perspective. *Frontiers in Plant Science*, 7, 2049. doi:10.3389/fpls.2016.02049
- Zacheo, G., Cappello, M.S., Gallo, A., Santino, A., & Cappello, A.R. (2000). Changes associated with postharvest ageing in almond seeds. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie*, 33, 415-423.
- Zarrouk, O., Gogorcena, Y., Gómez-Aparisi, J., Beltrán, J., & Moreno, M. (2005). Influence of almond x peach hybrids rootstocks on flower and leaf mineral concentration, yield and vigour of two peach cultivars. *Scientia Horticulturae*, 106, 502-514.
- Zrig, A., Ferreira, J. F., Serrano, M., Valero, D., Tounekti, T., & Khemira, H. (2018). Polyamines and other secondary metabolites of green-leaf and red-leaf almond rootstocks trigger in response to salinity. *Pakistan Journal of Botany*, 50(4), 1273-1279.
- Zrig, A., Tounekti, T., Vadel, A. M., Mohamed, H. B., Valero, D., Serrano, M., & Khemira, H. (2011). Possible involvement of polyphenols and polyamines in salt tolerance of almond rootstocks. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49(11), 1313-1322.

Capítulo 2

Justificación y objetivos

Uno de los mayores retos de nuestro tiempo recae en la producción agrícola, que debe alimentar de forma sostenible a una población creciente a la vez que consigue centrarse en la prevención del impacto negativo del cambio climático, y por tanto pasa necesariamente por satisfacer las necesidades del mercado sin comprometer la salud de los ecosistemas. Pese a que cada vez existe mayor concienciación sobre esta importante dualidad, a menudo, se tiende a valorar el cambio climático desde la única perspectiva de la reducción de la emisión de gases de efecto invernadero por superficie de cultivo, por actividad agropecuaria o por cosecha obtenida. Esta visión un tanto sesgada no tiene sin embargo en cuenta las múltiples formas en las que el sistema agroalimentario actual impacta negativamente en nuestro entorno como por ejemplo en factores como la degradación de productos naturales, la pérdida de biodiversidad o los cambios en los usos del suelo

La evidencia de este proceso de deterioro a escala global ha desencadenado acciones relevantes a nivel internacional como la Convención Marco de Naciones Unidas sobre Cambio Climático, que, a su vez, ha servido para muchos países como base para la puesta en marcha de estrategias y planes desde la doble perspectiva de la adaptación y la mitigación. Por un lado, mediante las estrategias de mitigación se persigue la reducción de los efectos del cambio climático, y por otro, a través de las estrategias de adaptación se busca la identificación e implantación de buenas prácticas agrícolas que consigan reducir la vulnerabilidad de los cultivos frente al cambio climático aumentando su resistencia o resiliencia frente escenarios como el incremento de plagas y enfermedades, al aumento de las temperaturas medias o el incremento de la evapotranspiración que se traduce en mayores requerimientos hídricos y bajo aprovechamiento o pérdida en profundidad de nutrientes o falta de aprovechamiento por las plantas.

Los objetivos particulares de esta tesis se enmarcan en los 17 objetivos de desarrollo sostenible de las vías de actuación definidas como prioritarias en la Resolución aprobada por la Asamblea General de Naciones Unidas el 25 de septiembre de 2015: “Transformar nuestro mundo: la Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible”.

Concretamente se desarrollan acorde a los objetivos nº 7: “Garantizar el acceso a una energía asequible, fiable, sostenible y moderna para todos”, en especial al apartado 7.2 “De aquí a 2030, aumentar considerablemente la proporción de energía renovable en el conjunto de fuentes

energéticas”, y nº 12: “Garantizar modalidades de consumo y producción sostenibles”, en sus apartados 12.2 “De aquí a 2030, lograr la gestión sostenible y el uso eficiente de los recursos naturales”, y 12.4 “De aquí a 2020, lograr la gestión ecológicamente racional de los productos químicos y de todos los desechos a lo largo de su ciclo de vida, de conformidad con los marcos internacionales convenidos, y reducir significativamente su liberación a la atmósfera, el agua y el suelo a fin de minimizar sus efectos adversos en la salud humana y el medio ambiente”.

Por tanto, los objetivos de la tesis son:

- La caracterización química y morfométrica de tres patrones de almendro en vistas a obtener un mejor entendimiento de sus posibilidades de adaptación eco-ambiental.
- El estudio de la respuesta de diferentes patrones de almendro frente al aporte de bioestimulantes de raíz como herramienta complementaria a la fertilización tradicional, en vistas a reducir esta última, y, por tanto, contribuir a un manejo más racional del cultivo. Todo ello en base a conseguir mayor eficiencia tanto por medios físicos de aumento del sistema de raíces como mejorando la absorción de los nutrientes.
- El análisis de las propiedades energéticas del almendro y el posible uso de sus residuos, especialmente de sus cosechas y restos de poda, como fuente de energía renovable.

Physical mechanisms produced in the development of nursery almond trees (*Prunus dulcis* Miller) as a response to the plant adaptation to different substrates

Justificación del estudio

A pesar de que se estima que las raíces suponen entre un 15 y un 30% del total de la biomasa de un árbol, históricamente se ha prestado poca atención al estudio de los sistemas radicales. Comprender y predecir el comportamiento de los ecosistemas requiere un conocimiento preciso de las estrategias de crecimiento de las raíces, así como de su distribución en la planta.

El estudio de los sistemas radicales debe enmarcarse en las estrategias de adaptación que buscan identificar e implantar buenas prácticas agrícolas que consigan reducir la vulnerabilidad de los cultivos frente al cambio climático aumentando su resistencia o resiliencia frente escenarios como el incremento de plagas y enfermedades, al aumento de las temperaturas medias o el incremento de la evapotranspiración que se traduce en mayores requerimientos hídricos.

El objetivo que se persigue en este trabajo es comparar los cambios inducidos en la planta de almendro joven por dos medios de cultivo diferentes, analizando cómo esos cambios se interrelacionan con una mejor adaptación de la planta al campo abierto. Para ello se probaron dos patrones diferentes, GF 677 y GxN Garnem® (GN), en dos tipos de sustrato: sustrato 1, que consiste en un sustrato preparado bajo pedido y basado en una mezcla de 25% de sílice, 38% de turba vaporizada y 37% de arena de río lavada y sustrato 2, basado en turba de coco con tamaño de partícula grueso (10–25 mm). Todas las plantas recibieron la misma solución nutritiva durante el análisis. Veinte semanas después de que los árboles de la plantación fueron arrancados de raíz y se registraron varios parámetros tanto en el sistema vegetativo como en el radicular para observar el impacto de los sustratos.

Los resultados de este estudio indicaron que el uso de diferentes sustratos produce cambios estadísticamente significativos no solo en el desarrollo y distribución de las raíces sino también en el crecimiento vegetativo. Las plantas cultivadas bajo sustrato de turba de coco presentaron, entre otros, un mayor desarrollo del tronco y un aumento en el peso fresco total del sistema radicular producido principalmente por un aumento masivo de raíces absorbentes, mientras que las plantas bajo el

sustrato 1 presentaron mayor longitud del sistema radicular. En vista de los resultados obtenidos consideramos que un aumento en el conocimiento sobre el desarrollo radical en las fases iniciales de crecimiento de la planta podría ayudar a la industria viverística con la determinación de los sustratos más adecuados en función de la posterior adaptación en el campo, centrándose en las características edafoclimáticas del destino final de la planta.

Physical mechanisms produced in the development of nursery almond trees (*Prunus dulcis* Miller) as a response to the plant adaptation to different substrates

(1) Alba Mondragón-Valero, (1) Isabel López-Cortés, (1) Domingo M. Salazar,
(2) Pascual Fernández de Córdoba¹

Published in Rhizosphere (2017) vol.3 n° 1 pp 44-49. DOI: 10.1016/j.rhisph.2016.12.002

3.1 Abstract

Aims: The aim pursued in this work is to compare the changes induced in the plant of young almond tree by two different culture media, analysing how those changes are interrelated with a better adaptation of the plant to the open field.

Methods: Two different rootstocks, GF 677 and GxN rootstock Garnem[®] (GN), were tested in two types of growing media: substrate 1, consisting on a substrate prepared on request and based on a mixture of 25% silica, 38% vaporized peat and 37% of washed river sand and substrate 2, based on cocopeat with coarse particle size (10–25 mm). All plants received the same nutritive solution during the analysis. Twenty weeks after the plantation trees were uprooted and several parameters were recorded in both vegetative and radicular systems to observe the impact of the substrates.

Results: The results of this study indicated that the use of different substrates produces statistically significant changes not only in root development and distribution but also in the vegetative growth. Plants grown under cocopeat substrate presented, among others, further development of the trunk and an increase in the total fresh weight of the radicular system produced mostly by a massive increase of absorbing roots, while plants under substrate 1 presented greater root system longitude.

Conclusions: The selection of an appropriate substrate in the nursery of almond trees is a key factor in the early development of the young tree. Knowledge about root growth and root architecture during the first stages of development would help nursery industry to determine which should be the most suitable substrate regarding later field adaptation, survival and plant performance, focusing on the soil and climatic characteristics of the final destination of the plant.

Keywords: Cocopeat, Peat, Field adaptation, Vegetative system, Radicular system.

¹ (1) Departamento Producción Vegetal. Universitat Politècnica de València Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, Spain; (2) Instituto de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana. Universitat Politècnica de València Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, Spain.

3.2 Introduction

The cultivation of seedlings in container has large advantages over traditional field crop (Gilman and Beeson, 1996). These include a better preservation of the root system during the transplantation process (Thomas, 2000), a better field establishment (Mathers *et al.*, 2005; Gilman, 2001), a lower cost of labour and lower investment in the acquisition of land by the nurseryman (Beeson *et al.*, 2004; Whitcomb, 1984) and a greater availability of plant number in the market (Mathers *et al.*, 2007).

In recent years, soilless cultivation techniques have been widely studied and implemented in the Mediterranean countries in the production of ornamental plant (Raviv and Heinrich, 2007; García-Gómez *et al.*, 2002) and even in the production of horticultural (Schwarz, 2012; Voogt and Sonneveld, 2001) or forestry plants (Guérin *et al.*, 2001; Peñuelas and Ocaña, 2000) but nevertheless there is little information about these techniques in the nursery of fruit species because plants are usually sold bare root.

Generally, roots account for 15–30% of the total tree biomass (Persson, 2013). Despite their importance, root systems have received limited attention in ecological studies. Understanding and predicting ecosystem behaviour requires an accurate knowledge of growth strategies of plant roots and their distribution (Persson, 2000). Numerous observations have indicated that a healthy root system is necessary to secure vigorous growth, knowledge about root growth and root architecture during the first stages of development will ensure survival and good plant performance (Abad *et al.*, 2004; Jacobs *et al.*, 2005).

The use of different substrates both organic and inorganic allows the plant a better nutrient absorption and further optimization in water and oxygen retention (Verdonck *et al.*, 1981). The properties of the different materials used as culture media have direct and indirect effects on plant growth and future productivity, hence the choice of a suitable substrate is essential in plant development (Abad *et al.*, 2004; Loggiodice *et al.*, 2009).

World production of almonds in shell (*Prunus dulcis* Miller) reached, according to the Organization of the United Nations for Food and Agriculture (FAO) 2,917,894 t in 2013, in a cultivated area of 1,637,245 ha (FAOSTAT, 2016). Almonds are attracting a lot of attention in the last years mainly due to the continuous reports of their healthy beneficial properties (Burns *et al.* 2016). From 2004 to 2013 almonds consumption increased 71.1% to 135 g per world habitant in 2012 (INC, 2013). From the period from 2000 to 2012 almonds with shell production increased 103%, with an annual growth of 6.4%, and an annual price increase of 7,5% and, as a consequence, the demand of young almond trees has grown notably in the last few years. As it occurred previously with other ornamental or

horticultural crops it seems necessary to focus on improving the nursery of almond trees to meet the increasingly world demand. The aim pursued in this work is to compare the changes induced in the plant of young almond tree by two different culture media, analyzing how those changes are interrelated with a better adaptation of the plant to the open field.

3.3 Materials and Methods

3.3.1 Samples and treatments

This analysis was conducted in the Polytechnic University of Valencia (39° 38' 2" N, 0° 22 ' 29" W; height 4 m.a.s.l.). The plant material used in the tests is certified material, free from pests and diseases, from an authorized plant nursery in phenological state 10 of the BBCH scale. A total of 48 rootstocks were used, of which 24 individuals were rootstock GF 677 (677) which comes from the interbreeding of peach tree (*Prunus persica* L. Batcsh) by almond tree (*Prunus dulcis* Miller) obtained in France by the INRA (Institut National de la Recherche Agronomique) (Bernhard and Grasselly, 1981) and 24 individuals were GxN rootstock Garnem® (GN) obtained by the Agricultural Research Service of the Government of Aragón (CITA-DGA) which were the result of the crossing of a hybrid between *Prunus dulcis* (cv. Garrigues) and *Prunus persica* (cv. Nemared) (Felipe, 2009).

The rootstocks were transplanted to 80 l pots. Two types of growing media were used: substrate 1, consisting on a substrate prepared on request and based on a mixture of 25% silica, 38% vaporized peat and 37% of washed river sand and substrate 2, based on cocopeat with coarse particle size (10–25 mm). We carried out twelve repetitions of each of the possible rootstock-substrate combinations therefore the analysis was made comparing substrate 1 (through the behaving of 12 individuals of rootstock GN and 12 individuals of rootstock GF677) and substrate 2 (through the behaving 12 individuals of rootstock GN and 12 individuals of rootstock GF677).

The irrigation dose was 40 l of water per month distributed in a 40 min irrigation on alternate days with a pressure-compensating and non-leakage dripper of 4 L/h flow rate and a uniformity coefficient of 85%.

For the nutritive solution we established a preparation based on the extractions of young almond trees obtained by Salazar and Melgarejo (2002). The formulation consists mainly of nitrogen in the form of nitrate, potassium, magnesium, calcium and sulfate. This solution was applied to plants with a system of localized irrigation. The treatments were carried out on a weekly basis from the transplant of the rootstock in phenologic state 10 of the scale BBCH for stone fruit trees until the tearing date which took place 20 weeks after.

3.3.2 Evaluated parameters

3.3.2.1 Analysis of the vegetative system

The influence of the tested substrates in the vegetative system focuses mainly on the length and weight of the trunk and the diameter of the graft zone as a reference between the aerial and the root parts.

Total tree height and weight of the leaves and young shoots was consider irrelevant as we are working with rootstocks that will be subsequently pruned to be grafted.

All of the measurements were always taken in fresh within 24 h after the plucking in order to avoid drying of the aerial part or the root system.

3.3.2.2 Analysis of the root system

After eliminating the soil in the plants, the studied parameters have been the number of main roots and measurement, for each one of them, its diameter and the distance from the start of the root until the first bifurcation with a secondary root. The number of secondary roots was also counted, and we measured each one's diameter and the distance from the start of the lateral root until the first bifurcation with a tertiary root.

In the case of the weight, roots were introduced in a Memmert model muffle at 38 °C until they stabilized to constant weight, and the weight was evaluated once they dried.

3.3.3 Statistical analysis

An analysis of variance (ANOVA) with Type III sums of squares was performed using the GLM (General Linear Model procedure) of the SPSS software, version 21.0 (IBM Corporation, New York, U.S.A.). The fulfilment of the ANOVA requirements, namely the normal distribution of the residuals and the homogeneity of variance, were evaluated by means of the Kolmogorov-Smirnov with Lilliefors correction (if $n > 50$) or the Shapiro-Wilk's test (if $n < 50$), and the Levene's tests, respectively.

All dependent variables were analyzed using a one-way ANOVA with or without Welch correction, depending on whether the requirement of the homogeneity of variances was fulfilled or not. The main factor studied was the effect of substrate on the vegetative and radicular development parameters of the almond trees studied. If a statistical significant effect was found, means were compared using Tukey's honestly significant difference multiple comparison test or Dunnett T3 test also depending on whether equal variances could be assumed or not. All statistical tests were performed at a 5% significance level.

3.4 Results and discussion

3.4.1 Comparative study of the rootstocks

According to the obtained results, in terms of vegetative development, as presented in Table 1, the GN rootstock stands out in our study as the most vigorous, this result is consistent with what was observed by Felipe (2009) who describes the rootstock, before being grafted, as strong with an upright growth, and Sotomayor *et al.* (2008) who concludes that compared with the 677, rootstocks GN produce greater weight of pruning and a greater number of fresh buds.

Table 1. Vegetative parameters of the different rootstocks ($n = 24$; mean value \pm standard deviation; $P < 0.05$).

	Trunk longitude (cm)	Trunk weight (g)	Diameter of grafted area (mm)
GF 677	35.82 \pm 12.74 a	89.56 \pm 12.61 a	16.77 \pm 2.01 a
GN Garnem	32.07 \pm 9.50 a	105.76 \pm 14.66 b	21.38 \pm 3.01 b

Table 2. Radicular parameters of the different rootstocks ($n = 24$; mean value \pm standard deviation; $P < 0.05$).

	Roots fresh weight (g)	Tap roots weight (g)	Lateral roots weight (g)	Absorbing roots weight (g)	Root system longitude (cm)
GF 677	144.08 \pm 33.84 a	65.61 \pm 12.36 a	47.09 \pm 6.48 b	31.37 \pm 4.40 a	35.82 \pm 12.84 b
GN	186.34 \pm 26.10 b	115.27 \pm 30.16 b	36.50 \pm 5.93 a	34.46 \pm 4.27 a	32.07 \pm 9.50 a

	Average number of tap roots	Average number of absorbing roots	Average tap roots diameter (mm)	Average absorbing roots diameter (mm)	Average distance of tap roots to first bifurcation (cm)
GF 677	22.71 \pm 2.55 a	137.35 \pm 11,8 a	4.11 \pm 1.17 a	1.16 \pm 0.27 a	6.40 \pm 2.33 a
GN	28.66 \pm 2.64 a	132,46 \pm 10.36 a	4.94 \pm 1.55 ab	1.88 \pm 0.54 b	6.43 \pm 3.10 a

	Maximum distance of tap roots to first bifurcation (cm)	Minimum distance of tap root to first bifurcation (cm)	Average distance of lateral roots to first bifurcation (cm)	Maximum distance of lateral roots to first bifurcation (cm)	Minimum distance of lateral roots to first bifurcation (cm)
GF 677	25.74 \pm 8.51 a	3.80 \pm 1.90 a	4.80 \pm 2.42 a	22.24 \pm 14.07 a	0.23 \pm 0.26 a
GN	26.49 \pm 17.49 a	7.95 \pm 3.95 ab	4.53 \pm 2.79 a	23.46 \pm 28.23 a	0.09 \pm 0.13 a

Regarding the radicular development, we observed various types of roots in both annual and perennial plants and we can link these differences with wide variations in the absorption and transfer capacity (Clarkson, 1996). In our study, rootstocks GN presented a higher total root weight than the rootstock GF 677 (Table 2). There were no statistical differences in the average number of tap and lateral roots between the two rootstocks but rootstock GN presented a bigger root diameter for both kind of roots.

The rootstock GF 677 showed greater maximum length of the root system and therefore greater in-depth exploration but both, GF 677 and GN, presented uniformity in the spatial distribution of their roots.

The adaptability to the environment of the different rootstocks can partly be attributed to the depth that the root system can reach, its density and its spatial distribution (Castle and Krezdorn, 1997).

3.4.2 Characteristics of the vegetative system under different substrate cultivation

The parameters studied in the vegetative system of the plants are reported in Table 3. The obtained results showed that substrate 2 based on cocopeat produced a higher and heavier trunk than substrate 1 nevertheless, both substrates have led to similar diameter of the grafted area. The diameter of the trunk is an essential feature in nursery of rootstocks since the trunk thickness determines the appropriate time to proceed with the graft (Estaún *et al.*, 1999).

Table 3. Vegetative parameters according to the type of substrate studied ($n = 24$; mean value of both rootstocks for each substrate \pm standard deviation; $P < 0.05$).

	Trunk longitude (cm)	Trunk weight (g)	Diameter of grafted area (mm)
Substrate 1	29.87 \pm 0.70 a	94.97 \pm 10.3 a	19.38 \pm 2.27 a
Substrate 2	50.56 \pm 1.61 b	105.23 \pm 26.97 b	18.95 \pm 4.89 a

3.4.3 Characteristics of the radical system under different substrate cultivation

The ability of a plant to produce different types of roots is an inherent aspect of its plasticity which has important adaptive characteristics (Barlow, 1993; Bell and Lechowicz, 1994). Variation in traits among multiple components of plant root systems affect the capability of these plants to deal with their complex environments (Caldwell, 1994; Fitter, 1994).

As the individual parts of a root system develop at different microsites, under different internal and environmental conditions, variations in growth and physiological characteristics among them should be expected (Waisel and Eshel, 2002).

The assessed parameters in the radicular system are presented in Figs. 1 and 2 and in Table 4. In our study, the use of cocopeat as substrate for young almond trees originated an increase in the total fresh weight of the radicular system. However this weight difference generated between substrates is highly localized and we can find statistical differences between the two substrates according to the root architecture (Fig. 1). When separating the radicular system into tap, lateral and

absorbing roots, we observe that trees under substrate 1 presented a higher weight of tap and lateral roots but substrate 2 generated five times more weight of absorbing roots. Such absorbing roots are less sensitive to gravity and extend the root system horizontally.

They branch as much as the taproot or even more, and increase the specific root density at the upper soil layers exploiting the most fertile portions of soil (Waisel and Eshel, 2002).

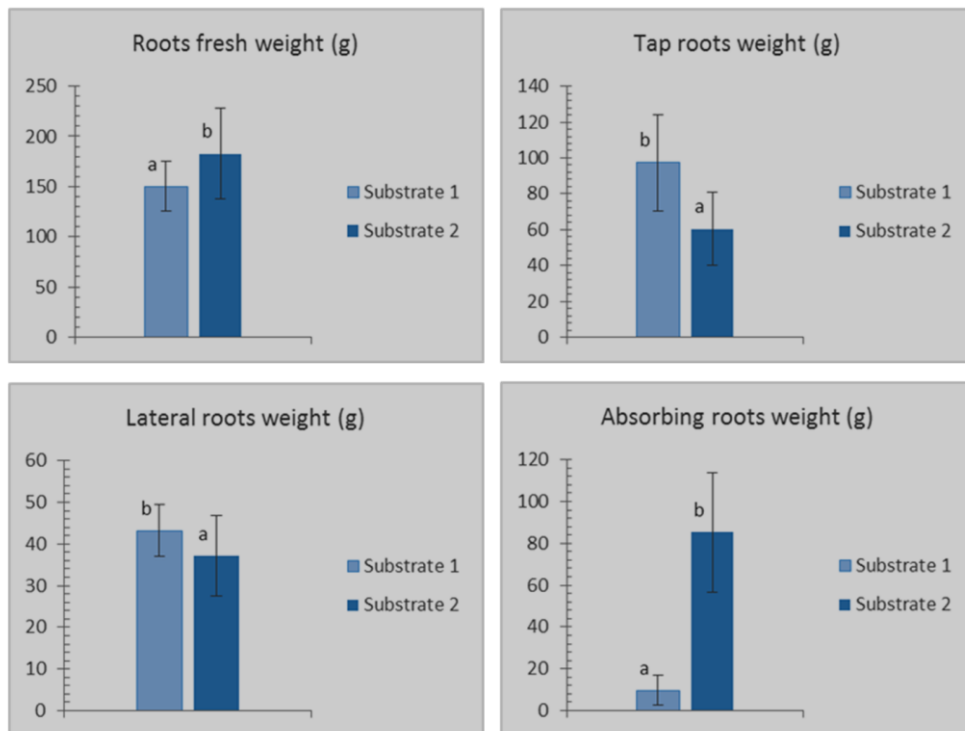


Figure 1. Weight parameters of radicular system with different substrates ($n = 24$; mean value of both rootstocks for each substrate \pm standard deviation; $P < 0.05$).

Table 4. Length radicular parameters according to the type of substrate studied ($n = 24$; mean value of both rootstocks for each substrate \pm standard deviation; $P < 0.05$).

	Root system longitude (cm)	Distance of tap roots to first bifurcation (cm)	Maximum distance of tap roots to first bifurcation (cm)	Minimum distance of tap root to first bifurcation (cm)	Distance of lateral roots to first bifurcation (cm)	Maximum distance of lateral roots to first bifurcation (cm)	Minimum distance of lateral roots to first bifurcation (cm)
Substrate 1	68.82 \pm 7.59 b	4.94 \pm 0.45 a	21.34 \pm 7.40 a	0.51 \pm 0.26 a	3.80 \pm 1.90 a	14.22 \pm 4.76 a	0.12 \pm 0.06 a
Substrate 2	44.12 \pm 11.74 a	11.79 \pm 2.95 b	46.23 \pm 21.27 b	0.50 \pm 0.63 a	7.95 \pm 3.95 b	47.09 \pm 33.64 b	0.18 \pm 0.33 a

The number and spatial distribution of structural roots are important traits for tree stability (Dupuy *et al.*, 2005). We found in our study that cocopeat substrate promoted the proliferation of tap and lateral roots to the extent that the number of tap or lateral roots in substrate 2 triplicated the ones found in substrate 1 (Fig. 2). Abundant production of laterals is highly important for root growth in heterogeneous media. It affects the nutrient supply of the plants, the allocation of assimilates, the production of growth substances (Mc.Cully & Mallett, 1988) and the anchorage of the tree in the ground (Stokes, 2002).

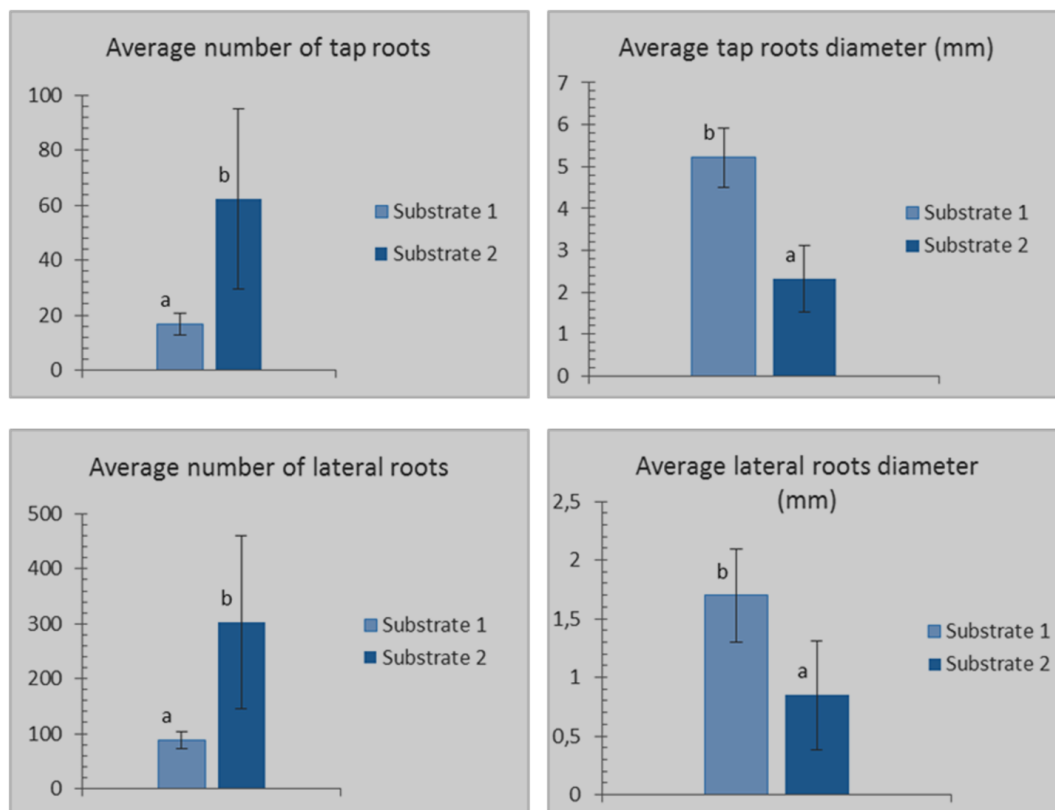


Figure 2. Physical parameters measured in the radicular system with different substrates ($n = 24$; mean value of both rootstocks for each substrate \pm standard deviation; $P < 0.05$).

Root strength varies enormously inter and intra species but also within the same root system and may depend on the mechanical role attributed to the root.

Commandeur and Pyles (1991) consider tensile strength to be the most important factor governing soil stabilization and fixation. O'Loughlin and Watson (1979) found that tensile strength decreases with increasing root diameter in roots of *Pinus radiata* D. Don. And attributed this phenomenon to differences in root structure, with smaller roots possessing more cellulose than older roots and being cellulose more resistant than lignin in tension. In our study of young almond trees, roots developed on substrate 1 obtained greater diameters than roots developed on substrate 2 (Fig. 2) and this significant difference could perhaps influence the mechanical resistance of the root system and permit a better adaptation of the trees develop with substrate 2 to open field. Contrary to the increase in tensile strength with decreasing root size, compression and bending strength decrease with increasing root size (Stokes and Guitard, 1997). Dickmann and Pregitzer (1992) found that the thinner the diameter of a root, the shorter is its life span. In peach, roots $\leq 0,25$ mm in diameter have a median life span of 77 days while roots classed between 0,5 and 1,7 mm lived more than 370 days (Wells *et al.*, 2002). Similar results were found by Wells and Eissenstat (2001) in apple tree roots. Roots also differ in the structure of various mature cells, ion selectivity of fine roots is much better because of the smaller gap between the mature endodermis and the tips. Plant strategy may follow one of two alternatives for root architecture: production of long, strong, fast growing roots, thus sacrificing some selective capability or production of fine slow growing roots with the gain of a better control of ion movement into tops (Waisel and Eshel, 2002). Ion content seems to be determined not only by the physiological traits of the roots but also by the ratio of long to short ones.

As Table 4 shows, in our study, the trees grown in substrate 1 presented greater root system longitude. Radicular systems developed under substrate 1 were average 20 cm longer than those developed under cocopeat substrate. However, the average distance of tap roots to first bifurcation occurs deeper in roots under substrate 2. This same trend can be observed on the average distance of lateral roots to first bifurcation. No differences between substrates were found in the minimum distance to first bifurcation in both tap and lateral roots. Long roots and their branches facilitates an efficient system for soil exploration and provides a long-lasting structure from which the short roots can proliferate when conditions are favorable (Persson, 2000). The efficiency of root penetration depends on soil conditions as well as on degree of suberization and mycorrhizal infection, soil mechanical resistance reduces the rate of root penetration especially in dry or compacted soils (Masle, 2002).

3.5 Conclusions

In conclusion, the obtained data showed that GN Garnem stands out as a vigorous rootstock with a higher total root weight compared to GF 677 while GF 677 presented greater maximum length of the radicular system.

The results of this study indicated that the use of different substrates produce statistically significant changes not only in root development and distribution but also in the vegetative growth being both factors of extreme importance in the improvement of the nursery processes.

In our work, cocopeat substrate produced a higher and heavier trunk but no differences were found in the diameter of the grafted area as to what the use of substrate refers. Cocopeat also generated an increase in the total fresh weight of the radicular system produced mostly by a massive increase of absorbing roots that could probably enhance the adaptation of the young plant to open field. Although the number of tap and lateral roots in substrate 1 (composed of silica, peat and sand) was lower than in substrate 2, substrate 1 obtained a greater weight of both tap and laterals that could be explained by an enlargement of their diameter. The selection of the substrate affects as well the architecture of the root system. Trees grown under substrate 1 presented greater root system longitude permitting deeper soil exploration which is suitable for young trees that will be later established in non-irrigated conditions. The average distance of tap and laterals to first bifurcation occurred however deeper when using substrate 2. The choice of an appropriate substrate in the nursery of almond trees is a key factor in the early development of the young tree. Knowledge about root growth and root architecture during the first stages of development would help nursery industry to determine which should be the most suitable substrate regarding later field adaptation, survival and plant performance, focusing on the soil and climatic characteristics of the final destination of the plant. Furthermore, this paper could contribute to the development of new techniques in almond tree nursery that allows to responsibly reduce the amount of scarce resources turning the process more ecofriendly and sustainable.

3.6 References

- Abad, M., Noguera, P., Carrión, C. (2004). Los Sustratos en los Cultivos Sin Suelo. Tratado de Cultivo Sin Suelo. Mundi-Prensa, Madrid.
- Barlow, P. (1993). The response of roots and root systems to their environment- an interpretation derived from an analysis of the hierarchical organization of plant life. *Environ. Exp. Bot.* 33, 1-10.

