

# VARIACIÓN ANUAL, DIARIA Y EN EL DOSEL DE COMPUESTOS NITROGENADOS EN HOJAS DE ALMENDRO Y NECTARINA

## Seasonal, Diurnal, and within Canopy Variation of Leaf Nitrogen Compounds in Almond and Nectarine Leaves

Rubio-Covarrubias, Oswaldo A.<sup>1‡</sup>, Patrick H. Brown<sup>2</sup> y Steven A. Weibaum<sup>2</sup>

### RESUMEN

Tradicionalmente se ha utilizado la concentración de nitrógeno total en las hojas como indicador del estado nutricional de árboles frutales. Con el propósito de comparar diferentes compuestos nitrogenados como indicadores del estado de este elemento en árboles de almendro (*Prunus dulcis* (Mill) D. A. Webb) y de nectarina (*Prunus persica* L. Batsch), sometidos a niveles crecientes de fertilizante nitrogenado. Se determinó la variación anual, diaria y en el dosel de la concentración foliar de nitrato, amonio, nitrógeno soluble (NS) extraídos con ácido fórmico 0.2 N, así como la de nitrógeno total (NT). Durante tres años los árboles se fertilizaron con cuatro tratamientos de nitrógeno (0, 78, 157 y 313 g N árbol<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>). El primero y segundo año, muestras foliares de todos los tratamientos fueron analizadas durante la estación de crecimiento, pero, al tercer año se seleccionaron sólo dos tratamientos (0 y 157 g N árbol<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>). Los árboles de ambas especies mostraron las mayores concentraciones de amonio, NS y NT al inicio de la temporada de crecimiento. Las concentraciones de amonio y NS aumentaron durante el día deappués de las 9:00 h, pero las correspondientes al nitrato presentaron una tendencia opuesta. La concentración de NT y NS fue mayor en las hojas apicales que en las hojas basales, mientras que el nitrato mostró una tendencia contraria y el amonio no varió de manera consistente. Los resultados mostraron que los compuestos nitrogenados monitoreados en las hojas de ambas especies fueron sensibles a los dos niveles de nitrógeno. Sin embargo, considerando los resultados relacionados con la variabilidad durante el año, durante

el día, dentro del dosel de los árboles y sobre todo con la variabilidad entre árboles con el mismo tratamiento, se concluyó que el NT fue el mejor indicador en árboles de almendro y nectarina.

**Palabras clave:** *Prunus dulcis*, *Prunus persica*, amonio, nitrato, nitrógeno soluble.

### SUMMARY

Traditionally, total leaf nitrogen has been used to indicate the nutritional status of orchard trees. With the objective of exploring new alternatives, in the present study we tested different nitrogen compounds as indicators and determined their variability in the tree canopy over time. The seasonal, diurnal and positional variability of nitrate, ammonium, soluble nitrogen (SN) extracted with formic acid 0.2 N, as well as total nitrogen (TN) were determined in the leaves of young field-grown almond (*Prunus dulcis* (Mill) D. A. Webb) and nectarine (*Prunus persica* L. Batsch) trees. Over a 3 year period, four nitrogen treatments (0, 78, 157, and 313 g N tree<sup>-1</sup> year<sup>-1</sup>) were established in field grown trees. The third year two treatments (0 and 157 g N tree<sup>-1</sup> year<sup>-1</sup>), representing nitrogen deficiency and sufficiency, respectively, were chosen for leaf analysis. Both species showed high concentrations of ammonium, SN and TN at the beginning of season. However, in Nfertilized almond and nectarine trees, ammonium and SN tended to increase slightly during the day after 9:00 h. In contrast, nitrate exhibited the opposite trend. Leaf TN and SN concentrations decreased from the apical to the basal leaves while nitrate concentrations showed an opposite tendency and ammonium did not vary consistently. All the nitrogen compounds in the leaves of both species were sensitive to the nitrogen supplied. However, considering the variability of the nitrogen compounds over time, within tree canopies and, in particular, the variability among trees with the same fertilization treatment, it was concluded that TN was the best nitrogen indicator.

<sup>1</sup> Campo Experimental Valle de Toluca, INIFAP. km 45 carretera Toluca-Zitácuaro. 51350 Zinacantepec, Estado de México.

<sup>‡</sup> Autor responsable (oswaldorubio@terra.com.mx)

<sup>2</sup> Universidad de California, Departamento de Pomología. Davis CA. 95616 USA.

**Index words:** *Prunus dulcis*, *Prunus persica*, *ammonium*, *nitrate*, *soluble nitrogen*.

## INTRODUCCIÓN

De acuerdo con los datos proporcionados por la FAO (2008), el consumo mundial de fertilizantes nitrogenados es de aproximadamente 127 820 000 Mg año<sup>-1</sup>. La cantidad de éstos empleada aumenta constantemente, así como la preocupación mundial por la contaminación del agua que propicia su uso excesivo. La utilización correcta de los fertilizantes se basa principalmente en el diagnóstico nutricional apoyado en análisis de suelos y de las partes vegetativas de las plantas, y existe una búsqueda constante de compuestos nitrogenados en los tejidos de las plantas que sean sensibles a los cambios nutricionales que éstas experimentan (Demotes-Mainard *et al.*, 2008). En diversas especies perennes se han empleado como indicadores del estado nutricional del N ciertos compuestos nitrogenados de las hojas, como aminoácidos, nitrato, nitrógeno total (NT) y nitrógeno soluble (NS) (Taylor y Van den Ende, 1969; Prasad y Ravenwood, 1986; Balsberg, 1992; Gebler y Rennenberg, 2000; Fotelli *et al.*, 2002). La sensibilidad de estos compuestos a las aplicaciones del referido elemento se ha determinado con base en la magnitud y rapidez del cambio que experimenta su concentración en la planta. Sin embargo, esta sensibilidad a la aplicación de nitrógeno puede estar relacionada a variaciones asociadas a la época del año, a la hora del día y a la posición de las hojas en los árboles frutales (Righetti *et al.*, 1990). Para controlar estas variaciones, se han adoptado procedimientos que implican muestreos foliares durante los meses de julio y agosto (hemisferio norte) cuando la acumulación de materia seca en las hojas es máxima. Para evitar la acción de la nitrato reductasa se muestrea en las primeras horas del día, se seleccionan las hojas de la parte media de los brotes anuales que cesaron su crecimiento (Righetti *et al.*, 1990). En árboles de durazno se ha demostrado que existe una disminución de la concentración del NT en las hojas a medida que avanza la estación de crecimiento (Taylor y May, 1967; Taylor y Van den Ende, 1969). También se ha observado, en árboles de durazno, que hay una estrecha relación entre los contenidos elevados de N y la actividad fotosintética en las hojas situadas en la periferia del árbol (DeJong *et al.*, 1989).

