



Universidad Nacional del Nordeste



Facultad de Ciencias Agrarias

Trabajo Final de Graduación

Modalidad Tesina

**Determinación de Nitrógeno en hojas y en cáscaras de
frutos de mandarina Nova y Tangor Murcott**

Alumno: Fabricio Rubén Favero.

Asesor: Ing. Agr. (Mgter.) María de las M. Yfran Elvira.

Lugar de Trabajo: Cátedra de Química Analítica y Agrícola.

-Año 2017-

ÍNDICE

RESUMEN.....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
Función del nitrógeno en la planta.....	4
Translocación de nitrógeno.....	5
Remoción de nutrimentos por el fruto	5
Análisis de tejido foliar	6
OBJETIVOS	8
MATERIALES Y METODOS	8
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	9
CONCLUSIONES.....	12
BIBLIOGRAFÍA	13

RESUMEN

El estudio se realizó en un cultivo comercial de mandarino Nova [*Citrus clementina* Host. x *Tangelo Orlando* (*Citrus reticulata*, Blanco x *Citrus paradisi*, Macf)] de 13 años y Tangor Murcott (Híbrido entre mandarino y naranja) de 15 años, injertadas sobre trifolio (*Poncirus trifoliata* Raf).

Se evaluó el efecto de dos tratamientos de fertilización sobre el contenido de nitrógeno en muestras foliares y de cáscaras de frutos, comparados con el testigo.

Los tratamientos fueron: T1: Testigo (sin aplicación); T2: 125 kg de nitrato de calcio ha⁻¹; T3: 250 kg de nitrato de calcio ha⁻¹.

Se trabajó con un diseño experimental de bloques completos al azar con cuatro repeticiones, utilizando una parcela experimental de cuatro plantas, evaluándose las dos centrales.

Los resultados obtenidos en el rendimiento de Nova y Murcott fueron afectados positivamente por la aplicación de nitrato de calcio. Sin obtener diferencias significativas entre el contenido de nitrógeno hallado en cáscara y foliar entre tratamientos para las especies.

INTRODUCCIÓN

La mayoría de las especies vegetales necesitan sólo elementos químicos simples y energía solar para sintetizar compuestos orgánicos complejos, que formarán las distintas estructuras vegetales (Montaldi, 1995).

Los elementos químicos se hallan en cinco formas diferentes (Montaldi, 1995), que son las siguientes:

1. Iónica, en la solución edáfica.
2. Iónica, adsorbida en el complejo de cambio (arcillas, compuestos húmicos).
3. Como parte de compuestos inorgánicos, de fácil descomposición.
4. En la estructura de minerales muy estables y en la materia orgánica.
5. En la microflora y microfauna del suelo.

Los tres últimos estados sólo se hacen disponibles para su absorción por raíces cuando se desintegran las estructuras donde son retenidos. Los elementos disponibles de manera inmediata para la planta son los dos primeros: aquellos que se hallan libres en la solución del suelo y los adsorbidos en los coloides del suelo. Los aniones y cationes de la solución se van reponiendo, a una velocidad que depende de varios factores, tales como el gradiente de concentración, potencial agua, pH, etc (Montaldi, 1995).

Es de importancia señalar que las distintas plantas poseen diferentes capacidades para la absorción de los iones del suelo. Esta característica entre las especies y cultivares depende del genotipo de las mismas (Montaldi, 1995).

Los procesos de amonificación y nitrificación convierten al nitrógeno (N) orgánico de plantas y animales muertos en compuestos inorgánicos que las plantas pueden utilizar, es fundamental el movimiento del N desde el suelo a la planta y viceversa. Este ciclo de reutilización es el que mantiene a la Tierra verde y habitable (Cairns, 1997).

El N es uno de los elementos más abundante sobre la tierra, no obstante, es un factor limitante de la producción primaria vegetal (Montaldi, 1995).

Las plantas pueden absorber N como nitrato (NO_3^-) o amonio (NH_4^+). Como en la mayoría de los suelos las condiciones permiten la acción de las bacterias nitrificantes, normalmente la mayoría de los cultivos absorben la mayor parte del N como NO_3^- .

(Agusti 2010). Los cítricos utilizan el N mayormente en forma de nitrato, aunque también usan en menor cantidad en forma de amonio (Palacios, 2005).