- Beeson, R.C., Arnold, M.A., Bilderback, T.E., Bolusky, B., Chandler, S., Gramling, H.M., Ruter, J.M. (2004). Strategic vision of container nursery irrigation in the next ten years. *J. Environ. Hortic.* 22 (2), 113-115.
- Bell, G., Lechowicz, M. (1994). Spatial heterogeneity at small scales and how plants respond to it. In: Caldwell, En. M., Pearcy, R. (Eds.), *Exploitation of Environmental Heterogeneity by Plants*. Academic Press, San Diego, 391-414.
- Bernhard, R., Grasselly, C. (1981). Les pêcheurs x amandiers. *Arboric. Fruit.* 328 (6), 37-42.
- Burns, A., Zitt, M., Rowe, C., Langkamp-Henken, B., Mai, V., Nieves, C., Dahl, W. (2016). Diet quality improves for parents and children when almonds are incorporated into their daily diet: a randomized, crossover study. *Nutr. Res.* 36 (1), 80-89.
- Caldwell, M. (1994). Exploiting nutrients in fertile soil microsites. In: Caldwell, En M., Pearcy, R. (Eds.), *Exploitation of Environmental Heterogeneity by Plants*. Academic Press, San Diego, 325-347.
- Castle, W., Krezdorn, H. (1997). Soil water use and apparent root efficiencies of citrus trees on four rootstocks. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 102 (4), 403-406.
- Clarkson, D. (1996). Root structure and sites of ion uptake. In: Waisel, Y., Eshel, A., Kafkafi, U. (Eds.), *En Plant Roots: The Hidden Half*. Marcel Dekker Inc, New York.
- Commandeur, P., Pyles, M. (1991). Modulus of elasticity and tensile strength of Douglasfir roots. *Can. J. of For. Res.* 21 (1), 48-52.
- Dickmann, D.I., Pregitzer, K.S. (1992). The structure and dynamics of woody plant root systems. *Ecophysiol. Short Rotat. For. Crops*, 95-123.
- Dupuy, L., Fourcaud, T., Stokes, A. (2005). A numerical investigation into the influence of soil type and root architecture on tree anchorage. *Plant Soil* 278 (1-2), 119-134.
- Estaún, V., Calvet, C., Camprubí, A., Pinochet, J. (1999). Long-term effects of nursery starter substrate and AM inoculation of micropropagated peach-almond hybrid rootstock GF677. *Agronomie* 19, 483-489.
- FAOSTAT (2016). Food and Agriculture Organization of the United Nations. 26 de mayo de 2015. *Production/ Crops*. Obtenido de <http://faostat3.fao.org>.
- Felipe, A. (2009). Felinem, Garnem and Monegro almond x peach hybrid rootstocks. *HortScience* 44, 196-197.
- Fitter, A. (1994). Architecture and biomass allocation as components of plastic response of root systems to soil heterogeneity. In: Caldwell, En. M., Pearcy, R. (Eds.), *Exploitation of Environmental Heterogeneity by Plants*. Academic Press, San Diego, 305-323.
- García-Gómez, A., Bernal, M. P., Roig, A. (2002). Growth of ornamental plants in two composts prepared from agroindustrial wastes. *Bioresour. Technol.* 83 (2), 81-87.
- Gilman, E., 2001. Effect of nursery production method, irrigation and inoculation with mycorrhizae-forming fungi on establishment of *Quercus virginiana*. *J. Arboric.* 27, 30-39.

- Gilman, E., Beeson, R. (1996). Nursery production methods affect root growth. *J. Environ. Hortic.* 14, 88-91.
- Guérin, V., Lemaire, F., Marfà, O., Caceres, R., Giuffrida, F., 2001. Growth of *Viburnum tinus* in peat-based and peat-substitute growing media. *Sci. Hortic.* 89 (2), 129-142.
- INC (2013). International Nut and Dried Fruit Council. Global Statistical Review 2008-2013.
- Jacobs, D.F., Salifu, K.F., Seifert, J.R. (2005). Relative contribution of initial root and shoot morphology in predicting field performance of hardwood seedlings. *New For.* 30 (2-3), 235-251.
- Loggioldice, P., Sindoni, M., Méndez-Natera, J.R. (2009). Importancia de la selección y manejo adecuado de sustratos en la producción de plantas frutales en vivero. *Revista Científica UDO Agrícola* 9 (2), 282-288.
- Masle, J. (2002). High soil strength: mechanical forces at play on root morphogenesis and in root: shoot signaling. In: Waisel, En. Y., Eshel, A., Kafkafi, U. (Eds.), *Plant Roots: The Hidden Half*. CRC Press, New York, 807-819.
- Mathers, H., Case, L., Grosskurth, E., Bigger, M. (2006). Field calipter tree production using retractable roof greenhouse grown liners. *Ornamen. Plants*, 129.
- Mathers, H., Lowe, S., Scagel, C., Struve, D., Case, L. (2007). Abiotic factors influencing root growth of woody nursery plants in containers. *HortTechnology* 17 (2), 151-162.
- Mc.Cully, M., Mallett, J. (1988). Pathways and processes of water and nutrient movement in roots. *Plant Soil* 111 (2), 159-170.
- O'loughlin, C., Watson, A. (1979). Root-wood strength deterioration in radiata pine after clearfelling. *NZJ For. Sci.* 9 (3), 284-293.
- Peñuelas, J., Ocaña, L. (2000). *Cultivo de plantas forestales en contenedor*. Mundi-Prensa, Madrid.
- Persson, H. (2000). Adaptative tactics and characteristics of tree fine roots. *Dev. Plant Soil Sci.* 33, 337-346.
- Persson, H. (2013). Root systems of arboreal plants. In: Eshel, En. A., Beeckman, T. (Eds.), *Plant Roots: The Hidden Half*. CRC Press, Florida, 187.
- Raviv, M., Heinrich, J. (2007). Significance of soilless culture in agriculture. In: Raviv, En. M. (Ed.), *Soilless Culture: Theory and Practice*. Elsevier, Amsterdam, 4-6.
- Salazar, D., Melgarejo, P. (2002). *El Cultivo del Almendro*. Mundi-Prensa, Madrid.
- Schwarz, M. (2012). *Soilless Culture Management*. Springer Science & Business Media, Berlin.
- Sotomayor, C., Castro, J., Bustos, E. (2008). Nuevos portainjertos para Chile. *Agronom. For.*, 22-26.
- Stokes, A. (2002). Biomechanics of tree root anchorage. In: Waisel, En. Y., Eshel, A., Kafkafi, U. (Eds.), *Plant Roots: The Hidden Half*. CRC Press, New York, 175.
- Stokes, A., Guitard, D. (1997). Tree root response to mechanical stress. In: Altam, En. A., Waisel, Y. (Eds.), *Biology of Root Formation and Development*. Springer US, New York, 227-236.

- Thomas, P. (2000). *Trees: Their Natural History*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Verdonck, O.D., De Vleeschauwer, D., De Boodt, M. (1981). The influence of the substrate to plant growth. In: *Proceedings of the Symposium on Substrates in Horticulture other than Soils In Situ*. Angers: ISHS Acta Horticulturae. pp. 251-258.
- Voogt, W., Sonneveld, C. (2001). Silicon in horticultural crops grown in soilless culture. *Stud. Plant Sci.* 8, 115-131.
- Waisel, Y., Eshel, A. (2002). Functional diversity of various constituents of a single root system. In: Waisel, En. Y., Eshel, A., Kafkafi, U. (Eds.), *Plant Roots: The Hidden Half*. CRC Press, New York, 157.
- Wells, C.E., Eissenstat, D.M. (2001). Marked differences in survivorship among apple roots of different diameters. *Ecology* 82 (3), 882-892.
- Wells, C.E., Glenn, D.M., Eissenstat, D.M. (2002). Changes in the risk of fine-root mortality with age: a case study in peach, *Prunus persica* (*Rosaceae*). *Am. J. Bot.* 89 (1), 79-87.
- Whitcomb, C. (1984). *Plant Production in Containers*. Lacebark Publications, Stillwater.

Changes produced by the application of biostimulants on almond rootstocks properties during the nursery process

Justificación del estudio

El uso de patrones es una herramienta importante utilizada por la industria viverista en la mejora de la adaptación del cultivo a ciertos estreses, especialmente en situaciones de replanteo de parcelas. Los patrones pueden modificar la eco adaptabilidad de los cultivares por lo que, una caracterización precisa de los mismos es fundamental para identificar las mejores combinaciones cultivar-patrón para cada ecosistema. El uso adecuado de los patrones es por tanto una de las varias herramientas a disposición de las buenas prácticas agrícolas que permite mejorar la adaptación de los cultivos reduciendo su fragilidad frente al cambio climático.

El objetivo que se persigue en este estudio es caracterizar tanto morfométrica como químicamente (capacidad antioxidante y diferentes grupos fenólicos) tres patrones de almendro (GF 677 , G×N Garnem® (GN) y ROOTPAC® (RPR)) para tener un mayor conocimiento de sus posibilidades de adaptación medioambiental. Además, pretendemos estudiar su respuesta tanto a nivel vegetativo como radicular frente al aporte de diferentes bioestimulantes radiculares (ácidos húmicos y fúlvicos por un lado y aminoácidos por otro) para incrementar la eco adaptabilidad de la planta en su fase de vivero.

Los sistemas radicular y vegetativo de las plantas respondieron de manera diferente según la selección del patrón. El desarrollo vegetativo más rápido y vigoroso se observó en el portainjerto GN mientras que GF 677 mostró el mayor número de raíces principales y RP-R de raíces secundarias. También se encontraron diferencias en la actividad antioxidante y el contenido de fenoles en función del patrón analizado. GN destacó por presentar el mayor poder antioxidante y el mayor contenido de fenol de los patrones en estudio. Estas propiedades químicas son importantes ya que pueden influir en los mecanismos de defensa de la planta al inducir resistencia frente a determinados estreses, patógenos o enfermedades.

La fertilización con bioestimulantes tuvo un impacto significativo en el desarrollo de las plantas tanto a nivel aéreo como radicular y logró acortar los plazos de vivero. Ambos bioestimulantes favorecieron la proliferación de raíces primarias y / o secundarias, logrando plantas con mejor o más

rápida capacidad de adaptación al campo. Este tipo de fertilización puede por tanto ser considerada una herramienta importante que permita una mejor y más rápida adaptación de los cultivos de almendro en el marco de la agricultura sostenible.

Changes produced by the application of biostimulants on almond rootstocks properties during the nursery process

(1) Alba Mondragón-Valero, (2) Ricardo Malheiro, (1) Domingo M. Salazar,

(2) José A. Pereira, (1) Isabel López Cortés²

Published in Advances in Agriculture & Botany (2019) vol.11 nº1 pp. 56-71

4.1 Abstract

During the last ten years we have assisted to the consolidation of the almond crop that has remarkably increased its cultivation area causing a high demand for both plants and products related to growth stimulation. Accordingly, in the present work we aim to study the changes produced by the contribution of two biostimulants (humic and fulvic acids or aminoacids) on the properties of almond tree rootstocks. This kind of studies are of interest to the nursery cultivation industry where rapid growth of trees and good adaptation to their cultivation environment are required. Plants' radicular and vegetative systems responded differently according to the rootstock selection. The fastest and vigorous vegetative development was observed in GN rootstock whereas GF 677 showed the greatest number of main roots and RP-R of secondary roots. Differences on antioxidant activity and phenol content have also been found between rootstocks. All the tested samples were found to have a high antioxidant power and a high phenol content but GN stood out in this regard over the other rootstocks under study. The efficiency of the biostimulants applied has been verified. Both biostimulants promoted the development of the aerial part of the trees but biostimulant 2 did it to a greater extent. Biostimulant 1 was able to duplicate the number of main roots in RP-R and during the first year of study, biostimulant 2 originated an increase of the weight of the root system by 26.44% for RP-R, 16.93% for GF 677 and 48.00% for GN.

In view of these results, synthetic chemical fertilizers can be at least partially replaced by biostimulants.

Keywords: *Prunus dulcis* Miller, natural fertilizers, vegetative system, radicular system, antioxidant activity, phenolic content.

² (1) Departamento Producción Vegetal, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, Spain; (2) Centro de Investigação de Montanha (CIMO), ESA, Instituto Politécnico de Bragança, Campus Santa Apolónia, 5300-253, Bragança, Portugal. Corresponding author: A. Mondragón-Valero, almonva@upv.es

4.2 Introduction

Nuts are world-renowned and valued for their sensory, nutritional and health attributes. On a global basis, almond tree (*Prunus dulcis* Miller) production levels outperform other nuts like pistachio or hazelnuts and are distributed mainly in the regions of California and the Mediterranean Basin. During the last ten years we have witnessed a significant consolidation of this crop, while the cultivation surface has increased by 12% globally, the production of almonds has been increased by 55% (FAOSTAT 2018), placing the almond tree as a very important crop due to the high commercial value of its fruits. The three main objectives that are pursued in the agronomic research for the enhancement of the cultivation of the almond tree are the increase of its performance with self-compatible and late flowering varieties, the improvement in the composition and quality of its fruits and an improved answer to biotic and abiotic stresses (Saa *et al.* 2015).

The use of rootstocks is an important tool used by nurseryman in the improvement of crop adaptation to certain stresses, especially in situations of stakeout (Mondragón-Valero *et al.* 2017). Rootstocks can modify the eco adaptability of the cultivars so that, an accurate characterization of them is essential to identify the best cultivar-rootstock combinations for each environment with the objective of obtaining high quality crops.

Often, the rootstock characterization is limited exclusively to their morphometric properties and how they influence the grafted varieties. However, the usual morphometric characterization should be accompanied by a chemical analysis that allows knowing how the chemical composition influences the antioxidant capacity and its enzymatic and non-enzymatic system (Zrig *et al.* 2011). These chemical properties are important as they can influence the defense mechanisms of the plant by inducing resistance to certain stresses, pathogens or diseases. The phenolic compounds are a good example of this, they are situated in the different tissues of the plants and ensure some protection against biotic and abiotic stresses (Tenhaken 2015). The contribution of phenols in resistance to plant diseases is largely based on their cytotoxicity, they are known antioxidants and have been shown to elicit cellular responses that are triggered to counteract oxidative stress (Agati *et al.* 2011) so a more accurate information about the phenolic content of the different rootstocks and their antioxidant activity can be helpful in almond improvement programs.

Another of the most used tools in the nursery industry in order to offer quality plants is the use of fertilizers. There is however a lack of nurseries in the world that produce fruit trees using sustainable management techniques (Grzyb *et al.* 2015). It is known that proper nutrient management is crucial to optimize the production of fruit crops, however, fruit producers usually apply to the substrate large amounts of chemical fertilizers, sometimes higher than those that are really needed,

causing high environmental pollution impact (Tanou *et al.* 2017). Some years ago, certain nurseries undertook the attempt to use sustainable products such as biostimulants based on mycorrhizal fungi, humus, seaweed extract and humic and fulvic acids to replace or complement the most polluting traditional products. It was concluded that some of these products allow an adequate development of the seedlings, guaranteeing a correct establishment in the future orchard (Grzyb *et al.* 2015). The use of biostimulant products is considered as an innovative alternative to address the challenges of sustainable agriculture due to its ability to improve nutrient absorption, stimulate the development of the plant, minimize the use of fertilizers (Povero *et al.* 2016; Yakhin *et al.* 2017) and to induce tolerance to stresses produced by the environment especially drought and salinity (Posmyk & Szafrńska 2016). It should be noted however that biostimulant origins are very diverse and the mode of action of many of them is still under study (Povero *et al.* 2016; Colla *et al.* 2017) and that the results obtained by biostimulants are often dependent on the type of crop and the environment (Yakhin *et al.* 2017) so it is key to continue investigating its use.

The objective pursued in this study is to characterize both morphometrically and chemically three almond rootstocks to have a greater knowledge of their possibilities of eco-environmental adaptation. In addition, we intend to study its response at both vegetative and radicular levels against the contribution of different root biostimulants to increase the eco adaptability of the plant in its nursery phase.

4.3 Materials and Methods

4.3.1 Vegetal material and growth conditions

The trials were carried out on the east zone of Spain, more specifically in the province of Valencia, at the facilities of the Universitat Politècnica de Valencia (latitude 39°28'50"N, longitude 0°21'59"W). The average annual temperatures of the region are 18.3°C with maximum average temperatures in the month of August (30.2°C) and minimum temperatures in the month of January (7.1°C). The average annual rainfall is 475 mm with a relative humidity of 65% (AEMET 2019). To carry out the trial, a total of 90 almond trees were characterized under UPOV norm and obtained from a certified nursery in phenological stage 10 of the BBCH scale. Thirty individuals corresponded to the rootstock GF 677 (*Prunus persica* L. × *Prunus dulcis* M.), 30 individuals with the G×N Garnem® (GN) rootstock (*Prunus dulcis* M. (cv Garrigues) × *Prunus persica* L. (cv. Nemared)) and another 30 with the ROOTPAC® (RPR) rootstock (*Prunus cerasifera* E. × *Prunus dulcis* M.).

The rootstocks were transplanted into pots of 80 L capacity with a substrate prepared on demand composed of 25% silica, 38% vaporized peat and 37% sand. The irrigation dose was 40 L of

water per month distributed in irrigations of 40 min on alternate days with a self-compensating and anti-draining dripper of 4 L h⁻¹ (uniformity coefficient of 85%).

Regarding fertilization, each of the three rootstocks was subjected to three types of treatment:

- 10 specimens of each rootstock were treated with biostimulant 1;
- 10 specimens of each rootstock were treated with biostimulant 2;
- 10 specimens of each rootstock were taken as control trees, they did not have any contribution of fertilizer and only water was provided.

The chemical composition of the biostimulants is shown on Table 1. The treatments were applied around the area of influence of the roots on a weekly basis at a rate of 8 cm³ of biostimulant per tree and week during the two years of study.

Table 1. Chemical compositions of the biostimulants applied.

<i>Biostimulant 1</i>		<i>Biostimulant 2</i>	
"L" free aminoacids	4.7% w/w	Total humic extract	25% w/w
Nitrogen (N)	5.5% w/w	Fulvic acids	25% w/w
Potassium (K ₂ O)	1% w/w	Nitrogen (N)	4% w/w
Organic matter	22% w/w	Phosphorus (P ₂ O ₅)	0.5% w/w
Fe-HEDTA	0.5% w/w	Potassium (K ₂ O)	0.5% w/w
Weed extract	4% w/w	Organic matter	45% w/w
Zeaxanthins	0.07% w/w		

The total duration of the trial was two years, from July 2015 to July 2017. At the end of the first-year period (July 2016), a sample of 45 individuals were taken for data collection corresponding to 15 specimens of GF 677 (5 units treated with biostimulant 1, 5 units with biostimulant 2 and 5 control units), 15 specimens of GN (5 units treated with biostimulant 1, 5 units with biostimulant 2 and 5 control units) and 15 specimens of RP-R (5 units treated with biostimulant 1, 5 units with biostimulant 2 and 5 control units). The rest of the individuals were left under the initial conditions for another year. This schedule allows us to compare the development of the trees over a total period of two years.

4.3.2 Morphometrical characterization

Regarding the aerial part of the samples, the influence of the different rootstocks and biostimulants consisted on the evaluation of the height of the tree, the trunk height and the weight of the shoots. The diameter of the graft area was also measured since it is the graft-rootstock union zone and therefore the most sensitive area in the nursery years. The parameters studied in the radicular system were, the number of main roots, their length and diameter, and the distance to the first bifurcation. In the same way, the number of secondary roots, their length, diameter and the distance between the beginning of the secondary root and their first bifurcation to tertiary roots were counted. To measure the dry weights of each group of roots (main, secondary, and tertiary) the root systems were introduced in a muffle (Memmert model) at 38°C until constant weight.

4.3.3 Chemical characterization

Aqueous extracts preparation. An amount of 200 g of adult leaves (BBCH stage 19) were taken from each of the almond rootstock studied. Each of the leaf samples was lyophilized at -60°C (LyoAlfa 6 Telstar, Barcelona, Spain). After the lyophilization process the leaves were crushed to immediately undergo an aqueous extraction following the procedure of Lima *et al.* (2016) which consists of adding 5 g of lyophilized sample (20 mesh) to 250 mL of distilled water and let boil for 45 min. The extract was then filtered with a Whatman filter No. 4 and the aqueous solution was kept frozen until posterior lyophilization process. Once lyophilized, the obtained extracts were dissolved in distilled water at a concentration of 50 mg mL⁻¹. From this concentration were prepared concentrations ranging from 0.01 to 3 mg mL⁻¹, used to determine the content of phenols and the antioxidant activity of the almond leaf. All measurements were made in triplicate and each test was repeated three times.

Reagents and products. Gallic acid, caffeic acid, hydrochloric acid, free radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), radical ABTS (2,2'-Azinobis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid), quercetine, potassium persulfate (K₂S₂O₈) and ferric chloride [FeCl₃·6H₂O] were obtained from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Phosphate buffer (pH 6.6) was prepared with dihydrogen sodium phosphate (NaH₂PO₄·2H₂O) and disodium hydrogen phosphate (Na₂HPO₄·2H₂O) both from Sigma-Aldrich. Ethanol, methanol and acetone used in the extractions were HPLC grade. The distilled water used was from a Milli-Q water purification system.

4.3.3.1 Antioxidant activity

a. Antioxidant capacity through DPPH assay.

The ability of the sample to scavenge the DPPH free radical (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) was studied by the method described by Lima *et al.* (2016). To prepare the sample, 0.3 mL of the extract concentrations described above were added to 2.7 mL of methanolic DPPH solution (6×10^{-5} mol L⁻¹).

The solution was stirred vigorously and kept under dark conditions for one hour to ensure the stability of the absorbance values subsequently measured at 517 nm in a Jenway 6320D spectrophotometer. The ability to neutralize free radicals was measured as a percentage of DPPH decolorization by the following equation: Scavenging activity (%) = $[(ADPPH - A_s) / ADPPH] \times 100$ where: A_s is the absorbance of the sample and ADPPH is the absorbance of the DPPH solution.

The EC₅₀ which is the effective concentration at which a 50% inhibition percentage of free radicals occurs was also calculated.

b. Antioxidant capacity through ABTS assay.

This method, based on the ability of a sample to inhibit the radical ABTS (2,2'-Azinobis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid), was carried out based on the protocol described by Lima *et al.* (2016). There was prepared a 25 mL solution of ABTS (7mM) with 440 μ L of potassium persulfate (K₂S₂O₈) and kept at room temperature under total darkness for 12-16 h to form the radical. A precise volume of the mentioned solution was diluted with ethanol to obtain an absorbance of 0.70 ± 0.02 at a wavelength of 734 nm. Once the radical was formed, we mixed 2 mL of ABTS solution with 0.1 mL of sample and after 6 minutes the absorbance was read at a wavelength of 724 nm. The ability to neutralize free radicals was measured as a percentage of ABTS discoloration using the same equation used for DPPH. The EC₅₀ which is the effective concentration at which a 50% inhibition percentage of free radicals occurs was also calculated.

c. Reducing power

The reducing power of the extracts was obtained by the procedure described by Lima *et al.* (2016). Were mixed 1 mL of sample with 2.5 mL of 0.2 M phosphate buffer (pH 6.6) and with 2.5 mL of 1% (w/v) K₃[Fe(CN)₆] solution. The mixture was incubated in a water bath for 20 min at 50°C, and then cooled at room temperature. Subsequently, 2.5 mL of trichloroacetic acid 10% (w/v) was added and vigorously shaken. Were removed 2.5 mL of supernatant to which were added 0.5 mL of 0.1% (w/v) FeCl₃ 6H₂O solution. After that the absorbance was read at 700 nm. The concentration of extract that allowed an absorbance of 0.5 (EC₅₀) was calculated through the absorbance graph at 700 nm as a function of the different concentrations.

4.3.3.2 Different phenolic groups content

For the determination of the different phenolic groups, we mixed 1 mL of sample with 1 mL of 96% ethanol (0.1%, 2% HCl) and then added 8 mL of 2% hydrochloric acid (2% HCl). The absorbance was measured at 280 nm to determine simple phenols using gallic acid as standard; at 320 nm to determine the hydroxycinnamic acid derivatives using caffeic acid as standard; and finally at 360 nm to estimate the flavonoids using quercetin as standard. The results of simple phenols were expressed as milligrams of gallic acid equivalent per gram of extract (mg GAE g⁻¹).

Hydroxycinnamic acid derivatives were expressed as milligrams of caffeic acid equivalent per gram of extract (mg CAE g⁻¹) and flavonoids as milligrams of quercetin per gram of extract (mg QE g⁻¹).

4.3.4 Statistical analysis

Statistical processing. An analysis of variance (ANOVA) with Type III sums of squares was performed using the GLM (General Linear Model procedure) of the Statgraphic X64 software. The normal distribution of the residuals and the homogeneity of variance, were evaluated by means of the Kolmogorov-Smirnov with Lilliefors correction (if $n > 50$) or the Shapiro-Wilk's test (if $n < 50$), and the Levene's tests, respectively. All dependent variables were analyzed using a one-way ANOVA with or without Welch correction, depending on whether the requirement of the homogeneity of variances was fulfilled or not. The main factor studied was the effect of rootstocks (GN, 677, and RP-R) as well of the different biostimulants in vegetative and radicular system parameters of the almond trees studied. If a statistical significant effect was found, means were compared using Tukey's honestly significant difference multiple comparison test or Dunnett T3 test also depending on whether equal variances could be assumed or not. All statistical tests were performed at a 5% significance level.

4.4 Results

The use of rootstocks is a fundamental tool in today's fruit production due to its ability to modify the behavior of the cultivars and adapt them to different environments, so it is paramount to characterize them morphometrically and chemically in the nursery phase.

4.4.1 Physical characteristics of the rootstock

In our trial, the rootstock with the fastest vegetative development in the first year of life of the plant was GN that showed greater vigor than the RP-R and GF 677 with tree heights of 61 cm, 57.60 cm and 46.80 cm respectively, biomass weight and diameter in the grafted area (Table 2). The only difference that was observed at the level of aerial development between the GF 677 and RP-R

rootstocks was in the distance from the trunk to the first bifurcation where it was observed that the RP-R showed higher trunk height than the other two rootstocks under study.

The results obtained in the root system of one-year-old trees were much more heterogeneous than those obtained in the vegetative system. As shown in Table 2, the GF 677 rootstock presented a greater number of main roots than the GN and RP-R rootstocks, being observed an inverse relationship between the number of main roots and their diameter, RP-R had a lower number of main roots than the rest of the rootstocks, but of greater thickness. Considering the main roots, GN stood out statistically on the other two rootstocks with 13.30 g weight of main roots RP-R presented a higher number of secondary roots (50.80) than GN (35.20), which in turn obtained a greater number than GF 677 (29.90). Again, an inverse relationship between the number of roots and the average diameter of each root is observed in the secondary roots, as it was the case of the main roots. This same relation is repeated for the weight of the roots, thus presenting the GF 677, the greater weight of secondary roots and RP-R the smaller. Although the average distance from the main roots to the first bifurcation (or secondary roots) was similar for the three rootstocks, statistical differences were observed in the mean distances of the secondary to the tertiary roots. The secondary roots of GN bifurcate deeper than those of GF 677 or RP-R. When analyzing the root system of the one-year samples, the GN rootstock stands out as the one with the highest total weight of roots and RP-R for showing greater maximum length and therefore a higher level of depth exploration.

The results obtained in the two-years-old samples were similar to those obtained in the one-year-old samples. GN continues to stand out at both vegetative and radical levels. It is the most vigorous rootstock with a higher tree height, but above all, with a higher dry weight of young shoots than the rest of the studied rootstocks (Table 2). The greater vigor of GN also moves to the trunk cross-sectional area and to a greater weight of the radical system.

Table 2. Vegetative and radicular parameters of the different rootstocks during the two year-study (n = 10; mean value \pm standard deviation).

Year of study	Year 1			Year 2		
	RP-R	GF 677	GN	RP-R	GF 677	GN
Vegetative system						
Tree height (cm)	57.60 \pm 1.14b	46.80 \pm 0.84a	61.00 \pm 0.70c	135.94 \pm 2.69b	108.00 \pm 4.24a	147.40 \pm 32.66b
Trunk longitude (cm)	31.30 \pm 7.95b	22.70 \pm 0.47a	24.28 \pm 0.33a	46.78 \pm 11.85a	37.95 \pm 21.28a	32.55 \pm 20.29a
Young shoots weight (g)	8.39 \pm 1.01a	8.04 \pm 0.07a	9.33 \pm 0.05b	58.57 \pm 8.74a	55.15 \pm 9.68a	101.65 \pm 5.61b
Radicular system						
Diameter of grafted area (mm)	7.72 \pm 0.68a	7.96 \pm 0.15a	8.82 \pm 0.13b	23.55 \pm 2.08a	22.05 \pm 1.09a	29.17 \pm 1.09b
Number of tap roots	7.00 \pm 1.30a	9.00 \pm 0.55b	8.00 \pm 0.54ab	24.00 \pm 4.56a	34.00 \pm 4.24b	22.50 \pm 3.53a
Tap root diameter (mm)	5.31 \pm 0.02c	2.82 \pm 0.06a	3.82 \pm 0.05b	7.22 \pm 0.03c	2.99 \pm 1.70a	5.86 \pm 1.09b
Distance of tap roots to first bifurcation (mm)	1.71 \pm 0.72a	1.32 \pm 0.02a	1.24 \pm 0.02a	13.07 \pm 5.52a	10.88 \pm 5.49a	8.67 \pm 0.32a
Tap root weight (g)	10.75 \pm 0.85b	8.36 \pm 0.23a	13.30 \pm 0.25c	180.70 \pm 14.28ab	97.45 \pm 6.01a	249.75 \pm 139.37b
Number of lateral roots	50.40 \pm 3.04c	29.80 \pm 1.30a	35.20 \pm 1.92b	450.20 \pm 27.23b	304.40 \pm 96.87a	287.25 \pm 141.42a
Lateral root diameter (mm)	0.63 \pm 0.29a	1.31 \pm 0.02b	0.82 \pm 0.03a	0.65 \pm 0.30a	0.95 \pm 0.02ab	1.26 \pm 0.17b
Distance of tap lateral roots to first bifurcation (mm)	4.34 \pm 0.96a	4.48 \pm 0.02a	5.84 \pm 0.04b	13.99 \pm 3.09a	18.05 \pm 5.6a	15.21 \pm 0.75a
Lateral root weight (g)	5.23 \pm 0.78a	7.43 \pm 0.20c	6.58 \pm 0.08b	58.57 \pm 8.74a	55.15 \pm 9.68ab	101.65 \pm 58.61b
Absorbing root weight (g)	4.03 \pm 0.55c	1.24 \pm 0.16a	3.02 \pm 0.06b	12.38 \pm 1.71b	6.32 \pm 4.27a	6.75 \pm 1.09a
Total roots dry weight (g)	11.23 \pm 0.56a	10.45 \pm 0.16a	13.91 \pm 0.06b	232.36 \pm 22.38ab	152.60 \pm 3.67a	351.40 \pm 197.99b
Roots longitude (mm)	920.00 \pm 73.31b	758.01 \pm 8.40a	762.00 \pm 16.40a	1720.41 \pm 130.70b	1142.00 \pm 282.82a	1710.50 \pm 673.80ab

In the same line, for each year, parameter and rootstock studied, mean values with different letters differ significantly (p < 0.05).

4.4.2 Chemical characteristics of the rootstocks

4.4.2.1 Antioxidant activity

The results obtained for the EC₅₀ values of the DPPH and ABTS radicals are shown in Table 3. In our test conditions, GN showed the highest antioxidant activity in the DPPH test with an EC₅₀ of 0.28 mg mL⁻¹ versus 0.34 mg mL⁻¹ obtained for RP-R and 0.44 mg mL⁻¹ of GF 677 (Table 3). For both methods tested GN reported significantly higher antioxidant activity comparatively with the other two tested rootstocks. In contrast RP-R leaves were less antioxidant in the ABTS method and GF 677 the lowest antioxidant in the DPPH assay.

To study the reducing power, we determined the EC₅₀ as the concentration at which we obtained an absorbance of 0.5 at a wavelength of 700 nm. For GN we obtained the EC₅₀ for a concentration of 0.75 mg mL⁻¹ whereas to obtain this same reading in the RP-R and GF 677 rootstocks we had to increase the concentrations to 1.10 mg mL⁻¹ and 1.31 mg mL⁻¹ respectively (Table 3).

Table 3. Antioxidant capacity of the leaves of different rootstocks under study through DPPH and ABTS scavenging assays (n = 9; mean value ± standard deviation).

Rootstock leaves	EC ₅₀ ABTS (mg mL ⁻¹)	EC ₅₀ DPPH (mg mL ⁻¹)	EC ₅₀ reducing power (mg mL ⁻¹)
GF 677	0.44±0.01 ^b	0.41±0.07 ^c	1.31±0.02 ^c
GN	0.39±0.01 ^a	0.28±0.02 ^a	0.75±0.01 ^a
RP-R	0.50±0.04 ^c	0.34±0.07 ^b	1.10±0.02 ^b

In the same column, for each parameter and rootstock studied, mean values with different letters differ significantly (p < 0.05).

