

# **UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA**

Departamento de Producción Vegetal

## **Estudio de la absorción y translocación del nitrógeno en cítricos en función del aporte estacional del abono nitrogenado, mediante la técnica de dilución isotópica**

MEMORIA PRESENTADA POR:

Belén Martínez Alcántara

Para optar al grado de  
DOCTORA INGENIERA AGRÓNOMA

DIRECTORES:

Dr. Francisco Legaz Paredes  
Dra. Ana Quiñones Oliver

TUTOR ACADÉMICO:

Dr. Bernardo Pascual España

Valencia, 2010



D. Francisco Legaz Paredes, Dr. en Ciencias Biológicas, Investigador Principal del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias y D<sup>a</sup> Ana Quiñones Oliver, Dra. Ingeniera Agrónoma, Colaboradora Científica Adjunta del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias,

INFORMAN que,

D<sup>a</sup> Belén Martínez Alcántara, Ingeniera Agrónoma, ha realizado bajo nuestra dirección el trabajo que, con el título "Estudio de la absorción y translocación del nitrógeno en cítricos en función del aporte estacional del abono nitrogenado, mediante la técnica de dilución isotópica", presenta para optar al grado de Doctora Ingeniera Agrónoma.

Para que así conste a los efectos oportunos, firman el presente documento en Moncada a 9 de marzo de 2010.

Fdo. D. Francisco Legaz Paredes

Fdo. D<sup>a</sup> Ana Quiñones Oliver



**A mis padres...**



## **AGRADECIMIENTOS**

Antes de poner el punto final a este documento, me gustaría dejar constancia del apoyo recibido, que de forma directa o indirecta tanto me ha ayudado en esta etapa, y del que sin duda me siento especialmente orgullosa.

En primer lugar, mi agradecimiento es para mis directores de tesis, el Dr. Francisco Legaz, por su dedicación, por ser ejemplo de minuciosidad y perfeccionismo, gracias por todo el tiempo dedicado; a la Dra. Ana Quiñones, por su apoyo durante estos años, por su continuo ánimo y ayudarme a ver siempre el lado positivo. Gracias por la confianza que depositasteis en mí, pero sobre todo, gracias por vuestro cariño.

Por supuesto, todo este trabajo no habría sido posible sin los compañeros del Departamento de Citricultura, gracias por vuestra ayuda en los interminables arranques y en el día a día. A Pepa, gracias porque desde el primer momento has velado por mí y lo sigues haciendo; a Tere, por tu ironía y múltiples refranes; a M<sup>a</sup> Carmen Prieto, por tu apoyo y comprensión y por los buenos momentos compartidos. A Bati, por la ayuda en el trabajo de campo. A Carmen Casamayor, por tu cariño tan especial. A M<sup>a</sup> José, *gràcies, huy, ara no m'enrecorde per què...* A M<sup>a</sup> Ángeles Forner, Almudena, Carmen González, Antonio Cano, M<sup>a</sup> Rus, Carolina, Juan, Carmen Montaña, Antonio Quijano, y en general a todo el Departamento, porque nunca me han faltado vuestros buenos consejos y continuas palabras de ánimo.

A Ángeles Calatayud, mi madrina de FIA, gracias por tu ayuda pero especialmente por tu apoyo e interés en todo momento. A Ramón Redondo, María de Castro y Fernando de la Rubia, por ser "el teléfono de la esperanza" en los momentos difíciles con la espectrometría de masas. A Emilio Carbonell y Jordi Pérez, por hacer "fácil" la estadística.

A mis amigos, muy especialmente a mis incondicionales, Carolina y María, que habéis seguido con interés cada uno de mis pasos, animándome continuamente, me siento muy afortunada. A Pablo, porque se que puedo contar contigo.

A Bosco, por tu infinita paciencia, por escucharme una y otra vez, por animarme siempre, aunque te lo haya puesto especialmente difícil este último año; y porque sí, sí que te lo imaginas...quién si no.

A mi familia. A Jose Luis, que has seguido semanalmente mi evolución. A mi hermano, porque siempre estás ahí. Y sobre todo, y muy especialmente, a mis padres, porque si he llegado a completar este proceso ha sido, sin duda, gracias a vosotros.





La verdadera ciencia enseña,  
por encima de todo,  
a dudar y a ser ignorante.

*Miguel de Unamuno*



## RESUMEN

Una fertilización nitrogenada racional debe contemplar no sólo el aporte de una dosis ajustada a las necesidades del cultivo, sino que a su vez debe considerar la correcta distribución de ésta durante el periodo de abonado. Sin embargo, no se dispone de suficiente información del efecto que la distribución estacional del fertilizante tiene sobre la absorción y la movilización del N acumulado en los órganos de reserva de los cítricos.

El objetivo del presente trabajo es evaluar en plantas jóvenes de cítricos el efecto de la distribución estacional diferencial del abonado nitrogenado sobre la absorción del N y su reparto en los distintos órganos, la movilización del N acumulado en los órganos viejos de reserva hacia los órganos en desarrollo, así como su repercusión en la fructificación. De este modo, se profundizará tanto en el conocimiento de la dinámica del N en el sistema planta-suelo en los cítricos, como en los posibles factores implicados en este proceso, con el fin de ampliar las bases sobre las que descansan los criterios del abonado nitrogenado y optimizar así la aplicación estacional de los fertilizantes.

Para la consecución de estos objetivos se recurrió al empleo de la técnica de dilución isotópica mediante la incorporación al sistema planta-suelo de un fertilizante marcado con el isótopo estable  $^{15}\text{N}$ . Éste se aplicó desde el inicio de la actividad vegetativa (principios de marzo) hasta el completo desarrollo del fruto (final de octubre) siguiendo tres distribuciones estacionales. Se comparó una distribución simétrica en la que se aplicó igual fracción de la dosis desde el inicio del abonado hasta principio de julio (final de la caída fisiológica) y desde ese momento en adelante, con otras dos en las que el máximo aporte del abono (75% de la dosis) se adelantó con respecto a ésta a los meses comprendidos entre marzo y julio, ó se retrasó al periodo de julio a octubre. La extracción de las plantas marcadas, en diferentes momentos del desarrollo fenológico (floración, cuajado, final de caída fisiológica y madurez del fruto), permitió estudiar la evolución estacional del N absorbido y el translocado de las reservas.

De acuerdo con la información obtenida se concluye que aportes máximos adelantados de N (desde marzo a final de junio) incrementan la absorción de N durante los periodos críticos de floración y cuajado, disminuyendo la dependencia respecto al N acumulado en las reservas de las plantas. Por otro lado, una fertilización nitrogenada en la que el máximo aporte de este elemento se realice a partir del final de la caída fisiológica (principio de julio), supone una mayor acumulación de N en la planta al final del ciclo, posteriormente disponible para el desarrollo de nuevos órganos en el siguiente ciclo vegetativo. Asimismo, la mejora en la eficiencia de uso del N aplicado asociada a aportes tardíos redundaría en la reducción del nitrato residual en el suelo susceptible de lixiviación. La incidencia de la distribución estacional sobre la producción no fue consistente, al verse compensado el bajo aporte durante los momentos críticos de floración y cuajado, asociado a la distribución que retrasó el aporte de N, con una mayor translocación del N de las reservas de estas plantas.



## RESUM

Una fertilització nitrogenada racional ha de contemplar no sols l'aportació d'una dosi ajustada a les necessitats del cultiu, sinó que al seu torn ha de considerar la correcta distribució d'esta durant el període d'abonat. No obstant això, no es disposa de suficient informació de l'efecte que la distribució estacional del fertilitzant té sobre la absorció i mobilització del N acumulat en els òrgans de reserva dels cítrics.

L'objectiu del present treball és avaluar en plantes joves de cítrics l'efecte de la distribució diferencial estacional de l'abonat nitrogenat sobre l'absorció del N i la seua distribució en els diferents òrgans, la mobilització del N acumulat en els òrgans vells de reserva cap als òrgans en desenvolupament, així com la seua repercussió en la fructificació. D'esta manera s'aprofundirà tant en el coneixement de la dinàmica del N en el sistema planta-sòl en els cítrics com en els possibles factors implicats en este procés, a fi d'ampliar les bases sobre les quals descansen els criteris de l'abonat nitrogenat i optimitzar així l'aplicació estacional dels fertilitzants.

Per a la consecució d'estos objectius, es va recórrer a l'ús de la tècnica de dilució isotòpica mitjançant la incorporació al sistema planta-sòl d'un fertilitzant marcat en l'isòtop estable <sup>15</sup>N. Aquest fertilitzant es va aplicar des de l'inici de l'activitat vegetativa (principis de març) fins al complet desenvolupament del fruit (final d'octubre), seguint tres distribucions estacionals. Es va comparar una distribució simètrica en què es va aplicar la mateixa fracció de la dosi des de l'inici de l'abonat fins a principi de juliol (final de la caiguda fisiològica) i des d'eixe moment endavant, amb altres dos en què la màxima aportació de l'adob (75% de la dosi) es va avançar respecte a esta als mesos compresos entre març i juliol o es va retardar al període comprés des de juliol a octubre. L'extracció de les plantes marcades, en diferents moments fenològics (floració, quallat, final de caiguda fisiològica i maduresa del fruit), va permetre estudiar l'evolució del N absorbit i el mobilitzat de les reserves.

D'acord amb la informació obtinguda, es conclou que aportacions màximes avançades de N (des de març a final de juny) en els cítrics, incrementen l'absorció de N durant els períodes crítics de floració i quallat, disminuint la dependència respecte al N acumulat en les reserves de les plantes. D'altra banda, una fertilització nitrogenada en què la màxima aportació d'este element es realitza a partir del final de la caiguda fisiològica (principi de juliol), suposa una major acumulació de N en la planta al final del cicle, posteriorment disponible per al desenvolupament de nous òrgans en el següent cicle vegetatiu. Així mateix, la millora en l'eficiència d'ús del N aplicat associada a aportacions tardanes redundarien en la reducció del nitrat residual en el sòl susceptible de lixiviació. La incidència de la distribució estacional sobre la producció no va ser consistent, al veure's compensat la baixa aportació durant els moments crítics de floració i quallat, associat a la distribució que va retardar l'aportació de N, amb una major mobilització del N de les reserves de les plantes.



## **ABSTRACT**

A rational nitrogen fertilization should contemplate not only the input of a dose adjusted to crop requirements, but also its correct distribution along the fertilizing period. However, there is a lack of information about the effect of fertilizer seasonal distribution on the uptake and the mobilization of reserve N accumulated in citrus plants.

The aim of this study was to evaluate the effect of the seasonal distribution of nitrogen fertilization on N uptake and its partitioning between tree organs, the mobilization of N accumulated in the reserve old organs to developing organs, and their impact in fruiting in young citrus plants. This will deepen both the understanding of the dynamics of N in the plant-soil system in citrus fruits as well the possible factors involved in this process, in order to broaden nitrogen fertilization criteria and thus optimize the seasonal application of fertilizers.

In order to achieve these objectives, the stable isotope  $^{15}\text{N}$  was incorporated into plant-soil system to trace N-fertilizer (isotope dilution technique). The fertilizer was applied from the onset of vegetative activity (early march) until the full fruit development (late october), following three seasonal distributions. A symmetrical distribution, applying the same fraction of the dose from march to july (end of fruit drop) and from that moment onwards, was compared with two distributions in which the maximum contribution of fertilizer, 75% of the dose was delayed (from July to October) or anticipated (from march to july) with respect to it. Destructively harvesting of labelled plants in different phenological stages of development (flowering, fruit set, end of fruit drop and fruit maturity), allowed to study the evolution of N absorbed and translocated from the reserves.

According to the information obtained, it was concluded that early supply of the bulk of the dose (from march to late june), increased N uptake during critical periods of flowering and fruit set and hence decreasing dependence on N reserves accumulated in the plants. In addition, delaying this supply to the period comprised between the end of fruit drop (early july) and fruit maturity, resulted in a greater accumulation of N in the plant at the end of the period, available for next growing cycle. Improved N use efficiency associated with delayed supply would result in the reduction of residual nitrate in the soil susceptible to leaching. The incidence of seasonal distribution on yield was not consistent, since lower uptake during critical periods of flowering and fruit set associated with the distribution in which N supply is delayed, was compensated with increased translocation of N from the reserves of the plants.





## ÍNDICE

<b>1 INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
1.1 EL NITRÓGENO EN EL SUELO .....	1
1.2 LA FERTILIZACIÓN NITROGENADA.....	3
1.2.1 Consumo y coste económico de los fertilizantes .....	3
1.2.2 Coste energético de los fertilizantes.....	5
1.2.3 Contaminación por nitratos .....	7
1.2.3.1 Origen del nitrato en las aguas subterráneas.....	7
1.2.3.2 Situación actual en la UE, España y Comunidad Valenciana.....	9
1.2.3.3 Marco legislativo.....	10
1.2.3.4 Consecuencias de la política comunitaria .....	11
1.3 FERTILIZACIÓN NITROGENADA EN EL CULTIVO DE LOS CÍTRICOS .....	13
1.3.1 Importancia económica y distribución geográfica de los cítricos.....	13
1.3.2 Incidencia de la fertilización nitrogenada en los cítricos.....	15
1.3.2.1 El papel del nitrógeno en los cítricos .....	15
1.3.2.2 Efecto del nitrógeno sobre la producción y calidad del fruto .....	16
1.4 USO DEL ISÓTOPO ESTABLE DEL NITRÓGENO ( <sup>15</sup> N) EN EL ESTUDIO DE LA FERTILIZACIÓN NITROGENADA .....	19
1.5 ABSORCIÓN DEL NITRÓGENO Y EFICIENCIA .....	22
1.5.1 Factores que afectan a la absorción de nitrógeno .....	22
1.5.1.1 Dosis de nitrógeno.....	23
1.5.1.2 Forma del nitrógeno aplicado .....	24
1.5.1.3 Época de aplicación y distribución estacional .....	28
1.5.1.4 Fraccionamiento del abonado .....	32
1.5.2 Distribución en la planta del nitrógeno absorbido .....	34
1.5.3 Eficiencia de uso del nitrógeno aplicado .....	39
1.6 MOVILIZACIÓN DEL NITRÓGENO DE RESERVA .....	44
1.6.1 Reservas de N y translocación: definición y técnicas de estudio.....	44
1.6.2 Hábito foliar, acumulación de N de reserva y su translocación.....	46
1.6.3 Translocación de N de reservas en cítricos.....	47
1.6.4 Formas químicas de almacenamiento del N en cítricos .....	53
1.7 USO DEL ÍNDICE DE CLOROFILA DE LA HOJA (SPAD) EN LA FERTILIZACIÓN NITROGENADA .....	55

<b>2</b>	<b>OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO.....</b>	<b>57</b>
2.1	OBJETIVOS .....	59
2.2	PLAN DE TRABAJO .....	60
2.2.1	Ensayo de absorción.....	60
2.2.2	Ensayo de translocación.....	61
<b>3</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>63</b>
3.1	Material vegetal.....	65
3.2	Condiciones de cultivo y suelo .....	65
3.2.1	Riego.....	66
3.2.2	Dosis de nitrógeno .....	67
3.2.3	Distribución estacional de la dosis total de nitrógeno .....	68
3.2.4	Marcado isotópico .....	70
3.2.5	Macro y micronutrientes.....	70
3.3	DESARROLLO EXPERIMENTAL.....	71
3.3.1	Ensayo de absorción.....	71
3.3.2	Ensayo de translocación.....	72
3.3.3	Extracción de los árboles.....	74
3.3.4	Órganos caídos .....	74
3.3.5	Medida del índice de SPAD .....	75
3.4	PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS .....	76
3.4.1	Muestras de material vegetal procedentes de extracción y muestreos quincenales.....	76
3.4.2	Muestras de material vegetal procedentes de órganos caídos.....	76
3.4.3	Muestras de suelo .....	76
3.5	DETERMINACIONES ANALÍTICAS .....	77
3.5.1	Determinación del N total y su composición isotópica en material vegetal....	77
3.5.2	Determinación del N total y su composición isotópica en suelo .....	78
3.5.3	Determinación del N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> y N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> en suelo y su composición isotópica .....	78
3.5.4	Determinación del N orgánico en el suelo y su composición isotópica .....	81
3.5.5	Contenido en clorofilas.....	81
3.5.6	Determinación de macro y micronutrientes.....	82
3.5.7	Determinación de cloruros.....	84
3.5.8	Parámetros de calidad de los frutos .....	85
3.6	ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	87

<b>4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>89</b>
4.1 ENSAYO DE ABSORCIÓN.....	91
4.1.1 PLANTA.....	91
4.1.1.1 Biomasa y su distribución relativa.....	91
4.1.1.2 Concentración de N total .....	99
4.1.1.3 Contenido de N total y su distribución relativa.....	107
4.1.1.4 Porcentaje de <sup>15</sup> N en exceso.....	114
4.1.1.5 Contenido en N absorbido del fertilizante.....	120
4.1.1.6 Porcentaje de N derivado del fertilizante.....	127
4.1.1.7 Eficiencia de uso del fertilizante aplicado .....	133
4.1.1.8 Evolución de la concentración foliar de macro y micronutrientes.....	139
4.1.1.9 Cloruro.....	150
4.1.1.10 Sodio.....	153
4.1.1.11 Contenido en clorofilas.....	154
4.1.1.12 Índice de SPAD .....	157
4.1.1.13 Parámetros de calidad del fruto.....	158
4.1.2 SUELO .....	159
4.1.2.1 Concentración de N total en el suelo .....	159
4.1.2.2 Concentración de N en la fracción nítrica .....	161
4.1.2.3 Concentración de N en la fracción amoniacal.....	162
4.1.2.4 Concentración de N en la fracción orgánica.....	163
4.1.2.5 Enriquecimiento en <sup>15</sup> N del total del N en el suelo .....	163
4.1.2.6 Enriquecimiento en <sup>15</sup> N del N en la fracción nítrica .....	164
4.1.2.7 Enriquecimiento en <sup>15</sup> N del N en la fracción amoniacal.....	166
4.1.2.8 Enriquecimiento en <sup>15</sup> N del N en la fracción orgánica.....	167
4.1.3 RECUPERACIÓN DEL N APLICADO EN EL SISTEMA PLANTA-SUELO .....	167
4.2 ENSAYO DE TRANSLOCACIÓN .....	171
4.2.1 PLANTA: ESTADO DE CARGA .....	171
4.2.2 PLANTA: A LO LARGO DEL CICLO VEGETATIVO.....	173
4.2.2.1 Biomasa y su distribución relativa.....	173
4.2.2.2 Concentración de N.....	178
4.2.2.3 Contenido de N y su distribución relativa .....	181
4.2.2.4 Porcentaje de <sup>15</sup> N en exceso.....	187
4.2.2.5 Contenido en <sup>15</sup> N y su distribución relativa en la planta .....	192

4.2.2.6	Contenido de N en los órganos jóvenes procedente de translocación y su distribución relativa .....	199
4.2.2.7	Nitrógeno de los órganos jóvenes derivado de reservas.....	202
4.2.2.8	Nitrógeno exportado por los órganos viejos .....	204
4.2.2.9	Porcentaje de N exportado por los órganos viejos respecto al acumulado el ciclo anterior .....	207
4.2.2.10	Parámetros de calidad del fruto.....	209
4.2.3	SUELO .....	209
4.2.3.1	Concentración de N total en el suelo .....	210
4.2.3.2	Concentración de N en la fracción nítrica .....	210
4.2.3.3	Concentración de N en la fracción amoniacal.....	213
4.2.3.4	Concentración de N en la fracción orgánica .....	213
<b>5</b>	<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>215</b>
<b>6</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>219</b>

## TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Serie histórica de superficie fertilizada y consumo de fertilizantes en España. ....	4
<b>Tabla 2.</b> Porcentaje mensual acumulado de N en variedades tempranas y tardías .....	31
<b>Tabla 3.</b> Análisis del suelo empleado en ambos ensayos. ....	65
<b>Tabla 4.</b> Análisis del agua de riego empleada en ambos ensayos.....	67
<b>Tabla 5.</b> Distribución mensual de la dosis de N y agua de riego en el primer año .....	69
<b>Tabla 6.</b> Distribución mensual de la dosis de N y agua de riego en el segundo año.....	69
<b>Tabla 7.</b> Porcentaje acumulado de la dosis de N a final de mes en el segundo año. ....	70
<b>Tabla 8.</b> Macro y micronutrientes aportados en los dos años de los ensayos.....	71
<b>Tabla 9.</b> Cuadro resumen de las aplicaciones de abono marcado y de las extracciones. .	73
<b>Tabla 10.</b> Biomasa de los distintos órganos y del total de la planta en el ensayo de absorción en los principales momentos fenológicos.....	92
<b>Tabla 11.</b> Distribución relativa de la biomasa entre los distintos órganos de las plantas en el ensayo de absorción en los principales momentos fenológicos .....	95
<b>Tabla 12.</b> Concentración de N total sobre peso seco en los distintos órganos de las plantas en el ensayo de absorción en los principales momentos fenológicos.....	100
<b>Tabla 13.</b> Contenido de N total en los distintos órganos y en el total de las plantas en el ensayo de absorción en los principales momentos fenológicos .....	108
<b>Tabla 14.</b> Distribución relativa del N total entre los distintos órganos de las plantas en el ensayo de absorción en los principales momentos fenológicos. ....	112
<b>Tabla 15.</b> Enriquecimiento en <sup>15</sup> N del N presente en los distintos órganos de las plantas en el ensayo de absorción en los principales momentos fenológicos .....	115
<b>Tabla 16.</b> Contenido en N absorbido del fertilizante (N <sub>adf</sub> ) en los distintos órganos y en el total de las plantas en el ensayo de absorción. ....	121
<b>Tabla 17.</b> Distribución relativa del N absorbido del fertilizante entre los distintos órganos de las plantas en el ensayo de absorción en los principales momentos fenológicos.....	125
<b>Tabla 18.</b> Proporción de N derivado del fertilizante (N <sub>ddf</sub> ) en los distintos órganos de las plantas en el ensayo de absorción en los principales momentos fenológicos.	128

<b>Tabla 19.</b> Eficiencia de uso del N aplicado (EUN) en los distintos órganos y en el total de la planta en el ensayo de absorción en los principales momentos fenológicos .....	135
<b>Tabla 20.</b> Parámetros de calidad del fruto en función de las distribuciones estacionales del N aplicado (A, B y C) en el ensayo de absorción.....	158
<b>Tabla 21.</b> Nitrógeno recuperado del fertilizante (Nrf) en el sistema planta-suelo en el ensayo de absorción en los principales momentos fenológicos. ....	169
<b>Tabla 22.</b> Biomasa, concentración y contenido de N y su distribución relativa en las plantas pertenecientes al estado de carga del ensayo de translocación. ....	171
<b>Tabla 23.</b> Enriquecimiento, contenido y distribución relativa del <sup>15</sup> N, N absorbido del fertilizante y eficiencia de uso del N, en el estado de carga del ensayo de translocación.....	172
<b>Tabla 24.</b> Biomasa de los distintos órganos y total de la planta en el ensayo de translocación en los principales momentos fenológicos.....	174
<b>Tabla 25.</b> Distribución relativa de la biomasa entre los distintos órganos de las plantas en el ensayo de translocación en los principales momentos fenológicos. ....	177
<b>Tabla 26.</b> Concentración de N total en los distintos órganos de las plantas en el ensayo de translocación en los principales momentos fenológicos.....	179
<b>Tabla 27.</b> Contenido de N total en los distintos órganos y en el total de las plantas en el ensayo de translocación en los principales momentos fenológicos .....	182
<b>Tabla 28.</b> Distribución relativa del N total entre los distintos órganos de las plantas en el ensayo de translocación en los principales momentos fenológicos .....	186
<b>Tabla 29.</b> Enriquecimiento en <sup>15</sup> N del total de N presente en los distintos órganos de las plantas en el ensayo de translocación en los principales momentos fenológicos .....	188
<b>Tabla 30.</b> Contenido en <sup>15</sup> N en los distintos órganos y en el total de las plantas en el ensayo de translocación en los principales momentos fenológicos .....	193
<b>Tabla 31.</b> Distribución relativa del total de <sup>15</sup> N entre los distintos órganos de las plantas en el ensayo de translocación en los principales momentos fenológicos.....	196
<b>Tabla 32.</b> Distribución relativa del total de <sup>15</sup> N entre el total de las plantas y sus órganos caídos en el ensayo de translocación en los principales momentos fenológicos. ....	197

<b>Tabla 33.</b> Contenido en N en los órganos jóvenes procedente de la translocación (Nt) de las reservas de los órganos viejos en los principales momentos fenológicos en el ensayo de translocación. ....	199
<b>Tabla 34.</b> Distribución relativa entre los órganos jóvenes, incluidos los caídos, del total de N procedente de la translocación de las reservas.....	201
<b>Tabla 35.</b> Nitrógeno en los órganos jóvenes derivado de las reservas (Nddr) en el ensayo de translocación en los principales momentos fenológicos .....	203
<b>Tabla 36.</b> Nitrógeno exportado por los órganos viejos (Ne) en el ensayo de translocación en los principales momentos fenológicos. ....	206
<b>Tabla 37.</b> Contribución relativa de cada órgano al total de N exportado por los órganos viejos en el ensayo de translocación en los principales momentos fenológicos .....	206
<b>Tabla 38.</b> Proporción de N exportado por los órganos de reserva respecto al total acumulado en el estado de carga en el ensayo de translocación en los principales momentos fenológicos. ....	208
<b>Tabla 39.</b> Parámetros de calidad del fruto en las plantas correspondientes a las distribuciones estacionales del N aplicado (A, B y C) en el ensayo de translocación. ....	209

## FIGURAS

- Figura 1.** Porcentaje de distribución mensual de N en variedades tempranas y tardías. . 31
- Figura 2.** Curvas de distribución mensual de la dosis de N en el segundo año de los ensayos. .... 68
- Figura 3.** Formación del compuesto azo coloreado en la determinación de nitrato según el método colorimétrico de Griess Ilosvay. .... 79
- Figura 4.** Biomasa del conjunto de órganos jóvenes, viejos, parte aérea y sistema radical de los árboles extraídos en el segundo año del ensayo de absorción. .... 93
- Figura 5.** Concentración ponderada de N, sobre peso seco, del conjunto de órganos jóvenes, viejos, parte aérea y sistema radical de los árboles a lo largo del segundo año del ensayo de absorción. .... 102
- Figura 6.** Contenido de N en el conjunto de órganos jóvenes, viejos, parte aérea y sistema radical de los árboles extraídos en el segundo año del ensayo de absorción. .... 109
- Figura 7.** Enriquecimiento en  $^{15}\text{N}$  del N contenido en el conjunto de órganos jóvenes, viejos, parte aérea y sistema radical de los árboles extraídos a lo largo del segundo año del ensayo de absorción. .... 116
- Figura 8.** Nitrógeno absorbido del fertilizante (Nadf) por el conjunto de órganos jóvenes, viejos, parte aérea y sistema radical de los árboles extraídos a lo largo del segundo año del ensayo de absorción. .... 122
- Figura 9.** Proporción de N derivado del fertilizante (Nddf) en el conjunto de órganos jóvenes, viejos, parte aérea y sistema radical de los árboles extraídos a lo largo del segundo año del ensayo de absorción. .... 129
- Figura 10.** Eficiencia de uso del N aplicado (EUN) en el conjunto de órganos jóvenes, viejos, parte aérea y sistema radical de los árboles extraídos a lo largo del segundo año del ensayo de absorción. .... 136
- Figura 11.** Evolución de la concentración sobre peso seco de nitrógeno, fósforo y potasio en hojas de primavera. .... 141
- Figura 12.** Evolución de la concentración sobre peso seco de calcio, magnesio y azufre en hojas de primavera. .... 144
- Figura 13.** Evolución de la concentración sobre peso seco de hierro, zinc y manganeso en hojas de primavera. .... 147



<b>Figura 14.</b> Evolución de la concentración sobre peso seco de boro y cobre en hojas de primavera .....	149
<b>Figura 15.</b> Evolución de la concentración de cloruro en las hojas de primavera.....	151
<b>Figura 16.</b> Evolución de la concentración de cloruro en la raíz fibrosa.....	153
<b>Figura 17.</b> Evolución de la concentración de sodio en las hojas de primavera .....	154
<b>Figura 18.</b> Evolución de la concentración de clorofilas en hojas de primavera.....	156
<b>Figura 19.</b> Evolución del índice de SPAD en hojas de primavera .....	157
<b>Figura 20.</b> Concentración de N en el total del suelo y en sus fracciones (nitríca, amoniacal y orgánica) en el ensayo de absorción, en floración (mayo), cuajado (junio), final de caída fisiológica (julio) y madurez del fruto (enero).....	160
<b>Figura 21.</b> Enriquecimiento en <sup>15</sup> N del N presente en el total del suelo y en sus fracciones (nitríca, amoniacal y orgánica) en el ensayo de absorción, en floración (mayo), cuajado (junio), final de caída fisiológica (julio) y madurez del fruto (enero).. .....	165
<b>Figura 22.</b> Biomasa del conjunto de órganos jóvenes, viejos, parte aérea y sistema radical de los árboles extraídos a lo largo del segundo año del ensayo de translocación.....	175
<b>Figura 23.</b> Concentración ponderada de N en el conjunto de órganos jóvenes, viejos, parte aérea y sistema radical de los árboles extraídos a lo largo del segundo año del ensayo de translocación.....	180
<b>Figura 24.</b> Contenido de N en el conjunto de órganos jóvenes, viejos, parte aérea y sistema radical de los árboles extraídos a lo largo del segundo año del ensayo de translocación.....	184
<b>Figura 25.</b> Enriquecimiento en <sup>15</sup> N del N contenido en el conjunto de órganos jóvenes, viejos, parte aérea y sistema radical de los árboles extraídos a lo largo del segundo año del ensayo de translocación.....	190
<b>Figura 26.</b> Contenido en <sup>15</sup> N en el conjunto de órganos jóvenes <sup>Z</sup> , viejos <sup>Y</sup> , parte aérea y sistema radical de los árboles extraídos a lo largo del segundo año del ensayo de translocación.....	194
<b>Figura 27.</b> Concentración de N en el total del suelo, fracción nitríca, amoniacal y orgánica en el ensayo de translocación, en floración (mayo), cuajado (junio), final de caída fisiológica (julio) y madurez del fruto (enero) .....	212

## ILUSTRACIONES

Foto 1. Detalle de la estructura empleada para proteger los árboles de los ensayos de absorción y translocación. ....	66
Foto 2. Disposición de las mallas para la recogida de los órganos caídos. ....	75
Foto 3. Aspecto de los árboles del ensayo de absorción, al final del ciclo durante la madurez del fruto. ....	87

## **1 INTRODUCCIÓN**



## 1.1 EL NITRÓGENO EN EL SUELO

El nitrógeno (N) es, después del agua, el factor limitante de mayor trascendencia en el crecimiento vegetal. Este elemento es un constituyente esencial de las plantas, en las que entra a formar parte de los compuestos orgánicos, proteínas, ácidos nucleicos, clorofilas etc. y está asociado con fenómenos fisiológicos, tales como el desarrollo y crecimiento de las plantas, la iniciación floral o el desarrollo de los frutos. Es por ello que la obtención de una buena producción y de calidad adecuada implica, entre otros muchos factores, una correcta disponibilidad de N en el medio de cultivo.

El suelo dispone de importantes cantidades de nitrógeno, así los suelos típicos de zonas templadas contienen normalmente entre 0,1 y 0,3% de N total en los 15 cm superficiales, lo que representa de 2 a 6 Mg (toneladas métricas)  $N \cdot ha^{-1}$  para un suelo con una densidad aparente de  $1,3 g \cdot cm^{-3}$ . Estos valores disminuyen hasta niveles inferiores al 0,02% de nitrógeno en suelos de regiones áridas. Estos porcentajes, a menos que el perfil del suelo contenga un horizonte de materia orgánica eluviada, se haya enterrado materia orgánica con el laboreo o presente un horizonte Ab enterrado, disminuyen con la profundidad.

El nitrógeno se encuentra presente en el suelo como una compleja mezcla de compuestos orgánicos e inorgánicos. La fracción orgánica comprende aproximadamente el 90-95% del N presente en el suelo y procede de los tejidos vegetales y animales en descomposición, en forma de proteínas, nucleótidos, ácidos nucleicos, aminoácidos, aminoazúcares, aminos y amidas que no son aprovechables directamente por los cultivos (Alva *et al.*, 2006a). Los compuestos inorgánicos (5-10% restante) incluyen nitrato ( $NO_3^-$ ) y nitrito ( $NO_2^-$ ) solubles, amonio ( $NH_4^+$ ) disuelto en la solución del suelo, adsorbido a los coloides como  $NH_4^+$  de intercambio y fijado no intercambiable (no extraíble con cloruro potásico), y otros compuestos intermedios químicos o biológicos (Young y Aldag, 1982; Primo-Millo y Legaz, 1983; Longeri *et al.*, 2001). Kudryarov (1981) sugirió los términos de amonio nativo y artificial, refiriéndose con ellos al  $NH_4^+$  fijado durante los procesos de formación del suelo y a la fijación adicional producto de la aplicación de fertilizantes amoniacales, respectivamente (Doram y Evans, 1983; Breitenbeck y Paramasivam, 1995). La disponibilidad para las plantas y microorganismos del  $NH_4^+$  fijado ha sido un tema controvertido. Las primeras investigaciones encontraron que sólo una pequeña fracción de este  $NH_4^+$  estaba disponible (Axley y Legg, 1960; Walsh y Murdock, 1960). El empleo de fertilizantes marcados con  $^{15}N$ , han demostrado que el  $NH_4^+$  fijado reciente está activamente involucrado en la dinámica del N en el suelo (Preston, 1982; Marzadori *et al.*, 1989; Feigenbaum *et al.*, 1994). Estudios posteriores (Longeri *et al.*, 2001) indican que el

contenido promedio de  $\text{NH}_4^+$  fijado se relaciona en cierto grado con las arcillas predominantes en los distintos suelos, siendo mayor en los suelos en los que predominan filosilicatos secundarios del tipo 2:1, tales como vermiculita, illita y montmorillonita. Sin embargo, son el  $\text{NO}_3^-$  y el  $\text{NH}_4^+$  en solución e intercambiable, las principales fuentes de N mineral disponibles para la nutrición vegetal.

La materia orgánica de los suelos no es estable, está sometida a procesos de mineralización, que posibilitan su transformación hacia componentes minerales, de modo que incluso en suelos cuyo contenido en materia orgánica no es elevado, como sucede en la mayor parte de nuestros secanos semiáridos, el nitrógeno mineral está presente a niveles significativos (Wild, 1992). La mineralización de los compuestos orgánicos nitrogenados se lleva a cabo por los microorganismos del suelo, con el fin de satisfacer sus necesidades energéticas y nutricionales. Esta mineralización se realiza en dos etapas, en la primera se produce la amonización, los compuestos orgánicos nitrogenados son hidrolizados produciendo amonio ( $\text{NH}_4^+$ ). Esta reacción está catalizada por enzimas presentes en muchos microorganismos heterótrofos, pudiendo los iones  $\text{NH}_4^+$  quedar libres en la solución del suelo o fijados en el complejo de cambio para más tarde ser oxidados en la segunda etapa, la nitrificación. Durante el proceso de nitrificación, el  $\text{NH}_4^+$  es oxidado a nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) por un pequeño número de géneros bacterianos autótrofos, de los que *Nitrosomonas* ssp. es el más importante, y posteriormente es nuevamente oxidado a nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) por un único género de bacterias autótrofas, *Nitrobacter* ssp. La etapa que habitualmente limita la velocidad de la nitrificación suele ser la amonización, pese a que las enzimas necesarias (proteinasas, peptidasas, aminoácido-deshidrogenasas, aminoácido-oxidasas, etc.) puedan ser proporcionadas por una población microbiana edáfica muy amplia. Parece ser, que la limitación aparece como consecuencia de la resistencia química que ofrecen los compuestos nitrogenados orgánicos, aunque también puede ser limitante la escasez de sustratos carbonados y los obstáculos espaciales para la actividad enzimática. Dado que la oxidación del  $\text{NO}_2^-$  es más rápida que la del  $\text{NH}_4^+$ , el primero no se acumula en el suelo. Como consecuencia de las diferentes velocidades relativas de estas reacciones, los nitratos del suelo son la forma más importante de nitrógeno para la nutrición de los cultivos, aunque está comprobado que también son utilizadas las formas amoniacaes y algunos compuestos orgánicos de reducido peso molecular como aminoácidos (Wild, 1992; Kato *et al.*, 1985a).

Sin embargo, teniendo en cuenta que los suelos agrarios aportan fundamentalmente el nitrógeno proveniente de la mineralización de la materia orgánica, y que éste, en muchas ocasiones no es suficiente para suplir las necesidades de los cultivos, la fertilización

nitrogenada orgánica o mineral se considera imprescindible dentro del manejo de los cultivos tanto herbáceos como leñosos.

## **1.2 LA FERTILIZACIÓN NITROGENADA**

La fertilización nitrogenada tiene generalmente un gran efecto en el crecimiento de los cultivos, el rendimiento y la calidad de la cosecha. El manejo racional de ésta se traduce en un nivel adecuado de este nutriente en los tejidos, las plantas son vigorosas y bien ramificadas, con una buena coloración verde, producción adecuada y frutos de buen tamaño. Sin embargo, la deficiencia de este nutriente ocasiona clorosis en las nerviaciones de las de las hojas más viejas, afectando incluso a las jóvenes cuando la deficiencia es severa, debido a la presencia de un menor contenido en clorofila. Asimismo, cuando el aporte de nitrógeno es limitado, las plantas son más pequeñas, con desarrollo lento, en los cereales el grano es más pequeño, tienen un menor ahijado y las semillas y partes vegetativas de la planta tienen bajo contenido de proteínas. En frutales provoca la reducción del cuajado y acentúa la caída prematura de frutos, éstos son de menor tamaño, con el consiguiente detrimento de la calidad, y la maduración es más precoz. En cambio, un exceso de nitrógeno presenta consecuencias negativas para la calidad de la cosecha, para la propia planta e incluso para el medio ambiente. Así, puede causar disminución de rendimientos y por tanto pérdidas desde el punto de vista económico, aumentar la susceptibilidad a algunos fisiopatías (encamado de cereales o gomosis en los frutales) y plagas (pulgón), o agravar el daño producido por sequías y heladas, ya que el exceso de nitrógeno reduce el espesor de la pared celular (Wild, 1992).

### **1.2.1 Consumo y coste económico de los fertilizantes**

En el ámbito de la agricultura, la tendencia hacia una mayor intensificación y un aumento de la productividad, registrada durante gran parte del último medio siglo, ha ido acompañada de un considerable incremento en el uso del N inorgánico. Durante los años 60 y 70, ante la demanda mundial de alimentos, fue espectacular el aumento del uso de los fertilizantes nitrogenados, tanto en zonas en las que la agricultura estaba plenamente instaurada, como en zonas agrícolas en desarrollo. Este incremento se relaciona con el bajo coste de los fertilizantes en comparación con los beneficios económicos obtenidos. Sin embargo, las restricciones ambientales, debido a la contaminación de las aguas con nitratos, vendrían a limitar el uso de los abonos nitrogenados en la última década del siglo XX. En el siglo XXI, son el cambio climático y las políticas de ahorro y eficiencia energética que de él se derivan, las que motivan un uso eficiente de este recurso.

En la Unión Europea (UE), los fertilizantes minerales representan casi el 54% del aporte de nitrógeno en los suelos agrícolas, el estiércol un 46% y el resto procede de la fijación biológica y la deposición atmosférica. El consumo de fertilizantes nitrogenados (fertilizantes minerales y estiércol animal) aumentó hasta finales de los años 80 y posteriormente empezó a descender, pero en los últimos años ha vuelto a aumentar en algunos países de la UE (AEMA, 2005).

De acuerdo con el consumo de fertilizantes en España (Tabla 1) durante los últimos años, se observa que el N es el elemento fertilizante más utilizado, aproximadamente el doble que los otros dos elementos fundamentales, el fósforo ( $P_2O_5$ ) y el potasio ( $K_2O$ ). Según datos proporcionados por el Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino (MARM), durante el 2008 se consumieron 756.255 Mg de N, 279.515 de  $P_2O_5$  y 329.048 de  $K_2O$  (MARM, 2008), cifras que son inferiores a las registradas en los últimos años, como consecuencia de una menor cantidad aplicada por hectárea; esta tendencia ha sido causada por el encarecimiento de los fertilizantes registrado durante este año. El total de nitrógeno aportado se aplicó fundamentalmente en forma de abonos compuestos (26%), urea (25%), nitrato amónico-cálcico (22%) y, en menor proporción, como sulfato amónico (11%), soluciones nitrogenadas (5%) y nitrato amónico (4%). El restante 7% en forma de nitrato cálcico, nitrato de Chile, nitrosulfato amónico y amoniaco agrícola.

**Tabla 1.** Serie histórica de superficie fertilizada y consumo de los principales fertilizantes en España en los últimos años (MARM, 2008).

Años	Superficie fertilizable (miles ha)	Consumo total de fertilizantes ( $kg\cdot ha^{-1}$ )		
		Nitrógeno	Fósforo ( $P_2O_5$ )	Potasio ( $K_2O$ )
2000	16.622	77,0	34,3	28,6
2001	16.197	69,8	37,7	28,9
2002	16.328	62,9	37,1	30,1
2003	16.174	74,6	38,0	30,6
2004	15.966	67,7	36,4	32,0
2005	15.755	58,9	32,6	26,3
2006	15.331	63,3	29,5	25,5
2007	14.979	65,8	37,0	29,7
2008	14.757	51,2	18,9	22,3

Desde el punto de vista económico, el capítulo de fertilizantes supuso, durante el 2008, un gasto total para los agricultores de 1.649 millones de euros, de los que aproximadamente un 45% correspondió al coste de abonos nitrogenados simples (749 mill. euros) y un 38% a abonos complejos (624 mill. euros); valores que son superiores a los destinados a otros



capítulos como los fitosanitarios (762 mill. euros) o la compra de semillas y plantones (902 mill. euros).

En la Comunidad Valenciana (MARM, 2008) durante el 2008 se consumieron 77.900 Mg de N, 21.300 de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> y 38.400 de K<sub>2</sub>O; siendo junto con Andalucía (183.100 Mg) y Castilla-León (166.300 Mg) una de las comunidades con mayor consumo de fertilizantes nitrogenados en el territorio español. Sin embargo, atendiendo al consumo medio por hectárea cultivada la Comunidad Valenciana (110,5 kg N) supera ampliamente las cantidades aplicadas en el resto de comunidades, al ser notablemente inferior la superficie total cultivada tanto en secano como en regadío. El total de los fertilizantes aplicados durante el año 2005 (ISAV, 2007), supuso un gasto para los agricultores de la Comunidad de 99,8 mill. de euros. En el caso de los cítricos, se estima que el coste medio anual del abonado de 1 ha en producción es de unos 380 euros (Pérez *et al.*, 1997) y, de este valor, aproximadamente el 65% corresponde al coste del nitrógeno. Sin embargo, del nitrógeno aplicado al suelo se pierde, por término medio, un 60% por volatilización, desnitrificación y, principalmente, lixiviación, lo que se traduce en una muy baja eficiencia de absorción, quedando cantidades muy elevadas de N residual en el suelo, susceptible de ser lixiviado tras periodos de lluvias intensas o riegos abundantes. Martínez *et al.* (2002) aplicando dosis ajustadas a plantones de cítricos en un ensayo controlado, obtuvieron una eficiencia de absorción promedio en aplicaciones de primavera y verano del 43%, por lo que en condiciones normales de manejo de los agricultores, las eficiencias obtenidas son mucho más bajas, debido a que a menudo las dosis empleadas son excesivas. Esto supone un promedio de pérdidas en fertilizantes nitrogenados de 148 euros por hectárea y año, cantidad que variará en función de los precios de mercado de los fertilizantes nitrogenados; en cualquier caso las pérdidas económicas para el sector son muy importantes.

Según lo expuesto, cobra un especial interés realizar estudios encaminados a mejorar la eficiencia de uso de los fertilizantes nitrogenados en cítricos que incidan en un abaratamiento de los costes de producción sin detrimento del crecimiento y/o la producción de este cultivo.

### **1.2.2 Coste energético de los fertilizantes**

Directamente relacionado con el coste económico de los fertilizantes se encuentra el coste energético derivado de su producción industrial. El cambio climático y el calentamiento global al que se está viendo sometido el planeta, ponen de manifiesto la importancia que

reviste disminuir el consumo energético en nuestra sociedad. Sin embargo, el sector agrícola presenta una tendencia creciente en el consumo de energía, con los consiguientes efectos negativos sobre la competitividad de los propios productos, que ven incrementados sus costes de producción, y sobre el medio ambiente, debido a un incremento de las emisiones. Así, el consumo energético en agricultura engloba no sólo a las energías primarias utilizadas directamente en el proceso productivo, como el gasóleo para los tractores o la electricidad empleada en el bombeo de agua de riego o en instalaciones ganaderas, sino que incluye a su vez el coste energético derivado de la fabricación, almacenamiento y transporte de las materias primas utilizadas en la agricultura. Estudios recientes en trigo, cebada, girasol y colza, muestran que el consumo medio de gasóleo representa más del 25% del total del consumo energético del cultivo, mientras que el consumo medio de fertilizantes, especialmente nitrogenados, representa más del 60% del total de energía utilizada en el cultivo (MITYC, 2007).

Por otro lado, el coste energético derivado de la fabricación industrial de los distintos fertilizantes minerales nitrogenados es elevado, especialmente si se compara con el de los fertilizantes de fósforo o potasio que requieren entre cuatro y cinco veces menos energía (MITYC, 2007). Esto se debe a que la industria de fertilizantes nitrogenados minerales se fundamenta en la síntesis química del amoníaco mediante el método denominado Haber-Bosch, proceso por el cual reaccionan el nitrógeno e hidrógeno gaseosos a elevadas presiones (300 atm) y temperaturas (400-600 °C), con el consiguiente consumo energético. Así, la síntesis de abonos nitrogenados requiere de entre 45 MJ·kg<sup>-1</sup> de N, cuando se trata de nitrato amónico cálcico, nitrato amónico o sulfato amónico, a 65 MJ·kg<sup>-1</sup> en el caso de obtención de urea (Audesley, 1997).

Considerando que los fertilizantes nitrogenados suponen más de la mitad del coste energético de los cultivos y del elevado consumo energético derivado de su fabricación, resulta por este motivo de especial importancia reducir al máximo su uso en las explotaciones agrarias y utilizarlos lo más eficientemente posible, con el fin de disminuir el coste energético asociado a la actividad agraria. En este contexto el Instituto para la Diversificación y Ahorro de la Energía (IDAE), en colaboración con el Ministerio de Industria, Turismo y Comercio (MITYC), el Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino (MARM) y las Comunidades Autónomas, aplicó el Plan de Acción 2008-2012 de la Estrategia de Ahorro y Eficiencia Energética. Este Plan prevé en el contexto agrícola medidas de formación, información y difusión de técnicas y tecnologías de eficiencia energética en el sector, y hace especial hincapié en alternativas que permitan reducir el uso de abonos nitrogenados o bien un uso eficiente de los mismos.

### 1.2.3 Contaminación por nitratos

Un aspecto derivado de la fertilización nitrogenada, es la contaminación de los acuíferos por el ion nitrato procedente de estos fertilizantes, como consecuencia de un uso abusivo o incorrecto de éstos.

#### 1.2.3.1 Origen del nitrato en las aguas subterráneas

Los nitratos se hallan presentes de forma natural en la gran mayoría de las aguas, siendo por lo general su concentración variable y del orden de unos pocos  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (OMS, 1995). Los nitratos forman parte del ciclo del nitrógeno, se originan principalmente por la oxidación del nitrógeno orgánico por bacterias aerobias presentes en el suelo y en el agua. También pueden originarse por la fijación del nitrógeno atmosférico por ciertos grupos de bacterias, así como a través de la formación de óxidos de nitrógeno a partir del nitrógeno atmosférico que al reaccionar con la humedad ambiente forman ácidos, como el nítrico, que precipita con la denominada lluvia ácida (Manahan, 1994). Sin embargo, cuantitativamente los principales aportes de nitrato a las aguas subterráneas son de origen antropogénico. Los vertidos urbanos, industriales y procedentes de granjas de estabulación intensiva constituyen las principales fuentes puntuales de contaminación por nitratos de los acuíferos. Las fuentes puntuales de contaminación son relativamente fáciles de identificar y se caracterizan porque su impacto directo se localiza en áreas restringidas. No obstante, es la contaminación procedente de fuentes difusas la que provoca sin duda un mayor impacto, caracterizándose por la existencia de gran cantidad de puntos de entrada del contaminante al suelo, que ocupan en su conjunto grandes extensiones de terreno. Las principales vías de contaminación difusa de los acuíferos son la incorporación al suelo de fertilizantes y residuos orgánicos ganaderos, sobre todo en zonas de cultivo intensivo. Aproximadamente unas dos terceras partes del nitrato en las aguas subterráneas tiene una procedencia agrícola, lo que ha llevado a la identificación de la contaminación difusa con la producida por la agricultura (Genovés, 1993). Estudios más recientes llevados a cabo por la Agencia Europea de Medio Ambiente (AEMA, 2003), en los que se actualiza la información sobre la contribución de los diferentes sectores a la contaminación del agua, señalan que entre el 50 y 80 % de la carga total procede de la agricultura.

De las distintas formas de nitrógeno presentes en el suelo, solamente los nitratos son lavados y arrastrados en cantidades importantes, ya que son muy solubles y se mantienen en la solución del suelo al no ser fijados por el complejo de cambio (Singh y Kanehiro, 1969). En cambio, los iones amonio son fijados como cationes de cambio sobre el complejo arcillo-húmico, a excepción de los suelos arenosos, y únicamente son desplazados por el aporte de soluciones salinas; por otro lado, la mayor parte de los compuestos orgánicos nitrogenados tienen una solubilidad muy baja. Sin embargo, aunque los abonos minerales más utilizados son aquellos que tienen un alto contenido de N en forma de amonio (sulfato amónico y nitrato amónico), con escaso riesgo de lixiviación, estos iones sufren una oxidación gradual (nitrificación) por acción de las bacterias aerobias autótrofas del suelo (*Nitrosomonas* y *Nitrobacter*), convirtiéndose en nitrato en un período de entre 15 y 30 días. Es por ello, que aportes excesivos de agua de riego o episodios de intensas lluvias, provocan que la solución del suelo descienda a lo largo del perfil, pudiendo ser desplazada fuera del alcance de las raíces hasta encontrar un acuífero o desplazarse lateralmente hacia cauces superficiales a través de los sistemas de drenaje o de las galerías y fisuras naturales del suelo. Ejemplo de ello son las precipitaciones que se producen durante el otoño e invierno en el Mediterráneo occidental, coincidiendo con el período de letargo en frutales, que se caracteriza por una baja absorción radicular. La cantidad de nitratos percolados dependerá pues de la concentración de éstos en la solución del suelo siendo ésta a su vez dependiente de las cantidades aportadas con la fertilización y de la capacidad de los sistemas radiculares de absorberlos antes de que avancen a horizontes más profundos fuera de su alcance. Son numerosos los datos existentes en la bibliografía sobre las cantidades lixiviadas. Bingham *et al.* (1971) estimaron unas pérdidas de N por lixiviación de  $67 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{año}^{-1}$  en el cultivo de los cítricos en California, lo que representaba un 45% del total de N aplicado. Avinimelech y Raveh (1976) estimaron unas pérdidas promedio de 50 a  $127 \text{ kg N} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{año}^{-1}$ . Dasberg *et al.* (1984) estimaron pérdidas de más de  $50 \text{ kg N} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{año}^{-1}$  cuando se aplican dosis de entre  $100\text{-}180 \text{ kg N} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{año}^{-1}$ , lo que representa entre un 27-50% del N aplicado. Ramos *et al.* (2002), en estudios más recientes establecieron unos valores promedio de lixiviación de nitrato de entre  $150\text{-}300 \text{ kg N} \cdot \text{ha}^{-1}$  para los principales cultivos de la Comunidad Valenciana, siendo los cultivos de alcachofa, patata temprana y cebolla los que presentan, de acuerdo con estudios basados en simulaciones, mayores valores de lixiviación de nitrógeno.

De este modo, el nitrato excedentario lixiviado en las tierras agrícolas, origina la contaminación de los acuíferos subterráneos y aumenta el enriquecimiento en nutrientes de las aguas continentales e incluso marinas (eutrofización), provocando la proliferación de algas y microorganismos, rompiendo el equilibrio bioecológico (Greenwood, 1990). Este

incremento en el contenido en nitrato de las aguas subterráneas supone serias repercusiones tanto desde un punto de vista sanitario como económico. Concretamente, el exceso de nitrato en el agua es un peligro para su potabilidad, ya que la ingesta de agua con altos valores de nitrato puede ocasionar problemas de salud, siendo el principal efecto la producción de metahemoglobinemia. Es por ello que con el fin de prevenir esta afección, la OMS confirmó en 2004, como valor máximo orientativo  $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de nitrato en el agua de consumo; mientras que por lo que respecta a los efectos crónicos, se estableció la ingesta diaria admisible de nitratos en  $0\text{-}3,65 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  de peso corporal y día (WHO, 2004). Por otro lado, el hecho de que el agua subterránea constituya en muchos casos la fuente principal de agua potable de la población, unido a la dificultad y elevado coste de potabilización de las aguas afectadas, incrementan considerablemente la magnitud de este problema. En España, las aguas subterráneas abastecen al 40% de la población (Varela, 1991). Este porcentaje es aún mayor en la Comunidad Valenciana, donde el 88% de los municipios, lo que equivale a un 54% de la población, se abastece de aguas subterráneas (ITGE, 1996).

Una cuidadosa selección de la dosis y tipo de abono nitrogenado, una correcta distribución temporal de la dosis, evitando los meses de máxima precipitación y un manejo del riego preciso son factores de gran importancia para incrementar la eficiencia de absorción del N y por tanto para reducir las pérdidas de nitrato por lixiviación (Syvertsen y Smith, 1996; Alva y Paramasivam, 1998; Alva *et al.*, 2003b).

### 1.2.3.2 Situación actual en la UE, España y Comunidad Valenciana

En general, la situación de los nitratos en las aguas subterráneas de los países de la Unión Europea no mejoró durante la década de los 90, superándose el valor límite de nitrato en aproximadamente un tercio de la masa de aguas subterráneas controladas (AEMA, 2005). Por lo que respecta a España, según datos publicados por el MARM (MARM, 2008), las demarcaciones hidrográficas que presentan un mayor porcentaje de estaciones de control en las que se supera el límite de  $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , son las de Guadiana y Guadalquivir y en menor medida Ebro, Júcar, Tajo y Segura.

En la Comunidad Valenciana la contaminación por nitrato ha adquirido una gran relevancia en los últimos años, como consecuencia de las altas concentraciones de este ion en las aguas subterráneas de la zona litoral. En un estudio realizado por Legaz y Primo-Millo (1992) en pozos de la Comunidad, se observó que el porcentaje de pozos con concentraciones de nitrato mayores de  $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  superaba el 60%; asimismo, el

porcentaje de pozos cuya concentración de  $\text{NO}_3^-$  excedía de  $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  aumentó del 33% al 50% entre los años 1985 y 1990. Este incremento únicamente se observó en los pozos situados en las zonas citrícolas, por lo que, según proponen estos autores, es la fertilización de los cítricos la principal responsable de la contaminación de las aguas subterráneas.

Las zonas más afectadas por la contaminación por nitratos en la Comunidad corresponden a las áreas costeras en las que se desarrolla una agricultura intensiva de regadío (Plana de Castelló, L'Horta, La Ribera y La Safor), donde aproximadamente el 75% de este nitrato procedería de los fertilizantes nitrogenados (Sanchís, 1991). Según datos del Instituto Geominero de España (ITGE, 1996), en el ámbito de la Comunidad, la no potabilidad del agua por la presencia del ión nitrato afecta notablemente a la cuenca hidrográfica del Júcar. En esta cuenca, si bien en los acuíferos mesozoicos del interior, donde la población no es muy elevada, las aguas son aptas para todo uso, en las zonas litorales, y sobre todo en los acuíferos más superficiales, las aguas están en muchos casos degradadas y no pueden ser utilizadas para uso humano. Concretamente se ven notablemente afectados los sistemas de explotación: Mijares-Plana de Castellón, Palancia y los Valles, Turia, Júcar, Serpis y Marina Alta.

### 1.2.3.3 Marco legislativo

En el contexto descrito, la UE ha establecido una normativa sobre la gestión y la calidad del agua, siendo la Directiva de Nitratos (91/676/CEE) y la Directiva Marco del Agua (2000/60/CE) las que afectan especialmente a las actividades agrarias. Con la Directiva de Nitratos, relativa a la protección de las aguas contra la contaminación producida por nitratos utilizados en la agricultura, se establece un marco de medidas dirigidas a reducir y prevenir la contaminación directa o indirecta de las aguas por nitratos utilizados en la agricultura. Entre estas medidas se incluye la obligación por parte de los países miembros, de definir las zonas contaminadas o vulnerables y las que contribuyen a la contaminación, así como elaborar códigos de buenas prácticas y programas de acción dirigidos a reducir este problema en las zonas catalogadas como vulnerables. Los Estados miembros están obligados a examinar y revisar las zonas vulnerables a los nitratos al menos cada cuatro años, en función de los resultados del control de las aguas, así como a presentar un informe a la Comisión sobre las zonas vulnerables a los nitratos designadas, los códigos de buenas prácticas agrarias implementados, los resultados del control del agua y un resumen de los aspectos pertinentes de los programas de acción elaborados con relación a dichas zonas.

Mediante la Directiva Marco del Agua, trasladada al ordenamiento jurídico estatal a través del texto refundido de la Ley de Aguas (Real Decreto Legislativo 1/2001), la Unión Europea organiza la gestión de las aguas superficiales, continentales, de transición, aguas costeras y subterráneas, con el fin de prevenir y reducir su contaminación, fomentar su uso sostenible, mejorar la situación de los ecosistemas acuáticos y paliar los efectos de las inundaciones y de las sequías. Con esta normativa se tiende a gestionar de manera integrada el agua disponible dentro de su ciclo natural. De este modo, el buen estado químico y cuantitativo, tanto de las aguas superficiales como subterráneas, se considera no sólo garantía de recurso sino de sostenibilidad ambiental. Para ello, esta Directiva define estándares de calidad y establece entre otras, medidas específicas para la reducción progresiva de los vertidos de sustancias prioritarias, con fechas límite para que todas las aguas tengan una calidad apropiada. Entre las sustancias contaminantes prioritarias (Anexo X de la Directiva) se incluyen las sustancias que contribuyen a la eutrofización, incidiendo de manera especial en los nitratos y fosfatos.

Posteriormente, y en el ámbito de la Directiva Marco del Agua, se ha aprobado la Directiva 2006/118/CE, relativa a la protección de las aguas subterráneas contra la contaminación y el deterioro. En dicha Directiva, se incluyen criterios para determinar el grado de contaminación de las aguas subterráneas, así como los procedimientos de evaluación del estado químico de las mismas. El plazo máximo de transposición de la Directiva 2006/118/CE a la normativa interna de los Estados miembros quedaba fijado para el 2009. En España, la transposición ha sido llevada a cabo mediante Real Decreto 1514/2009, de 2 de octubre, por el que se regula la protección de las aguas subterráneas contra la contaminación y el deterioro.

#### 1.2.3.4 Consecuencias de la política comunitaria

Como resultado de la aplicación de la Directiva Marco del Agua, en el año 2005, los Estados miembros presentaron ante la Comisión un análisis de las características de cada demarcación hidrográfica, un estudio de la incidencia de la actividad humana sobre las aguas, un análisis económico del uso de las mismas y un registro de las zonas que necesitan una protección especial (Zonas Vulnerables). En España, la aplicación de la legislación sobre calidad del agua ha supuesto entre otros, un avance en el tratamiento de aguas residuales urbanas, aunque la Directiva de Nitratos ha llevado un gran retraso en España y en otros países comunitarios. La Directiva de Nitratos sólo regula las aguas subterráneas, y su aplicación por parte de las Comunidades Autónomas se ha hecho con retraso y bajo la amenaza de penalizaciones. El enfoque de las medidas ha sido reducir al

máximo el número de Zonas Vulnerables y las exigencias sobre las prácticas contaminantes de los agricultores. La nueva Directiva Marco del Agua ha extendido la protección de los acuíferos a todas las aguas, y fija un objetivo de cumplimiento obligatorio en el que se debe alcanzar un "buen estado de las aguas" y unos precios del agua que fomenten la conservación e incorporen los costes medioambientales.

De acuerdo con el informe presentado por la Comisión en 2007, sobre la aplicación de la Directiva de Nitratos en el período de 2000-2003 (COM (2007) 120 final), las zonas vulnerables pasaron del 36 % del territorio de la UE-15 en 1999 al 44 % en 2003. La calidad de las aguas subterráneas ha tendido a mejorar o estabilizarse; no obstante, se ha observado un aumento de la contaminación en el 36 % de las estaciones de control, y el 17 % de las zonas evaluadas muestra todavía una concentración de nitratos superior al límite de  $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . Asimismo, la calidad de las aguas de superficie sigue mejorando o estabilizándose en la mayor parte de zonas controladas.

Un indicador de la presión del nitrógeno procedente de fuentes agrícolas es el «balance bruto de nutrientes», que representa la diferencia entre la aportación de nitrógeno (de fertilizantes minerales, estiércol, deposición atmosférica, fijación por cultivos leguminosos y otras fuentes de menor importancia) y la salida de nitrógeno (absorción por los cultivos, las praderas y los cultivos forrajeros) por hectárea de tierra agrícola utilizada. Según los cálculos realizados por la Agencia Europea de Medio Ambiente (AEMA), en 2000 el balance de nitrógeno bruto en la UE-15 fue de  $55 \text{ kg ha}^{-1}$ , lo que representa un descenso del 16% comparado con 1990, con valores comprendidos entre los  $37 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  de Italia y  $226 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  de los Países Bajos. El excedente en el balance de nitrógeno bruto se redujo en todos los Estados miembros, excepto Irlanda y España (AEMA, 2005).

Así pues, se puede observar que las acciones de la política comunitaria encaminadas a reducir el impacto contaminante del nitrato en las aguas subterráneas y superficiales han progresado ligeramente en los últimos años y debería contribuir a la mejora de la calidad del agua en los futuros periodos. No obstante, serán precisos nuevos esfuerzos para mejorar las designaciones y la calidad de los programas de acción si se desea alcanzar plenamente los objetivos de las Directivas con respecto a la calidad del agua.

Es indudable que los fertilizantes nitrogenados son actualmente necesarios en nuestra sociedad, después del agua y la temperatura se pueden considerar como el tercer factor en importancia. Pero como sucede con otros inputs, tales como la energía o el agua, son bienes escasos que hay que manejar de forma eficiente, tanto en su producción como en



su aplicación, en el marco de las políticas europeas de desarrollo sostenible y respeto al medio ambiente. En vista del elevado coste económico y energético de los fertilizantes minerales nitrogenados y del posible impacto ambiental derivado de un uso incorrecto o abusivo de éstos, resulta de especial interés toda información que permita utilizarlos lo más eficientemente posible, reduciendo al máximo su uso en las explotaciones agrarias, sin dejar de lado la rentabilidad que los cultivos deben proporcionar al agricultor. De ahí que reviertan un especial interés todos aquellos estudios para optimizar la dosis y la época de aplicación del mismo, con el fin de minimizar los riesgos derivados de la fertilización nitrogenada.

## **1.3 FERTILIZACIÓN NITROGENADA EN EL CULTIVO DE LOS CÍTRICOS**

### **1.3.1 Importancia económica y distribución geográfica de los cítricos**

Los cítricos se cultivan desde hace más de 4.000 años, los ancestros de las especies del género *Citrus* provienen del sureste asiático, concretamente, el cidro (*Citrus medica* L.) del noreste de India y Birmania, la zamboa (*Citrus grandis* (L.) Osb.) del sureste de China, Indochina y Malasia, y el mandarino (*Citrus deliciosa* Ten.) del sureste de China (Zaragoza, 2007). En la actualidad su cultivo se extiende por la mayor parte de las regiones tropicales y subtropicales comprendidas entre los paralelos 44° N y 41° S (Agustí, 2003).