Función del nitrógeno en la planta

El N cumple funciones vitales en los seres vivos, encontrándose dentro de las plantas tanto en formas orgánicas como inorgánicas. Estas últimas son en realidad de escasa magnitud, estando la mayoría como NO_3^- , única forma inorgánica capaz de ser almacenada. Por lo tanto, dentro de la planta la mayoría del N se encuentra en forma orgánica. Este nutriente juega un rol esencial en el crecimiento del vegetal, ya que es constituyente de moléculas como: i) clorofila; ii) aminoácidos; iii) proteínas; iv) enzimas; v) nucleoproteínas; vi) hormonas; vii) trifosfato de adenosina (ATP). Además, el N es esencial en muchos procesos metabólicos como, por ejemplo, la utilización de los carbohidratos (Palacios, 2005).

El nitrógeno integra las proteínas, ácidos nucleicos y numerosos productos secundarios que son básicos para el crecimiento y desarrollo del cultivo. Se absorbe del suelo como NO_3^- y NH_4^+ y es un nutriente móvil dentro del vegetal. Aún como NO_3^- se traslada en el xilema, pero no lo hace por floema y puede acumularse en las vacuolas, donde suele actuar como regulador osmótico. Para incorporarse al metabolismo necesita ser reducido a amonio. En forma de NH_4^+ debe ser incorporado rápidamente a moléculas orgánicas en las raíces, pues es tóxico cuando se acumula (Montaldi, 1995).

La mayor parte del N de las frutas y de las hojas de los árboles proviene de sus reservas (Palacios, 2005).

Es necesario tener un programa anual de fertilización con N para asegurar la productividad a largo plazo, de esta forma se repone el N que se extrae al cosechar la fruta (Palacios, 2005).

En la región NEA, dentro del grupo denominado mandarinas híbridas, Nova ha logrado ocupar un lugar destacado. Presenta una fruta de tamaño mediano, que madura a principios de mayo, con buen color, de textura firme, sin semillas y de sabor equilibrado y agradable. Por su parte, los Tangors son híbridos obtenidos del cruzamiento entre mandarina (*Citrus reticulata*) y naranja dulce (*C. sinensis*). El fruto de Murcott es achatado de tamaño mediano, piel de color amarillo a naranja profundo y brillante, contiene abundante jugo de color rojizo-anaranjado, con alto contenido de sólidos solubles y sabor dulce-subácido (Agusti, 2010).

Translocación de nitrógeno

Dentro de la planta el N es un nutriente muy móvil, por lo cual lo puede redistribuir o translocar. A medida que el cultivo envejece, parte del N de las áreas vegetativas se mueve hacia las fructíferas. Este proceso ocurre en forma independiente de la magnitud del suministro del N que el cultivo esté recibiendo desde el suelo (Palacios, 2005).

En 1883 el investigador Danés Johann Kjeldahl desarrolló el método más usado en la actualidad para el análisis de proteínas (Méndez, 2012) mediante la determinación del nitrógeno orgánico. En esta técnica se digieren las proteínas y otros componentes orgánicos de los alimentos en una mezcla con ácido sulfúrico en presencia de catalizadores. El nitrógeno orgánico total se convierte mediante esta digestión en sulfato de amonio. La mezcla digerida se neutraliza con una base y se destila posteriormente. El destilado se recoge en una solución de ácido bórico. Los aniones del borato así formado se titulan con HCl (o H_2SO_4) estandarizado para determinar el nitrógeno contenido en la muestra (Santiago, 2011; Kalra, 1998; Walinga *et al.*, 1995).

El rendimiento de los árboles de cítricos está regulado principalmente por el suplemento de nitrógeno ya que su disponibilidad afecta la fotosíntesis y la producción de carbohidratos, el peso específico de las hojas y la ubicación de carbono en las diferentes partes de los árboles (Matto, *et al.*, 2005).

Remoción de nutrimentos por el fruto

Los cítricos absorben nutrientes durante todo el año, pero la absorción es más acentuada durante las etapas de floración y formación de fruta. El calcio (Ca) es el elemento más abundante en las partes vegetativas de la planta, seguido por el nitrógeno (N), potasio (K), magnesio (Mg), azufre (S) y fósforo (P). Sin embargo, el N y el K son los más abundantes en el fruto. Cerca del 30% del N total en la planta y el 70% del K se localizan en el fruto. Una de las formas prácticas de determinar los requerimientos nutricionales de los cítricos es mediante el cálculo de la remoción de nutrientes en los frutos cosechados. Es decir, los nutrientes que salen definitivamente del campo en la parte de la planta que es comercializada. La absorción de nutrientes depende de varios factores, entre los que se pueden mencionar la variedad, clima, suelo, edad de la planta y nivel de rendimiento (Molina, 1999) (Tabla 1).