4.4.2.2 Determination of different phenolic groups

GN showed almost identical contents in hydroxycinnamic acid derivatives, around 185.00 mg of CAE g⁻¹. Significant differences were found when comparing the hydroxycinnamic acid derivatives contents of these two rootstocks with GF 677, which was found to have 40% less hydroxycinnamic acid derivatives in its composition (Table 4). This same trend was repeated when measuring the simple phenols of the rootstocks under test. Again, GF 677 stood out for its lower content of simple phenols: 258.93 mg GAE g⁻¹ compared to 289.21 mg GAE g⁻¹ obtained for GN or 306.10 mg GAE g⁻¹ of RP-R. The GN samples exhibited statistically higher flavonoid contents than those of RP-R and GF 677. It should be noted that the differences were especially notable between the GN and GF 677 rootstocks,

while the concentration of flavonoids obtained for GF 677 revolves around 61.66 mg QE g⁻¹, GN reported 70% higher values with contents in flavonoids that exceed 100.00 mg QE g⁻¹.

Table 4. Phenolic composition of the leaves of the different rootstocks under study (n = 9; mean value ± standard deviation).

Rootstock leaves	Phenolic acids (mg caffeic acid / g extract)	Simple phenols (mg galic acid/ g extract)	Flavonoids (mg quercetin / g extract)
GF 677	130.31±19.83 a	258.93±28.43 a	61.66±8.14 a
GN	184.14±10.99 b	289.21±40.54 b	105.82±16.90 c
RP-R	185.57±37.68 b	306.10±13.68 b	91.75±10.00 b

In the same column, for each parameter and rootstock studied, mean values with different letters differ significantly (p < 0.05).

4.5 Contribution of biostimulants to plant development

As described in Table 5, the biostimulants contribution during the first year of the young trees promoted the development of their aerial part. Trees treated with biostimulants 1 and 2 showed greater vigor than the control trees for the three rootstocks under study. Broadly, trees treated with biostimulant 2 were taller (97.76 cm) and the growth of young shoots compared to biostimulant 1 was accelerated, except for the GN rootstock where no differences were observed in the use of one or the other biostimulant in terms of height.

There were also statistically significant differences in the trunk cross-sectional area attributable to the contribution of biostimulants in all the rootstocks. Both biostimulants caused a thickening of the trunk cross-sectional area, but the application of biostimulant 2 proved a higher thickening. Compared to the control trees, the thickening of the trunk cross-sectional area produced by biostimulant 2 was of 35.00% in GF, 67.59% in GN and 67.00% in RP-R.

Fertilization had also impact on the radicular development of the rootstocks under study during the trial's first year. Both biostimulants promoted root growth so that the treated trees presented a greater number of both main and secondary roots than the control trees. We counted an average of 7 main roots in RP-R control samples while for biostimulant 1 and 2 the average number of main roots was 13 and 10 respectively. The inverse relationship that was observed in the control trees between the number of main and secondary roots and their diameter (Table 2) disappears when biostimulants are applied being impossible to define in our essay a clear relation of the effect of the fertilization in the individual diameter of the roots. The architecture of the roots was partly modified

by the contribution of biostimulants in comparison with control trees. All the individuals treated with one or the other biostimulant increased the distance between the main root and its first bifurcation to secondary root. While distance between the main root and its first bifurcation in GF 677 control samples was 1.32 mm the contribution of biostimulant 1 and 2 increased it to 8.92 mm and 4.94 mm respectively. Although this phenomenon was not observed in the bifurcations of secondary to tertiary roots. The contribution of biostimulant 2 also produced radicular systems whose depth exploration (measured through the maximum length of roots) was inferior to control trees, for example GN samples treated with biostimulant 2 were 200 mm shorter than their control. Considering the radicular biomass, the use of the biostimulant 2 originated an increase in the weight of the root system in all the rootstocks under study (26.44% for RP-R, 16.93% for GF 677 and 48% for GN) while the biostimulant 1 only produced increases in the weight of roots of GF 677 and GN (36.93% and 48.16% respectively).

Although during the first year of tree growth statistically significant differences were observed between the samples subjected to a contribution of biostimulants and the control samples, during the second year these differences are extremely attenuated. The contribution of biostimulants only promoted a greater vegetative development in the GF 677 rootstock (171.75 cm for biostimulant 1 and 148.90 cm for biostimulant 2 compared to control trees with an average height of 108 cm) with hardly any differences depending on the type of treatment received in the RP-R and GN rootstocks. Both biostimulant 1 and 2 produced increases in the trunk cross-sectional area of RP-R (24.49 mm and 29.52 mm respectively) and GF 677 (27.08 mm and 28.13 mm respectively) but no difference was observed between the control and the GN individuals. Regarding the root system, as occurred in the one-year samples, a relationship between the contribution of biostimulants and the increase in the number of both main (for all the rootstocks) and secondary roots (for RP-R and GF 677) can be observed. Biostimulant 2 led to a greater weight of the radicular system again in the individuals of RP-R (283.04 g) and GF 677 (285.60 g) but not in the GN rootstocks. We observed that there is a certain relationship between the effect of the contribution with biostimulants and the vigor of the rootstocks so that from the second year the effect of the biostimulants hardly produce light changes in the GN (vigorous rootstock of the trial). Probably when it comes to pot trials, the roots have colonized all the available space, which is why this same trial will be established in the future in an open field.

Table 5. Effects of the different biostimulants on the rootstock development during the two year-study (n = 10; mean value ± standard deviation).

Year of study	Year 1											
	RP-R					GF 677					GN	
	Biost. 1		Biost. 2		Control	Biost. 1		Biost. 2		Control	Biost. 1	Biost. 2
Rootstock												
Vegetative system												
Tree height (cm)	80.00±3.16 ^a	97.76±0.46 ^a	57.60±1.14 ^a	98.30±0.62 ^a	111.92±0.72 ^a	46.80±0.83 ^a	121.54±0.78 ^a	121.00±1.57 ^a	61.00±0.70 ^a			
Trunk longitude (cm)	41.66±3.65 ^a	30.54±0.45 ^a	31.40±7.95 ^a	32.62±0.39 ^a	27.80±2.42 ^a	22.70±0.46 ^a	35.02±0.16 ^a	33.94±0.78 ^a	24.28±0.33 ^a			
Young shoots weight (g)	20.14±1.04 ^a	24.23±1.56 ^a	8.39±1.01 ^a	24.11±0.19 ^a	52.20±5.39 ^a	8.04±0.07 ^a	32.43±0.25 ^a	80.62±7.77 ^a	9.32±0.05 ^a			
Radicular system												
Diameter of grafted area (mm)	9.44±0.06 ^a	13.00±0.08 ^a	7.72±0.68 ^a	9.85±0.10 ^a	10.77±0.10 ^a	7.95±0.14 ^a	11.29±0.27 ^a	14.08±0.26 ^a	8.81±0.13 ^a			
Number of tap roots	13.00±1.64 ^a	10.00±0.89 ^a	7.00±1.30 ^a	7.00±6.89 ^a	13.00±2.40 ^a	8.00±0.54 ^a	7.40±0.54 ^a	9.80±2.28 ^a	7.60±0.54 ^a			
Tap root diameter (mm)	3.39±0.35 ^a	3.88±0.06 ^a	5.31±0.02 ^a	2.52±0.13 ^a	3.09±1.01 ^a	2.81±0.06 ^a	4.70±0.15 ^a	4.79±0.12 ^a	3.82±0.05 ^a			
Distance of tap roots to first bifurcation (mm)	4.02±0.99 ^a	2.88±0.34 ^a	1.71±0.72 ^a	8.92±0.04 ^a	4.94±0.30 ^a	1.32±0.02 ^a	2.28±0.12 ^a	2.74±0.42 ^a	1.24±0.01 ^a			
Tap root weight (g)	11.69±0.44 ^a	22.91±1.11 ^a	10.75±0.85 ^a	13.19±0.08 ^a	17.59±1.54 ^a	8.37±0.23 ^a	21.36±0.11 ^a	29.47±0.76 ^a	13.30±0.25 ^a			
Number of lateral roots	57.00±13.24 ^a	88.00±1.58 ^a	50.40±3.04 ^a	17.00±1.09 ^a	13.00±2.40 ^a	8.00±0.54 ^a	55.00±1.00 ^a	49.00±5.54 ^a	35.00±1.92 ^a			
Lateral root diameter (mm)	0.44±0.09 ^a	0.79±0.03 ^a	0.63±0.29 ^a	2.52±0.13 ^a	3.09±1.01 ^a	2.82±0.05 ^a	1.08±0.03 ^a	1.31±0.16 ^a	0.81±0.03 ^a			
Distance of tap lateral roots to first bifurcation (mm)	2.55±0.25 ^a	3.44±0.23 ^a	4.34±0.36 ^a	5.85±0.07 ^a	6.07±1.97 ^a	4.48±0.02 ^a	3.91±0.04 ^a	3.63±0.27 ^a	5.84±0.03 ^a			
Lateral root weight (g)	4.76±3.37 ^a	7.92±0.24 ^a	5.23±0.78 ^a	12.14±0.27 ^a	11.87±2.50 ^a	7.43±0.19 ^a	14.90±0.07 ^a	18.22±3.40 ^a	6.58±0.08 ^a			
Absorbing root weight (g)	2.53±0.32 ^a	3.92±0.70 ^a	4.04±0.55 ^a	1.03±0.78 ^a	2.18±0.12 ^a	1.23±0.16 ^a	2.46±0.08 ^a	4.72±0.93 ^a	3.01±0.05 ^a			
Total roots dry weight (g)	10.23±2.06 ^a	14.20±2.30 ^a	11.23±1.08 ^a	14.31±0.54 ^a	12.22±1.19 ^a	10.45±0.54 ^a	20.61±0.42 ^a	20.59±2.38 ^a	13.91±0.63 ^a			
Roots longitude (mm)	750.60±20.00 ^a	773.40±13.10 ^a	920.00±73.10 ^a	727.40±5.10 ^a	701.00±13.88 ^a	758.00±8.30 ^a	886.60±4.10 ^a	562.20±39.00 ^a	762.00±16.40 ^a			
Root to Shoot ratio	0.50±0.08 ^a	0.58±0.11 ^a	1.33±0.32 ^a	0.59±0.10 ^a	0.23±0.09 ^a	1.29±0.45 ^a	0.63±0.09 ^a	0.25±0.02 ^a	1.49±0.34 ^a			

Year of study	Year 2					
	RP-R			GF 677		
	GN		Control	GN		Control
Blost. 1	Blost. 2	Blost. 1		Blost. 2		
Rootstock						
Vegetative system						
Tree height (cm)	115.20±1.16 ^a	129.04±1.41 ^b	135.93±1.71 ^c	171.75±11.66 ^d	148.90±26.16 ^e	108.00±4.24 ^f
Trunk longitude (cm)	44.99±3.95 ^a	43.97±0.64 ^a	46.78±11.85 ^a	36.40±7.91 ^a	45.05±11.95 ^a	37.95±21.28 ^a
Young shoots weight (g)	212.31±10.96 ^a	51.85±3.35 ^a	101.79±12.35 ^b	387.16±42.33 ^b	139.10±85.70 ^c	73.20±41.15 ^c
Radicular system						
Diameter of grafted area (mm)	25.49±0.15 ^b	29.52±0.18 ^b	23.55±2.08 ^a	27.08±0.82 ^b	28.13±0.79 ^b	22.02±0.74 ^a
Number of tap roots	68.8±2.94 ^a	61.6±5.36 ^b	23.8±4.56 ^a	65.00±33.94 ^{ab}	86.00±16.26 ^b	34.00±4.24 ^a
Tap root diameter (mm)	3.52±0.36 ^a	3.83±0.34 ^a	7.22±0.03 ^a	3.37±1.01 ^a	2.49±0.60 ^a	2.99±1.70 ^a
Distance of tap roots to first bifurcation (mm)	8.84±2.17 ^b	8.55±1.01 ^b	13.07±5.52 ^a	13.70±3.59 ^a	12.52±4.87 ^a	10.88±5.49 ^a
Tap root weight (g)	115.86±4.35 ^a	226.60±10.90 ^b	180.70±14.28 ^b	146.35±48.15 ^b	195.55±54.37 ^b	97.45±0.01 ^a
Number of lateral roots	413.00±109.95 ^a	697.00±11.66 ^b	450.00±27.23 ^a	284.50±54.44 ^a	501.50±146.37 ^a	304.50±96.37 ^a
Lateral root diameter (mm)	0.47±0.10 ^a	0.67±0.02 ^a	0.65±0.30 ^a	1.07±0.25 ^a	0.91±0.15 ^a	0.95±0.02 ^a
Distance of tap lateral roots to first bifurcation (mm)	8.60±0.86 ^a	12.49±0.85 ^b	13.99±3.09 ^b	15.64±5.16 ^a	19.77±8.73 ^a	18.05±5.06 ^a
Lateral root weight (g)	28.46±20.12 ^a	44.05±1.35 ^b	58.57±8.74 ^b	73.4±38.18 ^a	90.05±28.63 ^a	55.15±9.68 ^a
Absorbing root weight (g)	9.03±1.16 ^a	7.92±1.41 ^a	12.38±1.71 ^b	8.85±2.05 ^a	9.55±1.20 ^a	6.32±4.27 ^a
Total roots dry weight (g)	147.25±29.70 ^a	283.04±45.98 ^b	232.36±22.38 ^b	217.40±89.66 ^b	285.6±83.01 ^b	152.6±3.67 ^a
Roots longitude (mm)	1103.70±29.21 ^a	1554.50±264.00 ^b	1720.40±136.70 ^b	1163.00±322.40 ^a	1124.50±221.30 ^a	1142.00±282.28 ^a
Root to Shoot ratio	0.69±0.10 ^a	5.45±1.22 ^b	2.28±0.79 ^b	0.56±0.24 ^a	2.05±0.73 ^b	2.08±0.88 ^b

In the same line, for each year, parameter and rootstock studied, mean values with different letters differ significantly ($p < 0.05$).

4.6 Discussion

As in other crops, in the almond tree, high quality seedlings are sought when establishing new plantations with a good development both aerial and radicular.

The use of rootstocks is a tool widely used in agriculture for its ability to modify the size and shape of grafted varieties by altering the distance between knots and the angle of the branches and modifying the rates of active growth (Inglese *et al.* 2002). In this study, GN stood out for its greater vegetative vigor in both the one-year and two-year samples compared to GF 677 and RP-R. These results agree with those obtained by Felipe (2009) that described GN as a very vigorous rootstock capable of provoking a greater volume of biomass by producing a greater number of young shoots, as occurs in our study (Table 2). As in the study by Mondragón-Valero *et al.* (2017) the greater vigor of GN translates into a larger trunk diameter. A larger trunk cross-sectional area can induce or modify the height of the tree, the volume of the crown, the structure of the branches and the productivity and size of the fruits (Srivastava *et al.* 2017). Several authors describe a negative relationship between the vigor of the rootstock and the productivity of the cultivar in *Prunus* species (Marra *et al.* 2013) but nevertheless positive with the accumulated yield (Reig *et al.* 2016). It should be considered that the rootstocks capable of inducing a certain vigor can also modify the expression of certain genes, as in the case of the cherry tree, the genes related to the metabolism of the flavonoids and the synthesis of the cell wall (Prassinis *et al.* 2009). On the other hand, the ability of a plant to produce different types of roots is an aspect of its plasticity that has important characteristics of adaptation. As in other crops, the number of roots and their distribution varies depending on the genotype of the individual under study highlighting the number of roots and the architecture of the root system as very important factors in tree stability (Dupuy *et al.* 2007). In our characterization, the rootstock that had the highest number of main roots was GF 677; however, it was RP-R that stood out for its higher number of secondary roots. The ramification of the root system through the formation of secondary or lateral roots represents an essential element in the adaptation of the system to its environment and is regulated by hormonal and nutritional signals that act locally to induce or inhibit the proliferation of roots (Bellini *et al.* 2014). Thanks to these adaptive responses the plant can increase the contact surface with the soil for a greater capture of resources (Atkinson *et al.* 2014).

Another of the cultivation practices that most influences the quality of nursery seedlings is fertilization. The contribution of nutrients in the first stages of the plant development is a key factor, especially for seedlings produced in containers in which the limited volume seriously hinders growth. Fertilization affects both vegetative and root growth of plants, improves rooting and growth capacity after transplantation, and increases resistance to water stress, low temperatures and certain diseases

(Grossnickle 2000). In addition, the mobilization of internal reserves provides the seedlings with some independence from the external availability of nutrients (Cherbuy *et al.* 2001). These properties are essential for early establishment in the open field, especially when unfavorable conditions take place. In our study, the use of both biostimulants promoted the development of the aerial part of the rootstocks especially during the first year. Similar results were obtained by Saa *et al.* (2015) when applying foliar biostimulants from different origins in a one-year-old almond tree plantation.

Biostimulant 2 based on humic and fulvic substances promoted more actively the vegetative development of all the rootstocks under study. The contribution of humic substances propitiated the vegetative growth in the tests carried out by Fathy *et al.* (2010) in apricot trees and by Laila *et al.* (2013) in olive trees. The investigations of Zandonadi *et al.* (2010) conclude that humic substances induce the growth of plants through the activation of the plasma membrane. Similarly, the proliferation of shoots by humic substances may be caused by the exogenously applied acids obtaining increases of 22% of the dry weight of biomass in different species (Rose *et al.* 2014). When comparing our results with the latter, the obtained increases in biomass produced by biostimulant 2 are much more significant, which would be explained by the high variability of the effect of humic acids depending on the origin of the material, the species treated, the way and dose of application and the environmental conditions to which the crop is subjected but also by the possible synergistic action of the rest of the compounds of biostimulant 2 (Yakhin *et al.* 2017).

Although to a lesser extent, the biostimulant 1 also produced an increase in the vegetative development of the samples of one year. Halpern *et al.* (2015) showed that the contributions of hydrolyzed proteins can promote vegetative growth and the absorption of macro and micronutrients, resulting in an increase in crop productivity. This increase in aerial biomass can be attributed to an increase in the foliar nitrogen content that causes a better photosynthesis process and promotes the translocation of the synthesizers to the sinks (Colla *et al.* 2017). Amino acids and small peptides are absorbed by both leaves and roots and are then translocated to the rest of the plant. However, the availability of amino acids for root absorption can be strongly diminished by the action of soil microorganisms. Although absorption depends, among others, on soil conditions and on the type of amino acid and its concentration, it is estimated that only between 6 and 25% of the amino acids supplied externally via the root system go to the roots (Moe 2013). This fact could explain the lower incidence of biostimulant 1 in the development of the rootstocks under study.

The contribution of biostimulants also led to an increase in root biomass both in weight and number of roots in one-year-old individuals. The contribution of both biostimulants was able to increase the weight of the radical systems of GF 677 and GN although only biostimulant 2 achieved

this effect in the RP-R rootstock. Several experimental studies in both controlled and open-field conditions have shown the relationship between the supply of hydrolyzed proteins and the development of the biomass of the root system (Halpern *et al.* 2015; Colla *et al.* 2017). Some studies indicate that glutamate receptors in plants can be activated by other amino acids besides glutamate and that can mediate a series of plant responses such as changes in the architecture of the root (in our case increased the distance between the main root and the secondary root), in the metabolism of carbon and in photosynthesis (Forde & Roberts 2014). In line with these investigations, several studies have contrasted the effect of humic and fulvic acids as promoters of root development causing greater biomass and inducing and increasing the formation of lateral roots. (Rose *et al.* 2014). The fact that the roots are in constant growth and renewal can suppose a mechanism of defense of the plants to overcome different types of stress (Amador *et al.* 2012), hence biostimulants based on amino acids (Colla *et al.* 2017) as on humic and fulvic acids (Nardi *et al.* 2016) can be considered as mitigators of the stress response.

Regarding the antioxidant power of almond rootstocks, it should be noted that natural antioxidants are produced as complex mixtures of compounds that react differently to different radicals, hence the analyses of antioxidant capacity may vary depending on the type of test carried out. In our case, coinciding with the results obtained by Floegel *et al.* (2011), the ABTS assays obtained higher levels of antioxidant capacity for all concentrations and rootstocks than the DPPH assays. The advantage of the ABTS radical is its high reactivity and, therefore, its ability to react against a wider range of antioxidants (Mareček *et al.* 2017). The results suggest that the ABTS assay better reflects the antioxidant content of the almond rootstocks than the DPPH assay although, as reported by Dudonné *et al.* (2009) in their studies, in our case there is also a strong positive correlation between both tests. The leaves of all the rootstocks under study showed high percentages of inhibition for both tests, being the antioxidant capacity of the almond leaf much higher than the olive leaf (Benavente-García *et al.* 2010) but lower to walnut and chestnut leaves (Pereira *et al.* 2007; Barreira *et al.* 2008).

As in other previous studies related to almond plant material (Sfahlan *et al.* 2009) in this research we found significant differences in the reducing power of the samples that derive from the different genotypes studied. In general, the three rootstocks showed a high capacity of reducing power with EC50 that did never exceed 1.31 mg mL⁻¹. Both the leaves of GN, RP-R and GF 677 showed a greater reducing power than moringa leaves (Iqbal & Bhanger 2006) but lower than cacao leaves (Osman *et al.* 2004).

Phenolic compounds are attributed multiple biological properties such as antioxidant activity since they can act both by sequestering free radicals and preventing their formation (Boulanouar *et*

al. 2013). Several previous studies highlight the antioxidant potential of phenols in other plant species (Pereira *et al.* 2007; Ferreira *et al.* 2007). In the case of almond leaves this relationship is verified, we observe that the extracts with the highest content of phenols have the lowest EC50, highlighting again the GN rootstock above the rest. The phenol content of almond leaves is much higher than that of apple leaves (Mayr *et al.* 1995), walnut leaves (Miliauskas *et al.* 2004) or a worldwide known source of antioxidants such as green tea leaves (Arcan & Yemenicioğlu 2009).

The high phenolic content of the almond leaves can influence the defense mechanisms of the plant. The contribution of phenols in resistance to plant diseases is largely based on their cytotoxicity (Iqbal *et al.* 2015; Wink 2017). Puupponen-Pimia *et al.* (2001) located different phenolic compounds extracted from raspberry and mulberry that showed antimicrobial activity against two strains of *Escherichia coli* and one strain of *Salmonella enterica*. In a study on almond leaf scorch produced by *Xylella fastidiosa* in different almond cultivars, Wilhelm *et al.* (2011) concluded that the higher phenolic concentration in the xylem fluid of cultivars resistant to this pathology could decrease the survival of the bacteria during winter. In another work with almond hybrids Misirli *et al.* (2001) found that leaf samples with a higher quercetin content were more resistant to inoculation of *Pseudomonas amygdali*. In our case, GN stands out against RP-R or GF 677 because of its higher flavonoid content measured in mg of quercetin per gram of extract. Tattini *et al.* (2006) allude to a close relationship between tolerance to oxidative stress and the accumulation of flavonoids. The leaves of GN draw attention because of their reddish appearance that comes from their high concentration in anthocyanins (Zrig *et al.* 2011). Among the flavonoids, anthocyanins are highly water-soluble pigments derived from the precursors of flavonoids through the shikimic acid pathway. They protect chloroplasts from senescent leaves shadow adapted leaves from photooxidative stress produced by prolonged exposure to high solar radiation (Gould *et al.* 2002). Since anthocyanins are osmotically active, their concentration at high levels can increase the resistance of plants to certain stresses thanks to greater osmotic control (Manetas 2006). In addition, it has been shown that leaves with high anthocyanin levels have greater antioxidant capacity than green leaves and that anthocyanins contribute to this capacity more than other low molecular weight compounds (Gould *et al.* 2002). Zrig *et al.* (2011) concluded that the content of anthocyanins plays an important physiological role in the protection of almond rootstocks against salinity. The GN rootstock was able to overcome saline toxicity thanks to the use of anthocyanins that abound in its leaves, while GF 677 showed a good response to saline stress due to the high content of carotenoids.

There are many recent studies in *Prunus* (Giorgi *et al.* 2005; Drogoudi & Tsiouridis 2007; Jakobek *et al.* 2009) but also in other genus (Hudina *et al.* 2014; Kviklyš *et al.* 2014) demonstrating that the antioxidant activity of the grafted varieties varies according to the rootstock selection. Of

special interest is the research of Satisha *et al.* (2008) concluding that rootstocks may influence the biochemical composition of the scion leaves grafted onto them, which in turn affects the degree of resistance or susceptibility to powdery mildew disease in grapes.

4.7 Conclusions

The GN rootstock stands out against GF 677 and RP-R for a greater vigor of the vegetative system with greater weight of pruning and greater trunk cross-sectional area. Moreover, this rootstock presents values in weight of the radicular system superior to the other rootstocks, especially in the samples of two years. RP-P that stands out for its greater number of secondary roots that allow it to increase the contact surface with the soil for a greater capture of resources and a better adaptation to the environment, this rootstock also shows the maximum length of the radical system that translates into a higher level of depth exploration.

Regarding the chemical characterization, we observed that broadly the almond leaves have a great antioxidant power, although differences are observed depending on the rootstock tested. GN presented the greatest antioxidant power and the higher phenol content of the rootstocks under study. These chemical properties are important as they can influence the defense mechanisms of the plant by inducing resistance to certain stresses, pathogens or diseases.

The fertilization with biostimulants had a significant impact on the development of the plants both at the aerial and radicular levels and was able to short the nursery deadlines. Although the results of biostimulant 1 were higher, both biostimulants favored the proliferation of primary and/or secondary roots, achieving plants with better or faster adaptation capacity to the orchard. Roots in constant growth and renewal suppose a mechanism of defense for the plants, hence the two biostimulants under study can be considered as mitigators of the response to different stresses. Biostimulants must be considered an important tool that allows a faster and better adaptation of almond crops within the framework of sustainable agriculture.

4.8 References

- AEMET (2019). <http://www.aemet.es/es/serviciosclimaticos/datosclimatologicos> (last view: 23.04.2019).
- Agati, G., Biricolti, S., Guidi, L., Ferrini, F., Fini, A., & Tattini, M. (2011). The biosynthesis of flavonoids is enhanced similarly by UV radiation and root zone salinity in *L. vulgare* leaves. *Journal of Plant Physiology* 168:204-212.
- Amador, M. L., Sancho, S., Bielsa, B., Gomez-Aparisi, J., & Rubio-Cabetas, M. J. (2012). Physiological and biochemical parameters controlling waterlogging stress tolerance in *Prunus* before and after drainage. *Physiologia Plantarum* 144: 357-368.
- Arcan, I., & Yemenicioğlu, A. (2009). Antioxidant activity and phenolic content of fresh and dry nuts with or without the seed coat. *Journal of Food Composition and Analysis* 22: 184-188.
- Atkinson, J. A., Rasmussen, A., Traini, R., Voß, U., Sturrock, C., Mooney, S. J., *et al.* (2014). Branching out in roots: uncovering form, function, and regulation. *Plant Physiology* 166: 538-550.
- Barreira, J. C., Ferreira, I. C., Oliveira, M. B. P., & Pereira, J. A. (2008). Antioxidant activities of the extracts from chestnut flower, leaf, skins and fruit. *Food chemistry*, 107: 1106-1113.
- Bellini, C., Pacurar, D. I., & Perrone, I. (2014). Adventitious roots and lateral roots: similarities and differences. *Annual Review of Plant Biology* 65: 639-666
- Benavente-Garcia, O., Castillo, J., Lorente, J., Ortuno, A., & Del Rio, J. A. (2000). Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. *Food Chemistry* 68: 457-462.
- Boulanouar, B., Abdelaziz, G., Aazza, S., Gago, C., & Miguel, M. G. (2013). Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils. *Industrial Crops and Products* 46: 85-96.
- Cherbuy, B., Joffre, R., Gillon, D., & Rambal, S. (2001). Internal remobilization of carbohydrates, lipids, nitrogen and phosphorus in the Mediterranean evergreen oak *Quercus ilex*. *Tree Physiology* 21: 9-17.
- Colla, G., Hoagland, L., Ruzzi, M., Cardarelli, M., Bonini, P., Canaguier, R., & Roupael, Y. (2017). Biostimulant Action of Protein Hydrolysates: Unraveling Their Effects on Plant Physiology and Microbiome. *Frontiers in plant science*, 8:1-2.
- Drogoudi, P. D., & Tsiouridis, C. G. (2007). Effects of cultivar and rootstock on the antioxidant content and physical characters of clingstone peaches. *Scientia Horticulturae* 115: 34-39.
- Dudonné, S., Vitrac, X., Coutiere, P., Woillez, M., & Mérillon, J. M. (2009). Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. *Journal of agricultural and food chemistry* 57: 1768-1774.
- Dupuy, L., Fourcaud, T., & Stokes, A. (2007). A numerical investigation into the influence of soil type and root architecture on tree anchorage. In *Eco-and ground bio-engineering: The use of vegetation to improve slope stability*. Ed Springer, Dordrecht.
- FAOSTAT (2018). <http://www.fao.org/faostat/en/?#data/QC/visualize> (last view: 15.01.2018)

- Fathy, M. A., Gabr, M. A., & El Shall, S. A. (2010). Effect of humic acid treatments on 'Canino' apricot growth, yield and fruit quality. *New York Science Journal* 3: 109-115.
- Felipe, A. J., (2009). 'Felinem', 'Garnem', and 'Monegro' almond x peach hybrid rootstocks. *HortScience* 44: 196-197.
- Ferreira, I.C.F.R., Barros, L., Soares, M.E., Bastos, M.L., Pereira, J.A. (2007). Antioxidant activity and total phenolic contents of *Olea europaea* L. leaves sprayed with different copper formulations. *Food Chem.* 103: 188-195.
- Floegel, A., Kim, D. O., Chung, S. J., Koo, S. I., & Chun, O. K. (2011). Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of food composition and analysis* 24: 1043-1048.
- Forde, B. G., & Roberts, M. R. (2014). Glutamate receptor-like channels in plants: a role as amino acid sensors in plant defence F1000prime reports, 6.
- Giorgi, M., Capocasa, F., Scalzo, J., Murri, G., Battino, M. E. Z. Z. E. T. T. I., & Mezzetti, B (2005). The rootstock effects on plant adaptability, production, fruit quality, and nutrition in the peach (cv. 'Suncrest'). *Scientia Horticulturae* 107: 36-42.
- Gould, K. S., McKelvie, J., & Markham, K. R. (2002). Do anthocyanins function as antioxidants in leaves? Imaging of H₂O₂ in red and green leaves after mechanical injury. *Plant, Cell & Environment* 25: 1261-1269.
- Grossnickle, S. C. (2000). *Ecophysiology of northern spruce species: the performance of planted seedlings*. NRC Research Press: 101-116.
- Grzyb, Z. S., Piotrowski, W., & Paszt, L. S. (2015) Effect of Fertilization in Organic Nursery for Later Growth and Fruiting of Apple Trees in the Orchard. *Journal of Life Sciences* 9:159-165.
- Halpern, M., Bar-Tal, A., Ofek, M., Minz, D., Muller, T., & Yermiyahu, U. (2015). The use of biostimulants for enhancing nutrient uptake. *Advances in agronomy* 130: 141-174.
- Hudina, M., Orazem, P., Jakopic, J., & Stampar, F. (2014). The phenolic content and its involvement in the graft incompatibility process of various pear rootstocks (*Pyrus communis* L.). *Journal of plant physiology* 171: 76-84.
- Inglese, P., Caruso, T., Gugliuzza, G., & Pace, L. S. (2002). Crop load and rootstock influence on dry matter partitioning in trees of early and late ripening peach cultivars. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 127:825-830.
- Iqbal, S., & Bhangar, M. I. (2006). Effect of season and production location on antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaves grown in Pakistan. *Journal of food Composition and Analysis* 19: 544-551.
- Iqbal, E., Salim, K. A., & Lim, L. B. (2015). Phytochemical screening, total phenolics and antioxidant activities of bark and leaf extracts of *Goniolobus velutinus* (Airy Shaw) from Brunei Darussalam. *Journal of King Saud University-Science*: 27: 224-232.
- Jakobek, L., Šeruga, M., Voća, S., Šindrak, Z., & Dobričević, N. (2009). Flavonol and phenolic acid composition of sweet cherries (cv. Lapins) produced on six different vegetative rootstocks. *Scientia Horticulturae* 123: 23-28.