Desde el punto de vista económico, este cultivo posee una gran relevancia ya que presenta las mayores producciones en el grupo de las frutas, superando la de plátanos, manzanas y peras. En la campaña 2006/07 la producción citrícola mundial fue de  $94,8 \cdot 10^6$  Mg, siendo los principales productores: Brasil y China con  $21,0 \cdot 10^6$  Mg, EEUU con  $10,0 \cdot 10^6$  Mg, México con  $7,0 \cdot 10^6$  Mg, India  $6,3 \cdot 10^6$  Mg y España con  $5,1 \cdot 10^6$  Mg (FAO, 2009). Sin embargo, a diferencia de China, Brasil o EEUU, que dedican su producción al consumo interno o a la fabricación de zumos, la producción española ha estado siempre muy ligada a la exportación de fruta fresca. En la actualidad, España destina aproximadamente el 51% de la producción a la exportación, convirtiéndose en el primer exportador mundial de cítricos para su consumo en fresco (MARM, 2008). Los países productores de la cuenca mediterránea (zona CLAM) representan aproximadamente el 20% de la producción mundial ( $19,6 \cdot 10^6$  Mg) y el 54% de las exportaciones mundiales de cítricos frescos ( $6,0 \cdot 10^6$  Mg). España es el principal país exportador de la zona CLAM, habiendo pasado de

un 35% de cuota de mercado en el conjunto de países de la zona, en la década de los ochenta, a un 50% en las últimas campañas. Este incremento en el volumen exportado no se debe a los incrementos del rendimiento por hectárea, sino al aumento del porcentaje de producción exportada y, en el caso de las mandarinas, al incremento de la superficie (Estruch, 2007).

Durante las últimas décadas, si bien las naranjas han ido reduciendo su peso en la citricultura española, al tiempo que las mandarinas incrementaban su relevancia, constituyen todavía el grueso de la producción cítrica. Del total de la producción el 51,7% son naranjas, mayoritariamente del grupo Navel, mientras que el 37,5% son mandarinas, fundamentalmente clementinas, y el resto limones y otros cítricos (MARM, 2008). Sin embargo, la contribución relativa de las mandarinas al total de las exportaciones españolas (50,6%) es superior a las naranjas (38,8%). La Comunidad Valenciana, con una producción total de cítricos de  $3,1 \cdot 10^6$  Mg (CAPA, 2008) representa la principal productora, 78,2% de la producción nacional de mandarina y el 52,3% de naranjas.

España presenta una superficie de unas 274.000 ha en producción (MARM, 2008), lo que representa el 9% de la superficie de regadío y el 1,2% de la superficie agraria útil. La producción cítrica se encuentra localizada en cuatro comunidades autónomas: Comunidad Valenciana (Alicante, Castellón y Valencia), Andalucía (Almería, Córdoba, Huelva, Málaga y Sevilla), Murcia y Cataluña (Sur de Tarragona). La superficie se encuentra distribuida entre ellas de una forma muy heterogénea, siendo la Comunidad Valenciana (con un 65%) la que, con 178.000 ha, más superficie posee, a pesar de la fuerte expansión que se ha producido en el resto de zonas. Del total de la superficie, el 45% se dedica a la producción de naranja y el 38% a mandarinas. La producción de naranja se encuentra localizada fundamentalmente en la Comunidad Valenciana (56%) y Andalucía (35%); mientras que la producción de mandarina se concentra mayoritariamente (82%) en la Comunidad Valenciana. Cabe destacar la reducción progresiva que viene registrando el cultivo del naranjo las últimas décadas, mientras que la superficie de mandarinos se ha duplicado. Este incremento es consecuencia no sólo de la puesta en cultivo de nuevas superficies sino, especialmente, de un importante proceso de reconversión varietal. Ejemplo de este cambio de orientación cítrica lo constituye la Comunidad Valenciana, en la que mientras la superficie cítrica ha crecido menos de 9.000 ha, la destinada a mandarinos ha incrementado en 47.000 ha (Estruch, 2007).

### 1.3.2 Incidencia de la fertilización nitrogenada en los cítricos

Los cítricos se cultivan sobre una amplia gama de tipos de suelos, de modo que la disponibilidad y los niveles inherentes de nutrientes varían en gran medida. El tipo de nutrientes y las cantidades requeridas son naturalmente función del tipo de suelo, región de cultivo y carga de la cosecha. En la mayoría de las zonas, se necesitan nutrientes suplementarios para obtener un crecimiento y rendimientos comercialmente aceptables. En la mayoría de estos suelos, sin embargo, es necesario suplementar principalmente el nitrógeno porque se lixivia fácilmente (Davies y Albrigo, 1999).

#### 1.3.2.1 El papel del nitrógeno en los cítricos

El nitrógeno es particularmente importante para el desarrollo y crecimiento apropiado de los cítricos, puesto que tiene una influencia mayor que otros nutrientes en el crecimiento, así como en la floración, cuajado, productividad y calidad de la cosecha. Así, una ligera variación en el contenido de N de la planta, tiene mayores repercusiones en la producción y calidad de la cosecha de las que tendría la misma variación en el contenido de cualquier otro elemento (Smith, 1966). Son por lo tanto necesarias cantidades adecuadas de N que aseguren un nivel óptimo de este nutriente en la planta, para lograr un crecimiento y rendimientos comerciales aceptables. Legaz *et al.* (1995b) establecieron los análisis foliares como una referencia indispensable para determinar el estado nutritivo de las plantaciones de cítricos, al ser las hojas muy sensibles a los cambios de composición del medio nutritivo. De acuerdo con estos autores el nivel óptimo de N foliar, determinado en hojas correspondientes a la brotación de primavera, se encontraría entre 2,51 y 2,80% en naranjos y algo inferior en mandarinos clementinos (2,4 a 2,7%). Los niveles óptimos de N foliar generalmente oscilan entre 2,5 y 2,7% en la mayoría de los cultivares (Smith, 1966). Valores foliares similares (2,4-2,8%) para hojas de primavera de 4-6 meses de edad han sido establecidos por Alva *et al.* (2006a) para árboles adultos de naranjo Hamlin (*Citrus sinensis* (L.) Osb). En cualquier caso, se deberá sin embargo tener en cuenta que la concentración de N foliar dependerá de diversos factores, como la edad, tipo y posición de la hoja, combinación injerto-patrón, producción, estado fitosanitario etc. De este modo el contenido foliar en N suele ser mucho más alto en árboles jóvenes sin fruta, especialmente recién trasplantados del vivero, que en árboles maduros.

La carencia de N, valores foliares inferiores al 2,2% en clementinos (Legaz *et al.*, 1995b), se caracteriza por una pérdida del color verde intenso de la hoja, amarilleamiento que se hace más acusado en los nervios y que va acompañado de una reducción en el tamaño de

las mismas, manifestándose con mayor intensidad en las ramas portadoras de frutos. La hoja llega a estar totalmente pálida a diferencia de la clorosis internervial que ocurre por deficiencia de otros nutrientes. Los árboles presentan un escaso vigor y poco follaje, con tendencia a producir floraciones copiosas que originan una reducción del número y tamaño de los frutos recolectados y por lo tanto una menor producción; los frutos presentan una piel más fina y con tendencia a colorear anticipadamente (Legaz *et al.*, 2000; Agustí, 2003). Sin embargo, en la zona de levante, debido a la riqueza de los suelos y al alto contenido en  $\text{NO}_3^-$  de las aguas de riego, resulta difícil encontrar dicha sintomatología (Amorós, 1999). Por otro lado, el exceso de N se presenta con valores foliares superiores al 2,9% para clementinos (Legaz *et al.*, 1995b), se traduce en árboles con un gran desarrollo, con hojas grandes y de color verde intenso. Los frutos presentan una piel gruesa, con bajo contenido en zumo y con un retraso en su coloración (Smith, 1966).

### 1.3.2.2 Efecto del nitrógeno sobre la producción y calidad del fruto

Es de especial relevancia el papel del nitrógeno en el desarrollo de los frutos cítricos. Una adecuada disponibilidad de N durante los estados críticos de cuajado e inicio del desarrollo del fruto es básica para conseguir una óptima producción y de calidad (Syvertsen y Smith, 1996; Davies y Albrigo, 1999). Es sabido, que la fertilización constituye una práctica cultural influyente en la determinación del tamaño final y la calidad del fruto en los agríos. El número de frutos cuajados y su tamaño, determinantes en la cosecha, están afectados de forma diferente por el nitrógeno, el fósforo y el potasio (Primo-Millo, 1993). Sin embargo, se deberá tener en cuenta que la fertilización por sí misma no es suficiente para aumentar la productividad y calidad del fruto, salvo que el único factor restrictivo de las mismas lo constituya una nutrición deficiente, permaneciendo todos los demás factores (endógenos y exógenos) en condiciones óptimas (Agustí, 2003).

Numerosos investigadores han estudiado el efecto que la fertilización nitrogenada y potásica tiene sobre la producción y calidad del fruto en cítricos. Concretamente el incremento del contenido foliar de N se ha relacionado con una disminución en el diámetro de los frutos. Koo (1988a) relacionó el incremento en la dosis de N aplicada con una disminución en el tamaño del fruto, peso y espesor de corteza, así como con un incremento en la acidez del zumo. En experimentos llevados a cabo por Du Plessis y Koen (1988), tras abonar árboles adultos con nitrato amónico y cloruro potásico durante 5 años, se observó que al incrementar los niveles de N en hojas la producción en  $\text{kg}\cdot\text{árbol}^{-1}$  de frutos pequeños (<63 mm diámetro) aumentaba, mientras que aumentando las dosis de potasio (K) se obtenía el efecto contrario. Sin embargo, aunque el efecto sobre la

producción total ( $\text{kg}\cdot\text{árbol}^{-1}$ ) es relativamente pequeño, el aumento de frutos de menor tamaño tiene una gran trascendencia sobre el valor de la producción debido a la escasa aceptación que los calibres pequeños tienen en el mercado. La relación N/K adecuada dependerá por tanto del objetivo buscado, bien maximizar la producción o bien obtener una producción de calibre óptimo. Legaz *et al.* (2000) obtuvieron una respuesta similar al estudiar el efecto del incremento del nivel foliar de nitrógeno sobre la producción, calidad del fruto y nutrición de la planta en naranjos y clementinos. Estos autores indican que con niveles foliares inferiores al 2,4%, aportes crecientes de N incrementan el peso y, sobre todo, el número de frutos cuajados; esto conlleva a un aumento considerable de la cosecha. Sin embargo, con valores superiores al 2,5% de N foliar los incrementos obtenidos en la producción son pequeños debido a que se mantiene el aumento de número de frutos, pero éstos son de menor calibre.

En lo que respecta a la calidad externa del fruto, el color de la corteza en los cítricos es un factor de gran importancia en el mercado. La fertilización, y especialmente la nitrogenada, es uno de los factores modificables que tiene mayor influencia en el color de la corteza. Se ha observado que, en condiciones climáticas similares, el N ejerce un efecto diferencial sobre el color de la piel en el periodo de recolección. Así, según Legaz *et al.* (2000), valores crecientes de N se asocian a una intensificación del color verde, de modo que al aumentar el nivel foliar de N se retrasa ligeramente la época del cambio de color verde al anaranjado. Sin embargo, una vez se ha producido este cambio de color, el anaranjado de la piel se intensifica para concentraciones crecientes de N, sobre todo al pasar de valores deficientes a óptimos. En cuanto a la calidad interna del fruto estos autores comprobaron que la piel se hace más gruesa y rugosa con el incremento de N foliar, en estas condiciones el porcentaje de corteza y el rendimiento en zumo son adversamente afectados. Dasberg *et al.* (1984) estudiaron el efecto de diferentes dosis de nitrógeno (100, 180 y  $310 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{año}^{-1}$ ) aplicados en forma de nitrato amónico, sobre la producción y la calidad del fruto de naranjos Shamouti en riego localizado. Los resultados mostraron una clara relación entre la producción y la cantidad de nitrógeno aplicado. Concentraciones altas de nitrógeno producen una mayor cosecha pero dan lugar a frutos de corteza más gruesa y con un retraso en el cambio de color. La aplicación de  $170 \text{ kg N}\cdot\text{ha}^{-1}$  fue suficiente para mantener una buena cosecha sin las desventajas asociadas a dosis mayores. Sin embargo, la fertilización nitrogenada presenta efectos inconsistentes sobre el índice de madurez y el porcentaje de sólidos solubles y la acidez (Embleton *et al.*, 1973a; Legaz *et al.*, 2000).

Diversos autores han comprobado la incidencia que tienen sobre el fruto las distintas formas de nitrógeno. Así, con el fin de determinar la respuesta de los cítricos frente al

nitrógeno en forma nítrica y amoniacal, Serna *et al.* (1992) estudiaron la influencia en la producción y características del fruto de distintas relaciones  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  en soluciones nutritivas marcadas con  $^{15}\text{N}$ . Para ello, naranjos Hamlin de 4 años de edad cultivados en contenedores sobre un medio de arena inerte se fertilizaron durante un ciclo vegetativo con soluciones nutritivas con diferentes relaciones  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  (100/0, 75/25, 50/50, 25/75, 0/100). De los resultados obtenidos se dedujo que la fertilización amoniacal respecto a la nítrica produce mayor número de frutos, siendo éstos de menor tamaño y de corteza más fina. Asimismo se observó que con la fertilización amoniacal los frutos presentaban una menor acidez, mayor índice de madurez y mayor índice de color.

Sala *et al.* (1992) estudiaron la influencia de la fertilización nitrogenada en la evolución del color de la corteza de naranja Navelina así como la influencia de la cantidad y forma de N aplicado en los parámetros de calidad interna de los frutos. Estos autores tras estudiar diferentes combinaciones de los iones  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{NH}_4^+$  en las soluciones nutritivas, comprobaron que los frutos de árboles regados con la solución nítrico-amoniacal presentaban un mayor número de frutos de menor tamaño que aquellos regados únicamente con nitrógeno en forma nítrica. A su vez estos frutos mostraron una corteza más fina y con mayor coloración, el zumo presentó menor acidez y un mayor contenido en sacarosa, glucosa y fructosa en el flavedo y por lo tanto, mayor índice de madurez. Collado-Fernández (2000) realizó una experiencia con resultados similares en plantas jóvenes de Navelina en arena regadas con 2 soluciones nitrogenadas, una con el 100% del nitrógeno en forma de nitrato y la otra con el 50% de nitrógeno como nitrato y 50% como amonio. Observó que los frutos de las plantas fertirrigadas con nitrato amónico fueron más pequeños y con una corteza más fina que los abonados con nitrato. Legaz *et al.* (1992) obtuvieron resultados coherentes con los presentados por estos autores, de modo que al comparar la aplicación de una misma dosis de nitrógeno en forma de nitrato potásico y cálcico, sulfato amónico y urea, encontraron que los frutos de los árboles que recibieron el abono en forma nítrica presentaban un mayor espesor de corteza y acidez, mientras que disminuía su índice de madurez al compararlos con el resto de tratamientos.

Asimismo, se ha estudiado el efecto del momento de aplicación del N sobre el cambio de color de los frutos. Nakahara *et al.* (1973) obtuvieron, en árboles cultivados en arena, frutos con una buena coloración y un contenido alto en azúcares cuando se aplicaron dosis bajas de N durante el inicio del ciclo vegetativo, que se incrementaron durante agosto y septiembre para nuevamente disminuir posteriormente. Mientras que los árboles que recibieron las mayores dosis durante los meses de junio y julio, o en octubre y noviembre presentaron frutos de peor coloración y menor contenido en azúcares. Sin embargo, cuando los árboles se cultivaron en campo, el aporte de N durante los meses de agosto y

septiembre supuso un retraso en el cambio de color (Iwakiri y Nakahara, 1981). En ensayos en campo Sala *et al.* (1992) tras aplicar soluciones nutritivas que contenían nitrógeno en forma nítrica y amoniacal encontraron un adelanto en el cambio de color en naranjas Navelina. Así, los árboles regados con una solución de amonio y nitrato presentaban frutos con un color menos verde y más naranja-amarillo que los frutos procedentes de árboles regados con una solución únicamente de nitrato, con independencia de la concentración de estos iones en la solución nutritiva. Este efecto fue mayor cuanto antes se aplicó la solución nítrico-amoniacal. Respuestas similares en el índice de color de los frutos, ante la aplicación temprana de abonos nitrogenados han sido obtenidas por otros autores. Quiñones *et al.* (2005) estudiaron el efecto conjunto de dos sistemas de riego (localizado vs. goteo), diferentes distribuciones estacionales (aporte temprano y tardío del grueso de la dosis) y distintos fraccionamientos de la dosis (bajo y alto) en naranjos Navelina adultos cultivados en suelo. Estos autores observaron que los aportes más retrasados indujeron un índice de color significativamente inferior al obtenido con aplicaciones tempranas. Estos resultados sugieren que el retraso en la aplicación de la dosis de N puede ocasionar un efecto negativo para las variedades tempranas, al producir un retraso en el cambio del color verde a anaranjado del fruto.

Estudios recientes (Alva *et al.*, 2006a) han demostrado sin embargo que los parámetros tanto de calidad externa del fruto como del zumo se mantuvieron constantes durante seis campañas al ensayar un amplio rango de concentraciones de N (112 a 280 kg N·ha<sup>-1</sup>·año<sup>-1</sup>) para un ratio N:P:K determinado. Esto es explicado por los autores por el efecto opuesto que el nitrógeno y el potasio tienen sobre la calidad del fruto, por tanto el incremento simultáneo de ambos nutrientes condujo a la ausencia de respuesta en la calidad del fruto para el rango de dosis estudiadas.

#### **1.4 USO DEL ISÓTOPO ESTABLE DEL NITRÓGENO (<sup>15</sup>N) EN EL ESTUDIO DE LA FERTILIZACIÓN NITROGENADA**

Los isótopos son átomos de un mismo elemento que difieren únicamente en el número de neutrones y por lo tanto en su masa atómica, manteniéndose idénticas sus propiedades químicas (Mateo *et al.*, 2004). Dentro de cada elemento, encontramos una familia de isótopos, algunos de ellos son radiactivos y tienden a degradarse emitiendo radiaciones de alta energía (isótopos inestables), mientras que otros son no radiactivos (isótopos estables). Los elementos más abundantes en la biosfera son C, H, O y N, siendo <sup>13</sup>C, <sup>2</sup>H (D), <sup>18</sup>O y <sup>15</sup>N sus respectivos isótopos estables de mayor interés en los estudios de ecofisiología.

La concentración de  $^{15}\text{N}$  en el aire es del 0,3663% (Junk y Svec, 1958; Mariotti, 1983) respecto al total de nitrógeno. Este valor es muy estable, con una variación de  $\pm 0,0004\%$  (Axmann y Zapata, 1990), por lo que dicha concentración, denominada abundancia natural, se emplea como estándar de referencia para el cálculo de la composición isotópica de las sustancias. La composición isotópica ( $\delta^{15}\text{N}$ ) es una medida de la abundancia de  $^{15}\text{N}$  presente en una sustancia respecto a la referencia del aire y se calcula de acuerdo con la expresión:

$$\delta^{15}\text{N}(\text{‰}) = \left( \frac{^{15}\text{N} / ^{14}\text{N}_{\text{sustancia}}}{^{15}\text{N} / ^{14}\text{N}_{\text{aire}}} - 1 \right) \cdot 1000$$

Donde  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  es la proporción en que el  $^{15}\text{N}$  se encuentra respecto al isótopo mayoritario  $^{14}\text{N}$ , en la sustancia en cuestión y en el aire (0,3663%). De este modo el valor de  $\delta^{15}\text{N}_{\text{aire}}$  es del 0 ‰ y en el resto de sustancias en la naturaleza presenta valores que oscilan entre -10 y +10 ‰ (0,3630-0,3670%). Factores de tipo cinético y termodinámico son los responsables de estas pequeñas variaciones, debido a que los isótopos pesados requieren una mayor energía de activación para disociarse y además reaccionan más lentamente. Este fenómeno se conoce con el término de fraccionamiento o discriminación isotópica.

La existencia del  $^{15}\text{N}$  fue demostrada en 1929, sin embargo, su aplicación ha sido más intensa en las tres últimas décadas mediante la implantación de metodologías que utilizan la espectrometría de masas de flujo de isótopos (Middelboe y Johansen, 1990). La composición isotópica del nitrógeno ( $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ) se viene empleando para recabar información de tipo estructural o funcional tanto en los ecosistemas naturales como agrarios. Para ello se recurre a dos técnicas principalmente, la de la abundancia natural y la de enriquecimiento en  $^{15}\text{N}$ . Los estudios basados en la técnica de la abundancia natural analizan la variabilidad natural en la composición isotópica de las sustancias nitrogenadas, en los distintos compartimentos de un ecosistema, tomando como unidad de medida las variaciones del  $\delta^{15}\text{N}$ . Así el nitrógeno del suelo está normalmente enriquecido en  $^{15}\text{N}$  respecto al de la atmósfera (Shearer *et al.*, 1978), encontrándose gran variabilidad entre los diferentes horizontes (Tiessen *et al.*, 1984), de modo que los horizontes minerales están siempre enriquecidos respecto a los horizontes orgánicos superficiales. Por otro lado, fenómenos como la desnitrificación, provocan un enriquecimiento en  $^{15}\text{N}$  debido a la liberación preferente del  $^{14}\text{NO}_2$  o del  $^{14}\text{N}_2$ . Asimismo, en suelos con una elevada concentración de amonio (campos fertilizados o con pH neutro o alcalino), también se observa un enriquecimiento en  $^{15}\text{N}$  debido a la volatilización preferencial del  $^{14}\text{NH}_3$  (Shearer y Kohl, 1989). En las plantas, también se produce fraccionamiento isotópico asociado a los



procesos de asimilación de  $\text{NO}_3^-$  o  $\text{NH}_4^+$ , la translocación hacia las hojas o el propio metabolismo del nitrógeno en el citoplasma. Este fraccionamiento disminuye con la edad de la planta y con intensidades de luz crecientes, mientras que aumenta ante concentraciones crecientes de  $\text{NO}_3^-$ . Por lo que en general, en plantas adultas con crecimiento activo en un suelo con fertilidad normal y bajo irradiaciones moderadas, la discriminación del  $^{15}\text{N}$  durante la incorporación de  $\text{NO}_3^-$  es muy pequeña. En cuanto a la variabilidad entre órganos, ésta es mayor en especies leñosas de vida larga, así el tallo y las raíces suelen estar empobrecidas en  $^{15}\text{N}$  respecto a las hojas (Shearer y Kohl, 1989).

La técnica de enriquecimiento en  $^{15}\text{N}$  o dilución isotópica es una técnica de determinación elemental descrita hace ya más de 50 años. Se basa en la alteración intencionada de la abundancia isotópica del N en el sistema mediante la adición de una cantidad conocida de un compuesto nitrogenado con una abundancia isotópica alterada (enriquecido o empobrecido en  $^{15}\text{N}$ ), que se comporta de este modo como trazador. El estudio de la variación en la abundancia isotópica de los distintos compartimentos del sistema permite identificar el recorrido y las transformaciones del compuesto adicionado.

En la técnica de dilución isotópica es necesario tener en cuenta dos hipótesis de partida. En primer lugar, se asume que en las transformaciones biológicas del N en el sistema planta-suelo no se produce discriminación isotópica, es decir que tanto  $^{14}\text{N}$  como  $^{15}\text{N}$  participarán en los procesos (inmovilización, nitrificación, absorción por la planta, entre otros) manteniéndose en la misma proporción en que se encuentran de partida (Barraclough, 1995). Las experiencias llevadas a cabo hasta la fecha confirman la seguridad de esta hipótesis, siempre y cuando se trabaje con enriquecimientos que disten de la abundancia natural, lo cual para los enriquecimientos habitualmente utilizados en los estudios con trazadores (1-10% átomos en exceso) se cumple plenamente. En segundo lugar, y en especial en el caso de incorporación del trazador al suelo, debe asegurarse una incorporación lo más homogénea posible de éste con el suelo, con el fin de que no exista absorción preferencial del N originario del suelo o del incorporado con el fertilizante.

En el caso de muestras enriquecidas con el trazador isotópico, la unidad de medida que suele emplearse es el porcentaje de abundancia relativa del isótopo trazador  $^{15}\text{N}$  sobre el total del nitrógeno de la muestra, siendo suficiente una precisión analítica en torno al 0,005%, dependiendo del enriquecimiento. Los términos exceso de nitrógeno o enriquecimiento hacen referencia al porcentaje de  $^{15}\text{N}$  existente en la muestra sobre el porcentaje de  $^{15}\text{N}$  atmosférico (0,3663%).

Esta técnica se aplica en el estudio de los flujos del N siendo posible estimar las tasas de reciclado entre las fracciones minerales, microbianas, orgánicas, gaseosas y vegetales (Davidson *et al.*, 1990; Schimel, 1996). Concretamente, la técnica de enriquecimiento en  $^{15}\text{N}$  se ha empleado para estimar la tasa de fijación biológica de  $\text{N}_2$ , así como para cuantificar la contribución del N fijado por bacterias fijadoras (*Azospirillum*) al total del N absorbido por plantas inoculadas (El-Komy *et al.*, 2003; Meunchang *et al.*, 2006). Sin embargo, una de las aplicaciones más estudiadas es el uso de fertilizantes enriquecidos en  $^{15}\text{N}$  para evaluar la eficiencia en el uso de diferentes fertilizantes nitrogenados durante los distintos estados del desarrollo de plantas cultivadas (Bremner, 1965).

El conocimiento actual de la eficiencia de uso y dinámica de nutrientes no habría sido posible sin el uso de las técnicas isotópicas (Boutton, 1991a,b; Voroney *et al.*, 1991; Powlson y Barraclough, 1993; Stevenson y Cole, 1999). Éstas no sólo permiten determinar la absorción de un nutriente por el cultivo, sino también su destino. Sin embargo, el método de dilución de  $^{15}\text{N}$  presenta algunas desventajas, como son el alto costo tanto del fertilizante enriquecido como de los equipos analíticos y su mantenimiento, la reducción con el tiempo del enriquecimiento del suelo y la dificultad de lograr una distribución uniforme del mismo (Witty y Ritz, 1984).

## **1.5 ABSORCIÓN DEL NITRÓGENO Y EFICIENCIA**

### **1.5.1 Factores que afectan a la absorción de nitrógeno**

El conocimiento de las necesidades nutricionales de los distintos órganos de la planta así como las necesidades estacionales es esencial con el fin de establecer unas bases racionales para la fertilización. Son numerosos los trabajos en los que se ha estudiado la absorción del N así como la distribución de este elemento en los diferentes órganos de los cítricos y su relación con la productividad y calidad de la cosecha producida. El uso de fertilizantes enriquecidos con  $^{15}\text{N}$  ha permitido cuantificar exhaustivamente la absorción estacional de nitrógeno y su distribución en los distintos órganos de la planta, así como la translocación del N almacenado en los órganos viejos para el desarrollo de nuevos órganos en el subsiguiente ciclo de crecimiento.

Son varios los factores implicados en la absorción del N; además de los propios factores intrínsecos a la planta (vigor de la variedad, patrón, edad del arbolado), influirán las prácticas de manejo del riego y la fertilización. Dentro de las prácticas de la fertilización

destacan: la dosis de N, forma de N aportada, época de aplicación (temperatura y distribución estacional) y fraccionamiento (número de aplicaciones).

#### 1.5.1.1 Dosis de nitrógeno

Son numerosos los trabajos que recogen la respuesta de los cítricos a diferentes dosis de N (Reuther *et al.*, 1957; Stewart *et al.*, 1961; Jones y Embleton, 1967; Reese y Koo, 1974; Mungomery *et al.*, 1978; Maust y Williamson, 1994; Bañuls *et al.*, 1998, entre otros). En general en todos ellos se asocia el incremento de N aplicado con un mayor contenido de N foliar, sin embargo en lo que respecta al incremento de la producción con la dosis de N presentan resultados no consistentes. De acuerdo con una revisión realizada por Dasberg (1987), sería innecesario aplicar dosis que excedan los 200 kg·ha<sup>-1</sup> ya que las extracciones de N por el arbolado no suelen exceder los 150 kg N·ha<sup>-1</sup>, incluso para casos en los que la producción es muy elevada (850 Mg·ha<sup>-1</sup>).

Entre los trabajos más recientes, Alva *et al.* (2003a) en naranjos Hamlin jóvenes de 2 años estudiaron la interacción de 4 dosis de nitrógeno aplicadas en distintas formulaciones (granular, fertilizante de liberación lenta y líquido incorporado en el fertirriego). El porcentaje de N recuperado decreció considerablemente al incrementar la dosis de N aplicada, así mientras que para la dosis baja de N (108 g N·árbol<sup>-1</sup>) se recuperó el 26, 35 y 47% para el fertilizante granular, líquido y de liberación lenta, respectivamente, en los árboles que recibieron la dosis alta (652 g N·árbol<sup>-1</sup>) ésta se redujo a un 6, 13 y 11% respectivamente. Sin embargo hay que tener en cuenta que estos órdenes de magnitud están ampliamente sobreponderados, ya que estos autores para el cálculo del N recuperado han considerado el total de N en la planta en lugar del N absorbido del fertilizante. Mattos *et al.* (2006) en un estudio sobre la respuesta de diferentes combinaciones de patrón-variedad en naranjos jóvenes (<5 años) a la fertilización nitrogenada, observaron que únicamente incrementó la producción (22 a 38 Mg·ha<sup>-1</sup>) en las plantas sobre citrumelo Swingle (*Poncirus trifoliata* (L.) Raf. X *C. paradisi* Macfad.) con dosis crecientes de N (400 a 2200 g N·árbol<sup>-1</sup>). La ausencia de respuesta en las plantas sobre lima Rangpur (*Citrus limonia* Osb.) se debió, de acuerdo con los autores, a la mayor eficiencia de este patrón en la absorción del N, al mantener producciones elevadas con independencia de la dosis de N. En un trabajo realizado por Morgan *et al.* (2009) el aumento de la dosis aplicada de 140 a 270 kg·ha<sup>-1</sup> supuso un incremento de la producción de 44 a 55 Mg·ha<sup>-1</sup> en árboles adultos de naranjo Ambersweet (*Citrus reticulata* Blanco x *C. Paradisi* Macf. x *C. reticulata*) x naranja media estación *C. sinensis* (L). Osb.).

La dosis de N aplicada se relaciona directamente con parámetros químicos y fisiológicos. Así, en un estudio realizado en árboles jóvenes (Menino *et al.*, 2003) de naranjo Lane Late en el que se aplicaron dosis crecientes de N (20, 40, 80, 160 y 320 g N·árbol<sup>-1</sup>) se observó que el contenido foliar de N, la densidad de copa, la fotosíntesis neta, el contenido en clorofilas y el índice SPAD, se correlacionaban directamente con la dosis aplicada. Sin embargo, estos autores apuntan como dosis más apropiada la intermedia (80 g N·árbol<sup>-1</sup>) dado que no obtuvieron diferencias significativas en la respuesta de ésta con las dosis superiores. Asimismo, observaron una estrecha relación entre la dosis de N aportada y la intensidad de la floración así como con el contenido de este nutriente en las flores. Por lo que estos autores proponen el análisis de flores como herramienta para el diagnóstico nutricional de cítricos.

### 1.5.1.2 Forma del nitrógeno aplicado

Como se ha mencionado, el N se encuentra en el suelo como una compleja mezcla de compuestos orgánicos e inorgánicos, siendo los iones  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NO}_3^-$  las principales fuentes de N mineral disponibles para la nutrición de los cítricos. En general, las plantas también son capaces de absorber y utilizar el N orgánico, no siendo los cítricos una excepción. Al respecto, Kato *et al.* (1985a), mediante el uso de carbono marcado isotópicamente (<sup>14</sup>C) mostraron que los cítricos pueden absorber por el sistema radical aspartato, asparagina, prolina y arginina, transportarlos y metabolizarlos en los diferentes órganos para dar lugar a otros compuestos aminados. Sin embargo, son el nitrato y el amonio las principales formas en que las plantas absorben el N.

La mayor parte de las plantas, pueden utilizar indistintamente  $\text{NH}_4^+$  o  $\text{NO}_3^-$  como fuente de nitrógeno (Hageman, 1992). En los cítricos, tanto el nitrato como el amonio son susceptibles de ser absorbidos, sin embargo, la respuesta a la pregunta de en cuál de estas dos formas absorben el N mayoritariamente, varía en función de numerosos factores como la composición iónica del medio, el pH, la temperatura, la luz, la disponibilidad de carbohidratos (Kato, 1986). Sin embargo, es el medio de cultivo (hidropónico o con suelo) en el que se encuentre la planta el que influye en mayor medida en la absorción relativa de ambos iones. Wallace (1953) estudió la absorción de los iones amonio y nitrato marcados con <sup>15</sup>N en plantas enraizadas de naranjo Valencia y limonero Eureka (*Citrus limon*). En los cultivos efectuados en arena y en medio hidropónico, la absorción de amonio fue ligeramente superior a la de nitrato en los naranjos en un período experimental de 48 horas. Sin embargo, cuando las plantas se cultivaban en suelo, la absorción de nitrato fue de 2 a 5 veces superior a la del amonio. Parece por tanto, que en

condiciones de cultivo hidropónico, los cítricos absorben más amonio que nitrato; mientras que en cultivo con suelo es el nitrato el que se absorbe preferentemente. Esta preferencia por el  $\text{NH}_4^+$  en condiciones de cultivo sin suelo es, probablemente, debido a que su absorción y asimilación requieren un menor gasto de energía que el ion  $\text{NO}_3^-$ . El mayor coste energético para absorber el  $\text{NO}_3^-$  es debido al bombeo activo de  $\text{H}^+$  desde el interior de las células radiculares. El gradiente de  $\text{H}^+$  generado por la actividad de la  $\text{H}^+$ -ATPasa del plasmalema es utilizado para introducir en las células radiculares los iones  $\text{NO}_3^-$  (Cerezo *et al.*, 2000; Cerezo 2001 y Cerezo *et al.*, 2007). Posteriormente, el  $\text{NO}_3^-$  debe reducirse a  $\text{NO}_2^-$  por la acción de la nitrato reductasa y posteriormente a  $\text{NH}_4^+$  asimilable, por la nitrito reductasa (Bloom *et al.*, 1992). Esta reducción en los cítricos parece llevarse a cabo principalmente en las hojas (Kubota *et al.*, 1976a). Sin embargo el  $\text{NH}_4^+$ , absorbido aparentemente de manera pasiva, junto a los alfa-cetoácidos provenientes del ciclo de Calvin y en menor medida del ciclo de Krebs, da lugar a aminoácidos, principalmente glutamina en la raíz (Kato 1980, 1986), por la acción de la glutamina sintetasa y la glutamato sintasa (Suárez *et al.*, 2002), que son transportados a la parte aérea en el flujo de la transpiración.

En cultivo hidropónico parece claro que los cítricos absorben preferencialmente  $\text{NH}_4^+$ , sin embargo la proporción relativa en que absorben ambos iones viene determinada por distintos factores. En primer lugar, la relación de concentraciones que existe entre ambos, determinará la pauta de absorción. Serna *et al.* (1992) estudiaron la influencia de diferentes combinaciones de los iones  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{NH}_4^+$  (100/0, 75/25, 50/50, 25/75, 0/100) en las soluciones nutritivas sobre la absorción de nitrógeno en cítricos cultivados en medio hidropónico. Estos autores observaron pautas de absorción diferentes según la fuente de nitrógeno, así mientras la absorción de nitrato se saturaba a 120 ppm de  $\text{N-NO}_3^-$  la de amonio no lo hacía hasta 240 ppm de  $\text{N-NH}_4^+$ . Asimismo comprobaron que la adición de cantidades crecientes de  $\text{NH}_4^+$  (15-60 ppm de N) a soluciones nutritivas con un contenido constante de nitrógeno en forma de  $\text{NO}_3^-$  (120 ppm) redujo la absorción de  $\text{NO}_3^-$  por la planta, debido posiblemente a un efecto directo de competitividad o a un efecto indirecto a través de la inhibición de la nitrato reductasa a concentraciones elevadas de  $\text{NH}_4^+$  (Frith y Nichols, 1975; Breteler y Siegerist, 1984).

El pH de la solución en hidroponía, por otro lado, también está relacionado con la absorción de un ion u otro. De acuerdo con Bowling (1976), los aniones se absorben con mayor rapidez que los cationes a partir de soluciones ácidas, produciéndose la situación contraria cuando el pH aumenta. Es por ello que la absorción del ion amonio aumenta a pH elevado, mientras que a pH bajo aumenta la absorción del ion nitrato. Sin embargo, Wallace y Mueller (1957) comprobaron que el efecto diferencial del pH sobre la absorción

relativa de amonio y nitrato depende de la concentración de nitrógeno en la solución nutritiva, de manera que si bien se observa un efecto discriminante del pH en la absorción con altas concentraciones de N en el medio (>112 ppm), este efecto es inapreciable cuando estos iones se encuentran en concentraciones inferiores a 70 ppm.

Otro de los factores que parece estar implicado en la absorción relativa de  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NO}_3^-$  por los cítricos cultivados sin suelo, es la temperatura de la solución. Sala y Cuñat (1982) aplicaron soluciones con diferentes relaciones de  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  (11:0, 9:2 y 6:5 meq  $\text{L}^{-1}$ ) a naranjos Washington Navel cultivados en arena. A temperaturas inferiores a 15 °C, los árboles que absorbían más nitrógeno eran los regados con la solución más rica en  $\text{NH}_4^+$  (45,5% de nitrógeno amoniacal). A temperaturas superiores, la mayor absorción de nitrógeno correspondió a la solución que contenía el 18,2% en forma amoniacal (81,8% en forma nítrica). Esto parece indicar que la temperatura puede afectar las relaciones de absorción de ambos iones. Sin embargo, estos autores observaron que con independencia de la temperatura del medio, la incorporación de N en forma amoniacal a la solución, suponía una mayor absorción de N total.

En cuanto al comportamiento en la planta de ambos iones, Kato (1980) en un marcado corto, durante 7 horas, en plantas jóvenes de mandarino satsuma (*Citrus unshiu* Marc.) observó la respuesta comparativa a una fertilización a base de amonio ( $^{15}\text{NH}_4^+$ ) o nitrato ( $^{15}\text{NO}_3^-$ ). En las plantas que recibieron el N en forma amónica la glutamina fue el principal aminoácido encontrado en las raíces fibrosas, a diferencia de los árboles fertilizados con nitrato en las que apenas se sintetizó, seguido por ácido glutámico, alanina y ácido aspártico; por otro lado la asparagina actuó como transportador del N a la parte aérea. En las hojas y frutos de las plantas fertilizadas con  $^{15}\text{NO}_3^-$  el enriquecimiento isotópico de los aminoácidos fue claramente superior que en las plantas fertilizadas con  $^{15}\text{NH}_4^+$ , siendo el  $\text{NO}_3^-$  como tal, seguido de glutamina, las formas que más  $^{15}\text{N}$  incorporaron procedente del fertilizante aplicado. En cambio, en las hojas y frutos de las plantas fertilizadas con  $^{15}\text{NH}_4^+$  fue la asparagina el aminoácido en que se incorporó el  $^{15}\text{N}$  en mayor medida. Esto sugiere pues que mientras el  $\text{NO}_3^-$  es la principal forma de transporte de N en los árboles que reciben fertilización nítrica, con la fertilización amoniacal esta función la desempeñaría la asparagina.

En cambio, en condiciones de cultivo con suelo, la absorción preferente de amonio no es tan evidente. Al igual que en cultivo hidropónico, la absorción relativa de  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NO}_3^-$  en cultivo con suelo depende de la concentración de N, la proporción de  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ , el pH (del suelo) y la temperatura (Hartman *et al.*, 1986; Criddle *et al.*, 1988); sin embargo también

será determinante el tipo de suelo, contenido en materia orgánica y composición en arcillas (Kato, 1986).

De forma general, se puede afirmar que en suelos bien aireados, con un pH próximo a la neutralidad, la nitrificación se produce rápidamente en primavera y verano, cuando la temperatura del suelo es lo suficientemente alta. Por ello, en estas estaciones, y coincidiendo con la época de mayor absorción radical, el  $\text{NO}_3^-$  es la principal forma de nitrógeno absorbible del suelo en las plantaciones de cítricos. Esta mayor absorción de la forma nítrica se debería según Embleton *et al.* (1973b) a que el N en forma de  $\text{NO}_3^-$  al ser soluble en la solución del suelo puede transportarse a la zona radical, por lo que puede ser absorbido por el árbol más rápidamente. La forma amoniacal puede quedar adsorbida a los coloides como  $\text{NH}_4^+$  de intercambio o fijado en las arcillas del suelo, principalmente en suelos en los que predominan filosilicatos secundarios del tipo 2:1, tales como vermiculita, illita y montmorillonita, por lo que vería dificultada su absorción por la planta (Feigenbaum *et al.*, 1994; Longeri *et al.*, 2001).

En un ensayo realizado por Legaz *et al.* (1992) con árboles adultos de clementina de Nules (*Citrus clementina* Hort. ex Tan.), se comparó durante 2 ciclos vegetativos la efectividad de una misma dosis de N aplicada en forma amoniacal (sulfato amónico), nítrica (nitrato cálcico) y ureica, mediante riego localizado a goteo. En ambos ciclos los árboles que recibieron el N en forma nítrica presentaron una concentración de N foliar superior que aquellos que fueron abonados con sulfato amónico; siendo los árboles fertilizados con urea los que presentaron la menor concentración de N.

Concretamente, referente al efecto de la temperatura, Clarkson y Warner (1979) encontraron que, entre 5 y 14 °C de temperatura ambiente, los niveles de absorción de  $\text{NO}_3^-$  son más sensibles a los cambios de este factor que los de  $\text{NH}_4^+$ . Las diferencias parecen deberse a una modificación del metabolismo de ambos iones en el interior de la célula que influye en la absorción de los mismos. Kato y Kubota (1982a) relacionan la absorción de los iones  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NO}_3^-$  con la temperatura a la que se encuentran las raíces, especialmente cuando la temperatura de éstas es inferior a 10 °C. La disminución de la absorción a temperaturas muy bajas parece ser debida a una menor fluidez en la membrana que conduce a una mayor resistencia al paso de los iones.

El efecto de la interacción entre las formas de N del fertilizante, la época de aplicación y el tipo de suelo en la absorción de N en cítricos fue estudiado por Martínez (2003), en una experiencia llevada a cabo en naranjos jóvenes (3 años) de la variedad Valencia late. En

ésta comparó la aplicación de sulfato amónico y nitrato potásico en dos tipos de suelo (arenoso y franco), realizando aplicaciones en primavera y verano. El contenido de N en el total del árbol, así como su distribución relativa en los diferentes órganos, no se vio afectado por el tipo de abono empleado. Sin embargo, el nitrato potásico aplicado en primavera se absorbió de forma más eficiente que el sulfato amónico, independientemente del tipo de suelo, encontrándose una eficiencia aún mayor si el nitrato potásico se aplicaba en verano. Asimismo, el porcentaje de N en los frutos y nuevas brotaciones procedente de los fertilizantes fue mayor en los árboles fertilizados con nitrato potásico.

Por último, cabe destacar que se han encontrado diferencias en las concentraciones de compuestos orgánicos e inorgánicos de los tejidos en función de la fuente de N. Las plantas que han recibido una nutrición fundamentalmente amoniacal presentan en sus tejidos menores concentraciones de cationes inorgánicos (calcio, magnesio y potasio) y ácidos orgánicos y mayores concentraciones de los elementos que se absorben principalmente como aniones (azufre, fósforo y cloruro) y compuestos aminados. Estas diferencias en la respuesta fisiológica a la fuente de N parecen estar relacionadas con fenómenos de antagonismo, de regulación del pH de los tejidos y con diferencias en los procesos metabólicos de reducción del nitrato y asimilación del amonio (Kirkby, 1981). Concretamente en un estudio realizado por Quiñones *et al.* (2007c) se observó que al aplicar cantidades crecientes de nitrato a plantas jóvenes de Clementina de Nules disminuía el cloruro absorbido; los autores justifican esta respuesta debido al efecto antagónico que presenta el ión nitrato frente al cloruro.

### 1.5.1.3 Época de aplicación y distribución estacional

El N es absorbido por los cítricos durante todo el año, inclusive los meses de otoño e invierno, si bien esta absorción no es constante a lo largo del ciclo. Chapman y Parker (1942) estudiaron la absorción semanal del ion  $\text{NO}_3^-$  en árboles jóvenes de Valencia Late cultivados a la intemperie en una solución nutritiva completa durante un período continuo de 3 años. De los resultados obtenidos concluyeron que la época de mínima absorción de los cítricos tiene lugar durante los meses de enero y febrero y la de máxima abarca el final de primavera, verano y principio de otoño. Estos observaron además una clara correlación entre la absorción de N y las temperaturas del aire y de la solución nutritiva. Roy y Gardner (1946) en Florida, obtuvieron resultados similares. Estos resultados fueron confirmados por Legaz *et al.* (1981) y Legaz y Primo-Millo (1984) mediante el empleo de fertilizantes marcados isotópicamente. Estos autores comprobaron que la absorción es mínima durante el invierno y escasamente aumenta durante el periodo que va desde el



comienzo de la brotación de primavera hasta la floración. Posteriormente, experimenta un marcado incremento durante el cuajado, siendo máxima en el momento inmediatamente después de la floración. Por último, disminuye de forma progresiva durante el otoño, hasta alcanzar un mínimo nuevamente durante el letargo. Esta cadencia estacional en la absorción de N se ha relacionado por algunos autores con la temperatura del suelo (Davies y Albrigo, 1999), siendo escasa la absorción de nitrógeno a temperaturas bajas del suelo (<12 °C). La disminución de la absorción a temperaturas muy bajas parece ser el resultado de una menor fluidez en la membrana citoplasmática y, por tanto, de una mayor resistencia al paso de los iones. Asimismo se ve una clara relación de la actividad de la nitrato reductasa en hojas y raíces fibrosas con la temperatura. La actividad de este enzima decrece drásticamente a temperaturas inferiores a 5 °C principalmente en las raíces fibrosas, lo que parece indicar una mayor resistencia de las hojas a las bajas temperaturas (Kato y Kubota, 1982a).

Si bien se relaciona el incremento total en el contenido de N de un árbol con una mayor absorción, es mediante el empleo de fertilizantes marcados como se cuantifica de manera inequívoca la cantidad de N absorbida y su relación con la temperatura. Wallace (1953) observó que la absorción de nitrógeno marcado con el isótopo  $^{15}\text{N}$  aumenta desde una temperatura del aire de 23 °C hasta los 32 °C, donde alcanza el máximo nivel, a partir de la cual la absorción disminuye. Legaz *et al.* (1981), en un estudio llevado a cabo en árboles de Valencia late de 5 años en arena a los que aplicaron pulsos de  $^{15}\text{N-NO}_3^-$  durante 5 períodos de 18 días cada uno, observaron que la máxima absorción de  $^{15}\text{N}$  se produjo durante el período de cuajado del fruto (mayo-junio), y la mínima en el período de reposo invernal (diciembre a febrero). En otra experiencia posterior, Legaz y Primo-Millo (1984) aplicaron  $^{15}\text{N-NO}_3^-$  a plántones de la misma variedad sin fructificación, observando un máximo de absorción a principios del otoño coincidiendo con una fuerte brotación. Los autores indican que, con independencia del efecto de la temperatura, hay una clara influencia del desarrollo de los nuevos órganos sobre la absorción de N por las raíces.

Resultados similares fueron obtenidos por Kato (1986) quien observó que tanto la absorción de N, como su reducción y asimilación fueron un 10% menores en mandarinos Satsuma (*Citrus unshiu* Marc.) crecidos durante el invierno, con temperaturas entre -4 °C y 9 °C que en verano, con una temperatura media de 23 °C. La translocación de metabolitos hacia la parte aérea de la planta se ve asimismo considerablemente reducida durante el invierno; más del 90% del total del N absorbido permanece en el sistema radical, de modo que el  $^{15}\text{N}$  que se incorpora a las hojas es menos del 0,1% del que se incorpora durante el verano (Kato *et al.*, 1982b). El  $\text{NO}_3^-$  absorbido durante el invierno es rápidamente reducido a aminoácidos (asparagina, alanina, glutamato y aspartato) en las

raíces fibrosas e incorporado a las proteínas, de modo que apenas se observa  $\text{NO}_3^-$ . Estas diferencias probablemente se deban al menor nivel de transpiración a temperaturas bajas, así como a los efectos directos de la temperatura sobre el transporte activo de N. Es a partir del final de febrero y principio de marzo, cuando el nitrato absorbido y la asparagina sintetizada durante los meses de invierno comienzan a moverse hacia la parte aérea (Kato *et al.*, 1982a). Sin embargo, con la aplicación de  $^{15}\text{N}-\text{NO}_3^-$  en verano se observa que éste es transportado como tal a las hojas, donde es incorporado a los aminoácidos.

La relación directa de la absorción con la temperatura del aire fue comprobada por Mooney y Richardson (1994), quienes estudiaron la absorción y distribución de sulfato amónico marcado, aplicado a satsumas en invierno en tres microclimas diferentes. Los resultados indican que el aumento de la temperatura del suelo o de la copa del árbol incrementa significativamente la absorción del fertilizante nitrogenado por el fruto.

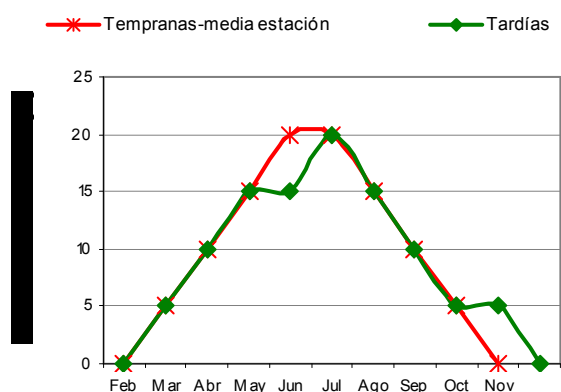
Según Herrero y Acerete (1937) se requieren un 55% de las necesidades de nitrógeno en primavera, un 18% en verano y un 27% en otoño. Legaz *et al.* (1995a) también encontraron que hasta finales de la primavera el consumo de nitrógeno es del 56%. Parece por tanto evidente que los mejores resultados se obtendrán mediante la aplicación preferencial de la dosis en primavera-verano.

De acuerdo con la información obtenida respecto a los principales momentos de absorción de los cítricos, se pueden establecer las épocas más adecuadas para efectuar la fertilización. De esta información surge el concepto de la distribución estacional de la dosis de N. Es escaso el número de trabajos en los que se aborda el estudio de la distribución estacional del abono nitrogenado y su repercusión en la absorción, producción y eficiencia de uso del N aplicado.

Al respecto, Kubota *et al.* (1974b) estudiaron seis distribuciones estacionales resultantes de aplicar dos dosis de N (dosis baja vs. dosis alta) en cada uno de los distintos momentos del ciclo vegetativo (primavera, verano y otoño) a plántones de mandarina satsuma cultivados en arena. Estos autores observaron que la dosis alta aplicada en primavera disminuyó el crecimiento de los árboles, mientras que si el máximo se aplicaba en verano incrementaba el crecimiento de la parte aérea. Un aporte elevado de N en primavera y verano, coincidiendo con las épocas de mayor absorción, seguido de dosis baja en otoño maximizó el incremento en peso seco y el contenido en N en el sistema radical. Por otro lado, de acuerdo con estos autores, los carbohidratos acumulados en otoño dependen en

gran medida del N suministrado previamente en primavera y verano, siendo contraproducente un incremento de la dosis nitrogenada en otoño.

Basándose en estudios previos realizados con la técnica de dilución isotópica con  $^{15}\text{N}$ , Legaz y Primo-Millo (1988b) establecieron la distribución estacional más adecuada para riego por inundación para las condiciones edafoclimáticas típicas de la Comunidad Valenciana (suelos calizos de textura franco arcillosa). Concretamente recomiendan aplicar el 40% del total de la dosis de N en primavera (principio de marzo), preferentemente con formas amoniacales. El 60% restante se aportaría en verano (julio-agosto), para ayudar a constituir las reservas que se utilizarán el año siguiente. Desaconsejan la aplicación de fertilizantes nitrogenados en el otoño y, sobre todo, en invierno, al ser el consumo de nitrógeno muy bajo, ya que la nitrificación es lenta, la absorción radical mínima y los nitratos disponibles están expuestos a sufrir fuertes pérdidas por lixiviación (Primo y Legaz, 1983; Legaz *et al.*, 1993). Estudios posteriores, permitieron concretar la curva de distribución estacional mensual en riego por goteo (Figura 1), distinguiéndose entre variedades tempranas-media estación y tardías (Legaz y Primo-Millo, 2000).



**Figura 1.** Porcentaje de distribución mensual de N para variedades tempranas y tardías.

Estos autores recomiendan que en las variedades tempranas-media estación hasta el final del cuajado (final de junio) se realice el aporte de la mitad de la dosis, mientras que en las tardías éste sea ligeramente inferior (Tabla 2).

**Tabla 2.** Porcentaje mensual acumulado de la dosis de N aportada en variedades tempranas y tardías.

	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic
<b>Tempranas-media estación</b>	-	-	5	15	30	50	70	85	95	100	-	-
<b>Tardías</b>	-	-	5	15	30	45	65	80	90	95	100	-

Quiñones *et al.* (2003a,b) compararon diferentes distribuciones estacionales en dos sistemas de riego en naranjos adultos de la variedad Navelina. De los resultados de este estudio se deduce que el N aplicado mayoritariamente al inicio del ciclo vegetativo, se acumuló en mayor cuantía en los órganos jóvenes a diferencia de los árboles que recibieron un menor aporte en este periodo. El retraso del aporte de la mayor parte de la dosis a épocas de mayor absorción provocó una mayor acumulación del N en los órganos viejos y especialmente en el sistema radical, preferentemente en las raíces fibrosas. Estos autores, debido a la menor acumulación de N procedente del fertilizante en los órganos jóvenes de las plantas que recibieron un aporte retrasado en riego por goteo, sugieren que esto induciría a mayores tasas de translocación del N de reserva.

#### 1.5.1.4 Fraccionamiento del abonado

El fraccionamiento de la dosis de nitrógeno cumple la función de mantener un nivel de nitrógeno disponible por la planta de forma constante y prolongada, mejora la eficacia de su utilización y, de acuerdo con algunos autores, disminuyen las pérdidas por lavado ocasionadas por lluvias intensas o riegos excesivos (Martínez-Corbalán, 1972; Shanky *et al.*, 1979; Legaz y Primo-Millo, 1988b; Willis y Davies, 1990; Quiñones *et al.*, 2003a,b). Sin embargo, encontramos en la bibliografía resultados contradictorios. Así, en un estudio reciente llevado a cabo en naranjos cultivados en lisímetros con suelo arenoso, se concluyó que con una aplicación de abono cada seis semanas la lixiviación fue del 53% del N aplicado, mientras que con el aumento del fraccionamiento de la dosis de N hasta una aplicación por semana, este porcentaje disminuyó al 35% del N aplicado (Boman y Battikhi, 2007). Quiñones *et al.* (2007a) observó a su vez que el nitrato residual potencialmente lixiviable disminuía considerablemente al aumentar el fraccionamiento del abonado. Por otro lado, Syvertsen y Jifon (2001) en un estudio llevado a cabo en lisímetros con naranjos Hamlin de 6 años no obtuvo una reducción significativa en las pérdidas por lixiviación al incrementar el fraccionamiento de la dosis en fertirrigación de 12 a 80 aplicaciones·año<sup>-1</sup> con un suelo arenoso.

Por otro lado, los resultados encontrados en la bibliografía sobre el efecto que el fraccionamiento tiene sobre el estado nutricional, la producción y calidad de la fruta no son consistentes, probablemente debido a las diferentes condiciones tanto de suelo como de clima, modalidad de cultivo, variedad y estado fenológico de las plantas en las que se han realizado los ensayos, así como a la diferente duración de los mismos. Reitz (1956) estudió durante 7 años la aplicación de fertilizantes mixtos fraccionados en 1, 2 o 3 aplicaciones anuales en naranjos, comparando su aplicación en distintos momentos del

ciclo. No encontró diferencias estadísticamente significativas en los rendimientos, en los parámetros de calidad de la fruta o en el crecimiento del arbolado. Reuther y Smith (1954) obtuvieron resultados similares en Florida con naranjos Parson Brown, Hamlin y Valencia. Así, la distribución de la dosis anual en 3 o 6 aplicaciones iguales no incrementó la concentración foliar de N frente a los árboles que recibieron una única aplicación. Reuther *et al.* (1957) concluyeron, tras una experiencia de 7 años de duración, que el efecto del fraccionamiento de la dosis y momento de aplicación sobre la producción no es significativo, ya que la cosecha media obtenida en los 3 ensayos realizados fue similar con 3 niveles de fraccionamiento: 1/3 entre el 15 de octubre al 15 de noviembre, 1/3 entre el 15 de febrero y el 15 de marzo y el resto entre el 15 de mayo al 15 de junio; una única aportación en noviembre o en marzo. Koo (1980) obtuvo producciones similares cuando se aplicó una misma dosis de fertilizante en 2 y 10 aplicaciones. En un estudio reciente, Quiñones *et al.* (2005) no obtuvieron diferencias significativas en la producción con la misma dosis de  $^{15}\text{N}$  aplicada en 2 ó 5 veces en riego por inundación y 66 aplicaciones en goteo en naranjos navelinos cultivados en un suelo franco arcillo arenoso.

En contraposición con estos resultados, Aso *et al.* (1987) suministraron a limón Eureka diferentes dosis de N (75, 100 y 125 g·árbol<sup>-1</sup>·año<sup>-1</sup> con 2, 4 y 6 aplicaciones) y obtuvieron mejores resultados al aumentar el fraccionamiento. Destacan las diferencias significativas encontradas en la cosecha recogida, que varió de 37 kg·árbol<sup>-1</sup> en el tratamiento de 75 g de N y 2 aplicaciones a 48 kg·árbol<sup>-1</sup> con 125 g N en 6 aplicaciones. Por otro lado, la concentración de N encontrada en hojas aumentó al incrementar la dosis y la frecuencia de aplicación. Schumann *et al.* (2003) encontraron mayores producciones en árboles que recibieron el abono mediante fertirrigación con 15 aplicaciones·año<sup>-1</sup> que en los que se aplicó un fertilizante granular con 4 aplicaciones·año<sup>-1</sup>. Asimismo, estos autores encontraron mayores contenidos foliares de N en los árboles fertirrigados, asociándolo con una mayor eficiencia de uso del fertilizante aplicado.

Recientemente, Morgan *et al.* (2009) en un ensayo llevado a cabo durante 4 años en plantas jóvenes (1 a 5 años) de naranjo Ambersweet obtuvieron con 30 aplicaciones·año<sup>-1</sup> en fertirrigación mayor producción, volumen de copa y contenido foliar de N que en los árboles que recibieron la misma dosis de N fraccionada en 4 aplicaciones·año<sup>-1</sup> en fertirrigación o con un fertilizante granular. Estos autores consideran además beneficioso el mayor fraccionamiento pues redujo el daño potencial por salinización de la zona radical. Sin embargo, en plantas adultas (6-10 años), si bien el volumen de copa en los árboles fertirrigados con 30 aplicaciones·año<sup>-1</sup> fue significativamente superior durante 3 campañas a los que recibieron una misma dosis de N como fertilizante granular en 4 aplicaciones, no encontraron una respuesta diferencial en la producción o el contenido foliar de N. Esta

diferencia en el comportamiento en función de la edad del árbol se debería, conforme a estos autores, por un lado a la capacidad que tienen los árboles adultos para almacenar considerables cantidades de N y por otro a la habilidad de los cítricos de absorber eficientemente el N tanto de soluciones diluidas como concentradas, que restaría importancia al efecto del fraccionamiento en la absorción de este elemento. Sin embargo, recomiendan el mayor fraccionamiento del abonado, con el fin de disminuir la cantidad de N susceptible de ser lixiviado en caso de episodios de lluvias intensas tras su aplicación. De la misma manera, Legaz y Primo-Millo (1988b) recomiendan repartir la dosis anual de nitrógeno en 2 aplicaciones en suelos francos y arcillosos y en 5 veces en suelos arenosos y poco profundos en riego por inundación, y fraccionamientos muy superiores en fertirrigación (Legaz y Primo-Millo, 2000) para mejorar la eficiencia en su uso y disminuir de este modo el nitrato susceptible de ser lixiviado.

### **1.5.2 Distribución en la planta del nitrógeno absorbido**

El primer trabajo en el que se determinó la distribución relativa del contenido de N total de la planta entre sus órganos se debió a Barnnette *et al.* (1931). Estos autores, en un pomelo (*Citrus grandis* (L.) Osb.) adulto extraído en primavera obtuvieron los porcentajes relativos de N siguientes: 5,7 en frutos inmaduros, 19,2 en hojas, 36,2 en ramas y tronco y 38,9% en raíces. Por el contrario, Cameron y Appelman (1933) encontraron una distribución del N muy diferente: 20,5 en frutos, 41,0 en hojas, 28,0 en ramas y tronco y 10,5% en raíces de naranjos Valencia. Entre otros factores, estas diferencias pueden deberse a la diferente época de extracción de los árboles.

Posteriormente, Cameron y Compton (1945) realizaron un estudio más completo. Extrajeron de un suelo franco arenoso 2 plantas jóvenes de naranjo Valencia cada 3 semanas y durante 2 años. Los valores obtenidos para los diferentes órganos oscilaron entre los rangos siguientes: del 40 al 50 % en hojas, del 30 al 40 % en ramas y tronco y del 15 al 20% en raíces.

Además, se han observado diferencias en la distribución relativa del N total entre experiencias con árboles en producción y sin fructificación. Nadir (1974) realizó una experiencia con árboles adultos de naranjo Washington Navel extraídos del suelo en invierno. Los resultados fueron: 15,9 en frutos, 11,0 en hojas, 52,9 en ramas y tronco y 20,2% en raíces. Sin embargo, el porcentaje de N encontrado en las hojas fue muy inferior al de Cameron y Compton (1945) en árboles sin fructificación, ya que los frutos acumularon parte del porcentaje restante. Al respecto, un estudio realizado por Golomb y

Goldschmidt (1987) en clementinos adultos extraídos del suelo en invierno, puso claramente de manifiesto la influencia de la cuantía de la producción sobre la distribución relativa del N entre los diferentes órganos de la planta. Los porcentajes de distribución obtenidos al comparar un árbol de alta producción con otro sin producción fueron los siguientes: 32 y 0 en frutos, 13 y 26 en hojas, 44 y 52 en ramas y tronco y 10 y 22 en raíces, respectivamente.

En un estudio realizado durante seis años en naranjos Hamlin adultos (Alva *et al.*, 2006a) se compararon 2 dosis de N, una dosis baja ( $144 \text{ g N}\cdot\text{árbol}^{-1}$ ) y otra alta ( $870 \text{ g N}\cdot\text{árbol}^{-1}$ ), aplicadas mediante un fertilizante granular, uno de liberación lenta y otro aplicado en el fertirriego, y su efecto sobre la absorción y distribución del N aplicado. Independientemente de la dosis, el porcentaje de N acumulado en las hojas fue entre 35 y 40%, del 20 a 25% en ramas, del 13 a 18% en tronco y en torno al 25% en el sistema radical. El contenido total en N fue mayor en los árboles que recibieron el fertilizante de liberación lenta y en fertirriego para la dosis baja y alta respectivamente.

Los trabajos anteriores reflejan únicamente la distribución entre los diferentes órganos del N total acumulado en la planta hasta el momento de la extracción. Sin embargo, el uso de fertilizantes nitrogenados enriquecidos con  $^{15}\text{N}$  permite un mejor conocimiento de la absorción estacional del N procedente del fertilizante y su distribución entre los diferentes órganos de la planta. La distribución del isótopo  $^{15}\text{N}$  entre los diversos órganos de la planta depende básicamente de la época del año en la que se ha aplicado el fertilizante, así como de la edad de la planta y momento de la extracción.

Son numerosos los estudios realizados sobre la absorción de N en función del momento de aplicación de un fertilizante marcado con  $^{15}\text{N}$  y su posterior extracción. Kubota *et al.* (1976a) y Akao *et al.* (1978a) observaron que del nitrato cálcico marcado con  $^{15}\text{N}$  y aplicado en marzo a satsumas de 9 a 11 años de edad y extraídos del suelo al final de la primavera, entre un 70-75% se encontró en la parte aérea. La mayor parte de N absorbido del fertilizante se acumuló preferentemente en los órganos jóvenes en desarrollo: el 27% en las hojas de la brotación de primavera, el 17% en los frutos, mientras que en las hojas viejas sólo se concentró el 18% del N aplicado. Resultados similares fueron obtenidos por Wallace *et al.* (1954) al aplicar una solución de nitrato potásico marcada con  $^{15}\text{N}$  en abril a naranjos Washington Navel de 3 años, de modo que la mayor parte del nitrógeno marcado se encontró en los órganos nuevos, especialmente en las hojas y ramas de la primavera. Legaz *et al.* (1982) estudiaron la absorción de N en calamondines (*Citrus mitis* Blanco) de 5 años, cultivados en un medio de arena inerte y regados durante 20 días con una

solución nutritiva de nitrato potásico marcado. El  $^{15}\text{N}$  absorbido durante los períodos de floración y cuajado del fruto se concentró, preferentemente, en ovarios, frutos jóvenes, en hojas y ramas de la brotación primavera. Además, estos autores observaron que cerca del 30% del N aplicado en primavera y acumulado en las hojas jóvenes, se translocó posteriormente a los frutos jóvenes en desarrollo y a las hojas de la brotación del verano (siendo la traslocación máxima durante el período de cuajado). Por tanto, las hojas jóvenes de primavera absorbieron una alta proporción del N aplicado, y posteriormente se convirtieron en un órgano de exportación de N para el desarrollo de los frutos o de las siguientes brotaciones.