Tabla 1: Remoción de nutrientes por hectárea en el fruto de la naranja según Molina, 1999.

Nutriente	Remoción (kg.ha ⁻¹)
N	60
P	12,3 P ; 28,2 P ₂ O ₅
K	96 K ⁺ ; 114,7 K ₂ O
Ca ⁺²	25,6
Mg ⁺²	11,6
S	4,8

Suarez García, 2011, evaluó el efecto de fertilizaciones crecientes de N (88, 166, 250 y 280 kg ha⁻¹ de N) sobre el contenido de nutrientes N, P, K, Ca y Mg en tejido foliar, cáscara, semillas, pulpa y pedúnculo de naranja Valencia. En el caso del nitrógeno, el porcentaje promedio de acumulación en las semillas (2,1%) fue estadísticamente superior al promedio de acumulación en las hojas (1,94%) y estos fueron diferentes a los porcentajes de acumulación en la pulpa, cáscara y pedúnculo (0,88, 0,85 y 0,96, respectivamente), los cuales fueron estadísticamente similares.

Análisis de tejido foliar

Un análisis de tejido foliar ayuda a monitorear las necesidades del cultivo durante los períodos más importante del ciclo de crecimiento. Estos análisis temporales si se efectúan en la misma fase de crecimiento, ayudarán en construir una imagen clara de la situación nutritiva y las necesidades, lo que subrayará donde se tiene que hacer ajustes al programa de fertilización actual (Malavolta, 1993).

El análisis foliar, junto con la información del análisis de suelos, es una de las mejores herramientas para evaluar el estado nutricional de los cítricos y para orientar los programas de fertilización (Suarez García, 2011).

En mayor o en menor grado, todas las partes verdes de los citrus son capaces de absorber nutrientes tales como fosfatos y nitratos, sin embargo las hojas jóvenes son las más activas. Se ha demostrado que las hojas de los vegetales absorben N en

cantidades apreciables y en algunos casos con gran velocidad. En citrus, aproximadamente un 30 % del N aplicado como urea vía foliar es absorbido en 2 horas, y todo el fertilizante se absorbe completamente en poco más de un día. (Hernández y Vinciguerra, 2006). Estos mismos autores llevaron a cabo una experiencia local en Tucumán con el objetivo de determinar la influencia de diferentes dosis de N sobre la producción, el crecimiento vegetal y concentración de N foliar en limoneros. Se ensayaron seis alternativas de aplicación del N que incluyen tres tratamientos foliares y tres al suelo, en diferentes dosis y épocas de aplicación, obteniéndose resultados significativos en el rendimiento, no pudiendo observarse lo mismo en la concentración foliar.

Alayón Luaces *et al.*, (2014) evaluaron el efecto de diferentes dosis y combinaciones de fertilizantes foliares a base de nitrógeno, en tangor Murcott. El efecto de los tratamientos sobre el contenido de N foliar no presentó diferencias significativas.

OBJETIVOS

- Adquirir destreza en la recepción, acondicionamiento y procesamiento de las muestras de hojas y cáscara de frutos para su análisis.
- Adiestramiento en la determinación de nitrógeno por el Método de Kjeldahl.
- Evaluar los contenidos de nitrógeno foliar y en cáscara de los frutos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó con muestras provenientes de ensayos de investigación realizados en San Lorenzo (Departamento de Saladas), y en Mburucuyá (Dpto Mburucuyá) Corrientes - Argentina, en lotes comerciales de mandarino Nova [*Citrus clementina* Host. x Tangelo Orlando (*Citrus reticulata*, Blanco x *Citrus paradisi*, Macf)] de 13 años y Tangor Murcott (Híbrido entre mandarino y naranja) de 15 años, injertadas sobre trifolio (*Poncirus trifoliata* Raf.), implantadas en un suelo franco y densidades de 416 y 555 plantas ha⁻¹ respectivamente.