Los estudios sobre la variación del N en las hojas de almendro y nectarina se han realizado al analizar el NT

(Taylor y May, 1967; Taylor y Van den Ende, 1969; Stassen *et al.*, 1981; DeJong *et al.*, 1989; Johnson *et al.*, 1995; Rufat y DeJong, 2001). Sin embargo, no se ha determinado la variabilidad de los compuestos solubles de N que podrían servir como indicadores del estado nutricional de los árboles, porque su movilidad y dinámica lo dificulta, aunque estas fracciones pudiesen ser indicadores más sensibles del estado nutricional del N que el propio NT.

Con el propósito de explorar la utilización de nitrato, amonio, NT y NS como indicadores del estado nutricional nitrogenado de árboles de almendro y nectarina, en el presente trabajo se determinó su variación anual, diurna y en el dosel de individuos de estas especies tratados con dos niveles de N después de tres años de aplicaciones continuas de fertilizantes nitrogenados.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Árboles de un año de edad de almendro (*Prunus dulcis* (Mill) D. A. Webb) y de nectarina (*Prunus persica* L. Batsch) se plantaron en dos lotes contiguos en marzo de 1992 en la huerta del Departamento de Pomología de la Universidad de California en Davis, Estados Unidos. El suelo experimental es Xerofluvents Mólico, serie Yolo (USDA-NRCS, 2002) de textura migajón limoso y pH neutro.

Cuatro tratamientos de N (0, 78, 157, y 313 g árbol<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> equivalentes a 0, 72.5, 145 y 290 kg ha<sup>-1</sup>) fueron impuestos en 1992 y se repitieron en 1993 y 1994. El diseño experimental para cada especie de árbol fue de bloques completos al azar. Cada parcela experimental estuvo constituida por un total de 24 árboles de cada especie, agrupados en cuatro bloques de seis árboles cada uno. La distancia entre los árboles de almendro fue de 2.7 m y de 1.8 m entre los árboles de nectarina. La distancia entre hileras en ambas especies fue de 6 m. Para evitar efectos de borde, las observaciones se tomaron únicamente en los cuatro árboles centrales de cada bloque.

La dosis de N anual, correspondiente a cada árbol, se fraccionó en cinco aplicaciones iguales, realizadas cada mes entre marzo y julio. Como fuente de N se utilizó sulfato de amonio, el cual se esparció sobre la superficie del suelo, alrededor de cada árbol, en círculo con un diámetro de 1.8 m. Inmediatamente después, de cada aplicación de fertilizante, los árboles se regaron por microaspersión. Los árboles recibieron una fertilización complementaria de 180 g árbol<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>

de forma de sulfato de potasio; se realizó en el mes de marzo durante los tres años del estudio.

El portainjerto de los árboles de almendro y de nectarina fue la variedad de durazno "Nemaguard". El injerto de almendro fue la variedad "Mission-Texas" y el de nectarina la variedad "Fantasia". La poda de los árboles se hizo anualmente en el mes de febrero para darles forma de V (nectarinas) y de líder central en los almendros. El riego se hizo por microaspersión de marzo a octubre, aplicando la lámina de agua necesaria para mantener el nivel de humedad de los primeros 40 cm del suelo entre 60 y 100% de su capacidad de campo. El control de malezas se realizó con una chapoleadora cada vez que se requería. Las plagas y enfermedades se controlaron con aplicaciones de insecticidas y fungicidas, llevadas a cabo cuando se observaba algún riesgo de ellas.

La evaluación del efecto de las dosis de N sobre el desarrollo de los árboles se efectuó empleando tres criterios: (a) incremento en diámetro del tronco de los árboles (a una altura de 45 cm del suelo) entre el inicio del experimento y 1994; (b) peso y número de frutos, que sólo se usó en el caso de nectarinas, ya que los almendros aún no entraban en producción; y, (c) la concentración foliar de nitrato, amonio, NS extraídos con ácido fórmico 0.2 N y NT.

Al tercer año después de haber plantado los árboles en el campo y de ser sometidos continuamente a los cuatro tratamientos de fertilización nitrogenada ya mencionados, se seleccionaron los tratamientos con 0 y 157 g árbol<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> de N para realizar en ellos el análisis foliar de los compuestos nitrogenados. Estos dos tratamientos se escogieron basándose en el crecimiento transversal de su tronco, ya que se concluyó que estos representaban deficiencia y suficiencia de N.

Para observar la variación que experimentaban el nitrato, amonio, NS y NT durante el periodo correspondiente a ese tercer año de crecimiento de los árboles, se muestrearon cada mes seis hojas de cada árbol, tres semanas después del inicio de la brotación de primavera hasta dos semanas antes de la caída de las hojas en el otoño. Los muestreos de las hojas se realizaron en la parte media de los brotes anuales.

Para determinar la variación a lo largo de un día, el 1 de julio de 1994 se colectaron hojas de la parte media de los brotes correspondientes al flujo de crecimiento de ese tercer año, en intervalos de 3 h, desde las 6:00 hasta las 21:00 h.

El muestreo, para medir la variación de la concentración de las variables de respuestas dentro del dosel de los árboles, también se hizo el 1 de julio de 1994. Se muestrearon las hojas de la parte basal, media y de la punta de las ramas emitidas en ese mismo año (tercer año).