Cuando el nitrato marcado se aportó en junio (Kubota *et al.*, 1976b), el 92% del  $^{15}\text{N}$  absorbido por la planta se acumuló en la parte aérea, principalmente en las hojas de primavera y en los frutos (28 y el 44%, respectivamente) en el arranque de las plantas a finales de diciembre. Por otro lado, la cantidad de  $^{15}\text{N}$  acumulada en las hojas viejas resultó ser inferior a la obtenida cuando la aplicación se realizó en marzo (Akao *et al.*, 1978a). Cuando el  $^{15}\text{NO}_3^-$  se aplicó en julio (Kato *et al.*, 1981), el 81% del  $^{15}\text{N}$  absorbido se translocó a la parte aérea, siendo las hojas de nuevas brotaciones y los frutos en desarrollo el principal sumidero de  $^{15}\text{N}$  en el momento de extraer las plantas a mitad de noviembre.

Esta tendencia se modificó cuando el  $^{15}\text{NO}_3^-$  se aplicó durante 14 días en octubre a satsumas adultos cultivados en arena (Kubota *et al.*, 1972b), ya que, aproximadamente, el 50% del  $^{15}\text{N}$  aplicado permaneció en las raíces y el 7% se translocó a los frutos. Cuando la aplicación del  $^{15}\text{NO}_3^-$  se efectuó más tarde (noviembre), el 63% del N aplicado se encontró en las raíces, mientras que cerca del 30% se desplazó a las hojas y menos del 2% a los frutos.

Kato y Kubota (1982a) y Kato *et al.* (1982a) estudiaron la absorción y distribución del  $^{15}\text{N-NO}_3^-$  en satsumas de 12 y 4 años durante el invierno. Estos autores encontraron que la absorción en esta época es 10 veces menor que la máxima en verano; por otro lado, más del 90% del  $^{15}\text{N}$  absorbido se acumuló en las raíces, principalmente en las fibrosas. Si bien este porcentaje parece elevado, es importante destacar que de acuerdo con estos autores, las temperaturas medias en invierno oscilaron entre  $-4\text{ }^\circ\text{C}$  y  $9\text{ }^\circ\text{C}$ . Mooney y Richardson (1994) estudiaron la absorción estacional y la distribución del N aplicado como sulfato amónico marcado con  $^{15}\text{N}$  en invierno a satsumas en condiciones de campo. Tras la aplicación, inicialmente se observaron mayores porcentajes de  $^{15}\text{N}$  en las raíces que en hojas y tallo. Durante el comienzo de la primavera se produjo un descenso en raíces,



tronco y ramas, acompañado de un aumento de la concentración de  $^{15}\text{N}$  en los nuevos brotes vegetativos y reproductivos.

Como puede observarse, a medida que se va retrasando la aplicación del fertilizante, la acumulación del N absorbido se va trasladando a la zona radical en detrimento de la parte aérea.

Iwakiri *et al.* (1991) aplicaron  $(^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  en 4 momentos diferentes (antes y después de la recolección en otoño, en la primavera y verano del ciclo siguiente) a un campo de satsumas de 20 años de edad. También observaron que la absorción y posterior distribución dependen del momento de aplicación del fertilizante. Cuando el fertilizante se aportó antes de la recolección de otoño, se translocó una mayor proporción del  $^{15}\text{N}$  a las hojas que a los frutos. Estos resultados se habían observado anteriormente en la experiencia realizada por Akao *et al.* (1978a,b) al aplicar nitrato cálcico marcado a satsumas adultos, 21 días antes de la recolección. Estos autores mostraron que del N contenido en las hojas, un 12 % provino del N aplicado, mientras que los frutos sólo recibieron un 3 %. Cuando el fertilizante se aportó después de la recolección se movilizó hacia la brotación del ciclo siguiente, al mismo tiempo que el aplicado en primavera. La mayor contribución del N aplicado a los frutos se encontró en la aplicación de verano.

Legaz (1993) realizó un ensayo con plántones de Valencia Late de 5 años de edad en producción, cultivados en un medio hidropónico de arena inerte y fertilizados con nitrato potásico marcado en diferentes momentos del ciclo vegetativo. La distribución de  $^{15}\text{N}$  entre el conjunto de la parte aérea y las raíces siguió la siguiente pauta: la parte aérea mostró la máxima acumulación de  $^{15}\text{N}$  durante el principio de primavera (floración), con un 84% del  $^{15}\text{N}$  total frente al 16% contenido en raíces. Durante el verano y otoño, el porcentaje de  $^{15}\text{N}$  en la parte aérea disminuyó ligeramente, hasta valores del 70 y 65%, respectivamente, y se alcanzó un valor mínimo del 48% en invierno. Los valores por tanto acumulados en el sistema radical fueron del 52% en el sistema radical, valor notablemente inferior a los obtenidos por Kato y Kubota (1982a) y Kato *et al.* (1982a), probablemente debido a que la temperatura en el sustrato arenoso fue notablemente superior a la registrada por éstos.

Lea-Cox *et al.* (2001) estudiaron la absorción, distribución y pérdida en el suelo del N marcado aplicado como fertilizante granular, fertirrigación y liberación lenta en pomelos de 4 años de edad. Observaron que los nuevos órganos desarrollados (hojas de la brotación

de primavera y frutos) absorbieron del 40 al 70% del  $^{15}\text{N}$  aportado en todos los tratamientos.

Martínez (2003) aplicó a finales de marzo una dosis puntual de 30 g de N en forma de sulfato amónico o nitrato potásico a naranjos Valencia Late de 3 años cultivados en un suelo arenoso y en otro franco. La distribución del N en las plantas extraídas en mayo dependió del tipo de suelo en el que fue aplicado, siendo del 71% en la parte aérea y 29% en el sistema radical en el suelo arenoso, frente al 74% y 26% para las plantas cultivadas en suelo franco. En la extracción realizada al final del ciclo en noviembre la distribución relativa entre parte aérea y sistema radical en ambos suelos mantuvo una tendencia similar a la observada en la extracción de mayo.

En una experiencia realizada en navelinos adultos (Quiñones *et al.*, 2005) la aplicación del grueso de la dosis de N antes de finales de junio, condujo a una mayor acumulación de éste en los órganos jóvenes de la parte aérea (50%); sin embargo, el retraso del aporte a periodos de mayor absorción (principio de julio a final de agosto), conllevó una mayor acumulación en los órganos viejos de la parte aérea (47%). Un retraso aún mayor del aporte (hasta septiembre) incrementó la proporción acumulada en el sistema radical.

En un estudio reciente (Menino *et al.*, 2007) realizado durante tres campañas en naranjos Lane Late de 2 años cultivados en campo, se estudió la absorción y distribución del  $^{15}\text{N}$  aplicado de marzo a octubre mediante la extracción de las plantas al final de cada ciclo (noviembre). Los resultados en los tres años del ensayo coincidieron en que el 77% del N absorbido se acumuló en la parte aérea; concretamente, un 57% del  $^{15}\text{N}$  absorbido anualmente se acumuló en los órganos jóvenes. Por otro lado, las hojas contenían aproximadamente el 50% del total del N presente en la planta, del cual tan sólo el 5% se encontró en las hojas viejas. En el sistema radical se acumuló el 23% restante del N absorbido.

Es importante destacar que las diferencias observadas entre los ensayos se debían a las condiciones del abonado así como a las distintas edades de las plantas. Por otro lado, diversos autores han estudiado las diferencias en el reparto del  $^{15}\text{N}$  cuando la fuente de N marcado es  $\text{NH}_4^+$  o  $\text{NO}_3^-$ . Wallace (1954) estudió la translocación del  $^{15}\text{N}$ , procedente de la absorción de  $^{15}\text{N-NH}_4^+$  o  $^{15}\text{N-NO}_3^-$  a diferentes temperaturas radicales, en estaquillas enraizadas de naranjos Valencia. En las plantas fertilizadas con  $^{15}\text{N-NH}_4^+$  se acumuló más  $^{15}\text{N}$  en los tallos y menos en las hojas que en las abonadas con  $^{15}\text{N-NO}_3^-$ . Las diferencias se acentuaron con las bajas temperaturas radicales. Kato *et al.* (1982b) corroboraron estos

resultados en satsumas fertilizadas con  $^{15}\text{N-NH}_4^+$  a diferentes regímenes de temperatura, sugiriendo que las diferencias pueden estar relacionadas con la forma de transporte del N, ya que en los árboles fertilizados con  $\text{NH}_4^+$  la forma principal de transporte es la asparagina mientras que en los fertilizados con  $\text{NO}_3^-$  es el nitrato.

Dasberg (1987) en una revisión plantea que el 30-60% del total de N se encuentra en los órganos "anuales", es decir, hojas y frutos, ya que gran parte de las hojas de los cítricos se renuevan anualmente. Estas importantes variaciones dependerán del estado nutricional del arbolado. Así en plantas que reciben un buen aporte de N las hojas y frutos almacenaron un 42% del N mientras que este porcentaje se redujo a un 32% cuando los árboles recibieron un aporte limitado de N (Feigenbaum *et al.*, 1987).

### 1.5.3 Eficiencia de uso del nitrógeno aplicado

Estrechamente relacionado con la dosis de N aplicada se encuentra un parámetro que aparece a menudo en la bibliografía, se trata de la eficiencia de uso del nitrógeno (EUN). La EUN estima la proporción del N aplicado con el fertilizante que es absorbido por la planta. Generalmente, esta proporción no es creciente, de modo que conforme se aplican dosis crecientes la eficiencia disminuye. Esta respuesta indica que únicamente se obtendrá información de interés agronómico cuando su valor se obtenga para una dosis de abono ajustada al consumo de N del cultivo, ya que una eficiencia baja no siempre es indicador de una baja capacidad de absorción del cultivo, sino más bien de una dosis excesiva. Por lo tanto, se obtendrán valores de EUN mejores cuanto más se ajuste la dosis aplicada a las necesidades de la planta. La eficiencia con la que los cultivos utilizan el fertilizante aplicado es de suma importancia tanto económica, dado que está relacionada directamente con el beneficio de la fertilización, como medioambiental, ya que cuanto mayor sea la eficiencia de uso menor N residual susceptible de ser lixiviado quedará en el sistema, y por tanto, menor será el riesgo de contaminación (Koo, 1988b; Dou y Alva, 1998; Alva *et al.* 2003a).

Si bien existen trabajos en que se estima el N absorbido por diferencia entre los tratamientos y el control (Alva *et al.*, 2003b), es mediante el empleo del  $^{15}\text{N}$  como se evalúa de manera precisa la absorción de N procedente del fertilizante, al ser básica la determinación del N absorbido del fertilizante por la planta para el cálculo de la EUN. El uso de abonos marcados con  $^{15}\text{N}$  ha sido por tanto fundamental para el estudio de la repercusión que las prácticas de manejo de la fertilización tiene sobre la EUN. Así, en la bibliografía existen abundantes trabajos en los que se evalúa el efecto de distintos factores sobre la EUN, tales como la dosis de N, sistema de riego, fraccionamiento de la dosis, tipo

de abono, momento de aplicación y tiempo transcurrido desde el aporte del abono o uso de inhibidores (Quiñones *et al.*, 2007b). Sin embargo, en la literatura también encontramos estudios en los que se evalúa la EUN como la cantidad de cosecha producida por unidad de abono aplicada ( $\text{Mg producción} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ N} \cdot \text{ha}^{-1}$ ) o viceversa ( $\text{kg N} \cdot \text{Mg}^{-1}$  producción) (Alva y Paramasivam, 1998; Alva *et al.*, 2003b; Cantarella *et al.*, 2003; Alva *et al.*, 2006a; Boaretto *et al.*, 2007b) o como biomasa producida por unidad de abono aplicada ( $\text{g p.s.} \cdot \text{mg}^{-1} \text{ N}$ ; Lea-Cox *et al.*, 2001). Debido a las diferencias expuestas en los procedimientos de determinación (sin y con  $^{15}\text{N}$ ) y en el cálculo de las diferentes formas de expresar la EUN, es a menudo complejo establecer comparaciones entre los resultados obtenidos por diferentes autores.

Como se ha indicado, la eficiencia se encuentra relacionada estrechamente con la dosis de N aportada. Feigenbaum *et al.* (1987) obtuvo eficiencias entre 57% y 40% cuando aplicó una dosis baja ( $341 \text{ g N} \cdot \text{árbol}^{-1} \cdot \text{año}^{-1}$ ) y alta ( $997 \text{ g N} \cdot \text{árbol}^{-1} \cdot \text{año}^{-1}$ ), respectivamente, a naranjos adultos (22 años) de la variedad Shamouti en riego localizado. Respuestas similares fueron obtenidas por Syvertsen y Smith (1996) que observaron que el valor de la EUN decreció del 83% al 61% al incrementar la dosis de N de 126 a 868  $\text{g N} \cdot \text{árbol}^{-1}$  en pomelos de 4 años cultivados en lisímetros. Lea-Cox y Syvertsen (1996) encontraron asimismo una reducción en la eficiencia del 60 al 47% al incrementar el N aplicado en un periodo de abonado de 31 días. Syvertsen y Jifon (2001) observaron cómo se reducía un 42% (de 41 a 24% de EUN) al incrementar en un porcentaje similar la dosis de N ( $324$  a  $462 \text{ g N} \cdot \text{árbol}^{-1}$ ). En un estudio realizado durante seis años en naranjos Hamlin adultos (Alva *et al.*, 2006a) en Florida, con el fin de determinar unas Buenas Prácticas de Manejo (BPM) que incrementando la eficiencia de absorción del N mantengan una producción óptima, se concluyó que la aplicación de una dosis de  $260 \text{ kg N} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{año}^{-1}$  en fertirriego conducía a las mayores producciones ( $94 \text{ Mg} \cdot \text{ha}^{-1}$ ). El incremento de la dosis supuso una reducción sustancial en la pendiente de la curva de de respuesta, con la consiguiente disminución en la eficiencia de uso del N, el consumo de lujo del mismo y el riesgo de lixiviado del exceso de N por debajo de la zona radical que de este hecho se derivan. Las mejores respuestas se obtuvieron para fertirrigación, en comparación con las obtenidas con un fertilizante granular, una mezcla de granular y fertirriego y un fertilizante de liberación lenta.

Son numerosas las referencias encontradas en la bibliografía respecto a la mejora de la EUN en condiciones de fertirrigación en comparación con el empleo de abonos granulares en riego por inundación (Dasberg *et al.*, 1988; Alva y Paramasivam, 1998; Alva *et al.*, 1998; entre otros). Boman (1996) obtuvo en pomelo una eficiencia, cuantificada como cosecha producida por dosis de N aplicada ( $\text{Mg producción} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ N} \cdot \text{ha}^{-1}$ ), un 9% superior

cuando el fertilizante era aplicado como combinación de abono granular en superficie (33% de la dosis) más 18 aplicaciones en fertirrigación (dosis restante), en comparación con los árboles que recibieron el total de la dosis en forma granular en tres aplicaciones. Alva *et al.* (2003b) estudiaron diferentes combinaciones de manejo de la fertilización y riego en árboles de limonero adultos en una parcela comercial. La producción fue superior en los árboles fertirrigados comparado con los árboles que recibieron la misma dosis de N distribuida en 3 aplicaciones de un abono granular.

Los incrementos obtenidos en la eficiencia en los trabajos mencionados se deberían, no sólo a una mejora en el manejo del agua aplicada al cultivo en riego a goteo, sino al hecho de que la forma de distribución del abono asociada a la fertirrigación conlleva un mayor fraccionamiento de la dosis de N aplicada. De acuerdo con algunos autores el fraccionamiento de la dosis redundaría en una mejora de la EUN al evitar la acumulación puntual temporal del  $\text{NO}_3^-$  en el suelo. En un estudio llevado a cabo en naranjos adultos cultivados en lisímetros (Quiñones *et al.*, 2005), se obtuvieron mejores valores de EUN en riego localizado con 66 aplicaciones (71-75%) que en riego por inundación con 2 ó 5 aplicaciones (63%). Sin embargo, existen al respecto resultados que se contraponen. Syvertsen y Jifon (2001), en un ensayo con naranjos Hamlin de 6 años, no encontraron mejora en la absorción de N ni en las pérdidas por lixiviación al incrementar el fraccionamiento de 12 a 80 aplicaciones en suelos arenosos. Asimismo, Morgan *et al.* (2009) no observaron mejora en la EUN al incrementar el fraccionamiento de la dosis en árboles de naranjo adultos de 4 a 30 aplicaciones·año<sup>-1</sup>. Boaretto *et al.* (2007a) obtuvieron eficiencias bajas (20-27%) al aplicar sulfato amónico marcado, fraccionado en tres aplicaciones entre primavera y verano, a naranjos Pera de 4 años.

Por otro lado, la forma de N aplicado influye también en la EUN. Cantarella *et al.* (2003) observaron una reducción del 25% en la eficiencia en producción en naranjos Valencia de 6 años que recibieron urea comparados con aquellos que recibieron la misma dosis de N en forma de nitrato amónico, debido a las mayores pérdidas por volatilización registradas con la aplicación de urea (31% y 4% del N aplicado en forma de urea y nitrato amónico respectivamente).

El momento de aplicación del N influye claramente en la absorción del fertilizante por las plantas, y por lo tanto, en la EUN. Así, Kubota *et al.* (1976a) encontraron valores de eficiencia del 25% con una única aplicación de N en marzo en riego por inundación en árboles de mandarina Satsuma, al extraerlos del suelo 4 meses después. Estos mismos

autores obtuvieron una eficiencia del 61% cuando la aplicación se realizó en junio (Kubota *et al.*, 1976b) y se arrancaron las plantas 6 meses más tarde.

El tipo de suelo también se encuentra entre los factores determinantes de la eficiencia. En el ensayo realizado por Martínez *et al.* (2002), en árboles jóvenes cultivados en suelo franco y en suelo arenoso, comprobaron que los árboles cultivados en el suelo arenoso presentaban mayores valores de N recuperado del fertilizante, y por tanto mayor EUN, que los cultivados en el suelo franco, con independencia del momento de aplicación del fertilizante. Así obtuvieron valores de eficiencia del 40% para suelo arenoso y 37% en suelo franco, en aplicaciones de N de primavera, y del 59 y 52% para suelo arenoso y franco, respectivamente, cuando el fertilizante era aplicado en verano.

La edad de la planta también parece tener una clara influencia en los valores de eficiencia. En un estudio reciente (Menino *et al.*, 2007) realizado durante tres años en naranjos Lane Late de 2 años cultivados en campo, se estudió la absorción y distribución del  $^{15}\text{N}$  aplicado de marzo a octubre mediante la extracción de las plantas al final de cada ciclo (noviembre). En la extracción realizada el primer año se observó una eficiencia del 6%; dicho valor incrementó los dos años siguientes a un 20 y 30% respectivamente. Es por ello que algunos autores sugieren que no es necesario aplicar N a los árboles recién transplantados, debido a la baja recuperación del N aplicado en comparación con el impacto ambiental derivado de esta pobre eficiencia (Weinert *et al.*, 2002). Sin embargo es necesario estudiar el efecto que supondría que las plantas dependieran únicamente de sus reservas, especialmente en suelos arenosos (Menino *et al.*, 2007).

Estudios realizados en el campo de los inhibidores de la nitrificación han demostrado su efectividad en el incremento de la eficiencia de absorción. Los inhibidores de la nitrificación son sustancias que retrasan temporalmente la oxidación bacteriana del amonio a nitrito en el suelo (primer paso de la nitrificación), mediante la inhibición de las bacterias del género *Nitrosomonas* (Prasad y Power, 1995). El nitrógeno permanece en el suelo en forma de  $\text{NH}_4^+$  durante más tiempo, queda fijado en el complejo arcillo-húmico del suelo, reduciéndose las pérdidas de nitratos por lixiviación y desnitrificación y aumentando por tanto el rendimiento de los fertilizantes amoniacales.

Uno de los primeros inhibidores utilizados en cítricos fue la Diciandiamida (DCD). Este inhibidor añadido al nitrosulfato amónico mejoraba la absorción de nitrógeno, incrementando la eficiencia, y disminuía las pérdidas de nitrato en cítricos (Serna *et al.*, 1994). Sin embargo, los problemas de fitotoxicidad encontrados en este inhibidor a dosis

excesivas ha dado paso al uso del 3,4-Dimetilpirazol fosfato (DMPP) que, de acuerdo con Serna *et al.* (2000) y Bañuls *et al.* (2001), presenta una mayor duración del efecto inhibitor, sin efecto tóxico para las plantas y siendo asimismo más eficaz en la protección contra el riesgo de lixiviación que la DCD.

Serna *et al.* (2000) analizaron la respuesta en plántones de dos años de edad de la variedad Valencia Late a la aplicación del DMPP. La adición del inhibidor provocó una mayor concentración foliar de N y un mayor porcentaje de nitrógeno procedente del fertilizante en los diferentes órganos, comprobándose de este modo la mayor eficiencia de absorción en presencia del inhibidor. Este incremento en la absorción de N se debería, de acuerdo con estos autores, a una mayor disponibilidad de  $\text{NO}_3^-$  como consecuencia de su liberación progresiva en presencia del inhibidor y a la reducción de las pérdidas por lixiviación de éste.

En un ensayo llevado a cabo en árboles adultos de Navelina de 12 años cultivados en lisímetros (Pazzaglia *et al.*, 2004) se observó que si bien la eficiencia obtenida en árboles fertilizados con sulfato amónico fue del 49%, ésta incrementó considerablemente hasta el valor de 65% al incorporar DMPP a este fertilizante. Este aumento registrado con la adición del inhibidor de la nitrificación supuso una reducción del 63% en el nitrato presente en el agua de drenaje. Asimismo observaron un incremento significativo en la producción en los árboles que recibieron el inhibidor.

Los resultados obtenidos en campo confirman el incremento en la eficiencia de absorción de N como consecuencia de la incorporación de inhibidores de la nitrificación a abonos amoniacales. Quiñones *et al.* (2009) en un ensayo llevado a cabo en una parcela comercial de clementina Nules durante 3 campañas observaron, un incremento en la concentración foliar de N en los árboles que recibieron sulfato amónico con DMPP respecto a las plantas control sin inhibidor. Asimismo, el DMPP condujo a un aumento en la producción en torno al 10%. En este ensayo no se encontraron diferencias en la respuesta con distintos fraccionamientos de la aplicación del inhibidor (1, 2 o 4 aplicaciones·mes<sup>-1</sup>). Por otro lado, las concentraciones de  $\text{NO}_3^-$  en las capas superficiales del suelo (0-40 cm) fueron significativamente mayores en los árboles que no recibieron inhibidor, especialmente en los meses de marzo a mayo, que coincidiendo con el principal periodo de lluvias en la Comunidad Valenciana (meses de marzo y abril), supondría un mayor riesgo de lixiviación de este ión a aguas subterráneas.

Es por tanto evidente, que una optimización conjunta de la dosis empleada y el manejo de su aplicación conducirán a valores mayores de EUN. Así, de acuerdo con unas Buenas Prácticas de Manejo, se optimizará la eficiencia con una dosis de N ajustada a las necesidades de los cítricos, aplicada mediante fertirrigación, siguiendo una distribución estacional en la que los máximos aportes se realicen en verano, coincidiendo con la época de mayor absorción de N. De acuerdo con Morgan y Hanlon (2006b), en una parcela en la que el manejo del riego sea preciso con el fin de evitar un lixiviado excesivo, con una correcta determinación de la dosis de N y una distribución ajustada a los momentos de máxima necesidad de los cítricos, la EUN debería encontrarse en el rango de 40-60%. El fertilizante restante se encuentra sujeto a las pérdidas asociadas a las transformaciones lógicas del ciclo del N (volatilización de amoníaco y desnitrificación), lixiviado, inmovilizado por los microorganismos ó absorbido por otras plantas de la parcela (cubierta vegetal, malas hierbas).

## **1.6 MOVILIZACIÓN DEL NITRÓGENO DE RESERVA**

### **1.6.1 Reservas de N y translocación: definición y técnicas de estudio**

Según la definición propuesta por Chapin *et al.* (1990), se consideran reservas aquellos recursos que contiene la planta y que pueden ser movilizados por ésta en el futuro para contribuir en la biosíntesis de compuestos necesarios para el crecimiento. De acuerdo con estos autores existirían tres tipos de reservas: las procedentes de acumulación de sustancias en periodos donde el aporte externo de nutrientes excede a la demanda de la planta, las reservas propiamente dichas, que se acumulan incluso en periodos de deficiencia y las procedentes de la redistribución de nutrientes dentro de la planta que previamente han sido usadas para otras funciones, sería el caso de la translocación de nutrientes en hojas senescentes. Si bien las dos primeras opciones suponen un incremento neto en el contenido de N en la planta, se diferencian en el tipo de compuestos químicos involucrados en ambos procesos, ya que algunas formas químicas de acumulación del N suponen la inmovilización del mismo no pudiendo contribuir posteriormente a la recirculación interna de este elemento en la planta.

Las nuevas brotaciones y las estructuras reproductivas actúan como importantes órganos sumidero, al ser por lo general incapaces de abastecer sus propias necesidades nutricionales. Es por tanto necesaria la transferencia de los nutrientes de reserva susceptibles de ser transportados (móviles) en el interior de la planta, desde los órganos



de reserva hacia los órganos en desarrollo. Son diversos los términos que encontramos en la literatura para referirse a este fenómeno: translocación de reservas, removilización, recirculación, importación. El movimiento de los asimilables se dice que sigue un modelo de fuente a sumidero. Todos los órganos de las plantas pueden actuar como sumideros, esto es, pueden importar productos asimilables. Así, los tejidos de almacenamiento actúan como sumideros cuando están importando productos asimilables y como fuentes cuando los exportan.

Las relaciones fuente-sumidero pueden ser relativamente simples, como en las plántulas jóvenes donde los cotiledones representan a menudo la fuente principal y las raíces en crecimiento representan el sumidero principal. En plantas adultas, los frutos en desarrollo son sumideros competentes que monopolizan los nutrientes de las hojas más próximas, especialmente N. Esta recirculación de N incrementa el suministro de nutrientes hacia las zonas de crecimiento apical, especialmente durante los periodos de brotación, de modo que contribuye a satisfacer la elevada demanda generada en los momentos de crecimiento simultáneo vegetativo y reproductivo (Nambiar y Fife, 1987). Este N suele hacerse disponible por la hidrólisis, mediante proteinasas, de la enzima fotosintética ribulosa-1,5-difosfato carboxilasa oxigenasa (rubisco) de las hojas adultas. Millard y Thomson (1989) en un estudio sobre la movilización foliar de reservas en manzano, observaron que el origen de este N foliar es la degradación de las proteínas solubles, principalmente (83-87%) rubisco, lo que le confiere a esta proteína la función adicional de reserva de N durante los meses de verano. La degradación de esta enzima causa una disminución de la capacidad fotosintética de las hojas más cercanas a los sumideros de N en los que se han convertido los frutos, sin embargo de acuerdo con algunos autores, son entonces las hojas de las ramas no reproductivas las que manifiestan un incremento en su tasa fotosintética conocida como fotosíntesis compensatoria (Retuerto *et al.*, 2003).

Encontramos en la literatura numerosos trabajos que tienen por objeto cuantificar la contribución del N presente en las reservas de las plantas a sus requerimientos en este elemento. Estos estudios se abordan básicamente mediante dos métodos (Grelet, 2001), a través de balances de N y mediante el empleo de trazadores con la técnica de dilución isotópica ( $^{15}\text{N}$ ). Los estudios mediante balances se basan en la variación estacional de los contenidos de N en los diferentes órganos de las plantas observados mediante arranques secuenciales. La contribución relativa del N procedente de la translocación de las reservas se obtiene por diferencia entre la cantidad de N incorporada a los nuevos tejidos en desarrollo y el correspondiente decremento en el contenido en N de los órganos preexistentes (Alva *et al.*, 2006b). Sin embargo, esta estimación presenta la limitación que únicamente se considera el N cedido por aquellos tejidos senescentes, por tanto, no queda

contabilizado el N precedente de la recirculación interna de este elemento no asociada a procesos de senescencia. Una alternativa a estos estudios la constituyen los balances totales en que se compara el total de N absorbido por la planta y las necesidades en N del cultivo (Helmisaari, 1995). Sin embargo, en esta alternativa la limitación se encuentra en la determinación del N absorbido, que se asume igual al N presente en el suelo en forma mineral, de modo que se ignora la posibilidad de absorción de N procedente de la mineralización de la materia orgánica y por otro lado, se contabiliza como absorbido el N susceptible de lixiviación. Por tanto estos estudios, si bien son una estimación, presentan importantes errores derivados de la dificultad de ajustar con cierta precisión las componentes del balance (Millard, 1996).

La incorporación del trazador  $^{15}\text{N}$  en el estudio de la movilización del N de reserva de la planta constituye una importante herramienta, ya que permite diferenciar el N absorbido del procedente de translocación y/o recirculación. Esta diferenciación es clave ya que un mismo órgano puede ser exportador de N almacenado e incorporar simultáneamente N absorbido. Gracias a esta herramienta se ha comprobado, de manera inequívoca, que el N procedente de la translocación y recirculación interna de la planta contribuye en gran medida a satisfacer las necesidades en nutrientes en los estados iniciales del crecimiento de las nuevas brotaciones y órganos reproductivos (Legaz *et al.*, 1981; Legaz *et al.*, 1995a; Tagliavini *et al.*, 1997; Tagliavini *et al.*, 1999).

### **1.6.2 Hábito foliar, acumulación de N de reserva y su translocación**

La importancia relativa de los principales órganos de reserva parece estar relacionada con el hábito foliar (caduco o perenne) de las especies. En las regiones de climas templados, los árboles de hoja perenne acumulan sus nutrientes preferentemente en las hojas, mientras que las especies caducifolias lo hacen en sus tallos y raíces en forma de aminoácidos o amidas. Sin embargo, independientemente del hábito foliar, las hojas son el principal sumidero durante la primavera y el verano. Por lo tanto, en las especies perennes, el N incorporado durante la primavera y el verano podrá ser utilizado para el desarrollo de la biomasa foliar, o bien incrementar las reservas sin necesidad de ser translocado a otro órgano para su almacenaje (Camm, 1993). La capacidad sumidero de las hojas favorece por tanto la acumulación de N que constituirá las reservas de N (Livingston *et al.*, 1998).

En las especies caducifolias el N de reservas se acumula durante el invierno en tallo/ramas y raíces. Adicionalmente, existe una recirculación del N foliar incorporado durante primavera y verano, que es translocado hacia los órganos de reservas previamente a la abscisión de las hojas senescentes en otoño y que constituye una aportación sustancial al total de las reservas del árbol. Millard y Thomson (1989) calcularon que entre el 32% y 48% del total del N translocado por las reservas para el desarrollo de la brotación de primavera en manzano procedía de la recirculación del N presente en las hojas.

Existen dos teorías enfrentadas sobre el fenómeno responsable de la translocación de N. Por un lado, hay autores que afirman que es la disponibilidad de N la que regularía este proceso (Millard y Proe, 1993), mientras que otros autores consideran que es la demanda de los órganos sumidero la responsable (Nambiar y Fife, 1987). Sin embargo, ambas hipótesis parecen ser no sólo válidas sino incluso complementarias en el caso de árboles de hoja perenne. Las especies de hoja perenne acumulan sus reservas al final de verano y en otoño simultáneamente con la formación de las yemas que brotarán la siguiente primavera; de este modo, la acumulación de reservas sería un proceso que vendría regulado por las necesidades futuras. Por tanto, la translocación durante la brotación-fructificación en primavera sería un proceso que habría sido regulado de manera recíproca por la disponibilidad de N y la necesidad de los órganos sumidero (Grelet *et al.*, 2001).

En la actualidad, son numerosos los estudios de movilización de N de reservas mediante el empleo de  $^{15}\text{N}$  en especies caducifolias, gran parte de ellos en frutales como cerezo (Millard *et al.*, 2006), manzano (Millard y Neilsen, 1989; Malaguti *et al.*, 2001), nectarino (Tagliavini *et al.*, 1999), peral (Tagliavini *et al.*, 1997), pistacho (Rosecrance *et al.*, 1998); otros incluso en especies forestales como arce (Millard y Proe, 1991), abedul (Millard *et al.*, 1998) y fresno (Marmann *et al.*, 1997). Sin embargo, son escasos los estudios llevados a cabo en especies perennes como coníferas, abeto (Millard y Proe, 1993) y pino (Nambiar y Fife, 1987) y en frutales como cítricos (Akao *et al.*, 1978a,b; Legaz *et al.*, 1981; Kato *et al.*, 1984a,b; Legaz *et al.*, 1995a).

### **1.6.3 Translocación de N de reservas en cítricos**

Los órganos jóvenes en desarrollo de los cítricos necesitan grandes cantidades de N como consecuencia de la activa división celular y la síntesis de proteínas (Akao *et al.*, 1978a,b; Legaz *et al.*, 1981). Este consumo en la mayoría de los casos no es satisfecho por el nitrógeno absorbido por el sistema radicular. Tal y como ya se ha explicado, la absorción del N por los cítricos no se realiza de forma constante a lo largo del año sino que ésta es

mínima durante el invierno, aumenta en primavera y es máxima durante el periodo de cuajado del fruto, inmediatamente después de la floración (Legaz *et al.*, 1981). Es por ello, que al inicio del ciclo vegetativo (brotación-floración en primavera), coincidiendo con el momento de mayor requerimiento en N, la absorción de este elemento se ve disminuida a causa de bajas temperaturas. En estas circunstancias se produce la movilización de N por parte de hojas y órganos leñosos hacia los órganos en desarrollo.

En 1933, Cameron y Appleman apuntan por primera vez que el N acumulado en la planta tendría un papel importante en el desarrollo de la brotación de primavera, debido a la disminución estacional de la concentración en N de los órganos leñosos de las plantas. Posteriormente, Kato *et al.*, (1984b) observaron que en la corteza y leño de árboles adultos de Satsuma se acumulaba nitrógeno soluble y proteico a partir de final de agosto. Otros trabajos se centran en el estudio de la evolución de este nutriente en las hojas de los cítricos (Smith y Reuther, 1950; Cameron *et al.*, 1952; Kubota *et al.*, 1974a; Kato *et al.*, 1984a). Estos estudios mostraron que la concentración de N disminuye durante la brotación de primavera, alcanzando su valor mínimo en el momento de postfloración e inicio del desarrollo del fruto. Posteriormente, aumenta al final de la primavera y principio del verano, permaneciendo más o menos estable durante el otoño e incluso el invierno. Finalmente, disminuye durante el periodo de senescencia previo a la abscisión.

Culiáñez *et al.* (1981) observaron una disminución en la fracción proteica de las hojas viejas de cítricos al inicio de la primavera, cuando tendrían lugar las mayores movilizaciones de reservas, como consecuencia del consumo de la brotación-floración en primavera. En este periodo, se detecta un incremento en los niveles de prolina que estos autores atribuyen a la movilización existente hacia los ovarios y frutos en desarrollo. Sanz *et al.* (1987) obtuvieron resultados similares en lo que respecta al papel de los nutrientes presentes en las hojas viejas en estadios tempranos de desarrollo de flores y frutos. Para ello determinaron el nivel de elementos minerales y carbohidratos metabolizados en hojas de naranja, cultivar Washington Navel, desde la brotación hasta el fin de la caída de junio y lo relacionaron con el crecimiento de frutitos y la abscisión. Los elementos minerales en hojas viejas disminuyeron durante la brotación de primavera y alcanzaron el valor mínimo en la apertura de flores, coincidiendo con un pico en la abscisión de estructuras reproductivas. Esto fue seguido por una rápida recuperación en potasio y nitrógeno hasta los valores iniciales. Por otro lado, las inflorescencias con hojas acumulan carbohidratos y elementos minerales durante la post antesis; durante la caída de junio hay una interrupción en la acumulación de nitrógeno y una pérdida de fósforo, potasio y carbohidratos desde estas hojas, coincidiendo con la tasa de máximo crecimiento del fruto.

Los cambios en la concentración en diversos órganos de los agrios (hojas viejas, ramas y raíces) sugiere por tanto, la función de almacén del N de reserva, que se movilizaría en momentos de elevada demanda, especialmente al principio de la primavera. La dificultad de confirmar esta hipótesis se encuentra en el hecho de que todos los estudios anteriores se basan en la determinación de la concentración de N en los distintos órganos; sin embargo, este dato no aporta información cuantitativa sobre el movimiento de este elemento desde los órganos de reserva hacia los órganos en desarrollo, lo que puede llevar a equívocos. Así Kato *et al.* (1984b), en un estudio de la translocación de N de reservas en un árbol de Satsuma de 21 años, observaron que, si bien los descensos más acusados en la concentración de este elemento se daba en órganos con altas concentraciones de N como las hojas viejas, éstas no eran cuantitativamente el principal órgano exportador sino el tronco y las ramas leñosas. En este sentido, Taylor (1967) señala que un cambio en el contenido total de nitrógeno en un tejido puede ser debido a un cambio en su concentración (medida muy utilizada) o en el contenido en materia seca del mismo, por lo que es muy importante determinar el peso seco total de los órganos de la planta. Es por tanto necesaria la determinación del contenido total en N de los distintos órganos para cuantificar las variaciones netas de este elemento. Sin embargo, para ello es imprescindible la determinación de datos como la biomasa total de los órganos, lo que conlleva la extracción, a menudo costosa, de las plantas, por lo que son escasos los trabajos que aborden de manera global el estudio de la movilización de reservas en cítricos.

El empleo de  $^{15}\text{N}$  como trazador en la dinámica del N en la planta ha permitido esclarecer el papel de las reservas en el desarrollo de los órganos jóvenes. Wallace *et al.* (1954) mediante la aplicación de fertilizantes marcados determinaron que tan sólo un 15% del N presente en las hojas jóvenes procedía del suelo y que por tanto, la mayor parte del N debía proceder de reservas. Por otro lado, observaron que más de un 50% del N contenido en las hojas viejas era exportado al resto del árbol antes de la abscisión. Este valor, de acuerdo con estudios posteriores (Embleton *et al.*, 1973a), se demostraría que estaba sobreponderado.

Legaz *et al.* (1981) apuntaban sobre la importancia que las reservas del año anterior almacenadas en la planta tendrían sobre el suministro de N durante los períodos de brotación-floración y cuajado del fruto. Estos autores estudiaron las necesidades estacionales de N de los cítricos, su distribución a los diferentes órganos así como la movilización de N de las reservas, en los principales estados fenológicos del ciclo vegetativo. Para ello, se fertilizó con abonos marcados con  $^{15}\text{N}$  naranjos Valencia cultivados en arena durante 18 días en 5 periodos diferentes. Esta experiencia puso de

manifiesto que tan sólo el 25% del nitrógeno que reciben los ovarios y los frutos en su primera fase de desarrollo procede del absorbido del fertilizante. Por lo que estos autores concluyen que el 75% restante provendría de la reserva contenida en las hojas viejas y raíces.

Kato *et al.* (1984a) determinaron el contenido en N de varias partes de un árbol de Satsuma de 21 años cultivado en arena, antes y después de la brotación de primavera, estimando la cantidad de nitrógeno translocada desde las partes viejas a las nuevas. En estas condiciones, y asumiendo la premisa de que no hay crecimiento de las partes viejas durante la primavera, se estimó que el nitrógeno de los órganos nuevos procede en un 22% de las hojas viejas, en un 40% de las ramas y tronco y en un 30% de las raíces. Las principales fuentes de N utilizadas para el desarrollo de los nuevos órganos fueron las proteínas (50%) y nitrógeno soluble (42%), especialmente los aminoácidos prolina, arginina y asparagina.

En un trabajo posterior, Legaz y Primo-Millo (1988a), en una experiencia de marcado continuo con  $^{15}\text{N-NO}_3^-$ , desde el inicio de la primavera hasta el letargo, en plantas jóvenes de naranjo Valencia Late, cultivadas a la intemperie en arena, encontraron que el 27% del contenido en N de las hojas de primavera procedió del absorbido del fertilizante mientras que en las brotaciones del verano y otoño éste fue del 60%. Esto indicaría que, durante el verano y otoño, la contribución de las reservas del año anterior al desarrollo de las brotaciones sería inferior que en primavera.

Con respecto a la distribución de los abonos nitrogenados, Quiñones *et al.* (2003a,b) estudiaron la influencia del sistema de riego (localizado vs. goteo) y la distribución estacional de la dosis sobre la eficiencia de la absorción de N por plantas de cítricos de 8 años de edad de la variedad Navelina cultivados en suelo. Para ello aplicaron  $^{15}\text{N}$  durante todo un ciclo vegetativo (marzo a octubre) y extrajeron los árboles durante el letargo (diciembre). En las primeras fases del ciclo vegetativo (final del cuajado), la contribución del N procedente del fertilizante al desarrollo de nuevos órganos fue creciente al aumentar las cantidades de N aplicadas, con independencia del sistema de riego utilizado. Asimismo observaron un mayor descenso en la concentración del N total en las hojas viejas de los árboles bajo riego a goteo, por lo que estos autores sugieren que las menores cantidades de N suministradas en el riego a goteo inducirían mayores tasas de translocación del N de reserva.

Sin embargo, cabe destacar que en estos estudios es el N directamente absorbido del fertilizante el que incorpora el trazador. Esto, unido al hecho de que las extracciones y análisis de las plantas se realicen en un periodo corto después de la fertilización, supone que las conclusiones extraídas son del destino en la planta del N recientemente absorbido. Es por diferencia entre el total del N que contienen los órganos jóvenes y este N absorbido como se concluye en estos casos el papel desempeñado por las reservas. Un mayor distanciamiento entre el momento de aplicación del  $^{15}\text{N}$  y la extracción, unido a la determinación del estado de partida en  $^{15}\text{N}$  de los órganos viejos, permite extraer conclusiones más exactas sobre la movilización del N desde los órganos de reserva a los órganos en desarrollo.

Legaz *et al.* (1981) aplicaron un fertilizante marcado durante los meses de septiembre a diciembre, a naranjos Valencia de 4 años cultivados en arena. Posteriormente la mitad de los árboles recibieron una dosis baja de N y la otra mitad una dosis alta del mismo. Extracciones consecutivas en los meses siguientes (enero, abril, mayo, julio y octubre) permitieron estudiar la movilización del  $^{15}\text{N}$  acumulado en el periodo anterior. En ambos grupos de árboles, la contribución del  $^{15}\text{N}$  al total del N ( $\%^{15}\text{N}$ ) de los órganos en desarrollo (flores, ovarios, hojas primavera) incrementó durante el periodo de floración, como consecuencia de la activa movilización del N acumulado en las reservas hacia estos órganos. En el caso de los árboles que recibieron un menor aporte de N, la movilización de N de reservas fue mayor. Posteriormente, la contribución de las reservas disminuyó progresivamente, de manera más acusada en los árboles que recibieron la dosis alta de N.

Legaz *et al.* (1982) examinaron la contribución del  $^{15}\text{N}$  absorbido durante un marcado de 20 días, bien al inicio de la floración de primavera, bien al final de la caída de pétalos, al desarrollo de los nuevos órganos en calamondines (*Citrus mitis* Blanco) de 5 años en arena. La extracción de las plantas 20 y 70 días después del marcado permitió asimismo estudiar la translocación del N aplicado. De sus resultados se desprende que menos del 16% del total de N presente en las hojas de la brotación de primavera procedía del absorbido del fertilizante. Las hojas jóvenes también contribuyeron al N exportado hacia los frutos en desarrollo, de modo que cerca del 30% del  $^{15}\text{N}$  acumulado en las hojas jóvenes durante la primavera se translocaba posteriormente a los frutos en desarrollo y a las hojas de las brotaciones de verano; siendo máxima la movilización hacia los frutos en el periodo de cuajado.

En estudios posteriores en naranjo de la variedad Valencia Late, de 3 años de edad cultivados en arena, Legaz *et al.* (1995a) observaron que, tras suministrar una solución

nutritiva enriquecida con  $^{15}\text{NO}_3^-$  durante todo un ciclo (febrero a enero siguiente), en la floración del siguiente ciclo, el 69,6% del N consumido por los nuevos órganos procedía de los órganos de reserva. Esta proporción fue disminuyendo al progresar el ciclo vegetativo e incrementarse la proporción de N absorbido de la solución, de forma que el porcentaje del N aportado por las reservas fue del 57,1% durante el cuajado, el 40,3% en verano y el 27,7% en otoño. También se observó como las raíces fueron el principal órgano de reserva, aportando el 46,4% del N total almacenado, seguido de las hojas viejas con un 38,1% y las ramas y tronco con un 15,5%.

Sin embargo, todos estos estudios se han llevado a cabo fundamentalmente en arena, por la dificultad que entraña el delimitar qué proporción de N translocado hacia los nuevos órganos proviene de las reservas o del suelo. Son escasos los estudios de movilización de N de reservas en cítricos cultivados en suelo. Akao *et al.* (1978a,b) con el fin de estudiar el papel del N aplicado en el ciclo anterior y almacenado posteriormente, en el desarrollo de los tejidos de la siguiente primavera, aplicaron nitrato cálcico marcado con  $^{15}\text{N}$  en noviembre (aplicación de otoño) o en marzo (aplicación de primavera) a dos árboles de mandarina Satsuma de 11 años cultivados en suelo. La extracción de los árboles en el mes de junio puso en evidencia que el 28% del N de las hojas de primavera y frutos recién cuajados procedía del fertilizante aplicado en otoño y un 17% del N aplicado en primavera. Esto se debió a la diferente eficiencia de absorción del N aplicado en ambos periodos, así mientras que en el árbol que recibió la aplicación de otoño un 12% de su N procedía del aplicado con el fertilizante, este porcentaje descendía a casi la mitad (7%) en el caso de la aplicación de primavera.

Kubota *et al.* (1976a) en un estudio de la movilización del nitrógeno de las reservas en cítricos cultivados en suelo, tras realizar un aporte puntual en primavera (marzo) de abono marcado con  $^{15}\text{N}$  a un árbol de mandarina Satsuma de 9 años, observaron que al inicio de julio tan sólo el 19, 17 y 10% del  $^{15}\text{N}$  total presente en hojas jóvenes, frutos en desarrollo y ramas nuevas, respectivamente, procedía del  $^{15}\text{N}$  aplicado. La aplicación en verano (Kubota *et al.*, 1976b) de abono marcado (junio) supuso tan sólo un 11% del total de N presente en las hojas de la brotación de verano y otoño, en la extracción realizada en diciembre. Estos valores indican claramente, que la mayor parte del N de los órganos jóvenes (brotaciones de primavera, verano y otoño) procede de las reservas acumuladas en los órganos viejos.

En un estudio reciente realizado en naranjos Lane Late de 2 años cultivados en campo durante 3 años, Menino *et al.* (2007) observaron que, tras suministrar un fertilizante



marcado de marzo a octubre, en la extracción de las plantas al final del ciclo siguiente (noviembre del siguiente año) aproximadamente el 35% del N presente en el árbol procedía del fertilizante aplicado ese mismo año, mientras que el 16% procedía de las reservas (fertilizante aplicado el año anterior). En los órganos jóvenes (hojas, ramas y raíces fibrosas) más del 50% del N procedió del fertilizante aplicado el ciclo anterior, indicando el importante papel que desempeñan las reservas en el desarrollo de las nuevas brotaciones. Al final del tercer año, aproximadamente el 50% del N en los árboles procedía del fertilizante aplicado en los dos años anteriores.

De acuerdo con la revisión realizada es evidente la relevancia del N presente en los órganos de reserva de los cítricos (hojas de años anteriores, ramas, tronco y sistema radical) para el sustento de las nuevas brotaciones. Sin embargo, se carece de suficiente información sobre el papel que desempeña éste en función del abonado.

#### **1.6.4 Formas químicas de almacenamiento del N en cítricos**

Los principales compuestos de reserva de N encontrados en los cítricos son tres aminoácidos libres, asparagina, arginina y prolina, así como algunas proteínas (Cotolí *et al.*, 1973; Kubota *et al.*, 1974a; Kato *et al.*, 1984a; Moreno y García-Martínez, 1984). Destacan la arginina y la asparagina, ricas en N, cuyo contenido se relaciona directamente con la concentración de N en el árbol; la prolina, se acumula principalmente en las paredes celulares y parece estar más bien relacionada con la resistencia a bajas temperaturas, sequía e infecciones (Kato *et al.*, 1984a).

En las épocas en que la temperatura desciende el  $^{15}\text{N}$  absorbido durante el otoño e invierno es retenido en las raíces (Kubota *et al.*, 1972b; Kato y Kubota, 1982b), posiblemente debido a la supresión del transporte hacia la parte aérea, quedando acumulado en formas solubles principalmente como asparagina, prolina y arginina (Kubota *et al.*, 1974a). Esta reserva de N se ve incrementada por compuestos nitrogenados acumulados en las hojas, especialmente prolina, que durante el otoño son translocados al sistema radical (Kato *et al.*, 1985b). De este modo el N quedaría acumulado durante el invierno y sería utilizado durante la brotación-floración de primavera (Kubota *et al.*, 1974a; Kato *et al.*, 1984a).

La arginina en los cítricos se sintetiza y acumula en el sistema radical y leño (Kato *et al.*, 1984a), así como en los ápices de las ramas, y en las hojas de árboles jóvenes (Kubota *et al.*, 1974a). La arginina es transportada a los órganos en desarrollo donde es metabolizada

mediante su conversión a prolina o guanidinobutirato y su posterior incorporación a las proteínas del tejido en desarrollo (Kato *et al.*, 1985a,b). La asparagina por otro lado, tiene un catabolismo limitado en los cítricos. Concretamente se encuentran grandes cantidades de este aminoácido en plántones jóvenes (Kato *et al.*, 1984a), lo que confirmaría que prácticamente no se produce su catabolismo. Probablemente, la asparagina actuaría inmovilizando el amonio en exceso evitando su toxicidad (Kato, 1980). El metabolismo de la prolina se lleva a cabo mediante su conversión a glutamato, aspartato, asparagina,  $\gamma$ -aminobutirato y arginina (Kato *et al.*, 1985a). También se observa un decremento en el contenido proteico de las hojas viejas durante la brotación de primavera (Kato *et al.*, 1984a,b; Moreno y García-Martínez, 1984), especialmente de ribulosa carboxilasa-oxigenasa (rubisco) y en menor medida de otras proteínas de menor peso molecular (Moreno y García-Martínez, 1984). Calot *et al.* (1984) separaron electroforéticamente dos proteínas de bajo peso molecular en las raíces (12-14 Kd) y otras dos de bajo y medio peso molecular (12 y 20 Kd) en la corteza del tronco y ramas, respectivamente, las cuales mostraron características de proteínas de reservas.

Según Kato (1981) la forma de translocación del N dependerá del tipo de abono aplicado, así en árboles con fertilización amoniacal el N es transportado por la planta en forma de asparagina, mientras que el nitrato se transporta como tal en los árboles con fertilización nítrica. Sin embargo, de acuerdo con otros autores, la forma de transporte vendría determinada por las necesidades de consumo de N. De este modo, en momentos de elevado consumo de N cuando la reducción del nitrato en el sistema radical es incompleta y por tanto no todo el  $\text{NH}_4^+$  es incorporado a los aminoácidos, es cuando se produce el transporte en forma de  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{NH}_4^+$  a la parte aérea (Andrews, 1986; Schjoerring *et al.*, 2002). Estudios recientes confirman que un aporte de N elevado incrementa la recirculación de aminoácidos entre la parte aérea y el sistema radical, en un mecanismo de regulación de la absorción de N en el que la glutamina parece desempeñar un papel determinante (Fan *et al.*, 2006; Miller *et al.*, 2008).

De acuerdo con lo expuesto parece lógico pensar que la distribución estacional de la dosis de abono nitrogenado puede influir en la movilización del nitrógeno, acumulado durante el ciclo anterior en los órganos de reserva.

## 1.7 USO DEL ÍNDICE DE CLOROFILA DE LA HOJA (SPAD) EN LA FERTILIZACIÓN NITROGENADA

En diversos cultivos se vienen desarrollando métodos de diagnóstico que, de manera sencilla, permitan ajustar al máximo la fertilización nitrogenada a las necesidades de nitrógeno de éstos. La determinación cuantitativa de N total (método de Kjeldahl; Bremner, 1996) y la determinación de clorofilas en tejidos vegetales (extracción con acetona o con N,N-dimetilformamida; Moran, y Porath, 1980) presentan los inconvenientes de requerir reactivos y equipo especializado, así como el tiempo transcurrido desde la toma de muestra hasta su análisis. En los últimos años se viene utilizando el índice de color verde de la hoja como indicador del estado nutricional en N, tanto en frutales como leguminosas, gramíneas y hortalizas. Este índice es comúnmente conocido como índice SPAD, que adopta su nombre del medidor portátil de clorofilas SPAD (Soil Plant Analysis Development, Minolta).

El índice de SPAD se encuentra estrechamente relacionado con el contenido de clorofila y con la concentración de N total en las hojas (Syvertsen, 1987). Por ello, este medidor se está considerando como una herramienta a tener en cuenta en los programas de fertilización de diferentes cultivos, al tratarse de una medida instantánea y no destructiva. Este medidor emite luz a dos longitudes de onda (650 nm y 940 nm) a través de la hoja; parte de la luz que llega a la hoja es absorbida por la clorofila y el resto, que se refleja, entra en contacto con la celda detectora y se convierte en una señal eléctrica. La cantidad de luz captada por la celda es inversamente proporcional a la cantidad de luz utilizada por la clorofila, la señal es procesada y la absorbancia es cuantificada en valores adimensionales que van de 0 a 199, por lo que las unidades SPAD serán siempre las mismas de acuerdo con el tono verde de la hoja (Krugh *et al.*, 1994).

La cantidad de clorofila está influenciada por la disponibilidad de nutrientes (Finnan *et al.*, 1997), encontrándose que hasta un 75% del N orgánico total se localiza en los cloroplastos, principalmente en forma de enzimas, y una deficiencia de este elemento tiene efecto directo en la síntesis de clorofila (Grindlay, 1997). Es por ello, que numerosos estudios relacionan los valores de lecturas de índice de SPAD con el contenido en clorofila y/o en N foliar en cultivos herbáceos anuales como trigo (*Triticum aestivum* L.; López-Bellido *et al.*, 2004) maíz (*Zea mays* L.; Bullock y Anderson, 1998), algodón (*Gossypium hirsutum* L.; Malavolta *et al.*, 2004), patata (*Solanum tuberosum* L.; Minotti *et al.*, 1994) o arroz (*Oryza sativa* L.; Turner y Jund, 1991), entre otros cultivos.

Sin embargo, son escasos los estudios en los que se evalúe dicha relación en plantas leñosas como los cítricos (Jifon *et al.*, 2005). Dutra *et al.* (2003) en un estudio llevado a cabo en limón Cravo y Volkameriano, y en mandarino Cleopatra y Sunki, observaron una clara correlación entre el índice de SPAD, la concentración foliar de N total y el contenido en clorofila, estableciendo la idoneidad del medidor SPAD para estimar el contenido en clorofilas y N de las hojas.

## **2 OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO**



Con el fin de incrementar la eficiencia del abono nitrogenado aplicado y limitar de este modo al máximo el riesgo de contaminación por lixiviado del nitrato residual, es necesario ajustar de forma precisa las dosis de abono a las necesidades nutritivas de los cítricos, sin detrimento del crecimiento y la producción de este cultivo. Las dosis de N a aportar se determinan en función de las características de la plantación (edad, variedad, patrón, marco de plantación, producción, tipo de suelo, sistema de cultivo, entre otros) y de los niveles de este elemento en el suelo y agua de riego. Sin embargo, y aunque también se debería tener en cuenta el estado nutricional de la planta, definido por el análisis foliar, no se dispone de suficiente información de la contribución relativa del N de reserva y del N absorbido del fertilizante al desarrollo de nuevos tejidos, así como de la influencia de la distribución estacional sobre ésta.

## 2.1 OBJETIVOS

El objetivo del presente trabajo es evaluar por tanto, el efecto de la distribución estacional del abonado nitrogenado sobre la absorción del N aplicado en cítricos y su distribución en los distintos órganos, así como sobre la movilización del N acumulado en los órganos viejos de reserva hacia los órganos en desarrollo. De este modo se profundizará tanto en el conocimiento de la dinámica del nitrógeno en el sistema planta-suelo en los cítricos como en los posibles factores implicados en este proceso, con el fin de ampliar las bases sobre las que descansan los criterios del abonado nitrogenado y optimizar así la aplicación estacional de los fertilizantes, reduciéndose el nitrato residual.

Concretamente, se estudiará el efecto de diferentes distribuciones estacionales del nitrógeno aplicado sobre los siguientes aspectos:

- Cuantificación de la absorción de N a lo largo del ciclo vegetativo y su eficiencia de uso.
- Distribución del N absorbido en los distintos órganos de la planta en distintos momentos fenológicos.
- Translocación, a lo largo del ciclo vegetativo, del N acumulado el año anterior en los órganos de reserva.
- Contribución del N acumulado el año anterior en los órganos de reserva, al desarrollo vegetativo de las distintas brotaciones así como a la fructificación, en distintos momentos fenológicos del siguiente ciclo de desarrollo.

- Evolución estacional del contenido en macro y micronutrientes, índice de clorofila (SPAD) y contenido en clorofilas, en hojas de la brotación de primavera.
- Variación temporal de las formas de N en el suelo.

## **2.2 PLAN DE TRABAJO**

Para la consecución de los objetivos descritos en el apartado anterior, se plantean dos ensayos paralelos en los que se estudiará de manera simultánea la contribución del nitrógeno absorbido del suelo (Ensayo de absorción) y del procedente de las reservas del árbol (Ensayo de translocación) al desarrollo de los nuevos tejidos en plantas jóvenes de naranjo, a los que se les suministrará el abono nitrogenado siguiendo tres distribuciones estacionales diferentes. Ambos ensayos proporcionarán información complementaria para profundizar en el conocimiento del papel que desempeñan ambas fuentes de N.

Para ello, y durante dos ciclos vegetativos completos, se recurre al empleo de la técnica de dilución isotópica mediante la incorporación del isótopo estable  $^{15}\text{N}$  al sistema planta-suelo. La utilización de este isótopo como trazador, constituye una potente herramienta de investigación que permitirá obtener información exhaustiva de la dinámica del nitrógeno en el sistema planta-suelo, no accesible por los procedimientos y técnicas convencionales de estudio.

### **2.2.1 Ensayo de absorción**

Este ensayo tiene por objeto cuantificar la absorción de N y su reparto en los distintos órganos de la planta en distintos momentos del ciclo de desarrollo en función de la distribución estacional de una misma dosis de abono nitrogenado. Para ello se aplicará una solución marcada, enriquecida en  $^{15}\text{N}$ , desde el inicio de la actividad vegetativa (principios de marzo) hasta el completo desarrollo del fruto (final de octubre) siguiendo tres distribuciones estacionales. Las plantas así marcadas se extraerán en diferentes momentos del desarrollo fenológico (floración, cuajado, final de caída fisiológica y madurez del fruto). Estas extracciones periódicas permitirán analizar el contenido en N total de cada órgano así como la concentración en  $^{15}\text{N}$ , para determinar de este modo la contribución del N absorbido al total de este elemento en las distintas fracciones de la planta a lo largo del ciclo vegetativo y en las fracciones del suelo. La extracción final (madurez del fruto), una vez aplicada la totalidad de la dosis, permitirá evaluar el efecto que tienen las distintas distribuciones estacionales de una misma dosis de N sobre el reparto en el sistema planta-suelo del N aplicado.



### **2.2.2 Ensayo de translocación**

Mediante este ensayo se estudiará la influencia de la distribución estacional de una misma dosis de abono nitrogenado sobre la translocación, hacia los nuevos órganos en desarrollo, del N acumulado durante el año anterior en hojas, ramas, tronco y raíces. Para ello, se marcará el N acumulado en las reservas, mediante la aplicación de un abono enriquecido en  $^{15}\text{N}$  durante un ciclo de abonado completo. En el año siguiente, se aplicará una misma dosis de N siguiendo las tres distribuciones estacionales mencionadas en el ensayo de absorción. Extracciones periódicas de árboles durante el segundo año, simultáneas a las extracciones realizadas en el ensayo de absorción, permitirán cuantificar la contribución del N acumulado el año anterior, al desarrollo de los órganos jóvenes en función de la distribución estacional.



### **3 MATERIALES Y MÉTODOS**



### 3.1 Material vegetal

Los estudios de la absorción estacional de N y de la translocación de las reservas nitrogenadas se llevaron a cabo en cítricos de la variedad Lane Late (*Citrus sinensis* L. Osb.), injertados sobre citrange Carrizo (*Citrus sinensis* x *Poncirus trifoliata*), de 3 años al inicio de los ensayos. El diámetro de copa al inicio del ensayo fue  $70 \pm 8$  cm y el diámetro del tronco medido a 4 cm de la zona de injerto fue  $3,8 \pm 0,3$  cm para el patrón y  $2,8 \pm 0,2$  cm para el injerto.

### 3.2 Condiciones de cultivo y suelo

La fase de campo de ambos ensayos se llevó a cabo durante los años 2005 y 2006 en la parcela experimental del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA) en Moncada. Durante el letargo invernal (noviembre 2003), con el fin de su aclimatación, 75 plantas homogéneas procedentes de vivero se transplantaron a raíz desnuda a contenedores individuales de polipropileno de 40 cm de diámetro superior y una capacidad de 37 L, equivalente a unos 55 kg de suelo (seco a temperatura ambiente). Las plantas se cultivaron en un suelo de textura franca típico de la zona (Tabla 3).

**Tabla 3.** Análisis del suelo empleado en ambos ensayos.

Determinación realizada <sup>z</sup>	
Textura U.S.D.A	Franca
Arena (% , diámetro de partículas 2,00-0,05 mm)	45,4
Limo (% , diámetro de partículas 0,05-0,002 mm)	35,7
Arcilla (% , diámetro de partículas < 0,002 mm)	18,9
pH (1:2,5; suelo:agua)	8,3
Materia orgánica total (%)	1,47
Nitrógeno total (N %)	0,08
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg N kg <sup>-1</sup> suelo)	12,5
Fósforo asimilable (Olsen, mg·kg <sup>-1</sup> )	35,5
Potasio <sup>y</sup> (K meq·100 g suelo <sup>-1</sup> )	0,64
Magnesio <sup>y</sup> (Mg meq·100 g suelo <sup>-1</sup> )	2,08
Calcio <sup>y</sup> (Ca meq·100 g suelo <sup>-1</sup> )	20,05
Sodio <sup>y</sup> (Na meq·100 g suelo <sup>-1</sup> )	0,39
Capacidad de intercambio catiónico (meq·100 g suelo <sup>-1</sup> )	23,16
Conductividad eléctrica del extracto 1:5 (mS·cm <sup>-1</sup> a 25 °C)	0,43
Carbonatos totales en caliza (%)	27,3
Caliza activa (%)	12,0

<sup>z</sup>: Servicio de Análisis Agroalimentario. Dirección General de Investigación e Innovación Agraria y Ganadería. CAPA. <sup>y</sup>: Extraídos con acetato amónico.

Las plantas se cultivaron en el exterior, bajo una estructura de techo transparente de policarbonato, con el fin de resguardar los ensayos de las inclemencias climáticas (Foto 1). Los árboles se dispusieron sobre bancadas, con una misma línea portagoteros para cada grupo de árboles que recibió la misma distribución estacional del abonado.



**Foto 1.** Detalle de la estructura empleada para proteger los árboles de los ensayos de absorción y translocación.

### 3.2.1 Riego

Para el riego se utilizó agua sometida a un tratamiento de desionización parcial, ya que el agua de la zona presentaba un contenido en nitrato elevado, en torno a  $120 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , que podía en ocasiones representar un aporte de N superior a la cuantía a aplicar, dado que el suministro de este nutriente se debía realizar de forma controlada. Mensualmente se analizó el agua parcialmente desionizada utilizada en los ensayos que presentó una conductividad eléctrica promedio de  $274\pm 50 \text{ }\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  y un contenido en nitratos de  $20,8\pm 3,7 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (Tabla 4).