- Kviklys, D., Liaudanskas, M., Janulis, V., Viškelis, P., Rubinskienė, M., Lanauskas, J., & Uselis, N. (2014). Rootstock genotype determines phenol content in apple fruits. *Plant, Soil and Environment* 60: 234-240.
- Laila, F. H., Shahin, M. F. M., Merwad, M. A., Khalil, F. H., & El-Hady, E. S. (2013). Improving fruit quality and quantity of "Aggizi" olive trees by application of humic acid during full bloom and fruit set stages. *Middle East j.* 2: 44-50.
- Lima, L., Bento, A., Baraldi, I., Malheiro, R. (2016). Selection of grapevine leaf varieties for culinary process based on phytochemical composition and antioxidant properties. *Food Chemistry* 212: 291-295.
- Manetas, Y. (2006). Why some leaves are anthocyanic and why most anthocyanic leaves are red? *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* 201: 163-177.
- Mareček, V., Mikyška, A., Hampel, D., Čejka, P., Neuwirthová, J., Malachová, A., & Cerkal, R. (2017). ABTS and DPPH methods as a tool for studying antioxidant capacity of spring barley and malt. *Journal of Cereal Science* 73: 40-45.
- Marra, F. P., Bianco, R. L., La Mantia, M., & Caruso, T. (2013). Growth, yield and fruit quality of 'Tropic Snow' peach on size-controlling rootstocks under dry Mediterranean climates. *Scientia Horticulturae* 160: 274-282.
- Mayr, U., Treutter, D., Santos-Buelga, C., Bauer, H., & Feucht, W. (1995). Developmental changes in the phenol concentrations of 'Golden Delicious' apple fruits and leaves. *Phytochemistry* 38: 1151-1155.
- Miliauskas, G., Venskutonis, P. R., & Van Beek, T. A. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food chemistry* 85: 231-237.
- Misirli, A., Gülcan, R., Küden, A., & Demir, G. (2001). Determination of phenolic compounds in some almond hybrids varying in resistance to *Pseudomonas amygdali*. *Cahiers Options Méditerranéennes (CIHEAM)* 56: 71-86.
- Moe, L. A. (2013). Amino acids in the rhizosphere: from plants to microbes. *American journal of botany* 100: 1692-1705.
- Mondragón-Valero, A., López-Cortés, I., Salazar, D. M., & de Córdova, P. F. (2017). Physical mechanisms produced in the development of nursery almond trees (*Prunus dulcis* Miller) as a response to the plant adaptation to different substrates. *Rhizosphere* 3: 44-49
- Nardi, S., Pizzeghello, D., Schiavon, M., & Ertani, A. (2016). Plant biostimulants: physiological responses induced by protein hydrolyzed-based products and humic substances in plant metabolism. *Scientia Agricola* 73: 18-23.
- Osman, H., Nasarudin, R., & Lee, S. L. (2004). Extracts of cocoa (*Theobroma cacao* L.) leaves and their antioxidation potential. *Food Chemistry* 86: 41-46.
- Pereira, J. A., Oliveira, I., Sousa, A., Valentão, P., Andrade, P. B., Ferreira, I. C., & Estevinho, L. (2007). Walnut (*Juglans regia* L.) leaves: phenolic compounds, antibacterial activity and antioxidant potential of different cultivars. *Food and Chemical Toxicology* 45: 2287-2295.

- Posmyk, M. M., & Szafrńska, K. (2016). Biostimulators: a new trend towards solving an old problem. *Frontiers in plant science* 7:748.
- Povero, G., Mejia, J. F., Di Tommaso, D., Piaggese, A., & Warrior, P. (2016). A systematic approach to discover and characterize natural plant biostimulants. *Frontiers in plant science* 7:435.
- Prassinou, C., Ko, J. H., Lang, G., Iezzoni, A. F., & Han, K. H. (2009). Rootstock-induced dwarfing in cherries is caused by differential cessation of terminal meristem growth and is triggered by rootstock-specific gene regulation. *Tree physiology* 29: 927-936.
- Puupponen-Pimia, R., Nohynek, L., Meier, C., Kahkonen, M., Heinonen, M., Hopia, A., and Oksman-Caldentey, K. M. (2001). Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. *J. Appl. Microbiol.* 90:494-507.
- Reig, G., Mestre, L., Betrán, J. A., Pinochet, J., & Moreno, M. Á. (2016). Agronomic and physicochemical fruit properties of 'Big Top'nectarine budded on peach and plum based rootstocks in Mediterranean conditions. *Scientia Horticulturae* 210: 85-92.
- Rose, M. T., Patti, A. F., Little, K. R., Brown, A. L., Jackson, W. R., & Cavagnaro, T. R. (2014). A meta-analysis and review of plant-growth response to humic substances: practical implications for agriculture. *Advances in agronomy* 124: 37-89.
- Saa, S., Rio, O. D., Castro, S., & Brown, P. H. (2015). Foliar application of microbial and plant based biostimulants increases growth and potassium uptake in almond (*Prunus dulcis* [Mill.] DA Webb). *Frontiers in plant science* 6: 87.
- Satisha, J., Doshi, P., & Adsule, P. G. (2008). Influence of rootstocks on changing the pattern of phenolic compounds in Thompson seedless grapes and its relationship to the incidence of powdery mildew. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 32: 1-9.
- Sfahlan, A. J., Mahmoodzadeh, A., Hasanzadeh, A., Heidari, R., & Jamei, R. (2009). Antioxidants and antiradicals in almond hull and shell (*Amygdalus communis* L.) as a function of genotype. *Food Chemistry* 115: 529-533.
- Srivastava, K. K., Kumar, D., Mir, J. I., & Singh, S. R. (2017). Tree architecture influenced productivity and quality attributes in apple under HDP. *The Horticultural Society of India* 74: 486-490.
- Tanou, G., Ziogas, V., & Molassiotis, A. (2017). Foliar Nutrition, Biostimulants and Prime-Like Dynamics in Fruit Tree Physiology: New Insights on an Old Topic. *Frontiers in plant science* 8: 75.
- Tattini, M., Remorini, D., Pinelli, P., Agati, G., Saracini, E., Traversi, M. L., & Massai, R. (2006). Morpho-anatomical, physiological and biochemical adjustments in response to root zone salinity stress and high solar radiation in two Mediterranean evergreen shrubs, *Myrtus communis* and *Pistacia lentiscus*. *New Phytologist* 170: 779-794.
- Tenhaken, R. (2015). Cell wall remodeling under abiotic stress. *Frontiers in plant science* 5:771.
- Wilhelm, M., Brodbeck, B. V., Andersen, P. C., Kasun, G. W., & Kirkpatrick, B. C. (2011). Analysis of xylem fluid components in almond cultivars differing in resistance to almond leaf scorch disease. *Plant disease*, 95: 166-172.
- Wink, M. (2017). The role of quinolizidine alkaloids in plant-insect interactions. *Insect-Plant Interactions* 1:139-174.

- Yakhin, O. I., Lubyayov, A. A., Yakhin, I. A., & Brown, P. H. (2017). Biostimulants in plant science: a global perspective. *Frontiers in plant science* 7: 2049.
- Zandonadi, D. B., Santos, M. P., Dobbss, L. B., Olivares, F. L., Canellas, L. P., Binzel, M. L., *et al.* (2010). Nitric oxide mediates humic acids-induced root development and plasma membrane H⁺-ATPase activation. *Planta* 231: 1025-1036.
- Zrig, A., Tounekti, T., Vadel, A. M., Mohamed, H. B., Valero, D., Serrano, M., *et al.* (2011). Possible involvement of polyphenols and polyamines in salt tolerance of almond rootstocks. *Plant Physiology and Biochemistry* 49: 1313-1322.

Influence of Fertilization and Rootstocks in the Biomass Energy characterization of *Prunus dulcis* (Miller)

Justificación del estudio

Lograr una gestión sostenible y un uso eficiente de los recursos naturales es hoy en día un compromiso ineludible en el marco de la producción agrícola. Para ello, resulta necesario trabajar desde la doble perspectiva de la mitigación y la adaptación al cambio climático para, por un lado, reducir los efectos del cambio climático y mientras por otro mitigamos la vulnerabilidad de los cultivos frente a este complejo fenómeno.

En respuesta a los retos medioambientales actuales, la bioeconomía se ha convertido en un aspecto clave de la economía circular que persigue garantizar el acceso a una energía asequible, fiable, sostenible y moderna a la par que mitigar los efectos del cambio climático y reducir el uso de combustibles fósiles. Es por tanto necesario el estudio de alternativas como los biocombustibles derivados de biomasa que permiten aumentar considerablemente la proporción de energía renovable en el conjunto de fuentes energéticas.

Teniendo en cuenta la falta de estandarización de la biomasa, la elección de las materias primas para lograr una mejor eficiencia de los procesos de obtención de energía no está exenta de dificultades. Si las prácticas agrícolas para la obtención de materiales influyen en su composición, es de esperar que estas mismas prácticas también afecten a las propiedades energéticas de los cultivos. Por tanto, de cara al adecuado aprovechamiento de los residuos obtenidos con fines energéticos, se requiere, no solo una minuciosa caracterización del material vegetal, sino también, un estudio en profundidad de en qué forma las prácticas de cultivo influye en las propiedades energéticas de los materiales en estudio.

En este ensayo trabajamos con dos variedades españolas de almendro (Marcona y Vayro) injertadas en tres patrones ampliamente utilizados y que garantizan buena compatibilidad (GF 305, GF 677 y GN Garnem). Las muestras se sometieron a 3 tipos de tratamiento. Bioestimulante 1, que se compone principalmente de sacáridos y aminoácidos; Bioestimulante 2, rico en extractos húmicos y fúlvicos, y un grupo control de plantas que solo fueron regadas con agua. Para la obtención de

resultados se analizaron las diferentes combinaciones de factores que podrían influir en las propiedades energéticas de los residuos generados: variedad, patrón y tipo de fertilización.

Observamos que las variables que más influyeron en el poder calorífico bruto de la biomasa fueron la variedad, el patrón y principalmente la interacción variedad-patrón.

En cuanto a los cultivares Marcona presentó mejores propiedades energéticas que Vayro. Los árboles injertados en GF305 obtuvieron un poder calorífico bruto superior a los injertados en GF677 y GN Garnem respectivamente. En cuanto a la fertilización, cabe destacar que el porcentaje de nitrógeno dependió en gran medida del tratamiento de fertilización aplicado, el aporte de sacáridos y aminoácidos acumuló un nivel superior de nitrógeno que la fertilización húmica y fúlvica.

Influence of Fertilization and Rootstocks in the Biomass Energy characterization of *Prunus dulcis* (Miller)

(1) Alba Mondragón-Valero, (2) Borja Velázquez-Martí*, (1) Domingo M. Salazar and Isabel López-Cortés (1)³

Published in Energies (2019) vol.11 nº 5 pp. 1-12 DOI: 10.3390/en11051189

5.1 Abstract

The importance of replacing fossil fuels with new energy routes such as the use of biomass leads to improve the sources such as agricultural and forest systems with adequate management techniques. Besides, an important amount of residual biomass can significantly contribute to bio-economies in the future. The selection of the vegetal material and the management practices can influence the properties and quality of the obtained biofuel. The properties of the biomass obtained from pruning almond trees (*Prunus dulcis* (Mill)) has been analyzed in this study. Two varieties were tested Marcona and Vayro, with three rootstocks GF305, GF677 and GN Garnem, under different fertilization systems. The quality of biofuel was evaluated according to the chemical composition and gross calorific value. We observed that the variables that mostly influenced the gross calorific value of the biomass were the variety, the rootstock and mainly the variety-rootstock interaction. Marcona presented better biomass properties than Vayro. Trees grafted on GF305 obtained a higher gross calorific value than the ones grafted on GF677 and GN Garnem respectively. Percentage of nitrogen highly depended on the fertilization treatment applied, the saccharides and aminoacid fertilization accumulated a higher level of nitrogen than the humic and fluvic fertilization.

Keywords: biomass, variety and rootstock selection, almond tree, agricultural practices.

5.2 Introduction

Energy efficiency is a basic pillar when it comes to achieving a certain degree of social and environmental sustainability, guaranteeing an adequate level of energy security [1]. In this sense, the European Union has set as a priority objective to achieve greater efficiency in the development of renewal energies [2,3] committing to increase the exploitation of renewable energy by 20% [4].

³ (1) Departamento Producción Vegetal, Universitat Politècnica de València Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, Spain; (2) Departamento de Ingeniería Rural y Agroalimentaria, Universitat Politècnica de València Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, Spain; *Correspondence: borvemar@dmta.upv.es; Tel.: +96-387-72-90 (ext. 72900).

Under this premise the research of fuels as an alternative to crude oil and coal has led scientists to analyze materials that come from agriculture and forest environments [5–7]. Among the biofuels obtained from these systems, lignocellulosic materials such as wood chips and pellets acquire an important role [8-10] as they can be used in combustion boilers to produce heat in both industrial specially in oil mills and domestic applications [11–13]. Improved cogeneration systems have also been developed to simultaneously produce heat and electricity [14,15]. Another very relevant application is the use of lignocellulosic materials in pyrolysis processes [16-18]. Commonly, the primary biofuels used in small-scale combustion systems have a woody origin and as the demand for these biofuels grows the pressure on forest exploitation will increase with possible negative environmental consequences which is why it is important to find new sources of where to obtain biofuel [4].

The ignorance of the energetic properties of the lignocellulosic materials from agricultural environment has led to numerous investigations determining the calorific value, ash, and elemental composition of the wood of different crops such as the orange tree [19-21], the olive tree [20–22], the almond tree [19,20,23], the apple tree [24], the vine [8,19,20] and even herbaceous plant remains from greenhouses [25,26] The heating or calorific value is one of the most important aspects related to the use of biomass as it expresses the energy content of the biomass fuel and is a key parameter that has been widely used for the development of calorific power prediction models based on elemental, proximal and structural composition [27–31], although unfortunately the accuracy of the correlations based on those analysis are generally not very high [32].

In fact, just as the quality of the fruit varies according to the cultivation techniques used, the energy properties of the wood can be affected by the growing conditions and the agricultural practices as the variety or rootstock selection or the fertilization.

Considering the lack of accurate biomass standardization, especially in relation to physicochemical, process and environmental parameters, the study and choice of raw materials for achieving better processes efficiencies is not devoid of difficulties [33]. If the agricultural practices for obtaining materials influence their composition, obviously they will also do so in their energetic properties. Therefore, a proper characterization is required for the adequate use of the wastes obtained for biofuel uses.

The aim of this work has been to demonstrate this hypothesis, on the wood of almond tree (*Prunus dulcis* (Mill.)), being one of the most important crops of Mediterranean regions but also of the California coast which generates a huge amount of biomass available for energy uses [23] with potential calorific powers superior to other common sources of biomass as the almond shell, the olive pomace coming from oil mills or the pressed grape waste from the wine industry [33]. Two varieties

were tested Marcona and Vayro, with two rootstocks and different fertilizations. The novelty offered by this study consist on the introduction of new parameters as the rootstock selection or the fertilization in the study and classification of biomass products.

If the hypothesis is true, it would be necessary to consider those practices that improve the obtained products, on the one hand for food production, and on the other, the energetic material coming from the pruning waste. The use of both resources could significantly contribute to regional and national bio-economies in the future [14,34].

5.3 Materials and Methods

5.3.1 Field Study

The research area was located on the east coast of Spain, in the province of Valencia (latitude 39°28'50" N, longitude 0°21'59" W). The region is characterized by an average annual temperature of 18.3 °C. Maximum temperatures (30.2 °C) are observed in the month of August and minimum temperatures (7.1 °C) in January. The average rainfall is around 475 mm with a 65% of relative humidity, the driest period corresponds to the month of August and the rainiest to October [35]. For study purposes, a total of 108 individuals of *Prunus dulcis* (Mill.)

(Mill.) were selected. The procedure of each trial consisted in the selection of a minimum of 36 individuals for the different combinations of factors that could influence the generated waste: variety, pattern and fertilization type. Table 1 shows the factors studied and their different levels.

5.3.2 Vegetal Material and Treatments

For this research we analyzed two almond tree varieties (both of them have been characterized following the UPOV norm TG/56/4 Corr): Marcona and Vayro. Marcona is an autochthonous variety of the east of Spain which is known worldwide for the high quality of its fruits. It is a highly ramified, medium-high vigor tree with low cold requirements [36]. Vayro is a late flowering variety obtained through crosses within the IRTA (Instituto de Investigación y Tecnología Agroalimentarias) genetic hybridization program. Trees of this variety show very strong vigor and medium branch density [37].

The behavior of 3 rootstocks widely used in almond cultivation was tested. GF 305 rootstock is a medium vigor frank peach pattern that adapts adequately to irrigated conditions [38] and is tolerant to drought. GF 677 comes from the interbreeding of peach trees (*Prunus persica* L. Batsch) and almond trees (*Prunus dulcis* Miller) obtained in France by the INRA (Institut National de la Recherche Agronomique) [39]. It is a vigorous rootstock with good agronomic behavior in both dry

and irrigated conditions. Finally, GN Garnem, obtained by the Agricultural Research Service of the Government of Aragón (CITA-DGA) as the result of the crossing between *Prunus dulcis* (Mill.) (cv. Garrigues) and *Prunus persica* L. Batsch (cv. Nemared). It stands out for its strong vertical growth, inducing greater vigor than GF 677 [40].

Regarding fertilization, the samples were subjected to 3 types of treatment. Biostimulant 1, which is mainly composed of saccharides and amino acids; Biostimulant 2, rich in humic and fulvic extract, and a control group of test plants that were only irrigated with water.

Table 1. Factors and levels analyzed for the characterization of almond trees biomass.

Factor	Number of Levels	Levels
Variety	2	Marcona Vayro
Rootstock	3	GF 305 GF 677 GN Garnem
Fertilization	3	Biostimulant 1 Control Biostimulant 2

5.3.3 Laboratory Analysis

5.3.3.1 Proximate Analysis

The evaluation of the drying process was carried out according to the norm ISO 18134-2:2017 [41]. The process took place in oven drying conditions under controlled temperature (105 ± 2) °C. In order to avoid the loss of volatile compounds, the drying process did not exceed 24 h. Ash content and volatile compounds were determined according to the norms ISO 18122:2015 [42] and ISO 18123:2015 [43] respectively.

5.3.3.2 Determination of Gross Calorific Value and Elemental Composition Analysis

Gross calorific values (CGV) of samples were analyzed using a LECO AC500 Automatic Calorimeter, based on norm ISO 18125:2017 [44]. Carbon (C), Hydrogen (H) and Nitrogen (N) determinations were carried out according to norm ISO 16948:2015 [45].

5.4 Results and Discussion

An overview of the chemical composition of almond tree biomass was conducted in order to describe the biomass potential of this species and how the selection of the vegetal material (variety and rootstock) and management practices can influence the properties of the obtained biofuel.

Table 2 presents the values of proximate analysis, elemental composition and gross calorific value of the studied samples. All variables, except the percentage of hydrogen, present standard kurtosis and standard skewness between -2 and +2, ANOVA analysis can be performed as they all follow normal distributions. The average gross calorific value obtained in our analysis shows similar results to those obtained in almond hulls and shells by Nhuchhen [46] or by Fernández-González [19] or Yin [27] for biomass. The results are also close to those found for other *Prunus* species as *Prunus avium* L. [47] or *Prunus armeniaca* L. [48]. As it can be observed, the concentration on C and H was 48.11% and 5.77%, which are the same as those observed by Jenkins [49] for almond residues. Percentages of C, H, N are in the range of published data for other biomass groups (C = 42–71%; H = 3–11%; N = 0.1–12%) [50]. Low concentration of N, as it is the case, is a positive characteristic, as high N produces a negative impact on the environment due to nitrogen dioxide emissions [19]. The greatest disadvantage of biomass when it is used as fuel is its high moisture content, which is inversely correlated with its calorific value [51]. Almond trees presented an average moisture content (8.40%) much lower than the average for woody species (20%) [52], which makes it therefore convenient for energetic uses.

Table 2. Characterization of examined biomass.

	Average	Standard deviation	Standard skewness	Standard kurtosis	Minimum	Maximum
Carbon (%)	48,41	2,22	-1,99	2,01	41,50	53,50
Hydrogen (%)	5,77	0,30	-4,81	4,96	4,83	6,60
Nitrogen (%)	0,97	0,27	1,62	-0,59	0,44	1,67
C/H	8,40	0,38	-1,53	0,70	7,29	9,26
GCV (J/g)	18.503,44	555,99	-6,73	7,99	17.067,37	19.628,39
Moisture content (%)	8,36	1,83	1,87	0,98	5,78	12,84
Ash (%)	3,41	0,80	2,05	-1,39	2,15	5,01
Volatile compounds (%)	82,89	5,48	-1,88	0,58	69,59	92,74

The dependence of the studied variables is shown in Table 3. It has been proved in other studies that moisture content and percentages of C and H have a high influence on the gross calorific value [47,53]. However, in our study we observed that the variables that mostly influence the gross calorific value are not the composition of C, H, N, but variety, rootstock and over all variety-rootstock interaction. We found that the variable that has influenced the percentage of N the most is the treatment applied. This result is consistent with other researches [54,55] that conclude that fertilizers and pesticides doses are highly important for some elements such as the nitrogen content.

Given the obtained results, a variance analysis was carried out in order to compare the influence of the different factors analyzed in this study.

Table 3. Pearson correlation coefficients analysis.

	Variety	Rootstock	Interaction variety/ rootstock	Treatment	C	H	N	C/H	GCV	Moisture content (%)	Ash (%)	Volatile compounds (%)
Variety		0	0,9869*	0	-0,4053*	-0,1831	0,027	-0,1983*	-0,6465*	-0,2160*	0,2163*	-0,1180
Rootstock		0	0,1612	0	-0,072	0,3213*	-0,4055*	-0,4346*	-0,4769*	-0,3373*	-0,2213*	0,6926*
Interaction variety/rootstock		0,9869*	0,1612	0	-0,4116*	-0,1289	-0,0387	-0,2658*	-0,7149*	-0,2675*	0,1778	-0,0049
Treatment		0	0	0	-0,1932	-0,3167*	-0,4427*	0,1606	0,0797	0,1503	0,2787*	0,1605
C		-0,4053*	-0,072	-0,4116*	-0,1932*	0,5593*	0,1868*	0,3581*	0,4168*	-0,0617	-0,0048	0,2528*
H		-0,1831	0,3213*	-0,1289	-0,3167*	0,5593*	-0,1143	-0,5722*	0,0851	-0,2663*	-0,1574	0,4891*
N		0,0270	-0,4055*	-0,0387	-0,4427*	0,1868*	-0,1143	0,3199*	0,2552*	0,2706*	0,2334*	-0,4033*
C/H		-0,1983*	-0,4346*	-0,2658*	0,1606	0,3581*	-0,5722*	0,3199*	0,3118*	0,2426*	0,1688	-0,3013*
GCV		-0,6465*	-0,4769*	-0,7149*	0,0797	0,4168*	0,0851	0,2552*	0,3118*	0,2781*	0,2354*	-0,0938
Moisture content (%)		-0,216*	-0,3373*	-0,2675*	0,1503	-0,0617	-0,2663*	0,2706*	0,2426*	0,2781*	0,0584	-0,4015*
Ash (%)		0,2163*	-0,2213*	0,1778	0,2787*	-0,0048	-0,1574	0,2334*	0,1688	0,2354*	0,0584	0,2146*
Volatile compounds (%)		-0,118	0,6926*	-0,0049	0,1605	0,2528*	0,4891*	-0,4033*	-0,0938	-0,4015*	0,2146*	

* Pairs of variables with *P*-values lower than 0.1; C: carbon (%); H: hydrogen (%); N: nitrogen (%); GCV: gross calorific value ($J \cdot g^{-1}$).

5.4.1 The variety factor

Plants show a huge amount of similarities in properties between species, yet with significant specific variations such as the ones related to combustion properties. In this research, we focused on contrasting if the differences were also notable between varieties within the same species. Marcona

and Vayro varieties were statistically compared by means of variance analysis. The results obtained are shown on Figure 1. As we can see, the gross calorific value of Marcona (18.858,70 J·g⁻¹) was statistically higher than the one obtained by Vayro (18.148,20 J·g⁻¹). The same results have been reached in the evaluation of the carbon and the hydrogen contents, while no differences have been found for the nitrogen content. Marcona has been described in previous research as a variety with very high residue productivity (13.91 kg dry matter/tree) [20], this variety could be of interest in order to obtain not only a higher level of biomass in weight per tree but also a higher energetic potential because of its superior gross calorific value.

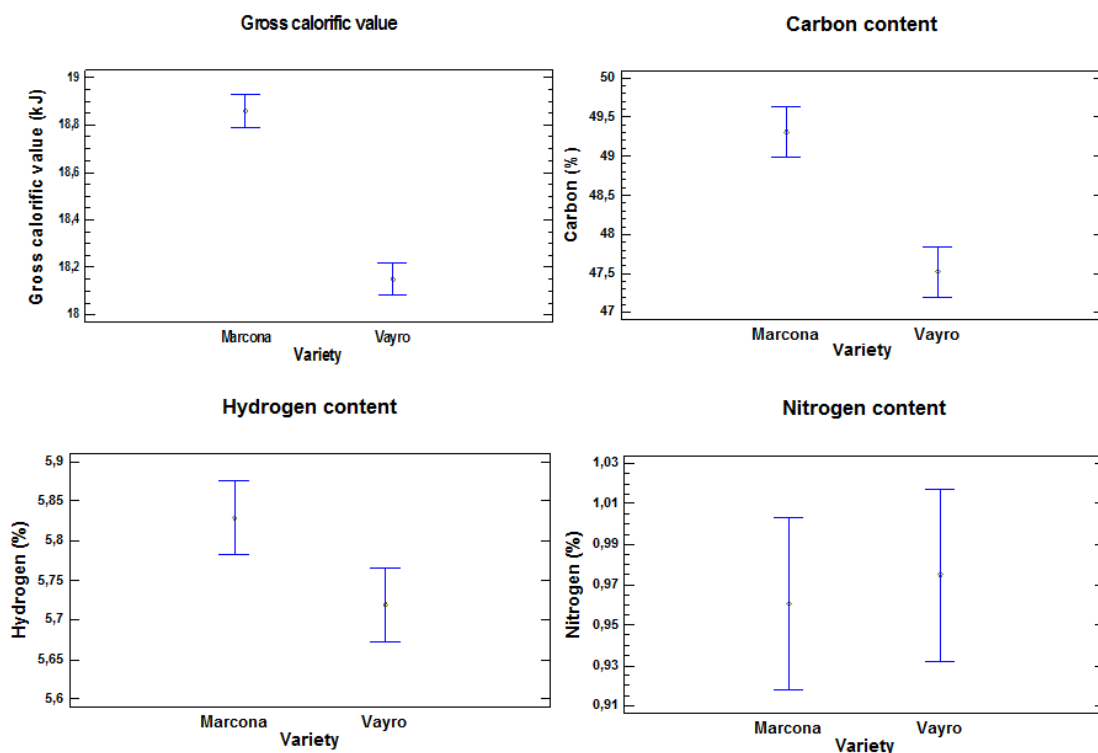


Figure 1. LSD intervals at 90% confidence level in the influence of the variety factor in residual biomass characteristics. (n = 108).

5.4.2 The rootstock factor

It has been widely studied that the selection of an appropriate rootstock is a key factor in fruit trees, as rootstocks can confer better adaptability to climatic and edaphic conditions and have influence on the plant mineral uptakes, the yield properties and efficiency, and the vigor of the grafted variety [56]. Figure 2 presents the statistical comparison of rootstocks by means of variance analysis. The rootstock with the highest gross calorific value was GF 305 (18.850,70 J·g⁻¹) and the lowest gross calorific value was presented by rootstock GN Garnem (18.148,20 J·g⁻¹). These differences between rootstocks cannot be attributed in our study to differences in carbon content, as we can see in Figure 2. This result would not correspond to those published by Demirbaş [57] where the heating power

was linked to the oxidation phase of the fuels in which carbon commonly dominated and overshadowed small changes of the hydrogen content. Although the contents of nitrogen in almond trees are low compared to other species [50], we can see that the rootstock factor affects nitrogen levels. In this study, the rootstock with the lowest nitrogen content is GN Garnem (0.84%) followed by GF 677 (0.95%). Nox and N₂O gases are generated when obtaining energy through biomass and are highly polluting [58]. These emissions directly depend on the nitrogen content of the biomass and must be as limited as possible.

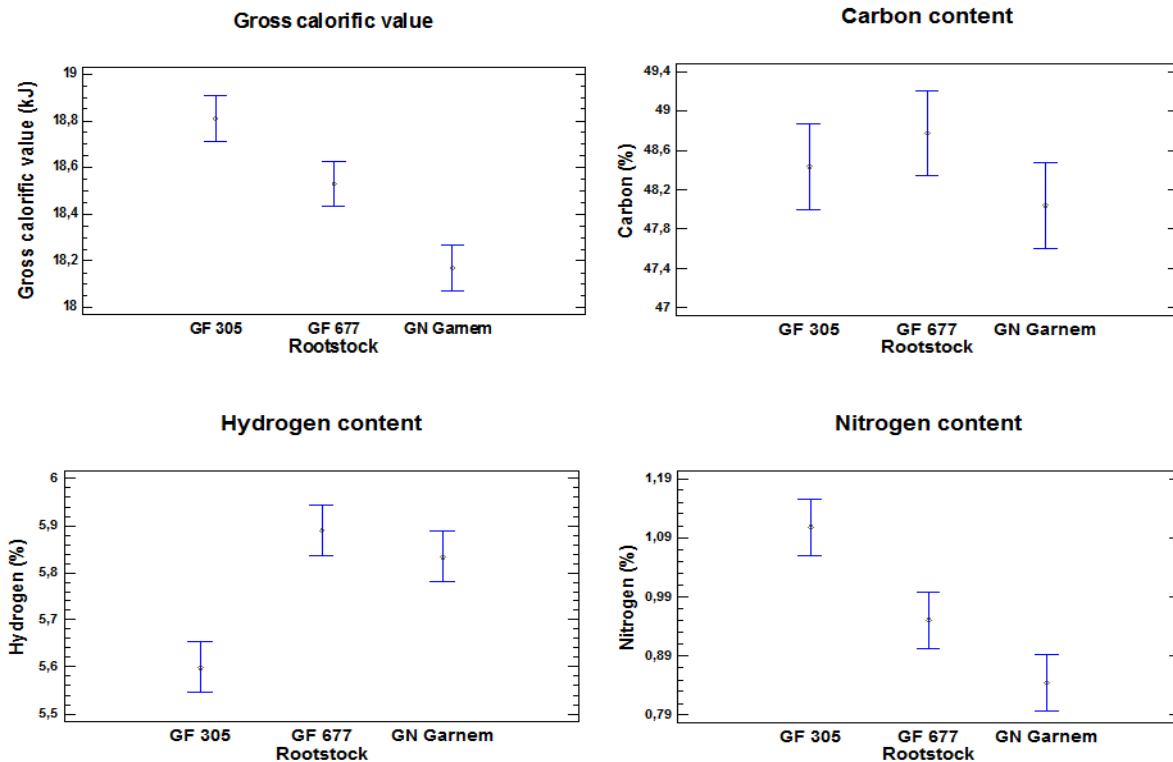


Figure 2. LSD intervals at 90% confidence level in the influence of the rootstock factor in residual biomass characteristics. (n = 108).

5.4.3 The combination variety-rootstock factor

Regardless of the rootstock on which they were grafted, Marcona samples presented greater values of gross calorific value than Vayro samples. The rootstock that induced the highest calorific value in both cultivars was GF 305. As seen in Table 4 and Figure 3, the gross calorific value of Marcona on GF 305 is superior to Marcona on GF 677 and Marcona on GN Garnem respectively. This same pattern of behavior is repeated in Vayro variety. The highest carbon contents were found in the combination variety-rootstock Marcona-GF 305 (50.45%) followed by Marcona-GF 677 (48.80%), Marcona-GN Garnem (48.68%) and Vayro-GF 677 (48.73%). As shown in Table 3 of Pearson correlation coefficients, the carbon content is much more influenced by the grafted variety than by the rootstock. All variety-rootstock combinations presented similar values on the hydrogen content except for Vayro-

GF 305, which was lower. This result coincides with the one obtained in the individualized study of the rootstocks (Figure 2). The lowest nitrogen content was identified in the Vayro-GN Garnem combination.

Table 4. Influence of the interaction variety-rootstock factor in residual biomass characteristics ($n = 108$; mean value \pm standard deviation mean values with different minor letters (a-e) differ significantly).

Interaction variety-rootstock	GCV (J/g)	Carbon (%)	Hydrogen (%)	Nitrogen (%)
Marcona 305	19.270,66 \pm 266,47 e	50,45 \pm 1,77 c	5,77 \pm 0,19 b	1,10 \pm 0,14 d
Marcona 677	18.807,45 \pm 204,93 d	48,80 \pm 1,07 b	5,87 \pm 0,20 b	0,83 \pm 0,30 ab
Marcona GN	18.497,88 \pm 375,76 c	48,68 \pm 0,83 b	5,83 \pm 0,24 b	0,94 \pm 0,15 bc
Vayro 305	18.349,76 \pm 90,33 bc	46,41 \pm 3,50 a	5,41 \pm 0,39 a	1,11 \pm 0,16 d
Vayro 677	18.255,92 \pm 238,11 b	48,73 \pm 1,77 b	5,90 \pm 0,14 b	1,06 \pm 0,34 dc
Vayro GN	17.839,02 \pm 565,84 a	47,40 \pm 0,80 a	5,83 \pm 0,26 b	0,74 \pm 0,19 a

In the same column mean values with different minor letters differ significantly ($P < 0.1$).