Las muestras foliares se secaron en estufa a 70 °C, se molieron y analizaron por separado. El NS, el nitrato y el amonio se extrajeron con ácido fórmico 0.2 N de acuerdo con el método descrito por Roberts *et al.* (1980) y el NT el método de microkjeldahl (Carlson, 1978). Las proteínas solubles, pigmentos nitrogenados, aminoácidos y amidas que en su conjunto constituyeron la mayor parte del NS, se midieron directamente en los extractos, usando el método de difusión y conductividad (Carlson *et al.*, 1990). El NS en el extracto y el NT en el tejido vegetal, fueron primero digeridos por el método de microkjeldahl (Carlson, 1978) y posteriormente, el amonio producido se cuantificó por el método de difusión y conductividad (Carlson *et al.*, 1990).

Las medias de las variables obtenidas en cada tratamiento y sus respectivos errores estándar se calcularon usando el programa estadístico SAS (SAS Institute, 1988).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Diámetro del Tronco y Producción de Frutos

El diámetro de los troncos de los árboles de almendro se incrementó hasta alcanzar un máximo con la dosis 157 g árbol<sup>-1</sup> de N (Figura 1). Sin embargo, la nectarina experimentó sólo un ligero incremento en el diámetro de los troncos hasta llegar a un máximo con la dosis 78 g árbol<sup>-1</sup> de N. La adición de nuevos incrementos de fertilizante nitrogenado no se tradujo en mayores aumentos de este variable (Figura 1).

El rendimiento de frutos sólo se determinó en los árboles de nectarina; los árboles de almendro aún no producían frutos en su tercer año después de haberse plantado en el campo. Algo similar a la tendencia en crecimiento del tronco ocurrió con la producción de frutos de nectarina, ya que el máximo rendimiento se obtuvo también con 78 g árbol<sup>-1</sup> de N. En contraste, el peso de los frutos de nectarina alcanzó el máximo con 157 g árbol<sup>-1</sup> de N (promedio de fruto de 187 g fruto<sup>-1</sup>). Estos resultados indican que con 78 g árbol<sup>-1</sup> de N no se satisficieron completamente las necesidades de N, por

una competencia por carbohidratos y nutrientes entre el crecimiento vegetativo y el desarrollo de los frutos. La competencia por recursos energéticos (carbohidratos y nutrientes) entre las partes vegetativas y las reproductivas dentro de árboles de durazno ha sido previamente demostrada por Grossman y DeJong (1995). El máximo incremento de rendimiento de nectarinas ocurrió entre el testigo sin N y el tratamiento con 78 g árbol<sup>-1</sup> de N, respuesta que no se observó en el peso individual de los frutos debido a la competencia por recursos energéticos explicada previamente (Grossman y DeJong, 1995).

El efecto de la aplicación de N sobre el diámetro de los troncos de almendro y nectarina, así como sobre el rendimiento y tamaño de los frutos de nectarina, es una respuesta típica que muestra un nivel inicial de deficiencia, un nivel óptimo y un nivel de exceso de N. Esta respuesta confirma que los tratamientos seleccionados para observar la variabilidad de los compuestos nitrogenados (0 y 157 g árbol<sup>-1</sup> de N equivalentes a 0 y 145 kg N ha<sup>-1</sup>) representaron los límites del rango en el cual se manifestó respuesta a la fertilización nitrogenada. Aun cuando los requerimientos de N dependen de varios factores, como las características del suelo, la edad de los árboles, la variedad, la densidad de plantación, el manejo de la huerta, etc., los resultados del presente estudio concuerdan con los obtenidos por Johnson *et al.* (1995), quienes, en un estudio realizado durante 12 años en

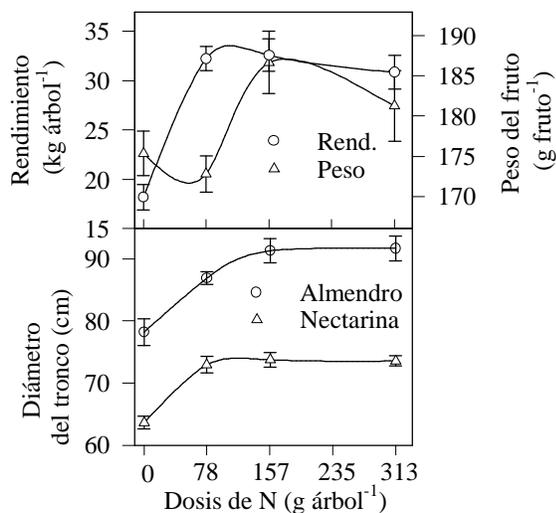
una huerta de nectarina en Kearney, California, no observaron respuesta en rendimiento ni tamaño de los frutos con dosis de N mayores de 112 kg ha<sup>-1</sup>.