El agua se aplicó mediante un sistema de riego localizado a goteo, con 2 goteros autocompensantes por árbol, con un caudal de  $2,2 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$  por emisor. Para la determinación de la humedad del suelo se utilizó un sensor ThetaProbe PR2 (Delta-T Devices Ltd)

conectado a un sistema de adquisición de datos (Moisture meter HH2, Delta-T Devices Ltd.), que proporcionó los valores de humedad volumétrica, con un error de  $\pm 0,06$  % vol. Los conductos para la inserción de la sonda se colocaron en un punto intermedio entre el tronco y el borde del contenedor, y se registraron medidas a dos profundidades (15 y 30 cm de la superficie). Este equipo proporciona asimismo el volumen de agua a aportar con el fin de mantener el suelo con un contenido de humedad que no sobrepase la capacidad de campo del suelo (12% p/p en este ensayo) y evitar así el drenaje. En las tablas 5 y 6 se presentan los volúmenes mensuales de agua de riego aportados en los dos años del ensayo.

**Tabla 4.** Análisis del agua de riego empleada en ambos ensayos.

Determinación realizada <sup>2</sup>	
pH	7,6
Conductividad eléctrica ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ a 25 °C)	274,0
Cloruros ( $\text{Cl}^- \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	20,2
Sulfatos ( $\text{SO}_4^{2-} \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	30,5
Bicarbonatos ( $\text{CO}_3\text{H}^- \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	33,0
Carbonatos ( $\text{CO}_3^{2-} \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	0,0
Nitratos ( $\text{NO}_3^- \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	20,8
Calcio ( $\text{Ca}^{2+} \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	23,2
Magnesio ( $\text{Mg}^{2+} \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	6,7
Potasio ( $\text{K}^+ \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	0,4
Sodio ( $\text{Na}^+ \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	8,3

<sup>2</sup>: Servicio de Análisis Agroalimentario. Dirección General de Investigación e Innovación Agraria y Ganadería. CAPA.

### 3.2.2 Dosis de nitrógeno

En el primer año de ambos ensayos (2005) y de acuerdo con las dosis aplicadas en plantas de la misma edad en trabajos anteriores (Bañuls *et al.*, 2000) se estimó que una dosis de 20 g N·árbol<sup>-1</sup> sería adecuada. La dosis se aplicó un 16% en forma de nitrato potásico ( $\text{KNO}_3$ ), con el fin de cubrir las necesidades básicas en potasio, y el resto de la dosis de N (84%) se aportó como nitrato cálcico ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ).

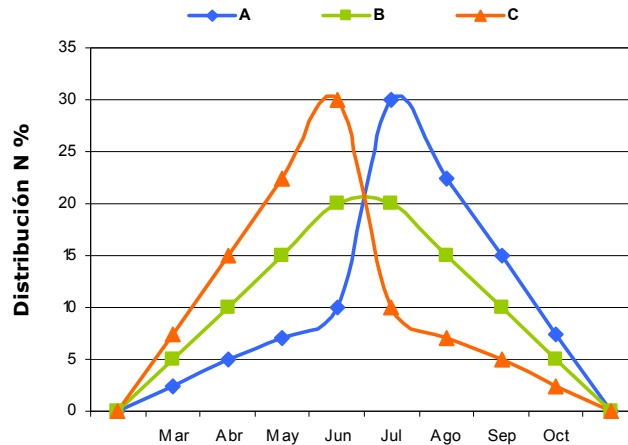
En el segundo año (2006), la dosis de N a aplicar se determinó siguiendo el criterio de Legaz y Primo-Millo (1988b y 2000). De acuerdo con estos autores, las plantas jóvenes de cítricos necesitan 4,5 g N por cada kg de peso seco. Considerando que al inicio del segundo año los árboles tenían un peso seco promedio de 780 g (determinado en la extracción del estado de carga), y que desde el letargo hasta el final del ciclo vegetativo las plantas incrementan su peso 2,5 a 3,5 veces, de acuerdo con el peso final los árboles

requerirían  $12,3 \text{ g N}\cdot\text{árbol}^{-1}$ . Teniendo en cuenta que la eficiencia media de los fertilizantes es del 50% (Rubio, 1979; Morgan y Hanlon, 2006b), la dosis a aplicar fue de 25 g de N por planta. Esta dosis se aplicó en su totalidad como  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ , debido a que los árboles presentaron un contenido foliar en potasio ligeramente alto (Legaz *et al.*, 1995b) en el ciclo anterior y por tanto se decidió no aportar potasio.

### 3.2.3 Distribución estacional de la dosis total de nitrógeno

La dosis de nitrógeno descrita para el primer año del estudio (año 2005) se aplicó, en ambos ensayos, desde el inicio de la actividad vegetativa (principio de marzo) hasta el completo desarrollo del fruto (final de octubre), siguiendo la distribución estacional mensual propuesta por Legaz y Primo-Millo (2000). De acuerdo con esta distribución, los máximos aportes nitrogenados se realizan durante el cuajado e inicio del crecimiento del fruto (Tabla 5).

En el segundo año del estudio (año 2006), la dosis de nitrógeno se aplicó, tanto en el ensayo de absorción como en el de translocación, siguiendo 3 distribuciones estacionales (Figura 2 y Tabla 7). Se comparó la distribución propuesta por Legaz y Primo-Millo (2000), en adelante distribución B, con otras dos distribuciones en las que el máximo aporte del abono, 75% del total de la dosis, se retrasó (distribución A) ó se adelantó (distribución C) con respecto a ésta. Cada una de estas distribuciones se aplicó a 36 árboles en el ensayo de absorción y 39 árboles en el ensayo de reservas, que se fueron extrayendo periódicamente en grupos de 3 árboles por tratamiento.



**Figura 2.** Curvas de distribución mensual de la dosis de N en el segundo año de los ensayos.



**Tabla 5.** Distribución mensual de la dosis de nitrógeno y agua de riego aplicada en el primer año de los ensayos de absorción y translocación.

Parámetros	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic	Total
Nº árboles absorción	36	36	36	36	36	36	36	36	36	36	36	36	36
Nº árboles translocación	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	36
% Dosis N a fin de mes	-	-	5	10	15	20	20	15	10	5	-	-	100
% Dosis N acumulado	-	-	5	15	30	50	70	85	95	100	-	-	-
N aplicado (g·árbol <sup>-1</sup> ·mes <sup>-1</sup> ) <sup>z</sup>	-	-	1	2	3	4	4	3	2	1	-	-	20
Número aplicaciones de N	-	-	-	4	4	8	8	8	4	4	-	-	40
N agua riego (mg N árbol <sup>-1</sup> ·mes <sup>-1</sup> ) <sup>z</sup>	25,4	19,3	39,0	47,9	96,8	122,2	139,6	158,4	117,5	111,4	84,1	45,0	1.006,6
Riego (L·mes <sup>-1</sup> ·árbol <sup>-1</sup> )	5,4	4,1	8,3	10,2	20,6	26,0	29,7	33,7	25,0	23,7	17,9	9,6	16.027,6
Riego (L·mes <sup>-1</sup> )	405,0	304,6	625,4	765,0	1.542,2	1.947,7	2.225,4	2.527,5	1.871,5	1.778,8	1.344,6	689,9	16.027,6

**Tabla 6.** Distribución mensual de la dosis de nitrógeno y agua de riego aplicada en el segundo año de los ensayos de absorción y translocación.

Parámetros	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic	Ene	Total
Nº árboles absorción	36	36	36	36	27	18	9	9	9	9	9	9	9	9
Nº árboles translocación	36	36	36	36	27	18	9	9	9	9	9	9	9	9
% Dosis N a fin de mes	-	-	2,5	5,0	7,5	10,0	30,0	22,5	15,0	7,5	-	-	-	100,0
Distribución A	-	-	5,0	10,0	15,0	20,0	20,0	15,0	10,0	5,0	-	-	-	100,0
Distribución B	-	-	7,5	15,0	22,5	30,0	10,0	7,5	5,0	2,5	-	-	-	100,0
Distribución C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
N aplicado (g·árbol <sup>-1</sup> ·mes <sup>-1</sup> )	-	-	0,6	1,2	1,9	2,5	7,5	5,7	3,7	1,9	-	-	-	25,0
Distribución A	-	-	1,2	2,5	3,8	5,0	5,0	3,8	2,5	1,2	-	-	-	25,0
Distribución B	-	-	1,9	3,7	5,7	7,5	2,5	1,9	1,2	0,6	-	-	-	25,0
Distribución C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nº aplicaciones de N	-	-	4	8	8	8	8	8	8	4	-	-	-	56
N agua riego (mg N·árbol <sup>-1</sup> ·mes <sup>-1</sup> ) <sup>z</sup>	61,6	41,8	44,2	86,5	197,4	291,9	392,0	361,0	245,8	238,3	108,1	66,7	55,0	2.190,3
Riego (L·mes <sup>-1</sup> )	947,1	640,8	674,3	1.321,7	2.269,0	2.234,6	1.501,9	1.382,2	941,0	912,9	414,0	256,3	210,0	13.495,8
Riego (L·mes <sup>-1</sup> ·árbol <sup>-1</sup> )	13,1	8,9	9,4	18,4	42,0	62,1	83,4	76,8	52,3	50,7	23,0	14,2	11,7	16.027,6

<sup>z</sup>: El N aportado con el agua de riego se calculó según la expresión: mg N·planta<sup>-1</sup> = (NO<sub>3</sub><sup>-</sup> x V<sub>r</sub> x 22,6 x F)/10<sup>2</sup>; donde NO<sub>3</sub><sup>-</sup>: concentración de nitrato en el agua de riego (mg·L<sup>-1</sup>); V<sub>r</sub>: volumen total de riego (L·planta<sup>-1</sup>·mes<sup>-1</sup>); 22,6: porcentaje de N en la molécula de nitrato y F: eficiencia de la aplicación del riego, se ha considerado 1 por no existir pérdidas por drenaje.

La dosis mensual de N se aplicó fraccionada en 40 y 56 aplicaciones en el primer y segundo año de los ensayos, respectivamente, en función del número de riegos, inyectada en la línea portagoteros de cada tratamiento (Tablas 5 y 6).

**Tabla 7.** Porcentaje acumulado de la dosis aplicada a final de mes, en el segundo año de los ensayos de absorción y translocación.

<b>N (% acumulado)</b>	<b>Mar</b>	<b>Abr</b>	<b>May</b>	<b>Jun</b>	<b>Jul</b>	<b>Ago</b>	<b>Sep</b>	<b>Oct</b>
<b>Distribución A</b>	2,5	7,5	15,0	25,0	55,0	77,5	92,5	100,0
<b>Distribución B</b>	5,0	15,0	30,0	50,0	70,0	85,0	95,0	100,0
<b>Distribución C</b>	7,5	22,5	45,0	75,0	85,0	92,5	97,5	100,0

### 3.2.4 Marcado isotópico

Con el fin de evaluar las transformaciones químico-biológicas del N en el sistema planta-suelo, así como para estudiar el movimiento del N en los distintos compartimentos de la planta, se recurrió al empleo del  $^{15}\text{N}$  como trazador. Para ello, en determinados momentos del ciclo vegetativo, el fertilizante se aplicó marcado isotópicamente en forma de  $\text{Ca}^{15}\text{NO}_3)_2$  y  $\text{K}^{15}\text{NO}_3$  (Cambridge Isotope Laboratories, Inc., Andover MA, USA) con un 5% de átomos de  $^{15}\text{N}$  en exceso.

### 3.2.5 Macro y micronutrientes

La aplicación del resto de macronutrientes y de los micronutrientes se realizó siguiendo las recomendaciones realizadas por Legaz y Primo-Millo (1988b) para un suelo franco con contenidos normales en materia orgánica y un contenido óptimo en fósforo, potasio y magnesio asimilables. Los macro y micronutrientes se aplicaron disueltos en el agua de riego (solución nutritiva) según se detalla en la tabla 8.

Durante el primer año se aportó solución nutritiva durante todo el ciclo, mientras que en el segundo año ésta se aplicó hasta el final del ciclo de abonado (octubre).

**Tabla 8.** Macro y micronutrientes aportados en los dos años de los ensayos.

2005			2006				
Macro <sup>Z</sup>	Compuesto	g·árbol <sup>-1</sup> Y	Floración	Cuajado	Final caída	Desarrollo	
					fisiológica		del fruto
			g·árbol <sup>-1</sup> acumulados				
Nitrógeno	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> KNO <sub>3</sub>	20,00	A <sup>X</sup>	1,88	3,75	6,25	25,00
			B	3,75	7,50	12,50	25,00
			C	5,63	11,25	18,75	25,00
Potasio	KNO <sub>3</sub>	8,94	A	-	-	-	-
			B	-	-	-	-
			C	-	-	-	-
Calcio	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	24,00	A	2,69	5,36	8,94	35,75
			B	5,36	10,72	17,87	35,75
			C	8,05	16,09	26,81	35,75
Macro <sup>W</sup>			g·árbol <sup>-1</sup> acumulados				
Fósforo	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	1,60	0,38	0,70	1,16	3,14	
Azufre	MgSO <sub>4</sub>	3,85	0,91	1,67	2,79	7,53	
Magnesio	MgSO <sub>4</sub>	2,57	0,61	1,11	1,86	5,02	
Micro <sup>W</sup>			mg·árbol <sup>-1</sup> acumulados				
Hierro	Fe-EDDHA	320,70	76,20	139,20	232,35	627,15	
Zinc	ZnSO <sub>4</sub>	106,90	25,40	46,40	77,45	209,05	
Manganeso	MnSO <sub>4</sub>	160,35	38,10	69,60	116,18	313,57	
Boro	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	53,45	12,70	23,20	38,73	104,52	
Molibdeno	MoH <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	5,35	1,27	2,32	3,87	10,45	
Cobre	CuSO <sub>4</sub>	3,21	0,76	1,39	2,32	6,27	

<sup>Z</sup>: Aportados con el fertilizante nitrogenado. <sup>Y</sup>: Cantidad aportada del elemento. <sup>X</sup>: Distribuciones estacionales A, B y C; aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta final de junio y el 75, 50 y 25% restante hasta el final de octubre. <sup>W</sup>: Aportados con la solución nutritiva.

### 3.3 DESARROLLO EXPERIMENTAL

A continuación se describe el desarrollo experimental de los dos ensayos que componen el estudio realizado.

#### 3.3.1 Ensayo de absorción

Este ensayo se llevó a cabo con 36 árboles que fueron fertirrigados según se detalla en la tabla 5. Durante el primer año del estudio todos los árboles recibieron el fertilizante en forma de nitrato potásico y cálcico no marcados isotópicamente.

A lo largo del segundo año, con el fin de determinar el efecto de las distribuciones estacionales del N a lo largo del ciclo vegetativo sobre la absorción de N y su repartición en los distintos órganos, se aplicó el fertilizante marcado isotópicamente. El Ca(<sup>15</sup>NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> se

aplicó desde el inicio de la actividad vegetativa (principio de marzo) hasta el completo desarrollo del fruto (final de octubre), siguiendo las tres curvas detalladas en la figura 2 y tabla 7 (tratamientos A, B y C), a un total de 12 árboles por tratamiento. En la tabla 6 se muestran las cantidades mensuales de N aportadas en el segundo año del ensayo.

Coincidiendo con los principales momentos fenológicos, floración, cuajado, final de caída fisiológica de frutos y madurez del fruto, se extrajeron 3 árboles por tratamiento, para estudiar la dinámica del N aplicado en el sistema planta-suelo (Tabla 9).

### **3.3.2 Ensayo de translocación**

Este ensayo se efectuó con 39 árboles cultivados en idénticas condiciones a las utilizadas en el ensayo de absorción. En el primer año del ensayo se aplicó nitrato potásico y cálcico marcados con  $^{15}\text{N}$ , aplicados siguiendo la distribución de la tabla 5. De esta forma, el N absorbido durante este ciclo constituirá las reservas marcadas para el siguiente ciclo vegetativo.

Durante el periodo de latencia (mediados de noviembre de 2005) se extrajeron 3 árboles con el fin de determinar la acumulación y distribución en el sistema planta-suelo del  $^{15}\text{N}$  aplicado (estado de carga). Los 36 árboles restantes se trasplantaron a un suelo no marcado, idéntico al empleado al inicio del ensayo, con el fin de que el  $^{15}\text{N}$  residual del suelo no actuara como fuente de este isótopo para el desarrollo de los nuevos órganos. El trasplante se realizó cuidadosamente a raíz desnuda, con el fin de dañar lo menos posible el sistema radical.

En el segundo año del ensayo se aplicó a los árboles trasplantados el fertilizante nitrogenado en forma de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  (no marcado) siguiendo las tres curvas de distribución estacional (tratamientos A, B y C) descritas en la figura 2 y la tabla 7. A lo largo de este año, se arrancaron 3 árboles por tratamiento, simultáneamente con las extracciones realizadas en el ensayo de absorción en los principales momentos fenológicos. Esto permitió estudiar la influencia de las distribuciones estacionales de la dosis de N sobre la translocación del  $^{15}\text{N}$  acumulado durante el año anterior y su contribución relativa al desarrollo de los órganos jóvenes. En la tabla 9 se presenta un resumen de las épocas de marcado y las extracciones de los árboles.



### 3.3.3 Extracción de los árboles

Con el objeto de cuantificar el N absorbido por los árboles, la distribución del  $^{15}\text{N}$  aplicado y la translocación del  $^{15}\text{N}$  acumulado en las reservas, así como la biomasa total y de cada una de las fracciones de la planta, se procedió, tal y como se ha mencionado, a la extracción de las mismas en distintos momentos del ciclo de desarrollo: floración (principio de mayo), cuajado (principio de junio), final de caída fisiológica (principio de julio) y fruto maduro (final de enero) (Tabla 9). Dichos estados fenológicos se corresponden, de acuerdo con la adaptación de la escala BBCH al género *Citrus* realizada por Agustí *et al.* (1995), al estadio 66 de la floración, 71 y 74 del desarrollo del fruto y 89 de la maduración del fruto. La extracción periódica y simultánea, de árboles pertenecientes a ambos ensayos, permitió cuantificar la contribución del N absorbido y del translocado de las reservas acumuladas en el ciclo anterior, al contenido total de este elemento en los órganos jóvenes de la planta.

En primer lugar, se extrajo la parte aérea separándola del sistema radical a 2-3 cm por debajo del injerto. A continuación, se dividió la parte aérea en órganos jóvenes pertenecientes a las brotaciones del ciclo en curso (flores/frutos, ramas y hojas de las brotaciones de primavera, verano y otoño) y órganos viejos (hojas del año anterior, ramas y tronco). El sistema radical se extrajo cuidadosamente del suelo recuperando, de forma manual, todas las raicillas que pudieran quedar en el suelo y se separó en raíces gruesas y fibrosas (<2 mm). En cada una de estas fracciones se determinó el peso fresco total y el parcial de una muestra representativa utilizada para su posterior analítica.

En las extracciones se procedió a muestrear convenientemente el suelo correspondiente a cada planta, con el fin de determinar posteriormente el N presente en el mismo y su distribución en las distintas fracciones (nitrónica, amoniacal y orgánica). El total del suelo de cada contenedor, una vez pesado, se extendió y homogeneizó exhaustivamente. Se tomaron 4 submuestras de aproximadamente 1 kg de peso, mediante la técnica del cuarteo (FAO, 1970), para la determinación del contenido en humedad y su caracterización química.

### 3.3.4 Órganos caídos

A fin de cuantificar las pérdidas de biomasa y N asociadas a los órganos caídos (botón floral, pétalos, cáliz, ovarios en desarrollo y hojas senescentes) se dispusieron mallas sobre los contenedores en que se desarrollaron los árboles (Foto 2). Éstas se colocaron al

inicio de la floración (principio de abril) y se retiraron una vez finalizado el cuajado (30 junio). Quincenalmente se recogieron los órganos caídos en las mallas y se separaron en distintas fracciones según el tipo de órgano.



**Foto 2.** Disposición de las mallas para la recogida de los órganos caídos.

### 3.3.5 Medida del índice de SPAD

A lo largo del segundo año de los ensayos se midió el índice de SPAD (Medidor de Clorofila SPAD 502 Minolta). Los valores de este índice se obtuvieron como media de 3 lecturas por hoja realizadas, en la parte más ensanchada del limbo a los lados de la nervadura central, en 8 hojas totalmente desarrolladas pertenecientes a la brotación de primavera, sin fruto terminal, a mitad de altura de la copa repartidas en las cuatro orientaciones (N, S, E, O).

### **3.4 PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS**

A continuación se detallan los procesos llevados a cabo en los distintos tipos de muestras vegetales y de suelo generadas por las extracciones de las plantas, así como el material vegetal recogido en las mallas.

#### **3.4.1 Muestras de material vegetal procedentes de extracción y muestreos quincenales**

Las muestras de material vegetal se lavaron con agua y detergente no iónico, enjuagándose tres veces con agua desionizada. Posteriormente las muestras se congelaron con nitrógeno líquido y se conservaron a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta su liofilización (LyoAlfa 6, Telstar). Una vez liofilizadas se determinó su peso seco y se trituraron mediante molinillo refrigerado con agua (IKA M 20), para evitar su calentamiento, hasta un tamaño inferior a 0,3 mm de diámetro y se guardaron en recipientes herméticos a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  protegidos de la luz.

#### **3.4.2 Muestras de material vegetal procedentes de órganos caídos**

El material vegetal recogido en las mallas se lavó con agua y detergente no iónico, seguido de varios enjuagues con agua desionizada. A continuación se desecaron en estufa de aire forzado a  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 72 h, determinándose su peso seco. Posteriormente, se trituraron y almacenaron del mismo modo indicado para las muestras vegetales procedentes de las extracciones.

#### **3.4.3 Muestras de suelo**

Las muestras de suelo se extendieron en una capa fina ( $<1\text{cm}$ ) sobre bandejas de papel, se desecaron al aire a temperatura ambiente ( $22\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), se rompieron los agregados, se molieron manualmente y tamizaron a través de un tamiz de 2 mm de luz. Las muestras se almacenaron en recipientes herméticos a una temperatura de  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Breimer y Slangen, 1981).



### 3.5 DETERMINACIONES ANALÍTICAS

En el presente apartado se describen las determinaciones analíticas realizadas en las muestras de material vegetal y suelo, así como las técnicas empleadas.

#### 3.5.1 Determinación del N total y su composición isotópica en material vegetal

La determinación del N total presente en las muestras de material vegetal, y su composición isotópica en  $^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$  se realizó mediante un Analizador Elemental (NC 2500, Thermo Finnigan, Bremen, Alemania) acoplado (interfaz ConFloII, Finnigan) a un Espectrómetro de Masas de Relaciones Isotópicas (Delta Plus, Thermo Finnigan). Para ello, se pesaron en balanza analítica (XP205 DeltaRange, Mettler,  $\pm 0,01\text{mg}$ ) de 1,5 a 2,5 mg de materia seca según el tipo de órgano, previamente liofilizada y triturada, en cápsulas de estaño de 5x9 mm (Eurovector, Milán, Italia) que se sellaron para su posterior análisis.

En el analizador elemental, las cápsulas entran en el horno de oxidación de cuarzo que se encuentra a una temperatura de 1.000 °C, donde las muestras son, mediante la inyección de oxígeno de alta pureza, sometidas a una fuerte combustión instantánea (combustión flash), ya que la oxidación del estaño de la cápsula provoca que la temperatura ascienda hasta 1.800 °C. La mezcla de compuestos gaseosos procedentes de la pirólisis (método Dumas) de la muestra, atraviesan el tubo de oxidación, arrastrados por un flujo de He constante ( $90 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ), donde se completa la oxidación de la muestra mediante los compuestos de relleno del tubo (óxido de cromo y óxido de cobalto y plata). Estos compuestos oxidados pasan por el horno de reducción (700 °C) que contiene cobre, donde los óxidos de nitrógeno procedentes de la muestra son reducidos a nitrógeno elemental ( $\text{N}_2$ ), quedando retenido el exceso de oxígeno, y óxido de cobre para convertir el CO en  $\text{CO}_2$ . De este modo la muestra inicial se transforma en una mezcla de gases,  $\text{N}_2$ ,  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$ ; el vapor de agua es retenido en una trampa de anhídrona (perclorato de magnesio anhidro). El resto de gases pasa a través de la columna cromatográfica (Porapack PQS) para separarlos, de este modo se genera una señal proporcional a la concentración de los componentes individuales de la mezcla, que es registrada en el detector de conductividad térmica (TCD) en la secuencia  $\text{N}_2$ ,  $\text{CO}_2$  y posteriormente procesada mediante el software del equipo (Eager2000, C.E. Instruments). El empleo de la atropina ( $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{NO}_3$ , Eurovector) como estándar permite crear una recta de calibración y obtener así, directamente, la composición másica porcentual de la muestra (%N y %C) con un error absoluto inferior al 0,2 %.

Una parte del efluente de gas procedente de la columna del analizador elemental entra en el espectrómetro de masas para la determinación de su composición isotópica. En su interior, el sistema se encuentra a un alto vacío ( $10^{-6}$  mBar). Un filamento a elevada temperatura produce electrones que bombardean las moléculas de  $N_2$ , ionizando el gas. Los iones negativos son atraídos por un pequeño voltaje positivo y eliminados. Los iones moleculares resultantes son acelerados, formando un haz que al atravesar el interior de un campo magnético es separado en función de las distintas masas moleculares del  $N_2$ : 28, 29 y 30 para  $^{14}N^{14}N$ ,  $^{14}N^{15}N$  y  $^{15}N^{15}N$ , respectivamente. Los iones son captados en un colector que consta de tres copas de Faraday, en las que los impulsos eléctricos serán amplificados y medidos (precisión en torno al 0,2‰).

Cada muestra se analizó por duplicado y se incluyó una muestra de referencia en cada secuencia de veinte muestras.

### **3.5.2 Determinación del N total y su composición isotópica en suelo**

Para determinar el contenido en N total, se pesaron 40 mg del suelo previamente secado y triturado que se sellaron en las cápsulas de estaño, procediéndose a su analítica, en el Analizador Elemental para la determinación del N total (%) y posteriormente en el Espectrómetro de Masas para cuantificar la proporción isotópica  $^{14}N/^{15}N$  (%), según el procedimiento detallado en el apartado 3.5.1.

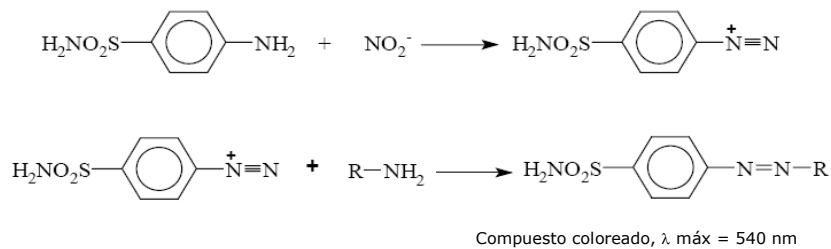
### **3.5.3 Determinación del $N-NO_3^-$ y $N-NH_4^+$ en suelo y su composición isotópica**

Para determinar la concentración de las fracciones nítrica y amoniacal en el suelo, se siguió la metodología descrita por Raigón *et al.* (1992).

**Extracción del  $N-NO_3^-$  y  $N-NH_4^+$  del suelo.** Con el fin de extraer estos iones ( $NO_3^-$  y  $NH_4^+$ ), se pesaron 8 g de suelo en un recipiente de plástico, se añadieron 40 mL de cloruro potásico 2M ( $5 \text{ mL} \cdot \text{g suelo}^{-1}$ ) y se agitaron mecánicamente (Reax20, Heidolph Elektro) durante 1 hora. Posteriormente, se centrifugaron (Eppendorf 5810R) durante 3 minutos a 1.500 rpm, con el fin de clarificar la solución. A continuación se filtró (Schleicher & Schuell 589/5, 90 mm Ø) el sobrenadante para eliminar las partículas que pudieran quedar en suspensión. Del extracto de suelo filtrado, que se conservó a 4 °C, se tomaron dos alícuotas, una para la determinación de la concentración de nitrato y amonio (FIA), y otra

para la separación de ambas fracciones por el método Kjeldahl y posterior determinación de la composición isotópica.

**Medida de la concentración de  $\text{N-NO}_3^-$  y  $\text{N-NH}_4^+$ .** En la alícuota filtrada de la extracción del suelo y en el agua de riego se determinaron ambas concentraciones de N mediante Análisis por Inyección de Flujo-FIA (FIAstar™ 5000, Foss Tecator AB, Höganäs, Suiza). La determinación de  $\text{N-NO}_3^-$  se basa en el método colorimétrico de Griess Ilosvay (Ilosvay, 1889) y modificado por Barnes y Folkard (1951). Este método se fundamenta en la reducción del nitrato a nitrito mediante el paso de la muestra por una columna de cadmio cuperizado. Los nitritos reaccionan con sulfanilamida para formar la sal de diazonio que reacciona posteriormente con una amina aromática (dihidrocloruro de N-[1 naftil]-etilendiamina) para dar, según la reacción de Griess Ilosvay, un compuesto azo coloreado (rosa-violáceo) que presenta un máximo de absorción a 540 nm (Figura 3). El extracto del suelo se diluyó 1:10 con KCl con el fin de ajustar la concentración a los rangos de la curva de calibrado del equipo. La curva de estándares (0,1 a 5 mg  $\text{N-NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$ ) se preparó con KCl como solvente.



**Figura 3.** Formación del compuesto azo coloreado en la determinación de nitrato según el método colorimétrico de Griess Ilosvay.

Para el cálculo del contenido en  $\text{NO}_3^-$  del suelo a partir de los valores obtenidos por el FIA se utilizó la siguiente expresión:

$$\frac{\text{mg (N-NO}_3^- \text{ o N-NH}_4^+)}{\text{kg suelo}} = \frac{\text{F} \cdot \text{V}}{\text{P}}$$

Donde:

F: Lectura del FIA ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ).

V: Volumen de extracto de KCl (40 mL).

P: Peso del suelo extraído (8 g).

En la determinación de  $\text{N-NH}_4^+$ , la muestra reacciona con hidróxido sódico, liberándose amoníaco gaseoso que se difunde a través de una membrana permeable y entra en contacto con un indicador. Éste está formado por una mezcla comercial de indicadores ácido-base (púrpura de bromocresol, azul de bromotimol y rojo de cresol), que al reaccionar con el amoníaco gaseoso presenta un viraje en el color que es medido fotométricamente a 590 nm. La curva de estándares ( $0,01$  a  $1 \text{ mg N-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ ) se preparó con KCl como solvente.

**Separación del  $\text{N-NO}_3^-$  y  $\text{N-NH}_4^+$  y determinación de su composición isotópica.** La separación de ambas fracciones en la alícuota procedente del extracto de suelo se realizó mediante destilación en un analizador semiautomático (Tekator) por el método semi-micro de Kjeldahl (Bremner, 1965). Para ello, se toman 20 mL de la solución de suelo extraída con KCl y se somete a dos destilaciones. En la primera destilación, en presencia de 0,25 g de óxido de magnesio, el amonio de la alícuota es liberado en forma de amoníaco, que se recoge en un erlenmeyer que contiene una solución de ácido bórico ( $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ), etanol y mezcla indicadora (verde de bromocresol y rojo de metilo). Una segunda destilación de la misma alícuota, esta vez en presencia de 0,35 g de aleación de Devarda que reduce el nitrato a amonio y es liberado en forma de amoníaco, que se recoge en un segundo erlenmeyer. Ambas destilaciones transcurren durante 5 minutos, con el fin de asegurar la completa destilación del N presente, y evitar de este modo un posible fraccionamiento isotópico. De acuerdo con Bremner y Hauck (1982), en muestras con un contenido en N no superior a 5 mg, transcurridos 4 minutos de destilación, se recupera el 99% del N presente en la alícuota. La valoración de ambos destilados con ácido sulfúrico 0,01N permitió, por comparación de este valor con el obtenido por el FIA, verificar que las destilaciones eran completas y se había recuperado todo el N en forma amoniacal y nítrica presente en la alícuota. Ambos destilados se desecaron en estufa a  $60 \text{ }^\circ\text{C}$  durante 5 días, previa acidificación con 0,7 mL de ácido sulfúrico 0,32 N, para evitar la evaporación del amonio presente, ya que el sulfato amónico formado es estable a temperaturas de hasta  $235 \text{ }^\circ\text{C}$  (Bremner y Hauck, 1982). El residuo seco, de color rosáceo, se separó del erlenmeyer y se homogeneizó con la ayuda de una espátula y se almacenó en tubos herméticos a temperatura ambiente hasta su análisis. Este residuo es estable a temperatura ambiente, manteniendo su composición isotópica, de forma prácticamente indefinida, si se mantiene protegido frente a fuentes de  $\text{NH}_3$  o  $\text{NH}_4^+$  (Bremner y Hauck, 1982).

Para la determinación de la relación isotópica en  $^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$  en los residuos secos procedentes de la destilación del extracto de suelo, se pesaron 40 mg de éste en cápsulas de estaño de  $5 \times 9 \text{ mm}$  (Eurovector, Milán, Italia) que fueron selladas y posteriormente analizadas

mediante un Analizador Elemental (NC 2500, Thermo Finnigan, Bremen, Alemania) acoplado (interfaz ConFloII, Finnigan) a un Espectrómetro de Masas de Relaciones Isotópicas (Delta Plus, Thermo Finnigan). De este modo se obtiene el porcentaje de  $^{15}\text{N}$  presente en los residuos correspondientes a ambas fracciones. Para el cálculo de los mg de  $^{15}\text{N}$  presentes por kg de suelo se empleó la siguiente expresión:

$$\frac{\text{mg } (^{15}\text{N} - \text{NO}_3^- \text{ o } ^{15}\text{N} - \text{NH}_4^+)}{\text{kg suelo}} = \frac{(\%^{15}\text{Nr} - \text{AN}) \cdot (\text{mg N} - \text{NO}_3^- \text{ o } \text{N} - \text{NH}_4^+ / \text{kg suelo})}{100}$$

Donde:

$\%^{15}\text{Nr}$ : Proporción  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  en el residuo procedente del extracto de  $\text{NO}_3^-$  o  $\text{NH}_4^+$  del suelo.

AN: Abundancia natural, relación  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  en el aire (0,366%).

### 3.5.4 Determinación del N orgánico en el suelo y su composición isotópica

Una vez realizada la extracción de las formas solubles de N del suelo ( $\text{NO}_3^-$  y  $\text{NH}_4^+$ ) mediante KCl, se determinó en el suelo residual el N orgánico según el método descrito por Lea-Cox y Syvertsen (1996). Para ello, y con el fin de eliminar el exceso de solución extractante, se lavó el suelo con unos 150 mL de agua destilada mediante la colocación de éste en un embudo recubierto con papel de filtro (Schleicher & Schuell 589/5, 90 mm Ø). El suelo lavado se secó al aire y posteriormente se trituró en mortero, para el posterior análisis del N presente y la relación isotópica  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ , de manera análoga a la detallada en el apartado 3.5.1.

### 3.5.5 Contenido en clorofilas

Las hojas en la que se midió el índice de SPAD fueron liofilizadas y trituradas, para la extracción de la clorofila. De la muestra liofilizada se pesó 0,1 g en un matraz erlenmeyer de 50 mL y se añadieron 25 mL de N,N dimetilformamida (99,8%, Scharlau) a una temperatura de 4 °C (Moran y Porath, 1980). Se agitó manualmente durante unos 30 segundos y se dejó reposar en cámara a 4 °C. Transcurridas 72 horas, se agitó de nuevo la disolución y se trasvasó a tubos Falcon para centrifugar a 4 °C durante 15 minutos a

4.000 rpm., con el fin de separar el extracto de clorofilas de los restos de material vegetal. Una vez decantado el sobrenadante se le añadió sulfato sódico anhidro para deshidratar la solución y se dejó reposar 1 hora.

Durante todo el proceso de extracción, el material empleado estuvo envuelto en papel de aluminio para evitar que la luz entrara en contacto con la muestra y produjera la degradación de las clorofilas. Las absorbancias de los extractos fueron determinadas en un espectrofotómetro UV-VIS (Lambda 25, Perkin Elmer) a 647 y 664 nm de longitud de onda, usando cubetas de cuarzo. La calibración del equipo se realizó con un blanco de N,N dimetilformamida; de cada extracto se realizaron dos lecturas.

Para el cálculo de la concentración de clorofila a, b y total se siguió las ecuaciones propuestas por Moran (1982):

$$\text{Clorofila a } (\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}) = 12,64\cdot A_{664} - 2,99\cdot A_{647}$$

$$\text{Clorofila b } (\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}) = - 5,6\cdot A_{664} + 23,26\cdot A_{647}$$

$$\text{Clorofila total } (\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}) = 7,04\cdot A_{664} + 20,27\cdot A_{647}$$

Donde  $A_{647}$  y  $A_{664}$  corresponden a las lecturas de absorbancia a 647 y 664 nm del extracto de clorofilas.

### 3.5.6 Determinación de macro y micronutrientes

En las muestras de hojas pertenecientes a la brotación de primavera, sin fruto terminal, se determinaron macro (P, K, Mg, Ca, S) y micronutrientes (Fe, Zn, Mn, Cu, B) por la técnica de digestión nítrico-perclórica y posterior análisis mediante espectrometría de emisión atómica con fuente de plasma de acoplamiento inductivo. Para ello se pesan 0,5 g, con una precisión de  $\pm 0,003$  g, de las muestras liofilizadas y trituradas, y se les añade 10 mL de ácido nítrico concentrado. Se agita suavemente y se deja en reposo 24 horas. Posteriormente, se colocan los tubos en un termobloque digestor (FOSS, Tecator) durante 10 minutos a 120 °C, y seguidamente durante 20-25 minutos a 170 °C, hasta que el volumen del ácido se reduce aproximadamente a la mitad. En frío se le añade 2 mL de ácido perclórico al 70% y se procede con la digestión a 200 °C. Una vez que la solución se vuelve incolora, la digestión finaliza. Se enrasa en frío a 25 mL con agua mili-Q y se añade una gota de Triton.

En las muestras ya digeridas se procedió a la determinación de los macro y micronutrientes en un espectrómetro de emisión atómica con plasma de acoplamiento

inductivo (iCAP 6000, Thermo Scientific). La técnica de ICP-AES, con un límite de detección de 0,1 a 10  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , se basa en la vaporización, disociación, ionización y excitación de los diferentes elementos químicos de una muestra en el interior de un plasma de argón generado en un campo magnético. Para ello, un nebulizador transforma la solución acuosa problema en aerosol con partículas de 1 a 10  $\mu\text{m}$  de diámetro. Estas partículas atraviesan el plasma, que en su zona analítica se encuentra a una temperatura entre 4.000 y 8.000  $^{\circ}\text{C}$ ; esta elevada temperatura conlleva la ruptura de todos los enlaces químicos (atomización) y la ionización de los elementos. Los átomos en el interior de este plasma estable incrementan su estado energético. Durante el proceso de desexcitación de éstos en el interior del plasma, se producen emisiones de radiación electromagnética. Estas radiaciones, características de cada elemento, se separan en función de su longitud de onda (análisis cualitativo), determinándose asimismo la cantidad del mismo (análisis cuantitativo) en función de la intensidad de la luz emitida. La intensidad de la señal es posteriormente comparada con intensidades medidas previamente de una concentración conocida del elemento. Cada elemento puede tener muchas ondas en el espectro que es usado para su análisis. La selección de las mejores líneas es de suma importancia para la correcta determinación de cada elemento. La mayor parte de los elementos de la tabla periódica se pueden ionizar en un ICP, sin embargo no se pueden determinar el H, C, N, O, F y los gases nobles.

La determinación de micronutrientes se realizó por análisis directo en la solución procedente de la digestión en el ICP. Para el cálculo de la concentración se utilizó la fórmula:

$$\text{Micronutriente (ppm)} = \frac{(a - b) \cdot V}{P}$$

Donde:

- a: Concentración de Fe, Zn, Mn, Cu, B en la solución procedente de la digestión de la muestra vegetal ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ).
- b: Concentración de Fe, Zn, Mn, Cu, B en el blanco ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ).
- V: Volumen final de la digestión (25 mL).
- P: Peso muestra tejido vegetal (0,5 g).

Los patrones utilizados para la calibración del ICP se enrasaron con una solución de ácido nítrico al 2%. Las muestras se analizaron por duplicado y se incluyó una muestra control (QC) de concentración conocida cada 40 muestras.

Para la determinación de los macronutrientes se tomó una alícuota de 0,5 mL de la digestión nítrico-perclórica y se enrasó a 10 mL con agua mili-Q. Para el cálculo de la concentración se utilizó la fórmula:

$$\text{Macronutriente (\%)} = \frac{(a - b) \cdot V \cdot d}{P \cdot 1000}$$

Donde:

a: Concentración de P, K, Mg, Ca, S en la alícuota procedente de la digestión de la muestra vegetal ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ).

b: Concentración de P, K, Mg, Ca, S en el blanco ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ).

V: Volumen final de la digestión (25 mL).

P: Peso muestra tejido vegetal digerido (0,5 g).

d: Factor de dilución de la muestra (10/0,5).

### 3.5.7 Determinación de cloruros

En las muestras procedentes de hojas de primavera y raíz fibrosa de las distintas extracciones se determinó su contenido en cloruros según el método propuesto por Gilliam (1971). Para ello, se pesaron 250 mg del material vegetal que se extrajeron con 50 mL de una solución de ácido nítrico 0,1N (Scharlau) y ácido acético glacial al 10% (Scharlau). Se agitó manualmente y se dejó 12 horas a temperatura ambiente; pasado este tiempo se filtró (Schleicher & Schuell 589/5, 90 mm Ø). Las lecturas se realizaron en el extracto mediante un clorímetro automático (Corning Sherwood MKII 926) adicionando alícuotas de 0,5 mL del extracto filtrado, al tampón de ácido acético combinado Corning nº00156206 P. Se realizaron 2 extracciones por cada muestra y 7 lecturas por cada extracto. La fórmula empleada en el cálculo de la concentración en cloruro fue la siguiente:

$$\text{Cloruros (mg Cl}^{-}\text{ g}^{-1}\text{ p.s.)} = \frac{L \cdot V}{P \cdot 1000}$$

Donde:

L: Lectura del clorímetro ( $\text{mg Cl}^{-} \cdot \text{L}^{-1}$ ).

V: Volumen extracción (50 mL).

P: Peso seco material vegetal (0,25 g).



### 3.5.8 Parámetros de calidad de los frutos

En la totalidad de frutos correspondientes a los árboles extraídos en el momento de madurez de los mismos (Foto 3) se analizaron los parámetros de calidad, de acuerdo con la metodología descrita por González-Sicilia (1968), modificados por la experiencia en el análisis de frutos del Departamento de Citricultura y otros Frutales del IVIA.

**Peso.** Con el total de los frutos de cada árbol se determinó el peso medio utilizando una balanza (Metler, precisión de  $\pm 1$  g).

**Diámetro de fruto.** El diámetro ecuatorial se midió mediante un calibre digital (Mitutoyo CD-15D).

**Color del flavedo.** De cada fruto se realizaron 3 lecturas sobre el diámetro ecuatorial de éste mediante un colorímetro Minolta CR-300 (Jiménez-Cuesta *et al.*, 1981) que proporcionó los parámetros Hunter (L, a y b). El índice de color (IC) se calculó con estos parámetros y de acuerdo con la expresión:

$$IC = \frac{1000 \cdot a}{L \cdot b}$$

Donde:

- L: Mide la luminosidad, varía de 0 (negro) a 100 (blanco).
- a: Mide la coloración verde (valores negativos, -60) y roja (valores positivos, +60).
- b: Mide la coloración azul (valores negativos, -60) y amarilla (valores positivos, +60).

**Espesor de corteza.** El fruto se partió ecuatorialmente y se midió el espesor de albedo más flavedo mediante un calibre digital.

**Contenido en zumo, corteza y pulpa.** La extracción del zumo se realizó mediante un exprimidor manual (Lomi), filtrando la pulpa. El contenido en corteza, pulpa y zumo se expresan en  $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$  sobre el peso fresco total de la muestra.

**Sólidos solubles totales.** Para la determinación de este parámetro se utilizó un refractómetro (Atago PR-32), previa calibración con agua destilada. La medición se realiza en escala refractométrica, cuyos valores de índice de refracción se corresponden con valores de  $^{\circ}\text{Brix}$ . La concentración de sólidos solubles totales se expresa en  $^{\circ}\text{Brix}$ ,

sabiendo que, aproximadamente, una solución de sacarosa al 1% y a 20°C tiene 1 °Brix. El zumo, además de sacarosa, tiene otros azúcares, ácidos y sales, por lo que 1 °Brix no equivale exactamente a una concentración de sólidos disueltos de 1 g en 100 mL, pero el valor obtenido se acepta convencionalmente como índice aproximado. Este parámetro también se expresa como  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  de zumo.

**Acidez total.** La acidez del zumo se expresa en número de gramos de ácido contenidos en un litro del mismo. La determinación se realiza por volumetría, neutralizando 10 mL de zumo filtrado mediante hidróxido sódico 0,1 N y utilizando fenolftaleína como indicador. La acidez titulable expresada como ácido cítrico se calcula mediante la expresión (AOAC, 1980):

$$\text{Acidez (g}\cdot\text{L}^{-1}) = \frac{V_{\text{NaOH}} \cdot N \cdot (0,064 \text{ g}\cdot\text{meq. ácido cítrico}^{-1}) \cdot 1000}{V_{\text{zumo}}}$$

Donde:

$V_{\text{NaOH}}$ : Volumen de NaOH usado en la valoración (mL).

N: Normalidad del NaOH empleado (0,1 N).

$V_{\text{zumo}}$ : Volumen de zumo valorado (10 mL).

**Índice de madurez.** Es la relación existente entre los sólidos solubles totales y el contenido en ácidos.

$$\text{Índice de madurez} = 10 \cdot \frac{E}{A}$$

Donde:

E: Cantidad de azúcares totales (%).

A: Acidez total ( $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ).



**Foto 3.** Aspecto de los árboles del ensayo de absorción, al final del ciclo durante la madurez del fruto.

### **3.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Con el fin de evaluar el efecto de las distribuciones estacionales del fertilizante sobre las variables utilizadas se analizaron los datos de cada órgano y de cada una de las extracciones de forma independiente. Sobre cada variable, se aplicó un análisis de la varianza de una vía (ANOVA one-way), incluyendo el factor distribución estacional como único factor, utilizando el paquete estadístico SAS 9.1. (SAS, Statistical Analysis System Institute Inc., EEUU). Para comparar las medias de los tres tratamientos entre sí se utilizó el test LSD-Fisher.



## **4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN**



En este capítulo se presentan los resultados obtenidos en los dos ensayos realizados. En primer lugar se muestran los resultados de absorción de N (apartado 4.1) y posteriormente los resultados correspondientes al ensayo de translocación del N de reserva (apartado 4.2).

## **4.1 ENSAYO DE ABSORCIÓN**

En el presente apartado se muestra la respuesta en la absorción de N a la distinta distribución estacional de una misma dosis de N marcado con el isótopo  $^{15}\text{N}$ , aportada con el fertilizante, mediante la evaluación de distintos parámetros.

### **4.1.1 PLANTA**

A continuación se detallan los parámetros estudiados en el material vegetal procedente de las extracciones realizadas a lo largo del ciclo.

#### **4.1.1.1 Biomasa y su distribución relativa**

En la tabla 10 se presentan los valores promedio de la biomasa (g) de los árboles correspondientes a las tres distribuciones estacionales (A, B y C), así como el peso de cada uno de los órganos en los que éstos se fraccionaron. Las plantas se extrajeron en distintos momentos fenológicos: floración (principio de mayo), cuajado (principio de junio), final de caída fisiológica (principio de julio) y madurez del fruto (final de enero). La determinación de la biomasa total de la planta constituye un dato fundamental para cuantificar posteriormente el contenido en N, el N absorbido del fertilizante, su distribución en los distintos órganos, así como la eficiencia de uso de éste.

El peso total de los árboles no se vio afectado por la distinta distribución estacional del abonado, como lo demuestra el análisis estadístico realizado para cada extracción. Se observa, de forma general, que a medida que transcurrió el ciclo, el peso total de los árboles incrementó, como consecuencia de la biomasa asociada al desarrollo de estructuras reproductivas y nuevas brotaciones. Este incremento fue especialmente acusado en el conjunto de órganos jóvenes (Figura 4).

**Tabla 10.** Biomasa (g) de los distintos órganos y del total de la planta correspondientes a las distribuciones estacionales del N aplicado (A, B y C)<sup>z</sup> en los principales momentos fenológicos en el ensayo de absorción.

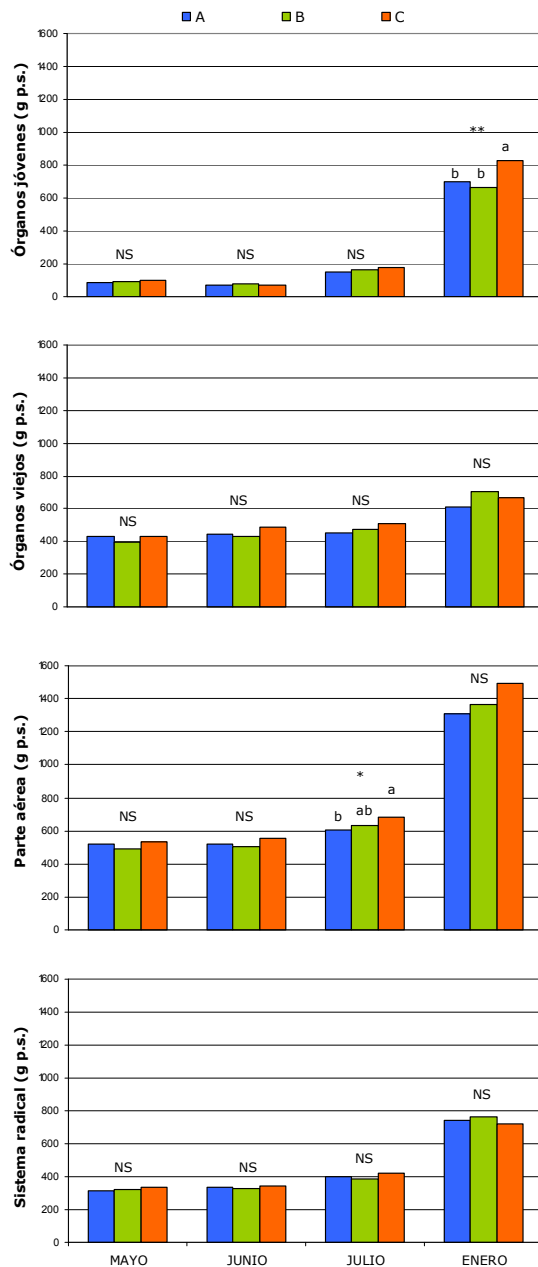
Órgano/Planta	FLORACIÓN (MAYO)				CUAJADO (JUNIO)			
	A	B	C	ANOVA <sup>y</sup>	A	B	C	ANOVA
Fruto					9,3	11,4	10,3	NS (0,482)
Cáliz + pedúnculo					0,9	1,2	1,3	NS (0,109)
Total flor/fruto	38,5 <sup>x</sup>	46,4	47,3	NS (0,211)	10,1	12,7	11,6	NS (0,442)
Hojas primavera	36,6	35,3	41,3	NS (0,703)	50,1	51,0	43,5	NS (0,590)
Ramas primavera	12,1	12,6	14,2	NS (0,626)	12,7	13,4	14,6	NS (0,457)
Hojas viejas	117,3	116,0	123,2	NS (0,963)	114,5	114,8	126,3	NS (0,680)
Ramas viejas c/h <sup>v</sup>	60,6	62,9	67,1	NS (0,615)	72,3	73,7	83,0	NS (0,606)
Ramas viejas s/h <sup>u</sup>	87,7	67,9	85,7	NS (0,336)	89,6	83,4	100,8	NS (0,392)
Ramas viejas	148,3	130,8	152,8	NS (0,388)	161,9	157,1	183,7	NS (0,481)
Tronco	163,3	147,5	154,0	NS (0,371)	168,0	157,9	176,0	NS (0,370)
Raíz fibrosa	97,3	91,5	92,9	NS (0,911)	109,7	103,2	97,7	NS (0,739)
Raíz gruesa	219,5	230,2	241,3	NS (0,310)	227,4	226,2	248,3	NS (0,751)
<b>PLANTA</b>	<b>832,9</b>	<b>810,3</b>	<b>867,0</b>	<b>NS (0,725)</b>	<b>854,4</b>	<b>836,4</b>	<b>901,7</b>	<b>NS (0,761)</b>
Joven caído <sup>t</sup>	57,1a <sup>w</sup>	50,4a	33,3b	* (0,033)	110,2	108,7	96,5	NS (0,536)
Hojas viejas caídas	12,3	10,5	11,3	NS (0,745)	16,6	21,9	22,7	NS (0,162)
<b>TOTAL PLANTA</b>	<b>902,3</b>	<b>871,2</b>	<b>911,6</b>	<b>NS (0,826)</b>	<b>981,2</b>	<b>967,0</b>	<b>1.020,9</b>	<b>NS (0,863)</b>

Órgano/Planta	FINAL CAÍDA FISIOLÓGICA (JULIO)				MADUREZ FRUTO (ENERO)			
	A	B	C	ANOVA	A	B	C	ANOVA
Fruto	24,0	26,7	31,3	NS (0,408)	337,7 ab	280,3 b	488,0 a	* (0,053)
Cáliz + pedúnculo	0,4	0,5	0,7	NS (0,206)	1,1 ab	0,9 b	1,6 a	* (0,046)
Total fruto	24,4	27,2	31,9	NS (0,385)	338,8 ab	281,2 b	489,6 a	* (0,054)
Hojas otoño					23,9	20,9	20,2	NS (0,931)
Hojas verano	57,4a	74,1a	23,4b	** (0,005)	192,3	168,1	140,3	NS (0,421)
Hojas primavera	42,7b	39,5b	85,6a	* (0,038)	65,1	106,6	96,9	NS (0,147)
Hojas jóvenes	100,2	113,6	109,0	NS (0,459)	281,3	295,6	257,4	NS (0,617)
Ramas otoño					9,7	8,0	8,1	NS (0,926)
Ramas verano	8,2	7,8	3,8	NS (0,252)	42,5	41,2	26,8	NS (0,378)
Ramas primavera	18,3b	14,3b	31,4a	* (0,020)	28,5	38,4	43,2	NS (0,283)
Ramas jóvenes	26,5ab	22,1b	35,1a	* (0,045)	80,7	87,5	78,1	NS (0,837)
Hojas viejas	127,9	121,0	136,8	NS (0,697)	108,7	136,6	135,4	NS (0,338)
Ramas viejas c/h	80,2b	87,0ab	106,8a	* (0,054)	108,6	170,9	175,0	NS (0,112)
Ramas viejas s/h	104,5	113,4	116,7	NS (0,735)	189,9	193,7	164,2	NS (0,634)
Ramas viejas	184,8	200,4	223,5	NS (0,218)	298,5	364,6	339,3	NS (0,364)
Tronco	137,8	150,7	148,9	NS (0,690)	201,9	199,6	193,5	NS (0,767)
Raíz fibrosa	130,7	122,1	146,0	NS (0,477)	216,8	265,1	253,8	NS (0,201)
Raíz gruesa	266,5	261,9	278,6	NS (0,750)	522,9	501,5	467,7	NS (0,510)
<b>PLANTA</b>	<b>998,7</b>	<b>1.019,0</b>	<b>1.109,9</b>	<b>NS (0,258)</b>	<b>2.049,7</b>	<b>2.131,8</b>	<b>2.214,7</b>	<b>NS (0,500)</b>
Joven caído	124,8	128,2	117,3	NS (0,765)	127,7	115,8	116,9	NS (0,718)
Hojas viejas caídas	17,7b	23,6ab	25,4a	* (0,054)	17,0	23,5	24,5	NS (0,121)
<b>TOTAL PLANTA</b>	<b>1.141,1</b>	<b>1.170,8</b>	<b>1.252,6</b>	<b>NS (0,348)</b>	<b>2.194,4</b>	<b>2.271,0</b>	<b>2.356,2</b>	<b>NS (0,459)</b>

<sup>z</sup>: Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta final octubre. <sup>y</sup>: ANOVA, diferencias significativas para  $P \leq 0,05$  (\*);  $P \leq 0,01$  (\*\*) y no significativas (NS,  $P > 0,05$ ); entre paréntesis se indica el P-valor. <sup>x</sup>: Cada valor es la media de 3 árboles. <sup>w</sup>: Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) según el test LSD-Fisher. <sup>v</sup>: Ramas del ciclo anterior con hojas. <sup>u</sup>: Ramas del ciclo anterior sin hojas. <sup>t</sup>: Incluye botón floral, pétalos, cálices y frutos abortados caídos.





**Figura 4.** Biomasa del conjunto de órganos jóvenes<sup>Z</sup>, viejos<sup>Y</sup>, parte aérea y sistema radical de los árboles extraídos a lo largo del segundo año del ensayo de absorción. Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta final octubre.

<sup>Z</sup>: Órganos jóvenes en extracción en mayo: estructuras reproductivas y hojas y ramas de la brotación de primavera; en junio: frutos cuajados y hojas y ramas de la brotación de primavera; en julio: frutos en desarrollo, hojas y ramas de las brotaciones de primavera y verano; en enero: frutos maduros, hojas y ramas de las brotaciones de primavera, verano y otoño. <sup>Y</sup>: Órganos viejos incluyen las ramas y hojas de las brotaciones del ciclo anterior, ramas leñosas sin hojas y tronco. ANOVA, diferencias significativas para  $P \leq 0,05$  (\*);  $P \leq 0,01$  (\*\*) y no significativas  $P > 0,05$  (NS). Letras distintas en una misma extracción indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) según el test LSD-Fisher.

En la extracción inicial, coincidiendo con la floración, los árboles presentaron un peso seco promedio de 835 g para las tres distribuciones. Los órganos leñosos (ramas viejas y tronco) acumularon la mayor biomasa en la parte aérea, aproximadamente un 35% del peso total de la planta (Tabla 11), seguidos por el total de hojas (viejas y de la brotación de primavera) con valores entre 18,5 y 19,0%, independientemente de la distribución aplicada. Distribuciones similares en la biomasa han sido obtenidas por otros autores en extracciones realizadas en la floración (Legaz *et al.*, 1981; Legaz y Primo-Millo, 1988a; Martínez *et al.*, 2002; Alva *et al.*, 2003a).

Durante el mes transcurrido hasta la extracción realizada en el cuajado, el peso seco del total de los árboles apenas aumentó un 3%. Este escaso incremento se debió a la importante pérdida de biomasa, en torno a los 100 g, asociada a la abscisión de estructuras reproductivas (flores, pétalos, frutos abortados y recién cuajados). Como consecuencia de esta abscisión, la proporción relativa de la biomasa de los órganos reproductivos respecto al total del árbol decreció del 4,6-5,7% durante la floración hasta el 1,2-1,5% en el cuajado. El total de los órganos jóvenes (Tabla 11) siguió una tendencia similar; en floración los órganos jóvenes representaban entre un 10,5 y un 11,9% del total; dicho porcentaje descendió al 7,7-9,2% en el cuajado. Legaz y Primo-Millo (1988a) observaron asimismo un descenso en la biomasa de órganos jóvenes, asociada a la abscisión de estructuras reproductivas en el cuajado (4,7%), en comparación con el periodo de floración (5,9%).

Al final de la caída fisiológica de frutos, los árboles de los distintos tratamientos presentaron un incremento promedio en biomasa del 20% respecto al periodo anterior, debido fundamentalmente al crecimiento de los frutos cuajados y desarrollo de la brotación de verano. Como consecuencia de ello, se duplicó la fracción relativa de los órganos jóvenes, pasando a representar el 15,1-16,0%; por lo que los órganos viejos redujeron ligeramente su contribución al total de la biomasa, pasando del 51,4-53,9% al 45,1-46,3%. Cabe mencionar que los árboles de la distribución C presentaron un mayor desarrollo de la brotación de primavera, con valores de biomasa significativamente mayores que en el resto de tratamientos. En estos árboles, la brotación de verano fue por ello menos abundante (23,4 g), con valores significativamente inferiores a los obtenidos con las distribuciones A y B (Tabla 10).

**Tabla 11.** Distribución relativa de la biomasa<sup>Z</sup> (%) entre los distintos órganos de las plantas correspondientes a las distribuciones estacionales del N aplicado (A, B y C)<sup>Y</sup> en los principales momentos fenológicos en el ensayo de absorción.

Órgano/Planta	FLORACIÓN (MAYO)				CUAJADO (JUNIO)			
	A	B	C	ANOVA <sup>X</sup>	A	B	C	ANOVA
Fruto					1,1	1,4	1,1	NS (0,165)
Cáliz + pedúnculo					0,1	0,1	0,2	NS (0,186)
Total flor/fruto	4,6 <sup>W</sup>	5,7	5,5	NS (0,291)	1,2	1,5	1,3	NS (0,138)
Hojas primavera	4,4	4,4	4,8	NS (0,801)	5,9	6,1	4,8	NS (0,521)
Ramas primavera	1,5	1,6	1,6	NS (0,623)	1,5	1,6	1,6	NS (0,198)
<b>Órganos jóvenes</b>	10,5	11,7	11,9	NS (0,344)	8,6	9,2	7,7	NS (0,407)
Hojas viejas	14,1	14,3	14,2	NS (0,997)	13,4	13,7	14,0	NS (0,702)
Ramas viejas c/h <sup>V</sup>	7,3	7,8	7,7	NS (0,394)	8,4	8,8	9,2	NS (0,504)
Ramas viejas s/h <sup>U</sup>	10,5	8,4	9,9	NS (0,329)	10,5ab	10,0b	11,2a	* (0,052)
Ramas viejas	17,8	16,2	17,6	NS (0,272)	18,9	18,8	20,4	NS (0,382)
Tronco	19,6	18,2	17,8	NS (0,661)	19,7	18,9	19,5	NS (0,631)
<b>Órganos viejos</b>	51,5	48,7	49,6	NS (0,319)	52,0ab <sup>T</sup>	51,4b	53,9a	* (0,050)
<b>Parte aérea</b>	62,0	60,4	61,5	NS (0,339)	60,6	60,6	61,6	NS (0,586)
Raíz fibrosa	11,7	11,3	10,7	NS (0,718)	12,8	12,3	10,9	NS (0,117)
Raíz gruesa	26,3	28,3	27,8	NS (0,207)	26,6	27,1	27,5	NS (0,863)
<b>Sistema radical</b>	38,0	39,6	38,5	NS (0,339)	39,4	39,4	38,4	NS (0,586)
<b>PLANTA</b>	100,0	100,0	100,0		100,0	100,0	100,0	

Órgano/Planta	FINAL CAÍDA FISIOLÓGICA (JULIO)				MADUREZ FRUTO (ENERO)			
	A	B	C	ANOVA	A	B	C	ANOVA
Fruto	2,4	2,6	2,8	NS (0,662)	16,4ab	13,1b	22,0a	* (0,048)
Cáliz + pedúnculo	<0,1	0,1	0,1	NS (0,661)	0,1ab	0,0b	0,1a	* (0,058)
Total fruto	2,4	2,7	2,9	NS (0,646)	16,5ab	13,2b	22,1a	* (0,046)
Hojas otoño					1,2	1,0	0,9	NS (0,886)
Hojas verano	5,7a	7,2a	2,1b	** (0,006)	9,4	7,9	6,3	NS (0,294)
Hojas primavera	4,3ab	3,9b	7,7a	* (0,044)	3,2	5,0	4,4	NS (0,189)
Hojas jóvenes	10,0	11,1	9,8	NS (0,567)	13,8	13,9	11,6	NS (0,437)
Ramas otoño					0,5	0,4	0,4	NS (0,900)
Ramas verano	0,8	0,8	0,3	NS (0,211)	2,0	1,9	1,2	NS (0,280)
Ramas primavera	1,9ab	1,4b	2,9a	* (0,058)	1,4	1,8	2,0	NS (0,415)
Ramas jóvenes	2,7	2,2	3,2	NS (0,153)	3,9	4,1	3,5	NS (0,747)
<b>Órganos jóvenes</b>	15,1	16,0	15,9	NS (0,899)	34,2ab	31,2b	37,3a	* (0,044)
Hojas viejas	12,8	11,9	12,3	NS (0,799)	5,3	6,4	6,1	NS (0,308)
Ramas viejas c/h	8,0	8,5	9,6	NS (0,192)	5,3b	8,0a	7,9a	* (0,050)
Ramas viejas s/h	10,5	11,1	10,5	NS (0,802)	9,3	9,1	7,4	NS (0,366)
Ramas viejas	18,5	19,6	20,1	NS (0,493)	14,6	17,1	15,3	NS (0,239)
Tronco	13,8	14,8	13,4	NS (0,700)	9,8	9,4	8,7	NS (0,361)
<b>Órganos viejos</b>	45,1	46,3	45,8	NS (0,808)	29,7	32,9	30,1	NS (0,238)
<b>Parte aérea</b>	60,2	62,3	61,7	NS (0,508)	63,9b	64,1ab	67,4a	* (0,044)
Raíz fibrosa	13,1	12,0	13,2	NS (0,556)	10,6	12,4	11,5	NS (0,223)
Raíz gruesa	26,7	25,7	25,1	NS (0,545)	25,5a	23,5a	21,1b	** (0,009)
<b>Sistema radical</b>	39,8	37,7	38,3	NS (0,508)	36,1a	35,9ab	32,6b	* (0,046)
<b>PLANTA</b>	100,0	100,0	100,0		100,0	100,0	100,0	

<sup>Z</sup>: Distribución relativa (%) = peso seco órgano (g) x 100 / peso seco árbol (g) <sup>Y</sup>: Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta final octubre. <sup>X</sup>: ANOVA, diferencias significativas para P≤0,05 (\*); P≤0,01 (\*\*), y no significativas para P>0,05 (NS); entre paréntesis se indica el P-valor. <sup>W</sup>: Cada valor es la media de 3 árboles. <sup>V</sup>: Ramas del ciclo anterior con hojas. <sup>U</sup>: Ramas del ciclo anterior sin hojas. <sup>T</sup>: Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas (P<0,05) según el test LSD-Fisher.