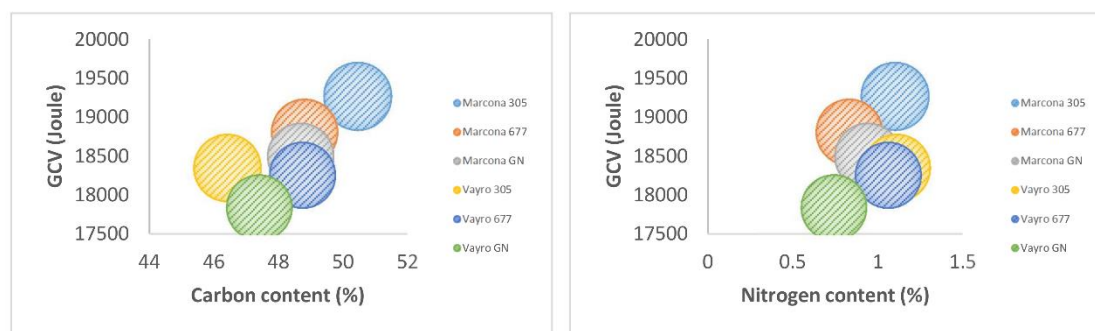


Figure 3. Dispersion diagram for gross calorific values ($J \cdot g^{-1}$) according to the carbon and nitrogen content for each variety-rootstock combination.

5.4.4 The treatment factor

The direct uptake of organic compounds from the soil solution by the root system constitutes an important base of nutrients for the plant [59]. The purpose of this essay is to obtain greater knowledge on how the composition of fertilizers can modify the characteristics of residual biomass obtained in almond trees. No significative differences have been found on carbon contents between the tested biostimulants and the control test, however, biostimulant 1 showed more carbon content than biostimulant 2. (Figure 4). The gross calorific value of samples was not affected by fertilization either. These results agree with those obtained by Ercoli [60], in which the supply of N fertilizers in Miscanthus was translated into a higher biomass yield but did not affect the calorific value of the crop. Results obtained for bioestimulant 1 regarding hydrogen and nitrogen contents are higher than those of biostimulant 2. These outcomes could be partially explained by the composition of the products, since biostimulant 1 provides mainly saccharides and amino acids (tryptophan, glutamic and GABA),

which are very fast absorbing molecules [59]. Similar conclusions were reached by Mantineo [61], where extra doses of nitrogen fertilization led to a higher nitrogen concentration on studied biomass. As high N produces a negative impact on the environment due to nitrogen dioxide emissions [19] fertilizers that promote an increase of the percentage of N may be considered as environmentally disadvantageous for biomass uses.

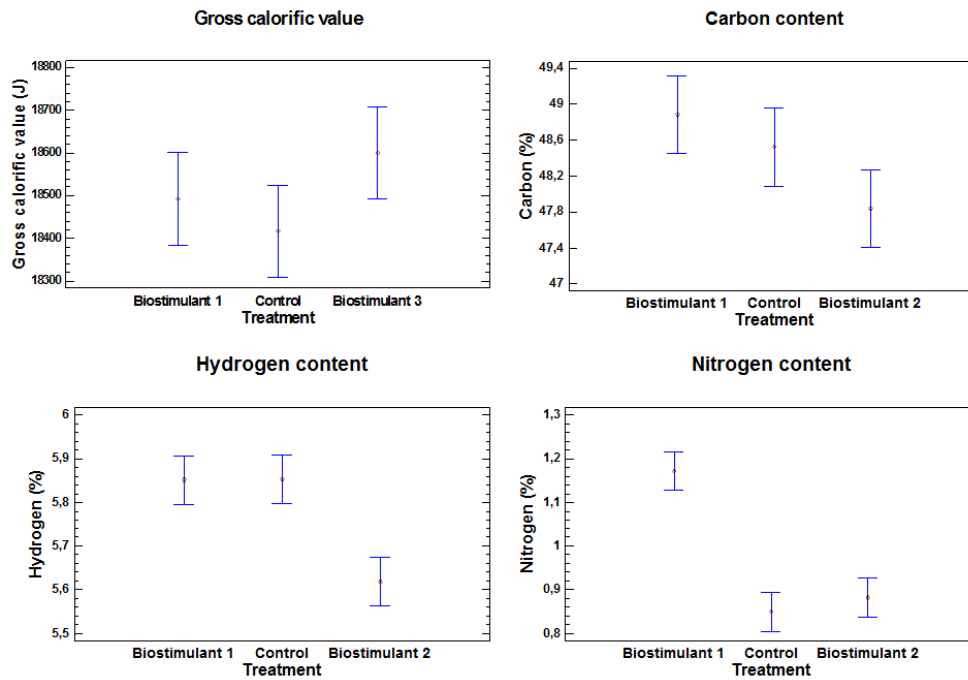


Figure 4. LSD intervals at 90% level of confidence in the influence of the treatment factor in residual biomass characteristics. (n = 108).

5.5 Conclusions

From a chemical point of view almond trees pruning has suitable characteristics to be used as a possible source of biofuel as they present high average of gross calorific value with low moisture contents and little concentration of nitrogen.

The proposed hypothesis at the beginning of the trial is confirmed. In our study, the gross calorific value of the samples was more dependent on the variety and on the rootstock than on the C, H, N composition. It will therefore be advisable in the future to find those practices that maximize the yields of this crop both at the level of fruit production and at the level of biomass obtaining.

Among the studied varieties Marcona presented higher energetical potential than Vayro. Important differences have been found between the studied rootstocks. Although GF 305 presented

the best results in terms of calorific power, it was also the rootstock with the highest nitrogen content. In contrast, GN had the lowest energy potential but also the lowest nitrogen content.

No significative differences have been found in the gross calorific value of the samples according to the fertilization. However, percentage of nitrogen highly depended on the fertilization treatment applied, the saccharides and aminoacid fertilization accumulated a higher level of nitrogen than the humic and fluvic fertilization.

Acknowledgments: This work was funded by Project 20170734. Development of methods of quantification of riparian vegetation biomass for the management of channels of the Comunitat Valenciana. Direcció General de Universidades. Generalitat Valenciana (Spain).

5.6 References

- [1] Fernández-García, A., Rojas, E., Pérez, M., Silva, R., Hernández-Escobedo, Q., & Manzano-Agugliaro, F. (2015). A parabolic-trough collector for cleaner industrial process heat. *Journal of Cleaner Production*, 89, 272-285.
- [2] Jacobsson, S., & Johnson, A. (2000). The diffusion of renewable energy technology: an analytical framework and key issues for research. *Energy policy*, 28(9), 625-640.
- [3] Cruz-Peragon, F., Palomar, J. M., Casanova, P. J., Dorado, M. P., & Manzano-Agugliaro, F. (2012). Characterization of solar flat plate collectors. *Renewable and sustainable energy reviews*, 16(3), 1709-1720.
- [4] Perea-Moreno, A. J., Perea-Moreno, M. Á., Hernandez-Escobedo, Q., & Manzano-Agugliaro, F. (2017). Towards forest sustainability in Mediterranean countries using biomass as fuel for heating. *Journal of Cleaner Production*, 156, 624-634.
- [5] Esteban LS, Carrasco JE. Biomass resources and cost: assessment in different EU countries. *Biomass Bioenergy* 2011;35:S21-30.
- [6] Sajdak, M., Velázquez-Martí, B., López-Cortés, I., Fernández-Sarría, A., & Estornell, J. (2014). Prediction models for estimating pruned biomass obtained from *Platanus hispanica* Münchh. used for material surveys in urban forests. *Renewable Energy*, 66, 178-184.
- [7] Sajdak, M., & Velazquez-Marti, B. (2012). Estimation of pruned biomass form dendrometric parameters on urban forests: Case study of *Sophora japonica*. *Renewable energy*, 47, 188-193.
- [8] Velázquez-Martí, B., Fernández-González, E., López-Cortes, I., & Salazar-Hernández, D. M. (2011). Quantification of the residual biomass obtained from pruning of trees in Mediterranean olive groves. *Biomass and bioenergy*, 35(7), 3208-3217.
- [9] MacFarlane, D. W. (2009). Potential availability of urban wood biomass in Michigan: Implications for energy production, carbon sequestration and sustainable forest management in the USA. *biomass and bioenergy*, 33(4),628-634.
- [10] Proskurina, S., Junginger, M., Heinimö, J., Tekinel, B., & Vakkilainen, E. (2018). Global biomass trade for energy—Part 2: Production and trade streams of wood pellets, liquid biofuels,

charcoal, industrial roundwood and emerging energy biomass. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*.

- [11] Prando D, Renzi M, Gasparella A, Baratieri M. Monitoring of the energy performance of a district heating CHP plant based on biomass boiler and ORC generator. *Appl Therm Eng* 2015; 79:98-107.
- [12] Artese C, Schenone G, Bartolelli V. Biomass boilers for household heating. RES& RUE Disseminatio Project (in Spanish). October 12; 2016. [http://cecu.es/campanas/medioambiente/res&rue/htm/dossier/5 biomasa.htm](http://cecu.es/campanas/medioambiente/res&rue/htm/dossier/5_biomasa.htm).
- [13] VYC. Industrial biomass boilers (in Spanish). October 12, 2016. <http://vycindustrial.com/es/calderas/productos/calderas-industriales-de-biomasa/>
- [14] Uris M, Linares JI, Arenas E. Techno-economic feasibility assessment of a biomass cogeneration plant based on an Organic Rankine Cycle. *Renew Energy* 2014;66:707-713.
- [15] Uris, M., Linares, J. I., & Arenas, E. (2017). Feasibility assessment of an Organic Rankine Cycle (ORC) cogeneration plant (CHP/CCHP) fueled by biomass for a district network in mainland Spain. *Energy*, 133, 969-985.
- [16] Haseli, Y., Van Oijen, J. A., & De Goey, L. P. H. (2011). Modeling biomass particle pyrolysis with temperature-dependent heat of reactions. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 90(2), 140-154.
- [17] Morgan Jr, H. M., Bu, Q., Liang, J., Liu, Y., Mao, H., Shi, A., & Ruan, R. (2017). A review of catalytic microwave pyrolysis of lignocellulosic biomass for value-added fuel and chemicals. *Bioresource technology*, 230, 112-121.
- [18] Oh, W. D., Lisak, G., Webster, R. D., Liang, Y. N., Veksha, A., Giannis, A., & Lim, T. T. (2018). Insights into the thermolytic transformation of lignocellulosic biomass waste to redox-active carbocatalyst: Durability of surface active sites. *Applied Catalysis B: Environmental*.
- [19] Fernández- González, E. (2010). Análisis de los procesos de producción de biomasa residual procedente del cultivo de frutales mediterráneos. Cuantificación, cosecha y caracterización (Doctoral dissertation, Universitat Politècnica de València).
- [20] Velázquez-Martí, B., López-Cortés, I., Salazar-Hernández, D., & Callejón-Ferre, Á. J. (2017). Modeling the Calorific Value of Biomass from Fruit Trees Using Elemental Analysis Data. In *Biomass Volume Estimation and Valorization for Energy*. InTech.
- [21] Toklu, E. (2017). Biomass energy potential and utilization in Turkey. *Renewable Energy*, 107, 235-244.
- [22] Velázquez-Martí, B., Fernández-González, E., López-Cortés, I., & Salazar-Hernández, D. M. (2011). Quantification of the residual biomass obtained from pruning of trees in Mediterranean olive groves. *Biomass and bioenergy*, 35(7), 3208-3217.
- [23] Winzer, F., Kraska, T., Elsenberger, C., Kötter, T., & Pude, R. (2017). Biomass from fruit trees for combined energy and food production. *Biomass and Bioenergy*, 107, 279-286.

- [24] Callejón-Ferre, A. J., Carreño-Sánchez, J., Suárez-Medina, F. J., Pérez-Alonso, J., & Velázquez-Martí, B. (2014). Prediction models for higher heating value based on the structural analysis of the biomass of plant remains from the greenhouses of Almería (Spain). *Fuel*, 116, 377-387.
- [25] Barco, A., Maucieri, C., & Borin, M. (2018). Root system characterization and water requirements of ten perennial herbaceous species for biomass production managed with high nitrogen and water inputs. *Agricultural Water Management*, 196, 37-47.
- [26] Yin, C. Y. (2011). Prediction of higher heating values of biomass from proximate and ultimate analyses. *Fuel*, 90(3), 1128-1132
- [27] Vargas-Moreno, J. M., Callejón-Ferre, A. J., Pérez-Alonso, J., & Velázquez-Martí, B. (2012). A review of the mathematical models for predicting the heating value of biomass materials. *Renewable and sustainable energy reviews*, 16(5), 3065-3083.
- [28] Velázquez-Martí, B., Sajdak, M., López-Cortés, I., & Callejón-Ferre, A. J. (2014). Wood characterization for energy application proceeding from pruning *Morus alba* L., *Platanus hispanica* Münchh. and *Sophora japonica* L. in urban areas. *Renewable Energy*, 62, 478-483.
- [29] Bychkov, A. L., Denkin, A. I., Tikhova, V. D., & Lomovsky, O. I. (2017). Prediction of higher heating values of plant biomass from ultimate analysis data. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 130(3), 1399-1405.
- [30] Osman, A. I., Abdelkader, A., Johnston, C. R., Morgan, K., & Rooney, D. W. (2017). Thermal Investigation and Kinetic Modeling of Lignocellulosic Biomass Combustion for Energy Production and Other Applications. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 56(42), 12119-12130.
- [31] Sheng, C., & Azevedo, J. L. T. (2005). Estimating the higher heating value of biomass fuels from basic analysis data. *Biomass and Bioenergy*, 28(5), 499-507
- [32] Álvarez, A., Pizarro, C., García, R., & Bueno, J. L. (2015). Spanish biofuels heating value estimation based on structural analysis. *Industrial Crops and Products*, 77, 983-991.
- [33] Agencia Estatal de Meteorología. Available online: <http://www.aemet.es/es/serviciosclimaticos/datosclimatologicos> (accessed on 20 October 2017).
- [34] Salazar, D. M., & Melgarejo, P. (2002). Cultivos leñosos: frutales de zonas áridas. El cultivo del almendro. Ed. Mundi-Prensa, Madrid.
- [35] Vargas, F., Romero, M., Clavé, J., Vergés, J., Santos, J., & Batlle, I. (2008). 'Vayro', 'Marinada', 'Constantí', and 'Tarraco' Almonds. *HortScience*, 43(2), 535-537.
- [36] Carrera, M., & Gomez-Aparasi, J. (1997, June). Rootstock influence on the performance of the peach variety 'Catherine'. In IV International Peach Symposium 465 (pp. 573-578).
- [37] Bernhard, R., & Grasselly, C. (1981). Les pêchers x amandiers. *Arboric. Fruit*, 328(6), 37-42.
- [48] Mondragón-Valero, A., López-Cortés, I., Salazar, D. M., & de Córdoba, P. F. (2017). Physical mechanisms produced in the development of nursery almond trees (*Prunus dulcis* Miller) as a response to the plant adaptation to different substrates. *Rhizosphere*, 3, 44-49.

- [49] ISO 18134-2:2017. Solid Biofuels—Determination of Moisture Content—Oven Dry Method—Part 2: Total Moisture—Simplified Method; 2017.
- [40] ISO 18122:2015. Solid biofuels - Determination of ash content: 2015.
- [41] ISO 18123:2015. Solid biofuels - Determination of the content of volatile matter: 2015.
- [42] ISO 18125:2017. Solid biofuels. Determination of calorific value; 2017.
- [43] ISO 16948:2015. Solid biofuels. Determination of total content of carbon, hydrogen and nitrogen. Instrumental methods; 2015.
- [44] Nhuchhen, D. R., & Salam, P. A. (2012). Estimation of higher heating value of biomass from proximate analysis: A new approach. *Fuel*, 99, 55-63. 42] Telmo, C., Lousada, J., & Moreira, N. (2010). Proximate analysis, backwards stepwise regression between gross calorific value, ultimate and chemical analysis of wood. *Bioresource technology*, 101(11), 3808-3815.
- [45] Telmo, C., Lousada, J., & Moreira, N. (2010). Proximate analysis, backwards stepwise regression between gross calorific value, ultimate and chemical analysis of wood. *Bioresource technology*, 101(11), 3808-3815.
- [46] Özçimen, D., & Ersoy-Meriçboyu, A. (2010). Characterization of biochar and bio-oil samples obtained from carbonization of various biomass materials. *Renewable Energy*, 35(6), 1319-1324.
- [47] Jenkins, B., Baxter, L. L., Miles Jr, T. R., & Miles, T. R. (1998). Combustion properties of biomass. *Fuel processing technology*, 54(1-3), 17-46.
- [48] Vassilev, S. V., Baxter, D., Andersen, L. K., & Vassileva, C. G. (2010). An overview of the chemical composition of biomass. *Fuel*, 89(5), 913-933.
- [49] Zhang, L., Xu, C. C., & Champagne, P. (2010). Overview of recent advances in thermo-chemical conversion of biomass. *Energy Conversion and Management*, 51(5), 969-982.
- [50] McKendry, P. (2002). Energy production from biomass (part 1): overview of biomass. *Bioresource technology*, 83(1), 37-46.
- [51] Callejón-Ferre, A. J., Velázquez-Martí, B., López-Martínez, J. A., & Manzano-Agugliaro, F. (2011). Greenhouse crop residues: energy potential and models for the prediction of their higher heating value. *Renewable and sustainable energy reviews*, 15(2), 948-955.
- [52] Obernberger, I., Biedermann, F., Widmann, W., & Riedl, R. (1997). Concentrations of inorganic elements in biomass fuels and recovery in the different ash fractions. *Biomass and bioenergy*, 12(3), 211-224.
- [53] Nordin, A. (1994). Chemical elemental characteristics of biomass fuels. *Biomass and Bioenergy*, 6(5), 339-347
- [54] Ercisli, S., Esitken, A., Orhan, E., & Ozdemir, O. (2006). Rootstocks used for temperate fruit trees in Turkey: an overview. *Sodininkyste ir Darzininkyste*, 25(3), 27-33.
- [55] Demirbaş, A. (2001). Relationships between lignin contents and heating values of biomass. *Energy conversion and management*, 42(2), 183-188

- [56] Kuhlbusch, T. A., Lobert, J. M., Crutzen, P. J., & Warneck, P. (1991). Molecular nitrogen emissions from denitrification during biomass burning. *Nature*, 351(6322), 135.
- [57] Owen, A. G., & Jones, D. L. (2001). Competition for amino acids between wheat roots and rhizosphere microorganisms and the role of amino acids in plant N acquisition. *Soil Biology and Biochemistry*, 33(4-5), 651-657
- [58] Ercoli, L., Mariotti, M., Masoni, A., & Bonari, E. (1999). Effect of irrigation and nitrogen fertilization on biomass yield and efficiency of energy use in crop production of *Miscanthus*. *Field Crops Research*, 63(1), 3-11.
- [59] Mantineo, M., D'agosta, G. M., Copani, V., Patanè, C., & Cosentino, S. L. (2009). Biomass yield and energy balance of three perennial crops for energy use in the semi-arid Mediterranean environment. *Field Crops Research*, 114(2), 204-213.

The development of the radicular and vegetative systems of almond trees with different rootstocks following the application of biostimulants

Justificación del estudio

En los últimos años, la implantación de medidas de protección frente al medio ambiente y el cambio de paradigma con respecto al uso de productos fertilizantes y fitosanitarios han propiciado la búsqueda de métodos alternativos de producción y sanidad vegetal para los diferentes cultivos. Un sector creciente de la población se preocupa cada vez más no solo por los alimentos que ingiere sino también por el impacto que estos generan en el medio ambiente.

Investigaciones recientes acerca de los beneficios del consumo de frutos secos en la salud humana han generado una atención considerable en cultivos tradicionales como el del almendro. En la última década el consumo de este fruto seco a nivel mundial se ha duplicado y por tanto la demanda de plantas como de productos que estimulen su crecimiento se ha vuelto cada vez más necesaria.

En este ensayo se estudia la respuesta de los sistemas vegetativo y radical de almendros injertados en diferentes patrones (GF 677, GN Garnem y Rootpac-R) utilizados comúnmente en el injerto de variedades de almendro y con diferentes aportes de estimulantes radicales. Los bioestimulantes se estudiaron de forma aislada (es decir, su aporte no se combinó como suele ser habitual con otros fertilizantes químicos) con el objetivo de valorar si su uso individual podría remplazar al menos parcialmente la fertilización química. En concreto se compararon los resultados obtenidos tras el aporte de 4 bioestimulantes de diferente origen y composición (BS1-BS2-BS3-BS4) y una solución fertilizante química (BS5) preparada atendiendo a las extracciones obtenidas de almendros jóvenes.

Gracias a este enfoque, se demostró que los sistemas radiculares de las plantas responden de manera diferente en función del bioestimulante aplicado y del patrón probado. Los mejores resultados se obtuvieron con el bioestimulante compuesto de materia orgánica procedente de la hidrólisis del maíz y que contiene aminoácidos libres y extractos de algas, así como zeaxantinas al 0,07% (BS2).

The development of the radicular and vegetative systems of almond trees with different rootstocks following the application of biostimulants

(1) Alba Mondragón-Valero, (2) Ricardo Malheiro, (1) Domingo M. Salazar,
(3) Juan Martínez-Tomé, (2) José A. Pereira, (1) Isabel López-Cortés⁴

Published in Spanish Journal of Agricultural Research (2020) vol.18 nº 4 pp. 1-11.

DOI: 10.5424/sjar/2020184-14787

6.1 Abstract

Aim of study: Recently, the development of almond crops on a global scale has increased their area under cultivation. The demand for both plants and products that stimulate the growth of almond trees has therefore become increasingly necessary. Accordingly, in this project we have studied the response in the vegetative and root systems of almond trees with different rootstocks to varying inputs of several root stimulants.

Area of study: Valencia (Spain) **Material and methods:** Several different organic biostimulants were studied in isolation, i.e. not combined with synthetic chemical fertilizers, in order to ascertain if chemical fertilizers could be at least partially replaced.

Main results: Good results were obtained by applying a biostimulant composed of organic matter rich in saccharides and carboxylates. Using an approach that enabled a distinguishing between them, plant radicular systems were shown to respond differently according to the biostimulant applied and the rootstock tested. The best results were obtained with a biostimulant composed of organic matter from corn hydrolysis and containing free amino acids and extracts from algae, as well as 0.07% zeaxanthins.

Research highlights: Although biostimulants are promoters of young almond tree growth, they should be applied to only partially replace chemical fertilizers. The present paper shows the importance of using an organic-origin biostimulant, as a complement to chemical nutrition.

Keywords: growth promoters; fulvic acids; humic acids; amino acids; tryptophan; algae extracts.

⁴ (1) Departamento Producción Vegetal, Universitat Politècnica de València Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, Spain; (2) Centro de Investigação de Montanha (CIMO), ESA, Instituto Politécnico de Bragança. Bragança, Portugal; (3) University Miguel Hernandez, Escuela Politécnica Superior de Orihuela, Dept. Plant Science & Microbiology. Elche, Alicante, Spain.

6.2 Introduction

According to the Organization of the United Nations for Food and Agriculture (FAO), in 2017 the world production of almonds in the shell reached 2,239,697 tons, over a cultivated area of 1,925,887 hectares, and with an average yield of 1,163 kg per hectare (<http://faostat3.fao.org/home/E>). According to the International Nut and Dried Fruit Council (INC), the production of almonds in the shell has increased 25% in the past 10 years, with an annual increase of 5% (INC, 2019). Thanks to recent and continuing research findings about the beneficial impact of almond consumption on human health, almonds and other tree nuts have attracted considerable attention (Burns *et al.*, 2016). From 2004 to 2016, almond consumption doubled, reaching 160 g per person worldwide (INC, 2019).

In the past few years, the introduction of stricter environmental regulations and a change in mentality regarding the use of plant-protection products and fertilizers have stimulated interest in finding alternative methods of production and plant health (Wells *et al.*, 2003). According to the European Biostimulants Industry Council (2018), agricultural phytostrengtheners and biostimulants are attracting a considerable attention recently and are reporting one of the fastest growths in agriculture. Biostimulants may be an important and essential tool in the future due to climate change, in order to promote plant growth, crop yield, resistance to stress, and to serve as a stimulant to plant metabolism (Nardi *et al.*, 2016). According to Scaglia *et al.* (2017), biostimulants are classified according to five categories: microbial inoculants (Rouphael *et al.*, 2017), humic substances (humic and fulvic acids) (Olivares *et al.*, 2017), amino acids (Ertani *et al.*, 2009), and seaweed extracts (Khan *et al.*, 2009). Continuing this line of work, different root-system biostimulants have been developed in recent years (Apone *et al.*, 2010) in order to develop resistance to abiotic and biotic stressors factors (Deliopoulos *et al.*, 2010), and to improve crop quality. Phytostrengtheners extend the range of tools available to the modern farmer who wishes to reduce the environmental impact of their practices, which can in some cases improve the nutrient absorption capacity of plants, allowing them to prioritize the use of organic fertilizers.

Accordingly, it is important to study the influence of biostimulants on the vegetative growth of crops, and on their radicular systems. However, in the case of almond trees, it is important to verify the combined effects of the type of biostimulant and the rootstock used. This combination may provide important results for future agricultural practices in the almond sector, in addition to improving crop sustainability.

The aim of this work, therefore, is to study the response in the development of the vegetative and radicular systems of the rootstocks of almond trees following the input of various root

biostimulants. This is of relevance to the tree nursery industry due to the importance of seedling growth. It also highlights the use of stimulants of organic origin (biostimulants) in their application, thereby encouraging a decrease in the use of traditional chemical fertilizers. Through a comparison of the effect of these biostimulants on plant vegetative and radicular development, the use of synthetic chemical treatments in almond trees may be reconsidered in the future, and perhaps partially replaced.

6.3 Materials and Methods

6.3.1 Samples and experimental design

For the present study, a total of 90 rootstocks were used: 30 from rootstock GF 677 (677), which results from the interbreeding of peach trees (*Prunus persica* L. Batcsh) with almonds trees (*Prunus dulcis* Miller), and obtained in France by the INRA (Institut National de la Recherche Agronomique) (Bernard & Grasselly, 1981); 30 from G×N rootstock Garnem® (GN), obtained by the Agricultural Research Service of the Government of Aragón (CITA-DGA), which were the result of crossing *P. dulcis* (cv. Garrigues) with *Prunus persica* (cv. Nemared) (Felipe, 2009); and 30 from rootstock ROOTPAC® R (RP-R), obtained in Spain from Agromillora Iberia, S.L., a natural hybrid between Myrobalan plum trees (*Prunus cerasifera* Ehr.) and almond trees (*P. dulcis* Miller). The rootstocks studied were two years old.

In quintuplicate (n = 5), we tested four commercial biostimulants and a nutrient solution versus a control treatment for each of the three rootstocks described (the control treatment received only the same amount of water supplied to the treatments tested). Although all these products are biostimulants, in this study we conducted a comparison without the combined influence of other fertilizer, as is commonly done in agricultural holdings. The composition of the four biostimulants and the nutritive solution used are given in Table 1.

The plant material used in the current work was under one year old and the stage corresponded to the moment where the first leaves begin to emerge and separate. The young plants was certified free from pests and diseases; it was collected from an authorized plant nursery, at phenological growth stage 10 on the BBCH (Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt und Chemische Industrie) scale (Enz & Dachler, 1997).

The rootstocks were transplanted into 80 L pots, using a substrate prepared on request and based on a mixture of 25% silica, 38% vaporized peat, and 37% washed river sand. Five repetitions for each possible rootstock-treatment combination were carried out. Analyses were conducted at the Polytechnic University of Valencia (39° 38' 2" N, 0° 22 ' 29" W; height 4 m above sea level).

The trial lasted two years (July 2016 to July 2018). The irrigation dose was 40 L of water per month given by 40-minute irrigation on alternate days with a pressure-compensating and non-leakage dripper of 40 L/h flow rate and a uniformity coefficient of 85%.

6.3.2 Biostimulant treatments

Tests were planned by comparing the commercial biostimulants (the doses and applications of which followed the manufacturer's instructions) with a nutrient solution commonly used in the cultivation of young almond trees, and a control plant to which no external compounds were added, and which was irrigated with water only under the same conditions. The organic biostimulants applied are described as follows:

- Biostimulant 1 (BS1): composed mainly of organic matter (OM), humic extracts and fulvic acids, and applied by injection in the vicinity of the root;
- Biostimulant 2 (BS2): composed of OM from corn hydrolysis and containing free amino acids and extracts from algae and 0.07% zeaxanthins;
- Biostimulant 3 (BS3): composed of OM rich in saccharides and carboxylates;
- Biostimulant 4 (BS4): composed mainly of P and Mg, along with OM.

All four biostimulants were applied at a dilution of 8 cm³ of product in 8 m³ water. In addition, another biostimulant was tested; this was characterized as BS5, or as nutritive solution. For the nutritive solution we drew up a preparation based on the extractions of almond trees obtained by Salazar & Melgarejo (2002). The formulation consisted mainly of N in the form of nitrate, K, Mg, Ca, and sulfate. This solution was applied to plants via a system of localized irrigation, with self-compensating emitters and non-drainage drippers of 4 L/h. The composition of the four applied biostimulants and the nutritive solution are given in Table 1.

The treatments were carried out on a weekly basis from the transplanting of the rootstock at phenologic stage 10 of the BBCH scale (Enz & Dachler, 1997) for stone-fruit trees, until the start date for measurements, which took place 20 weeks later.

Table 1. Chemical compositions (% w/w) of the biostimulants applied and the nutritive solution (B5).

BS1	
Total humic extract	25%
Fulvic acids	25%
Nitrogen (N)	4%
Phosphorus (P2O5)	0.5%
Potassium (K2O)	0.5%
Organic matter	45%
BS2	
"L" free aminoacids	4.7%
Nitrogen (N)	5.5%
Potassium (K2O)	1%
Organic matter	22%
Fe-HEDTA	0.5%
Weed extract	4%
Zeaxanthins	0.07%
BS3	
GABA	1%
Glutamic acid	1%
Tryptophan	1%
Carboxylates	4%
Macro and micro elements	2.8%
Saccharide mix	38%
BS4	
Nitrogen (N)	1%
Magnesium (MgO)	4%
Phosphorus (P2O5)	8%
BS5	
NO ₃ ⁻	32,7%
H ₂ PO ₄ ⁻	4,1%
SO ₄ ²⁻	24,7%
HCO ₃ ⁻	1,2%
Cl ⁻	3,4%
NH ₄ ⁺	0,4%
K ⁺	11,7%
Ca ₂ ⁺	15,2%
Mg ₂ ⁺	5,0%
Na ⁺	1,6%

6.3.3 Analisis of vegetative and root systems

The influence of the tested biostimulants on the vegetative system focused mainly on assessing total tree height, length and weight of the trunk, weight of leaves and young shoots, and the diameter of the graft zone between the aerial part and the root part.

After eliminating the soil from the plants, the studied variables were the number of primary roots and the measurements for each of them, i.e. the diameter and the distance from the start of the root until the first junction with a secondary root. The number of secondary roots was also counted, and we measured each one's diameter and the distance from the start of the lateral root, up to the first junction with a tertiary root (Mondragón-Valero *et al.*, 2017).

All measurements were always taken within 24 hours after plucking in order to avoid any drying of the aerial part or the root system. In the case of weight, roots were introduced in a Memmert model muffle at 38°C until they stabilized to a constant weight, and weight was evaluated once they had dried.

6.3.4 Statistical analysis

An analysis of variance (ANOVA) with type III sums of squares was performed using the GLM (General Linear Model procedure) of the SPSS software package, vers.

21.0 (IBM Corporation, NY). The fulfilment of the ANOVA requirements, i.e. the normal distribution of the residuals and the homogeneity of variance, were evaluated by means of the Kolmogorov-Smirnov test with Lilliefors correction (if $n > 50$), or the Shapiro-Wilk test (if $n < 50$), and Levene's test, respectively. All dependent variables were analyzed using a one-way ANOVA with or without a Welch correction, depending on whether the requirement of the homogeneity of variances had been fulfilled. The main factor studied was the effect of rootstocks (GN, 677, and RP-R) and of the different biostimulants on the vegetative and radicular system variables of the almond trees studied. If a statistically significant effect was found, means were compared using Tukey's honestly significant difference multiple comparison test, or the Dunnett T3 test, depending on whether equal variances could be assumed. A two-way ANOVA was also performed to verify the combined effect of rootstock and biostimulants on the vegetative and radicular variables of young almond trees. All statistical tests were performed at a 5% significance level.

6.4 Results and Discussion

Comparative study of the rootstocks

According to the results of our work regarding vegetative development, as presented in Table 2, the GN rootstock stands out as the most vigorous. Regarding vegetative growth in the control plants (without the application of biostimulants), the GN rootstock reported higher values for the majority of variables measured (except for trunk longitude and leaf weight; see Table 2 and Fig. 1).

Regardless of the biostimulant applied, the GN rootstock always produced a significant impact ($p < 0.001$) on tree height (from 61.0 to 196.3 cm, control and BS5, respectively), compared to RP-R (from 57.6 to 170.5 cm, control and BS5, respectively) and 677 (from 46.8 to 174.9 cm, control and BS5, respectively) rootstocks under the same conditions (Table 2). The same observation was verified for trunk weight (from 12.3 to 108.1 g, control and BS5, respectively) and diameter of the grafted area (from 8.8 to 22.2 mm, control and BS5, respectively).