### Variación Anual de los Compuestos Nitrogenados Foliare

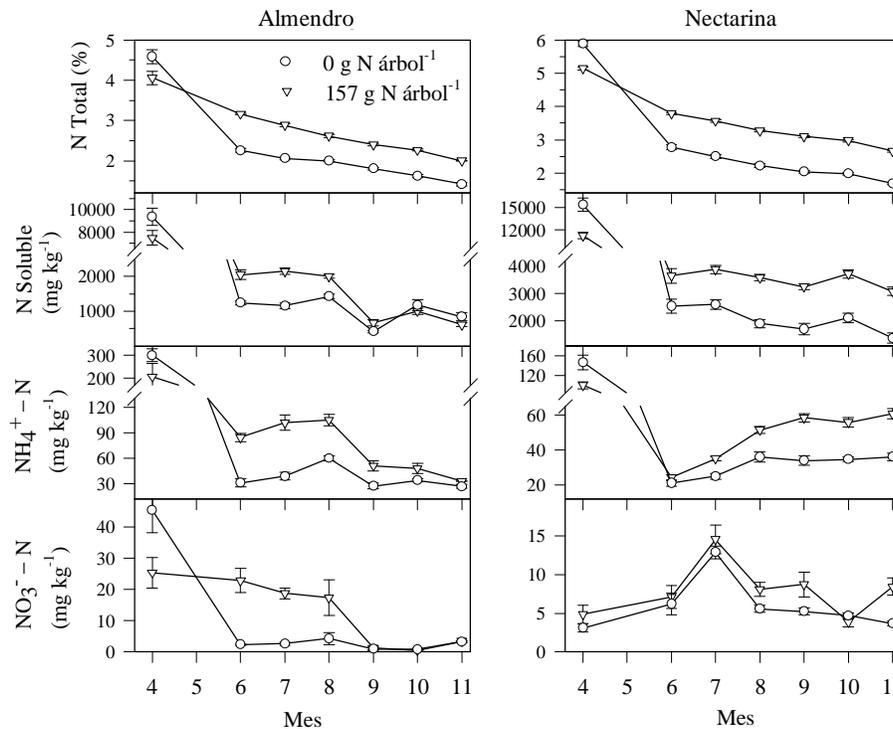
Durante la mayor parte del año hubo un efecto muy marcado y consistente de las dos dosis de fertilización nitrogenada. Los árboles de almendro y nectarina con fertilizante tuvieron concentraciones más altas de todos los compuestos nitrogenados que los árboles sin fertilizante, con una excepción, la del primer muestreo realizado el 2 de abril. En esa ocasión, la concentración foliar de la mayoría de los compuestos nitrogenados fue más elevada en los árboles de ambas especies que no habían fertilizado con N (Figura 2). Este efecto puede ser explicado por el hecho de que los árboles sin fertilizante brotaron cinco días más tarde que los árboles que se fertilizaron y, por lo tanto, sus hojas eran fisiológicamente más jóvenes y con mayor contenido de N en el momento del muestreo. El mismo efecto se ha observado previamente en árboles de durazno (Stassen *et al.*, 1981).

Hubo una disminución constante de la concentración foliar de NT durante el ciclo anual de desarrollo de los árboles de almendro y nectarina (Figura 2). Esta misma tendencia también ha sido observada por otros investigadores en árboles de durazno (Taylor y May, 1967; Taylor y Van den Ende, 1969), quienes indican que se debe a la dilución del contenido de N en las hojas durante su crecimiento y el desarrollo de nuevos brotes en la primavera, a la traslocación de este nutriente de las hojas a los frutos durante la etapa de crecimiento de los mismos, y a su removilización de las hojas hacia los tejidos de reserva en el tronco y raíces antes de la caída de las hojas. Fotelli *et al.* (2002) observaron que más que un efecto de dilución del N, su abatimiento en el follaje se debe a la reducción paulatina del transporte de este elemento desde los tejidos de almacenamiento y a la disminución de su disponibilidad en el suelo durante el transcurso del año. Este último factor se descarta en el presente estudio, puesto que el fertilizante nitrogenado se aplicó periódicamente durante la etapa de crecimiento de los árboles.

Además del NT, el NS también presentó su más alta concentración en el primer muestreo realizado inmediatamente después del inicio de la brotación (Figura 2). Estos resultados se asocian a la removilización



**Figura 1. Diámetro de los troncos de almendro y nectarina, rendimiento de frutos de nectarina y su peso promedio en función de las dosis de nitrógeno.** Las barras verticales representan el error estándar de las medias.



**Figura 2.** Variación de la concentración foliar del nitrógeno total (NT), nitrógeno soluble (NS), amonio y nitrato durante un año de desarrollo de árboles de almendro y nectarina. Las barras verticales representan los errores estándar de las medias.

del N almacenado durante el invierno en las raíces y ramas de los árboles del género *Prunus* (Rufat y DeJong, 2001; Grassi *et al.*, 2002). Algunos aminoácidos, como el ácido aspártico, la glutamina y la asparagina, en árboles de cereza (Grassi *et al.*, 2002) y de manzano (Malaguti *et al.*, 2001) constituyeron la mayor parte del N transportado en la savia del xilema poco después del inicio de la brotación. El ligero aumento del NS en ambas especies de árboles, durante el mes de octubre (Figura 2), se asoció con la hidrólisis de las proteínas de las hojas durante su periodo de envejecimiento, fenómeno que ocurre para que el N sea transportado a los tejidos de almacenamiento (Rufat y DeJong, 2001; Grassi *et al.*, 2002).

En el presente estudio, la mayor parte del NS estuvo constituido por proteínas solubles, pigmentos nitrogenados, aminoácidos y amidas, ya que los análisis indican que sólo una pequeña fracción del NS estuvo compuesta por nitrato y amonio. En almendro, el amonio más el nitrato constituyeron menos del 7% del NS y, en nectarina, esta fracción representó menos del 2% (Figura 2). Es de esperarse que si las muestras foliares se hubieran secado por liofilización, entonces

el contenido de NS hubiera sido mayor, ya que se ha detectado una disminución hasta de 40% del NS en muestras foliares secadas en la estufa (Burns *et al.*, 1966). Sin embargo, estas pérdidas ocurrieron de manera proporcional en todas las muestras y, por lo tanto, los valores son comparables entre ellas.

Las concentraciones del amonio en las hojas de almendro y nectarina fueron relativamente bajas (menos del 7 % del NS) y la concentración más alta se obtuvo en el primer muestreo realizado en el mes de abril (Figura 2). El amonio de las hojas se genera por cuatro procesos: (1) la reducción del nitrato transportado desde las raíces; (2) la transformación de la asparagina en aspartato más amoníaco en las hojas jóvenes; (3) el catabolismo de aminoácidos y la síntesis de lignina en el tejido senescente y (4) la conversión de glicina a serina durante la fotorespiración (Lea *et al.*, 1992; Hodges, 2002). Puesto que el inicio de la brotación depende del N almacenado durante el invierno y que el nitrato absorbido por las raíces en el mismo año se detecta en las hojas tres semanas después del inicio de la brotación (Grassi *et al.*, 2002), se deduce que el alto contenido de amonio encontrado en las hojas jóvenes

en esta ocasión se debe a las transformaciones de los compuestos aminorados en las hojas jóvenes.