Se probaron los siguientes tratamientos: 1: Testigo (sin aplicación); 2: 125 kg de nitrato de calcio ha⁻¹; 3: 250 kg de nitrato de calcio ha⁻¹, realizando la aplicación al suelo a vuelo de copa. Para evaluar el contenido de N foliar se tomaron en el mes de marzo muestras de hojas de rama fructíferas, en cada una de las plantas evaluadas para cada tratamiento. En el momento de la cosecha se tomaron muestras al azar de 20 frutos por parcela. Las muestras foliares y de cáscaras se desecaron en estufa a 60-65°C hasta peso constante y fueron molidas en molinillo, en las que se determinaron las concentraciones de nitrógeno, por el método de Kjeldhal (Kalra, 1998).

Se trabajó con un diseño experimental de bloques completos al azar con cuatro repeticiones, utilizando una parcela experimental de cuatro plantas, evaluándose las dos centrales.

Los datos obtenidos fueron sometidos a las pruebas de normalidad mediante prueba de bondad de ajuste con el estadístico Shapiro-Wilks modificado ($p < 0,05$) y se analizaron estadísticamente mediante ANOVA y prueba de Duncan ($p < 0,05$) utilizando el software Infostat (Di Rienzo, 2015).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este trabajo se determina el contenido de Nitrógeno foliar y en cáscaras de los frutos de mandarinas Nova y Tangor Murcott, ante el efecto de la aplicación de nitrato de calcio ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$) con el objeto de evaluar cuánto del N foliar es destinado al fruto.

En la figura 1 se presentan los resultados del contenido de N en cáscara y hojas de Mandarino NOVA para los tres tratamientos evaluados.

Los niveles de N fueron los normales esperados para esta especie y cultivar, y no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos.

Se observa que el porcentaje promedio de acumulación de N en las hojas de mandarino Nova fue superior al promedio de acumulación en cáscara de los frutos. Resultados que coinciden con Suarez García (2011), quién evaluando dosis crecientes de nitrógeno en naranja Valencia tampoco encontró diferencias significativas entre tratamientos.

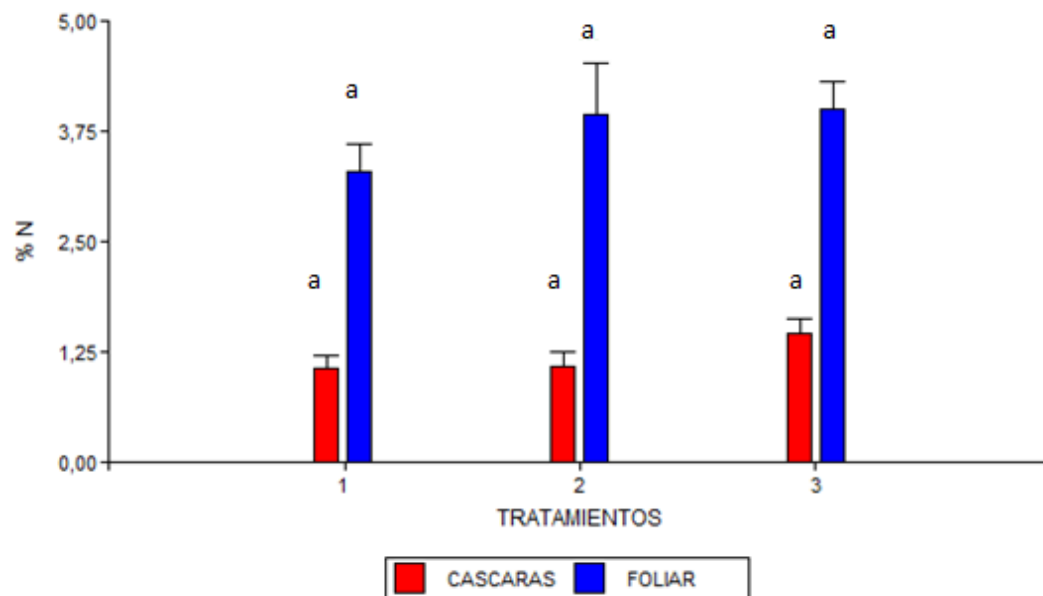


Figura 1: Porcentaje de Nitrógeno Foliar y en Cáscaras de Mandarino Nova.

Los valores representan la media de cuatro repeticiones. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (Test de Duncan, $p < 0,05$; $a > b > c$; $n=4$).