Desde el final de la caída fisiológica hasta el momento de madurez del fruto se registró el mayor crecimiento de los árboles. En este periodo, mucho más extenso que los anteriores, los árboles duplicaron su biomasa, como consecuencia del crecimiento final de los frutos, el desarrollo completo de las brotaciones de verano y otoño; presentando un peso seco en torno a 2,1 kg. Entre la floración y el momento de madurez del fruto, los árboles incrementaron su biomasa en 2,6 veces (Tabla 10). Este incremento coincide con los resultados de Legaz *et al.* (1981), que en plantones de Valencia Late cultivados en arena encontraron desde floración hasta el final del ciclo de crecimiento un incremento del peso de 2,5 a 3 veces. Martínez *et al.* (2002) encontraron incrementos similares en árboles jóvenes de la misma variedad cultivados en suelo. La contribución relativa de los órganos jóvenes al total de la biomasa se vio asimismo duplicada con respecto al estadio anterior, llegando a valores en torno al 34%, mientras que los órganos viejos redujeron considerablemente su proporción sobre el total, descendiendo desde valores en torno al 45 a un 30%. La mayor contribución a la biomasa de la parte aérea la constituyeron los frutos, con un 13,2-22,1%. Las diferencias entre estas proporciones se debieron a que la producción fue mayor en los árboles del tratamiento C que en el resto de tratamientos. Ensayos realizados en árboles adultos por Reuther *et al.* (1957) en riego por inundación e Intrigliolo *et al.* (1999) en riego por inundación y goteo no mostraron efectos consistentes en la cosecha al variar la época de aplicación.

Al final del ciclo, se observa que de las distintas brotaciones del año, es la de verano la que mayor biomasa aporta al árbol (6,3-9,4%), seguida de las de primavera (3,2-5,0%) y otoño (0,9-1,2%), con independencia de la distribución estacional del N (Tabla 11). Las hojas viejas, del ciclo vegetativo anterior, representan al final del ciclo entre un 5,3 y 6,4%, valores considerablemente inferiores al total de las hojas jóvenes. Quiñones (2002) obtuvo una respuesta similar en la importancia relativa de las distintas brotaciones en el total de la biomasa de árboles de Navelina adultos. Asimismo observó un desarrollo significativamente mayor en hojas de la brotación de verano cuando el abono se aplicó mayoritariamente en el periodo estival (similar a la distribución A); en el presente ensayo, aunque la tendencia fue a acumular más biomasa con el tratamiento A, ésta no fue significativa.

Cabe destacar que, independientemente del incremento de peso registrado, la proporción de parte aérea y sistema radical respecto al total de la planta, se mantuvo prácticamente constante a lo largo del ciclo, con valores en torno al 60% y 40% respectivamente. Dichos valores se desplazaron ligeramente a favor de la parte aérea en el momento de la maduración (63,9-67,4% vs. 36,1-32,6), como consecuencia del peso seco de la cosecha (Tabla 10). En la bibliografía se encuentran valores muy similares, Menino *et al.* (2007)

obtuvieron una distribución de la biomasa de un 65% en la parte aérea y 35% en el sistema radical al extraer los árboles en noviembre; Legaz *et al.* (1988a) describen porcentajes del 50% en la parte aérea y en el sistema radical en naranjos Valencia de 4 años; Kubota *et al.* (1974a) un 55% en la parte aérea y un 45% en el sistema radical.

Este mantenimiento en la proporción relativa que representó la parte aérea respecto al total se debió, tal y como se ha visto, a la tendencia antiparalela que presentaron los órganos jóvenes y viejos a lo largo del ciclo (Tabla 11). La dependencia de la distribución de la biomasa respecto al estado fenológico ha sido también observada por otros autores. Sin embargo, cabe destacar que el número de trabajos en los que se realizan extracciones consecutivas, con el fin de estudiar la evolución de las plantas a lo largo del ciclo es muy escaso. Legaz *et al.* (1981) en naranjos Valencia de 4 años cultivados en arena, observaron que mientras los órganos jóvenes representaban en la floración un 13% del total, dicho porcentaje incrementaba al 36% durante la brotación de otoño. Los órganos viejos sin embargo disminuían su contribución al total de la planta, pasando de un 34% al 20%. Legaz y Primo-Millo (1988a) observaron también incrementos en la proporción relativa de los órganos jóvenes, entre floración (8%) y la brotación de verano (20%).

En lo que respecta al sistema radical, éste mantuvo su peso (Figura 4) prácticamente constante hasta el cuajado (330 g), posteriormente incrementó, duplicándose en la última extracción realizada. La contribución relativa al total de la planta (Tabla 11) fue mayor para la raíz gruesa que para la fina, representando un promedio para las distintas distribuciones y épocas de extracción del 26% y 12%, respectivamente. Valores similares fueron obtenidos por Martínez *et al.* (2002) y Menino *et al.* (2007) en extracciones realizadas al final del ciclo vegetativo. Sin embargo, Alva *et al.* (2003a) encontraron porcentajes en torno al 13%, para ambos tipos de raíces durante la floración.

Si bien en el presente estudio no se observaron diferencias significativas en la biomasa y su distribución en función de la aplicación estacional diferencial de la dosis de N, esto contrasta con los resultados obtenidos por Kubota *et al.* (1974b). Estos autores estudiaron seis distribuciones estacionales resultantes de aplicar dos soluciones nutritivas de N (dosis baja vs. dosis alta) en distintos momentos del ciclo vegetativo (primavera, verano y otoño) a plántones de mandarina Satsuma cultivados en arena. La dosis alta aplicada en primavera y baja en verano y otoño disminuyó el crecimiento de los árboles; mientras que la aplicación de la dosis alta en verano incrementó el crecimiento de la parte aérea. Los máximos incrementos en peso seco se obtuvieron con un aporte elevado de N en primavera y verano, coincidiendo con las épocas de mayor absorción, seguido de bajos

aportes en otoño. La respuesta obtenida por estos autores en la biomasa se debería a que las condiciones experimentales fueron muy diferentes a las del presente ensayo, se aplicaron dosis distintas para cada distribución al final del ciclo y las plantas fueron cultivadas en arena. Por otro lado, Alva *et al.* (2003a) observaron, en una extracción en floración, que la distribución relativa de la biomasa varió ligeramente en función de la dosis, con un 29% en el sistema radical y un 71% en la parte aérea para la dosis de N baja y 24% vs. 76% para la dosis alta. Entre los órganos de la parte aérea la mayor proporción correspondió al tronco, 26 y 35% para las dosis baja y alta respectivamente, valores que son superiores a los obtenidos en el presente ensayo (17,8-19,6%), debido posiblemente a la distinta especie objeto de estudio o a las prácticas culturales (altura del injerto y poda). Por otro lado, la biomasa del total de las hojas fue del 20% independientemente de la dosis de N aportada; porcentaje muy similar al que se obtuvo (18,5-19,0%) en la extracción del final de floración. En el presente estudio, sin embargo, apenas se encontraron diferencias en la distribución de la biomasa en las extracciones realizadas hasta el final de la caída fisiológica, cuando los tratamientos supusieron un aporte diferencial de N al no haber aplicado la totalidad del abono (Figura 2 y Tabla 7).

Al comparar los valores de peso seco del árbol completo con los datos presentes en la bibliografía es importante considerar que este parámetro se encuentra estrechamente relacionado con la edad del árbol y la especie objeto de estudio. En árboles jóvenes los valores encontrados son similares a los del presente ensayo. Martínez *et al.* (2002) en un estudio con árboles de Valencia Late de 4 años cultivados en arena alcanzaron un peso medio de 5,0 kg al final del ciclo. Menino *et al.* (2007) durante dos ciclos consecutivos en árboles de Lane Late de 3 años en campo, obtuvieron biomásas de 1,4 kg y 4,4 kg para cada año respectivamente, Alva *et al.* (2003a) en naranjos Hamlin de 3 años obtuvieron biomásas que oscilaron entre 2,3 y 5,0 kg en función de las dosis de N aportadas en fertirrigación, en una extracción realizada en mayo. Sin embargo, en árboles adultos, los valores de la biomasa son obviamente mayores, incrementando con la edad del árbol e influenciado, asimismo, por la especie y las condiciones de cultivo. Quiñones *et al.* (2005) encontraron valores medios de 38 kg en naranjos Navelina de 8 años. Cameron y Compton (1945) hallaron un peso de 95 kg en árboles de 10 años en naranjos Valencia Late, similar al obtenido por Legaz y Primo-Millo (1988a) en Navelinos de 12 años (102 kg). Golomb y Goldschmidt (1980) obtuvieron un valor de 156 kg para clementinos Wilking de 15 años. Llegándose a valores de biomasa de unos 320 kg en naranjos Shamouti de 20 años (Feigenbaum *et al.*, 1987).

La proporción relativa de los distintos órganos en el total de la planta depende asimismo de la edad. Así, la proporción relativa de parte aérea y sistema radical obtenidas en el

presente trabajo son similares a las encontradas en otras experiencias realizadas en cítricos jóvenes (Kubota *et al.*, 1974b; Legaz y Primo-Millo 1988a; Menino *et al.*, 2007). En árboles adultos, los valores de biomasa acumulada en la parte aérea son ligeramente superiores a los encontrados en este estudio; se sitúan entre el 65-85%, (Barnnette *et al.*, 1931; Cameron y Appelman, 1933; Cameron y Compton, 1945; Nadir, 1974; Golomb y Goldschmidt, 1980; Feigenbaum *et al.*, 1987; Quiñones *et al.*, 2005). Son las partes leñosas del árbol (tronco y ramas) las que, debido a su mayor desarrollo, acumulan un mayor porcentaje (49-67%), en comparación con árboles jóvenes en las que representan un 25-30% (Legaz *et al.*, 1981; Legaz y Primo-Millo, 1988a; Martínez *et al.*, 2002).

#### 4.1.1.2 Concentración de N total

En la tabla 12 se presentan los valores promedio de la concentración de nitrógeno en los distintos órganos analizados, expresados en porcentaje sobre el peso seco, así como el valor de la media ponderada para el total de la planta.

Con independencia de la pauta de distribución del abonado, los valores más elevados de concentración de N se presentaron en las hojas jóvenes de las distintas brotaciones (primavera, verano y otoño) en los primeros estadios de su desarrollo, con valores que superaron el 3% de N en el caso de las hojas de primavera. De forma general, las concentraciones de N de las hojas viejas y de otoño fueron notablemente inferiores a las de verano y sobre todo a las de primavera, ya que éstas últimas se desarrollan en periodos de mayor absorción radical (Chapman y Parker, 1942; Legaz *et al.*, 1981 y Legaz y Primo-Millo, 1984). Posteriormente, la concentración de N en las hojas de primavera descendió, ya que éstas actuarían como fuente de N para el fruto en desarrollo (Legaz *et al.*, 1982; Mooney y Richardson, 1994). Los menores valores de concentración de N en la parte aérea se presentaron en los órganos leñosos, que se mantuvieron prácticamente constantes a lo largo del ciclo, en torno al 0,75% para el tronco y 0,95% en las ramas viejas (Tabla 12).

En el sistema radical (Figura 5), la concentración presentó ligeras variaciones a lo largo del ciclo, mostrando un ligero decremento en el momento de madurez del fruto. Asimismo, se observó al final del ciclo una disminución de las concentraciones de N en todos los órganos, como consecuencia del efecto de dilución de este elemento, asociado al incremento de biomasa de éstos. Este decremento fue especialmente acusado en los órganos jóvenes (Figura 5), al ser éstos los que presentaron proporcionalmente mayores incrementos en su peso seco.

**Tabla 12.** Concentración de N total sobre peso seco (%) en los distintos órganos de las plantas correspondientes a las distribuciones estacionales del N aplicado (A, B y C)<sup>z</sup> en los principales momentos fenológicos en el ensayo de absorción.

Órgano/Planta	FLORACIÓN (MAYO)				CUAJADO (JUNIO)			
	A	B	C	ANOVA <sup>y</sup>	A	B	C	ANOVA
Fruto					1,93 b	2,00 a	2,28 a	* (0,049)
Cáliz + pedúnculo					1,81	1,78	1,98	NS (0,631)
Total flor/fruto	2,17 <sup>x</sup> b <sup>w</sup>	2,21 b	2,53 a	** (0,005)	1,92 b	1,98 b	2,24 a	* (0,047)
Hojas primavera	3,20	3,22	3,30	NS (0,699)	3,02 b	3,22 ab	3,48 a	* (0,034)
Ramas primavera	2,31	2,41	2,28	NS (0,554)	2,02	2,26	2,37	NS (0,207)
Hojas viejas	2,62 b	2,73 b	2,85 a	* (0,025)	2,57 b	2,67 b	2,92 a	* (0,033)
Ramas viejas c/h <sup>v</sup>	1,25	1,41	1,33	NS (0,254)	1,33	1,43	1,57	NS (0,187)
Ramas viejas s/h <sup>u</sup>	0,62	0,71	0,69	NS (0,564)	0,74 a	0,63 b	0,62 b	* (0,051)
Ramas viejas <sup>t</sup>	0,88	1,04	0,97	NS (0,254)	1,00	1,01	1,05	NS (0,621)
Tronco	0,73	0,69	0,64	NS (0,726)	0,77	0,75	0,73	NS (0,851)
Raíz fibrosa	2,60 b	2,71 ab	2,76 a	* (0,054)	2,56 b	2,78 ab	2,85 a	* (0,048)
Raíz gruesa	1,29	1,29	1,32	NS (0,972)	1,21	1,27	1,28	NS (0,706)
PLANTA <sup>t</sup>	1,59	1,66	1,69	NS (0,615)	1,57 b	1,65 a	1,66 a	* (0,054)
Joven caído <sup>s</sup>	3,57	3,74	3,62	NS (0,722)	2,96	3,07	2,89	NS (0,827)
Hojas viejas caídas	2,13	2,16	2,25	NS (0,277)	2,10	2,08	2,11	NS (0,769)
TOTAL PLANTA <sup>t</sup>	1,72	1,79	1,76	NS (0,763)	1,73 b	1,82 a	1,79 a	* (0,046)

Órgano/Planta	FINAL CAÍDA FISIOLÓGICA (JULIO)				MADUREZ FRUTO (ENERO)			
	A	B	C	ANOVA	A	B	C	ANOVA
Fruto	1,82 b	1,93 ab	2,01 a	* (0,042)	1,01 a	0,85 b	0,72 c	*** (<0,001)
Cáliz + pedúnculo	1,81	1,85	1,88	NS (0,671)	1,41 a	1,15 b	1,18 b	*** (0,001)
Total fruto	1,82 b	1,93 ab	2,00 a	* (0,054)	1,01 a	0,85 b	0,72 c	*** (<0,001)
Hojas otoño					2,16 a	1,84 b	1,83 b	** (0,004)
Hojas verano	2,64 b	2,78 b	2,84 a	** (0,011)	2,37	2,23	2,22	NS (0,300)
Hojas primavera	3,06	3,20	3,16	NS (0,361)	2,46	2,39	2,30	NS (0,481)
Hojas jóvenes <sup>t</sup>	2,82 b	2,93 ab	3,09 a	* (0,048)	2,37	2,26	2,22	NS (0,259)
Ramas otoño					1,25	1,19	1,17	* (0,039)
Ramas verano	1,40	1,48	1,48	NS (0,392)	1,39 a	1,31 ab	1,20 b	* (0,048)
Ramas primavera	1,92 b	2,07 a	2,02 a	* (0,043)	1,64 a	1,46 b	1,24 c	** (0,003)
Ramas jóvenes <sup>t</sup>	1,76	1,86	1,96	NS (0,159)	1,46 a	1,36 ab	1,22 b	* (0,024)
Hojas viejas	2,49	2,51	2,54	NS (0,806)	2,15 a	1,98 b	1,97 b	* (0,058)
Ramas viejas c/h	1,12 b	1,37 a	1,37 a	** (0,003)	1,35 a	1,11 b	0,84 c	*** (0,001)
Ramas viejas s/h	0,72 b	0,78 ab	0,87 a	* (0,036)	0,78 a	0,69 b	0,55 c	*** (0,001)
Ramas viejas <sup>t</sup>	0,89 b	1,04 a	1,11 a	** (0,003)	0,99 a	0,89 a	0,70 b	*** (0,001)
Tronco	0,79	0,83	0,85	NS (0,559)	0,79 a	0,76 a	0,64 b	* (0,034)
Raíz fibrosa	2,43 b	2,56 ab	2,69 a	** (0,015)	2,13 a	1,95 b	1,94 b	* (0,041)
Raíz gruesa	1,20	1,24	1,29	NS (0,638)	0,83	0,74	0,72	NS (0,199)
PLANTA <sup>t</sup>	1,61 b	1,67 b	1,75 a	** (0,007)	1,32 a	1,25 a	1,12 b	*** (0,001)
Joven caído	2,87	3,05	2,87	NS (0,551)	2,97	3,08	2,75	NS (0,766)
Hojas viejas caídas	2,02	2,07	2,07	NS (0,701)	2,10	2,07	1,96	NS (0,122)
TOTAL PLANTA <sup>t</sup>	1,75 b	1,83 ab	1,86 a	* (0,046)	1,42 a	1,35 a	1,21 b	** (0,005)

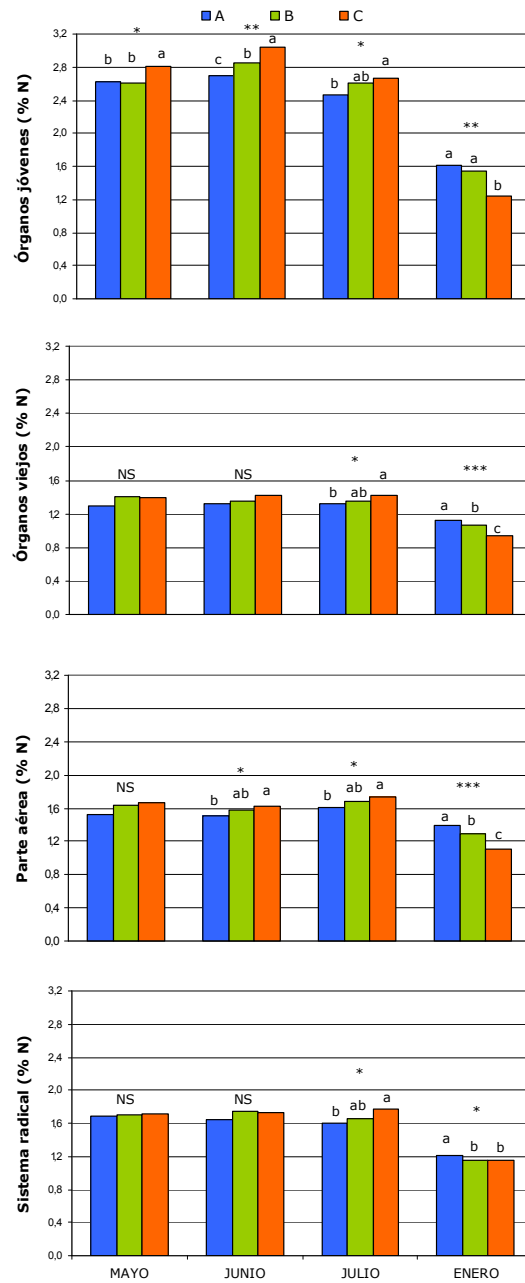
<sup>z</sup>: Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta final octubre. <sup>y</sup>: ANOVA, diferencias significativas para P<0,05 (\*); P<0,01 (\*\*), P<0,001 (\*\*\*) y no significativas para P>0,05 (NS); entre paréntesis se indica el P-valor. <sup>x</sup>: Cada valor es la media de 3 árboles. <sup>w</sup>: Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas (P<0,05) según el test LSD-Fisher. <sup>v</sup>: Ramas del ciclo anterior con hojas. <sup>u</sup>: Ramas del ciclo anterior sin hojas. <sup>t</sup>: Media ponderada. <sup>s</sup>: Incluye botón floral, pétalos, cálices y frutos abortados caídos.



Tendencias similares en la concentración de N a lo largo del ciclo vegetativo en los distintos órganos han sido observadas por Legaz *et al.* (1981) y Legaz y Primo-Millo, (1988a) en estudios en los que se realizaron extracciones consecutivas de naranjos Valencia a lo largo del ciclo, y por Legaz *et al.* (1982) en calamondines de 5 años. Sin embargo, cabe destacar que en los dos primeros no se observó la disminución típica de la concentración de N al final del ciclo, puesto que los árboles continuaron recibiendo abono hasta el mismo momento de la extracción, a diferencia del presente ensayo en que el ciclo de abonado finalizó 2 meses antes de la extracción final en madurez del fruto.

Por otro lado, Mooney y Richardson (1994) encontraron una tendencia similar en mandarinos Satsuma de 5 años en los muestreos realizados quincenalmente durante todo el ciclo, tras una aplicación de N en invierno. En todos estos ensayos los valores de concentración de N fueron superiores en órganos jóvenes que en viejos, disminuyendo paulatinamente a lo largo del ciclo; mientras que la concentración media del sistema radical fue siempre inferior a la de la parte aérea. Al final del ciclo Menino *et al.* (2007), en extracciones realizadas durante dos años consecutivos en naranjos Lane Late jóvenes cultivados en campo, también observaron este comportamiento, los órganos jóvenes presentaron las mayores concentraciones de N, seguidos por hojas viejas, raíces finas y los valores más bajos los obtuvieron en tronco y raíces gruesas.

En árboles adultos los valores encontrados en la bibliografía para los distintos órganos de la planta en extracciones realizadas al final del ciclo coinciden en su tendencia con los obtenidos en el presente estudio, pero con valores ligeramente inferiores. Así, las hojas jóvenes de árboles adultos presentan mayor porcentaje de N que las viejas, siendo las hojas de primavera las que presentan mayor concentración, seguidas de las de verano y otoño; mientras que el tronco y las ramas viejas son los órganos con menores valores (Cameron y Appelman, 1933; Feigenbaum *et al.*, 1987; Quiñones, 2002).



**Figura 5.** Concentración ponderada de N, sobre peso seco, del conjunto de órganos jóvenes<sup>Z</sup>, viejos<sup>Y</sup>, parte aérea y sistema radical de los árboles a lo largo del segundo año del ensayo de absorción. Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta final octubre.

<sup>Z</sup>: Órganos jóvenes en extracción en mayo: estructuras reproductivas y hojas y ramas de la brotación de primavera; en junio: frutos cuajados y hojas y ramas de la brotación de primavera; en julio: frutos en desarrollo, hojas y ramas de las brotaciones de primavera y verano; en enero: frutos maduros, hojas y ramas de las brotaciones de primavera, verano y otoño. <sup>Y</sup>: Órganos viejos incluyen las ramas y hojas de las brotaciones del ciclo anterior, ramas leñosas sin hojas y tronco. ANOVA, diferencias significativas para  $P \leq 0,05$  (\*);  $P \leq 0,01$  (\*\*);  $P \leq 0,001$  (\*\*\*) y no significativas para  $P > 0,05$  (NS). Letras distintas en una misma extracción indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) según el test LSD-Fisher.

El análisis estadístico del efecto de la distribución estacional de la dosis de N aportada sobre la concentración de este elemento en los distintos órganos en las extracciones realizadas, pone de manifiesto diferencias considerables entre las distribuciones estudiadas. En este punto es importante recordar que la distribución estacional de la dosis conllevó un aporte diferencial de N durante el ciclo (Tabla 7). De este modo en las extracciones correspondientes a la floración, cuajado y final de caída fisiológica del fruto, las dosis de N aportadas con las tres distribuciones son crecientes ( $A < B < C$ ). Es al final del ciclo, en la extracción realizada en madurez del fruto, cuando los árboles recibieron la totalidad de la dosis de N, momento en el que se puede evaluar el efecto de las distintas distribuciones estacionales aplicadas.

Durante la floración, cuajado y final de la caída fisiológica del fruto, las diferentes distribuciones estacionales originaron concentraciones de N crecientes en los órganos jóvenes como consecuencia de los aportes diferenciales de N asociados a éstas. Los árboles que se encontraban recibiendo la distribución C mostraron en la totalidad de órganos jóvenes porcentajes de N significativamente mayores que los de los tratamientos A y B (Figura 5). Esta mayor acumulación es consecuencia de que la distribución C conlleva el aporte del grueso de la dosis de N (75%), en el periodo comprendido entre el inicio del ciclo (marzo) y el final de la caída fisiológica, frente al 25 y 50% correspondientes a las distribuciones A y B, respectivamente. Las diferencias en el total de órganos jóvenes se debieron principalmente a la distinta pauta de acumulación de N en las flores/frutos y en las hojas de las nuevas brotaciones en desarrollo en el momento de cada extracción. Las concentraciones de N en el total de los órganos reproductivos de los árboles del tratamiento A fueron un 14,2%, 14,3% y 9,0% inferiores a C en floración, cuajado y final de caída fisiológica, respectivamente. Las hojas de la brotación de primavera y verano mostraron diferencias significativas en este mismo sentido en las extracciones correspondientes a los momentos de cuajado y final de caída fisiológica de los frutos, respectivamente. Son numerosos los trabajos que recogen la correlación positiva entre la dosis de N aportada y la concentración foliar de este elemento (Reese y Koo, 1974; Mungomery *et al.*, 1978; Kato *et al.*, 1986; Maust y Williamson, 1994; Bañuls *et al.*, 1998, Menino *et al.*, 2003; Morgan *et al.*, 2009).

Por otro lado, los órganos viejos (Figura 5) siguieron una pauta similar que fue significativa para las hojas viejas en las dos primeras extracciones realizadas, siendo mayor siempre la concentración de N en las hojas de los árboles de la distribución C (Tabla 12). En los árboles de la distribución A y B se apreció el típico descenso en la concentración de N en hojas viejas y de primavera en la extracción durante el cuajado del fruto. Esta disminución en la concentración de N en las hojas viejas coincidiendo con los

momentos de post-floración e inicio del desarrollo del fruto ha sido observada por numerosos autores (Cameron y Appelman, 1933; Jones y Parker, 1950; Wallace *et al.*, 1954; Legaz *et al.*, 1981, 1983; Mooney y Richardson, 1994). Sin embargo, este descenso no se observó en los árboles que se abonaron con la distribución C, probablemente debido al mayor aporte de N asociado a esta curva. Este mismo comportamiento ha sido observado en naranjos adultos cuando se aportaron dosis de N mayores en el momento de cuajado del fruto (Quiñones, 2002). Las diferencias entre las distribuciones se hicieron también significativas para el resto de órganos viejos (tronco y ramas) en la extracción correspondiente al final de caída fisiológica, ya que la dosis de N aportada hasta este periodo (6,25; 12,50 y 18,75 g N·árbol<sup>-1</sup> para A, B y C, respectivamente) fue notablemente superior a las aplicadas hasta floración o cuajado. Así, la concentración de N en el total de los órganos viejos (Figura 5) de los árboles que siguieron la distribución C presentaron una concentración en N un 8% y 5% superior que la de los árboles de A y B, respectivamente.

Estas tendencias en la concentración de N de los órganos jóvenes y viejos supusieron que las diferencias en la concentración ponderada en la parte aérea debidas a la distribución del abonado, se hicieran significativas en el cuajado y final de la caída fisiológica (Figura 5). Asimismo, la raíz fina siguió la misma pauta que la descrita para los órganos jóvenes, con valores de N que llegaron a ser un 10% superiores en los árboles de la distribución C, en las extracciones de cuajado y final de caída fisiológica. Como consecuencia de ello, las concentraciones ponderadas del total de la planta de los árboles de la distribución C fueron significativamente superiores a A, en las extracciones citadas anteriormente, mientras que los árboles de la distribución B presentaron concentraciones intermedias (Tabla 12).

Las diferencias en la concentración de N en los árboles, debidas a las dosis diferenciales aportadas hasta el final de la caída fisiológica de frutos, son coherentes con los resultados obtenidos por otros autores. Legaz *et al.* (1981) en naranjos Valencia Late de 3 años, también observaron mayores concentraciones de N en los distintos órganos de plantas que recibieron una dosis de N alta (245 ppm) en comparación con aquellas que recibieron una dosis baja (15 ppm). Según estos autores, la disminución en la concentración de N de los órganos jóvenes asociada al desarrollo de los mismos, fue más acusada en los árboles que recibieron la dosis baja de N, detectándose incluso en estos árboles una disminución en los valores registrados en los órganos que normalmente mantienen su concentración en las primeras etapas del ciclo (tronco y ramas). Sin embargo, las diferencias encontradas por estos autores entre ambos tratamientos fueron más acusadas que las obtenidas en el presente trabajo, ya que aún con la distribución A que conllevó un menor aporte de N

hasta el final de la caída fisiológica, éste resultó suficiente para el desarrollo normal de las plantas.

En cambio, en el momento de madurez del fruto se observó una tendencia opuesta a la presentada en los anteriores periodos. Es importante destacar que en esta extracción, momento en que todos los árboles recibieron la totalidad de la dosis, la variabilidad en la concentración de N se debió únicamente a las pautas estacionales de distribución del abonado. Concretamente, los árboles que recibieron el 75% de la dosis de forma tardía (distribución A) presentaron valores significativamente mayores en la mayoría de sus órganos (Tabla 12). Esto se debió a que el aporte tardío del grueso de la dosis de N realizado con la distribución A, coincide en parte con los meses de mayor absorción radical (julio y agosto) de acuerdo con Legaz y Primo-Millo (1992). Estas diferencias fueron especialmente acusadas en los frutos maduros y hojas/ramas de la brotación de otoño, ya que este incremento en la fracción de N a aportar coincidió con la fase de crecimiento y brotación de estos órganos, respectivamente. De modo que los frutos de los árboles de la distribución A presentaron una concentración significativamente mayor que la de los árboles que recibieron el N siguiendo las distribuciones B y C (19% y 40% mayor, respectivamente). Esta respuesta se debió a los menores aportes de N asociados a las distribuciones B y C (25% y 50%, respectivamente) durante el periodo final del ciclo de abonado. En el caso de las hojas de la brotación de otoño, se alcanzó una concentración un 18% superior en A que en B y C. Las ramas de las anteriores brotaciones del ciclo (primavera y verano) también presentaron esta misma pauta invirtiendo por tanto la tendencia descrita hasta el momento; no es el caso de las hojas pertenecientes a estas brotaciones, que si bien cambiaron la tendencia en sus concentraciones, este cambio no fue suficiente para cobrar entidad significativa desde un punto de vista estadístico. Parece por tanto, que las distribuciones de N recibidas en el momento del desarrollo de cada brotación condicionaron en mayor medida las tendencias de la concentración foliar de N. En el conjunto de órganos jóvenes (Figura 5), si bien no se aprecian diferencias significativas entre las concentraciones conseguidas con las distribuciones A y B, éstas fueron claramente superiores a las de los árboles que recibieron el grueso de la dosis de N de forma más temprana (C).

El conjunto de órganos viejos presentó concentraciones significativamente decrecientes en el sentido  $A > B > C$  (Figura 5). Esta tendencia, paralela a la obtenida en los órganos jóvenes, tuvo como resultado concentraciones promedio diferentes para la parte aérea de las plantas en los tres tratamientos, siendo mayor la concentración de N cuanto más se retrasó la aplicación del grueso de la dosis. En el sistema radical de los árboles que recibieron un aporte tardío del grueso de la dosis (A) se concentró el N en mayor medida

que con el resto de distribuciones. El análisis de los valores de la media ponderada en el total de la planta (Tabla 12), puso de manifiesto que las distribuciones A y B dieron lugar a un mayor valor en la concentración de N que el registrado para la distribución C.

Los resultados encontrados en la escasa bibliografía que aborda distintas distribuciones estacionales de una dosis de N mantienen pautas similares a las aquí obtenidas. Quiñones (2002) en un estudio realizado en naranjos Navelino de 8 años obtuvo mayores valores, aunque no significativos, de concentración de N en los árboles que recibieron un aporte más retrasado del N que aquellos que lo recibieron de manera temprana. Martínez (2003) en un estudio en naranjos Valencia Late de 3 años compararon la aplicación de nitrato potásico en primavera (marzo) y verano (julio) en una única dosis en riego por inundación. Los árboles que recibieron el abono en verano presentaron una concentración significativamente superior en septiembre; estas diferencias no se mantuvieron en la extracción realizada en noviembre. Las divergencias con respecto a estos autores se podrían deber, por un lado a que en el presente ensayo las diferencias entre las distribuciones estacionales estudiadas fueron más acusadas; y por otro lado, al sistema de riego. Sin embargo, Okada *et al.* (1992) obtuvieron mayores concentraciones foliares de N en mandarinos Satsuma de 2 años cuando la aplicación de verano se realizó retrasada (agosto vs. junio), en una distribución en tres aplicaciones, primavera, verano y otoño. Morgan *et al.* (2009) obtuvieron diferentes concentraciones foliares de N en función del método de aplicación, de modo que el mayor fraccionamiento de la dosis, de 4 aplicaciones (febrero, marzo, mayo y septiembre) a 30 aplicaciones (semanalmente desde febrero a septiembre) en fertirriego, supuso un incremento en el N foliar. Cabe destacar que si bien fraccionamiento y distribución estacional no son un mismo concepto, en este caso el mayor fraccionamiento supuso la aplicación de N durante los meses de verano, coincidiendo con el periodo de mayor actividad radical, meses en los que no se aplicó abono en el tratamiento con 4 aplicaciones. Por lo tanto, los resultados de estos autores serían en cierto modo coherentes con los obtenidos en la distribución A, con un mayor aporte de N durante los meses de julio y agosto (7,5 y 5,7 g N · árbol<sup>-1</sup> respectivamente), y C con un menor aporte de N en estos meses (2,5 y 1,9 g N · árbol<sup>-1</sup>; Tabla 6).

Kubota *et al.* (1974b) en las seis distribuciones estacionales resultantes de aplicar dos dosis de N (dosis baja-B vs. dosis alta-A) en primavera, verano y otoño a plantones de mandarino Satsuma de 2 años en arena obtuvieron diferencias significativas en la concentración de N de los distintos órganos. En la extracción realizada al final del ciclo, los árboles que mayores concentraciones presentaron en todos sus órganos fueron aquellos que recibieron una dosis alta durante todo el ciclo (AAA), así como los que o bien recibieron la dosis alta en dos periodos consecutivos (AAB, BAA) o la recibieron

únicamente en otoño (BBA) o en verano (BAB). Sin embargo, las menores concentraciones de N en todos los órganos se obtuvieron cuando la dosis elevada sólo se aplicó en primavera (ABB). Las conclusiones obtenidas en el presente ensayo para las curvas A y C, serían coherentes con las planteadas por estos autores, ya que la distribución A sería del tipo BAB al aplicar un 21,7%, 65,8% y 12,5% de la dosis en primavera, verano y otoño respectivamente; mientras que la distribución C sería del tipo ABB (65,0%, 30,8% y 4,2% respectivamente), presentando concentraciones inferiores en todos los órganos.

#### 4.1.1.3 Contenido de N total y su distribución relativa

El contenido en N total (mg) de cada órgano así como del conjunto de la planta se muestra en la tabla 13. A lo largo del ciclo, los árboles fueron incrementando su contenido en N como consecuencia del desarrollo de nuevos tejidos, así como de los aportes crecientes de éste con el fertilizante. A excepción del descenso en el contenido de N en los órganos jóvenes (Figura 6) asociado a la abscisión de estructuras reproductivas y en las hojas viejas por su senescencia, todos los órganos incrementaron su contenido neto en N entre el inicio y el final del ciclo, con independencia de la distribución de N. En la extracción realizada en el cuajado de los frutos, los árboles apenas acumularon un 2% más de N comparado con la floración. Aunque, al igual que ocurrió con la biomasa (Tabla 10), si se incluye el N acumulado tanto en las estructuras reproductivas como en las hojas viejas caídas se observa que el contenido en N incrementó en promedio un 12% para las tres distribuciones, ya que todos los órganos caídos acumularon un 20% del total de N.

Durante las extracciones realizadas en floración y cuajado no se observaron diferencias significativas en la cantidad de N acumulado en las plantas en función de la distribución estacional (Tabla 13). Si bien en ambas extracciones se aprecia una cierta tendencia a acumular más N los árboles de la distribución C que los de A o B, las diferencias no fueron significativas desde el punto de vista estadístico. En cambio, en la extracción realizada al final de la caída fisiológica, esta tendencia se hizo claramente significativa para la mayoría de los órganos, y por tanto, para la planta al completo. De modo que, mientras que los árboles de la curva C acumularon un 11 y 12% más N que los de la distribución A en floración y cuajado, respectivamente, al final de la caída fisiológica, estas diferencias incrementaron hasta el 21%. Al final de la caída fisiológica, los árboles que recibieron el N de acuerdo con la curva B presentaron en el sistema radical y en el total de la planta un contenido en N similar al de los árboles de la distribución A. Sin embargo, en el conjunto de órganos jóvenes y viejos (Figura 6), la pauta de acumulación de N fue intermedia a la observada con las distribuciones A y C, con las que no mostraron diferencias significativas.

**Tabla 13.** Contenido de N total<sup>Z</sup> en los distintos órganos y en el total de las plantas correspondientes a las distribuciones estacionales del N aplicado (A, B y C)<sup>Y</sup> en los principales momentos fenológicos en el ensayo de absorción.

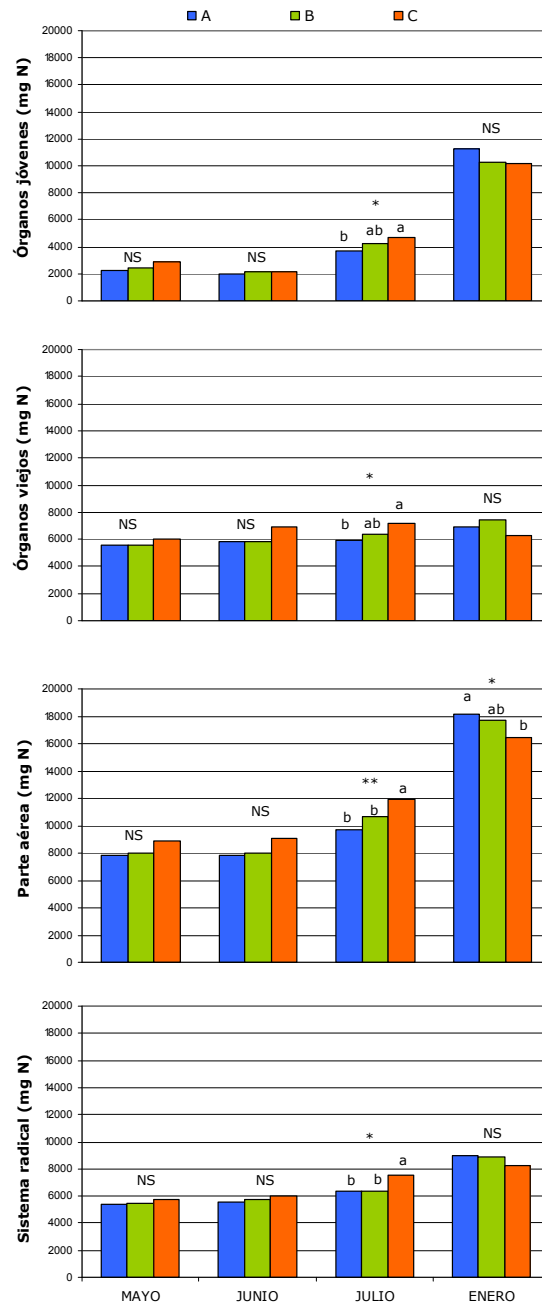
Órgano/Planta	FLORACIÓN (MAYO)				CUAJADO (JUNIO)			
	A	B	C	ANOVA <sup>X</sup>	A	B	C	ANOVA
Fruto					179	228	235	NS (0,572)
Cáliz + pedúnculo					16	22	25	NS (0,165)
<i>Total flor/fruto</i>	837 <sup>W</sup> b <sup>V</sup>	1.025a	1.196a	* (0,037)	195	250	260	NS (0,518)
Hojas primavera	1.170	1.138	1.364	NS (0,573)	1.515	1.645	1.514	NS (0,836)
Ramas primavera	280	304	324	NS (0,632)	257	303	345	NS (0,337)
Hojas viejas	3.076	3.169	3.505	NS (0,861)	2.941	3.065	3.691	NS (0,497)
Ramas viejas c/h <sup>U</sup>	757	884	890	NS (0,437)	960	1.053	1.304	NS (0,152)
Ramas viejas s/h <sup>T</sup>	541	481	593	NS (0,692)	664	526	626	NS (0,174)
<i>Ramas viejas</i>	1.298	1.365	1.483	NS (0,700)	1.624	1.579	1.930	NS (0,254)
Tronco	1.194	1.017	992	NS (0,475)	1.297	1.180	1.282	NS (0,694)
Raíz fibrosa	2.529	2.482	2.563	NS (0,942)	2.804	2.868	2.785	NS (0,970)
Raíz gruesa	2.830	2.979	3.185	NS (0,682)	2.748	2.870	3.185	NS (0,380)
<b>PLANTA</b>	13.214	13.479	14.612	NS (0,728)	13.381	13.760	14.992	NS (0,573)
Joven caído <sup>S</sup>	2.038a	1.887a	1.206b	** (0,014)	3.264	3.340	2.791	NS (0,531)
Hojas viejas caídas	262	226	253	NS (0,804)	350	454	478	NS (0,225)
<b>TOTAL PLANTA</b>	15.514	15.592	16.071	NS (0,950)	16.995	17.554	18.261	NS (0,817)

Órgano/Planta	FINAL CAÍDA FISIOLÓGICA (JULIO)				MADUREZ FRUTO (ENERO)			
	A	B	C	ANOVA	A	B	C	ANOVA
Fruto	436	515	627	NS (0,225)	3.411	2.392	3.516	NS (0,227)
Cáliz + pedúnculo	8	10	13	NS (0,131)	15	11	18	NS (0,097)
<i>Total fruto</i>	444	525	640	NS (0,211)	3.426	2.403	3.534	NS (0,226)
Hojas otoño					515	385	369	NS (0,741)
Hojas verano	1.515a	2.060a	667b	** (0,005)	4.555a	3.753b	3.117b	* (0,248)
Hojas primavera	1.308b	1.263b	2.705a	* (0,054)	1.602	2.548	2.230	NS (0,239)
<i>Hojas jóvenes</i>	2.823	3.323	3.372	NS (0,342)	6.672a	6.686a	5.716b	* (0,038)
Ramas otoño					121	95	94	NS (0,877)
Ramas verano	115	115	55	NS (0,290)	590a	537a	320b	* (0,048)
Ramas primavera	352b	297b	634a	* (0,027)	467	561	536	NS (0,736)
<i>Ramas jóvenes</i>	467b	412b	689a	* (0,036)	1.178	1.193	950	NS (0,375)
Hojas viejas	3.186	3.037	3.474	NS (0,647)	2.338	2.702	2.674	NS (0,634)
Ramas viejas c/h	903c	1.190b	1.458a	*** (0,001)	1.464	1.899	1.467	NS (0,271)
Ramas viejas s/h	751	889	1.020	NS (0,128)	1.485a	1.330ab	898b	* (0,050)
<i>Ramas viejas</i>	1.654c	2.079b	2.478a	** (0,005)	2.949ab	3.229a	2.365b	* (0,048)
Tronco	1.090	1.257	1.259	NS (0,469)	1.598a	1.509ab	1.245b	* (0,042)
Raíz fibrosa	3.171b	3.126b	3.929a	* (0,026)	4.616	5.177	4.911	NS (0,616)
Raíz gruesa	3.196	3.243	3.589	NS (0,616)	4.319	3.687	3.374	NS (0,147)
<b>PLANTA</b>	16.031b	17.002b	19.430a	* (0,027)	27.096a	26.586ab	24.769b	* (0,032)
Joven caído	3.583	3.915	3.372	NS (0,631)	3.789	3.567	3.219	NS (0,719)
Hojas viejas caídas	357b	487a	526a	* (0,046)	357	486	480	NS (0,182)
<b>TOTAL PLANTA</b>	19.971b	21.404a	23.328a	* (0,048)	31.242	30.639	28.468	NS (0,227)

<sup>Z</sup>: Contenido en N (mg) = concentración N órgano (%) x peso seco órgano (mg) <sup>Y</sup>: Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta final octubre. <sup>X</sup>: ANOVA, diferencias significativas para P≤0,05 (\*); P≤0,01 (\*\*); y P≤0,001 (\*\*\*) y no significativas para P>0,05 (NS); entre paréntesis se indica el P-valor. <sup>W</sup>: Cada valor es la media de 3 árboles. <sup>V</sup>: Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas (P<0,05) según el test LSD-Fisher. <sup>U</sup>: Ramas del ciclo anterior con hojas. <sup>T</sup>: Ramas del ciclo anterior sin hojas. <sup>S</sup>: Incluye botón floral, pétalos, cálices y frutos abortados caídos.





**Figura 6.** Contenido de N en el conjunto de órganos jóvenes<sup>Z</sup>, viejos<sup>Y</sup>, parte aérea y sistema radical de los árboles extraídos a lo largo del segundo año del ensayo de absorción. Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta final octubre.

<sup>Z</sup>: Órganos jóvenes en extracción en mayo: estructuras reproductivas y hojas y ramas de la brotación de primavera; en junio: frutos cuajados y hojas y ramas de la brotación de primavera; en julio: frutos en desarrollo, hojas y ramas de las brotaciones de primavera y verano; en enero: frutos maduros, hojas y ramas de las brotaciones de primavera, verano y otoño. <sup>Y</sup>: Órganos viejos incluyen las ramas y hojas de las brotaciones del ciclo anterior, ramas leñosas sin hojas y tronco. ANOVA, diferencias significativas para  $P \leq 0,05$  (\*);  $P \leq 0,01$  (\*\*), y no significativas para  $P > 0,05$  (NS). Letras distintas en una misma extracción indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) según el test LSD-Fisher.

Aproximadamente la mitad del N absorbido hasta la floración se incorporaría, de acuerdo con Legaz y Primo-Millo (1988a), a compuestos proteicos, manteniéndose la otra mitad en formas solubles, principalmente en forma de aminoácidos libres y nitratos. Sin embargo, tras el cuajado e inicio de la segunda brotación (brotación de verano), el N asociado a síntesis proteica incrementaría (65%) respecto a las formas solubles (35%), manteniéndose esta relación hasta el final del ciclo.

En la extracción realizada en el periodo de madurez del fruto, a igualdad de dosis aplicada, la distribución A supuso una acumulación mayor de N (9%) en la planta completa que con la distribución C (Tabla 13). Esta diferencia se debió fundamentalmente al conjunto de hojas jóvenes, especialmente hojas y ramas de la brotación de verano, así como los órganos leñosos (ramas viejas y tronco). La distribución B supuso una acumulación de N intermedia a la del resto de distribuciones, sin que se apreciaran diferencias significativas con éstas. Las hojas de otoño, aunque no presentaron diferencias significativas, mostraron una tendencia paralela a la dosis de N aplicada en el momento de su desarrollo ( $A > B > C$ ). Es importante destacar, el elevado coeficiente de variación en el contenido de N de las hojas y ramas de la brotación de otoño en todos los tratamientos, dependiente de la producción de frutos de cada árbol, posiblemente como consecuencia del efecto competitivo de ambos sumideros (Lea-Cox *et al.*, 2001).

Una respuesta similar asociada al aporte retrasado del grueso de la dosis de N ha sido propuesta por otros autores. Kubota *et al.* (1974b) en mandarinos Satsuma de 4 años cultivados en arena en la extracción de éstos en diciembre, concluyeron que los mayores contenidos de N correspondieron a los árboles que recibieron una dosis alta de N (A: 80 a 160 ppm) en primavera y verano y una dosis baja de N (B: 20 a 40 ppm) en otoño (AAB) o bien una dosis baja en primavera, alta en verano y otoño (BAA). Mientras que los menores contenidos de N en el total de la planta se presentaron en los árboles que recibieron una dosis alta de N en primavera, a la que siguió una dosis baja en verano y otoño (ABB). Quiñones (2002) en Navelinos adultos obtuvo, al extraer las plantas al final del ciclo (diciembre), mayor acumulación de N en las hojas y ramas de verano al realizar los máximos aportes en los meses de julio, agosto y septiembre, que al aportarlos en mayo, junio y julio. Estas distribuciones son similares a las A y B, respectivamente, del presente ensayo. Por otro lado, tampoco encontró diferencias en el contenido de N en el total del árbol, entre ambos tratamientos, tal y como sucedió entre las distribuciones A y B. Como se ha observado en el presente estudio, fue necesaria la comparación entre aportes máximos más tempranos (abril, mayo y junio, distribución C) y aportes mínimos en este periodo (distribución A) para que surgieran diferencias significativas. Sin embargo, Martínez (2003) al comparar el efecto del momento de aplicación de una dosis de nitrato

potásico sobre el contenido en N de los distintos órganos en noviembre, comprobó que aunque todos los árboles acumularon un N total similar, la aplicación en primavera (26 marzo) proporcionó mayores contenidos de N en hojas de la brotación de verano y raíces finas que la aplicación en verano (24 julio). Dichos resultados deben ser discutidos con cautela, pues se trató de una aplicación puntual, lo cual difiere sensiblemente del presente ensayo, y por otro lado, la aplicación de verano se realizó cuando la segunda brotación ya estaba casi plenamente desarrollada.

El balance del ciclo, entre la floración y el momento de madurez del fruto, mostró que los árboles incrementaron su contenido en N en 2,1; 2,0 y 1,7 veces, para las distribuciones A, B y C, respectivamente. Este incremento coincide con los resultados de Legaz *et al.* (1981), que en plántones de Valencia Late cultivados en arena encontraron desde floración hasta el final del ciclo de crecimiento un incremento del contenido en N entre 2,5 y 3 veces. Martínez (2003) encontró incrementos parecidos (2,1 veces) en un periodo similar en árboles jóvenes de Valencia Late cultivados en suelo.

En la tabla 14 se presenta la distribución relativa del N en los distintos órganos en relación al total de este elemento en la planta en las extracciones realizadas a lo largo del ciclo. En todas las extracciones realizadas, el N se acumuló en un 60% en la parte aérea y un 40% en el sistema radical, con porcentajes muy similares para las tres distribuciones. Dicho porcentaje incrementó ligeramente a favor de la parte aérea (67%) al final del ciclo, en detrimento del sistema radical (33%). Sin embargo, la contribución relativa de órganos jóvenes y viejos varió a lo largo del ciclo. Hasta el final de la caída fisiológica, los órganos jóvenes representaron entre un 17 y un 25% del total del N de la planta; al final del ciclo en madurez del fruto, este porcentaje se duplicó (40%), siendo en los frutos (9-14%) y en las hojas de verano (13-17%) donde más N se acumuló. Cabe destacar que el conjunto de hojas (jóvenes y viejas), con apenas un 20% del total de la biomasa del árbol al final del ciclo, acumularon un tercio del total del N presente en la planta, independientemente de la distribución aplicada.

**Tabla 14.** Distribución relativa del N total<sup>2</sup> entre los distintos órganos de las plantas correspondientes a las distribuciones estacionales del N aplicado (A, B y C)<sup>3</sup> en los principales momentos fenológicos en el ensayo de absorción.

Órgano/Planta	FLORACIÓN (MAYO)				CUAJADO (JUNIO)			
	A	B	C	ANOVA <sup>x</sup>	A	B	C	ANOVA
Fruto					1,3	1,6	1,6	NS (0,600)
Cáliz + pedúnculo					0,1b	0,2a	0,2a	* (0,044)
Total flor/fruto	6,3 <sup>w</sup>	7,6	8,2	NS (0,192)	1,4	1,8	1,8	NS (0,534)
Hojas primavera	8,9	8,4	9,3	NS (0,812)	11,3	12,0	10,1	NS (0,716)
Ramas primavera	2,1	2,3	2,2	NS (0,910)	1,9	2,2	2,3	NS (0,282)
<b>Órganos jóvenes</b>	17,3	18,3	19,7	NS (0,479)	14,6	16,0	14,2	NS (0,596)
Hojas viejas	23,3	23,5	24,0	NS (0,959)	22,0	22,3	24,6	NS (0,572)
Ramas viejas c/h <sup>u</sup>	5,7	6,6	6,1	NS (0,125)	7,2b	7,7ab	8,7a	* (0,054)
Ramas viejas s/h <sup>t</sup>	4,1	3,6	4,1	NS (0,746)	5,0a	3,8b	4,2ab	* (0,056)
Ramas viejas	9,8	10,2	10,2	NS (0,982)	12,2	11,5	12,9	NS (0,174)
Tronco	9,0a <sup>v</sup>	7,5b	6,8b	* (0,028)	9,7	8,6	8,6	NS (0,460)
<b>Órganos viejos</b>	42,1	41,2	41,0	NS (0,924)	43,9	42,4	46,1	NS (0,439)
<b>Parte aérea</b>	59,4	59,5	60,7	NS (0,883)	58,5	58,4	60,3	NS (0,394)
Raíz fibrosa	19,1	18,4	17,5	NS (0,568)	21,0	20,7	18,6	NS (0,251)
Raíz gruesa	21,5	22,1	21,8	NS (0,864)	20,5	20,9	21,1	NS (0,899)
<b>Sistema radical</b>	40,6	40,5	39,3	NS (0,883)	41,5	41,6	39,7	NS (0,394)
<b>PLANTA</b>	100,0	100,0	100,0		100,0	100,0	100,0	

Órgano/Planta	FINAL CAÍDA FISIOLÓGICA (JULIO)				MADUREZ FRUTO (ENERO)			
	A	B	C	ANOVA	A	B	C	ANOVA
Fruto	2,7	3,0	3,2	NS (0,611)	12,6	9,0	14,2	NS (0,249)
Cáliz + pedúnculo	0,1	0,1	0,1	NS (0,716)	0,1	<0,1	0,1	NS (0,068)
Total fruto	2,8	3,1	3,3	NS (0,598)	12,7	9,0	14,3	NS (0,248)
Hojas otoño					1,9	1,4	1,5	NS (0,831)
Hojas verano	9,5a	12,1a	3,4b	** (0,006)	16,8	14,1	12,6	NS (0,300)
Hojas primavera	8,2	7,4	13,9	NS (0,185)	5,9b	9,6a	9,0a	* (0,036)
Hojas jóvenes	17,7	19,5	17,3	NS (0,681)	24,6	25,1	23,1	NS (0,589)
Ramas otoño					0,4	0,4	0,4	NS (0,942)
Ramas verano	0,7	0,7	0,3	NS (0,211)	2,2	2,0	1,3	NS (0,150)
Ramas primavera	2,2ab	1,7b	3,3a	* (0,033)	1,7	2,1	2,2	NS (0,637)
Ramas jóvenes	2,9	2,4	3,6	NS (0,177)	4,3	4,5	3,9	NS (0,528)
<b>Órganos jóvenes</b>	23,4	25,0	24,2	NS (0,893)	41,6	38,6	41,3	NS (0,187)
Hojas viejas	19,9	17,9	17,9	NS (0,636)	8,6	10,2	10,8	NS (0,248)
Ramas viejas c/h	5,6b	7,0a	7,5a	** (0,006)	5,4	7,1	5,9	NS (0,256)
Ramas viejas s/h	4,7	5,2	5,2	NS (0,495)	5,5a	5,0ab	3,6b	* (0,049)
Ramas viejas	10,3b	12,2a	12,7a	* (0,030)	10,9ab	12,1a	9,5b	* (0,053)
Tronco	6,8	7,4	6,5	NS (0,674)	5,9	5,7	5,0	NS (0,447)
<b>Órganos viejos</b>	37,0	37,5	37,1	NS (0,978)	25,4	28,0	25,3	NS (0,227)
<b>Parte aérea</b>	60,4	62,5	61,3	NS (0,771)	67,0	66,6	66,6	NS (0,942)
Raíz fibrosa	19,7	18,4	20,2	NS (0,462)	17,1	19,5	19,7	NS (0,121)
Raíz gruesa	19,9	19,1	18,5	NS (0,805)	15,9a	13,9b	13,6b	* (0,045)
<b>Sistema radical</b>	39,6	37,5	38,7	NS (0,771)	33,0	33,4	33,4	NS (0,942)
<b>PLANTA</b>	100,0	100,0	100,0		100,0	100,0	100,0	

<sup>2</sup>: Distribución relativa (%) = N órgano (mg) x 100 / N total árbol (mg) <sup>3</sup>: Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta octubre. <sup>x</sup>: ANOVA, diferencias significativas para P≤0,05 (\*); P≤0,01 (\*\*). y no significativas para P>0,05 (NS); entre paréntesis se indica el P-valor. <sup>w</sup>: Cada valor es la media de 3 árboles. <sup>v</sup>: Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas (P<0,05) según el test LSD-Fisher. <sup>u</sup>: Ramas del ciclo anterior con hojas. <sup>t</sup>: Ramas del ciclo anterior sin hojas.

Martínez (2003) aplicó a finales de marzo una dosis puntual de 30 g de N en forma de sulfato amónico o nitrato potásico a naranjos Valencia Late de 3 años cultivados en un suelo arenoso y en otro franco. La distribución del N en las plantas extraídas en mayo dependió del tipo de suelo en el que fue aplicado, siendo del 71% en la parte aérea y 29% en el sistema radical en el suelo arenoso, frente al 74% y 26% para las plantas cultivadas en suelo franco. En la última extracción (noviembre) la distribución relativa entre parte aérea y sistema radical en ambos suelos mantuvo una tendencia similar a la observada en la extracción de mayo. Dichos porcentajes son ligeramente superiores a los obtenidos en este ensayo, probablemente debido a la distinta pauta de aplicación del N. Otros autores presentan resultados similares, Menino *et al.* (2007) en naranjos Lane Late jóvenes sin producción cultivados en campo, determinaron que el 76% del N se acumuló en la parte aérea al final del ciclo. Las hojas jóvenes acumularon el 45% del N presente en el árbol, mientras que las hojas viejas concentraron el 4% del total y el tronco un 5%. Se observa que la proporción de N acumulado en las hojas jóvenes es considerablemente mayor a la determinada en el presente ensayo, ya que se trataba de plantas sin producción.

Las distintas distribuciones del N aplicado apenas alteraron la pauta de acumulación del N en los órganos de la planta hasta la extracción realizada al final de la caída fisiológica. Las escasas diferencias encontradas en la acumulación de N en los distintos órganos según tratamientos, no parecen tener una pauta consistente asociada al mayor o menor aporte de N realizado según la distribución. Sin embargo, en la extracción realizada en madurez del fruto, la aplicación tardía del grueso de la dosis de N (distribución A) supuso una mayor acumulación del N en los órganos leñosos, concretamente en ramas viejas y raíz gruesa, que en los árboles que siguieron la distribución C; mientras que las hojas de primavera presentaron la tendencia opuesta como consecuencia de la menor biomasa de esta brotación en los árboles de A.

Kubota *et al.* (1974b), a diferencia del presente ensayo, describen un comportamiento diferencial en la pauta de distribución de N entre los distintos órganos en función de los aportes diferenciales a lo largo del ciclo. Así, al retrasar la aplicación de las dosis altas de N (BAA) obtuvieron una mayor acumulación del N en la parte aérea (62%) que con la aplicación temprana (AAB) de éstas (51%). En todos los casos las hojas de verano acumularon la mayor proporción de N de la planta, ya que se trató de plantas sin fruto. Las diferencias respecto a este estudio, podrían deberse al hecho de que estos autores no aplicaron una misma dosis al final del ciclo, si no que variaron las concentraciones de la solución nutritiva en los distintos periodos. Sin embargo, estos autores encontraron una mayor acumulación de N en los órganos leñosos de los tratamientos BAB que en los de

ABB, que se corresponderían con las distribuciones A y C, respectivamente, del presente ensayo.

En árboles adultos, los valores de distribución relativa del N en los órganos de la planta difieren de los observados en plantas jóvenes. Los valores dependen no sólo de la edad del arbolado, sino de la cuantía de la producción, la biomasa de las nuevas brotaciones y las condiciones de cultivo. Cameron y Appelman (1933) hallaron, en naranjos Valencia Late de 10 años, porcentajes del 17% en hojas y de 10% en raíces, notablemente inferiores a los descritos en este estudio. Sin embargo, Nadir (1974) obtuvo porcentajes parecidos en frutos (19%), hojas (29%) y tronco (6%), muy superiores en ramas (29%) y menores en raíces (13%) de naranjos Washington Navel de 21 años. Feigenbaum *et al.* (1987) encontraron porcentajes muy superiores en tronco y ramas (43%) en naranjos Shamouti de 22 años, y valores inferiores en el total de las hojas (20%). En general, se observa que los árboles adultos acumulan proporcionalmente más N en los órganos leñosos, debido a la mayor biomasa que éstos representan respecto al total del árbol, en comparación con los árboles jóvenes.

#### 4.1.1.4 Porcentaje de $^{15}\text{N}$ en exceso

En la tabla 15 se muestran los valores de enriquecimiento en el isótopo  $^{15}\text{N}$ , expresado como porcentaje sobre el total de N en los órganos de la planta, en los distintos arranques realizados a lo largo del ciclo. El enriquecimiento en  $^{15}\text{N}$ , también denominado  $^{15}\text{N}$  en exceso, se obtiene por diferencia entre el valor analítico obtenido por espectrometría de masas con respecto al valor estándar de la abundancia natural de este isótopo en la atmósfera (0,366%; Junk y Svec, 1958; Mariotti, 1983).

Con independencia de la pauta de distribución del abonado, se observó claramente que los árboles se enriquecieron en  $^{15}\text{N}$  de forma progresiva como consecuencia del aporte continuo del isótopo a lo largo del ciclo. Las mayores concentraciones, superiores al 3%, se alcanzaron en los órganos jóvenes (frutos y hojas/ramas de brotación de verano y otoño) en la última extracción. Este enriquecimiento indica que el efecto de dilución isotópica ha sido bajo, considerando que la fuente de  $^{15}\text{N}$  se encontraba enriquecida al 5%. En todas las extracciones realizadas el enriquecimiento de los órganos jóvenes fue considerablemente mayor que el de los viejos y el sistema radical (Figura 7).