En el presente estudio se observó que todas las fracciones de N fueron capaces de discriminar los dos tratamientos de fertilización nitrogenada durante la mayor parte del año, pero se debe considerar que las concentraciones foliares de amonio y nitrato fueron bajas y, por lo tanto, más difíciles de analizar que el NT y el NS, esto se reflejó en la mayor magnitud de los errores estándar del amonio y del nitrato (Figura 2). En almendro, el NS; presentó su mayor periodo de estabilidad y sensibilidad (definida como capacidad discriminadora entre el testigo sin fertilizantes y el tratamiento fertilizado) entre junio y julio. En cambio, el NT presentó buena sensibilidad durante la mayor parte del año, al mismo tiempo que disminuyó constantemente, lo cual lo hace predecible. En nectarina, el NS fue sensible de junio a octubre, pero estable sólo en junio, y el NT se comportó de igual manera que en almendro. La sensibilidad y la consistencia en los cambios de concentración foliar del NT durante el año hacen que sea el indicador más confiable del estado nutricional de los árboles de almendro y nectarina. El NS también presentó buena sensibilidad, aunque sólo en las muestras colectadas en el mes de junio. En general, se ha considerado que los días finales de julio y principio de agosto es la época más propicia para realizar el muestreo de las hojas con el propósito de hacer un diagnóstico nutricional en árboles frutales de hojas caducifolias (Righetti *et al.*, 1990). Los resultados del presente estudio indican que el muestreo para NT puede extenderse de junio a octubre, siempre y cuando se establezcan los valores críticos para las diferentes fechas. Lo anterior se debe a que las hojas en ese periodo han alcanzado su máxima acumulación de materia seca y la concentración que se mide es un indicador del suministro de N que hace el suelo a la planta.

### Variación Diurna

En contraste con los árboles fertilizados, los no fertilizados mostraron una concentración más baja y relativamente estable de todas las fracciones de N durante todo el día (Figura 3). Debouba *et al.* (2006) observaron resultados similares en la actividad de las enzimas asimilatorias del N en plantas de tomate, cuando éstas crecieron con tratamientos de baja y alta disponibilidad de N en el medio de cultivo. En la Figura 3 también es notorio, que la variación diurna del NT

en las hojas de los árboles de ambas especies fue relativamente pequeña, comparada con las variaciones de los compuestos nitrogenados solubles, lo cual es de esperarse, ya que el nitrato, el amonio y los aminoácidos son compuestos nitrogenados en constante transformación en las hojas, y en cambio la mayor parte del NT representa a una fracción más estable como son las proteínas.

La variación diurna de nitrato en árboles de almendro fertilizados siguió una tendencia contraria a la del amonio y del NS (Figura 3). Esto indica que los incrementos de amonio fueron producto de la reducción del nitrato. Resultados similares se obtuvieron en experimentos con plantas de tabaco, en los que se demostró que, durante la primera parte del día, la asimilación del nitrato puede ser dos veces mayor que la cantidad de nitrato absorbido por las raíces, dando como resultado una acumulación del amonio y de aminoácidos en las hojas (Matt *et al.*, 2001). La dependencia de la luz para la reducción del nitrato en las hojas se demostró por Lea *et al.* (2006). La actividad más alta de la nitrato reductasa (la enzima que controla la reducción del nitrato) se ha observado en la primera parte del período de luz durante el día (Matt *et al.*, 2001) y la actividad de la glutamino sintetasa aumentó notoriamente en las hojas conforme el amonio fue producido por la reducción del nitrato (Matt *et al.*, 2001; Debouba *et al.*, 2006). Esto explica el porqué las mayores concentraciones de amonio y de NS se observaron después del medio día en los árboles de almendro y nectarina.

Comparando las dos especies de árboles se aprecia que los cambios diurnos de los compuestos nitrogenados fueron similares, pero menos marcados en los árboles de nectarina que en los de almendro (Figura 3). Si se consideran que el portainjerto de ambas especies fue el mismo (la variedad de durazno Nemaguard), las diferencias observadas fueron dependientes del injerto. Las nectarinas y los almendros son dos especies del mismo género, pero con diferencias fisiológicas que se reflejaron en las variaciones de los compuestos nitrogenados durante el año, durante el día y dentro de la copa de los árboles. Comparado con las variaciones durante el año, las variaciones diurnas de los compuestos nitrogenados solubles fueron relativamente pequeñas. Sin embargo, los valores de comparación de cualquier indicador del estado nutricional nitrogenado de los árboles se deben establecer en cierta hora definida del día. En este estudio se observó que la mayor