Regarding plant radicular development, we observed various types of roots in both annual and perennial plants, and were able to link these differences to wide variations in absorption and transfer capacity. In our study, rootstocks GN and RP-R (182.8 and 165.2 g with BS5, respectively) presented a higher root weight than rootstock 677 (120.1 g with BS5). The rootstock RP showed greater maximum length of the root system (92 cm in control; Fig. 2), and as such, allowed for better in-depth exploration of the soil. In addition, this rootstock presented greater uniformity in the spatial distribution of its roots.

Based on the overall results obtained, rootstock GN proved to be more adequate for the development of both the vegetative (Table 2) and radicular systems (Table 3) of almond trees, although primarily the vegetative system. Therefore, it can be considered an appropriate choice for the cultivation of new almond orchards.

Table 2. Vegetative system variables of different rootstocks treated with various biostimulants (n = 5; mean ± SD).

	RP-R	GN	677
Tree height (cm)			
Control	57.6 ± 1.1 aB	61.0 ± 0.7 aC	46.8 ± 0.8 aA
BS1	97.8 ± 0.5 cA	121.0 ± 1.6 bC	111.9 ± 0.7 cB
BS2	108.7 ± 15.2 cA	149.7 ± 3.4 cC	128.2 ± 7.9 dB
BS3	80.0 ± 3.2 bA	121.5 ± 0.8 bC	98.3 ± 0.6 bB
BS4	60.2 ± 0.8 aB	69.2 ± 5.4 aC	48.0 ± 1.6 aA
BS5	170.5 ± 0.4 dA	196.3 ± 8.4 dB	174.9 ± 7.9 eA
Trunk longitude (cm)			
Control	31.4 ± 8.0 bB	24.3 ± 0.3 aA,B	22.7 ± 0.5 aA
BS1	30.5 ± 0.4 bB	33.9 ± 0.8 b,cC	27.8 ± 2.4 a,bA
BS2	29.1 ± 4.3 bA	31.6 ± 0.5 b,cA	31.5 ± 3.4 bA
BS3	41.7 ± 3.7 cB	35.0 ± 0.2 cA	32.6 ± 0.4 bA
BS4	27.0 ± 0.3 a,bB	26.2 ± 0.1 aA	30.4 ± 0.4 bC
BS5	20.6 ± 0.4 aA	30.5 ± 5.0 bB	27.6 ± 5.5 a,bA,B
Diameter of grafted area (mm)			
Control	7.7 ± 0.7 aA	8.8 ± 0.1 aB	8.0 ± 0.2 bA
BS1	13.0 ± 0.1 cB	14.1 ± 0.3 dC	10.8 ± 0.1 c,dA
BS2	13.4 ± 0.6 cB	13.7 ± 0.4 dB	11.4 ± 0.7 dA
BS3	9.4 ± 0.1 bA	11.3 ± 0.3 cC	9.8 ± 0.1 cB
BS4	8.8 ± 0.1 bB	10.0 ± 0.1 bC	6.7 ± 0.2 aA
BS5	21.3 ± 0.3 dB	22.2 ± 1.4 eB	17.6 ± 1.2 eA

In the same line, for each variable and treatment studied, mean values with different capital letters differed significantly ($p < 0.05$). In the same column, for each variable and rootstock studied, mean values with different lowercase letters differed significantly ($p < 0.05$).

Characteristics of the vegetative system according to different biostimulants applied

The variables studied in the vegetative system of the plants are reported in Table 2. The results show that all treatments, except for those based on phosphite (BS4), produced trees of a height greater than the control sample, as well as higher values for average leaf weight, young shoots and trunks (Table 2 and Fig. 1).

The tested nutrient solution (BS5), rich in N, produced almond trees with an average height of 180 cm (in five months), three times that of the data collected from measurements of the control trees. Similar results were repeated when we compared the diameters in the graft area, depending on the applied treatment. The diameter of the trunk is an essential feature of nursery stock, since trunk thickness determines the appropriate time to proceed with the graft. BS3 managed to increase the average diameter in the possible area of graft, but to a lesser extent than BS1 and BS2 (which presented similar results), and with results much lower than those provided by the tested nutrient

solution. Therefore, according to the results obtained, and by evaluating all the variables studied, BS2 appears to be a good option for improving the growth of young almond trees.

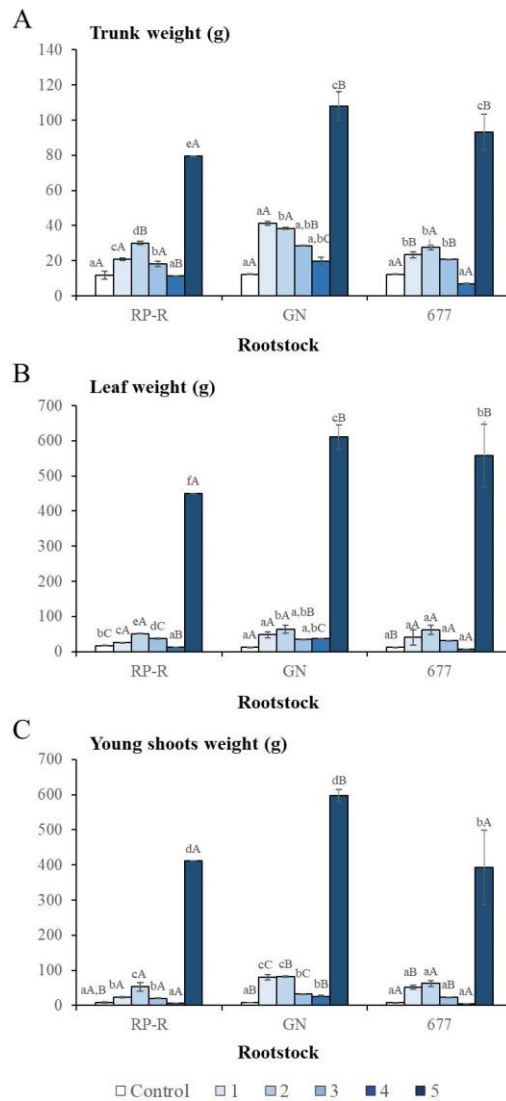


Figure 1. Trunk, leaf and young shoots weight of almond trees with different rootstocks treated with different biostimulants ($n = 5$; mean \pm SD). In the same treatment, mean values with different capital letters differed significantly ($p < 0.05$); In the same rootstock, mean values with different lowercase letters differed significantly ($p < 0.05$).

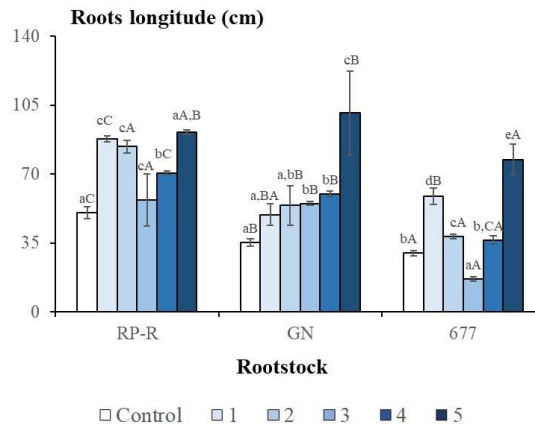


Figure 2. Roots longitude of almond trees with different roots- tocks treated with various biostimulants ($n = 5$; mean \pm SD). In the same treatment, mean values with different capital letters differed significantly ($p < 0.05$); In the same rootstock, mean values with different lowercase letters differed significantly ($p < 0.05$).

Characteristics of the radicular system according to different biostimulants applied

The applied biostimulants influenced the radicular system and the variables assessed in almond trees, in a way visible to the naked eye (see Fig. 3).

The results are presented in Table 3 and Figs. 4 to 6. In our study, only the treatments using BS1, BS2, and the tested nutrient solution, produced statistically significant increases in the total fresh weight of the root system (120.1, 165.2, and 182.8 g for the nutritive solution under 677, RP-R and GN rootstocks, respectively).

The distribution of roots can be affected by the input of fertilizers. In our study, we observed that the implementation of BS1 and BS3, and the tested nutrient solution, resulted in the development of a greater number of primary roots (Fig. 5) than in the GN control sample; in addition, all the products, except BS3, produced a significant increase in the number of secondary roots (Fig. 6). In contrast, the control treatment presented higher in-depth exploration of the soil (75.8, 76.2, and 92.0 cm for 677, GN, and RP- R, respectively) than BS11, BS2, BS4, and the tested nutrient solution (Fig. 2).

We must emphasize that the combination of rootstock and biostimulants influenced significantly all the variables studied comparatively to the control almond trees. We verified a $p < 0.001$ for all the variables studied, except for the number of tap roots ($p = 0.003$), but still significant.

Table 3. Radicular system variables of different rootstocks (in cm) treated with various biostimulants (n = 5; mean value ± SD).

	RPR	GN	677	RPR	GN	677
	Min. distance of tap root to first bifurcation			Distance of lateral roots to first bifurcation		
Control	57.6 ± 1.1 aB	61.0 ± 0.7 aC	1.32±0.02 aA	3.87±2.39 aA,B	2.27±0.03 aA	5.33±0.07 a,bB
BS1	97.8 ± 0.5 cA	121.0 ± 1.6 bC	4.95±0.31 bB	10.8±0.96 cB	5.28±1.43 aA	13.2±2.52 c,dB
BS2	108.7 ± 15.2 cA	149.7 ± 3.4 cC	5.20±0.74 bB	8.15±1.58 b,cA	18.6±3.59 bB	8.51±0.08 b,cA
BS3	80.0 ± 3.2 bA	121.5 ± 0.8 bC	8.92±0.04 cC	9.41±3.93 cA	7.67±0.22 aA	22.0±0.09 eB
BS4	60.2 ± 0.8 aB	69.2 ± 5.4 aC	0.91±0.13 aA	5.11±0.06 a,bB	7.25±0.70 aC	1.25±0.06 aA
BS5	170.5 ± 0.4 dA	196.3 ± 8.4 dB	5.11±0.66 bB	8.16±0.09 b,cA	22.6±6.17 bB	16.8±8.29 d,eA,B
	Min. distance of tap root to first bifurcation			Distance of lateral roots to first bifurcation		
Control	0.30±0.17 b,cA,B	0.39±0.01 bB	0.20±0.01 aA	4.35±0.96 bA	5.84±0.04 a,bB	4.48±0.02 aA
BS1	0.22±0.03 a-cA	0.25±0.09 a,bA	1.62±0.45 bB	3.44±0.23 a,bA	3.63±0.27 aA	6.07±1.98 aB
BS2	0.32±0.08 cA,B	0.41±0.08 bB	0.22±0.02 aA	3.37±0.75a,bA	6.14±0.01 bB	4.28±0.57 aA
BS3	0.12±0.02 aA	0.11±0.02 aA	0.32±0.04 aB	2.55±0.25 aA	3.92±0.05 a,bB	5.86±0.07 aC
BS4	0.15±0.05 a,bA	1.12±0.07 cC	0.30±0.03 aB	3.46±0.06 a,bA	5.24±1.88 a,bA,B	5.63±0.06 aB
BS5	0.12±0.02 aA	0.33±0.18 bA	0.44±0.35 aA	3.64±0.21 bA	3.99±2.32 a,bA	4.46±1.86 aA
	Max. distance of lateral roots to first bifurcation			Min. distance of lateral roots to first bifurcation		
Control	11.6±1.56 aB	13.0±0.11 a,bB	10.1±0.05 aA	0.27±0.22 bA	0.18±0.02 a,bA	0.83±0.08 bB
BS1	15.9±0.42 aA	16.0±5.42 a,bA	17.5±1.11 bA	0.02±0.02 aA	0.57±0.48 b,cA	0.60±0.52 a,bA
BS2	25.9±10.8 bB	18.8±0.86 bA,B	14.7±3.03 bA	0.02±0.01 aA	0.70±0.13 cC	0.18±0.03 aB
BS3	13.9±1.89 aA	16.1±0.08 a,bB	16.1±0.09 bB	0.10±0.02 a,bB	0.04±0.03 aA	0.20±0.01 aC
BS4	10.0±0.09 aA	11.3±0.71 aB	14.0±0.27 bC	0.02±0.01 aA	0.28±0.36 a-cA	0.29±0.03 aA
BS5	16.2±0.07 aA	14.3±6.45 a,bA	15.0±3.06 bA	0.04±0.02 aA	0.18±0.02 aA	0.02±0.01 aB

In the same line, for each variable and treatment studied, mean values with different capital letters differed significantly ($p < 0.05$). In the same column, for each variable and rootstock studied, mean values with different lowercase letters differed significantly ($p < 0.05$).



Figure 3. Visual aspect of rootstock GF-677 treated with different biostimulants: A, control; B, BS1; C, BS2; D, BS3; E, BS4; F, BS5 or nutritive solution tested.

Comparative study of rootstocks

The results that were observed for the rootstocks point to the GN rootstock as being the most vigorous.

These results are consistent with those observed by Felipe (2009), who described this rootstock, prior to being grafted, as strong with upright growth. Sotomayor *et al.* (2008) concluded that, compared to 677, the GN rootstocks produced greater pruning weight and a larger number of young buds.

The different degrees of adaptability by rootstocks to the environment can be attributed partly to the depth that the root system can reach, its density, and its spatial distribution. This is why the best spatial distribution, e.g. for the roots of rootstock RP-R, resulted in greater soil exploration ability, at least under our study conditions; as such, this rootstock can be recommended for potted plants and for poor soil situations. It was also the most tolerant in terms of humidity levels.

The vigor conferred by the rootstock GF 677 is high (Espada *et al.*, 2013), providing to the young trees a faster fruiting and contributes for high yields (Bussi *et al.*, 1995) both under rain-fed and irrigated conditions. GF 677 rootstock has a good adaptation to limestone soils (Forcada *et al.*, 2012) and tolerates iron chlorosis (Moreno *et al.*, 2008). Nevertheless, this rootstock is one of the most sensitive to *Meloidogyne* nematodes (Vargas *et al.*, 1985). GN rootstock vigor, production levels and entry into fruiting are very similar to GF 677 (Felipe, 2009). GN tolerates adequately drought conditions, although it is prepared to be implanted in irrigated conditions, with well-drained soils since it is a rootstock that is not very tolerant to radical asphyxiation (Gómez-Aparisi *et al.*, 2001). One of

the main differences between GF 677 and GN is that GN presents resistance to main *Meloidogyne* nematodes.

RP-R is also a vigorous rootstock, its zero propensity to emit tiller offers significant savings in cultivation. RP-R has been shown to be highly productive in the US in different almond cultivars, especially with the 'Non Pareil' cultivar (Pinochet *et al.*, 2011). Its main advantage over the other two studied rootstocks lies in its adaptability to clayey soils where peach × almond hybrids present development problems. RP-R shows high tolerance to radical asphyxiation, iron chlorosis and active limestone and a moderate tolerant response to salinity (Pinochet, 2010).

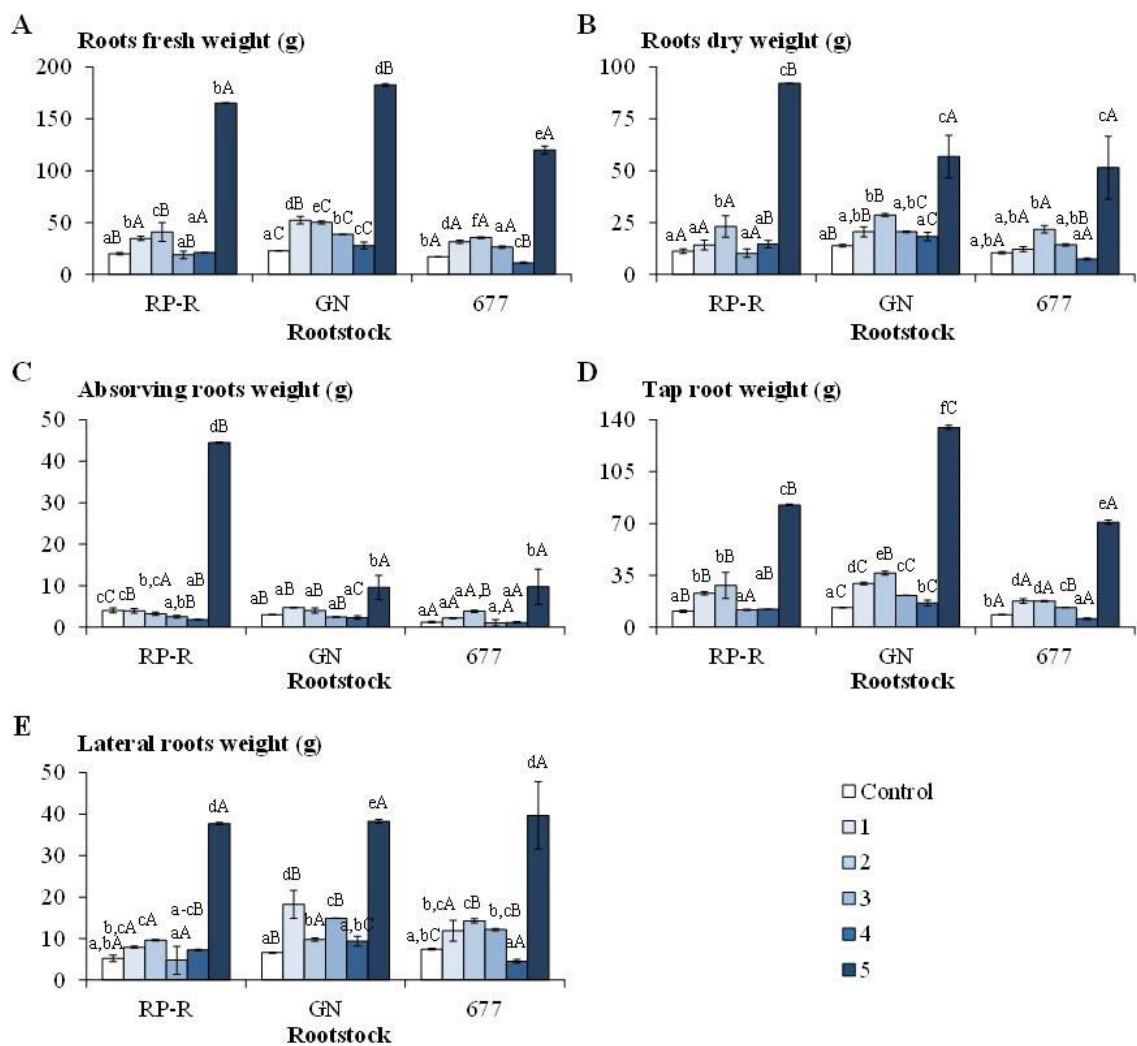


Figure 4. Weight variables of radicular system with different rootstocks treated with different biostimulants ($n = 5$; mean \pm SD). In the same treatment, mean values with different capital letters differed significantly ($p < 0.05$). In the same rootstock, mean values with different lowercase letters differed significantly ($p < 0.05$).

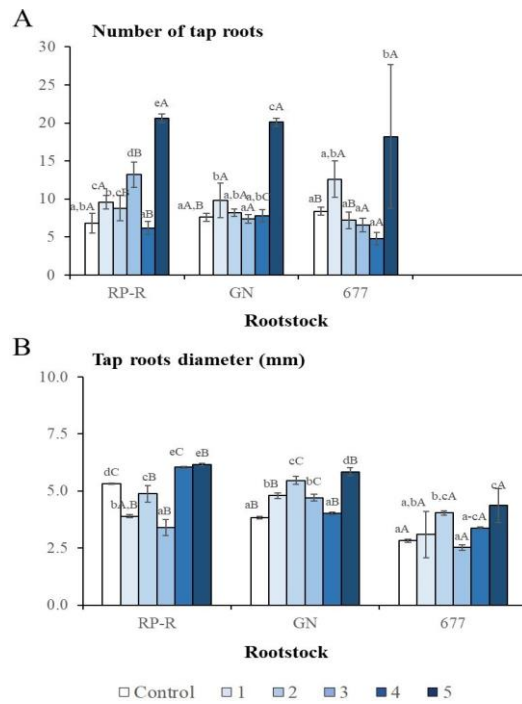


Figure 5. Number of tap roots (A) and their diameter (B) in almond trees with different rootstocks treated with different bios-timulants ($n = 5$; mean \pm SD). In the same treatment, mean values with different capital letters differed significantly ($p < 0.05$). In the same rootstock, mean values with different lowercase letters differed significantly ($p < 0.05$).

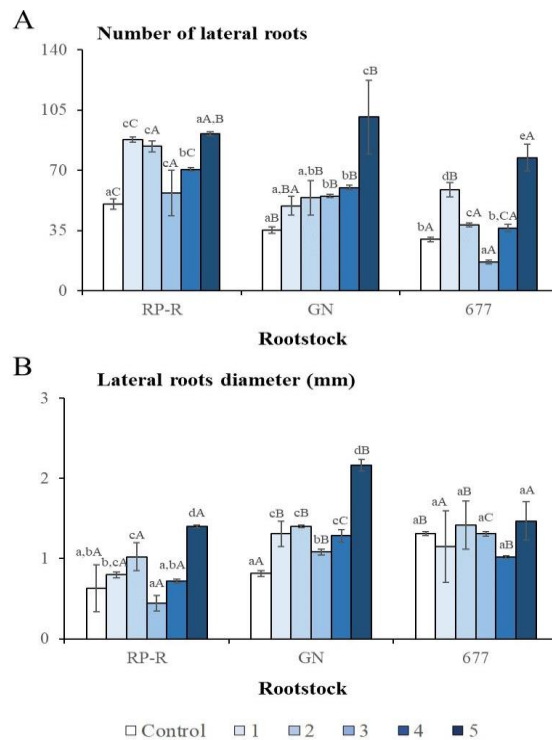


Figure 6. Number of lateral roots (A) and their diameter (B) in almond trees with different rootstocks treated with different biostimulants ($n = 5$; mean \pm SD). In the same treatment, mean values with different capital letters differed significantly ($p < 0.05$). In the same rootstock, mean values with different lowercase letters differed significantly ($p < 0.05$).

Characteristics of the vegetative system treated with biostimulants

Regarding the vegetative system, our results show that fertilization based on OM and humic extracts, which are important components of BS1 and BS2 (Table 1), favored tree development. The promoting aspect of amino acids in growth is noted (BS2) and is recommended for their invigorating properties during critical periods of cultivation such as, in our case, budding and growth in the establishment of new plantations. In addition, recent studies of apple (Basak, 2008) and olive trees (Chouliaras *et al.*, 2009) point to a further development of the aerial part as a beneficial effect of the introduction of algae extracts. According to Pizzeghello *et al.* (2013), humic extracts are known to promote plant growth, by improving the bioavailability of important micronutrients in the soil, but also by acting in the metabolic pathways involved in specific physiological mechanisms. Furthermore, these authors also revealed that cytokinins are responsible for the biological effects of humic acids (Pizzeghello *et al.*, 2013). The same research group observed that biostimulants rich in amino acids improve enzyme activity, inducing the conversion of nitrate into organic N, thereby improving plant growth (Ertani *et al.*, 2009). Other important features of the results obtained with BS2 are the presence of algae extracts and zeaxanthins (Table 1). Algae extracts and seaweeds are recognized biostimulants in horticulture (Battacharyya *et al.*, 2015). Seaweed extracts possess a phytohormone-like activity, inducing plant growth at low concentrations (Battacharyya *et al.*, 2015). Furthermore, they also intervene in plant metabolism and physiology. Therefore, BS1 and BS2, with humic acid and amino acids in their compositions, achieved good vegetative growth rates for the variables evaluated.

The lack of results yielded by BS4 (the phosphorus-based product) contradicts the trials of Goss *et al.* (1993), which concluded that increases in P in the soil at a time prior to planting results in significant increases in the growth of the aerial part of the plant. One possible explanation for the lack of consistency in our results with those of the noted study may be the difference in the method and time of application of the product; in one case, 'pre planting', and in the other, 'post planting', in an already-established young plant.

BS5, rich in N (32.7% w/w; Table 1), caused a significant increase in tree height. Other variables were also considerably influenced by the application of this biostimulant. Based on the composition of Table 1 we can consider that the results obtained were related to the high concentrations of some elements. This fact was also verified in other studies, mainly considering N. Muhammad *et al.* (2009) studied the influence of increasing applications of N in almond trees and concluded that additional contributions of this element favored vegetative growth and productivity. Lopus *et al.* (2010) noted that N fertilization is key in the development of this tree. As in our work, Bi *et al.* (2003) proved in their

study of nursery-stock almond trees that applications via fertigation and foliar N application favored greater vegetative development, evidenced by a greater number of buds and greater leaf mass.

Characteristics of the radicular system treated with different biostimulants

Our results regarding the radicular system are consistent with those obtained by Zhang & Ervin (2004), who also observed increases in the weight of the root of peach trees when a fertilizing solution was applied. Similarly, they detected increases in the mass of the root system when humic acids or algae extracts, or a combination of both treatments, were applied. There is vast bibliographic data that confirms the effect of humic and fulvic acids on root development and the proliferation of lateral roots. Recent studies show that treatments with seaweed extract improve the potential of root development in *Arabidopsis* (Rayorath *et al.*, 2008), and on the branching of the root system. Vernieri *et al.* (2005) prefer biostimulants as the elements that favor development, because they increase both the formation of lateral roots and the total size of the root system.

In the current research study, the control treatment presented higher in-depth exploration of the soil than the treatments with BS1, BS2, and BS4, and when compared to the tested nutrient solution. The data are consistent with Williams & Smith (1991), who explain that the number of roots is greatest in the layer of the most fertile soil. The implementation of all the treatments with the exception of BS4, induced a change in the distribution of roots, causing bifurcation of the primary to secondary roots to take place at a greater depth. This change in the distribution of the roots can possibly influence greater resistance to mild drought, since the absorption systems will be more effective at greater depth. Zhang & Ervin (2004) confirmed the effect of applying a combination of humic acids and extracts from algae on the increase of drought tolerance in beet plants. In fact, algae extracts affect the architecture of roots facilitating the uptake of nutrients by plants. Minor components of algae extracts, such as alginic acid, have the capacity to form a larger number of molecular cross-polymers, which improve the water retention capacity of the soil, and therefore stimulate radicular system growth and soil microbial activity (Chen *et al.*, 2003). There is enough evidence to indicate that specific amino acids and their derivatives and precursors can induce a defensive response in plants toward abiotic stressors factors such as drought and high temperatures (Apone *et al.*, 2010).

The organic stimulants applied were demonstrated to partially promote the growth of both the vegetative and radicular systems of almond trees, primarily in the combination of GN rootstock and BS2, composed of OM from corn hydrolysis and containing free amino acids and extracts from algae, as well as 0.07% zeaxanthins.

The organic stimulants applied on an individual basis at the tested dose are capable of substituting traditionally used chemical fertilizers or at least in reducing their use in fertigation programs for almond trees, principally in the primary developmental stages of a plantation. Furthermore, the biostimulants tested are compatible with organic agricultural practices. The application of organic stimulants can maintain good levels of productivity, without the need for significant applications of synthetic stimulants, thus representing good eco-friendly practice. Given the observed increase in the radicular system, and therefore in the absorptive capacity of young trees, the use of organic stimulants of quality is justified as a means for replacing chemical treatments. Nevertheless, and in line with the results obtained, the mixture of biostimulants with nutritive solutions and chemical fertilizers could give important results for the growth of almond trees. At the current stage, biostimulants cannot totally replace chemical fertilizers, but their contribution is important for the reduction of chemical inputs.

6.5 References

- Apone, F., Tito, A., Carola, A., Arciello, S., Tortora, A., Filippini, L. (2010). A mixture of peptides and sugars derived from plant cell walls increases plant defense responses to stress and attenuates ageing-associated molecular changes in cultured skin cells. *J Biotech* 145: 367-376. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2009.11.021>
- Basak, A., 2008. Effect of preharvest treatment with seaweed products, Kelpak® and Goëmar BM 86®, on fruit quality in apple. *Inter J Fruit Sci* 8: 1-14. <https://doi.org/10.1080/15538360802365251>
- Battacharyya, D., Babgohari, M. Z., Rathor, P., Prithiviraj, B. (2015). Seaweed extracts as biostimulants in horticulture. *Sci Hortic* 196: 39-48. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.012>
- Bernhard, R., Grasselly, C. (1981). Les pêchers x amandiers. *Arb Fruit* 328: 37-42.
- Bi, G., Scagel, C., Cheng, L., Dong, S., Fuchigami, L. (2003). Spring growth of almond nursery trees depends upon nitrogen from both plant reserves and spring fertilizer application. *J Hortic Sci Biotech* 78: 853-858. <https://doi.org/10.1080/14620316.2003.11511709>
- Burns, A. M., Zitt, M. A., Rowe, C. C., Langkamp-Henken, B., Mai, V., Nieves, C. *et al.* (2016). Diet quality improves for parents and children when almonds are incorporated into their daily diet: a randomized, crossover study. *Nutr Res* 36: 80-89. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2015.11.004>
- Bussi, C., Huguët, J., Besset, J., Girard, T. (1995). Rootstock effects on the growth and fruit yield of peach. *Eur J Agron* 4: 387-393. [https://doi.org/10.1016/S1161-0301\(14\)80040-3](https://doi.org/10.1016/S1161-0301(14)80040-3)
- Chen, S. K., Edwards, C. A., Subler, S. (2003). The influence of two agricultural biostimulants on nitrogen transformations, microbial activity, and plant growth in soil microcosms. *Soil Biol Biochem* 35: 9-19. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(02\)00209-2](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(02)00209-2)
- Chouliaras, V., Tasioula, M., Chatzissavidis, C., Therios, I., Tsalolatidou, E. (2009). The effects of a seaweed extract in addition to nitrogen and boron fertilization on productivity, fruit

- maturation, leaf nutritional status and oil quality of the olive (*Olea europaea* L.) cultivar Koroneiki. *J Sci Food Agric* 89: 984-988. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3543>
- Deliopoulos, T., Kettlewell, P., Hare, M. (2010). Fungal disease suppression by inorganic salts. A review. *Crop Prot* 29: 1059-1075. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.05.011>
- Enz, M., Dachler, C. H. (1997). Compendium of growth stage identification keys for mono- and dicotyledonous plants. Extended BBCH scale. A joint publication of BBA, BSA, IGZ, IVA, AgrEvo, BASF, Bayer, Novartis. 94 pp.
- Ertani, A., Cavani, L., Pizzeghello, D., Brandellero, E., Altissimo, A., Ciavatta, C., Nardi, S. (2009). Biostimulant activity of two protein hydrolyzates in the growth and nitrogen metabolism of maize seedlings. *J Plant Nutr Soil Sci* 172: 237-244. <https://doi.org/10.1002/jpln.200800174>
- Espada, J., Romero, J., Cmuñas, F., Alonso, J. (2013). Nuevos patrones para el melocotonero: mejora de la eficiencia y calidad del fruto. Gobierno de Aragón, Zaragoza, Spain.
- European Biostimulants Industry Council (2018). Economic overview of biostimulants sector in Europe. <http://www.biostimulants.eu/>.
- Felipe A. (2009). Felinem, Garnem and Monegro almond x peach hybrid rootstocks. *HortScience* 44: 196-197. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.44.1.196>
- Forcada, C., Gogorcena, Y., Moreno, M. (2012). Agronomical and fruit quality traits of two peach cultivars on peach-almond hybrid rootstocks growing on Mediterranean conditions. *Sci Hortic* 140: 157-163. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.04.007>
- Gómez-Aparisi, J., Carrera, M., Felipe, A., Socias I Company, R. (2001). Garnem, Monegro y Felinem: Nuevos patrones híbridos almendro x melocotonero, resistentes a nematodos y de hoja roja para frutales de hueso. *Inf Téc Econ Agrar* 97: 282-288.
- Goss, M., Miller, M., Bailey, L., Grant, C. (1993). Root growth and distribution in relation to nutrient availability and uptake. *Eur J Agron* 2: 57-67. [https://doi.org/10.1016/S1161-0301\(14\)80135-4](https://doi.org/10.1016/S1161-0301(14)80135-4)
- INC (2019). Global statistical review 2017-2018. International Nut and Dried Fruit Council, Reus, Spain.
- Khan, W., Rayirath, U. P., Subramanian, S., Jithesh, M. N., Rayorath, P., Hodges, D. M. *et al.* (2009). Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. *J Plant Growth Reg* 28: 386-399. <https://doi.org/10.1007/s00344-009-9103-x>
- Lopus, S. E., Santibañez, M. P., Beede, R. H., Duncan, R. A., Edstrom, J., Niederholzer, F. J. A. *et al.* (2010). Survey examines the adoption of perceived best management practices for almond nutrition. *Calif Agric* 64: 149-154. <https://doi.org/10.3733/ca.v064n03p149>
- Mondragón-Valero, A., López-Cortés, I., Salazar, D. M., Córdova, P. F. (2017). Physical mechanisms produced in the development of nursery almond trees (*Prunus dulcis* Miller) as a response to the plant adaptation to different substrates. *Rhizosphere* 3: 44-49. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2016.12.002>
- Moreno, M., Gogorcena, Y., Pinochet, J. (2008). Mejora y selección de patrones de *Prunus* tolerantes a estreses abióticos. In: La adaptación al ambiente y los estreses abióticos en la mejora

- vegetal, pp. 451-475. Junta de Andalucía, Dirección General de Planificación y Análisis de Mercados, Servicio de Publicaciones y Divulgación, Sevilla.
- Muhammad, S., Luedeling, E., Brown, P. (2009). A nutrient budget approach to nutrient management in almond. XVI Proc Int Plant Nutr Col, California (USA), pp: 1-9.
- Nardi, S., Pizzeghello, D., Schiavon, M., Ertani, A. (2016). Plant biostimulants: physiological responses induced by protein hydrolyzed-based products and humic substances in plant metabolism. *Sci Agric* 73: 18-23. <https://doi.org/10.1590/0103-9016-2015-0006>
- Olivares, F. L., Busato, J. G., Paula, A. M., Lima, L. S., Aguiar, N. O., Canellas, L. P. (2017). Plant growth promoting bacteria and humic substances: crop promotion and mechanisms of action. *Chem Biol Tech Agric* 4: 30. <https://doi.org/10.1186/s40538-017-0112-x>
- Pinochet, J. (2010). 'Replantpac' (Rootpac R), a plum-almond hybrid rootstock for replant situations. *HortScience* 45: 299-301. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.45.2.299>
- Pinochet, J., Bordas, M., Torrents, J. (2011). ROOTPAC R: un nuevo portainjerto de *Prunus* para situaciones de replante. *Revista de Fruticultura* 15: 4-10.
- Pizzeghello, D., Francioso, O., Ertani, A., Muscolo, A., Nardi, S. (2013). Isopentenyladenosine and cytokinin-like activity of different humic substances. *J Geochem Expl* 129:70-75. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2012.10.007>
- Rayorath, P., Jithesh, M., Farid, A., Khan, W., Palanisamy, R. (2008). Rapid bioassays to evaluate the plant growth promoting activity of *Ascomyces nodosum* (L.) Le Jol. using a model plant, *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *J Appl Phycol* 20: 423-429. <https://doi.org/10.1007/s10811-007-9280-6>
- Rouphael, Y., Cardarelli, M., Bonini, P., Colla, G. (2017). Synergistic action of a microbial-based biostimulant and a plant derived-protein hydrolysate enhances lettuce tolerance to alkalinity and salinity. *Front Plant Sci* 8: 131. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00131>
- Salazar, D., Melgarejo, P. (2002). El cultivo del almendro. Mundi-Prensa, Madrid, Spain. 307 pp.
- Scaglia, B., Pognani, M., Adani, F. (2017). The anaerobic digestion process capability to produce biostimulant: the case study of the dissolved organic matter (DOM) vs. auxin-like property. *Sci Total Environ* 589: 36-45. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.02.223>
- Sotomayor, C., Castro, J., Bustos, E. (2008). Nuevos portainjertos para Chile. *Rev Agron For UC* 35: 22-26.
- Vargas, F., Romero, M., Altea, N. (1985). Porte-greffe d'aman-dier: Aspects importants des programmes de Centre Agropecuari Mas Bové. GREMPA, colloque 1985. CIHEAM, Paris. *Opt Mediterr Sér Etudes* 1985- I: 61-68. http://om.ciheam.org/om/pdf/s09/Ci010_822.pdf
- Vernieri, P., Borghesi, E., Ferrante, A., Magnani, G. (2005). Application of biostimulants in floating system for improving rocket quality. *J Food Agric Environ* 3: 86-88. Wells C, Labranche A, Mccarty L, Skipper H, 2003. Biostimulants encourage strong root growth. *Turfgrass Trend* 59: 56-59.