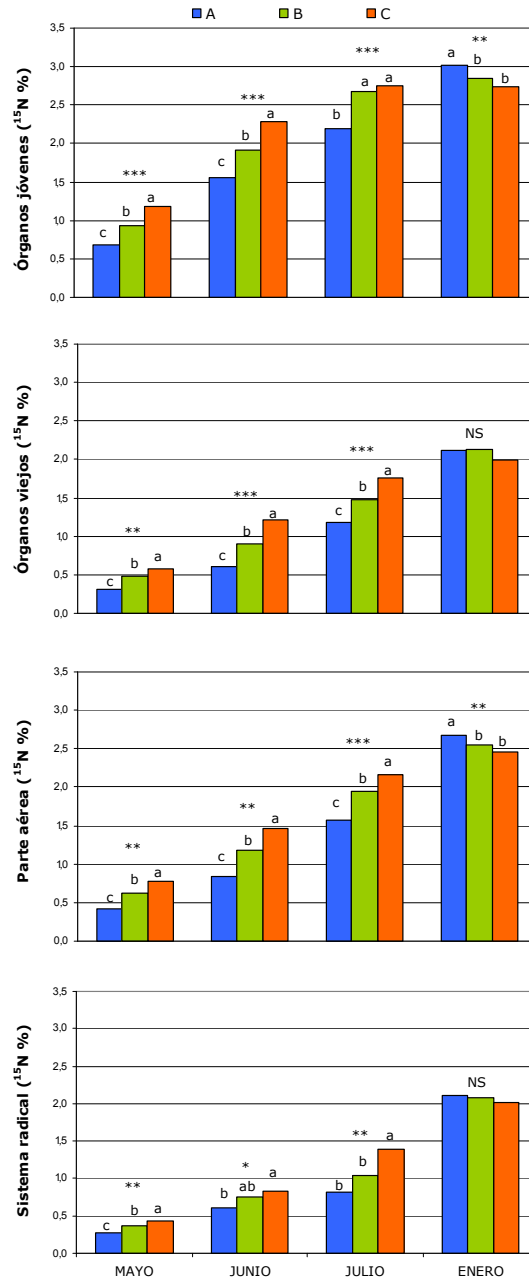
**Tabla 15.** Enriquecimiento en  $^{15}\text{N}^z$  del N presente en los distintos órganos de las plantas correspondientes a las distribuciones estacionales del N aplicado (A, B y C)<sup>y</sup> en los principales momentos fenológicos en el ensayo de absorción.

Órgano/Planta	FLORACIÓN (MAYO)				CUAJADO (JUNIO)			
	A	B	C	ANOVA <sup>x</sup>	A	B	C	ANOVA
Fruto					1,65 c	1,91 b	2,17 a	*** (0,001)
Cáliz + pedúnculo					1,30 c	1,58 b	2,00 a	** (0,003)
Total flor/fruto	0,62 <sup>w</sup> c <sup>v</sup>	0,89 b	1,13 a	** (0,003)	1,63 c	1,88 b	2,15 a	*** (<0,001)
Hojas primavera	0,76 c	1,02 b	1,29 a	** (0,002)	1,61 c	2,02 b	2,42 a	*** (<0,001)
Ramas primavera	0,57 c	0,74 b	0,91 a	** (0,010)	1,16 c	1,40 b	1,79 a	*** (<0,001)
Hojas viejas	0,34 b	0,52 a	0,62 a	* (0,020)	0,64 c	0,95 b	1,35 a	*** (<0,001)
Ramas viejas c/h <sup>u</sup>	0,39 b	0,58 a	0,63 a	** (0,010)	0,74 c	1,04 b	1,37 a	*** (<0,001)
Ramas viejas s/h <sup>t</sup>	0,28 b	0,40 ab	0,50 a	* (0,021)	0,64 b	0,82 a	0,91 a	** (0,006)
Ramas viejas <sup>s</sup>	0,34 b	0,51 a	0,58 a	** (0,005)	0,70 c	0,97 b	1,22 a	*** (0,001)
Tronco	0,22 c	0,31 b	0,39 a	** (0,014)	0,43 b	0,64 a	0,77 a	** (0,008)
Raíz fibrosa	0,39 c	0,53 b	0,64 a	** (0,005)	0,82 b	0,97 ab	1,06 a	* (0,021)
Raíz gruesa	0,15 b	0,23 ab	0,28 a	* (0,050)	0,39 b	0,54 ab	0,64 a	* (0,046)
PLANTA <sup>s</sup>	0,36 c	0,52 b	0,64 a	** (0,004)	0,75 c	1,00 b	1,21 a	** (0,007)
Joven caído <sup>r</sup>	0,33 c	0,41 b	0,69 a	*** (<0,001)	0,53 c	0,73 b	1,15 a	*** (<0,001)
Hojas viejas caídas	0,16 c	0,21 b	0,31 a	** (0,003)	0,16 c	0,25 b	0,33 a	*** (0,001)
TOTAL PLANTA <sup>s</sup>	0,35 c	0,50 b	0,64 a	** (0,003)	0,69 c	0,93 b	1,18 a	** (0,002)

Órgano/Planta	FINAL CAÍDA FISIOLÓGICA (JULIO)				MADUREZ FRUTO (ENERO)			
	A	B	C	ANOVA	A	B	C	ANOVA
Fruto	2,32 c	2,67 b	2,96 a	*** (0,001)	3,10 a	2,67 b	2,58 b	*** (0,001)
Cáliz + pedúnculo	2,15 c	2,58 b	2,77 a	*** (0,001)	2,83	2,87	2,66	NS (0,278)
Total fruto	2,32 c	2,67 b	2,95 a	*** (<0,001)	3,10 a	2,67 b	2,58 b	*** (<0,001)
Hojas otoño					3,29 a	3,12 ab	2,95 b	* (0,050)
Hojas verano	2,45 c	2,93 b	3,15 a	*** (<0,001)	3,15 a	3,11 a	2,99 b	* (0,041)
Hojas primavera	1,94 c	2,35 b	2,69 a	*** (<0,001)	2,46	2,57	2,62	NS (0,225)
Hojas jóvenes <sup>s</sup>	2,21 b	2,71 a	2,78 a	*** (<0,001)	2,99	2,91	2,84	NS (0,189)
Ramas otoño					3,30 a	3,07 b	2,94 c	*** (0,001)
Ramas verano	2,32 c	2,80 b	2,94 a	*** (<0,001)	3,23 a	3,03 b	2,85 c	*** (0,001)
Ramas primavera	1,76 c	2,16 b	2,42 a	*** (<0,001)	2,55	2,59	2,58	NS (0,503)
Ramas jóvenes <sup>s</sup>	1,90 b	2,34 a	2,46 a	*** (0,001)	2,97 a	2,82 b	2,71 b	** (0,011)
Hojas viejas	1,35 c	1,65 b	1,92 a	*** (0,001)	2,13	2,14	2,18	NS (0,646)
Ramas viejas c/h	1,49 c	1,88 b	2,24 a	*** (<0,001)	2,46 ab	2,61 a	2,30 b	* (0,050)
Ramas viejas s/h	1,07 c	1,41 b	1,61 a	*** (<0,001)	2,37 a	2,22 b	1,98 c	*** (<0,001)
Ramas viejas <sup>s</sup>	1,30 c	1,68 b	1,98 a	*** (<0,001)	2,41 a	2,45 a	2,18 b	* (0,022)
Tronco	0,52 c	0,70 b	0,89 a	*** (0,001)	1,58 a	1,47 a	1,26 b	** (0,002)
Raíz fibrosa	1,16 b	1,44 b	1,86 a	** (0,010)	2,41 a	2,36 ab	2,26 b	* (0,048)
Raíz gruesa	0,48 b	0,65 b	0,86 a	** (0,011)	1,78	1,70	1,65	NS (0,138)
PLANTA <sup>s</sup>	1,27 c	1,61 b	1,86 a	** (0,002)	2,49 a	2,39 b	2,31 c	** (0,004)
Joven caído	0,66 b	0,84 b	1,27 a	** (0,004)	0,60 b	1,04 a	1,41 a	** (0,004)
Hojas viejas caídas	0,17 c	0,26 b	0,34 a	*** (<0,001)	0,17 c	0,26 b	0,37 a	*** (0,001)
TOTAL PLANTA <sup>s</sup>	1,14 c	1,44 b	1,74 a	*** (0,001)	2,24	2,20	2,17	NS (0,463)

<sup>z</sup>: Enriquecimiento  $^{15}\text{N}$  (%) = % átomos  $^{15}\text{N}$  en órgano - 0,366% átomos  $^{15}\text{N}$  en exceso (valor abundancia natural)  
<sup>y</sup>: Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta octubre. <sup>x</sup>: ANOVA, diferencias significativas para  $P \leq 0,05$  (\*);  $P \leq 0,01$  (\*\*) y  $P \leq 0,001$  (\*\*\*) y no significativas para  $P > 0,05$  (NS); entre paréntesis se indica el P-valor. <sup>w</sup>: Cada valor es la media de 3 árboles. <sup>v</sup>: Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) según el test LSD-Fisher. <sup>u</sup>: Ramas del ciclo anterior con hojas. <sup>t</sup>: Ramas del ciclo anterior sin hojas. <sup>s</sup>: Enriquecimiento promedio ponderado. <sup>r</sup>: Incluye botón floral, pétalos, cálices y frutos abortados caídos.



**Figura 7.** Enriquecimiento en <sup>15</sup>N del N contenido en el conjunto de órganos jóvenes<sup>Z</sup>, viejos<sup>Y</sup>, parte aérea y sistema radical de los árboles extraídos a lo largo del segundo año del ensayo de absorción. Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta final octubre.

<sup>Z</sup>: Órganos jóvenes en extracción en mayo: estructuras reproductivas y hojas y ramas de la brotación de primavera. En junio: frutos cuajados y hojas y ramas de la brotación de primavera. En julio: frutos en desarrollo, hojas y ramas de las brotaciones de primavera y verano. En enero: frutos maduros, hojas y ramas de las brotaciones de primavera, verano y otoño. <sup>Y</sup>: Órganos viejos incluyen las ramas y hojas de las brotaciones del ciclo anterior, ramas leñosas sin hojas y tronco. ANOVA, diferencias significativas para P≤0,05 (\*); P≤0,01 (\*\*); P≤0,001 (\*\*\*) y no significativas para P>0,05 (NS). Letras distintas en una misma extracción indican diferencias significativas (P<0,05) según el test LSD-Fisher.



La tendencia descrita ha sido ampliamente confirmada, ya que son numerosos los trabajos en los que se detalla que los tejidos en desarrollo actúan como sumidero del N, siendo las hojas jóvenes en desarrollo y los frutos el principal destino del  $^{15}\text{N}$  aplicado (Wallace *et al.*, 1954; Akao *et al.*, 1978a,b; Legaz *et al.*, 1982, Legaz y Primo-Millo, 1984; Kato *et al.*, 1986; Dasberg, 1987). Dentro de los órganos jóvenes la pauta general de enriquecimiento varió ligeramente a lo largo del ciclo; de acuerdo con Mooney y Richardson (1994) el potencial sumidero de los distintos órganos jóvenes depende de la temperatura del suelo; así, a mayor temperatura de éste, incrementa el potencial como sumidero de los órganos vegetativos en ligero detrimento de los reproductivos. Durante floración y cuajado las hojas de primavera mostraron los mayores enriquecimientos, al ser los principales sumideros de estos periodos. Kato *et al.* (1981) y Legaz *et al.* (1982) comprobaron el mayor potencial como sumidero de las hojas de la brotación de primavera en sus primeras fases de desarrollo. Posteriormente, al final de la caída fisiológica y madurez del fruto, las hojas de primavera apenas incrementaron su concentración en  $^{15}\text{N}$ , mientras que los frutos y las brotaciones de verano y otoño, alcanzaron los mayores enriquecimientos. De acuerdo con Legaz *et al.* (1982), las hojas de primavera actuarían como fuente de N para el desarrollo de los frutos y brotaciones posteriores.

Los órganos leñosos presentaron los menores valores de enriquecimiento, especialmente el tronco y la raíz gruesa (Tabla 15). La raíz fina, claramente más enriquecida que la gruesa, mantuvo una tendencia creciente a lo largo de todo el ciclo. Se observó asimismo un gradiente creciente en los enriquecimientos en  $^{15}\text{N}$  desde la raíz gruesa hasta los órganos jóvenes de la parte aérea correspondientes a las últimas brotaciones, que evidencia el transporte del isótopo desde la fuente hasta los sumideros, donde se acumula.

Estas diferencias en los enriquecimientos de los órganos de la planta, ha sido ampliamente estudiada en cítricos jóvenes (Kubota *et al.*, 1972a,b; Legaz *et al.*, 1981; Legaz y Primo-Millo, 1984; Mooney y Richardson, 1994; Martínez *et al.*, 2002) y adultos (Kubota *et al.*, 1976a,b; Feigenbaum *et al.*, 1987; Quiñones *et al.*, 2003a, 2005).

El análisis estadístico del efecto de la distribución estacional de la dosis de N aportada sobre el enriquecimiento en  $^{15}\text{N}$  de los órganos de la planta revela diferencias significativas en la práctica totalidad de los órganos, en cada una de las extracciones realizadas (Tabla 15). En las llevadas a cabo hasta el final de la caída fisiológica se observa que, de forma general, las curvas de distribución estacional del  $^{15}\text{N}$  aplicado provocaron un enriquecimiento significativamente creciente ( $A < B < C$ ) en  $^{15}\text{N}$  en el total de la planta. Durante la floración y cuajado del fruto estas diferencias entre los tres tratamientos fueron

significativas en los órganos jóvenes, viejos y sistema radical, así como en los órganos caídos. Sin embargo, en la extracción realizada al final de la caída fisiológica, mientras que la totalidad de la planta presenta esta misma tendencia, los órganos jóvenes (Figura 7) de las plantas que recibieron el N de acuerdo con las distribuciones B y C presentaron, en cambio, en promedio un enriquecimiento similar, sin que se pueda atribuir a ningún órgano en concreto ya que es el promedio de hojas y ramas jóvenes en las que se iguala esta tendencia. En el sistema radical en cambio, los árboles de la distribución A y B mostraron enriquecimientos similares e inferiores a los de la curva de aplicación C.

Los mayores enriquecimientos observados con la curva de distribución C son debidos a que, si bien todo el fertilizante aplicado presentó un mismo enriquecimiento (5%  $^{15}\text{N}$  en exceso), la cantidad aplicada de éste hasta el momento fue mayor en la distribución C. Así, al final de la caída fisiológica, los árboles de la distribución C habían recibido desde el inicio del ciclo 937,5 mg  $^{15}\text{N}$ , frente a los 625,0 y 312,5 mg aportados en las distribuciones B y A respectivamente, lo que originó un enriquecimiento diferencial de los distintos órganos de la planta.

Este marcado diferencial se observó claramente desde el inicio del ciclo, de modo que el botón floral, pétalos y flores caídas, alcanzó un enriquecimiento diferencial (0,33; 0,41 y 0,69% para A, B y C). La rápida respuesta a las dosis crecientes de  $^{15}\text{N}$  es lógica si se considera que Kubota *et al.* (1976a,b) observaron  $^{15}\text{N}$  en las raíces finas y hojas de un Satsuma adulto al día siguiente de aplicar el trazador a mediados de junio y tan sólo a los 3 y 7 días respectivamente si se aplicaba a mediados de marzo.

En la extracción realizada al final del ciclo en madurez del fruto, cuando se hubo aplicado la totalidad del abono marcado, se observó que la distribución estacional del fertilizante afectó significativamente al enriquecimiento del total de la planta (Tabla 15). La tendencia observada fue, al igual que sucedió con el %N, inversa a la observada en las extracciones a lo largo del ciclo cuando el aporte de N fue parcial. De modo que el aporte tardío del grueso de la dosis de  $^{15}\text{N}$  (distribución A), llevó asociado un mayor enriquecimiento en este isótopo del total de la planta. Por el contrario, el aporte temprano del grueso (distribución C) de la dosis de  $^{15}\text{N}$  supuso un menor enriquecimiento de las plantas. Con la distribución simétrica B el enriquecimiento (2,39%) fue intermedio al observado con A y C (2,49 y 2,31% respectivamente). Cabe destacar, que las hojas de la brotación de verano de los tres tratamientos invirtieron la tendencia en su enriquecimiento al final del ciclo, como consecuencia del cambio asociado a las distribuciones de  $^{15}\text{N}$ . Así, mientras que las plantas recibieron hasta el final de la caída fisiológica las cantidades expuestas anteriormente, en

el periodo desde ésta hasta el final del ciclo de abonado (octubre) recibieron los 937,5; 625,0 y 312,5 mg  $^{15}\text{N}$  restantes con las distribuciones A, B y C, respectivamente. Las hojas y ramas de la brotación de primavera y las hojas viejas, en cambio, mantuvieron una pauta similar en sus enriquecimientos durante todas las extracciones. Esta diferencia en el comportamiento se debería tanto a que estos órganos tienen un menor efecto sumidero en el momento en que cambió la pauta de distribución del abonado (desde el final de la caída fisiológica), como al hecho de que éstos se comportan como fuente de N para la brotación de otoño y el desarrollo de los frutos. De acuerdo con Legaz *et al.* (1981) al no ser un sumidero tan importante como las hojas de las brotaciones y frutos en desarrollo, no estarían sujetas tan fuertemente a la variabilidad en los aportes de  $^{15}\text{N}$  realizados desde el final de la caída fisiológica hasta madurez. Según estos autores los máximos enriquecimientos en  $^{15}\text{N}$  de las hojas de primavera y viejas se obtienen cuando el fertilizante se aplica durante la floración y especialmente durante el cuajado; a partir de entonces la aplicación de  $^{15}\text{N}$  conllevaría enriquecimientos menores de éstas como consecuencia de su menor potencial sumidero.

La bibliografía recoge numerosos trabajos en los que se aborda el estudio de la absorción de N por cítricos en los distintos momentos del ciclo; éstos se basan en el aporte de manera puntual o durante breves periodos de tiempo de un abono enriquecido con  $^{15}\text{N}$  y la posterior extracción de las plantas marcadas (Kubota *et al.*, 1972a,b; Kubota *et al.*, 1976a,b; Akao *et al.*, 1978a,b; Martínez *et al.*, 2002). Sin embargo, son escasos los estudios en los que se realiza el marcado con  $^{15}\text{N}$  durante todo un ciclo. En una experiencia de marcado continuo con  $^{15}\text{N}$  desde febrero a enero del ciclo siguiente en naranjos Valencia de 4 años, Legaz y Primo-Millo (1988a) observaron en las diferentes extracciones realizadas a lo largo del ciclo un enriquecimiento creciente en todos los órganos, así como un mayor enriquecimiento en órganos jóvenes, especialmente frutos. Quiñones (2002) en una experiencia en árboles adultos en suelo, comparó la distribución de un fertilizante marcado siguiendo una curva similar a la distribución B de este ensayo, en la que los máximos aportes se realizaron en los meses de junio y julio, y otra en la que se aplicó una solución nutritiva de concentración constante, por lo que de acuerdo con la evapotranspiración, los máximos aportes se realizaron en los meses de mayor demanda hídrica (julio, agosto y en menor medida septiembre y octubre). La última distribución conllevó el aporte de una dosis mucho más retrasada. En la extracción de los árboles al final del ciclo, se encontró un mayor enriquecimiento en  $^{15}\text{N}$  en los frutos, tronco y sistema radical de los árboles que recibieron un aporte más tardío del fertilizante; sin embargo, el resto de los órganos presentó enriquecimientos inferiores. Las diferencias con respecto a los resultados del presente ensayo se deberían a que el aporte tardío de N de este autor fue aún más retrasado que el asociado a la curva A. Martínez (2003), en un estudio en

naranjos Valencia late de 3 años, comparó la aplicación de una dosis de nitrato potásico marcado aplicado en primavera (26 de marzo) y la misma dosis aplicada en verano (26 de julio) en un suelo franco; las plantas se extrajeron al final del ciclo (noviembre). Si bien se trató de aplicaciones puntuales del abono, se podría asemejar a una distribución en la que el grueso del aporte correspondería al momento de la aplicación, que posteriormente iría disminuyendo con el tiempo al ser decrecientes las cantidades residuales de  $^{15}\text{N}$  presentes en el suelo. La extracción de las plantas al final del ciclo en noviembre, puso de manifiesto que los árboles que recibieron el aporte en verano, presentaban un enriquecimiento en el total de la planta mayor que aquellos que lo recibieron fundamentalmente de forma temprana en primavera. Estos resultados se corresponderían con los obtenidos en el presente ensayo, ya que como se ha visto, el retraso en la aplicación del grueso de la dosis (distribución A) produjo enriquecimientos mayores en la totalidad de los órganos.

#### 4.1.1.5 Contenido en N absorbido del fertilizante

En la tabla 16 se presentan los valores de N absorbido por las plantas procedente del fertilizante (mg) en las distintas extracciones realizadas a lo largo del ciclo. Mediante este parámetro se cuantifica el N presente en cada órgano que procede directamente del fertilizante; el resto del N provendrá de otras fuentes (reservas en la planta del ciclo anterior, suelo y agua de riego).

De forma general se observa que a lo largo del ciclo los árboles incrementaron el contenido en N absorbido, como consecuencia del aporte estacional continuo. En las extracciones realizadas hasta el final de caída fisiológica los árboles acumularon cantidades crecientes de N procedente del fertilizante como consecuencia de las diferentes dosis aplicadas con las distribuciones. Hasta este momento, las distribuciones A, B y C supusieron un aporte acumulado diferencial de 6,25; 12,5 y 18,75 g de N respectivamente; por lo que las cantidades absorbidas crecieron simultáneamente con estos aportes. Esto originó diferencias significativas en el contenido de N procedente del fertilizante en la práctica totalidad de los órganos tanto de la parte aérea como del sistema radical (Figura 8), y por tanto en el conjunto de las plantas. Es importante destacar que los incrementos en la absorción no fueron paralelos a las cantidades aportadas con las distribuciones diferenciales. Concretamente, la dosis suministrada con la curva C hasta final de la caída fisiológica triplicó la aplicada con la curva de distribución A; sin embargo, la cantidad de N absorbida por los árboles con C es sólo 1,8 veces superior a la absorbida por los de A.

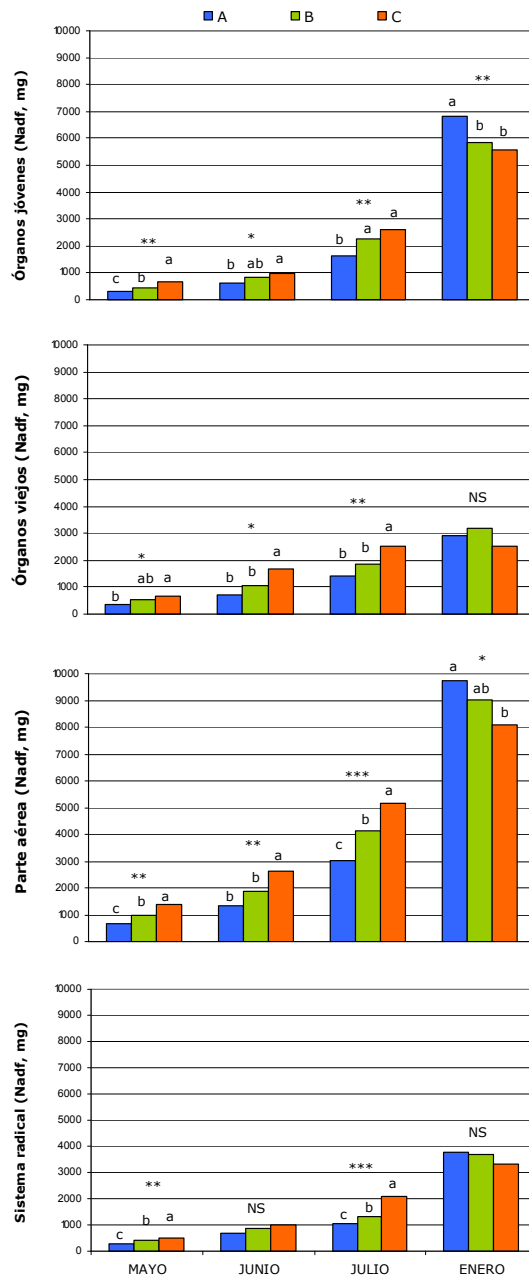
**Tabla 16.** Contenido en N absorbido del fertilizante<sup>Z</sup> (Nadf) en los distintos órganos y en el total de las plantas correspondientes a las distribuciones estacionales del N aplicado (A, B y C)<sup>Y</sup> en los principales momentos fenológicos en el ensayo de absorción.

Órgano/Planta	FLORACIÓN (MAYO)				CUAJADO (JUNIO)			
	A	B	C	ANOVA <sup>X</sup>	A	B	C	ANOVA
Fruto					59,2b	87,3ab	101,8a	* (0,031)
Cáliz + pedúnculo					4,1b	7,0ab	10,1a	* (0,056)
Total flor/fruto	103,7 <sup>W</sup> c	181,6b	271,3a	** (0,002)	63,3b	94,3ab	111,9a	* (0,044)
Hojas primavera	178,3b	232,5b	352,4a	* (0,030)	486,5	663,3	733,2	NS (0,198)
Ramas primavera	31,9b	44,8ab	59,2a	* (0,047)	59,6b	84,8ab	124,0a	* (0,044)
Hojas viejas	206,7b	329,5ab	432,9a	* (0,057)	379,1b	584,7b	996,0a	* (0,030)
Ramas viejas c/h <sup>U</sup>	59,1b	102,0a	112,2a	* (0,029)	142,6b	219,6b	356,1a	** (0,012)
Ramas viejas s/h <sup>T</sup>	30,2	38,1	59,5	NS (0,280)	84,8	86,2	114,5	NS (0,124)
Ramas viejas	89,3b	140,1ab	171,8a	** (0,048)	227,4b	305,8b	470,6a	** (0,014)
Tronco	51,5	62,8	78,1	NS (0,117)	111,1b	151,9b	198,4a	* (0,022)
Raíz fibrosa	199,1c	260,9b	326,8a	** (0,015)	460,0	554,5	590,0	NS (0,478)
Raíz gruesa	85,6b	139,4a	177,8a	* (0,022)	211,9b	309,7ab	409,6a	* (0,054)
<b>PLANTA</b>	946,1c	1.391,6b	1.870,2a	** (0,008)	1.998,9c	2.749,0b	3.633,7a	* (0,031)
Joven caído <sup>S</sup>	133,3b	156,1ab	165,9a	* (0,042)	348,3	490,3	641,9	NS (0,122)
Hojas viejas caídas	8,2b	9,3b	15,5a	* (0,037)	11,5b	22,6ab	31,7a	* (0,034)
<b>TOTAL PLANTA</b>	1.087,6c	1.557,0b	2.051,6a	** (0,008)	2.358,7b	3.261,9ab	4.307,3a	* (0,025)

Órgano/Planta	FINAL CAÍDA FISIOLÓGICA (JULIO)				MADUREZ FRUTO (ENERO)			
	A	B	C	ANOVA	A	B	C	ANOVA
Fruto	202,8b	275,4ab	371,0a	* (0,053)	2.114,3	1.277,6	1.813,8	NS (0,139)
Cáliz + pedúnculo	3,5b	5,1ab	7,0a	* (0,021)	8,7	6,3	9,9	NS (0,206)
Total fruto	206,3b	280,5ab	378,0a	* (0,055)	2.123,0	1.283,8	1.823,7	NS (0,139)
Hojas otoño					338,8	240,6	218,3	NS (0,657)
Hojas verano	741,5b	1.206,0a	420,0b	** (0,005)	2.867,4	2.333,8	1.865,2	NS (0,178)
Hojas primavera	508,6b	594,7b	1.458,1a	** (0,014)	786,9	1.311,0	1.167,5	NS (0,178)
Hojas jóvenes	1.250,1b	1.800,7a	1.878,1a	** (0,014)	3.993,1	3.885,3	3.251,0	NS (0,265)
Ramas otoño					80,2	58,4	55,5	NS (0,788)
Ramas verano	53,2	64,5	32,6	NS (0,351)	381,9a	325,3ab	182,3b	* (0,047)
Ramas primavera	123,5b	127,9b	307,0a	** (0,009)	238,3	290,5	276,8	NS (0,716)
Ramas jóvenes	176,7b	192,4b	339,6a	** (0,010)	700,4	674,2	514,6	NS (0,260)
Hojas viejas	860,1b	1.003,2ab	1.332,8a	* (0,044)	994,4	1.154,5	1.164,6	NS (0,616)
Ramas viejas c/h	269,2c	446,7b	657,4a	*** (<0,001)	719,7	990,9	676,1	NS (0,171)
Ramas viejas s/h	160,4c	251,2b	328,5a	*** (0,001)	703,3a	591,1a	356,1b	* (0,020)
Ramas viejas	429,6c	697,9b	985,9a	*** (<0,001)	1.423,0a	1.582,0a	1.032,2b	* (0,028)
Tronco	113,4b	175,2a	223,9a	** (0,011)	504,6a	443,8a	313,6b	** (0,003)
Raíz fibrosa	738,5b	897,8b	1.459,5a	** (0,002)	2.226,9	2.439,6	2.220,7	NS (0,633)
Raíz gruesa	304,8c	418,4b	620,8a	*** (<0,001)	1.540,2a	1.251,3ab	1.111,9b	* (0,030)
<b>PLANTA</b>	4.079,5c	5.466,1b	7.218,6a	*** (<0,001)	13.505,6a	12.714,7ab	11.432,2b	* (0,047)
Joven caído	474,5b	658,4ab	857,2a	* (0,026)	453,7b	738,7ab	905,1a	* (0,037)
Hojas viejas caídas	12,0b	25,3b	35,8a	** (0,008)	12,2c	25,4b	35,7a	*** (0,001)
<b>TOTAL PLANTA</b>	4.566,0c	6.149,8b	8.111,6a	*** (<0,001)	13.971,5	13.478,8	12.373,0	NS (0,197)

<sup>Z</sup>: Nadf (mg) = <sup>15</sup>N órgano (mg) x 100 / 5% átomos <sup>15</sup>N en exceso en el fertilizante) <sup>Y</sup>: Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta octubre. <sup>X</sup>: ANOVA, diferencias significativas para P≤0,05 (\*); P≤0,01 (\*\*) y P≤0,001 (\*\*\*) y no significativas para P>0,05 (NS); entre paréntesis se indica el P-valor. <sup>W</sup>: Cada valor es la media de 3 árboles. <sup>V</sup>: Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas (P<0,05) según el test LSD-Fisher. <sup>U</sup>: Ramas del ciclo anterior con hojas. <sup>T</sup>: Ramas del ciclo anterior sin hojas. <sup>S</sup>: Incluye botón floral, pétalos, cálices y frutos abortados caídos.



**Figura 8.** Nitrógeno absorbido del fertilizante (Nadf) por el conjunto de órganos jóvenes<sup>Z</sup>, viejos<sup>Y</sup>, parte aérea y sistema radical de los árboles extraídos a lo largo del segundo año del ensayo de absorción. Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta final octubre.

<sup>Z</sup>: Órganos jóvenes en extracción en mayo: estructuras reproductivas y hojas y ramas de la brotación de primavera; en junio: frutos cuajados y hojas y ramas de la brotación de primavera; en julio: frutos en desarrollo, hojas y ramas de las brotaciones de primavera y verano; en enero: frutos maduros, hojas y ramas de las brotaciones de primavera, verano y otoño. <sup>Y</sup>: Órganos viejos incluyen las ramas y hojas de las brotaciones del ciclo anterior, ramas leñosas sin hojas y tronco. ANOVA, diferencias significativas para P≤0,05 (\*); P≤0,01 (\*\*); P≤0,001 (\*\*\*) y no significativas para P>0,05 (NS). Letras distintas en una misma extracción indican diferencias significativas (P<0,05) según el test LSD-Fisher.

Numerosos estudios confirman la relación directa existente entre las dosis de N aplicadas y la concentración foliar de este elemento (Reuther *et al.*, 1957; Jones y Embleton, 1967; Bañuls *et al.*, 1998, Alva *et al.*, 2003b; Mattos *et al.*, 2006). En las plantas que siguieron la distribución B los valores son intermedios a ambos tratamientos, siendo significativamente diferentes a los demás tratamientos en el total de la planta en las tres primeras extracciones (mayo, junio, julio).

Al igual que en el resto de parámetros, es al final del ciclo en el momento de madurez del fruto, tras aplicar la totalidad del abono con las tres distribuciones, cuando se puede comparar la respuesta de las plantas a las distribuciones estudiadas, sin que el resultado se vea afectado por las dosis diferenciales asociadas a éstas, como ocurre en las extracciones anteriores. Al final del ciclo, se encontró una pauta inversa a la observada en las extracciones realizadas con anterioridad. Los árboles que recibieron el N de acuerdo con la distribución A (máximos aportes en julio y agosto), mostraron un contenido en N procedente del fertilizante significativamente mayor (18%) al de los árboles de la distribución C (máximos aportes en mayo y junio), principalmente como consecuencia de las mayores cantidades de N acumuladas en el total de órganos jóvenes, ramas viejas, tronco y raíz gruesa (Tabla 16). Los árboles de la distribución B (máximos aportes en junio y julio) presentaron un contenido intermedio a ambas distribuciones. Esto concuerda con los resultados obtenidos por otros autores. Legaz y Primo-Millo (1988a) en un ensayo en naranjos Valencia cultivados en arena, mediante el aporte continuo de  $^{15}\text{N}$  y realizando extracciones periódicas durante el ciclo, estudiaron la evolución de la absorción diaria de N. Concretamente, observaron que desde el inicio de la actividad vegetativa hasta la floración (mediados de abril), la absorción diaria de N se mantuvo constante ( $<10 \text{ mg N kg}^{-1}$  p.s. árbol). Posteriormente mostró un marcado incremento alcanzando el máximo de absorción con la brotación de verano ( $95 \text{ mg N}\cdot\text{kg}^{-1}$  p.s. árbol, mediados de julio). Desde este momento hasta latencia (principio de enero) la absorción disminuyó paulatinamente, sin embargo, los valores de absorción diaria en los meses posteriores al máximo (85, 80 y  $70 \text{ mg N}\cdot\text{kg}^{-1}$  p.s. árbol en agosto, septiembre y octubre, respectivamente) fueron superiores a los observados en los meses previos. Kato *et al.* (1981) en un Satsuma adulto cultivado en suelo, obtuvieron resultados similares. La aplicación de un fertilizante marcado con  $^{15}\text{N}$  el 15 julio y la posterior extracción del árbol en noviembre, permitió a estos autores afirmar que entre un 50% y un 70% de la absorción anual de N se realiza en los meses de verano.

Sin embargo, Legaz *et al.* (1981) en un ensayo con periodos de marcado de 18 días en 6 momentos del ciclo en naranjos Valencia cultivados en arena, obtuvieron que los mayores valores de absorción diaria de N se dieron en el cuajado (principio de junio;  $101 \text{ mg N}\cdot\text{kg}^{-1}$

p.s. árbol), seguidos de la brotación de verano (mitad de julio; 45 mg N·kg<sup>-1</sup> p.s.) y floración (final de abril; 41 mg N kg<sup>-1</sup> p.s.). Estas diferencias se deberían a que las mayores temperaturas alcanzadas en la arena en los meses estivales, podrían suponer una inhibición en la actividad de la nitrato reductasa, responsable de la reducción del N (Kato y Kubota, 1982a).

Es importante destacar que la aplicación del 75% de la dosis de forma temprana, en el periodo desde marzo a final de junio (curva C), supuso una absorción de N procedente del fertilizante de 7.218 mg N por planta. Sin embargo, con la aplicación de este 75% de forma tardía, entre el principio de julio y final de octubre (curva A), se alcanzó una absorción de N del fertilizante de 9.426 mg N. Este valor es un 30% superior a la obtenida con la aplicación temprana. Una absorción similar, se obtuvo al comparar la aplicación simétrica del 50% de la dosis en cada unos de estos periodos. La aplicación temprana o tardía de la dosis baja (25%) apenas presentó diferencias en los valores de absorción en ambos periodos, que se situaron en torno a los 4.150 mg N por planta.

En la tabla 17 se muestra la distribución relativa del N absorbido, en los distintos órganos de la planta. En todas las extracciones realizadas a lo largo del ciclo se observó que el N absorbido del fertilizante se dirigió principalmente hacia la parte aérea, donde se acumuló un 70% aproximadamente de este N, quedando el 30% restante en el sistema radical, independientemente de la distribución de fertilizante aplicada.

Estos resultados son similares a los encontrados en la bibliografía consultada. Weinert *et al.* (2002), tras un marcado continuo de naranjos jóvenes Newhall desde marzo a noviembre, al extraer las plantas en diciembre determinaron que el 75% del N absorbido del fertilizante se encontró en la parte aérea, siendo el total de las hojas las que acumularon el grueso de éste (50% del total). Legaz y Primo-Millo (1988a) en naranjos Valencia Late de 4 años cultivados en arena determinaron que el 61% del N absorbido se acumuló en la parte aérea y el 39% restante en el sistema radical.



**Tabla 17.** Distribución relativa del N absorbido del fertilizante<sup>2</sup> entre los distintos órganos de las plantas correspondientes a las distribuciones estacionales del N aplicado (A, B y C)<sup>1</sup> en los principales momentos fenológicos en el ensayo de absorción.

Órgano/Planta	FLORACIÓN (MAYO)				CUAJADO (JUNIO)			
	A	B	C	ANOVA <sup>x</sup>	A	B	C	ANOVA
Fruto					3,0	3,2	2,8	NS (0,836)
Cáliz + pedúnculo					0,2	0,3	0,3	NS (0,385)
Total flor/fruto	11,0 <sup>w</sup>	13,0	14,5	NS (0,184)	3,2	3,5	3,1	NS (0,846)
Hojas primavera	18,8	16,8	18,8	NS (0,508)	24,3	24,1	20,2	NS (0,484)
Ramas primavera	3,4	3,2	3,2	NS (0,815)	3,0	3,1	3,4	NS (0,585)
<b>Órganos jóvenes</b>	33,2	33,0	36,5	NS (0,085)	30,5	30,7	26,7	NS (0,302)
Hojas viejas	21,8	23,7	23,1	NS (0,798)	19,0	21,3	27,3	NS (0,110)
Ramas viejas c/h <sup>u</sup>	6,3	7,3	6,0	NS (0,203)	7,1 <sup>v</sup>	8,0 <sup>ab</sup>	9,8 <sup>a</sup>	* (0,052)
Ramas viejas s/h <sup>t</sup>	3,2	2,7	3,2	NS (0,810)	4,2 <sup>a</sup>	3,1 <sup>b</sup>	3,2 <sup>b</sup>	* (0,050)
Ramas viejas	9,5	10,0	9,2	NS (0,811)	11,3	11,1	13,0	NS (0,254)
Tronco	5,4	4,5	4,2	NS (0,205)	5,6	5,5	5,5	NS (0,965)
<b>Órganos viejos</b>	36,7	38,2	36,5	NS (0,830)	35,9	37,9	45,8	NS (0,141)
<b>Parte aérea</b>	69,9	71,2	73,0	NS (0,349)	66,4	68,6	72,5	NS (0,191)
Raíz fibrosa	21,1	18,8	17,5	NS (0,197)	23,0 <sup>a</sup>	20,2 <sup>ab</sup>	16,2 <sup>b</sup>	* (0,046)
Raíz gruesa	9,0	10,0	9,5	NS (0,700)	10,6	11,2	11,3	NS (0,543)
<b>Sistema radical</b>	30,1	28,8	27,0	NS (0,349)	33,6	31,4	27,5	NS (0,190)
<b>PLANTA</b>	100,0	100,0	100,0		100,0	100,0	100,0	

Órgano/Planta	FINAL CAÍDA FISIOLÓGICA (JULIO)				MADUREZ FRUTO (ENERO)			
	A	B	C	ANOVA	A	B	C	ANOVA
Fruto	5,0	5,0	5,1	NS (0,990)	15,7	10,0	15,9	NS (0,212)
Cáliz + pedúnculo	0,1	0,1	0,1	NS (0,865)	0,1	<0,1	0,1	NS (0,116)
Total fruto	5,1	5,1	5,2	NS (0,988)	15,8	10,1	16,0	NS (0,212)
Hojas otoño					2,5	1,9	1,9	NS (0,831)
Hojas verano	18,2 <sup>a</sup>	22,1 <sup>a</sup>	5,8 <sup>b</sup>	** (0,005)	21,2	18,4	16,3	NS (0,365)
Hojas primavera	12,5	10,9	20,2	NS (0,160)	5,8	10,3	10,2	NS (0,100)
<b>Hojas jóvenes</b>	30,7	33,0	26,0	NS (0,122)	29,5	30,6	28,4	NS (0,732)
Ramas otoño					0,6	0,5	0,5	NS (0,920)
Ramas verano	1,3	1,2	0,5	NS (0,158)	2,8	2,5	1,6	NS (0,127)
Ramas primavera	3,0 <sup>ab</sup>	2,3 <sup>b</sup>	4,3 <sup>a</sup>	* (0,041)	1,8	2,3	2,4	NS (0,458)
<b>Ramas jóvenes</b>	4,3	3,5	4,8	NS (0,198)	5,2	5,3	4,5	NS (0,557)
<b>Órganos jóvenes</b>	40,1	41,6	36,0	NS (0,320)	50,5 <sup>a</sup>	46,0 <sup>b</sup>	48,9 <sup>ab</sup>	* (0,029)
Hojas viejas	21,1	18,4	18,5	NS (0,540)	7,4 <sup>b</sup>	9,1 <sup>ab</sup>	10,2 <sup>a</sup>	* (0,047)
Ramas viejas c/h	6,6 <sup>b</sup>	8,2 <sup>a</sup>	9,1 <sup>a</sup>	* (0,020)	5,3	7,8	5,9	NS (0,183)
Ramas viejas s/h	3,9	4,6	4,6	NS (0,371)	5,2 <sup>a</sup>	4,6 <sup>a</sup>	3,1 <sup>b</sup>	* (0,035)
<b>Ramas viejas</b>	10,5 <sup>b</sup>	12,8 <sup>a</sup>	13,7 <sup>a</sup>	* (0,034)	10,5 <sup>ab</sup>	12,4 <sup>a</sup>	9,0 <sup>b</sup>	* (0,044)
Tronco	2,8	3,2	3,1	NS (0,650)	3,7 <sup>a</sup>	3,5 <sup>ab</sup>	2,7 <sup>b</sup>	* (0,053)
<b>Órganos viejos</b>	34,4	34,4	35,3	NS (0,939)	21,6	25,0	21,9	NS (0,210)
<b>Parte aérea</b>	74,5 <sup>a</sup>	76,0 <sup>a</sup>	71,3 <sup>b</sup>	** (0,004)	72,1	71,0	70,8	NS (0,686)
Raíz fibrosa	18,1 <sup>ab</sup>	16,4 <sup>b</sup>	20,2 <sup>a</sup>	* (0,047)	16,5	19,2	19,5	NS (0,122)
Raíz gruesa	7,4	7,6	8,5	NS (0,374)	11,4 <sup>a</sup>	9,8 <sup>b</sup>	9,7 <sup>b</sup>	* (0,029)
<b>Sistema radical</b>	25,5 <sup>b</sup>	24,0 <sup>b</sup>	28,7 <sup>a</sup>	** (0,004)	27,9	29,0	29,2	NS (0,686)
<b>PLANTA</b>	100,0	100,0	100,0		100,0	100,0	100,0	

<sup>2</sup>: Distribución relativa N<sub>adf</sub> (%) = N<sub>adf</sub> por cada órgano (mg) x 100 / N<sub>adf</sub> por árbol (mg) <sup>1</sup>: Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta octubre. <sup>x</sup>: ANOVA, diferencias significativas para P<0,05 (\*); P<0,01 (\*\*). y no significativas para P>0,05 (NS); entre paréntesis se indica el P-valor. <sup>w</sup>: Cada valor es la media de 3 árboles. <sup>v</sup>: Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas (P<0,05) según el test LSD-Fisher. <sup>u</sup>: Ramas del ciclo anterior con hojas. <sup>t</sup>: Ramas del ciclo anterior sin hojas.

En cuanto a la distribución entre los órganos de la parte aérea del N absorbido, ésta varió en función del momento de la extracción. Así, hasta el final de la caída fisiológica, el N absorbido se repartió por igual entre órganos jóvenes y viejos; aproximadamente el 35% del total en ambos conjuntos de órganos. Sin embargo, al final del ciclo, los órganos jóvenes acumularon aproximadamente un 50% del N absorbido, mientras que los viejos acumularon menos del 25%. Este incremento registrado en los órganos jóvenes se debió básicamente al desarrollo de los frutos, que pasaron de acumular un 5% del total del N absorbido por la planta al final de la caída fisiológica, al 15% en promedio para las tres curvas, al final del ciclo. Asimismo, el desarrollo de la brotación de otoño contribuyó a incrementar el N acumulado en los órganos jóvenes.

Legaz *et al.* (1981) también observaron una disminución en el N procedente del fertilizante acumulado en los órganos viejos, a lo largo del ciclo, que decreció del 24% en floración al 14% en otoño. Legaz y Primo-Millo (1988a) en naranjos Valencia de 4 años, determinaron que los frutos acumularon tan sólo un 2,5% del N absorbido; porcentaje muy inferior al obtenido en el presente estudio que fue del 10 al 16% para las tres curvas de distribución. Estas diferencias encontradas en los frutos, se deberían probablemente a la escasa contribución relativa de la biomasa de éstos al total de la planta (2,3%), en comparación con la obtenida en el presente ensayo que osciló entre el 13 y 22% para las distribuciones estudiadas (Tabla 11). De acuerdo con este aspecto, la edad de la planta influye claramente en la distribución del N absorbido. Así, en plantas jóvenes sin producción, en las que predomina el desarrollo vegetativo, el N absorbido se concentra al final del ciclo principalmente en hojas de las nuevas brotaciones; mientras que en árboles adultos en producción, éste se acumula principalmente en los frutos y en las hojas viejas (Feigenbaum *et al.*, 1987; Mooney y Richardson, 1994; Lea-Cox *et al.*, 2001; Quiñones *et al.*, 2005).

Cabe destacar que, al final del ciclo, el N acumulado en los órganos jóvenes procedente del fertilizante, se vio afectado por la distribución estacional de éste. Así, los árboles que recibieron el grueso del abonado de forma más retrasada (distribución A) presentaron una mayor acumulación de N en sus órganos jóvenes y órganos leñosos (total de ramas viejas, tronco y raíz gruesa), en detrimento de las hojas viejas, en las que acumularon menos N del absorbido del fertilizante (Tabla 17). Esta dependencia de la distribución del N absorbido entre los órganos de la planta en función del momento de aplicación ha sido ampliamente justificada en numerosos estudios de aplicaciones puntuales de fertilizantes marcados con <sup>15</sup>N en distintos momentos del ciclo. Del N aplicado en marzo, entre el 70-75% del N absorbido se acumula en la parte aérea, principalmente en hojas de primavera y frutos, en mandarinos Satsuma de 9-15 años (Kubota *et al.*, 1976a; Akao *et al.*, 1978b;

Lea-Cox *et al.*, 2001). Sin embargo, al aplicar el N en otoño, Kubota *et al.* (1972b); Akao *et al.* (1978a) y Kato *et al.* (1987) observaron una mayor tendencia de acumulación en las raíces. De la misma manera, Kato *et al.* (1982a,b) y Kato y Kubota (1982a,b) encontraron que el N aplicado en otoño a Satsumas de 4-12 años, también tendió preferentemente hacia las raíces, y del absorbido por el sistema radical, el 90% se acumuló en las raíces finas. Esta tendencia no se ha podido comprobar en el presente ensayo, ya que ninguna distribución fue lo suficientemente retrasada como para considerar que hubo aplicación de otoño.

#### 4.1.1.6 Porcentaje de N derivado del fertilizante

En la tabla 18 se exponen los porcentajes de nitrógeno derivado del fertilizante (Nddf) de cada órgano y del conjunto de la planta, con respecto a sus contenidos totales en N (Tabla 13). El Nddf cuantifica en qué proporción las necesidades en N del órgano en cuestión son satisfechas por el N procedente del fertilizante aplicado. Un menor valor de este parámetro conllevaría a un incremento en las proporciones aportadas por el N procedente de otras fuentes: las reservas de la propia planta, el suelo y/o el agua de riego. Por ello, algunos autores, basándose en este parámetro, deducen la importancia del papel desempeñado por el N presente en las reservas del árbol en los estadios tempranos de desarrollo de las nuevas brotaciones y de los órganos reproductivos (Legaz y Primo-Millo, 1988a; Weinert *et al.*, 2002; Quiñones *et al.*, 2005).

La tendencia observada en este parámetro y su significación estadística es idéntica a la presentada por las concentraciones de  $^{15}\text{N}$  (Tabla 15), puesto que se calcula como el cociente entre el enriquecimiento en  $^{15}\text{N}$  de cada órgano y el del fertilizante aplicado (5%).

A lo largo de las sucesivas extracciones, la contribución del N procedente del fertilizante al total del N de los órganos de la planta incrementó considerablemente. En floración (inicio del ciclo), los valores no superaron el 13% del contenido total de N de la planta; mientras que en la madurez del fruto (final del ciclo), el N procedente del fertilizante constituyó casi el 50% del N presente en la planta como consecuencia de la cantidad de N absorbido por las plantas (11-13 g N; Tabla 16).

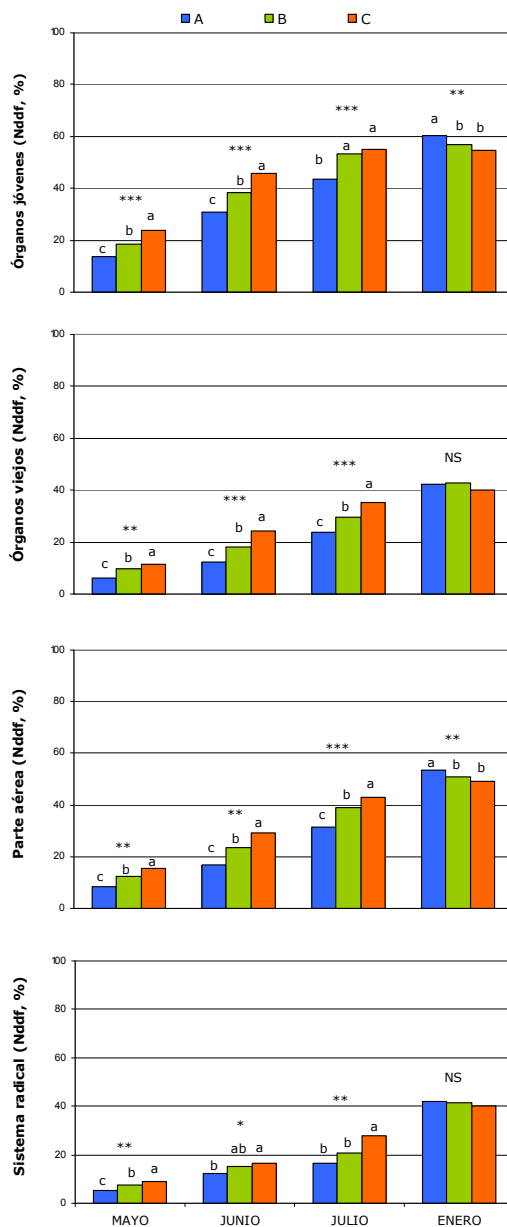
**Tabla 18.** Proporción de N derivado del fertilizante<sup>Z</sup> (Nddf) en los distintos órganos de las plantas correspondientes a las distribuciones estacionales del N aplicado (A, B y C)<sup>Y</sup> en los principales momentos fenológicos en el ensayo de absorción.

Órgano/Planta	FLORACIÓN (MAYO)				CUAJADO (JUNIO)			
	A	B	C	ANOVA <sup>X</sup>	A	B	C	ANOVA
Fruto					33,1 c	38,2 b	43,3 a	*** (0,001)
Cáliz + pedúnculo					25,9 c	31,7 b	40,1 a	** (0,003)
Total flor/fruto	12,4 <sup>W</sup> c <sup>V</sup>	17,7 b	22,7 a	** (0,003)	32,5 c	37,7 b	43,0 a	*** (<0,001)
Hojas primavera	15,2 c	20,4 b	25,8 a	** (0,002)	32,1 c	40,3 b	48,4 a	*** (<0,001)
Ramas primavera	11,4 c	14,8 b	18,3 a	** (0,010)	23,2 c	27,9 b	35,9 a	*** (<0,001)
Hojas viejas	6,7 b	10,4 a	12,3 a	* (0,020)	12,9 c	19,1 b	27,0 a	*** (<0,001)
Ramas viejas c/h <sup>U</sup>	7,8 b	11,5 a	12,6 a	** (0,014)	14,8 c	20,8 b	27,3 a	*** (<0,001)
Ramas viejas s/h <sup>T</sup>	5,6 b	7,9 ab	10,0 a	* (0,021)	12,8 b	16,4 a	18,3 a	** (0,006)
Ramas viejas <sup>S</sup>	6,9 b	10,3 a	11,6 a	** (0,005)	14,0 c	19,4 b	24,4 a	*** (0,001)
Tronco	4,3 c	6,2 b	7,9 a	** (0,015)	8,6 b	12,9 a	15,5 a	** (0,008)
Raíz fibrosa	7,9 c	10,5 b	12,7 a	** (0,005)	16,4 b	19,3 ab	21,2 a	* (0,046)
Raíz gruesa	3,0 b	4,7 ab	5,6 a	* (0,051)	7,7 b	10,8 ab	12,9 a	* (0,053)
PLANTA <sup>S</sup>	7,2 c	10,3 b	12,8 a	** (0,004)	14,9 c	20,0 b	24,2 a	** (0,007)
Joven caído <sup>R</sup>	6,5 c	8,3 b	13,7 a	*** (<0,001)	10,7 c	14,7 b	23,0 a	*** (<0,001)
Hojas viejas caídas	3,1	4,1	6,1	NS (0,168)	3,3 c	5,0 b	6,6 a	*** (0,001)
TOTAL PLANTA <sup>S</sup>	7,0 c	10,0 b	12,8 a	** (0,003)	13,9 c	18,6 b	23,6 a	** (0,002)

Órgano/Planta	FINAL CAÍDA FISIOLÓGICA (JULIO)				MADUREZ FRUTO (ENERO)			
	A	B	C	ANOVA	A	B	C	ANOVA
Fruto	46,5 c	53,5 b	59,2 a	*** (<0,001)	62,0 a	53,4 b	51,6 b	*** (<0,001)
Cáliz + pedúnculo	43,0 c	51,6 b	55,4 a	*** (<0,001)	56,6	57,4	53,3	NS (0,275)
Total fruto	46,4 c	53,5 b	59,1 a	*** (<0,001)	61,9 a	53,4 b	51,6 b	*** (<0,001)
Hojas otoño					65,8 a	62,4 ab	59,1 b	* (0,050)
Hojas verano	48,9 c	58,5 b	63,0 a	*** (<0,001)	62,9 a	62,2 a	59,8 b	* (0,038)
Hojas primavera	38,9 c	47,1 b	53,9 a	*** (<0,001)	49,1	51,5	52,3	NS (0,219)
Hojas jóvenes <sup>S</sup>	44,3 b	54,2 a	55,7 a	*** (<0,001)	59,8	58,1	56,9	NS (0,187)
Ramas otoño					66,0 a	61,4 b	58,8 c	*** (<0,001)
Ramas verano	46,4 c	55,9 b	58,7 a	*** (<0,001)	64,7 a	60,5 b	56,9 c	*** (0,001)
Ramas primavera	35,1 c	43,1 b	48,4 a	*** (<0,001)	51,0	51,7	51,7	NS (0,522)
Ramas jóvenes <sup>S</sup>	37,9 b	46,7 a	49,3 a	*** (0,001)	59,4 a	56,5 b	54,1 b	** (0,011)
Hojas viejas	27,0 c	33,0 b	38,4 a	*** (0,001)	42,5	42,7	43,6	NS (0,592)
Ramas viejas c/h	29,8 c	37,5 b	44,7 a	*** (<0,001)	49,2 ab	52,2 a	46,1 b	* (0,054)
Ramas viejas s/h	21,4 c	28,3 b	32,2 a	*** (<0,001)	47,3 a	44,4 b	39,7 c	*** (0,001)
Ramas viejas <sup>S</sup>	26,0 c	33,6 b	39,6 a	*** (<0,001)	48,3 a	49,0 a	43,7 b	* (0,023)
Tronco	10,4 c	13,9 b	17,8 a	*** (0,001)	31,6 a	29,4 a	25,2 b	** (0,002)
Raíz fibrosa	23,3 b	28,7 b	37,1 a	** (0,010)	48,2 a	47,1 ab	45,2 b	* (0,052)
Raíz gruesa	9,5 b	12,9 b	17,3 a	** (0,015)	35,7	33,9	32,9	NS (0,135)
PLANTA <sup>S</sup>	25,4 c	32,1 b	37,1 a	** (0,002)	49,8 a	47,8 b	46,1 c	** (0,003)
Joven caído	13,2 b	16,8 b	25,4 a	** (0,004)	12,0 b	20,7 a	28,1 a	** (0,004)
Hojas viejas caídas	3,4 c	5,2 b	6,8 a	*** (<0,001)	3,4 c	5,2 b	7,4 a	** (0,002)
TOTAL PLANTA <sup>S</sup>	22,9 c	28,7 b	34,8 a	*** (0,001)	44,7	44,0	43,5	NS (0,459)

<sup>Z</sup>: Nddf (%) = <sup>15</sup>N órgano (%) x 100 / 5 (% átomos <sup>15</sup>N en exceso en el fertilizante) <sup>Y</sup>: Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta octubre. <sup>X</sup>: ANOVA, diferencias significativas para P≤0,05 (\*); P≤0,01 (\*\*) y P≤0,001 (\*\*\*) y no significativas para P>0,05 (NS); entre paréntesis se indica el P-valor. <sup>W</sup>: Cada valor es la media de 3 árboles. <sup>V</sup>: Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas (P<0,05) según el test LSD-Fisher. <sup>U</sup>: Ramas del ciclo anterior con hojas. <sup>T</sup>: Ramas del ciclo anterior sin hojas. <sup>S</sup>: Promedio ponderado. <sup>R</sup>: Incluye botón floral, pétalos, cálices y frutos abortados caídos.



**Figura 9.** Proporción de N derivado del fertilizante (Nddf) en el conjunto de órganos jóvenes<sup>Z</sup>, viejos<sup>Y</sup>, parte aérea y sistema radical de los árboles extraídos a lo largo del segundo año del ensayo de absorción. Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta final octubre.

<sup>Z</sup>: Órganos jóvenes en extracción en mayo: estructuras reproductivas y hojas y ramas de la brotación de primavera; en junio: frutos cuajados y hojas y ramas de la brotación de primavera; en julio: frutos en desarrollo, hojas y ramas de las brotaciones de primavera y verano; en enero: frutos maduros, hojas y ramas de las brotaciones de primavera, verano y otoño. <sup>Y</sup>: Órganos viejos incluyen las ramas y hojas de las brotaciones del ciclo anterior, ramas leñosas sin hojas y tronco. ANOVA, diferencias significativas para  $P \leq 0,05$  (\*);  $P \leq 0,01$  (\*\*);  $P \leq 0,001$  (\*\*\*) y no significativas para  $P > 0,05$  (NS). Letras distintas en una misma extracción indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) según el test LSD-Fisher

En todas las extracciones realizadas, los mayores valores de Nddf se presentaron en los órganos jóvenes (flores, frutos y hojas de las brotaciones en desarrollo) de los tres tratamientos, en comparación con los órganos viejos (Figura 9). Esto concuerda con los resultados obtenidos por otros autores, mediante el empleo de fertilizantes marcados isotópicamente con  $^{15}\text{N}$ , tanto en cítricos jóvenes (Wallace *et al.*, 1954; Legaz *et al.*, 1981; Mooney y Richardson, 1994; Lea-Cox *et al.*, 2001; Martínez *et al.*, 2002), como adultos (Kubota *et al.*, 1976a,b; Kato *et al.*, 1981; Feigenbaum *et al.*, 1987; Quiñones *et al.*, 2005). Hasta la extracción correspondiente al final de la caída fisiológica, los valores del Nddf de los órganos jóvenes prácticamente duplicaron a los presentados por los viejos. En el momento de madurez del fruto, esta tendencia se redujo considerablemente, con valores que oscilaron en torno al 55-60% en los órganos jóvenes y al 40% en los órganos viejos. Al final del ciclo, son los frutos y hojas y ramas de las brotaciones de verano y otoño, los órganos en los que la contribución del N absorbido tiene un mayor peso, con valores promedio en torno al 60% (Tabla 18).

La bibliografía existente al respecto presenta tendencias similares a las obtenidas. Legaz y Primo-Millo (1988a) en naranjos Valencia Late de 4 años cultivados en arena, que recibieron un aporte de nitrato potásico marcado durante todo un año, determinaron que en enero del año siguiente el 72% del N de los árboles procedía del fertilizante. De acuerdo con estos autores fueron los frutos y hojas, con valores de Nddf del 91% y 85% respectivamente, los órganos en los que el N absorbido del fertilizante participó mayoritariamente. Estos porcentajes si bien son superiores en valor absoluto a los obtenidos en el presente estudio, presentan una pauta similar en lo que respecta al comportamiento de los distintos órganos; las diferencias se deberían, una vez más, a las distintas condiciones de ambos ensayos. Concretamente, el hecho de que las plantas fueran cultivadas en un medio inerte como la arena, supondría restringir las posibles fuentes de N al de la solución nutritiva y las reservas de la planta. Adicionalmente, los distintos tipos de suelo inciden en los valores de Nddf. Martínez *et al.* (2002) en naranjos Valencia Late de 3 años, tras aplicar sulfato amónico marcado a final de marzo, observaron mayores valores de Nddf en los árboles que crecieron en un suelo arenoso que en otro de textura franca, como consecuencia de los diferentes contenidos en N asociados a estos tipos de suelo. En mayo, estos autores obtuvieron que el 26,3 y 31,8% del N presente en hojas y frutos respectivamente procedió del fertilizante aplicado a un suelo arenoso; en cambio, estos valores descendieron a un 12,1 y 15,2% cuando se aplicó a un suelo franco. Menino *et al.* (2007) en naranjos Lane Late de 4 años sin frutos cultivados en un suelo arenoso, tras un marcado continuo entre marzo y octubre, también encontraron valores de Nddf en hojas jóvenes (40%) superiores a los de hojas viejas (34%) y tronco (38%), al extraer las plantas en noviembre.

Las diferentes distribuciones estacionales de la dosis de N estudiadas afectaron significativamente al Nddf en el total de las plantas y en sus distintos órganos (Tabla 18). Al igual que en el resto de parámetros analizados, se presentaron dos tendencias bien definidas, en las que el final de la caída fisiológica parece ser el punto de inflexión. Hasta ese momento, las distribuciones A, B y C aportaron el 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis, mientras que desde el final de la caída fisiológica hasta madurez del fruto se aplicó el 75, 50 y 25% restante. De modo que las cantidades crecientes de N aportadas hasta el final de la caída fisiológica, produjeron valores de Nddf paralelamente crecientes y claramente significativos, en todos los órganos en las tres primeras extracciones. Así, los árboles de la distribución C presentaron un mayor Nddf que los de B y éstos a su vez mayor que los de la distribución A. Atendiendo al significado agronómico de este parámetro, los menores valores de Nddf observados en el tratamiento A para los órganos jóvenes durante los periodos críticos de floración y cuajado, conllevarían a una mayor dependencia del arbolado de sus propias reservas y del N residual del suelo en relación con el tratamiento C.

En la extracción realizada en madurez del fruto, se invirtió la tendencia descrita anteriormente, de modo que la contribución relativa del N procedente del fertilizante en los árboles de la distribución A respecto al total de éste elemento en el conjunto de la planta, fue claramente superior al valor presentado por los árboles de la distribución C (Tabla 18). La distribución B presentó valores intermedios y estadísticamente diferentes de los extremos (A y C). Las diferencias encontradas en el total de la planta al final del ciclo se debieron, por un lado, a la tendencia de los órganos desarrollados en este último periodo (hojas y ramas de las brotaciones de verano y otoño y frutos), que se vieron claramente influenciados por el sentido de los aportes recibidos durante su desarrollo ( $A > B > C$ ); y por otro, al cambio de tendencia respecto a la extracción anterior, observado en los órganos leñosos (ramas viejas y tronco). Sin embargo, las hojas/ramas de la brotación de primavera y las hojas viejas, que hasta el final de la caída fisiológica habían mostrado diferencias significativas, no mostraron un comportamiento diferencial con las distribuciones en el final del ciclo. El hecho de que las hojas de primavera y viejas fueran los únicos órganos que disminuyeron su concentración y contenido en N en el periodo entre final de la caída fisiológica y madurez del fruto (Tablas 12 y 13), explicaría la ausencia de respuesta de éstas ante el cambio de pauta de aplicación de N en este último periodo.

El sistema radical, tal y como se muestra en la figura 9, siguió una tendencia paralela a la descrita para los órganos de la parte aérea hasta el final de la caída fisiológica. En el momento de madurez del fruto, a pesar de que la raíz fina mostró un cambio en su

tendencia, el conjunto del sistema radical no presentó diferencias significativas en su Nddf en función de la curva de distribución, al igual que ocurrió en hojas viejas y de primavera.