En la figura 2 se presentan los resultados del contenido de N en cáscara y hojas de Mandarino Murcott para los tres tratamientos evaluados.

Se observa que el porcentaje de nitrógeno en cáscara del tratamiento 2 fue superior al promedio de acumulación del resto de los tratamientos. Sin obtener resultados significativos entre el contenido de nitrógeno hallado en cáscara y foliar entre tratamientos. Resultados que coinciden con lo obtenido por Alayón Luaces *et al.*, (2014), al determinar el contenido de N foliar en Tangor Murcott, no se encontró diferencias significativas entre las aplicaciones.

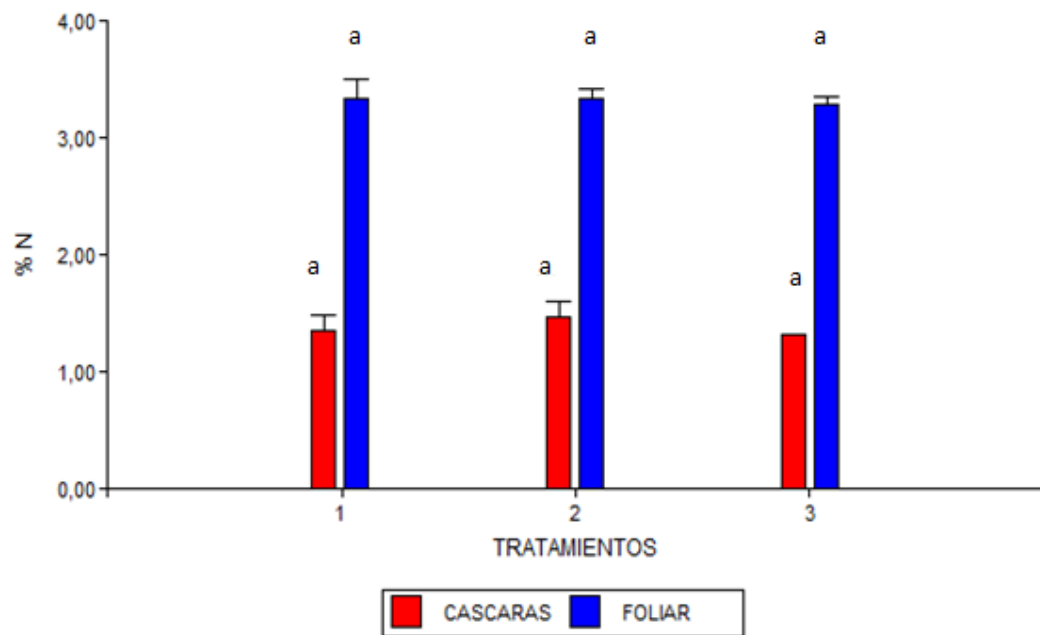


Figura 2: Porcentaje de Nitrógeno Foliar y en Cáscaras de Mandarin Murcott.

Los valores representan la media de cuatro repeticiones. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (Test de Duncan, $p < 0,05$; $a > b > c$; $n=4$).

El estudio llevado a cabo en las especies comparadas con otro cítrico como ser limonero en un trabajo realizado en Tucumán por Hernández y Vinciguerra (2006) también se obtuvieron valores similares al contenido de nitrógeno foliar.

Molina (1999) menciona que porcentajes menores de nitrógeno en las hojas al 2.2% generan árboles de naranja Valencia con deficiencias nutricionales, por lo cual se justifica la aplicación de mayores tasas de fertilización nitrogenada en este tipo de huerto, permitiendo hacer un ajuste a los actuales esquemas de fertilización. Teniendo en cuenta esto, nuestros lotes testigo se encuentran bien provistos de nitrógeno, no se recomendaría una aplicación.

Nuestros resultados indican que se remueve entre un 30 y 40% de N contenido en las hojas a la cáscara de los frutos de mandarino Nova y Murcott.

El rendimiento de Nova y Murcott fue afectado positivamente por la aplicación de nitrato de calcio (Tabla 2). La productividad en Kg de frutos por planta fue mayor en todas las plantas que recibieron aplicación en comparación con el testigo. El rendimiento en las plantas de mandarinas Nova y Murcott con aporte de nitrógeno presentó respectivamente un 40 y 20 % de rendimiento superiores al testigo. Resultados similares encontraron Mattos *et al.*, 2005 en naranjo Valencia, a mayor dosis de N mayor producción total, debido a mayor número de frutos por árbol, pero de menor tamaño.