- Williams, L., Smith, R. (1991). The effect of rootstock on the partitioning of dry weight, nitrogen and potassium and root distribution of cabernet sauvignon grapevines. *Am J Enol Vitic* 42: 118-112.
- Zhang, X., Ervin, E. (2004). Cytokinin-containing seaweed and humic acid extracts associated with creeping bentgrass leaf cytokinins and drought resistance. *J Appl Phycol* 44: 1737-1745. <https://doi.org/10.2135/crops-ci2004.1737>

Discusión general

7.1 Discusión general

7.1.1 Caracterización físico química del cultivo de almendro

Aunque en los últimos años, en España, se han producido importantes avances en el cultivo del almendro, muchos de ellos se han basado en la mejora del material varietal, principalmente gracias a llegada de nuevos cultivares y patrones que han contribuido a mejorar los caracteres agronómicos, como el rendimiento, la precocidad y la eficiencia (Battle *et al.*, 2017) así como en la intensificación y riego controlado de nuevas plantaciones.

El rendimiento de un almendro depende en gran medida de la interacción entre el cultivar y el patrón, es por tanto clave a la hora de establecer nuevas plantaciones hacer una correcta elección de ambos materiales, prestando atención a las condiciones agroclimáticas específicas del lugar de implantación y al modelo de producción concreto a seguir (Lordan *et al.*, 2019).

El uso de patrones es una herramienta ampliamente utilizada en agricultura por su capacidad de modificar el tamaño y la forma de las variedades injertadas alterando la distancia entre nudos y el ángulo de las ramas y modificando las tasas de crecimiento activo (Ingelese *et al.*, 2002).

En todos nuestros ensayos, el patrón GN (GN Garnem) destacó por su mayor vigor vegetativo, tanto en las muestras de plantas un año como en las de dos, frente a los patrones GF 677 y RP-R. Estos resultados concuerdan con los obtenidos Felipe (2009) y Yahmed *et al.* (2016) que describían a GN como un patrón muy vigoroso capaz de provocar un mayor volumen de biomasa produciendo mayor número de brotes jóvenes tal y se ha constatado en nuestro estudio. Lordan *et al.* (2019) encontraron que, en términos de volumen, los patrones GN y GF 677 producen un aumento significativo del tamaño de la copa de los árboles del cultivar “Marinada” con respecto a otros patrones en estudio como el RP-R (Rootpac-R).

El área de la sección transversal del tronco fue otro de los parámetros que se vieron afectados por el genotipo del patrón. Nuestros ensayos coinciden con los de Bielsa *et al.* (2016) y Lordan *et al.* (2019) en que RP-R y GF 677 producen árboles con menor sección de tronco que los injertados sobre GN. Una mayor sección de tronco puede inducir o modificar la altura del árbol, el volumen de la copa, la estructura de las ramas y la productividad y tamaño de los frutos (Srivastava *et al.*, 2017). Varios

autores describen una relación negativa entre el vigor del patrón y la productividad del cultivar en especies del género *Prunus* (Zarrouk *et al.*, 2005; Alonso y Espada, 2008; Marra *et al.*, 2013; Font i Forcada *et al.*, 2012) pero no obstante positiva con el rendimiento acumulado (Reig *et al.*, 2016). Sin embargo, Lordan *et al.* (2019) encontraron que los árboles de Marinada injertados sobre GN y sobre GF 677 presentaban mayores rendimientos desde los estados más iniciales de la plantación hasta los posteriores y por tanto también mayores rendimientos acumulados y mayores valores económicos de la producción obtenida (entre 42.000 y 49.350 €/ha para GF 677 y GN y 12.000 €/ha para RP-R).

Otro de los efectos en los que el patrón de almendro puede afectar es en la fecha de floración. En regiones donde las heladas son comunes, retrasando la floración gracias a la influencia del patrón sobre la variedad podemos evitar pérdidas significativas en el cultivo (Tabakov *et al.*, 2018). En los estudios de Lordan *et al.* (2019), el injerto sobre RP-R consiguió retrasar la floración de Marinada y de Vayro entre uno y dos días con respecto al patrón GF 677 y GN.

Como ocurre en otros cultivos, el número de raíces y su distribución varía en función del genotipo del individuo en estudio siendo el número de raíces y la arquitectura del sistema radical factores muy importantes en la estabilidad del árbol (Dupuy *et al.*, 2007). Si nos centramos en el sistema radical, en nuestra caracterización el patrón que contó con mayor número de raíces principales fue GF 677. Ranjbar *et al.* (2019) encontraron en un reciente ensayo sobre patrones en diferentes cultivares de almendro que todos los cultivares en estudio injertados en GF-677 presentaban mayor tolerancia a la sequía que aquellos cultivados sobre GN. Otro aspecto importante que considerar es la capacidad de absorción de nutrientes. Se ha observado que en condiciones de cultivo de stress hídrico y escaso aporte de fertilizantes el patrón GF 677 presentó contenidos foliares normales para la mayoría de los elementos nutritivos (a excepción de nitrógeno, potasio y boro) (Isaakidis *et al.*, 2004).

En nuestras condiciones de cultivo fue sin embargo el patrón RP-R el que destacó por su mayor número de raíces secundarias. La ramificación del sistema radical a través de la formación de raíces secundarias o laterales representa un elemento esencial en la adaptación del sistema a su entorno (Bellini *et al.*, 2014) y viene regulada por señales hormonales y nutritivas que actúan a nivel local para inducir o inhibir la proliferación de raíces (Giehl y Von Wirén, 2014). Gracias a estas respuestas adaptativas la planta es capaz de aumentar la superficie de contacto con el suelo al aumentar el número de raíces absorbentes para una mayor captura de recursos (Atkinson *et al.*, 2014). El patrón RP-R ha demostrado ser tolerante a la clorosis férrica en varios ensayos de campo con relativamente altos contenidos de cal activa (entre un 8% y 15%) sin expresar ningún síntoma visual de deficiencia de hierro. Además, presenta buen comportamiento en suelos pesados con pH de 8,4 alcanzando las

hojas de la variedad injertada valores de SPAD (Soil Plant Analysis Development) más altos que GF 677 o GN (Yahmed *et al.*, 2016; Reig *et al.*, 2020).

En cuanto al poder antioxidante de los patrones de almendro, cabe destacar que la mayoría de los antioxidantes naturales se producen como mezclas complejas de compuestos que reaccionan de forma diferente frente a distintos radicales (Zhao *et al.*, 2008; Olszowy y Dawidowicz, 2018), de ahí que los análisis de capacidad antioxidante puedan variar en función del tipo de ensayo llevado a cabo.

En nuestro caso coincidiendo con los resultados obtenidos por Floegel *et al.* (2011), los ensayos de ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato)) obtuvieron mayores niveles de capacidad antioxidante para todas las concentraciones y patrones que los ensayos de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo). La ventaja del radical ABTS es su alta reactividad y, por lo tanto, su capacidad de reacción frente a una gama más amplia de antioxidantes (Mareček *et al.*, 2017). Los resultados sugieren que el ensayo de ABTS refleja mejor el contenido en antioxidantes de los patrones de almendro que el ensayo DPPH aunque como reportaron Dudonné *et al.* (2009) y Abramovič *et al.* (2018) en sus estudios, en nuestro caso también existe una fuerte correlación positiva entre ambos ensayos.

Las hojas de todos los patrones en estudio presentaron altos porcentajes de inhibición para ambos ensayos, siendo la capacidad antioxidante de la hoja de almendro muy superior a la de la semilla o la de la cascara verde de esta especie (Siriwardhana y Shahidi, 2002). Hemos podido comprobar en nuestros ensayos que el poder antioxidante de las hojas de almendro es superior al de las semillas de otros frutos secos como las nueces o las avellanas (Delgado *et al.*, 2010; Chaalal *et al.*, 2019).

Nuestros resultados en hoja coinciden con los publicados por Oliveira *et al.* (2008) en cascara verde de nuez donde para concentraciones de 1mg/mL de extracto se obtenían porcentajes de inhibición superiores al 80%, con la diferencia de que las hojas de almendro presentan para todos los casos un EC50 (concentración efectiva cincuenta) menor y por tanto mayor efecto anti radicales libres a una menor concentración de extracto.

A los compuestos fenólicos se les atribuyen múltiples propiedades biológicas como por ejemplo la actividad antioxidante dado que pueden actuar tanto secuestrando radicales libres como evitando su formación (Leopoldini *et al.*, 2011; Boulanouar *et al.*, 2013). Numerosos estudios destacan el potencial antioxidante de los fenoles en otras especies vegetales (Kornsteiner *et al.*, 2006; Pereira *et al.*, 2007; Ferreira *et al.*, 2007; Derakhshan *et al.*, 2018; Idris 2019, Kumari *et al.*, 2019). En el caso de las hojas de almendro se comprueba esta relación, en general, observamos que los extractos con

mayor contenido en fenoles presentan las EC50 más bajas, destacando de nuevo los cultivares injertados sobre el patrón GN por encima del resto. Como ya se ha comentado, el contenido en fenoles de las hojas de almendro es muy superior al de su semilla (Milbury *et al.*, 2006; Delgado *et al.*, 2010) y su cáscara (Prgomet *et al.*, 2019) y al de las semillas o cascaras de otros frutos secos que se han estudiado en abundancia por su potencial antioxidante en la alimentación humana como las nueces de macadamia o los anacardos (Borges *et al.*, 2014), la avellana (Kornsteiner *et al.*, 2006; Delgado *et al.*, 2010), la nuez de Pecan (Do Prado *et al.*, 2013), el pistacho (Arcan y Yemenicioğlu, 2009; Tomaino *et al.*, 2010; Erşan *et al.*, 2018) e incluso la nuez (Oliveira *et al.*, 2008; Bolling *et al.*, 2011), que destaca en todos los estudios por su capacidad antioxidante, del mismo modo las hojas de esta especie (Miliauskas *et al.*, 2004; Cosmulescu y Ion, 2011). Las hojas de almendro de todos los patrones en ensayo presentaron contenidos en fenoles mucho más importantes que por ejemplo una conocida fuente de antioxidantes como es el té verde (Arcan y Yemenicioğlu, 2009).

El alto contenido en fenoles de las hojas de almendro no solo tiene un destacado potencial a nivel alimenticio o nutraceútico (Prgomet *et al.*, 2019; Fernandez-Agulló, 2020), sino que también puede influir en los mecanismos de defensa de la planta. La contribución de los fenoles en la resistencia a las enfermedades de las plantas se basa en gran medida en su citotoxicidad (Iqbal *et al.*, 2015; Wink, 2017). Puupponen-Pimia *et al.* (2001) localizaron diferentes compuestos fenólicos extraídos de la frambuesa y la morera que presentaron actividad antimicrobiana contra dos cepas de *Escherichia coli* y una cepa de *Salmonella entérica*.

En un estudio sobre el secado de la hoja (almond leaf scorch) producido por *Xylella fastidiosa* en diferentes cultivares de almendro, Wilhelm (2010) concluyó que la mayor concentración fenólica en el fluido del xilema de los cultivares considerados hoy como en mayor o menor medida resistentes a esta patología podría disminuir la supervivencia del patógeno durante el invierno. En otro ensayo con híbridos de almendro Mirisli *et al.* (2001) encontraron que las muestras de hoja que presentaban un mayor contenido en quercetina eran más resistentes frente a la inoculación de *Pseudomonas amygdali*.

Oriyomi *et al.* (2019) encontraron que existe una estrecha relación entre la resistencia a las plantas de maíz frente a *Fusarium verticillioides* y su contenido en fenoles. Concluyendo que las plantas responden a la invasión de patógenos a través de la activación de estrategias de defensa complejas, como la acumulación de flavonoides, fitoalexinas y compuestos fenólicos.

En nuestro ensayo el patrón GN destaca frente a los patrones RP-R o GF 677 por su mayor contenido en flavonoides medido en mg de quercetina por gramo de extracto. Tattini *et al.* (2006) aluden a una estrecha relación entre la tolerancia a stress oxidativo y la acumulación de flavonoides.

Las hojas del patrón GN llaman la atención por su apariencia rojiza que proviene de su alta concentración en antocianos (Zrig *et al.*, 2011). Entre los flavonoides, los antocianos son pigmentos altamente solubles en agua derivados de los precursores de los flavonoides a través de la ruta del ácido shikímico (Chalker-Scott, 1999). Estos compuestos protegen a los cloroplastos de las hojas senescentes y adaptadas a la sombra del stress fotooxidativo producido por la exposición prolongada a altas radiaciones solares (Gould *et al.*, 2002; Alcázar *et al.*, 2010). Dado que los antocianos son osmóticamente activos, su concentración en altos niveles puede aumentar la resistencia de las plantas frente a ciertos estreses gracias a un mayor control osmótico (Chalker-Scott, 2002; Ibrahim *et al.*, 2019; Arispuro *et al.*, 2019). Además, se ha demostrado que las hojas con altos índices de antocianos tienen mayor capacidad antioxidante que las hojas verdes y que los antocianos contribuyen a esta capacidad en mayor medida que otros compuestos de menor peso molecular (Gould *et al.*, 2002; Manetas *et al.*, 2016; Duan *et al.*, 2019).

Zrig *et al.* (2011) concluyeron que el contenido en antocianos juega un importante papel fisiológico en la protección de los patrones de almendro frente a la salinidad. En su estudio el patrón GN era capaz de superar la toxicidad salina gracias al uso de los antocianos que abundan en sus hojas mientras que GF 677 mostraba una buena respuesta frente al stress salino por el alto contenido en carotenoides de sus hojas.

Como en otros estudios previos relacionados con material vegetal de almendro (Barreira *et al.*, 2008; Sfahlan *et al.*, 2009) en este ensayo encontramos diferencias significativas en cuanto al poder reductor de las muestras que derivan de los diferentes genotipos estudiados. En general, los tres patrones presentaron una alta capacidad de poder reductor con EC50 que no superan en ningún caso 1,31 mg/ml. Tanto las hojas de GN, RP-R como de GF 677 mostraron a grandes rasgos mayor poder reductor que la mayoría de los frutos de diversos cultivares de almendro (Barreira *et al.* 2008). Además, como ocurre en otros estudios todos los extractos mostraron una actividad dependiente de la concentración aumentando los valores de absorbancia a 700nm según aumentaba la concentración de extracto. El poder reductor de las hojas de todos los patrones superó a los observados por Delgado *et al.* (2010) en frutos de almendro, pino piñonero, cacahuete y avellano, aunque solo el patrón GN presentó mejor poder reductor que los frutos de nogal. Las hojas de estos patrones también destacaron por su poder reductor frente a los extractos de aceituna de mesa estudiados por Malheiro *et al.* (2011) y a los frutos de madroño analizados por Oliveira *et al.* (2011).

7.1.2 Incidencia del aporte de bioestimulantes en el cultivo

El desarrollo de las plantas se ve influenciado por multitud de factores tanto endógenos como exógenos. El aporte de preparaciones nutritivas capaces de estimular el crecimiento mediante su

actuación en el metabolismo de la planta, y de mejorar la eficiencia del uso de fertilizantes se ha vuelto cada vez más frecuente (Baroccio *et al.*, 2017).

El aporte de nutrientes en los primeros estadios de la planta es un factor clave, especialmente para las plántulas producidas en contenedores en los que el volumen limitado de sustrato dificulta seriamente el crecimiento (Landis, 1989).

La fertilización afecta tanto al crecimiento vegetativo como radical de las plantas, es capaz de mejorar el enraizamiento y la capacidad de crecimiento tras el trasplante, y aumenta la resistencia al estrés hídrico, las bajas temperaturas y a ciertas enfermedades (Grossnickle, 2000; Floistad y Kohmann, 2004; Lacroix *et al.*, 2017; Kastell *et al.*, 2018).

Además, la movilización de reservas internas dota a las plántulas de cierta independencia frente a la disponibilidad externa de nutrientes (Cherbuy *et al.*, 2001; Zhang *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2020).

Estas propiedades resultan indispensables para el establecimiento temprano en campo sobre todo frente a condiciones desfavorables (Oliet *et al.*, 2005; Salifu *et al.*, 2005; Shi *et al.*, 2017; Andrew *et al.*, 2018).

En nuestro ensayo, el uso de ambos bioestimulantes promovió especialmente durante el primer año el desarrollo de la parte aérea de los patrones. Resultados similares fueron obtenidos por Saa *et al.* (2015) al aplicar vía foliar bioestimulantes de diferentes orígenes en una plantación de almendro de un año. En nuestro caso el bioestimulante 2 a base de sustancias húmicas y fúlvicas promovió de manera más activa el desarrollo vegetativo de todos los patrones en estudio. El aporte de sustancias húmicas propició el desarrollo vegetativo en los ensayos realizados por Fathy *et al.* (2010) en albaricoquero, por Razavi *et al.* (2019) en pistacho, por Laila *et al.* (2013) y El-Shazly y Ghieth (2019) en olivo y por Bahia *et al.* (2019) en chirimoyo.

Las investigaciones de Zandonadi *et al.* (2010) concluyen que las sustancias húmicas inducen el crecimiento de las plantas a través de la activación de la membrana plasmática. De igual forma, la proliferación de brotes por sustancias húmicas puede deberse al efecto de estos ácidos aplicados de forma exógena (Mora *et al.*, 2014) obteniendo incluso aumentos del 22% del peso seco de la biomasa en diferentes especies (Rose *et al.*, 2014). En nuestro ensayo, durante el primer año y para todos los patrones, los aumentos de biomasa producidos por el bioestimulante 2 frente al control son muy superiores al 22% lo que se explicaría por la alta variabilidad del efecto de los ácidos húmicos en función del origen del material, la especie tratada, el modo y dosis de aplicación y las condiciones ambientales a las que se somete el cultivo (Trevisan *et al.*, 2010) pero también por la posible acción sinérgica del resto de compuestos del formulado 2 (Yakhin *et al.*, 2017; Gemin *et al.*, 2019).

Aunque en menor medida, el bioestimulante 1 también produjo un aumento en el desarrollo vegetativo de los árboles de un año. Halpern *et al.* (2015) y Baroccio *et al.* (2017) demostraron que los aportes de proteínas hidrolizadas son capaces de promover el crecimiento vegetativo y la absorción de macro y micronutrientes derivando en un incremento de la productividad de los cultivos. Este aumento en la biomasa aérea puede atribuirse a un incremento en el contenido de nitrógeno foliar que estimula un mejor proceso de fotosíntesis y promueve la traslocación de los sintetizadores a los sumideros (Colla *et al.*, 2017).

Los aminoácidos y los péptidos de pequeño tamaño son absorbidos tanto por las hojas como por las raíces para luego translocarse al resto de la planta (Matsumiya y Kubo, 2011; Souri, y Hatamian, 2019). Sin embargo, la disponibilidad de aminoácidos para su absorción por el sistema radical puede verse fuertemente disminuida por la acción de los microorganismos del suelo (Wilson *et al.*, 2013; Ma *et al.*, 2017). Si bien la absorción depende entre otros de las condiciones del suelo y del tipo de aminoácido y su concentración, se estima que únicamente entre un 6 y un 25% de los aminoácidos aportados externamente vía radicular van a parar a las raíces (Moe, 2013). Este hecho podría explicar la menor incidencia del bioestimulante 1 en el desarrollo de los patrones en estudio.

El aporte de los bioestimulantes también condujo a un aumento de la biomasa radical tanto en peso como en número de raíces en los individuos de un año. El aporte de ambos bioestimulantes logró incrementar el peso de los sistemas radicales de los patrones GF 677 y GN aunque solo el bioestimulante 2 consiguió este efecto en el patrón RP-R. Varios estudios experimentales tanto en condiciones controladas como en campo abierto han demostrado la relación entre el aporte de proteínas hidrolizadas y el desarrollo de la biomasa del sistema de raíces (Schiavon *et al.*, 2008; Ertani *et al.*, 2009; Halpern *et al.*, 2015; Colla *et al.*, 2017). Los resultados sugieren que el aporte de proteínas hidrolizadas podría promover la asimilación de nitrógeno en las plantas a través de una regulación coordinada de las rutas metabólicas de C y N y abre el camino para futuras investigaciones sobre hidrolizados de proteínas como una herramienta válida para mejorar la eficiencia del uso del nitrógeno y, como consecuencia, para reducir el uso intensivo uso de fertilizantes inorgánicos nitrogenados en la agricultura.

Algunos estudios indican que los receptores del glutamato en plantas se pueden activar por otros aminoácidos además del glutamato (Forde y Roberts, 2014) y que son capaces de mediar en una serie de respuestas de la planta como los cambios en la arquitectura de la raíz (en nuestro caso incrementó la distancia entre la raíz principal y la secundaria), en el metabolismo del carbono y en la fotosíntesis.

Del mismo modo varios estudios han contrastado el efecto de los ácidos húmicos y fúlvicos como promotores del desarrollo de raíces provocando mayor biomasa e induciendo e incrementando la formación de raíces laterales. (Rose *et al.*, 2014; Canellas *et al.*, 2002; Canellas *et al.*, 2009; Trevisan *et al.*, 2010). El hecho de que las raíces estén en constante crecimiento y renovación puede suponer un mecanismo de defensa de las plantas para superar diferentes tipos de stress (Amador *et al.*, 2012) de ahí que los bioestimulantes tanto a base de aminoácidos (Kauffman *et al.*, 2007; Maeda y Dudareva, 2012; Okazaki y Saito, 2014; Colla *et al.*, 2014; Teixeira *et al.*, 2017; Perchlik y Tegeder, 2018; Arias *et al.*, 2019) como de ácidos húmicos y fúlvicos (Canellas *et al.*, 2015; Nardi *et al.*, 2016; Van Oosten *et al.*, 2017; Ekinci *et al.*, 2019; Bijanzadeh *et al.*, 2019; Acosta-Motos *et al.*, 2019; Saidimoradi, *et al.*, 2019) sean considerados como mitigadores de la respuesta al stress.

7.1.3 Propiedades biomásicas del material vegetal de almendro

En cuanto al estudio de las propiedades biomásicas del almendro, el poder calorífico bruto obtenido en nuestros análisis va en línea con los resultados obtenidos en corteza y cáscara de almendra por Nhuchhen (2012) y Fernández-González (2010) y por Yin (2011) en biomasa aérea. Los resultados obtenidos son comparables a los de otras especies del género *Prunus* como indican los estudios sobre *Prunus avium* L. (Telmo *et al.*, 2010) o *Prunus armeniaca* L. (Özçimen y Ersoy-Meriçboyu, 2010).

Uno de los mayores inconvenientes en el uso de la biomasa como carburante es su contenido en humedad, que está inversamente correlacionada con el poder calorífico de la misma (Zhang *et al.*, 2010; Irmak, 2019). La biomasa de almendro presentó un contenido en humedad de 8,40%, muy inferior a la media de otras especies leñosas (McKendry, 2002), por lo que hace que sea una especie adecuada para su uso energético.

Son numerosos los estudios que observan una influencia muy alta entre los contenidos de humedad y los porcentajes de carbono e hidrógeno con el poder calorífico de un material (Telmo *et al.*, 2010; Callejón-Ferré *et al.* 2011; Huang *et al.*, 2017; Maj *et al.*, 2019). Sin embargo, en nuestro ensayo encontramos que la variable más determinante en el poder calorífico del material en estudio no era su composición en carbono, hidrógeno y nitrógeno del material sino la variedad, el patrón y sobre todo la interacción patrón-variedad.

En nuestro estudio, el cultivar Marcona presentó valores significativamente más altos que Vayro en cuanto a su poder calorífico y sus porcentajes en carbono e hidrógeno. Este cultivar ya había sido descrito previamente por Velázquez *et al.* (2017) por su alto contenido en materia seca por lo que Marcona puede ser un cultivar interesante a la hora del aprovechamiento de la biomasa no solo por

sus mayores niveles de biomasa en peso por árbol sino también por su alto poder calorífico. En cuanto a los patrones, se observó una relación entre el poder calorífico de la muestra y el patrón en ensayo, el patrón que indujo mayor poder calorífico en ambos cultivares fue el patrón GF 305. Si bien las diferencias entre patrones son significativas, la fuerza de esta relación (medida a través de los coeficientes de Pearson) fue mucho más importante entre las variables variedad y poder calorífico que entre el poder calorífico y el patrón en ensayo.

A pesar de que los contenidos en nitrógeno del almendro son relativamente bajos en comparación con otras especies (McKendry, 2002), observamos que el uso de un patrón u otro modifica esta característica siendo en nuestro estudio el patrón GN el que muestra porcentajes de nitrógeno más reducidos. El dióxido de nitrógeno generado en el proceso de obtención de energía es un gas altamente tóxico (Laitinen *et al.*, 2016) y contaminante (Fibiger y Hastings; 2016; Ren *et al.*, 2017) y su emisión depende directamente del contenido en nitrógeno de la biomasa por lo que este debe estar cuanto más limitado mejor.

Además de un correcto uso del material vegetal, tanto en vistas incrementar los rendimientos de las plantaciones de almendro españolas a niveles similares a los de California como a aprovechar sus residuos a nivel energético, son necesarias mejoras en la adopción de técnicas de cultivo como la fertilización.

En cuanto a la influencia de la fertilización mediante bioestimulantes en las propiedades energéticas del cultivo, no se observaron diferencias significativas en el poder calorífico de las muestras en función de los diferentes tratamientos aplicados. Estos resultados concuerdan con los publicados por Ercoli (1999) en los que aportes de fertilizantes nitrogenados en *Mischantus spp* produjeron mayor rendimiento de biomasa pero no afectaron al poder calorífico del cultivo.

En el caso del porcentaje de nitrógeno encontramos una fuerte relación con el tratamiento bioestimulante aplicado. Este resultado va de la mano con otros obtenidos por Obernberger *et al.* (1997), Adamovics *et al.* (2018); Hamedani *et al.* (2019) que concluyen que tanto los fertilizantes como los pesticidas influyen significativamente en los niveles de nitrógeno de la planta y por tanto en su biomasa. En nuestro caso encontramos que el tratamiento a base de bioestimulante 1 produjo mayores contenidos tanto en hidrógeno como en nitrógeno. Estos resultados podrían explicarse parcialmente por la composición de los productos, ya que el bioestimulante 1 proporciona principalmente sacáridos y aminoácidos (triptófano, glutámico y GABA), que son moléculas de absorción muy rápida (Owen *et al.*, 2001).

Dado que los altos porcentajes de nitrógeno producen un impacto negativo en el medio ambiente debido a las emisiones de dióxido de nitrógeno (Ren *et al.*, 2017), fertilizantes que promueven e inducen un aumento del porcentaje de nitrógeno pueden considerarse desventajosos ambientalmente hablando para usos biomásicos.

7.2 Referencias

- Abramovič, H., Grobin, B., Poklar Ulrih, N., y Cigić, B. (2018). Relevance and standardization of in vitro antioxidant assays: ABTS, DPPH, and folin-ciocalteu. *Journal of Chemistry*. doi.org/10.1155/2018/4608405
- Acosta-Motos, J. R., Diaz-Vivancos, P., Acosta, M., y Hernández, J. A. (2019). Effect of Biostimulants on Plant Responses to Salt Stress. In *Plant Tolerance to Environmental Stress: Role of Phytoprotectants*. Boca Ratón, USA: CRC press.
- Adamovics, A., Platacea, R., y Gulbe, I. (Mayo, 2018). Influence of nitrogen fertilizer on grass biomass yield and amount of energy gained per area unit. In *of 17th International scientific conference "Engineering for rural development"*, Jelgava, Latvia.
- Alcázar, R., Altabella, T., Marco, F., Bortolotti, C., Reymond, M., Koncz, C., y Tiburcio, A. F. (2010). Polyamines: molecules with regulatory functions in plant abiotic stress tolerance. *Planta*, 231(6), 1237-1249.
- Amador, M. L., Sancho, S., Bielsa, B., Gomez-Aparisi, J., y Rubio-Cabetas, M. J. (2012) Physiological and biochemical parameters controlling waterlogging stress tolerance in *Prunus* before and after drainage. *Physiologia Plantarum*, 144, 357-368.
- Andrew, E. E., Limbi, T. B., y Ayamoh, E. E. (2018). Response of Four Species of Tropical Timber Seedlings to Urea and Folivert Fertilisers in Nursery. *Journal of Advances in Agriculture*, 9, 1579-1593.
- Arcan, I., y Yemenicioğlu, A. (2009). Antioxidant activity and phenolic content of fresh and dry nuts with or without the seed coat. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22, 184-188.
- Arias, D. J., Rodríguez, A. B., Castro, A. B., González, F. V., Pérez, J. A. P., y Jorge, J. C. L. (2019). *United States of América*. N°. 16/085,465. U.S. Patent Application.
- Atkinson, J. A., Rasmussen, A., Traini, R., Voß, U., Sturrock, C., Mooney, S. J.,... Bennett, M. (2014). Branching out in roots: uncovering form, function, and regulation. *Plant Physiology*, 166(2): 538-550.
- Bahia, B. L., Souza, I. V. B., Mafessoni, A. B., Coutrim, R. L., da Silva, R. F., Neves, B. R., y São José, A. R. (2019). Nitrogen Doses and Humic Substances in Custard Apple Nutrition. *Journal of Applied Life Sciences International*, 1-9.
- Baroccio, F., Barilaro, N., Tolomei, P., y Mascini, M. (2017). Classification of biostimulants origin using amino acids composition of hydrolyzed proteins. *Journal of Horticultural Science and Research*, 1(2), 30-35.
- Barreira, J. C., Ferreira, I. C., Oliveira, M. B. P., y Pereira, J. A. (2008). Antioxidant activities of the extracts from chestnut flower, leaf, skins and fruit. *Food chemistry*, 107, 1106-1113.