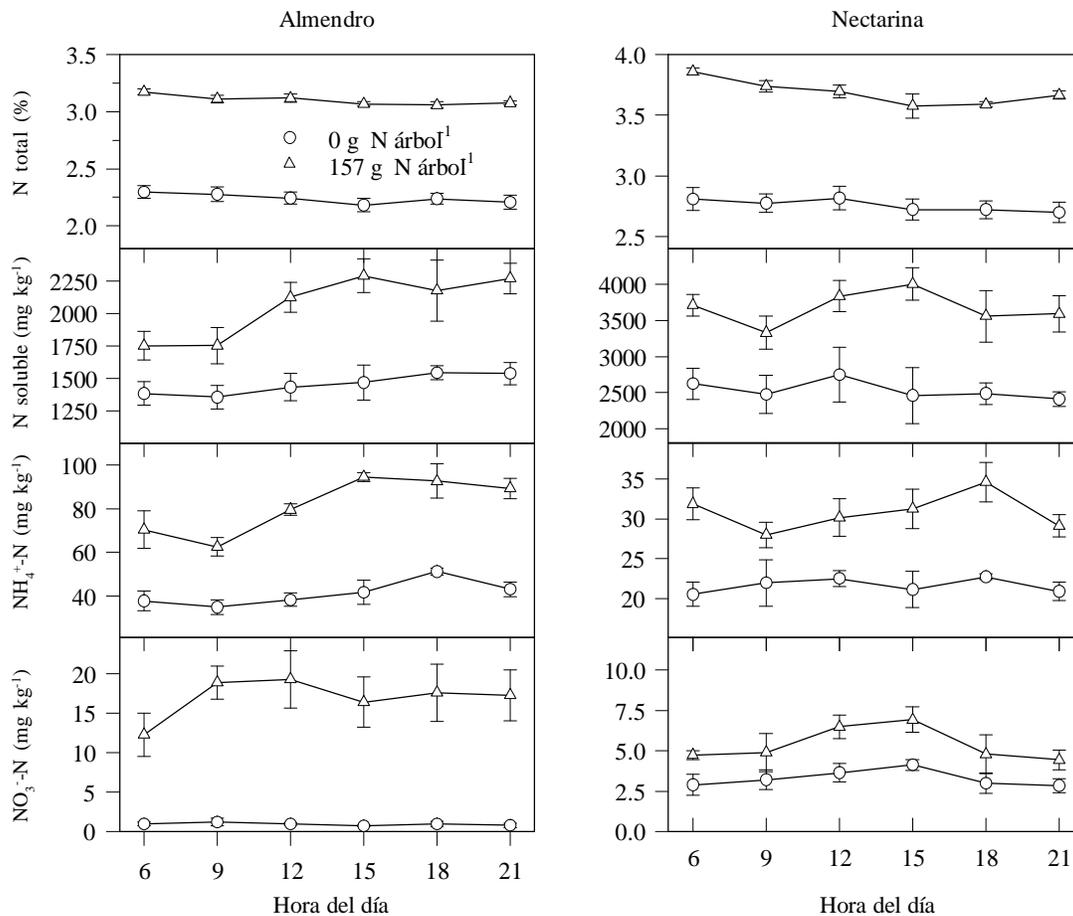


Figura 3. Variación diurna de la concentración foliar del nitrógeno total (NT), nitrógeno soluble (NS), amonio y nitrato en árboles de almendro y nectarina. Las barras verticales representan los errores estándar de las medias.

estabilidad y la máxima diferencia entre los árboles con y sin fertilizante se obtuvieron entre las 12:00 y las 21:00 h.

### Variación Dentro de la Copa de los Árboles

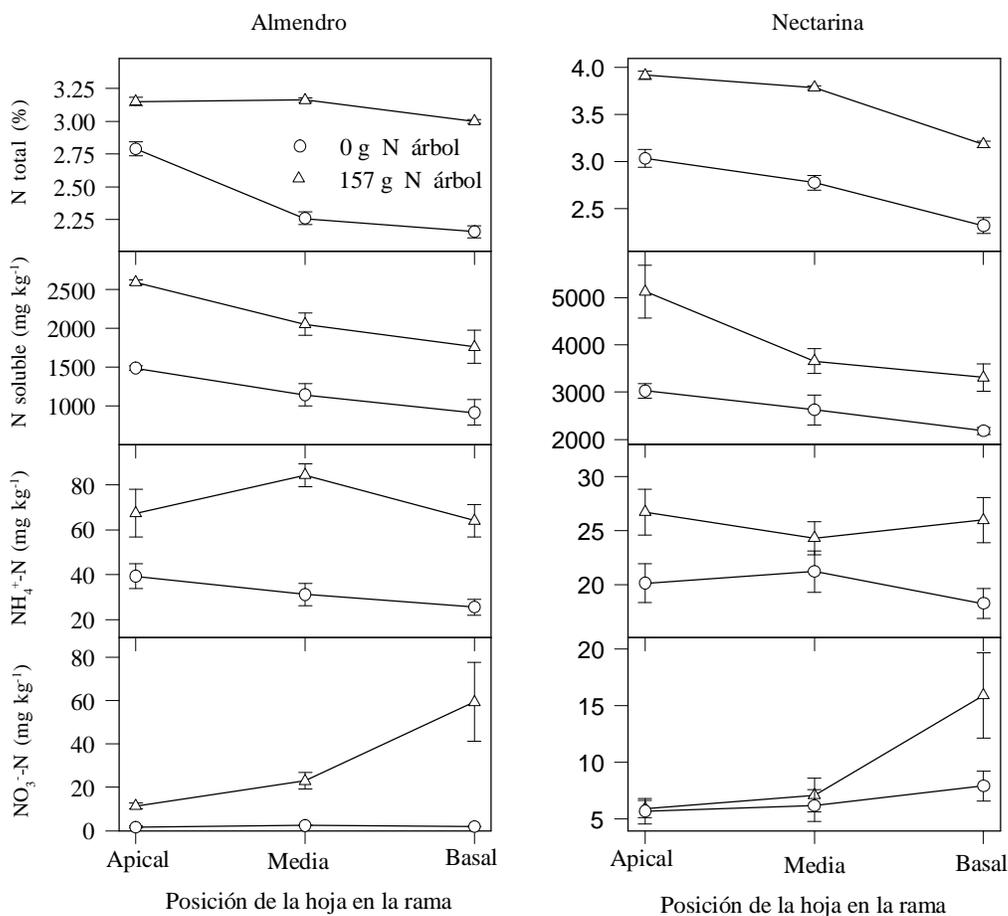
Se observó un aumento de la concentración del NT y NS de las hojas desde la posición basipétala dentro del árbol, hacia las hojas acropétalas en los árboles de almendro y nectarina con y sin fertilizante (Figura 4). Esta variación estuvo asociada con el grado de exposición de las hojas a la luz y a su edad. Las hojas apicales normalmente reciben más luz y son más jóvenes que las hojas de la base de los brotes anuales. Niinemets *et al.* (2004) encontraron que la concentración de N disminuía con la edad de las hojas debido a la translocación del N para la formación de nuevos tejidos. La influencia de la exposición de la luz sobre la distribución del N en las hojas dentro de la copa de los árboles se ha también demostrado en varias

especies de árboles de hojas caducas en clima templado (Weinbaum *et al.*, 1989; Sanchez y Righetti, 1990). La concentración de nitrato fue mayor en las hojas de la base que en las de la punta de las ramas de almendro y nectarina (Figura 4). Estos resultados coinciden con los de Siebrecht *et al.* (2003), quienes observaron que la asimilación de nitrato ocurre principalmente en las hojas jóvenes y que las hojas más viejas almacenan este compuesto nitrogenado. Las hojas jóvenes que están más expuestas a la luz en general tienen una actividad más alta de la nitrato reductasa que las hojas más viejas y, por consiguiente, mayor capacidad de reducción de nitrato a amonio (Chang *et al.*, 1981). Consecuentemente, esto indujo una mayor acumulación de nitrato en las hojas de la base de las ramas de las dos especies de árboles y también explica la ligera tendencia a disminuir la concentración de amonio en estas mismas hojas en los árboles de almendro.