La bibliografía recoge diversos ensayos en los que se estudia la respuesta en la absorción en función de la aplicación puntual de N en distintos momentos. Kubota *et al.* (1972a,b) aplicaron un pulso de fertilizante marcado desde el 1 al 15 de julio, a árboles Satsuma de 5 años cultivados en arena, suprimiéndose posteriormente el aporte de N. La extracción de las plantas en noviembre puso de manifiesto que el 5% del N presente en los frutos y hojas jóvenes, el 1% del tronco y el 4% del presente en las raíces finas procedió del fertilizante aplicado en verano. La aplicación en otoño (8 al 22 de octubre) de un pulso similar de  $^{15}\text{N}$ , disminuyó el porcentaje de Nddf en los frutos (2%). Sin embargo, incrementaron el porcentaje de N procedente del fertilizante con el aporte retrasado el tronco (1,4%) y raíces finas (9%); mientras que en las hojas jóvenes este valor se mantuvo constante (4%). Esta respuesta es similar a la obtenida al final del ciclo en tronco, hojas jóvenes y raíces finas, al comparar las distribuciones A y C. Sin embargo, no se presentó la disminución del Nddf en frutos indicada por estos autores, ya que todas las curvas estudiadas supusieron un aporte de N durante el desarrollo de éstos, y en ninguna se retrasó el aporte hasta que se hubiera desarrollado completamente el fruto.

Kubota *et al.* (1976a,b) en un experimento llevado a cabo en un mandarino Satsuma de 9 años cultivado en campo, determinaron que el 19, 17, 10 y 7% del total del N presente en las hojas jóvenes, frutos, ramas y raíces finas, respectivamente, procedía del N aplicado con el fertilizante a mitad de marzo. Mientras que si éste se aplicaba más retrasado, a mediados de junio, la contribución relativa del N absorbido del fertilizante al total de este elemento disminuía ligeramente al 13, 16, 11 y 5% en hojas jóvenes, frutos, ramas y raíces finas, respectivamente. La aplicación más tardía (15 julio) de nitrato cálcico marcado a un Satsuma de 17 años en suelo supuso que el 13, 12, 12, y 9% del N presente en hojas jóvenes, frutos, ramas y raíces finas, procediera del fertilizante (Kato *et al.*, 1981). Si bien estos resultados parecen contradecir las conclusiones del presente ensayo, es importante destacar que las aplicaciones de fertilizante se realizaron de forma puntual, por lo que no se trata de distribuciones estacionales y las extracciones se realizaron en julio y diciembre, en ambos estudios respectivamente.

En un estudio más reciente, Martínez (2003) obtuvo diferencias claramente significativas en el Nddf, al comparar el momento de aplicación de nitrato potásico marcado a naranjos Valencia Late de 3 años, en dos tipos de suelos. Al final del ciclo, en noviembre, el 24,0% del N presente en el árbol procedió del fertilizante aplicado en primavera, mientras que si



éste se aplicaba en verano el porcentaje fue mayor (29,3%), para los árboles cultivados en un suelo franco. Este incremento en el Nddf observado con la aplicación de verano, fue aún mayor en las plantas cultivadas sobre suelo arenoso (25,8% vs. 35,8% para la aplicación en primavera y verano, respectivamente). Los órganos en los que más incrementó la contribución relativa del N absorbido del fertilizante al total de este elemento con la aplicación de verano, fueron las hojas de la brotación de verano, órganos leñosos y sistema radical; mientras que las hojas de la brotación de primavera y viejas apenas modificaron su Nddf. Los frutos fueron el único órgano en que disminuyó el porcentaje de Nddf al retrasar el aporte del fertilizante; sin embargo esto fue debido a la escasa fructificación de éstos. Estos resultados, a excepción de la respuesta de los frutos, coincidirían plenamente con las diferencias encontradas en este estudio al final del ciclo, en la respuesta de los árboles a la distribución C y la curva A, que supuso un aporte más retrasado.

Sin embargo, todos estos estudios suponen, tal y como se ha explicado, aplicaciones puntuales del fertilizante, lo que si bien permite establecer similitudes con este estudio, no siempre son del todo apropiadas. En el único estudio encontrado en la bibliografía en el que se comparan distintas distribuciones estacionales de un fertilizante marcado isotópicamente (Quiñones *et al.*, 2005), la pauta descrita del Nddf se corresponde con la encontrada en el presente estudio. Estos autores obtuvieron mayores valores de Nddf en Navelinos adultos al retrasar el aporte de N. Así, la extracción de los árboles en diciembre, puso de manifiesto que el 20% del N de la planta procedió del fertilizante aplicado en riego por inundación, mientras que al aplicar el fertilizante de forma tardía mediante riego por goteo, dicho porcentaje incrementó a un 25%. Los órganos que incrementaron en mayor medida la proporción procedente del fertilizante fueron las raíces finas (17% vs. 29%), ramas viejas (15% vs. 24%), hojas de la brotación de otoño (28% vs. 36%) y de verano (27% vs. 33%); y en menor medida el tronco (7% vs. 10%). Mientras que las hojas de primavera y viejas apenas incrementaron un 2% su Nddf al retrasar el aporte de N.

#### 4.1.1.7 Eficiencia de uso del fertilizante aplicado

La eficiencia de uso del nitrógeno (EUN) indica la proporción de N aplicado con el fertilizante que es absorbido por la planta. Este parámetro es de gran utilidad sin embargo, su interpretación debe realizarse con cautela, ya que una eficiencia baja no siempre es debido a una baja capacidad de absorción del árbol, sino que puede ser consecuencia de que la dosis de N aportada es excesiva. La EUN presenta una tendencia

paralela a la observada en el N absorbido del fertilizante puesto que se calcula como el cociente entre éste último y la dosis de N aportada hasta el momento de la extracción.

Desde la floración hasta el final de la caída fisiológica del fruto, las diferentes cantidades de N aportadas con las distribuciones estacionales se tradujeron en diferencias significativas en la eficiencia de uso del N (Tabla 19). Concretamente, la eficiencia de absorción de N del fertilizante por la planta completa decreció de forma progresiva conforme se aportaron mayores cantidades de este elemento, siendo significativamente mayor en los árboles de la distribución A que en los de la B y C. El incremento en las cantidades aportadas con las distribuciones B y C, respecto a la distribución A, no se correspondió con un incremento igual en las cantidades absorbidas (Tabla 16), por lo que el ratio N absorbido vs. N aplicado disminuyó, con el consiguiente decremento de la EUN. Así, mientras las distribuciones B y C duplicaron y triplicaron respectivamente la cantidad de N aportada con A, el N absorbido por los árboles sólo incrementó en 1,3 y 1,8 veces el N absorbido. Se observa por tanto que en estos periodos las dosis aportadas con B y C superaron ampliamente el consumo del cultivo, mientras que con A, la cantidad aportada fue más ajustada a la demanda de la planta. Prueba de ello, es el hecho de que con las distribuciones B y C, a pesar de incrementar las cantidades acumuladas aplicadas, la eficiencia se mantuvo prácticamente constante desde floración hasta el final de la caída fisiológica. Adicionalmente, mientras que en las distribuciones B y C las plantas absorbieron menos del 40% del N aplicado, con la distribución A este porcentaje se superó ya desde la primera extracción realizada (50%), llegándose a valores del 65% al final de la caída fisiológica (Tabla 19).

Una tendencia paralela a la descrita para el total de la planta hasta el final de la caída fisiológica, se observó en el conjunto de órganos de la planta (Figura 10). Con independencia de la curva de aplicación seguida, se comprueba que el destino del N aplicado fue fundamentalmente la parte aérea de las plantas, con valores que oscilaron entre el 23,4 y el 48,6% del N aplicado, repartido prácticamente en partes iguales entre órganos jóvenes y viejos. El principal destino del N aplicado fue, entre los órganos jóvenes, las hojas de primavera y verano; mientras que entre los órganos viejos las hojas del ciclo vegetativo anterior fueron las que más N absorbieron (Tabla 19). Al final de la caída fisiológica, la práctica totalidad de los órganos de las plantas fertilizadas siguiendo la distribución A mostraron un mayor ratio de N absorbido/N aplicado que las de la distribución B y C.

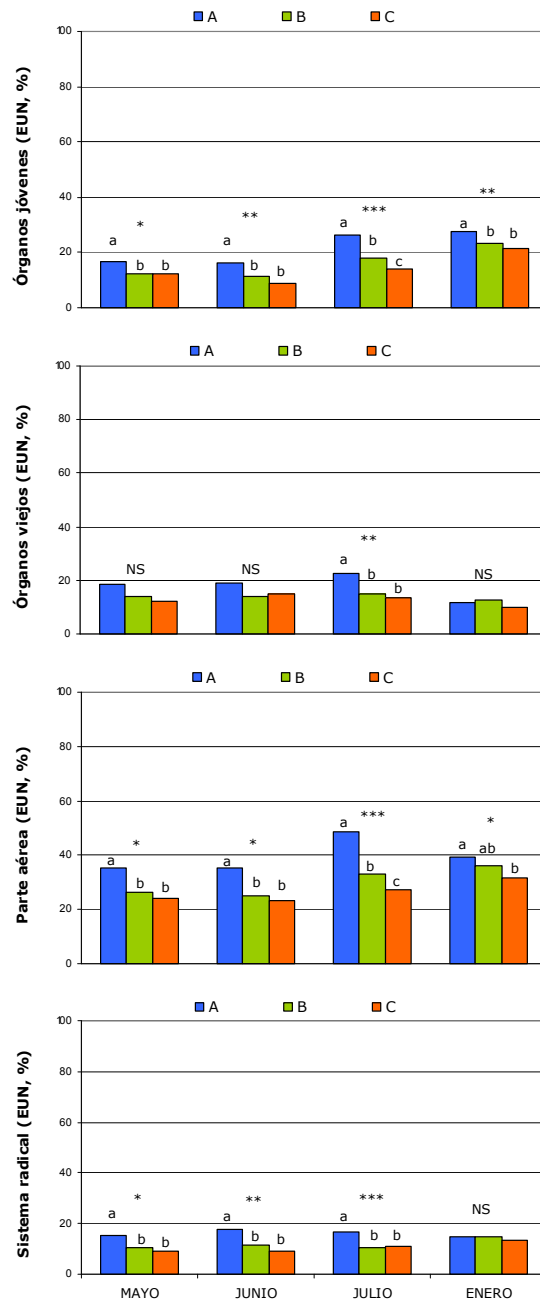
**Tabla 19.** Eficiencia de uso del N aplicado<sup>Z</sup> (EUN) en los distintos órganos y en el total de la planta correspondientes a las distribuciones estacionales del N aplicado (A, B y C)<sup>Y</sup> en los principales momentos fenológicos en el ensayo de absorción.

Órgano/Planta	FLORACIÓN (MAYO)				CUAJADO (JUNIO)			
	A	B	C	ANOVA <sup>X</sup>	A	B	C	ANOVA
Fruto					1,58	1,16	0,91	NS (0,141)
Cáliz + pedúnculo					0,11	0,09	0,09	NS (0,523)
Total flor/fruto	5,53 <sup>W</sup>	4,84	4,82	NS (0,332)	1,69	1,25	1,00	NS (0,146)
Hojas primavera	9,51 <sup>V</sup>	6,20b	6,26b	* (0,046)	12,97a	8,84b	6,52b	* (0,037)
Ramas primavera	1,70a	1,20ab	1,05b	* (0,053)	1,59	1,13	1,10	NS (0,090)
Hojas viejas	11,02	8,79	7,70	NS (0,371)	10,11	7,80	8,85	NS (0,433)
Ramas viejas c/h <sup>U</sup>	3,15a	2,72a	2,00b	* (0,025)	3,80	2,93	3,17	NS (0,243)
Ramas viejas s/h <sup>T</sup>	1,61	1,02	1,06	NS (0,233)	2,26a	1,15b	1,02b	*** (0,001)
Ramas viejas	4,76a	3,74ab	3,06b	* (0,045)	6,06a	4,08b	4,19b	* (0,038)
Tronco	2,75a	1,68b	1,39b	** (0,013)	2,96a	2,03b	1,76b	** (0,005)
Raíz fibrosa	10,62a	6,96b	5,81b	* (0,032)	12,27a	7,39b	5,24b	** (0,009)
Raíz gruesa	4,56a	3,72ab	3,16b	* (0,049)	5,65a	4,13b	3,64b	* (0,041)
<b>PLANTA</b>	50,45a	37,13b	33,25b	* (0,031)	53,30a	36,65b	32,30b	** (0,014)
Joven caído <sup>S</sup>	7,11a	4,16b	2,95b	** (0,006)	9,29	6,54	5,71	NS (0,123)
Hojas viejas caídas	0,44	0,25	0,28	NS (0,124)	0,31	0,30	0,28	NS (0,901)
<b>TOTAL PLANTA</b>	58,00a	41,54b	36,48b	* (0,022)	62,90a	43,49b	38,29b	** (0,011)

Órgano/Planta	FINAL CAÍDA FISIOLÓGICA (JULIO)				MADUREZ FRUTO (ENERO)			
	A	B	C	ANOVA	A	B	C	ANOVA
Fruto	3,24a	2,20b	1,98b	* (0,033)	8,46	5,11	7,26	NS (0,138)
Cáliz + pedúnculo	0,06	0,04	0,04	NS (0,382)	0,03	0,03	0,04	NS (0,125)
Total fruto	3,30a	2,24b	2,02b	* (0,029)	8,49	5,14	7,29	NS (0,139)
Hojas otoño					1,36	0,96	0,87	NS (0,657)
Hojas verano	11,86a	9,65a	2,24b	** (0,002)	11,47	9,34	7,46	NS (0,177)
Hojas primavera	8,14	4,76	7,78	NS (0,392)	3,15	5,24	4,67	NS (0,178)
Hojas jóvenes	20,00a	14,41b	10,02c	*** (0,001)	15,97	15,54	13,00	NS (0,265)
Ramas otoño					0,32	0,23	0,22	NS (0,789)
Ramas verano	0,85a	0,52ab	0,17b	* (0,038)	1,53a	1,30ab	0,73b	* (0,047)
Ramas primavera	1,98	1,02	1,64	NS (0,132)	0,95	1,16	1,11	NS (0,720)
Ramas jóvenes	2,83a	1,54b	1,81b	** (0,014)	2,80	2,70	2,06	NS (0,260)
Hojas viejas	13,76a	8,03b	7,11b	** (0,012)	3,98	4,62	4,66	NS (0,616)
Ramas viejas c/h	4,31a	3,57b	3,51b	* (0,042)	2,88	3,96	2,70	NS (0,172)
Ramas viejas s/h	2,57a	2,01ab	1,75b	* (0,036)	2,81a	2,36a	1,42b	* (0,021)
Ramas viejas	6,88a	5,58b	5,26b	* (0,039)	5,69a	6,33a	4,13b	* (0,028)
Tronco	1,81a	1,40ab	1,19b	* (0,039)	2,02a	1,78a	1,25b	** (0,003)
Raíz fibrosa	11,82a	7,18b	7,78b	** (0,006)	8,91	9,76	8,88	NS (0,635)
Raíz gruesa	4,88a	3,35b	3,31b	*** (0,001)	6,16a	5,01ab	4,45b	* (0,030)
<b>PLANTA</b>	65,28a	43,73b	38,50b	*** (0,001)	54,02a	50,86ab	45,73b	* (0,047)
Joven caído	7,59a	5,27b	4,57b	** (0,011)	7,26a	5,91b	4,83b	** (0,037)
Hojas viejas caídas	0,19	0,20	0,19	NS (0,110)	0,19c	0,20b	0,19a	*** (0,001)
<b>TOTAL PLANTA</b>	73,06a	49,20b	43,26b	*** (<0,001)	55,89	53,91	49,49	* (0,030)

<sup>Z</sup>: EUN (%) = <sup>15</sup>N órgano (mg) x 100/ <sup>15</sup>N fertilizante aportado hasta el momento de la extracción (mg) <sup>Y</sup>: Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta octubre. <sup>X</sup>: ANOVA, diferencias significativas para P≤0,05 (\*); P≤0,01 (\*\*\*) y P≤0,001 (\*\*\*) y no significativas para P>0,05 (NS); entre paréntesis se indica el P-valor. <sup>W</sup>: Cada valor es la media de 3 árboles. <sup>V</sup>: Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas (P<0,05) según el test LSD-Fisher. <sup>U</sup>: Ramas del ciclo anterior con hojas. <sup>T</sup>: Ramas del ciclo anterior sin hojas. <sup>S</sup>: Incluye botón floral, pétalos, cáliz y frutos abortados caídos.



**Figura 10.** Eficiencia de uso del N aplicado (EUN) en el conjunto de órganos jóvenes<sup>Z</sup>, viejos<sup>Y</sup>, parte aérea y sistema radical de los árboles extraídos a lo largo del segundo año del ensayo de absorción. Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta final octubre.

<sup>Z</sup>: Órganos jóvenes en extracción en mayo: estructuras reproductivas y hojas y ramas de la brotación de primavera. En junio: frutos cuajados y hojas y ramas de la brotación de primavera; en julio: frutos en desarrollo, hojas y ramas de las brotaciones de primavera y verano; en enero: frutos maduros, hojas y ramas de las brotaciones de primavera, verano y otoño. <sup>Y</sup>: Órganos viejos incluyen las ramas y hojas de las brotaciones del ciclo anterior, ramas leñosas sin hojas y tronco. ANOVA, diferencias significativas para  $P \leq 0,05$  (\*);  $P \leq 0,01$  (\*\*);  $P \leq 0,001$  (\*\*\*) y no significativas para  $P > 0,05$  (NS). Letras distintas en una misma extracción indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) según el test LSD-Fisher.

Son numerosos los estudios encontrados en la bibliografía que verifican la disminución en la eficiencia al incrementar la dosis de N aportada. Feigenbaum *et al.* (1987) obtuvo eficiencias del 57% cuando aplicó una dosis baja ( $341 \text{ g N} \cdot \text{árbol}^{-1} \cdot \text{año}^{-1}$ ) y del 40% al aportar una dosis alta ( $997 \text{ g N} \cdot \text{árbol}^{-1} \cdot \text{año}^{-1}$ ) a naranjos Shamouti de 22 años, desde abril hasta finales de agosto. Syvertsen y Smith (1996) observaron una reducción del 25% en la eficiencia al incrementar la dosis de N de 126 a  $868 \text{ g N} \cdot \text{árbol}^{-1}$  en pomelos de 4 años cultivados en lisímetros. Lea-Cox y Syvertsen (1996) encontraron asimismo una reducción en la eficiencia del 60 al 47% al incrementar el N aplicado. Syvertsen y Jifon (2001) observaron cómo la eficiencia se reducía un 42% al incrementar la dosis de N en un porcentaje similar. En un estudio realizado durante seis años en naranjos Hamlin adultos (Alva *et al.*, 2006a) se concluyó que la aplicación de una dosis de  $260 \text{ kg N} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{año}^{-1}$  en fertirriego conducían a las mayores producciones y el incremento de esta dosis supuso una reducción sustancial en la eficiencia de uso del N.

En el momento de maduración del fruto es cuando la eficiencia adquirió su verdadero sentido agronómico, al haber recibido todos los árboles la misma dosis de N. Los árboles de la distribución A redujeron su EUN considerablemente (17%) respecto al final de la caída fisiológica, como consecuencia del N aportado en este periodo (75% de la dosis). Sin embargo, las distribuciones B y C conllevaron un incremento en la eficiencia debido a los menores aportes asociados (50 y 25% de la dosis). A pesar de este cambio en la tendencia, la mayor eficiencia se encontró, al igual que en las extracciones anteriores, con el tratamiento A (54,0%); esto se debió a que los mayores aportes de N coincidieron con la época estival de mayor absorción radicular (Chapman y Parker, 1942; Legaz *et al.*, 1981). En cambio, con la distribución C, en la que se adelantaron las aplicaciones de N a la época menos eficiente (primavera), la EUN (45,7%) fue significativamente inferior. La distribución B presentó un valor intermedio en EUN (50,9%) al obtenido con las distribuciones A y C, no significativo desde un punto de vista estadístico (Tabla 19).

Los mayores valores de EUN en el total de la planta de los árboles del tratamiento A se debieron a las diferencias encontradas en el conjunto de órganos jóvenes, ramas viejas, tronco y raíz gruesa de estos árboles. Entre los órganos jóvenes, tan sólo las ramas de verano mostraron diferencias significativas en su ratio de absorbido/aplicado; sin embargo, el conjunto de estos también mostró un comportamiento diferencial como consecuencia de la aditividad de este parámetro.

La consideración de los órganos caídos incrementó los valores de EUN, que ascendieron al 55,9%, 53,9% y 49,5% para las distribuciones A, B y C respectivamente, al contabilizarse

el N absorbido por las estructuras reproductivas y las hojas viejas caídas (Tabla 19). La inclusión de los órganos caídos en el cómputo del total de N absorbido por la planta incrementó la EUN de los árboles de la curva C un 8%, valor superior a los incrementos registrados en las distribuciones B (6%) y A (3%). Esto lógicamente es debido a que con la curva C fueron mayores los aportes de N que recibieron estos órganos durante floración y cuajado (75% del total de la dosis), momento en el que se produjo la abscisión de la mayor parte de ellos.

La mayor eficiencia obtenida con el aporte tardío del grueso del N (curva A), supone una ventaja no sólo desde el punto de vista económico, derivada del mayor aprovechamiento del fertilizante aplicado, sino desde el punto de vista medioambiental. Con la distribución A, el 44,1% del N aplicado, al no ser absorbido por la planta, sería susceptible de ser lixiviado; dicha cantidad se vería incrementada en un 15% en el caso de realizar un aporte temprano de la dosis (50,5%, distribución C).

Los valores de eficiencia encontrados en la bibliografía son muy dispares, ya que para una misma dosis de N éste parámetro depende ampliamente de las condiciones del ensayo. Concretamente depende, entre otros factores, de la edad de la planta (Menino *et al.*, 2007), tipo de suelo (Martínez *et al.*, 2002), forma de N aplicado (Cantarella *et al.*, 2003), tipo de abono (Dasberg *et al.*, 1988; Alva y Paramasivam, 1998; Alva *et al.*, 1998), época de aplicación (Kubota *et al.*, 1976a,b) y fraccionamiento de la dosis de N (Quiñones *et al.*, 2005; Morgan *et al.*, 2009). En cualquier caso, los valores de eficiencia obtenidos en los tres tratamientos se encontrarían, de acuerdo con Morgan y Hanlon (2006a,b), en un rango apropiado (40-60%), por lo que tanto la dosis de N como las distribuciones estudiadas habrían sido correctas. Sin embargo, es importante destacar que el hecho de que las plantas fueran cultivadas en contenedores resguardados de las precipitaciones, así como un preciso manejo del riego que evitó el lixiviado, contribuyó sin duda a incrementar los valores de eficiencia asociados a la dosis aplicada.

El incremento en la EUN obtenido con la aplicación del grueso del fertilizante en los meses de verano, ha sido también propuesto por otros autores. Martínez (2003) observó que la época de aplicación afectó de forma significativa al porcentaje de eficiencia en naranjos Valencia Late de 3 años cultivados en suelo. La aplicación de nitrato potásico en primavera (final de marzo) proporcionó una eficiencia al final del ciclo (noviembre) en torno al 40% mientras que al aportarlo en verano (final de julio) ésta superó el 50%. Al igual que en el presente ensayo, el incremento en la eficiencia del total de la planta se debió especialmente a la mejora de este parámetro en los órganos leñosos y el sistema radical.

Resultados similares han sido obtenidos en árboles adultos; Kubota *et al.* (1976a) encontraron valores de eficiencia del 25% tras una única aplicación de N en marzo en mandarinos Satsuma de 9 años, al extraerlos del suelo 4 meses después. En cambio, la eficiencia incrementó al 61% cuando la aplicación se realizó en junio (Kubota *et al.*, 1976b) y las plantas se extrajeron 6 meses después.

#### 4.1.1.8 Evolución de la concentración foliar de macro y micronutrientes

La fertilización nitrogenada posee numerosas repercusiones en el resto de elementos nutritivos como consecuencia no sólo de la incidencia directa del N sobre la biomasa de la planta (efecto de dilución) sino de los diversos sinergismos y antagonismos que este elemento presenta con el resto de nutrientes. Las hojas de primavera son un indicador preciso de la absorción de los distintos elementos por parte de la planta, ya que éstas son muy sensibles a los cambios de composición del medio de cultivo (Legaz *et al.*, 1995b). Por ello, se analizaron las concentraciones del resto de macronutrientes (fósforo, potasio, calcio, magnesio y azufre) y de los principales micronutrientes (hierro, zinc, manganeso, boro, cobre y sodio) en las hojas de primavera en las extracciones realizadas a lo largo del ciclo vegetativo (Figuras 11 a 17). Si bien existen distintos criterios acerca de la idoneidad de elegir hojas de brotes vegetativos terminales de primavera (sin brotación de verano ni otoño), o con fruto terminal, se optó por la primera opción. De acuerdo con Embleton (1973a) y Legaz *et al.* (1995b), las hojas pertenecientes a brotes vegetativos presentan la ventaja de estar menos sometidas a la depleción de nutrientes ocasionada por la proximidad del fruto y, adicionalmente, son representativas del nivel de reservas de la planta, puesto que son los brotes vegetativos los que sustentarán la floración y fructificación del año siguiente.

Diversos estudios establecen el análisis foliar como herramienta de diagnóstico para la fertilización en cítricos (Smith, 1966; Embleton *et al.*, 1973a, Legaz *et al.*, 1995b y Kallesen, 2003). La interpretación de los valores obtenidos de macro y micronutrientes se realizó de acuerdo con los niveles de referencia establecidos por estos autores. Es importante destacar que los intervalos de concentraciones establecidos por éstos son similares, sin embargo, difieren en la época recomendada para el muestreo de las hojas. Ésta se corresponde con el periodo en que las hojas de primavera mantienen sus concentraciones prácticamente constantes. De acuerdo con Embleton *et al.* (1973a) esta condición se cumpliría entre los 5 y 7 meses de edad (julio-septiembre) de las hojas, Smith (1966) y Kallesen (2003) entre 4 y 7 meses, mientras que Legaz *et al.* (1995b) proponen un muestreo más retrasado, a los 7-9 meses (septiembre-noviembre).

Para el análisis de la evolución temporal de los valores foliares de macro y micronutrientes se tuvo en cuenta la revisión realizada por Embleton *et al.* (1973a), en la que se recogen valores mensuales de éstos en hojas de primavera durante un año.

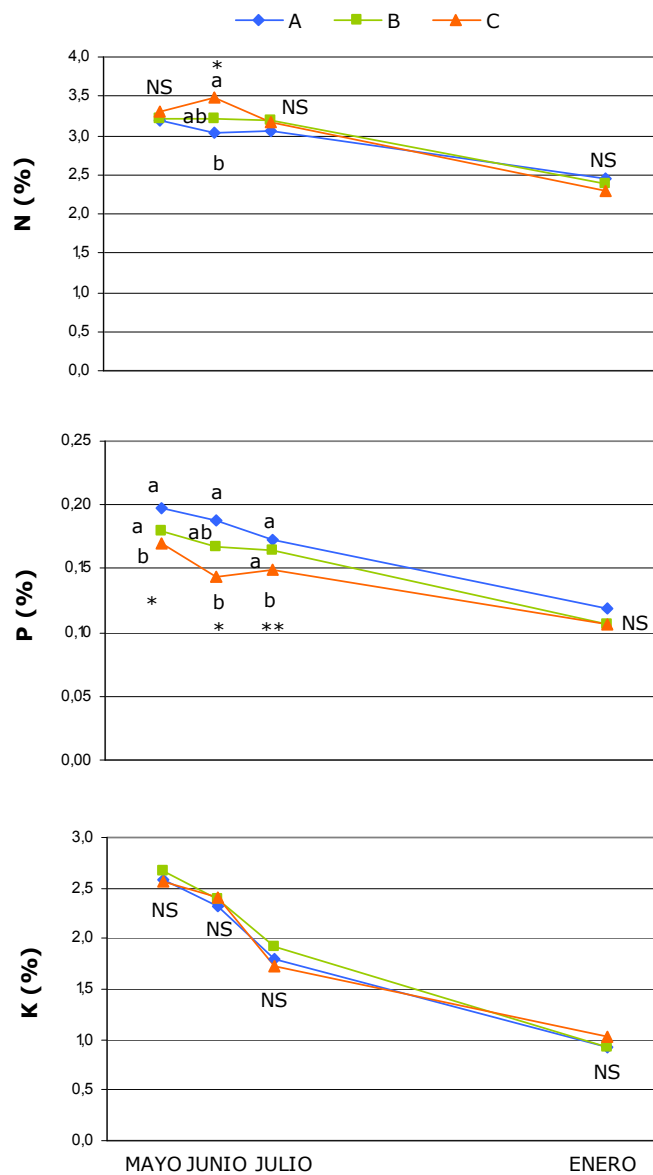
De forma general se apreció cómo los elementos móviles en la planta (Marschner, 1986), susceptibles de ser translocados (fósforo, potasio y magnesio), así como aquellos cuya movilidad en el floema es intermedia (zinc), disminuyeron claramente su concentración a lo largo del ciclo; mientras que aquellos que no son móviles (calcio, sodio, hierro y manganeso) presentaron la tendencia opuesta.

### **Nitrógeno**

En la figura 11 se muestra la evolución de la concentración foliar de N en las hojas de primavera a lo largo del ciclo. En la extracción realizada en floración (mayo) las hojas de primavera de las plantas de las tres distribuciones estacionales presentaron una concentración de N similar, en torno al 3,2%. En la extracción realizada durante el cuajado (junio) se observó claramente un comportamiento diferencial, de modo que en los árboles que recibieron un mayor aporte de N (distribución C) la concentración foliar creció mostrando valores (3,5%) significativamente superiores a la distribución A, que vio reducida su concentración de N con respecto al periodo anterior. En cambio, con la distribución B la concentración foliar se mantuvo constante respecto a la extracción anterior, e intermedia al resto de distribuciones.

El decremento en la concentración foliar de N en los árboles de la distribución A ha sido observada a su vez por otros autores (Legaz *et al.*, 1981 y 1982; Mooney y Richardson, 1994), que sugieren la exportación de N por parte de las hojas de primavera en el periodo de cuajado. Sin embargo, la aplicación diferencial de fertilizante en el presente ensayo enmascaró esta tendencia, evidenciado que las hojas de primavera no fueron siempre exportadoras, sino que con aportes elevados de N éstas se comportan como sumideros, tal y como se aprecia en la curva C. Legaz *et al.* (1981) obtuvieron una respuesta similar en naranjos Valencia jóvenes en arena, al comparar la aplicación de una dosis baja (15 ppm N) y una alta (245 ppm N).





**Figura 11.** Evolución de la concentración sobre peso seco de nitrógeno, fósforo y potasio en hojas de primavera en las extracciones de floración (mayo), cuajado (junio), final de caída fisiológica (julio) y madurez del fruto (enero) en el ensayo de absorción. Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta final octubre.

ANOVA, diferencias significativas para  $P \leq 0,05$  (\*);  $P \leq 0,01$  (\*\*) y no significativas para  $P > 0,05$  (NS). Letras distintas en una misma extracción indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) según el test LSD-Fisher.

## **Fósforo**

La concentración de fósforo (P) en las hojas de primavera presentó una pauta decreciente en las sucesivas extracciones realizadas (Figura 11). Esta tendencia coincide con la propuesta por Embleton *et al.* (1973a). Según estos autores los mayores valores de este elemento se presentan en las primeras fases de desarrollo de las hojas de primavera, con valores en torno al 0,4%, que rápidamente descienden en el primer mes para situarse en torno al 0,18%; valor que coincidiría con el obtenido en la primera extracción realizada. Posteriormente, descienden suavemente para situarse próximos al 0,1%; tal y como se observó en el presente ensayo.

Los valores foliares promedio obtenidos entre la extracción de final de caída fisiológica y madurez se corresponderían con los de la típica época de muestreo para determinar el estado nutricional del arbolado, mencionado anteriormente. Estos valores de concentración de P, según los niveles estándar encontrados en la bibliografía (Smith, 1966; Legaz *et al.*, 1995b; Kallesen, 2003) serían óptimos, al encontrarse en el intervalo 0,12-0,16%.

El aporte de dosis diferenciales de N asociado a las distribuciones estacionales del fertilizante hasta el final de caída fisiológica, tuvo un claro efecto en la absorción de P por las plantas. Las plantas fertilizadas según la distribución C mostraron una concentración significativamente menor de P que aquellas que recibieron el fertilizante según las curvas A y B. Esta respuesta sería consecuencia del efecto antagónico entre los aniones nitrato y fosfato, ampliamente documentado en cítricos (Anderssen, 1937; Chapman y Rayner, 1951; Smith *et al.*, 1954; Wallace, 1990; Okada *et al.*, 1992; Mattos *et al.*, 2006), acentuado por los mayores aportes de N asociados a la distribución C. Al final del ciclo, en el momento de madurez del fruto, no se observó diferencia en la concentración de P en las hojas de los árboles de los tres tratamientos.

## **Potasio**

Al igual que el fósforo, la concentración foliar de potasio (K) presentó una tendencia decreciente a lo largo del ciclo (Figura 11). Esta tendencia es la habitual en hojas de primavera, tal y como describen Embleton *et al.* (1973a). Sin embargo, cabe destacar que las concentraciones de este elemento fueron elevadas, especialmente en las primeras fases de desarrollo de la brotación de primavera. De acuerdo con estos autores, los valores habituales al inicio de la brotación serían en torno al 2%, disminuyendo

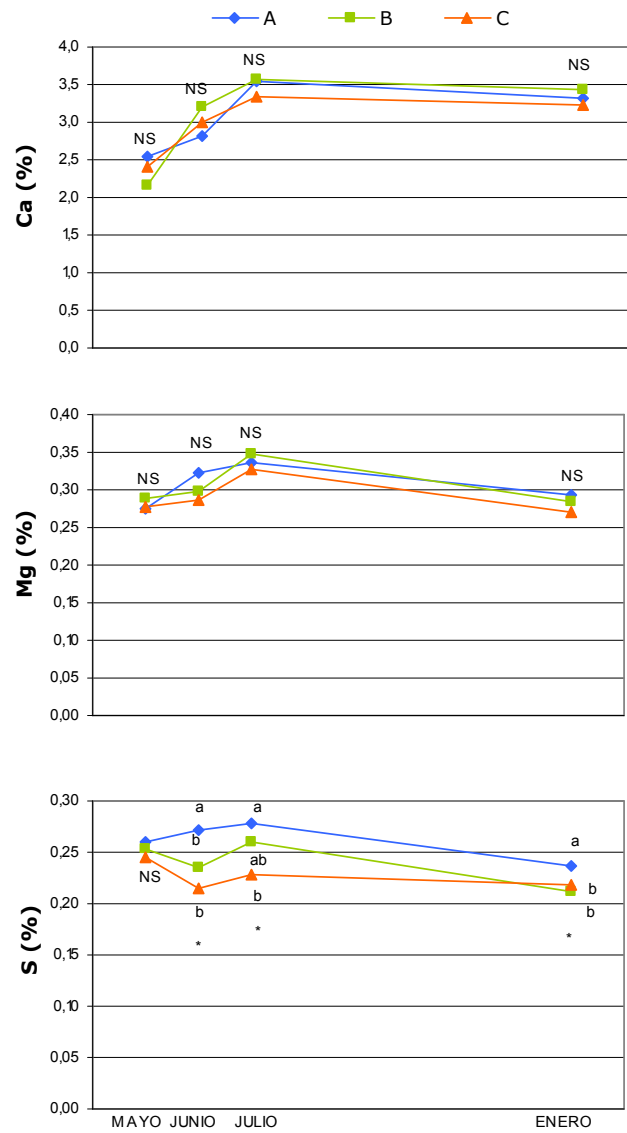
bruscamente en los dos primeros meses hasta el 1,2%, para decrecer más suavemente el resto del ciclo hasta el 1%. En el presente ensayo, la primera extracción se realizó cuando la brotación de primavera tenía casi 2 meses, por lo que los valores iniciales (>2,5%) son claramente superiores a los propuestos por estos autores. Esto se debió probablemente a que el análisis foliar durante el año anterior (2005) puso de manifiesto un exceso de potasio; por ello se eliminó el aporte de K en la fertirrigación del ciclo en el que se fueron realizando las extracciones. Sin embargo, al final del ciclo los valores convergieron a una concentración (1%), que de acuerdo con Legaz *et al.* (1995b) correspondería al límite superior del rango normal (0,71-1,00%).

Los valores foliares de K no se vieron afectados por la distribución estacional del fertilizante. La bibliografía plantea el antagonismo entre el N y el K (Embleton *et al.*, 1973b; Okada *et al.*, 1992). En cambio, en este estudio, los elevados niveles de partida en K presentes en las plantas, ya desde el ciclo anterior, habrían enmascarado el antagonismo asociado a las dosis diferenciales de N aportadas durante las primeras fases de las tres distribuciones estacionales.

### **Calcio**

La concentración foliar de calcio (Ca) presentó, a lo largo de las sucesivas extracciones, una tendencia creciente (Figura 12), aunque con menor pendiente de la esperada de acuerdo con Embleton *et al.* (1973a). Es por ello, que al final del ciclo, los valores se mantuvieron en el límite inferior del intervalo (3,0-5,0%) considerado normal (Smith, 1966; Legaz *et al.*, 1995b; Kallesen, 2003).

Las distribuciones estacionales estudiadas no afectaron a la pauta de absorción de este elemento. Si bien algunos autores han observado reducciones en la concentración foliar de Ca para dosis de N elevadas, éstas se debieron a un efecto competitivo entre el  $\text{NH}_4^+$  y el  $\text{Ca}^{2+}$ , como consecuencia del aporte de fertilizantes amoniacales (Serna *et al.*, 1992; Ruschel *et al.*, 2004).



**Figura 12.** Evolución de la concentración sobre peso seco de calcio, magnesio y azufre en hojas de primavera en las extracciones den floración (mayo), cuajado (junio), final de caída fisiológica (julio) y madurez del fruto (enero) en el ensayo de absorción. Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta final octubre.

ANOVA, diferencias significativas para  $P \leq 0,05$  (\*) y no significativas para  $P > 0,05$  (NS). Letras distintas en una misma extracción indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) según el test LSD-Fisher.

## Magnesio

La concentración foliar de magnesio (Mg) fue creciente hasta el final de caída fisiológica (Figura 12), momento en el que alcanzó un máximo en torno al 0,34%, para disminuir posteriormente a valores próximos a los registrados en el momento de la floración (0,28%). Esta evolución, creciente hasta aproximadamente los 4 meses desde el inicio de la brotación de primavera, coincide con la propuesta por Embleton *et al.* (1973a). Las concentraciones de Mg se mantuvieron en el rango entre 0,25 y 0,45%, considerado normal (Smith, 1966; Legaz *et al.*, 1995b) o en el propuesto por Kallesen (2003) que es ligeramente más amplio (0,26-0,60%).

El aumento en las concentraciones foliares de Mg en las primeras fases del ciclo fueron paralelas a la disminución de la concentración foliar de K, como consecuencia del efecto antagónico ampliamente documentado entre ambos cationes (Reuther y Smith, 1950; Smith, 1966; Embleton *et al.*, 1973a; Ruschel *et al.*, 2004). La distribución estacional diferencial del fertilizante, tampoco afectó a la pauta de absorción de este elemento.

## Azufre

El porcentaje de azufre en las hojas muestreadas se mantuvo entre 0,20 y 0,28% para los tres tratamientos (Figura 12); por lo que de acuerdo con Smith (1966) y Kallesen (2003) se encontrarían en el intervalo óptimo de este elemento (0,20-0,39%).

Durante el cuajado y el final de caída fisiológica se observó una mayor concentración de este elemento en los árboles que recibieron el fertilizante de acuerdo con la distribución A. Esta reducción en la concentración foliar de azufre, como consecuencia del incremento de la dosis de N aportada, ha sido previamente documentada (Embleton *et al.*, 1973b), al existir antagonismo entre los aniones nitrato y sulfato. Esta misma tendencia se mantuvo hasta el final del ciclo, de modo que con la distribución A se presentaron los mayores valores foliares de azufre, pese a que en ese momento todos los árboles recibieron la misma dosis de N. Sin embargo, mientras que en las distribuciones A y B, el mayor aporte de N realizado en el último periodo estudiado supuso un ligero decremento de la concentración de este elemento, en la distribución C, los árboles mantuvieron constante esta concentración.

## Hierro

La concentración de hierro (Fe) en las hojas de primavera muestreadas siguió una evolución claramente creciente hasta el final de caída fisiológica (Figura 13). De modo que las concentraciones observadas en la extracción en floración (35-41 ppm) se vieron incrementadas aproximadamente en 1,5 veces al final de caída fisiológica (60-67 ppm). Desde este momento hasta la extracción realizada en la madurez del fruto, los valores de Fe se mantuvieron prácticamente constantes. La tendencia observada coincidiría nuevamente con la propuesta por Embleton *et al.* (1973a), que establecen los 4 primeros meses del desarrollo de las hojas de la brotación de primavera como el periodo de máximo incremento en la concentración foliar de este elemento.

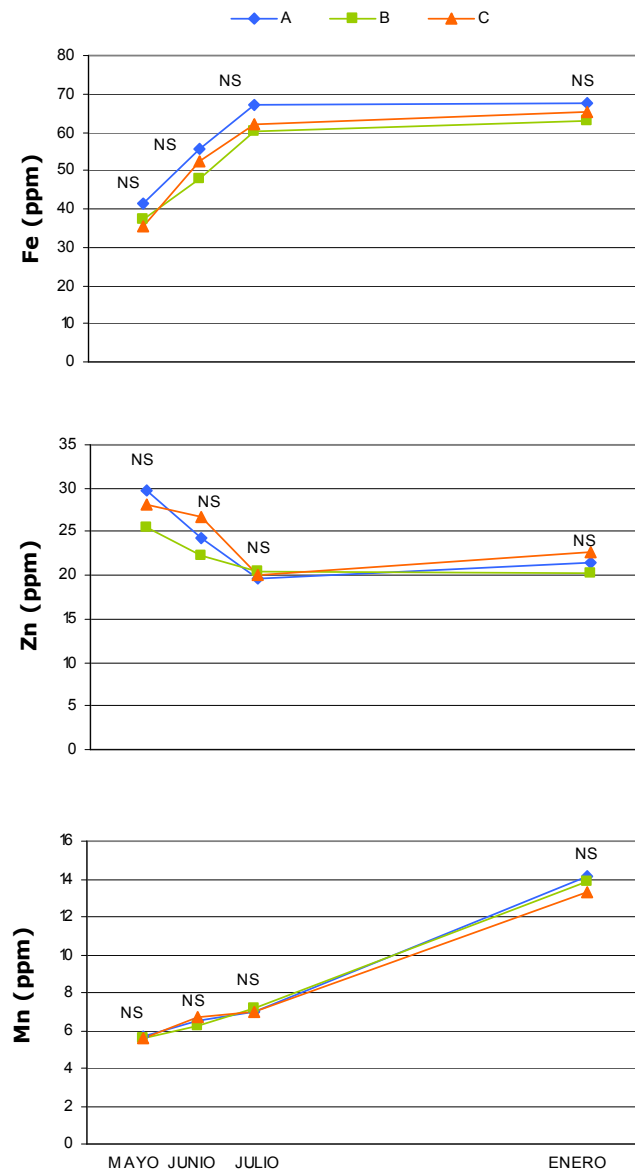
La concentración alcanzada por estas hojas en la maduración del fruto (65 ppm en promedio) sería normal de acuerdo con los niveles nutritivos estándar (61-100/120 ppm) propuestos por Smith (1966), Legaz *et al.* (1995b) y Kallesen (2003).

Por otro lado, si bien en todas las extracciones realizadas, los valores de Fe en los árboles de la distribución A fueron ligeramente superiores a los registrados en el resto de distribuciones, estas diferencias no fueron mayores desde un punto de vista estadístico. De acuerdo con Embleton *et al.* (1973b), la relación de ambos elementos no presenta una tendencia consistente.

## Zinc

Los valores de concentración de zinc (Zn) en las hojas de primavera mostraron una tendencia decreciente hasta el final de caída fisiológica (Figura 13), momento a partir del cual se mantuvieron constantes en torno a 20 ppm. Esta tendencia contrasta con el comportamiento, en forma de dientes de sierra, propuesto por Embleton *et al.* (1973a). Posiblemente, esta tendencia no se apreció debido a la ausencia de valores intermedios en el extenso periodo (6 meses) transcurrido entre la extracción de final de caída fisiológica y la realizada en la madurez del fruto.

Los valores de Zn fueron ligeramente bajos en el momento en que las hojas estuvieron totalmente desarrolladas, de acuerdo con la clasificación establecida por Smith (1966) y, posteriormente, por Legaz *et al.* (1995b) y Kallesen (2003), que proponen como rango bajo el comprendido entre 15 y 25 ppm. Esto puede ser debido a la baja absorción de Zn en suelos alcalinos, así como a cierto antagonismo del P y el Zn (Embleton *et al.*, 1973a).



**Figura 13.** Evolución de la concentración sobre peso seco de hierro, zinc y manganeso en hojas de primavera en las extracciones de floración (mayo), cuajado (junio), final de caída fisiológica (julio) y madurez del fruto (enero) en el ensayo de absorción. Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta final octubre.

ANOVA, diferencias no significativas para  $P > 0,05$  (NS).

## Manganeso

Este elemento presentó una tendencia acumulativa con el tiempo en las hojas de primavera (Figura 13). Las concentraciones de manganeso (Mn) prácticamente se duplicaron desde la primera extracción, realizada en floración (6 ppm), hasta el final del ciclo coincidiendo con la madurez del fruto (14 ppm). La tendencia estaría de acuerdo con la propuesta por Embleton *et al.* (1973a), sin embargo, los valores obtenidos se encuentran del nivel bajo (Smith, 1966; Legaz *et al.*, 1995b; Kallesen, 2003). Las condiciones de alcalinidad del suelo del ensayo no favorecieron la absorción de este elemento. No se observaron diferencias en el comportamiento de los árboles de las distintas distribuciones estacionales estudiadas. Las concentraciones foliares de Zn y Mn fueron bajas, tal y como se ha observado, a pesar del aporte de un quelato múltiple con 4,5-0,5-1% en Fe-Zn-Mn.

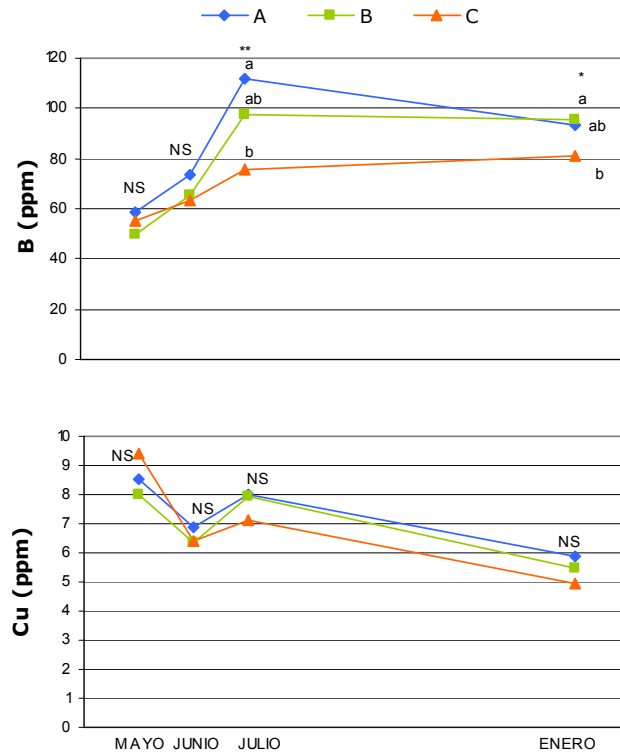
## Boro

La acumulación de boro en las hojas de primavera creció de manera acusada en el periodo comprendido entre floración y final de caída fisiológica, independientemente de la distribución de N (Figura 14). Esta tendencia creciente en la concentración de boro en las hojas de primavera a lo largo del ciclo coincidiría con la propuesta por Embleton *et al.* (1973a); de acuerdo con estos autores las concentraciones de este elemento crecerían desde 45 ppm al inicio del ciclo hasta las 125 ppm al final del mismo.

La concentración de boro fue significativamente superior en los árboles de la distribución A que en los que siguieron la distribución C. Las mayores dosis de N aportadas hasta el final de caída fisiológica con la distribución C (18,75 g N·árbol<sup>-1</sup>), en comparación con la distribución A (6,25 g N·árbol<sup>-1</sup>), serían responsables de una menor absorción de este elemento. Este comportamiento diferencial en la concentración de boro se explicaría por el efecto antagónico del anión borato frente al nitrato (Aduayi, 1978). Este hecho ha llevado a algunos autores a proponer el incremento de los niveles de N como medida para reducir la toxicidad del boro en los cítricos (Jones *et al.*, 1963). Otros autores han constatado asimismo reducciones en la concentración de este elemento al incrementar el aporte de N en cítricos. Bar *et al.* (1997) en plántones de 1 año de edad de Cleopatra (*Citrus reshni* Hort. ex Tanaka) y citrange Troyer (*Citrus sinensis* (L.) Osb. x *Poncirus trifoliata* (L.) Raf.) cultivados en un suelo arenoso observaron un decremento en los niveles foliares de boro de ambos patrones al aumentar la concentración de nitrato en la solución nutritiva de 2 a



16 mM en plantas sometidas a estrés salino. De manera recíproca, Rajaie *et al.* (2009) han estudiado la respuesta en el crecimiento y composición mineral de plántones de limonero cultivados en un suelo con diferentes concentraciones de boro (0-2,5-5-10-20  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  suelo); la máxima absorción de nitrógeno se presentó con las concentraciones bajas de este elemento (2,5  $\mu\text{g B}\cdot\text{g}^{-1}$  suelo).



**Figura 14.** Evolución de la concentración sobre peso seco de boro y cobre en hojas de primavera en las extracciones realizadas en floración (mayo), cuajado (junio), final de caída fisiológica (julio) y madurez del fruto (enero) en el ensayo de absorción. Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta final octubre.

ANOVA, diferencias significativas para  $P \leq 0,05$  (\*);  $P \leq 0,01$  (\*\*) y no significativas para  $P > 0,05$  (NS). Letras distintas en una misma extracción indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) según el test LSD-Fisher.

En el periodo comprendido entre el final de caída fisiológica y madurez la concentración de boro se mantuvo prácticamente constante para los árboles de la distribución B, mientras que en los árboles de la distribución C incrementó ligeramente de 75,6 a 80,1 ppm. Sin

embargo, la distribución A supuso un cambio en la tendencia disminuyendo ligeramente la concentración de este elemento en las hojas de primavera de 111,8 a 93,4 ppm. Estas tendencias provocaron que al final del ciclo los árboles de la distribución A presentaran un 18% más de boro que los árboles de las distribuciones B y C. Esta disminución en la concentración de B en las hojas de primavera se debería al efecto antagónico entre ambos elementos, producido por el acusado aporte de N (75% restante de la dosis de N) asociado a la distribución A, en el periodo entre final de caída fisiológica y madurez.

De acuerdo con los niveles foliares de referencia propuestos por Smith (1966), Legaz *et al.* (1995b) y posteriormente por Kallesen (2003), las concentraciones de este elemento en las extracciones de final de caída fisiológica y madurez se encontrarían en el intervalo óptimo (31-100 ppm).

### **Cobre**

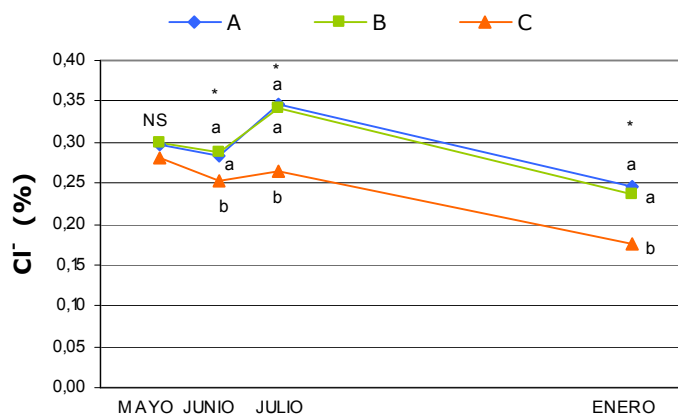
El análisis de las hojas de primavera demostró que la concentración de cobre (Cu) decreció desde 8-9 ppm en floración a 6-7 ppm en el cuajado, posteriormente incrementó hasta 7-8 ppm (Figura 14). Al final del ciclo en madurez del fruto, la concentración de Cu se situó por debajo de las 6 ppm, lo que de acuerdo con Smith (1966), Legaz *et al.* (1995b) y Kallesen (2003) sería un valor ligeramente bajo. Al igual que el Zn, podría ser debido a la mayor absorción de P. Embleton *et al.* (1973a) presentan una tendencia similar a lo largo del ciclo si bien con variaciones no tan acusadas como las obtenidas en el presente ensayo. La concentración de Cu no se vio afectada por la distribución estacional del fertilizante.

#### **4.1.1.9 Cloruro**

Debido a que la variedad estudiada estaba injertada sobre citrange Carrizo, patrón sensible a la salinidad (Rokba, 1979; Forner, 2002), se analizó la concentración de cloruros (Cl<sup>-</sup>) en hojas de primavera y raíz fina.

La concentración de este elemento en las hojas de primavera mostró desde la segunda extracción realizada durante el cuajado del fruto, un claro comportamiento diferencial en función de la distribución estacional del fertilizante (Figura 15). Mientras que los árboles de las distribuciones A y B presentaron un comportamiento prácticamente idéntico, los

árboles de la distribución C mostraron una concentración significativamente inferior de  $\text{Cl}^-$ . En la extracción realizada al final de caída fisiológica del fruto, si bien todos los árboles incrementaron su concentración foliar en  $\text{Cl}^-$  con respecto a la extracción previa durante el cuajado, este incremento fue mayor en las distribuciones A y B que alcanzaron una concentración 1,5 veces superior a la observada con el tratamiento C. En el periodo comprendido entre final de caída fisiológica y madurez del fruto, la concentración de este elemento disminuyó considerablemente en todos los casos, manteniéndose la diferencia descrita anteriormente entre tratamientos (A y B: 0,25% y C: 0,17%).



**Figura 15.** Evolución de la concentración de cloruro en las hojas de primavera en las extracciones de floración (mayo), cuajado (junio), final de caída fisiológica (julio) y madurez del fruto (enero) en el ensayo de absorción. Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta final octubre.

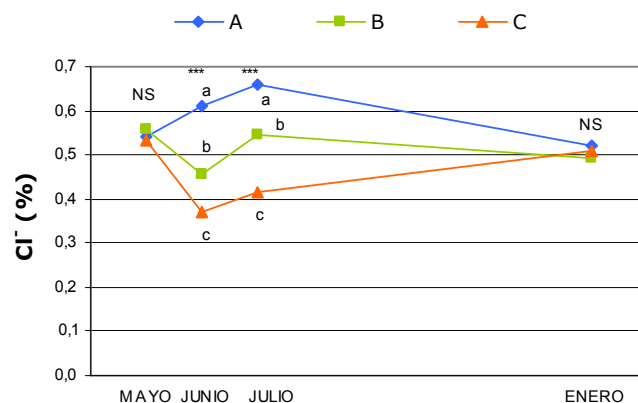
ANOVA, diferencias significativas para  $P \leq 0,05$  (\*) y no significativas para  $P > 0,05$  (NS). Letras distintas en una misma extracción indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) según el test LSD-Fisher.

La menor concentración de cloruro registrada en los árboles de la distribución C, durante el periodo transcurrido hasta final de caída fisiológica, se debería a dos factores principalmente. En primer lugar, al efecto de antagonismo aniónico (Bañuls *et al.*, 1990; y Primo-Millo *et al.*, 2000) entre el nitrato y el cloruro, consecuencia de las mayores dosis de N aportadas con esta distribución. Este antagonismo se debería, de acuerdo con Cram (1973) a las interacciones de ambos iones en los lugares de transporte iónico. Bar *et al.* (1997) en plántones de mandarina Cleopatra y citrange Troyer que recibieron concentraciones crecientes de cloruro (2, 16 y 48mM), obtuvieron una disminución en la concentración de cloruro en las hojas al incrementar de 2 a 6mM el nitrato presente en la solución nutritiva. Quiñones *et al.* (2007c) observaron que al aplicar cantidades crecientes de nitrato potásico a plantas jóvenes de Clementina de Nules disminuía el cloruro

absorbido. En segundo lugar, la estimulación del crecimiento asociada al incremento en el aporte de nitrato provocaría asimismo una dilución del ión cloruro presente en los tejidos de la planta. Al respecto, Bielorai *et al.* (1988) encontraron que aplicaciones de nitrato y potasio en dosis superiores a las normales disminuían el efecto negativo de la salinidad en naranjo Shamouti sobre lima dulce. Romero-Aranda y Syvertsen (1996), Cerezo *et al.*, (2000) e Iglesias *et al.*, (2004) encontraron una respuesta favorable frente al estrés salino con la aplicación de nitratos y otros compuestos derivados del nitrógeno como la urea o los aminoácidos. Estos autores explican la reducción de los efectos negativos de la salinidad, por el incremento en la biomasa asociado a los mayores aportes de N y la consiguiente dilución del cloruro. En el presente estudio, el efecto de dilución al incrementar la biomasa no fue consistente (Tabla 10); si bien al final de caída fisiológica la biomasa de las hojas de primavera en los árboles de la distribución C fue superior a la del resto de distribuciones, en el cuajado no se aprecian diferencias significativas en las biomásas, siendo la concentración de  $\text{Cl}^-$  significativa en ambos periodos.

De acuerdo con los estándares publicados en la bibliografía, la concentración de  $\text{Cl}^-$  en las hojas de primavera, cuando éstas tuvieron aproximadamente 7 meses de edad, se encontraría en el nivel óptimo ( $<0,2\%$ ) propuesto por Smith (1966), únicamente en el caso de los árboles de la distribución C. Según la clasificación posterior realizada por Embleton *et al.* (1973a), las tres distribuciones proporcionarían valores en torno al óptimo ( $<0,3\%$ ).

Debido a la clara influencia del patrón sobre la absorción del Cl (Cooper, 1961; Walker *et al.*, 1983; Levy *et al.*, 1992; Bañuls *et al.*, 1997), se analizó asimismo la concentración de este ión en las raíces finas de los árboles en todas las extracciones realizadas (Figura 16). El efecto antagónico del nitrato y cloruro en el cuajado y final de caída fisiológica fue aún más evidente que el observado en las hojas de primavera, encontrándose diferencias significativas en los árboles para las tres distribuciones. La concentración de  $\text{Cl}^-$  en estas dos extracciones disminuyó inversamente con el N aportado, de modo que con la distribución A que recibió menos N, los árboles absorbieron 1,6 veces más  $\text{Cl}^-$  que en C. Sin embargo, las concentraciones de  $\text{Cl}^-$  en la raíz fina convergieron al final del ciclo. En los árboles de la distribución A decreció el  $\text{Cl}^-$  debido al mayor aporte de N (75% de la dosis), en el último periodo, mientras que los de C presentaron una tendencia opuesta como consecuencia del menor aporte de N. Esta pauta no se observó en las hojas de la brotación de primavera debido a que desde el final de caída fisiológica éstas ya no son propiamente un sumidero del N aportado (Legaz *et al.*, 1982), por lo que se mantuvieron las diferencias entre tratamientos.



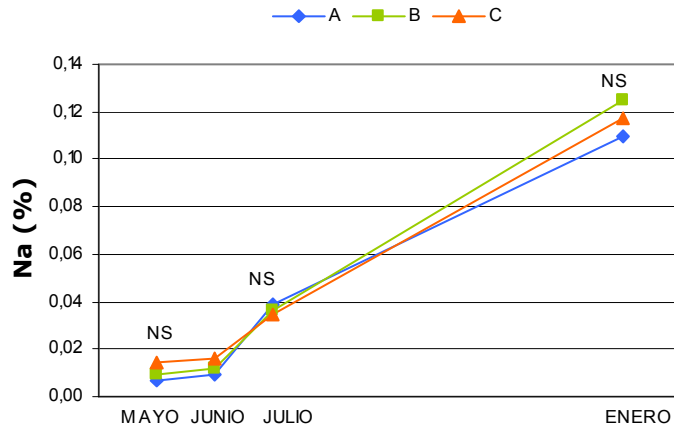
**Figura 16.** Evolución de la concentración de cloruro en la raíz fibrosa de los árboles extraídos en floración (mayo), cuajado (junio), final de caída fisiológica (julio) y madurez del fruto (enero) en el ensayo de absorción. Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta final octubre.

ANOVA, diferencias significativas para  $P \leq 0,001$  (\*\*\*) y no significativas para  $P > 0,05$  (NS). Letras distintas en una misma extracción indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) según el test LSD-Fisher.

Quiñones *et al.* (2008) estudiaron el antagonismo nitrato-cloruro en clementina de Nules injertada sobre un patrón tolerante a la salinidad, mandarino cleopatra, y otro sensible, citrange carrizo. En el patrón sensible, el cloruro se acumuló preferentemente en la raíz fina y en las hojas jóvenes; sin embargo, al incrementar el nitrato en la solución nutritiva de 3 a 6mM, se redujo significativamente la concentración de  $\text{Cl}^-$  en los órganos jóvenes y en la raíz fina, en condiciones de salinidad moderada (20mM NaCl) y alta (40mM), respectivamente.

#### 4.1.1.10 Sodio

El análisis de las hojas de primavera en los distintos estados fenológicos estudiados puso de manifiesto una tendencia creciente en la concentración de sodio (Na) a lo largo del ciclo (Figura 17). Los valores oscilaron entre un 0,01% en el momento de floración hasta un 0,12% al final del ciclo coincidiendo con la madurez del fruto; lo que situaría este valor en el rango ( $< 0,16\%$ ) considerado óptimo (Embleton, 1973a; Smith, 1966; Kallesen, 2003). La evolución observada en la concentración de este elemento a lo largo del ciclo, estaría de acuerdo con la propuesta por Embleton *et al.* (1973a), no apreciándose diferencias significativas entre los árboles correspondientes a las tres distribuciones estudiadas.



**Figura 17.** Evolución de la concentración de sodio en las hojas de primavera de los árboles extraídos en floración (mayo), cuajado (junio), final de caída fisiológica (julio) y madurez del fruto (enero) en el ensayo de absorción. Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta final octubre.

ANOVA, diferencias no significativas para  $P > 0,05$  (NS).

#### 4.1.1.11 Contenido en clorofilas

En la figura 18 se presentan los resultados de la concentración en clorofila a, b y total, de las hojas de primavera correspondientes a las extracciones realizadas en distintos momentos del ciclo vegetativo.

En las extracciones realizadas durante la floración y cuajado, no se observó respuesta en la concentración foliar de clorofilas a las cantidades crecientes de N aportadas. Al final de caída fisiológica, el contenido en clorofila a y total de las hojas de primavera correspondientes a los árboles de la distribución C, fue significativamente superior al hallado en los árboles de la distribución A. Dichas diferencias se debieron al aporte diferencial de N realizado; siendo mayor la cantidad de N aportada con la distribución C (75% de la dosis) que con la A (25%), lo que originó un mayor nivel foliar de N en los árboles de C que en A. Esta correlación positiva entre la concentración foliar de N y las clorofilas, se debe a que el N es un constituyente principal de los complejos captadores de luz (LHC- Light harvesting complexes) y de los centros de reacción, en los cuales este pigmento se asocia con proteínas para formar los complejos proteína-clorofila (Bredemeier y Schmidhalter, 2001); la deficiencia de este elemento tiene por tanto un efecto directo en

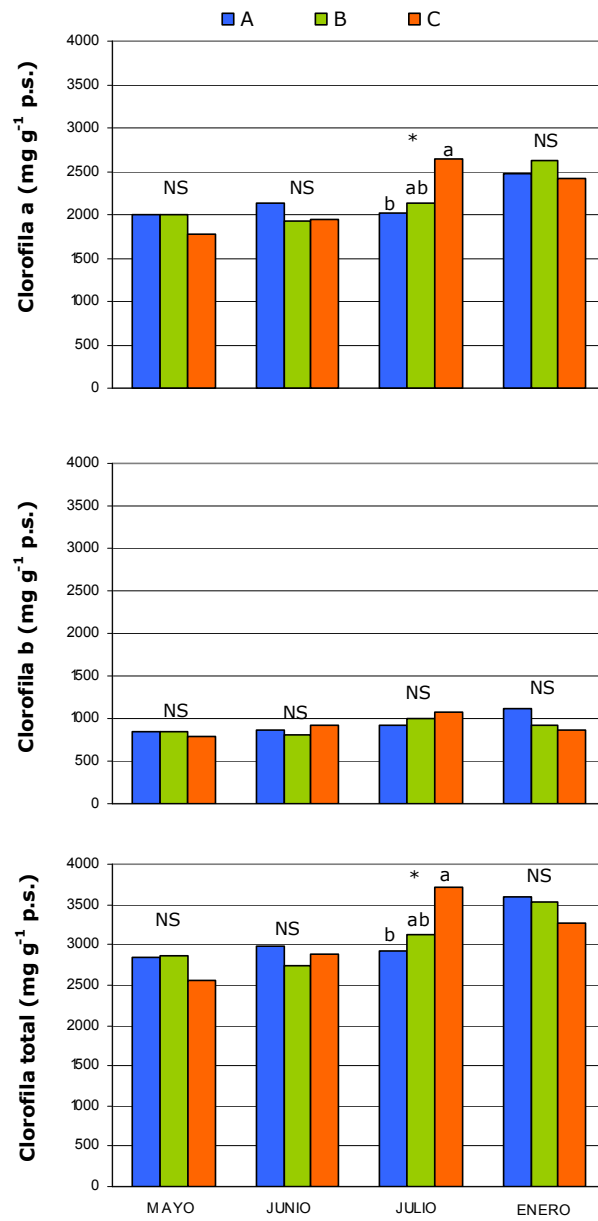
la síntesis de clorofila (Marschner, 1986; Grindlay, 1997). En lo que respecta a la clorofila b, no se apreciaron diferencias significativas entre los árboles de las distintas distribuciones en ningún momento del ciclo.