TABLA 2: Producción de frutos de Mandarina Nova y Murcott tratados con fertilizante nitrato de calcio, Test de Duncan, $p < 0,05$; $a > b > c$; $n=4$

Tratamientos	Cosecha Nova (kg planta ⁻¹)	Cosecha Murcott (Kg planta ⁻¹)
Testigo	74,5 a	60,7 a
T2: 125 kg (NO ₃) ₂ Ca ha ⁻¹	101,0 ab	75,2 b
T3: 250 kg (NO ₃) ₂ Ca ha ⁻¹	105,5 b	74,5 b

Los valores representan la media de cuatro repeticiones. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos.

CONCLUSIONES

Los niveles de fertilización empleados no tuvieron un efecto significativo sobre el patrón de acumulación de los nutrientes en los tejidos de cáscaras ni en los foliares, de mandarinas Nova y Murcott, sin embargo aumento significativamente la producción total por planta.

Los diferentes tejidos extrajeron el N en proporciones similares cuando los árboles fueron fertilizados de forma diferente.

BIBLIOGRAFÍA

- Agustí, M. Fruticultura. Segunda Edición, Madrid España, Ediciones Mundi Prens, 2010, 507 pp, ISBN 978-84-8476-398-7.
- Alayón Luaces, P., Rodríguez V., Chabbal, M., Píccoli, A., Giménez, L., Martínez G. (2014). Fertilización foliar con macronutrientes a plantas de naranja Valencia late (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) y tangor Murcott (*Citrus reticulata* Blanco x *Citrus sinensis* (L.) Osbeck). Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo.
- Cairns.1997. American Rose. La importancia del nitrógeno en el crecimiento de rosales sanos. <http://www.rosicultura.org.ar/Nitrogeno.htm> Acceso 8/05/16.
- Di Rienzo, J; F Casanoves; M Balzarini; L Gonzalez. M Tablada & C Robledo. 2015. InfoStat versión 2014. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional del Nordeste, Argentina. Acceso: diciembre 2015. URL <http://www.infostat.com.ar>
- Hernández, C., Vinciguerra, H.2006. Fertilización Foliar con Urea en Limoneros. *Estación Experimental Agroindustrial, Obispo Colombres, Tucumán*
http://www.mag.go.cr/congreso_agronomico_xi/a50-6907-III_291.pdf. Acceso 30/10/16.
- Kalra, P.Y. 1998. Handbook of Reference Methods for Plant Analysis. CRC Press. USA. 300 pp.
- Malavolta. 1993. Análisis de suelo y follaje. <http://www.yara.com.gt/crop-nutrition/crops/cafe/informacion-esencial/analisis-foliar-y-de-suelo/>. Acceso 03/10/16.
- Matto, D., Quaggio, J.A., Cantarella, H 2005. Efecto de la fertilización con nitrógeno y potasio en el rendimiento y la calidad de los cítricos.
- Méndez Ángela. 2012. Método Kjeldahl. <http://quimica.laguia2000.com/quimica-organica/quimica-analitica/metodo-kjeldahl>. Acceso 8/05/16.
- Molina, Eloy (1999), Fertilización y Nutrición de Naranja en Costa Rica, en: San José, Costa Rica: Universidad de Costa Rica.
- Montaldi, E R.1995. Principio de la Fisiología Vegetal. Ediciones SUR 60. N° 226. 115-153. p297.

- Palacios, J. 2005. Citricultura. Buenos Aires: Editorial Hemisferio Sur. 518 pp. ISBN: 987-43-8326-7. .
- Santiago F. 2011. Engineering Department. <http://www.grupo-selecta.com/notasdeaplicaciones/analisis-alimentarios-y-de-aguas-nutritional-and-water-analysis/determinacion-de-proteinas-por-el-metodo-de-kjeldahl-kjeldahl-method-for-protein-determination/> Acceso 13/05/16.
- Suarez García G. 2011. Extracción de nutrientes por cosecha de cultivo de naranja (*Citrus sinensis*) variedad Valencia en condiciones del Valle Del Cauca. Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ciencias Agropecuarias Escuela de Posgrados.
- Walinga, I., Van Der Lee, J.J., Houba, V.J.G., Van Vark, W. and Novo-Zamsky, I. 1995. Plant analysis manual. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 253p.