La posición de las hojas que manifestó más ampliamente las diferencias del estado nutricional de los árboles varió de acuerdo con la fracción nitrogenada que se analizó (Figura 4). Las mayores diferencias de NT se observaron en las hojas ubicadas en la mitad de las ramas del último flujo de crecimiento de los almendros y nectarinas. Para NS del almendro las diferencias eran las mismas en las tres posiciones de las hojas, pero, en nectarina, las hojas apicales presentaron las mayores diferencias. Para el amonio del almendro, las hojas en la posición media de la rama fueron las más sensibles, pero, en nectarina, sólo las hojas de la punta y de la base presentaron diferencias significativas. Para el caso del nitrato, las hojas de la base de las ramas de ambas especies de árboles presentaron las máximas diferencias. En la Figura 4 se observa que el NT fue el indicador con los menores errores estándar en las tres posiciones de las hojas, lo cual le da ventaja sobre los demás indicadores. Tradicionalmente, se ha recomendado

que para fines de diagnóstico nutricional se deben muestrear las hojas ubicadas en la posición media de las ramas emitidas en el último año de crecimiento de los árboles de hojas caducifolias (Righetti *et al.*, 1990). Los resultados del presente estudio, respecto al NT, coinciden con esta recomendación.

Una observación general que se puede apreciar en las Figuras 2, 3 y 4, es que la variación de los diferentes compuestos nitrogenados entre los árboles que recibieron el mismo tratamiento de fertilización (expresada como el error estándar en las gráficas) fue relativamente más alta en los compuestos solubles que en el NT. En orden descendente, la variabilidad entre árboles con el mismo tratamiento fue: nitrato > amonio > NS > NT. Este orden es también el de la magnitud de las concentraciones de cada fracción nitrogenada en las hojas de los árboles de las dos especies. Esto indica que los compuestos nitrogenados solubles son indicadores muy sensibles del estado nutricional de los árboles, pero son compuestos



**Figura 4. Variación de la concentración foliar del nitrógeno total (NT), nitrógeno soluble (NS), amonio y nitrato dentro de la copa de los árboles de almendro y nectarina. Las barras verticales representan los errores estándar de las medias.**

en constante transformación, cuyas concentraciones en las hojas pueden ser fácilmente influenciadas por factores relacionados con el riego, la poda, la carga de frutos, el tamaño de los árboles, etc. Esta alta sensibilidad a factores relacionados con el manejo de la huerta causa variaciones temporales que los pone en desventaja al compararlos con indicadores más estables, como lo es la concentración de NT en las hojas.

### CONCLUSIONES

- Los resultados de este estudio demostraron que las concentraciones foliares de los compuestos nitrogenados solubles (amonio y nitrato) variaron en coordinación con la concentración de nitrógeno total (NT) durante el año, durante el día y dentro de la copa de los árboles.
- Estas variaciones estuvieron relacionadas con procesos fisiológicos de removilización del N durante la primavera, translocación del N de las hojas a los tejidos de reserva durante el otoño, dependencia de la luz para la asimilación del N en formas cada vez más estables, pasando por nitrato, amonio, aminoácidos y proteínas.
- Los resultados demostraron que los compuestos nitrogenados solubles presentes en las hojas de los árboles respondieron sensiblemente a las aplicaciones de N al suelo, pero presentaron una mayor variación que el NT entre los árboles que recibieron el mismo tratamiento de fertilización.
- Analizando en forma integral los resultados relacionados con la sensibilidad de los diferentes compuestos nitrogenados a las aplicaciones de N, la consistencia en sus cambios y la variabilidad entre árboles con el mismo tratamiento, se concluyó que el NT fue el mejor indicador en árboles de almendro y nectarina.
- La variabilidad del NT durante el año, durante el día y dentro del dosel del árbol indica que el diagnóstico nutricional, utilizando NT como indicador, se puede hacer de junio a octubre; para ello se deben muestrear por la mañana las hojas del centro de las ramas emitidas durante el último año de crecimiento de los árboles de almendro y nectarina.

### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Departamento de Alimentación y Agricultura de California por el financiamiento de este proyecto a través del Programa de Investigación en Fertilizantes y Educación.