- Battle, I., Dicenta, F., Socias i Company, R., Gradziel, T.M., Wirthensohn, M., Duval, H., Vargas, F.J. (2017). Classical genetics and breeding. In: R. Socias i Company., T.M. Gradziel. (Eds.), *Almonds: Botany, Production and Uses* (pp. 111-148). United Kingdom: CABI.
- Bellini, C., Pacurar, D. I., y Perrone, I. (2014). Adventitious roots and lateral roots: similarities and differences. *Annual Review of Plant Biology*, *65*, 639-666.
- Bielsa, B., Rubio-Cabetas, M. J., Felipe, A. J., Gómez-Aparisi, J., y Socias i Company, R. (2016). Rootstock trial of eight GxN interespecific hybrids in almond. *Options Méditerranéennes Series A*, (119), 183-186.
- Bijanzadeh, E., Naderi, R., y Egan, T. P. (2019). Exogenous application of humic acid and salicylic acid to alleviate seedling drought stress in two corn (*Zea mays* L.) hybrids. *Journal of Plant Nutrition*, *42*(13), 1483-1495.
- Bolling, B. W., Chen, C. Y. O., McKay, D. L., y Blumberg, J. B. (2011). Tree nut phytochemicals: composition, antioxidant capacity, bioactivity, impact factors. A systematic review of almonds, Brazils, cashews, hazelnuts, macadamias, pecans, pine nuts, pistachios and walnuts. *Nutrition Research Reviews*, *24*(2), 244-275.
- Borges, T. H., Rodrigues, N., Souza, A. M. D., y Pereira, J. A. (2014). Effect of different extraction conditions on the antioxidant potential of baru almonds (*Dipteryx alata* Vog.): comparison to common nuts from Brazil. *Journal of Food and Nutrition Research*, *53*(2), 180-188.
- Boulanouar, B., Abdelaziz, G., Aazza, S., Gago, C., y Miguel, M. G. (2013). Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils. *Industrial Crops and Products*, *46*, 85-96.
- Callejón-Ferre, A. J., Velázquez-Martí, B., López-Martínez, J. A., y Manzano-Agugliaro, F. (2011). Greenhouse crop residues: energy potential and models for the prediction of their higher heating value. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *15*(2), 948-955.
- Canellas, L. P., Olivares, F. L., Aguiar, N. O., Jones, D. L., Nebbioso, A., Mazzei, P., y Piccolo, A. (2015). Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae*, *196*, 15-27.
- Canellas, L. P., Olivares, F. L., Okorokova-Façanha, A. L., y Façanha, A. R. (2002). Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence, and plasma membrane H⁺-ATPase activity in maize roots. *Plant Physiology*, *130*(4), 1951-1957.
- Canellas, L. P., Spaccini, R., Piccolo, A., Dobbss, L. B., Okorokova-Façanha, A. L., de Araújo Santos, G., y Façanha, A. R. (2009). Relationships between chemical characteristics and root growth promotion of humic acids isolated from Brazilian oxisols. *Soil Science*, *174*(11), 611-620.
- Chaalal, M., Ouchemoukh, S., Mehenni, C., Salhi, N., Soufi, O., Ydjedd, S., y Louaileche, H. (2019). Phenolic contents and in vitro antioxidant activity of four commonly consumed nuts in Algeria. *Acta Alimentaria*, *48*(1), 125-131.
- Chalker-Scott, L. (1999). Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses. *Photochemistry and photobiology*, *70*(1), 1-9.
- Chalker-Scott, L. (2002). Do anthocyanins function as osmoregulators in leaf tissues?. *Advances in Botanical Research*, *37*, 103-127.

- Cherbuy, B., Joffre, R., Gillon, D., y Rambal, S. (2001). Internal remobilization of carbohydrates, lipids, nitrogen and phosphorus in the Mediterranean evergreen oak *Quercus ilex*. *Tree Physiology*, 21, 9-17.
- Čolić, S., Zec, G., Bakić, I., Janković, Z., Rahović, D., y Fotirić Akšić, M. (Noviembre 2017). Rootstock effect on some quality characteristics of almond cultivars 'Troito', 'Marcona' and 'Texas'. In *VII International Symposium on Almonds and Pistachios*, 1219, 19-24.
- Colla, G., Hoagland, L., Ruzzi, M., Cardarelli, M., Bonini, P., Canaguier, R., y Roupheal, Y. (2017). Biostimulant action of protein hydrolysates: unraveling their effects on plant physiology and microbiome. *Frontiers in Plant Science*, 8, 2202. doi:10.3389/fpls.2017.02202
- Cosmulescu, S., y Ion, T. R. (2011). Seasonal variation of total phenols in leaves of walnut (*Juglans regia* L.). *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(19), 4938-4942.
- Delgado, T., Malheiro, R., Pereira, J. A., y Ramalhosa, E. (2010). Hazelnut (*Corylus avellana* L.) kernels as a source of antioxidants and their potential in relation to other nuts. *Industrial Crops and Products*, 32(3), 621-626.
- Derakhshan, Z., Ferrante, M., Tadi, M., Ansari, F., Heydari, A., Hosseini, M. S., y Sadrabad, E. K. (2018). Antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic extract of pomegranate peels, juice and seeds. *Food and Chemical Toxicology*, 114, 108-111.
- Do Prado, A. C. P., Manion, B. A., Seetharaman, K., Deschamps, F. C., Arellano, D. B., y Block, J. M. (2013). Relationship between antioxidant properties and chemical composition of the oil and the shell of pecan nuts [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch]. *Industrial crops and Products*, 45, 64-73.
- Duan, Y., Hao, S., Luo, R., Lu, Y., Li, G., Zhang, J., y Yao, Y. (2019). Antioxidant defense against rust infection in the leaf tissue of *Malus crabapple*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 41(5), 58.
- Dudonné, S., Vitrac, X., Coutiere, P., Woillez, M., y Mérillon, J. M. (2009). Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 1768-1774.
- Dupuy, L., Fourcaud, T., y Stokes, A. (2007). A numerical investigation into the influence of soil type and root architecture on tree anchorage. In *Eco-and ground bio-engineering: The use of vegetation to improve slope stability* Dordrecht: Springer.
- Ekinci, M., Kul, R., Turan, M., y Yildirim, E. (Noviembre, 2019). Effects of Humic Acid Applications on Mineral Content of Garden Cress Roots under Heavy Metal Stress. In *2nd international conference on food, agriculture and animal sciences*. Antalya, Turkey.
- El-Shazly, M., y Ghieth, W. M. (2019). Effect of Some Biofertilizers and Humic Acid Application on Olive Seedlings Growth under Irrigation with Saline Water. *Alexandria Science Exchange Journal*, 40, 263-279.
- Ercoli, L., Mariotti, M., Masoni, A., y Bonari, E. (1999). Effect of irrigation and nitrogen fertilization on biomass yield and efficiency of energy use in crop production of *Miscanthus*. *Field Crops Research*, 63(1), 3-11.

- Erşan, S., Üstündağ, Ö. G., Carle, R., y Schweiggert, R. M. (2018). Subcritical water extraction of phenolic and antioxidant constituents from pistachio (*Pistacia vera* L.) hulls. *Food chemistry*, 253, 46-54.
- Ertani, A., Cavani, L., Pizzeghello, D., Brandellero, E., Altissimo, A., Ciavatta, C., y Nardi, S. (2009). Biostimulant activity of two protein hydrolyzates in the growth and nitrogen metabolism of maize seedlings. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 172(2), 237-244.
- Fathy, M. A., Gabr, M. A., y El Shall, S. A. (2010). Effect of humic acid treatments on 'Canino' apricot growth, yield and fruit quality. *New York Science Journal*, 3, 109-115.
- Felipe, A. J. (2009). 'Felinem', 'Garnem', and 'Monegro' almond x peach hybrid rootstocks. *HortScience*, 44, 196-197.
- Fernández- González, E. (2010). *Análisis de los procesos de producción de biomasa residual procedente del cultivo de frutales mediterráneos. Cuantificación, cosecha y caracterización* (Doctoral dissertation), Universitat Politècnica de València). España.
- Fernández-Agulló, A., Castro-Iglesias, A., Freire, M. S., y González-Álvarez, J. (2020). Optimization of the Extraction of Bioactive Compounds from Walnut (*Juglans major* 209 x *Juglans regia*) Leaves: Antioxidant Capacity and Phenolic Profile. *Antioxidants*, 9(1), 18. doi: 10.3390/antiox9010018
- Ferreira, I. C. F. R., Barros, L., Soares, M. E., Bastos, M.L., Pereira, J. A. (2007). Antioxidant activity and total phenolic contents of *Olea europaea* L. leaves sprayed with different copper formulations. *Food Chemistry*, 103, 188-195.
- Fibiger, D. L., y Hastings, M. G. (2016). First measurements of the nitrogen isotopic composition of NO_x from biomass burning. *Environmental Science y Technology*, 50(21), 11569-11574.
- Floegel, A., Kim, D. O., Chung, S. J., Koo, S. I., y Chun, O. K. (2011). Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24, 1043-1048.
- Fløistad, I. S., y Kohmann, K. (2004). Influence of nutrient supply on spring frost hardiness and time of bud break in Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) seedlings. *New forests*, 27(1), 1-11.
- Font i Forcada, C., Gogorcena, Y., y Moreno, M. Á. (2012). Agronomical and fruit quality traits of two peach cultivars on peach-almond hybrid rootstocks growing on Mediterranean conditions. *Scientia Horticulturae*, 140, 157-163.
- Forde, B. G., y Roberts, M. R. (2014). Glutamate receptor-like channels in plants: a role as amino acid sensors in plant defence?. *F1000prime reports*, 6, 37. doi:10.12703/P6-37
- Gemin, L. G., Mógor, Á. F., Amatussi, J. D. O., y Mógor, G. (2019). Microalgae associated to humic acid as a novel biostimulant improving onion growth and yield. *Scientia Horticulturae*, 256,(15), 108560. doi:10.1016/j.scienta.2019.108560
- Giehl, R. F., y von Wirén, N. (2014). Root nutrient foraging. *Plant Physiology*, 166(2), 509-517.
- Gould, K. S., McKelvie, J., y Markham, K. R. (2002). Do anthocyanins function as antioxidants in leaves? Imaging of H₂O₂ in red and green leaves after mechanical injury. *Plant, Cell y Environment*, 25, 1261-1269.

- Grossnickle, S. C. (2000). Ecophysiology of northern spruce species: the performance of planted seedlings. *NRC Research Press*, 101-116.
- Halpern, M., Bar-Tal, A., Ofek, M., Minz, D., Muller, T., y Yermiyahu, U. (2015). The use of biostimulants for enhancing nutrient uptake. *Advances in Agronomy*, 130, 141-174.
- Hamedani, S. R., Colantoni, A., Gallucci, F., Salerno, M., Silvestri, C., y Villarini, M. (2019). Comparative energy and environmental analysis of agro-pellet production from orchard woody biomass. *Biomass and Bioenergy*, 129, 105334. doi: 10.1016/j.biombioe.2019.105334
- Huang, Y., Finell, M., Larsson, S., Wang, X., Zhang, J., Wei, R., y Liu, L. (2017). Biofuel pellets made at low moisture content-Influence of water in the binding mechanism of densified biomass. *Biomass and Bioenergy*, 98, 8-14.
- Ibrahim, W., Zhu, Y. M., Chen, Y., Qiu, C. W., Zhu, S., y Wu, F. (2019). Genotypic differences in leaf secondary metabolism, plant hormones and yield under alone and combined stress of drought and salinity in cotton genotypes. *Physiologia plantarum*, 165(2), 343-355.
- Idris, A. (2019). An Effect of Light Intensity on the Total Flavonoid and Phenolic Content of Moringa Oleifera. *Journal of Tomography System and Sensor Application*, 2(1), 19-24.
- Inglese, P., Caruso, T., Gugliuzza, G., y Pace, L. S. (2002). Crop load and rootstock influence on dry matter partitioning in trees of early and late ripening peach cultivars. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 127, 825-830.
- Iqbal, E., Salim, K. A., y Lim, L. B. (2015). Phytochemical screening, total phenolics and antioxidant activities of bark and leaf extracts of *Goniothalamus velutinus* (Airy Shaw) from Brunei Darussalam. *Journal of King Saud University Science*, 27, 224-232.
- Irmak, S. (2019). Challenges of Biomass Utilization for Biofuels. In *Biomass for Bioenergy-Recent Trends and Future Challenges*. IntechOpen. doi: 10.5772/intechopen.83752
- Isaakidis, A., Sotiropoulos, T., Almaliotis, D., Therios, I., y Stylianidis, D. (2004). Response to severe water stress of the almond (*Prunus amygdalus*)'Ferragnès' grafted on eight rootstocks. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 32(4), 355-362.
- Kastell, A., Schreiner, M., Knorr, D., Ulrichs, C., y Mewis, I. (2018). Influence of nutrient supply and elicitors on glucosinolate production in *E. sativa* hairy root cultures. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 132(3), 561-572.
- Kauffman, G. L., Kneivel, D. P., y Watschke, T. L. (2007). Effects of a biostimulant on the heat tolerance associated with photosynthetic capacity, membrane thermostability, and polyphenol production of perennial ryegrass. *Crop Science*, 47(1), 261-267.
- Khemira, H. (2011). Possible involvement of polyphenols and polyamines in salt tolerance of almond rootstocks. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49, 1313-1322.
- Kornsteiner, M., Wagner, K. H., y Elmadfa, I. (2006). Tocopherols and total phenolics in 10 different nut types. *Food Chemistry*, 98(2), 381-387.
- Kumari, D., Kaur, D., Srivastava, A., y Mallipudi, S. (2019). Extraction and Purification of Total Phenolic Content from Combination of Seeds and Peel of Cucurbita. *Research y Reviews: A Journal of Biotechnology*, 9(1), 1-3.

- Lacroix, C., Seabloom, E. W., y Borer, E. T. (2017). Environmental nutrient supply directly alters plant traits but indirectly determines virus growth rate. *Frontiers in microbiology*, 8, 2116. doi:10.3389/fmicb.2017.02116
- Laila, F. H., Shahin, M. F. M., Afifi, M., Mahdy, H. A., y El-Hady, E. S. (2013). Effect of spraying humic acid during fruit set stage on fruit quality and quantity of Picual olive trees grown under Sinai condition. *Journal of Applied Sciences Research*, 9(3), 1484-1489.
- Laitinen, S., Laitinen, J., Fagnäs, L., Korpijärvi, K., Korpinen, L., Ojanen, K., y Jokiniemi, J. (2016). Exposure to biological and chemical agents at biomass power plants. *Biomass and Bioenergy*, 93, 78-86.
- Landis, T. D. (1989). Mineral nutrients and fertilization. In: *The container tree nursery manual* (pp.1-67). Washington, D.C: Department of Agriculture Forrest Service.
- Leopoldini, M., Rondinelli, F., Russo, N., y Toscano, M. (2010). Pyranoanthocyanins: a theoretical investigation on their antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(15), 8862-8871.
- Li, F., Guo, L., Jin, L., Zhang, S., Han, L., y Xiao, K. (2020). Effects of P fertilization level on phosphorus uptake and agronomic traits under deficit irrigation in winter wheat (*T. aestivum* L.). *Journal of Plant Nutrition*, 43(2), 214-226.
- Lordan, J., Zazurca, L., Maldonado, M., Torguet, L., Alegre, S., y Miarnau, X. (2019). Horticultural performance of 'Marinada' and 'Vairo' almond cultivars grown on a genetically diverse set of rootstocks. *Scientia Horticulturae*, 256, 108558. doi:10.1016/j.scienta.2019.108558
- Ma, Q. X., Wang, J., Cao, X. C., Sun, Y., Sun, T., y Wu, L. H. (2017). Effects of soil pH on the competitive uptake of amino acids by maize and microorganisms. *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao= The journal of applied ecology*, 28(7), 2277-2384.
- Maeda, H., y Dudareva, N. (2012). The shikimate pathway and aromatic amino acid biosynthesis in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 63, 73-105.
- Maj, G., Krzaczek, P., Stamirowska-Krzaczek, E., Lipińska, H., y Kornas, R. (2019). Assessment of energy and physicochemical biomass properties of selected forecrop plant species. *Renewable Energy*, 143, 520-529.
- Malheiro, R., Sousa, A., Casal, S., Bento, A., y Pereira, J. A. (2011). Cultivar effect on the phenolic composition and antioxidant potential of stoned table olives. *Food and Chemical Toxicology*, 49(2), 450-457.
- Manetas, Y. (2006). Why some leaves are anthocyanic and why most anthocyanic leaves are red?. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 201, 163-177.
- Mareček, V., Mikyška, A., Hampel, D., Čejka, P., Neuwirthová, J., Malachová, A., y Cerkal, R. (2017). ABTS and DPPH methods as a tool for studying antioxidant capacity of spring barley and malt. *Journal of Cereal Science*, 73, 40-45.
- Matsumiya, Y., y Kubo, M. (2011). Soybean peptide: novel plant growth promoting peptide from soybean. In *Soybean and Nutrition* (pp. 215-230). Intech Open.

- McKendry, P. (2002). Energy production from biomass (part 1): overview of biomass. *Bioresource Technology*, 83(1), 37-46.
- Milbury, P. E., Chen, C. Y., Dolnikowski, G. G., y Blumberg, J. B. (2006). Determination of flavonoids and phenolics and their distribution in almonds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(14), 5027-5033.
- Miliauskas, G., Venskutonis, P. R., y Van Beek, T. A. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*, 85, 231-237.
- Misirli, A., Gülcan, R., Küden, A., y Demir, G. (2001). Determination of phenolic compounds in some almond hybrids varying in resistance to *Pseudomonas amygdali*. *Cahiers Options Méditerranéennes* 56, 71-86.
- Moe, L. A. (2013). Amino acids in the rhizosphere: from plants to microbes. *American Journal of Botany*, 100, 1692-1705.
- Momenpour, A., Imani, A., Bakhshi, D., y Akbarpour, E. (2018). Evaluation of Salinity Tolerance of Some Selected Almond Genotypes Budded on GF677 Rootstock. *International Journal of Fruit Science*, 18(4), 410-435.
- Mora, V., Olaetxea, M., Bacaicoa, E., Baigorri, R., Fuentes, M., Zamarreño, A. M., y Garcia-Mina, J. M. (2014). Abiotic stress tolerance in plants: exploring the role of nitric oxide and humic substances. In *Nitric oxide in plants: metabolism and role in stress physiology* (pp. 243-264). Cham: Springer.
- Nhuchhen, D. R., y Salam, P. A. (2012). Estimation of higher heating value of biomass from proximate analysis: A new approach. *Fuel*, 99, 55-63.
- Obernberger, I., Biedermann, F., Widmann, W., y Riedl, R. (1997). Concentrations of inorganic elements in biomass fuels and recovery in the different ash fractions. *Biomass and Bioenergy*, 12(3), 211-224.
- Oliet, J. A., Planelles, R., Artero, F., y Jacobs, D. F. (2005). Nursery fertilization and tree shelters affect long-term field response of *Acacia salicina* Lindl planted in Mediterranean semiarid conditions. *Forest Ecology and Management*, 215(1-3), 339-351.
- Oliveira, I., Baptista, P., Malheiro, R., Casal, S., Bento, A., y Pereira, J. A. (2011). Influence of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruit ripening stage on chemical composition and antioxidant activity. *Food Research International*, 44(5), 1401-1407.
- Oliveira, I., Sousa, A., Ferreira, I. C., Bento, A., Estevinho, L., y Pereira, J. A. (2008). Total phenols, antioxidant potential and antimicrobial activity of walnut (*Juglans regia* L.) green husks. *Food and chemical toxicology*, 46(7), 2326-2331.
- Olszowy, M., y Dawidowicz, A. L. (2018). Is it possible to use the DPPH and ABTS methods for reliable estimation of antioxidant power of colored compounds?. *Chemical Papers*, 72(2), 393-400.
- Oriyomi, I. L., Sobowale, A. A., Akanmu, A. O., y Odebode, A. C. (2019). Evaluation of the Phenol Production Potential in Maize (*Zea mays* L.) in Response to Infection Caused by *Fusarium verticillioides* (Niren.). *Journal of Experimental Agriculture International*, 36(5), 1-11. doi: 10.9734/jeai/2019/v36i530245

- Owen, A. G., y Jones, D. L. (2001). Competition for amino acids between wheat roots and rhizosphere microorganisms and the role of amino acids in plant N acquisition. *Soil Biology and Biochemistry*, 33(4-5), 651-657.
- Özçimen, D., y Ersoy-Meriçboyu, A. (2010). Characterization of biochar and bio-oil samples obtained from carbonization of various biomass materials. *Renewable Energy*, 35(6), 1319-1324.
- Perchlik, M., y Tegeder, M. (2018). Leaf amino acid supply affects photosynthetic and plant nitrogen use efficiency under nitrogen stress. *Plant Physiology*, 178(1), 174-188.
- Pereira, J. A., Oliveira, I., Sousa, A., Valentão, P., Andrade, P. B., Ferreira, I. C., y Estevinho, L. (2007). Walnut (*Juglans regia* L.) leaves: phenolic compounds, antibacterial activity and antioxidant potential of different cultivars. *Food and Chemical Toxicology*, 45, 2287-2295.
- Prgomet, I., Gonçalves, B., Domínguez-Perles, R., Santos, R., Saavedra, M. J., Aires, A., y Barros, A. (2019). Irrigation deficit turns almond by-products into a valuable source of antimicrobial (poly) phenols. *Industrial Crops and Products*, 132, 186-196.
- Puupponen-Pimia, R., Nohynek, L., Meier, C., Kahkonen, M., Heinonen, M., Hopia, A., y Oksman-Caldentey, K. M. (2001). Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. *Journal of applied microbiology*, 90, 494-507.
- Ranjbar, A., Imani, A., Piri, S., y Abdoosi, V. (2019). Effects of Drought Stress on Almond Cultivars Responses Grafted on Different Rootstocks. *Journal of Nuts*, 10(1), 9-24.
- Razavi Nasab, A., Fotovat, A., Astaraie, A., y Tajabadipour, A. (2019). Effect of Organic Waste and Humic Acid on Some Growth Parameters and Nutrient Concentration of Pistachio Seedlings. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 50(3), 254-264.
- Reig, G., Garanto, X., Mas, N., y Iglesias, I. (2020). Long-term agronomical performance and iron chlorosis susceptibility of several *Prunus* rootstocks grown under loamy and calcareous soil conditions. *Scientia Horticulturae*, 262, 109035. doi: 10.1016/j.scienta.2019.109035
- Ren, X., Sun, R., Meng, X., Vorobiev, N., Schiemann, M., y Leventis, Y. A. (2017). Carbon, sulfur and nitrogen oxide emissions from combustion of pulverized raw and torrefied biomass. *Fuel*, 188, 310-323.
- Romero, A., Batlle, I., y Miarnau, X. (Noviembre, 2017). Almond physical traits affected by rootstocks in 'Marinada' cultivar. In *VII International Symposium on Almonds and Pistachios*, 1219, 31-36.
- Rose, M. T., Patti, A. F., Little, K. R., Brown, A. L., Jackson, W. R., y Cavagnaro, T. R. (2014). A meta-analysis and review of plant-growth response to humic substances: practical implications for agriculture. *Advances in Agronomy*, 124, 37-89.
- Saa, S., Rio, O. D., Castro, S., y Brown, P. H. (2015). Foliar application of microbial and plant based biostimulants increases growth and potassium uptake in almond (*Prunus dulcis* [Mill.] DA Webb). *Frontiers in Plant Science*, 6, (87). doi: 10.3389/fpls.2015.00087
- Saidimoradi, D., Ghaderi, N., y Javadi, T. (2019). Salinity stress mitigation by humic acid application in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.). *Scientia Horticulturae*, 256, 108594. doi: 10.1016/j.scienta.2019.108594

- Salifu, K. F., Jacobs, D. F., y Birge, Z. (2005). Maximizing nutrient storage in nursery culture to promote retranslocation and growth of outplanted seedlings. *The Thin Green Line*, 82.
- Schiavon, M., Ertani, A., y Nardi, S. (2008). Effects of an alfalfa protein hydrolysate on the gene expression and activity of enzymes of the tricarboxylic acid (TCA) cycle and nitrogen metabolism in *Zea mays* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(24), 11800-11808.
- Sfahlan, A. J., Mahmoodzadeh, A., Hasanzadeh, A., Heidari, R., y Jamei, R. (2009). Antioxidants and antiradicals in almond hull and shell (*Amygdalus communis* L.) as a function of genotype. *Food Chemistry*, 115, 529-533.
- Shi, W., Bloomberg, M., Li, G., Su, S., y Jia, L. (2017). Combined effects of cotyledon excision and nursery fertilization on root growth, nutrient status and outplanting performance of *Quercus variabilis* container seedlings. *PLoS one*, 12(5), e0177002. doi:10.1371/journal.pone.0177002
- Siriwardhana, S. S., y Shahidi, F. (2002). Antiradical activity of extracts of almond and its by-products. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79(9), 903-908.
- Souri, M. K., y Hatamian, M. (2019). Amino chelates in plant nutrition: a review. *Journal of Plant Nutrition*, 42(1), 67-78.
- Srivastava, K. K., Kumar, D., Mir, J. I., y Singh, S. R. (2017). Tree architecture influenced productivity and quality attributes in apple under HDP. *The Horticultural Society of India*, 74, 486-490.
- Tabakov, S., Yordanov, A., y Petrov, M. (2018). Influence of rootstocks GF677 and GXN 15 (Garnem) on some phenophases of peach cultivars. *Agricultural Sciences/Agrarni Nauki*, 10(24).doi: 10.22620/agrisci.2018.24.003
- Tattini, M., Remorini, D., Pinelli, P., Agati, G., Saracini, E., Traversi, M. L., y Massai, R., (2006). Morpho-anatomical, physiological and biochemical adjustments in response to root zone salinity stress and high solar radiation in two Mediterranean evergreen shrubs, *Myrtus communis* and *Pistacia lentiscus*. *New Phytologist*, 170, 779-794.
- Teixeira, W. F., Fagan, E. B., Soares, L. H., Umburanas, R. C., Reichardt, K., y Neto, D. D. (2017). Foliar and seed application of amino acids affects the antioxidant metabolism of the soybean crop. *Frontiers in Plant Science*, 8, 327. doi: 10.3389/fpls.2017.00327
- Telmo, C., Lousada, J., y Moreira, N. (2010). Proximate analysis, backwards stepwise regression between gross calorific value, ultimate and chemical analysis of wood. *Bioresource Technology*, 101(11), 3808-3815.
- Telmo, C., Lousada, J., y Moreira, N. (2010). Proximate analysis, backwards stepwise regression between gross calorific value, ultimate and chemical analysis of wood. *Bioresource Technology*, 101(11), 3808-3815.
- Tomaino, A., Martorana, M., Arcoraci, T., Monteleone, D., Giovinazzo, C., y Saija, A. (2010). Antioxidant activity and phenolic profile of pistachio (*Pistacia vera* L., variety Bronte) seeds and skins. *Biochimie*, 92(9), 1115-1122.
- Trevisan, S., Francioso, O., Quaggiotti, S., y Nardi, S. (2010). Humic substances biological activity at the plant-soil interface: from environmental aspects to molecular factors. *Plant Signaling y Behavior*, 5(6), 635-643.

- Van Oosten, M. J., Pepe, O., De Pascale, S., Silletti, S., y Maggio, A. (2017). The role of biostimulants and bioeffectors as alleviators of abiotic stress in crop plants. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 4(1), 5. doi: 10.1186/s40538-017-0089-5
- Velázquez-Martí, B., López-Cortés, I., Salazar-Hernández, D., y Callejón-Ferre, Á. J. (2017). Modeling the Calorific Value of Biomass from Fruit Trees Using Elemental Analysis Data. In *Biomass Volume Estimation and Valorization for Energy*. InTechOpen. doi: 10.5772/65276
- Virgen-Ortiz, J. J., Morales-Ventura, J. M., Colín-Chávez, C., Esquivel-Chávez, F., Vargas-Arispuro, I., Aispuro-Hernández, E., y Martínez-Téllez, M. A. (2019). Postharvest application of pectic-oligosaccharides on quality attributes, activities of defense-related enzymes, and anthocyanin accumulation in strawberry. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.doi: 10.1002/jsfa.10207
- Wilhelm, M., Brodbeck, B. V., Andersen, P. C., Kasun, G. W., y Kirkpatrick, B. C. (2011). Analysis of xylem fluid components in almond cultivars differing in resistance to almond leaf scorch disease. *Plant disease*, 95, 166-172.
- Wilson, A. R., Nzokou, P., Güney, D., y Kulaç, Ş. (2013). Growth response and nitrogen use physiology of Fraser fir (*Abies fraseri*), red pine (*Pinus resinosa*), and hybrid poplar under amino acid nutrition. *New Forests*, 44(2), 281-295.
- Wink, M., 2017 The role of quinolizidine alkaloids in plant-insect interactions. *Insect Plant Interactions*, 1:139-174.
- Yahmed, J. B., Ghrab, M., y Mimoun, M. B. (2016). Eco-physiological evaluation of different scion-rootstock combinations of almond grown in Mediterranean conditions. *Fruits*, 71(3), 185-193.
- Yakhin, OI., Lubyantsov, AA., Yakhin, IA., y Brown, PH. (2017) Biostimulants in plant science: a global perspective. *Frontiers in Plant Science*, 7, 2049. doi:10.3389/fpls.2016.02049
- Yin, C. Y. (2011). Prediction of higher heating values of biomass from proximate and ultimate analyses. *Fuel*, 90(3), 1128-1132.
- Zandonadi, D. B., Santos, M. P., Dobbss, L. B., Olivares, F. L., Canellas, L. P., Binzel, M.,...Façanha, A. (2010). Nitric oxide mediates humic acids-induced root development and plasma membrane H⁺-ATPase activation. *Planta*, 231, (5), 1025-1036.
- Zhang, L., Xu, C. C., y Champagne, P. (2010). Overview of recent advances in thermo-chemical conversion of biomass. *Energy Conversion and Management*, 51(5), 969-982.
- Zhang, S., Liguó, G. H., Le, H. A., Fangfang, L. I., Lizhi, J. I., y Kai, X. I. (2019). The effects of N input level on N uptake, N remobilization and agronomic traits under deficit irrigation condition in winter wheat. *Turkish Journal of Field Crops*, 24(1), 111-120.
- Zhao, Y. H., Li, J. K., y Li, G. X. (2008). Optimization of Evaluation Methods for Activities of Natural Antioxidants in vitro. *Journal of Food Science*, 6.
- Zrig, A., Tounekti, T., Vadel, A. M., Mohamed, H. B., Valero, D., Serrano, M.,... Khemira, H. (2011). Possible involvement of polyphenols and polyamines in salt tolerance of almond rootstocks. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49: 1313-1322.

Conclusiones

1. El patrón GN destaca por el mayor vigor que induce frente a GF 677 y RP-R tanto en el sistema vegetativo como radical en los cultivares en estudio. Además, de los patrones en estudio, GN destaca por su mayor poder antioxidante y su mayor contenido en fenoles. Estas propiedades químicas son de interés en tanto en cuanto pueden influir en los mecanismos de defensa de la planta frente a determinados estreses, patógenos o enfermedades.
2. El desarrollo vegetativo y la arquitectura del sistema radical del almendro se ven condicionados por la elección del sustrato en la fase de vivero. El uso de fibra de coco en los primeros estadios de crecimiento de la planta favorece el desarrollo del tronco, el aumento del peso del sistema radical y la proliferación de raíces absorbentes. El uso de un sustrato a base de sílice, turba y arena favorece el incremento de diámetro de las raíces principales y secundarias y promueve el crecimiento en longitud de las raíces, haciendo que el árbol sea capaz de explorar zonas más profundas del suelo y por tanto podría ser adecuado para preparar a los plántones frente a un posterior trasplante en seco.
3. La fertilización mediante bioestimulantes tuvo un fuerte impacto en el crecimiento y desarrollo de los plántones de almendro y permitió acortar la fase de vivero. Si bien los resultados obtenidos por el bioestimulante compuesto de ácidos húmicos y fúlvicos fueron superiores, ambos productos favorecieron el crecimiento aéreo del almendro y la proliferación de raíces.
4. Desde el punto de vista de los análisis químicos, los materiales obtenidos de la poda de almendro tienen características apropiadas para su uso como posible fuente de bioenergía dado que presentan altos poderes caloríficos con bajos contenidos de humedad y bajas concentraciones de nitrógeno y por tanto menor poder contaminante en su empleo para bioenergía que restos de otras especies de cultivo.
5. El poder calorífico de las muestras en ensayo se vio más afectado por la variedad y por el patrón en el que esta estaba injertada que por los contenidos en carbono, hidrógeno y nitrógeno de la muestra. La variedad Marcona y el patrón GF 305 presentaron mayores poderes caloríficos que el resto de cultivares y patrones en ensayo.

6. El uso de bioestimulantes modificó la concentración en nitrógeno de las muestras, el tratamiento a base de sacáridos y aminoácidos promovió la acumulación de mayores niveles de nitrógeno que el tratamiento a base de ácidos húmicos y fúlvicos y por lo tanto, desde un punto de vista medioambiental sería menos recomendable.
-