### LITERATURA CITADA

- Balsberg, P. A. M. 1992. Influence of nitrogen fertilization on minerals, carbohydrates, amino acids and phenolic compounds in beech (*Fagus sylvatica* L.) leaves. *Tree Physiol.* 10: 93-100.
- Burns, J. C., C. H. Noller, and C. J. Rhykeerd. 1966. Influence of drying method and fertility treatments on the total and water soluble nitrogen contents of alfalfa. *Agron. J.* 58: 13-15.
- Carlson, R. M. 1978. Automated separation and conductimetric determination of ammonia and dissolved carbon dioxide. *Anal. Chem.* 50: 1928-1931.
- Carlson, R. M., R. I. Cabrera, J. L. Paul, J. Quick, and R. Y. Evans. 1990. Rapid direct determination of ammonium and nitrate in soil and plant tissue extracts. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.* 21: 1519-1529.
- Chang, N. K., H. M. Vines, and C. C. Black. 1981. Nitrate assimilation and crassulacean acid metabolism in leaves of *Kalanchoë fedtschenkoi* variety marginata. *Plant Physiol.* 68: 464-468.
- Debouba, M., H. Gouia, M. H. Valadier, M. H. Ghorbel, and A. Suzuki. 2006. Salinity-induced tissue-specific diurnal changes in nitrogen assimilatory enzymes in tomato seedlings grown under high or low nitrate medium. *Plant Physiol. Biochem.* 44: 409-419.
- DeJong, T. M., K. R. Day, and R. S. Johnson. 1989. Partitioning of leaf nitrogen with respect to within canopy light exposure and nitrogen availability in peach (*Prunus persica*). *Trees* 3: 89-95.
- Demotes-Mainard, S., R. Boumaza, S. Meyer, and Z. G. Cerovic. 2008. Indicators of nitrogen status for ornamental woody plants based on optical measurements of leaf epidermal polyphenol and chlorophyll contents. *Sci. Hortic.* 115: 377-385.
- FAO (Food and Agriculture Organization). 2008. Current world fertilizer trends and outlook to 2011/12. <ftp://ftp.fao.org/agl/agll/docs/cwft011.pdf>. (Consulta: abril de 2008).
- Fotelli, M. N., M. Nahm, A. Heidenfelder, H. Papen, H. Rennenberg, and A. Gebler. 2002. Soluble nonprotein nitrogen compounds indicate changes in the nitrogen status of beech seedlings due to climate and thinning. *New Phytol.* 154: 85-97.
- Gebler, A. and H. Rennenberg. 2000. The effect of liming on the soluble nitrogen pool in Norway spruce (*Picea abies*) exposed to high loads of nitrogen. *Phyton* 40: 51-64.
- Grassi, G., P. Millard, R. Wendler, G. Minotta, and M. Tagliavin. 2002. Measurement of xylem sap amino acid concentration in conjunction with whole tree transpiration estimates spring N remobilization by cherry (*Prunus avium* L.) trees. *Plant Cell Environ.* 25: 1689-1699.
- Grossman, Y. L. and T. M. DeJong. 1995. Maximum vegetative growth potential and seasonal patterns of resource dynamics during peach growth. *Ann. Bot.* 76: 473-482.
- Hodges, M. 2002. Enzyme redundancy and the importance of 2-oxoglutarate in plant ammonium assimilation. *J. Exp. Bot.* 53: 905-916.
- Johnson, R. S., M. F. Gordon, and C. H. Crisosto. 1995. Nitrogen fertilization on Fantasia nectarine: a 12 year study. *UC Kearney Tree Fruit. Rev.* 1: 9-14.
- Lea, P. J., R. D. Blackwell, and K. W. Joy. 1992. Ammonia assimilation in higher plants. pp. 154-186. *In: K. Mengel and D. J. Pilbeam (eds.). Nitrogen metabolism of plants.* Oxford University Press. New York, NY, USA.

- Lea, U. S., M. T. Leydecker, I. Quillere, C. Meyer, and C. Lillo. 2006. Posttranslational regulation of nitrate reductase strongly affects the levels of free amino acids and nitrate, whereas transcriptional regulation has only minor influence. *Plant Physiol.* 140: 1085-1094.
- Malaguti, D., P. Millard, R. Wendler, A. Hepburn, and M. Tagliavini. 2001. Translocation of amino acids in the xylem of apple (*Malus domestica* Borkh) trees in spring as a consequence of both N remobilization and root uptake. *J. Exp. Bot.* 52: 1665-1671.
- Matt, P., M. Geiger, P. Walch-Liu, C. Engels, A. Krapp, and M. Stitt. 2001. The immediate cause of the diurnal changes of nitrogen metabolism in leaves of nitrate-replete tobacco: a major imbalance between the rate of nitrate reduction and the rates of nitrate uptake and ammonium metabolism during the first part of the light period. *Plant Cell Environ.* 24: 177-190.
- Niinemets, U., O. Kull, and J. D. Tenhunen. 2004. Within canopy variation in the rate of development of photosynthetic capacity is proportional to integrated quantum flux density in temperate deciduous trees. *Plant Cell Environ.* 27: 293-313.
- Prasad, M. and I. C. Ravenwood. 1986. Evaluation of a rapid sap nitrate test for young kiwifruit vines. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 17: 829-837.
- Righetti, T. L., K. L. Wilder, and G. A. Cummings. 1990. Plant analysis as an aid in fertilizing orchards. pp. 563-601. *In*: R. L. Westerman (ed.). *Soil testing and plant analysis*. 3<sup>rd</sup> ed. SSSA Book Series 3. Soil Science Society of America. Madison, WI, USA.
- Roberts, H. M., H. M. Reisenauer, and R. M. Carlson. 1980. Determination of ammonium, amides and soluble carboxylates in plant tissues. *J. Plant Nutr.* 2: 395-405.
- Rufat, J. and T. M DeJong. 2001. Estimating seasonal nitrogen dynamics in peach trees in response to nitrogen availability. *Tree Physiol.* 21: 1133-1140.
- Sanchez, E. E. and T. L. Righetti. 1990. Tree nitrogen status and leaf canopy position influence postharvest nitrogen accumulation and efflux from pear leaves. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 115: 934-937.
- SAS Institute. 1988. SAS-STAT user's guide. Release 6.03. SAS Institute. Cary, NC, USA.
- Siebrecht, S., K. Herdel, U. Schur, and R. Tischner. 2003. Nutrient translocation in the xylem of poplar diurnal variations and spatial distribution along the shoot axis. *Planta* 217: 783-793.
- Stassen P. J. C., J. H. Terblanche, and D. K. Strydom. 1981. The effect of time and rate of nitrogen application on development and composition of peach trees. *Agroplanta* 13: 55-61.
- Taylor, B. K. and L. L. H. May. 1967. The nitrogen nutrition of the peach tree. II. Storage and mobilization of nitrogen in young trees. *Aust. J. Biol. Sci.* 20: 389-411.
- Taylor B. K. and B. van den Ende. 1969. The nitrogen nutrition of the peach tree. IV. Storage and mobilization of N in mature trees. *Aust. J. Agric. Res.* 20: 869-881.
- United States Department of Agriculture-Natural Resources Conservation Service (USDA-NRCS). 2002. *National Survey Handbook*. US Department of Agriculture. Washington, DC, USA.
- Weinbaum, S. A., S. M. Southwick, K. A. Shackel, T. T. Muraoka, W. Krueger, and J. T. Yeager. 1989. Photosynthetic photon flux influences macroelement weight and leaf dry weight per unit leaf area in prune tree canopy. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 114: 720-723.