Las concentraciones de clorofila de los árboles de las tres distribuciones convergieron, sin embargo, al final del ciclo. Así, mientras que en los árboles de las distribuciones A y B creció la concentración en clorofilas debido al mayor aporte de N (75% y 50% de la dosis), en el último periodo, los de C presentaron una tendencia opuesta como consecuencia del menor aporte de N (25% de la dosis).

En la bibliografía se encuentran diversas referencias que confirman la relación positiva existente entre el N aportado y el contenido foliar en clorofilas en cítricos. Dutra *et al.* (2003) en un estudio llevado a cabo en dos patrones de limonero, Cravo (*Citrus limonia* Osb.) y Volkameriano (*Citrus volkameriana* Ten. y Pasq.) y dos patrones de mandarino, Cleopatra (*Citrus reshni* Hort. ex Tan.) y Sunki (*Citrus sunki* Hort. ex Tan.), al aplicar dosis crecientes de N encontraron una correlación positiva en todos los casos entre el N aportado y el contenido en clorofila total de las hojas ( $R^2 = 0,94$  a  $0,99$ ).

Menino *et al.* (2004) en naranjos Lane Late jóvenes cultivados en campo, aplicaron desde marzo a octubre, dosis diferenciales de N (20, 40, 80, 160 y 320 g N·árbol<sup>-1</sup>). El análisis foliar en abril no reveló diferencias en el contenido de clorofila a, b o total. Estos resultados, estarían de acuerdo con la ausencia de respuesta obtenida en el presente ensayo en las extracciones iniciales. Sin embargo, estos autores observaron en octubre un contenido en clorofilas creciente de acuerdo con las dosis de N aportadas.

Cabe mencionar que algunos autores plantean la existencia de un umbral de N aportado, superado el cual la concentración foliar de clorofilas no incrementaría. Así, Lea-Cox y Syvertsen (1996), obtuvieron una respuesta asintótica del contenido foliar de clorofilas con dosis crecientes de N aportadas en limón Volkameriano y en naranjo amargo (*Citrus aurantium* L.).



**Figura 18.** Evolución de la concentración de clorofilas en hojas de primavera del ensayo de absorción, en floración (mayo), cuajado (junio), final de caída fisiológica (julio) y madurez del fruto (enero). Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta final octubre.

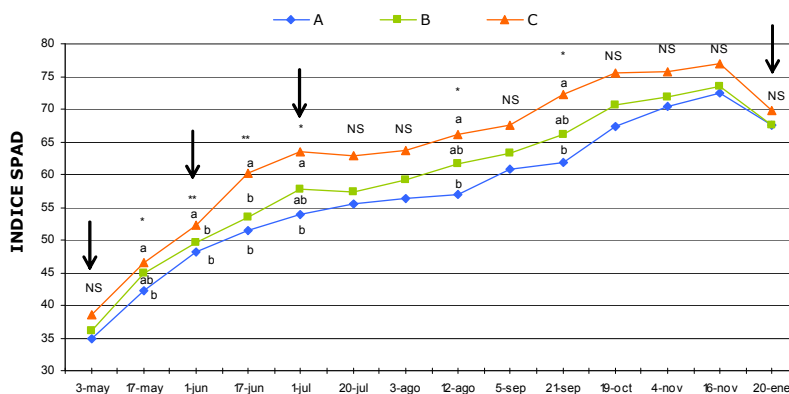
ANOVA, diferencias significativas para  $P \leq 0,05$  (\*) y no significativas para  $P > 0,05$  (NS). Letras distintas en una misma fecha indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) según el test LSD-Fisher.



#### 4.1.1.12 Índice de SPAD

En la figura 19 se presentan los resultados de las lecturas quincenales del índice de SPAD. Este parámetro estima de manera indirecta el contenido en clorofilas de las hojas a través del color verde de éstas.

Los resultados del presente estudio mostraron que, independientemente de la distribución estacional de N aplicada, los valores de índice de SPAD crecieron de manera continuada hasta casi duplicarse al final del ciclo. Únicamente decreció el valor de este índice en el momento correspondiente a la extracción realizada en madurez del fruto, probablemente como consecuencia de las menores concentraciones foliares de N y Mg en ese momento.



**Figura 19.** Evolución del índice de SPAD en hojas de primavera del ensayo de absorción, en floración (mayo), cuajado (junio), final de caída fisiológica (julio) y madurez del fruto (enero). Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta final octubre.

ANOVA, diferencias significativas para  $P \leq 0,05$  (\*),  $P \leq 0,01$  (\*\*) y no significativas para  $P > 0,05$  (NS). Letras distintas en una misma fecha indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) según el test LSD-Fisher. Las flechas indican los momentos de extracción de los árboles.

Los árboles fertilizados de acuerdo con la curva C presentaron valores de SPAD superiores a los de la distribución A; mientras que con la distribución B los valores fueron intermedios a ambas. Las diferencias observadas entre plantas pertenecientes a las distintas distribuciones estacionales de N fueron especialmente acusadas entre principios de junio y final de septiembre; fecha a partir de la cual los valores correspondientes a las tres distribuciones tendieron a converger.

En el estudio llevado a cabo por Dutra *et al.* (2003) en limonero (Cravo y Volkameriano) y mandarino (Cleopatra y Sunki) encontraron una correlación positiva entre el N aportado y el índice de SPAD, así como entre el contenido en clorofilas y este índice. La obtención de las correspondientes curvas de regresión permitió a estos autores establecer una tabla del estado nutricional en N en función de este índice. En un estudio en naranjos Lane Late jóvenes cultivados en campo, tras la aplicación desde marzo a octubre de dosis crecientes de N (20, 40, 80, 160 y 320 g N·árbol<sup>-1</sup>), Menino *et al.* (2004) obtuvieron una correlación positiva entre la concentración foliar de N y el índice de SPAD.

#### 4.1.1.13 Parámetros de calidad del fruto

En la tabla 20 se presentan los valores de los parámetros de calidad del fruto analizados durante la madurez del mismo en la extracción realizada en enero. Tal y como se explica en el epígrafe de la biomasa de ambos ensayos (Tablas 10 y 24), las diferencias observadas en el peso de los frutos como consecuencia de la distribución estacional del N aplicado fueron inconsistentes. De igual manera, no se puede establecer una relación directa entre el número de frutos por árbol y el aporte estacional del N como consecuencia de las diferencias observadas entre las producciones de ambos ensayos. Los restantes parámetros indicadores de la calidad del fruto no se vieron afectados por la distribución estacional del fertilizante. Es importante destacar, que el número de frutos por árbol no se ajusta al tamaño habitual de muestra (25 frutos) en los análisis de calidad de la cosecha.

**Tabla 20.** Parámetros de calidad del fruto en función de las distribuciones estacionales del N aplicado (A, B y C)<sup>Z</sup> en el ensayo de absorción.

	A	B	C	ANOVA <sup>Y</sup>
Peso fresco (g)	2.089,6 <sup>X</sup> ab <sup>W</sup>	1.738,2b	2.991,8a	* (0,050)
Nº frutos· árbol <sup>-1</sup>	8,0ab	6,5b	11,3a	* (0,047)
Diámetro fruto (mm)	80,8	80,7	74,3	NS (0,210)
Espesor corteza (mm)	4,9	4,7	4,6	NS (0,798)
Índice color <sup>V</sup>	10,7	10,6	10,1	NS (0,634)

	A	B	C	ANOVA
Corteza (g·kg <sup>-1</sup> )	240,3	282,5	252,0	NS (0,402)
Pulpa (g·kg <sup>-1</sup> )	263,0	263,5	287,7	NS (0,187)
Zumo (g·kg <sup>-1</sup> )	469,3	428,0	444,3	NS (0,231)
Sólidos solubles (g·kg <sup>-1</sup> )	108,0	117,0	121,7	NS (0,201)
Acidez total (g·L <sup>-1</sup> )	12,0	12,8	14,5	NS (0,070)
Índice madurez	9,0	9,1	8,4	NS (0,502)

<sup>Z</sup>: Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y 75, 50 y 25% restante hasta octubre. <sup>Y</sup>: ANOVA, diferencias significativas para P≤0,05 (\*) y no significativas para P>0,05 (NS); entre paréntesis se indica el P-valor. <sup>X</sup>: Cada valor es la media de 3 árboles. <sup>W</sup>: Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas (P<0,05) según el test LSD-Fisher. <sup>V</sup>: Según escala Hunter Lab.

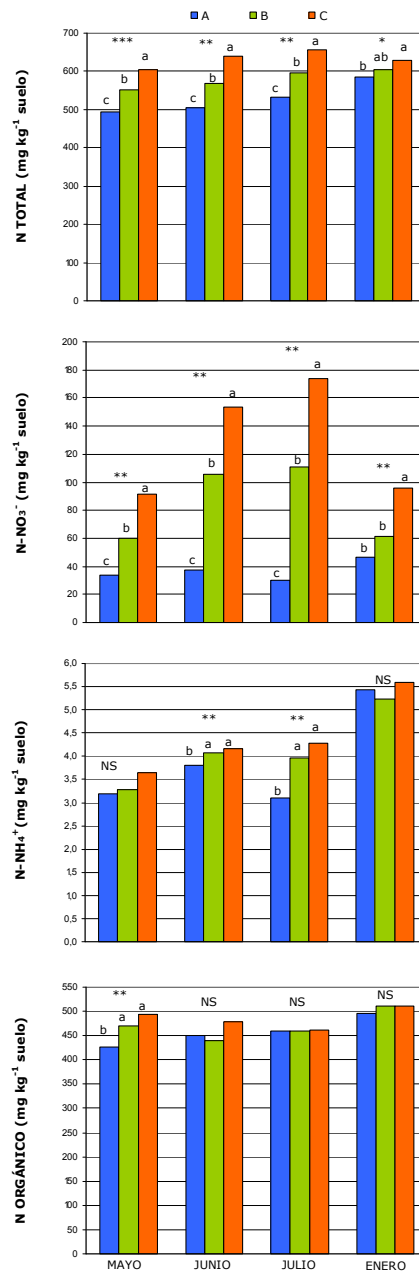
Al igual que en el presente estudio, Quiñones *et al.* (2003a), en navelinos adultos, no encontraron diferencias significativas en los parámetros de calidad del fruto, como consecuencia del aporte retrasado del fertilizante nitrogenado. Estos autores únicamente apreciaron un índice de color significativamente inferior en los frutos que recibieron de forma tardía el aporte de N. La ausencia de respuesta en el índice de color en el presente ensayo podría ser debido a la edad de las plantas, así como a la variabilidad presentada en la producción de los árboles.

## 4.1.2 SUELO

En el presente apartado se analizan los resultados de los análisis efectuados en las muestras de suelo provenientes de las extracciones realizadas a lo largo del ciclo vegetativo. Concretamente se analiza la concentración del N y del  $^{15}\text{N}$  total del suelo, así como las distintas fracciones que lo componen: nítrica ( $\text{N-NO}_3^-$ ), amoniacal ( $\text{N-NH}_4^+$ ) y orgánica (N-Norg).

### 4.1.2.1 Concentración de N total en el suelo

La concentración de N ( $\text{mg N}\cdot\text{kg}^{-1}$  suelo) se vio claramente influenciada por el aporte diferencial de fertilizante (Figura 20). En las extracciones realizadas hasta el final de caída fisiológica, los suelos de las tres distribuciones estacionales estudiadas mostraron, desde un punto de vista estadístico, concentraciones significativamente crecientes del total de N en el sentido en el que incrementaron los aportes ( $A < B < C$ ) de este elemento. Las diferencias entre los tres tratamientos permanecieron uniformes durante las tres primeras extracciones. Concretamente, la concentración de N total en los suelos correspondientes a los árboles de la distribución C fue del 10 al 13% superior a la B, y ésta a su vez fue un 12% superior respecto a la distribución A.



**Figura 20.** Concentración de N en el total del suelo y en sus fracciones (nitrata, amoniacal y orgánica) en el ensayo de absorción, en floración (mayo), cuajado (junio), final de caída fisiológica (julio) y madurez del fruto (enero). Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta final octubre.

ANOVA, diferencias significativas para  $P \leq 0,05$  (\*);  $P \leq 0,01$  (\*\*) y  $P \leq 0,001$  (\*\*\*) y no significativas para  $P > 0,05$  (NS). Letras distintas en cada extracción indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) según el test LSD-Fisher.

En la extracción realizada en madurez del fruto, cuando el total de la dosis de N se hubo aportado en todos los tratamientos, la tendencia encontrada fue muy similar a la observada hasta el final de caída fisiológica, sin embargo las diferencias entre éstos se atenuaron. El hecho de que con la distribución A se aportara en este periodo final el 75% de la dosis (equivalente a  $18,75 \text{ g N}\cdot\text{árbol}^{-1}$ ), mientras que la distribución C tan sólo el 25% ( $6,25 \text{ g N}\cdot\text{árbol}^{-1}$ ), no supuso la inversión en la tendencia de las concentraciones de N en el suelo, como en principio cabría esperar. Esto se debería, tal y como se ha comentado al explicar los resultados obtenidos en planta, a la mayor eficiencia de absorción registrada por los árboles de la distribución A, que recibieron el mayor aporte de N en los momentos de máxima absorción. Por otro lado, mientras que las distribuciones A y B supusieron un ligero incremento en la concentración de este elemento, con respecto a los valores registrados al final de caída fisiológica, con la distribución C la concentración disminuyó. Las diferencias entre tratamientos sólo fueron significativas entre las distribuciones A y C, siendo un 7% superior la concentración de N en el suelo de la distribución C.

#### 4.1.2.2 Concentración de N en la fracción nítrica

La concentración de  $\text{N-NO}_3^-$  en el suelo (Figura 20) en las distintas extracciones se vio considerablemente afectada por los aportes diferenciales asociados a las distintas curvas de distribución del abonado nitrogenado. Las diferencias entre tratamientos fueron aún más notables que las observadas en el total del N del suelo, ya que al realizarse los aportes de fertilizante en forma nítrica, ésta fue la fracción del suelo que se vio alterada en mayor medida.

En las extracciones correspondientes con el momento de floración, cuajado y final de caída fisiológica, los suelos presentaron concentraciones crecientes de  $\text{N-NO}_3^-$  ( $A < B < C$ ), paralelas a los aportes del fertilizante, siendo significativas las diferencias para las tres curvas en estos periodos. La distribución C superó en 1,5 veces la concentración de  $\text{N-NO}_3^-$  obtenida en los suelos que recibieron el fertilizante de acuerdo con la distribución B en estas tres primeras extracciones. Sin embargo, las diferencias observadas entre las distribuciones más extremas (A y C) fueron creciendo hasta llegar a superar la concentración de  $\text{N-NO}_3^-$  de C en 5,8 veces la concentración del suelo de A. Esto se debió a que si bien la concentración de nitrato con C fue creciendo (de  $91,4$  a  $173,6 \text{ mg N-NO}_3^- \cdot \text{kg}^{-1}$  suelo) con los aportes de fertilizante, en cambio, en la distribución A ésta se mantuvo prácticamente constante como consecuencia de los menores aportes efectuados. Así, mientras que con la distribución A se aportaron  $6,25 \text{ g}$  de N en forma de  $\text{Ca(NO}_3)_2$  hasta el final de caída fisiológica, con la distribución C esta cantidad se triplicó ( $18,75 \text{ g N}$ ). Por

otro lado, es igualmente al final de caída fisiológica cuando se hacen máximas las diferencias entre el ratio N absorbido por la planta/N aplicado (EUN) con la distribución A (65,4%) y con la distribución C (38,5%), lo que contribuyó a incrementar las diferencias observadas en el nitrato residual en el suelo de ambas distribuciones.

Al final del ciclo, en la extracción realizada en la madurez del fruto, se observó una disminución considerable de la fracción nítrica en los suelos de la distribución C, que disminuyó hasta  $96,0 \text{ mg N-NO}_3^- \cdot \text{kg}^{-1}$  suelo, como consecuencia de los menores aportes de fertilizante realizados en el último periodo (25% restante de la dosis). A pesar de esta disminución, los valores fueron significativamente superiores a los alcanzados con las distribuciones A y B ( $46,5$  y  $61,4 \text{ mg N-NO}_3^- \cdot \text{kg}^{-1}$  suelo, respectivamente), muy probablemente debido a la importante cantidad de N residual en el suelo al final de la caída fisiológica ( $173,6 \text{ mg N-NO}_3^- \cdot \text{kg}^{-1}$  suelo). En cambio, el incremento en la cantidad de N aportada con la curva A con respecto al periodo anterior (75% de la dosis) apenas contribuyó a incrementar esta fracción del suelo debido a la considerable absorción por las plantas de dicha distribución en este periodo. Es importante recordar, que en el periodo comprendido entre el final de la caída fisiológica y madurez del fruto, en el que se aplicó el 75, 50 y 25% restante de las dosis para cada distribución, se produjo una mayor absorción de N procedente del fertilizante en todas las curvas ( $9.426$ ,  $7.248$  y  $4.214 \text{ mg N}$ , para A, B y C), que cuando estos mismos aportes se realizaron hasta el final de caída fisiológica ( $7.218$ ,  $5.466$  y  $4.079 \text{ mg N}$  para C, B y A, respectivamente).

Es importante destacar por tanto, que independientemente del momento de muestreo, la distribución C conllevó mayores concentraciones de N en la fracción nítrica del suelo.

#### 4.1.2.3 Concentración de N en la fracción amoniacal

Esta fracción es la menor de todas las formas de N presentes en el suelo, sin embargo, se encontraron diferencias significativas según las distribuciones aplicadas (Figura 20) en las extracciones realizadas en cuajado (junio) y final de caída fisiológica (julio). La fracción amoniacal de la distribución A se mantuvo prácticamente constante hasta el final de caída fisiológica, con valores en torno a los  $3,5 \text{ mg N-NH}_4^+ \cdot \text{kg}^{-1}$  suelo; con las distribuciones B y C la concentración de esta fracción creció hasta ese momento. Al final del ciclo, durante la madurez del fruto, los suelos de las tres distribuciones presentaron concentraciones similares ( $5,5 \text{ mg N-NH}_4^+ \cdot \text{kg}^{-1}$  suelo).

#### 4.1.2.4 Concentración de N en la fracción orgánica

Esta fracción, que constituye el grueso del N presente en el suelo, se mantuvo prácticamente inalterada a lo largo del ciclo (Figura 20). Debido a que son continuos los procesos de incorporación de N a esta fracción, así como de mineralización de ésta, se verían amortiguados los cambios producidos en el total del suelo.

Únicamente se apreciaron diferencias en el contenido de N de esta fracción al inicio del ensayo, siendo mayores los valores presentados para los suelos correspondientes a las distribuciones B y C.

#### 4.1.2.5 Enriquecimiento en $^{15}\text{N}$ del total del N en el suelo

Al igual que en la planta, es el análisis de los valores del enriquecimiento en el trazador  $^{15}\text{N}$  el que aporta información fidedigna del comportamiento del N aplicado con el fertilizante. En la figura 21 se presentan los valores de enriquecimiento en  $^{15}\text{N}$  (átomos % en exceso) del total de N presente en el suelo, así como en las fracciones nítrica, amoniacal y orgánica.

El enriquecimiento en  $^{15}\text{N}$  del N total del suelo presentó un comportamiento claramente diferencial de acuerdo con la distribución del fertilizante seguida. Concretamente, la distribución A supuso un incremento continuo del  $\%^{15}\text{N}$ , desde la floración hasta la extracción final en madurez del fruto. Este incremento fue más acusado en el periodo entre el final de la caída fisiológica y la madurez (2,4 veces) que en la etapa previa entre floración y final de caída fisiológica (1,6 veces), como consecuencia de los mayores aportes de  $^{15}\text{N}$  realizados entre julio y octubre (75% de la dosis).

Sin embargo, con las distribuciones B y C los suelos se enriquecieron de forma creciente tan sólo hasta el final de la caída fisiológica. Dicho enriquecimiento fue especialmente acusado en los suelos de los árboles que siguieron la distribución C, ya que, tal y como se ha explicado, los aportes superaron ampliamente la cantidad de  $^{15}\text{N}$  absorbida por la planta. Así, al final de la caída fisiológica del fruto el  $^{15}\text{N}$  aplicado con la distribución C (937,5 mg) triplicó el aportado con la distribución A (312,5 mg), mientras que las plantas en su conjunto, incluyendo órganos caídos absorbieron tan sólo 1,8 veces más  $^{15}\text{N}$  en C (405,6) que en A (228,3 mg). Como consecuencia de este desequilibrio entre aplicado y absorbido, el total de N del suelo se enriqueció 5,4 veces más con la distribución C que con la A. Asimismo, contribuye a este efecto la dilución isotópica del  $^{15}\text{N}$  aportado con el N

no marcado del suelo, siendo con la distribución C considerablemente inferior al ocurrido en el suelo de la distribución A. Entre el final de caída fisiológica y el momento de madurez del fruto, decreció el enriquecimiento en los suelos de B y C en un 26% y un 36%, respectivamente. A pesar de este cambio en la tendencia en B y C, las tres distribuciones mantuvieron enriquecimientos crecientes en el sentido  $A < B < C$ , en todas las extracciones realizadas, si bien fueron menos acusadas las diferencias entre éstas en madurez del fruto.

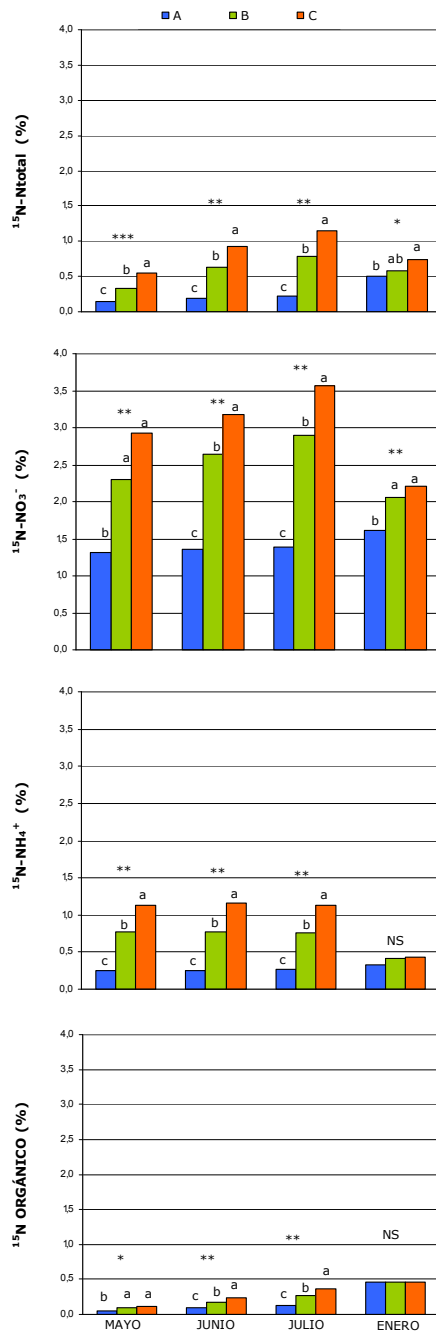
#### 4.1.2.6 Enriquecimiento en $^{15}\text{N}$ del N en la fracción nítrica

La evolución del enriquecimiento en  $^{15}\text{N}$  de la fracción nítrica a lo largo del ciclo (Figura 21) siguió una tendencia paralela a la mostrada por la concentración de nitrato total del suelo (Figura 20), ya que éste provino fundamentalmente del fertilizante.

Es importante destacar que aunque el fertilizante se aplicó enriquecido al 5% en átomos de  $^{15}\text{N}$ , en la primera extracción realizada los enriquecimientos obtenidos fueron en las tres distribuciones notablemente inferiores a este valor. Este descenso en el enriquecimiento se debe al efecto de dilución isotópica provocado por el nitrato presente en el suelo antes del abonado y el aportado por el agua de riego. Esta dilución inicial fue mucho más acusada con los menores aportes de  $^{15}\text{N}$  (distribución A).

Durante floración, cuajado y final de caída fisiológica, la fracción nítrica del suelo de la distribución A mantuvo un enriquecimiento prácticamente constante, en torno al 1,35% (Figura 21), a pesar del aporte continuado del fertilizante marcado, como consecuencia de la elevada eficiencia de absorción registrada con esta distribución. Sin embargo, con las distribuciones B y C, al igual que ocurrió en el total del  $^{15}\text{N}$  del suelo, la fracción nítrica se enriqueció de forma continuada como consecuencia por un lado de la menor dilución isotópica ocasionada con estas distribuciones, y por otro, al superar considerablemente los aportes de  $^{15}\text{N}$  la cantidad absorbida. Las diferencias en enriquecimiento con respecto a la curva de distribución A se hicieron máximas al final de la caída fisiológica, alcanzándose valores en torno al 3,6% con la distribución C. Del mismo modo, Lea-Cox *et al.* (2001) hallaron concentraciones crecientes de  $^{15}\text{NO}_3^-$  en el suelo al aplicar mayores cantidades de fertilizante marcado con  $^{15}\text{N}$ .





**Figura 21.** Enriquecimiento en  $^{15}\text{N}$  del N presente en el total del suelo y en sus fracciones (nitrata, amoniacal y orgánica) en el ensayo de absorción, en las extracciones en floración (mayo), cuajado (junio), final de caída fisiológica (julio) y madurez del fruto (enero). Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta final octubre.

ANOVA, diferencias significativas para  $P \leq 0,05$  (\*);  $P \leq 0,01$  (\*\*) y  $P \leq 0,001$  (\*\*\*) y no significativas para  $P > 0,05$  (NS). Letras distintas en cada extracción indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) según el test LSD-Fisher.

En la extracción final en madurez del fruto, el enriquecimiento de la fracción nítrica en los suelos de la curva A incrementó ligeramente (16%), como consecuencia del aporte del grueso de la dosis de  $^{15}\text{N}$  (937,5 mg). Por el contrario, las distribuciones B y C disminuyeron su  $\%^{15}\text{N-NO}_3^-$ , con valores aún más bajos que los mostrados en la extracción en floración. A pesar de este empobrecimiento en la fracción nítrica, los valores presentados en los suelos de las distribuciones B y C superaron significativamente al obtenido con A.

Si bien son numerosos los estudios encontrados en la bibliografía sobre la absorción de  $^{15}\text{N}$  en cítricos, gran parte de estos son en hidroponía o en el caso de que se realicen en el suelo, los resultados se abordan únicamente desde el punto de vista de la planta, por lo que no es posible una discusión adecuada de los presentes resultados.

#### 4.1.2.7 Enriquecimiento en $^{15}\text{N}$ del N en la fracción amoniacal

Desde la primera extracción realizada, aproximadamente 2 meses después del inicio del abonado, parte del  $^{15}\text{N}$  aplicado en forma nítrica se recuperó en la fracción amoniacal (Figura 21), como consecuencia del rápido proceso de inmovilización y posterior mineralización de la materia orgánica marcada. De acuerdo con Barraclough (1995), en suelos con temperaturas de hasta 15 °C, la mineralización del  $^{15}\text{N}$  tendría lugar a partir de los 7 días posteriores a la inmovilización de éste; dicho intervalo se reduciría a 3-5 días en zonas tropicales, donde el suelo alcanza hasta 23 °C. Estudios llevados a cabo en cítricos confirman la aparición, en periodos relativamente cortos, de amonio marcado con  $^{15}\text{N}$  tras la aplicación de fertilizantes nítricos. Martínez (2002), un mes después de la aplicación de nitrato potásico marcado al 8,5%, identificó enriquecimientos en  $^{15}\text{N}$  en la fracción amoniacal en torno al 1%. Asimismo Quiñones *et al.* (2007a), 6 días después de la aplicación de nitrato potásico enriquecido al 7%, observaron un 0,27% de  $^{15}\text{N}$  en el N de la fracción amoniacal.

El enriquecimiento de la fracción amoniacal se mantuvo constante desde la floración hasta el final de la caída fisiológica para las tres distribuciones, con valores en torno al 0,26; 0,78 y 1,15% de  $^{15}\text{N-NH}_4^+$  para las distribuciones A, B y C, respectivamente. Al final del ciclo las tres distribuciones presentaron enriquecimientos similares (0,32-0,42%  $^{15}\text{N-NH}_4^+$ ) y considerablemente inferiores al resto de extracciones, a excepción de la distribución A.

#### 4.1.2.8 Enriquecimiento en $^{15}\text{N}$ del N en la fracción orgánica

Parte del  $^{15}\text{N}$  aplicado con el fertilizante se inmovilizó en la fracción orgánica, como consecuencia de la fijación microbiana de éste (Figura 21). Así en la primera extracción, realizada a los dos meses de iniciar el abonado, ya se observan enriquecimientos entre el 0,05 y 0,12% de  $^{15}\text{N}$  en las fracciones orgánicas de los suelos de las distribuciones A y C, respectivamente.

El enriquecimiento en  $^{15}\text{N}$  de la fracción orgánica presentó una tendencia creciente para las tres distribuciones a lo largo de todo el ciclo. Los aportes diferenciales de  $^{15}\text{N}$  hasta final de caída fisiológica provocaron un marcado del N orgánico creciente en el sentido  $A < B < C$ , desde la primera extracción realizada. Sin embargo, en la última extracción, cuando se hubo aportado la misma cantidad de  $^{15}\text{N}$  mediante las tres curvas de distribución, todos los suelos presentaron un enriquecimiento igual en su fracción orgánica, en torno al 0,45%  $^{15}\text{N}$ .

Quiñones (2002), también obtuvo enriquecimientos crecientes en  $^{15}\text{N}$ , desde el inicio del abonado hasta el final del ciclo vegetativo, en el N correspondiente a la fracción orgánica del suelo. La aplicación de nitrato potásico marcado al 7%, a un suelo franco arcillo-arenoso, desde marzo a octubre, tuvo como resultado una concentración de  $^{15}\text{N}$  en exceso del N orgánico del 0,16% en promedio en los 30 cm superficiales del perfil del suelo. Este valor, a pesar de la aplicación de un fertilizante más enriquecido, es inferior al obtenido con las presentes condiciones de ensayo, debido probablemente a que los contenidos de arcilla y materia orgánica del suelo empleado fueron inferiores a los del suelo del presente ensayo.

#### 4.1.3 RECUPERACIÓN DEL N APLICADO EN EL SISTEMA PLANTA-SUELO

En la tabla 21 se presenta el porcentaje de fertilizante recuperado en cada uno de los compartimentos estudiados del sistema planta-suelo.

Hasta el final de caída fisiológica, 4 meses después del inicio de la aplicación del abono, se recuperó en el conjunto de planta y suelo, entre el 83 y 89% del N aplicado. La pauta diferencial de distribución estacional del N únicamente originó diferencias significativas en la extracción realizada al final de caída fisiológica,

momento en el que el N recuperado en el sistema fue significativamente superior en los árboles que recibieron un menor aporte de N hasta esta fecha (distribución A). Feigenbaum *et al.* (1987) obtuvo una respuesta similar con la aplicación de dosis diferenciales; concretamente, logró eficiencias del 62 y 56% en el total del sistema árbol-suelo, al aplicar una dosis baja y alta, respectivamente, de nitrato potásico marcado en naranjos Shamouti adultos en campo.

En la última extracción, realizada 3 meses después de finalizar la aplicación de la dosis de N, la cantidad total recuperada descendió notablemente, situándose en torno al 67% del N aplicado, independientemente de la distribución de fertilizante seguida. Esta reducción en el total recuperado se debería a las pérdidas ocasionadas por la desnitrificación.

La pauta de distribución del abonado afectó claramente a la proporción de N del fertilizante recuperada en la planta y/o en el suelo. La distribución A supuso una acumulación en la planta del N aplicado, significativamente superior a la alcanzada con las distribuciones B y C, en todas las extracciones realizadas. De forma general, el N recuperado en la planta siguió una tendencia creciente a lo largo del ciclo, independientemente de la distribución de fertilizante seguida. Esta tendencia ha sido explicada detalladamente en el epígrafe correspondiente a la eficiencia de uso del N por la planta (Tabla 19 y Figura 10).

La proporción de N procedente del fertilizante retenida en los órganos caídos siguió, durante las tres primeras extracciones, una tendencia paralela a la observada en la planta, presentando valores que apenas variaron en los tres periodos. Estos valores oscilaron en torno al 8,3; 5,6 y 4,6% en promedio, para las distribuciones A, B y C, respectivamente. En la última extracción, la proporción de N retenida en los órganos caídos mostró una tendencia opuesta a la planta. Este cambio en la tendencia fue debido a que, si bien el N acumulado en los órganos caídos no varió respecto a los periodos anteriores (Tabla 13), puesto que la abscisión de éstos se produjo principalmente en el periodo comprendido entre floración y final de caída fisiológica, el N aplicado incrementó con los aportes posteriores a su abscisión, variando por tanto la proporción que representó el N retenido por éstos frente al total aplicado.

**Tabla 21.** Nitrógeno recuperado del fertilizante (Nrf)<sup>z</sup> en el sistema planta-suelo en el ensayo de absorción en los principales momentos fenológicos.

	FLORACIÓN (MAYO)				CUAJADO (JUNIO)			
	A	B	C	ANOVA <sup>x</sup>	A	B	C	ANOVA
Planta	50,46a <sup>y</sup>	37,11b	33,25b	* (0,036)	53,30a	36,65b	32,30b	** (0,008)
Órganos caídos	7,55a	4,41b	3,23b	** (0,004)	9,60a	6,84b	5,99b	* (0,035)
<b>PLANTA</b>	58,01a	41,52b	36,48b	* (0,025)	62,90a	43,49b	38,29b	** (0,006)
Nitrato	20,84b	34,33ab	42,00a	* (0,045)	11,95b	33,09a	38,11a	** (0,010)
Amonio	0,39b	0,63a	0,65a	* (0,038)	0,24b	0,38a	0,38a	** (0,004)
Orgánico	9,75	10,19	8,97	NS (0,256)	9,55	8,82	8,87	NS (0,435)
<b>SUELO</b>	30,98b	45,15a	51,62a	* (0,029)	21,74b	42,29a	47,36a	** (0,010)
<b>PLANTA+SUELO</b>	88,99	86,67	88,10	NS (0,354)	84,64	85,78	85,65	NS (0,356)

	FINAL CAÍDA FISIOLÓGICA (JULIO)				MADUREZ FRUTO (ENERO)			
	A	B	C	ANOVA	A	B	C	ANOVA
Planta	65,27a	43,73b	38,50b	*** (0,001)	54,03a	50,86ab	45,73b	* (0,048)
Órganos caídos	7,78a	5,47b	4,76b	** (0,004)	1,86b	3,05ab	3,76a	* (0,036)
<b>PLANTA</b>	73,05a	49,20b	43,26b	*** (<0,001)	55,89	53,91	49,49	NS (0,356)
Nitrato	6,34c	24,20b	31,52a	*** (<0,001)	2,83b	4,66b	7,78a	** (0,010)
Amonio	0,13b	0,23a	0,25a	** (0,005)	0,07c	0,08b	0,09a	*** (0,001)
Orgánico	8,86	9,33	8,64	NS (0,354)	8,41	8,65	8,55	NS (0,456)
<b>SUELO</b>	15,33b	33,76a	40,41a	*** (<0,001)	11,31b	13,39ab	16,42a	* (0,038)
<b>PLANTA+SUELO</b>	88,38a	82,96b	83,67b	** (0,006)	67,20	67,30	65,91	NS (0,423)

<sup>z</sup>: Nrf (%) =  $^{15}\text{N}$  compartimento (mg) x 100 /  $^{15}\text{N}$  aportado con fertilizante (mg) hasta el momento de la extracción <sup>y</sup>: Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta octubre. <sup>x</sup>: ANOVA, diferencias significativas para P≤0,05 (\*); P≤0,01 (\*\*); P≤0,001 (\*\*\*) y no significativas para P>0,05 (NS); entre paréntesis se indica el P-valor. <sup>w</sup>: Cada valor es la media de 3 árboles. <sup>v</sup>: Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas (P<0,05) según el test LSD-Fisher.

De manera opuesta a la planta, la proporción de N procedente del fertilizante retenida en el suelo mostró una tendencia decreciente a lo largo del ciclo, independientemente de la pauta de distribución estacional del abonado. Al final de la floración se alcanzaron valores del 31,0 y 51,6% para las distribuciones A y B, respectivamente, decreciendo a un 11,3 y 16,4% en la madurez del fruto. En todas las extracciones realizadas, la proporción de N acumulado en el suelo procedente del fertilizante aplicado, fue significativamente inferior en los árboles que recibieron un aporte tardío del grueso de la dosis de N (curva A), en comparación con el resto de distribuciones. Con las distribuciones B y C, el suelo retuvo cantidades similares de N del fertilizante. Otros autores han obtenido menores valores de recuperación de N en el suelo en árboles que recibieron dosis de N inferiores. Así, Feigenbaum *et al.* (1987) recuperaron en el suelo un 16% y un 5% del  $^{15}\text{N}$  aplicado en los árboles que recibieron una dosis alta y baja de N, respectivamente.

El N recuperado del fertilizante en el suelo, se encontró principalmente en la fracción nítrica; presentando una tendencia decreciente a lo largo del ciclo, similar a la descrita para el N retenido en el total del suelo. El mayor valor (42,0%) se obtuvo en

la extracción de mayo con el tratamiento C, como consecuencia de los mayores aportes de nitrato asociados a esta distribución. En cambio, al final del ciclo los menores valores, 2,8 y 4,7%, se registraron con A y B, respectivamente.

El N retenido en la fracción orgánica se mantuvo prácticamente constante a lo largo del ciclo, independientemente de la curva de distribución seguida, con valores entre el 9,5 y 10% del N aplicado. La fracción amoniacal, apenas contribuyó al N recuperado en el sistema, con valores que no superaron el 0,7% del N aplicado en la práctica totalidad del ciclo, presentando una tendencia similar a la observada en la fracción nítrica o en el total del suelo.

En la escasa bibliografía encontrada sobre la distribución en las distintas fracciones del suelo del N recuperado del fertilizante, los valores varían considerablemente en función de las condiciones de cada ensayo (cultivo, tipo de suelo, sistema de riego, dosis de N aportada y distribución de ésta). Recous *et al.* (1988) recuperaron un 17% y un 1% del  $^{15}\text{N}$  aplicado en la fracción orgánica y mineral, respectivamente, en trigo en un suelo con un contenido en materia orgánica del 2%. Bengtsson y Bergwall (2000) obtuvieron porcentajes de inmovilización orgánica muy elevados en un suelo forestal con una relación C/N muy alta. De modo que entre el 64-97% del N aplicado como  $^{15}\text{NO}_3^-$  y  $^{15}\text{NH}_4^+$  fue inmovilizado en forma orgánica. Esto indica que la relación C/N influye de manera decisiva en el destino del N aplicado.

Como consecuencia de la especial incidencia de las condiciones del ensayo en los porcentajes de N recuperados en las fracciones del suelo, los resultados encontrados en la bibliografía del efecto de la distribución estacional sobre esta variable, no son consistentes. Quiñones (2002) comparó los porcentajes de N retenidos en las distintas fracciones del suelo al aplicar nitrato potásico marcado a Navelinos adultos cultivados en un suelo franco arcillo arenoso, con un 0,6% de materia orgánica oxidable, siguiendo dos distribuciones estacionales. En este ensayo, los porcentajes de N retenidos en la fracción orgánica (11,4 y 11,7%) y nítrica (1,2-1,5%) fueron similares a la distribución en la que los máximos aportes se realizaron en mayo, junio y julio que al realizarla más retrasada julio, agosto y septiembre. Por otro lado, Martínez (2003) obtuvo porcentajes significativamente mayores de N del fertilizante retenidos en la fracción nítrica y orgánica, al realizar una aplicación de nitrato potásico marcado en verano (24 julio) que en primavera (26 marzo), a un suelo franco con un 1,2% de materia orgánica, en cambio, no observó diferencias en el N retenido en la fracción amoniacal.

## 4.2 ENSAYO DE TRANSLOCACIÓN

En el presente apartado se muestra la respuesta en la translocación hacia los órganos jóvenes del  $^{15}\text{N}$  acumulado en las reservas de las plantas en el ciclo anterior, en función de la distinta distribución estacional (curvas A, B y C) de una misma dosis de N.

### 4.2.1 PLANTA: ESTADO DE CARGA

En las tablas 22 y 23 se presentan los resultados correspondientes a los árboles extraídos en el periodo de latencia (noviembre) del año 2005. El objeto de esta extracción fue determinar la acumulación y distribución en la planta del  $^{15}\text{N}$  aplicado durante ese ciclo, que constituyó las reservas de la planta (estado de carga), para cuantificar posteriormente en el ciclo siguiente (año 2006), mediante extracciones sucesivas, su movilización durante el desarrollo de los nuevos tejidos.

Los árboles del ensayo de reservas, partieron de una biomasa en torno a los 780 g (Tabla 22), repartida casi por igual entre parte aérea (55%) y sistema radical (45%). En esta extracción no se diferenció entre las hojas y ramas de las distintas brotaciones, pues todas en conjunto constituyeron, junto con el tronco y el sistema radical, los órganos de reserva para el siguiente ciclo.

**Tabla 22.** Biomasa, concentración y contenido de N y su distribución relativa en las plantas pertenecientes al estado de carga del ensayo de translocación.

	<b>Biomasa (g)</b>	<b>N (%)</b>	<b>N (mg)</b>	<b>Distribución N (%)</b>
Total hojas	142,6±22,1 <sup>2</sup>	3,10±0,34	4.413±220	29,3±1,9
Total ramas	139,4±12,9	1,41±0,08	1.962±200	13,0±1,5
Tronco	151,0±13,6	1,03±0,11	1.557±307	10,3±1,7
<i>Parte aérea</i>	433,0±26,3	1,83±0,08	7.932±256	52,6±1,3
Raíz gruesa	234,8±28,5	1,51±0,16	3.547±126	23,5±1,6
Raíz fibrosa	113,3±12,4	3,16±0,26	3.585±501	23,9±2,7
<i>Sistema radical</i>	348,1±23,5	2,05±0,24	7.132±378	47,4±1,3
<b>TOTAL PLANTA</b>	781,1±38,9	1,93±0,14	15.064±518	100,0

<sup>2</sup>: Cada valor es la media de tres árboles ± desviación estándar.

El conjunto de hojas y la raíz fina presentaron la mayor concentración de N (aproximadamente 3%), en comparación con los órganos leñosos (ramas, tronco y raíz gruesa) que presentaron valores del 1,0 al 1,5%. Consecuencia de estas concentraciones y de la tendencia observada en la biomasa, el N presente en las plantas se acumuló principalmente en las hojas y en el sistema radical. El total de la

planta presentó un contenido en N de unos 15 g por planta repartidos en partes casi iguales entre la parte aérea y el sistema radical (Tabla 22).

El total de la planta presentó un enriquecimiento en  $^{15}\text{N}$  promedio ponderado del 3,55%, siendo los enriquecimientos de todos los órganos similares. De modo que el enriquecimiento de la parte aérea y del sistema radical fue similar, observándose una disminución de valores desde las hojas hasta el tronco y un incremento desde éste hasta la raíz fina. Cabe destacar que el enriquecimiento de partida conseguido en el total de la planta se encontró en el intervalo 1-10% átomos en exceso, propuesto por Barraclough (1995), según el cual, permitiría asumir que no se produjo discriminación isotópica en las transformaciones biológicas, al distar suficientemente de la abundancia natural.

**Tabla 23.** Enriquecimiento, contenido y distribución relativa del  $^{15}\text{N}$ , N absorbido del fertilizante (Nadf) y eficiencia de uso del N (EUN), en el estado de carga del ensayo de translocación.

	$^{15}\text{N}$ (% exceso)	$^{15}\text{N}$ (mg)	$^{15}\text{N}$ distribución (%)	Nadf (mg)	EUN (%)
Total hojas	3,90±0,10 <sup>2</sup>	172±12	32,2±2,3	3.444±13	19,1±1,4
Total ramas	3,64±0,02	71±7	13,4±1,8	1.430±8	7,9±0,8
Tronco	2,87±0,14	45±11	8,4±1,7	895±12	5,0±1,2
Parte aérea	3,64±0,07	288±13	53,9±1,7	5.769±14	32,0±1,5
Raíz gruesa	3,20±0,19	113±6	21,2±1,2	2.269±6	12,6±0,7
Raíz fibrosa	3,72±0,01	133±19	24,9±2,8	2.665±21	14,8±2,1
Sistema radical	3,46±0,10	247±18	46,1±1,7	4.934±19	27,4±2,0
<b>TOTAL PLANTA</b>	<b>3,55±0,08</b>	<b>535±27</b>	<b>100,0</b>	<b>0.703±29</b>	<b>59,5±3,0</b>

<sup>2</sup>: Cada valor es la media de tres árboles ± desviación estándar.

La distribución relativa del N (Tabla 22) y el  $^{15}\text{N}$  (Tabla 23) en el total de la planta fue prácticamente coincidente, tal y como cabría esperar, de acuerdo con Legaz *et al.* (1981), después de un largo periodo de marcado. Esto se debe a que el enriquecimiento tras un marcado corto, viene influenciado en cambio por la capacidad sumidero de los distintos órganos, por lo que el enriquecimiento de los distintos órganos es claramente diferencial.

De los 535 mg  $^{15}\text{N}$  absorbidos por las plantas después de todo un año de marcado (2005), un 32, 25 y 21% se acumuló en las hojas, raíz fina y gruesa, respectivamente. Del total de 18 g de N aportados con el fertilizante durante 2005, las plantas absorbieron 10,7 g de N, lo que supuso una eficiencia de uso del nitrógeno del 59,4%. Esta eficiencia es ligeramente superior a las obtenidas durante el año 2006 en el ensayo de absorción, al ser la dosis de N aportada considerablemente inferior a la aportada en el último año (25 g N·planta<sup>-1</sup>).



## 4.2.2 PLANTA: A LO LARGO DEL CICLO VEGETATIVO

En los siguientes apartados se presentan los parámetros estudiados en el ensayo de translocación, mediante las extracciones realizadas a lo largo del segundo año.

La respuesta en la evolución de la biomasa, concentración de N y contenido en N de los árboles de este ensayo es, como cabría esperar, prácticamente idéntica a la observada en el ensayo de absorción, ya que ambos ensayos únicamente difieren en la aplicación de fertilizante marcado o no marcado (Tabla 9). Es por ello, que el análisis de estas variables se realizará brevemente, al haber sido abordado con mayor detalle y con su correspondiente discusión, en los apartados 4.1.1.1 a 4.1.1.3.

### 4.2.2.1 Biomasa y su distribución relativa

En la tabla 24 y la figura 22 se presentan los valores promedio de la biomasa (g) de los árboles, así como el peso de cada uno de los órganos en los que éstos se fraccionaron en el momento de la extracción. Las plantas tratadas se extrajeron, al igual que en el ensayo de absorción, en distintos momentos fenológicos: floración (principio de mayo), cuajado (principio de junio), final de caída fisiológica (principio de julio) y madurez del fruto (final de enero). La determinación de la biomasa total de la planta constituye un dato de gran relevancia, ya que permite cuantificar el contenido en  $^{15}\text{N}$  procedente del acumulado en el ciclo anterior (estado de carga), así como la movilización de éste a los distintos órganos en desarrollo en los momentos de mayor demanda.

A medida que transcurrió el ciclo, el peso total de los árboles incrementó, como consecuencia de la biomasa asociada al desarrollo de estructuras reproductivas y nuevas brotaciones. La distinta distribución estacional del abonado no afectó a la biomasa de los árboles en ninguno de los estados fenológicos estudiados.

En la extracción inicial, realizada en la floración, los árboles presentaron un peso seco promedio de 846 g para las tres distribuciones (Tabla 24), similar al observado en los árboles del ensayo de absorción (835 g, Tabla 10). La biomasa acumulada en los órganos viejos (hojas, ramas y tronco) representó un 46% del total de la planta, mientras que la acumulada en los órganos jóvenes tan sólo supuso un 12%, independientemente de la distribución aplicada (Tabla 25).

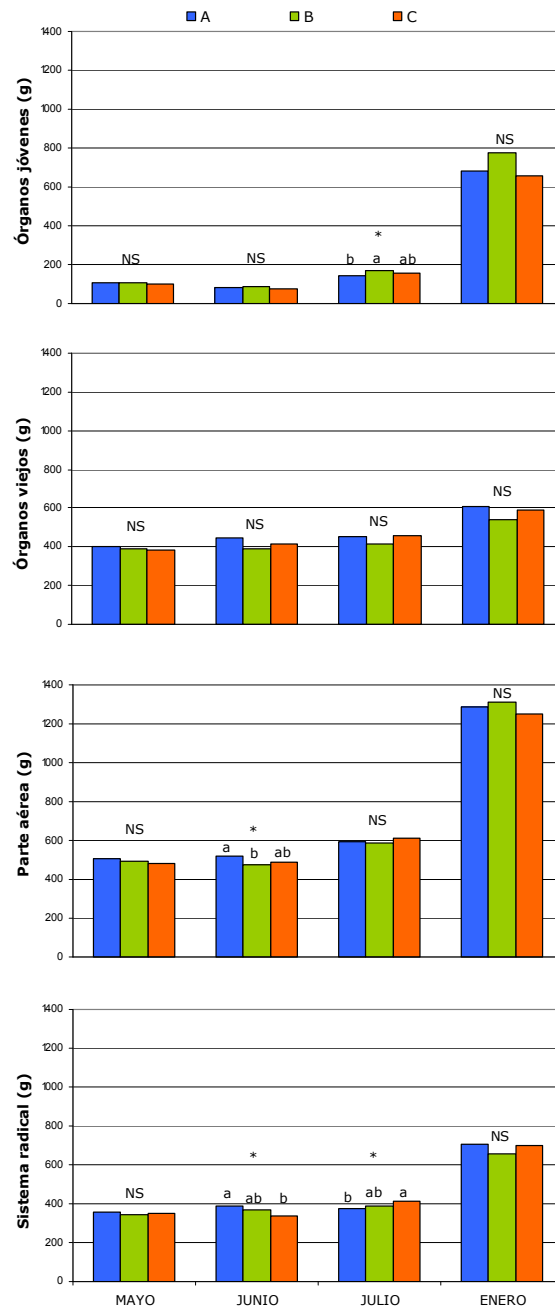
**Tabla 24.** Biomasa (g) de los distintos órganos y total de la planta correspondientes a las distribuciones estacionales del N aplicado (A, B y C)<sup>Z</sup> en los principales momentos fenológicos en el ensayo de translocación.

Órgano/Planta	FLORACIÓN (MAYO)				CUAJADO (JUNIO)			
	A	B	C	ANOVA <sup>Y</sup>	A	B	C	ANOVA
Fruto					14,0	17,6	12,6	NS (0,132)
Cáliz + pedúnculo					1,5	2,3	1,4	NS (0,130)
Total flor/fruto	48,1 <sup>X</sup> b <sup>V</sup>	57,3a	52,9ab	* (0,024)	15,5	19,9	14,0	NS (0,165)
Hojas primavera	41,5	38,8	32,4	NS (0,170)	46,8	50,4	44,4	NS (0,470)
Ramas primavera	14,2	13,1	12,2	NS (0,780)	15,7	17,0	19,0	NS (0,518)
Hojas viejas	121,6	116,0	118,8	NS (0,811)	134,6	118,6	120,1	NS (0,117)
Ramas viejas c/h <sup>U</sup>	61,8	66,4	62,7	NS (0,575)	82,1a	62,5b	67,4ab	* (0,051)
Ramas viejas s/h <sup>T</sup>	84,8	69,2	76,5	NS (0,304)	88,4	82,9	92,0	NS (0,544)
Ramas viejas	146,6	135,6	139,2	NS (0,458)	170,5a	145,4b	159,4ab	* (0,052)
Tronco	133,5	135,8	127,1	NS (0,885)	138,4	124,0	132,5	NS (0,720)
Raíz fibrosa	123,1a	106,7ab	96,2b	* (0,044)	139,9a	129,9a	96,6b	** (0,009)
Raíz gruesa	235,6	237,3	253,6	NS (0,646)	247,6	237,5	241,2	NS (0,612)
<b>PLANTA</b>	864,2	840,6	832,4	NS (0,765)	909,0a	842,6b	827,2b	* (0,053)
Joven caído <sup>S</sup>	58,5	54,6	45,7	NS (0,518)	134,4a	111,0b	121,2ab	* (0,035)
Hojas viejas caídas	6,8b	6,2b	14,1a	*** (0,001)	11,5c	23,8a	14,9b	*** (0,001)
<b>TOTAL PLANTA</b>	929,5	901,4	892,2	NS (0,117)	1.054,9	977,4	963,3	NS (0,204)

Órgano/Planta	FINAL CAÍDA FISIOLÓGICA (JULIO)				MADUREZ FRUTO (ENERO)			
	A	B	C	ANOVA	A	B	C	ANOVA
Fruto	35,7a	32,8ab	21,3b	* (0,045)	324,1a	492,4a	300,2b	* (0,049)
Cáliz + pedúnculo	0,8a	0,7a	0,4b	*** (0,001)	1,0b	1,6a	0,9b	*** (0,001)
Total fruto	36,5a	33,5ab	21,7b	* (0,045)	325,1a	494,0a	301,1b	* (0,045)
Hojas otoño					18,7	7,3	11,9	NS (0,200)
Hojas verano	34,9b	60,2a	65,3a	** (0,009)	175,9a	134,2b	153,5ab	* (0,051)
Hojas primavera	44,8	50,4	41,9	NS (0,471)	78,5	81,8	100,3	NS (0,221)
Hojas jóvenes	79,7b	110,6a	107,2a	** (0,009)	273,1a	223,3b	265,7a	* (0,021)
Ramas otoño					6,0a	1,9b	2,5b	** (0,014)
Ramas verano	5,7	7,5	7,7	NS (0,639)	39,9a	20,2b	36,1ab	* (0,041)
Ramas primavera	19,8	19,9	20,2	NS (0,996)	34,8b	34,0b	51,4a	* (0,053)
Ramas jóvenes	25,5	27,4	27,9	NS (0,818)	80,7a	56,1b	90,0a	** (0,014)
Hojas viejas	124,1ab	116,2b	144,2a	* (0,044)	135,4	114,2	125,4	NS (0,540)
Ramas viejas c/h	78,1ab	66,0b	86,5a	* (0,051)	127,5	119,1	128,1	NS (0,784)
Ramas viejas s/h	112,2	100,3	100,9	NS (0,697)	183,8a	149,9b	174,6a	** (0,011)
Ramas viejas	190,4	166,3	187,4	NS (0,288)	311,3a	269,0b	302,7ab	* (0,054)
Tronco	136,5	131,2	125,6	NS (0,702)	164,8	156,4	164,5	NS (0,689)
Raíz fibrosa	137,1ab	121,8b	145,5a	* (0,049)	217,2	216,6	219,6	NS (0,979)
Raíz gruesa	240,5b	263,3a	266,7a	** (0,002)	486,0	442,1	483,4	NS (0,544)
<b>PLANTA</b>	970,2	970,3	1.026,1	NS (0,145)	1.993,6	1.971,7	1.952,4	NS (0,924)
Joven caído	180,4a	147,8b	132,5b	** (0,010)	181,3a	147,9b	139,7b	** (0,008)
Hojas viejas caídas	9,9b	9,6b	19,0a	** (0,012)	11,1b	15,3b	22,8a	** (0,012)
<b>TOTAL PLANTA</b>	1.160,5a	1.127,7ab	1.177,6b	* (0,053)	2.186,0a	2.134,9b	2.114,9b	* (0,031)

<sup>Z</sup>: Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta octubre. <sup>Y</sup>: ANOVA, diferencias significativas para  $P \leq 0,05$  (\*);  $P \leq 0,01$  (\*\*) y  $P \leq 0,001$  (\*\*\*) y no significativas para  $P > 0,05$  (NS); entre paréntesis se indica el P-valor. <sup>X</sup>: Cada valor es la media de 3 árboles. <sup>W</sup>: Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) según el test LSD-Fisher. <sup>V</sup>: Ramas del ciclo anterior con hojas. <sup>U</sup>: Ramas del ciclo anterior sin hojas. <sup>T</sup>: Incluye botón floral, pétalos, cáliz y frutos abortados caídos.



**Figura 22.** Biomasa del conjunto de órganos jóvenes<sup>Z</sup>, viejos<sup>Y</sup>, parte aérea y sistema radical de los árboles extraídos a lo largo del segundo año del ensayo de translocación. Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta final octubre.

<sup>Z</sup>: Órganos jóvenes en extracción en mayo: estructuras reproductivas y hojas y ramas de la brotación de primavera; en junio: frutos cuajados y hojas y ramas de la brotación de primavera; en julio: frutos en desarrollo, hojas y ramas de las brotaciones de primavera y verano; en enero: frutos maduros, hojas y ramas de las brotaciones de primavera, verano y otoño. <sup>Y</sup>: Órganos viejos incluyen las ramas y hojas de las brotaciones del ciclo anterior, ramas leñosas sin hojas y tronco. ANOVA, diferencias significativas para  $P \leq 0,05$  (\*) y no significativas para  $P > 0,05$  (NS). Letras distintas en cada extracción indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) según el test LSD-Fisher.

Al igual que sucedió en el ensayo de absorción, en el mes transcurrido desde la floración hasta la extracción realizada en el cuajado de los frutos, el peso seco del total de los árboles apenas incrementó, como consecuencia de la abscisión de estructuras reproductivas (pétalos, frutos abortados y recién cuajados). Al final de la caída fisiológica, los árboles incrementaron considerablemente su biomasa (15% en promedio) respecto al periodo anterior, como consecuencia del crecimiento de los frutos cuajados y desarrollo de la brotación de verano.

En los 6 meses transcurridos desde el final de caída fisiológica hasta el momento de madurez del fruto, los árboles duplicaron su biomasa, como consecuencia del crecimiento final de los frutos y el desarrollo completo de las brotaciones de verano y otoño. Los árboles presentaron un peso seco en torno a 1,9 kg al final del ciclo (Tabla 24), lo que supuso un incremento en su biomasa de 2,3 veces desde la floración hasta la madurez del fruto. La proporción relativa de los órganos jóvenes respecto al total de la biomasa se duplicó con respecto al estadio anterior, mientras que los órganos viejos, por tanto, redujeron considerablemente su proporción sobre el total del árbol. Los frutos supusieron la principal contribución a la biomasa de la parte aérea (15,4-25,1%; Tabla 25); sin embargo, tal y como sucedió en el ensayo de absorción, no se observó una respuesta consistente de la producción a la distribución estacional diferencial del abonado. Cabe destacar que al final del ciclo, una vez desarrolladas todas las brotaciones, fueron las hojas de la brotación de verano las que mayor proporción representaron en el conjunto de hojas, seguidas de las viejas, las de primavera y, por último, las de la brotación de otoño.

La distribución relativa de la biomasa entre los órganos jóvenes mostró ciertas diferencias respecto al ensayo de absorción, como consecuencia de la variabilidad en la producción de los árboles y del efecto competitivo de los frutos con respecto al resto de órganos. Lea-Cox *et al.* (2001) también observaron diferencias en la distribución relativa de la biomasa en función de la producción en pomelos Redblush (*Citrus paradisi* Macf.) de 4 años.

El sistema radical apenas mostró variaciones en su biomasa hasta el final de caída fisiológica (Figura 22), posteriormente incrementó, duplicándose en la última extracción realizada. A lo largo de todo el ciclo, las dos fracciones del sistema radical, raíz gruesa y fina, mantuvieron proporciones similares, acumulándose mayor biomasa en la gruesa que en la fina. Cabe mencionar que la biomasa del sistema radical de los árboles de la distribución C fue significativamente superior a los de la distribución A; en el ensayo paralelo de absorción, si bien la tendencia fue similar, ésta no fue significativa desde el punto de vista estadístico.

**Tabla 25.** Distribución relativa de la biomasa<sup>z</sup> entre los distintos órganos de las plantas correspondientes a las distribuciones estacionales del N aplicado (A, B y C)<sup>y</sup> en los principales momentos fenológicos en el ensayo de translocación.

Órgano/Planta	FLORACIÓN (MAYO)				CUAJADO (JUNIO)			
	A	B	C	ANOVA <sup>x</sup>	A	B	C	ANOVA
Fruto					1,5	2,1	1,5	NS (0,101)
Cáliz + pedúnculo					0,2	0,3	0,2	NS (0,087)
Total flor/fruto	5,6 <sup>wb</sup>	6,8a	6,4ab	* (0,047)	1,7b	2,4a	1,7ab	* (0,046)
Hojas primavera	4,8	4,6	3,8	NS (0,365)	5,2	6,0	5,4	NS (0,454)
Ramas primavera	1,6	1,6	1,5	NS (0,895)	1,7	2,0	2,3	NS (0,283)
<b>Órganos jóvenes</b>	12,0	13,0	11,7	NS (0,525)	8,6	10,4	9,4	NS (0,258)
Hojas viejas	14,1	13,8	14,3	NS (0,828)	14,8	14,1	14,5	NS (0,483)
Ramas viejas c/h <sup>y</sup>	7,2	7,9	7,5	NS (0,596)	9,0a	7,4b	8,1ab	* (0,042)
Ramas viejas s/h <sup>u</sup>	9,8	8,2	9,2	NS (0,327)	9,7	9,8	11,1	NS (0,407)
Ramas viejas	17,0	16,1	16,7	NS (0,775)	18,8	17,2	19,2	NS (0,143)
Tronco	15,4	16,2	15,2	NS (0,829)	15,2	14,7	16,0	NS (0,818)
<b>Órganos viejos</b>	46,5	46,1	46,2	NS (0,818)	48,8	46,0	49,7	NS (0,146)
<b>Parte aérea</b>	58,5	59,1	57,9	NS (0,539)	57,4	56,4	59,1	NS (0,123)
Raíz fibrosa	14,2a	12,7b	11,6b	** (0,007)	15,4a	15,4a	11,7b	** (0,014)
Raíz gruesa	27,3b	28,2a	30,5a	* (0,045)	27,2	28,2	29,2	NS (0,176)
<b>Sistema radical</b>	41,5	40,9	42,1	NS (0,539)	42,6	43,6	40,9	NS (0,123)
<b>PLANTA</b>	100,0	100,0	100,0		100,0	100,0	100,0	

Órgano/Planta	FINAL CAÍDA FISIOLÓGICA (JULIO)				MADUREZ FRUTO (ENERO)			
	A	B	C	ANOVA	A	B	C	ANOVA
Fruto	3,7a	3,4a	2,1b	* (0,045)	16,3b	25,0a	15,4b	* (0,036)
Cáliz + pedúnculo	0,1a	0,1a	<0,1b	*** (0,001)	<0,1b	0,1a	<0,1b	** (0,002)
Total fruto	3,8a	3,5a	2,1b	* (0,044)	16,3b	25,1a	15,4b	* (0,035)
Hojas otoño					0,9	0,4	0,6	NS (0,249)
Hojas verano	3,6b	6,2a	6,4a	** (0,013)	8,8	6,8	7,9	NS (0,141)
Hojas primavera	4,6	5,2	4,1	NS (0,228)	3,9	4,2	5,1	NS (0,193)
Hojas jóvenes	8,2b	11,4a	10,5a	** (0,003)	13,7	11,4	13,6	NS (0,129)
Ramas otoño					0,3a	0,1b	0,1b	* (0,025)
Ramas verano	0,6	0,8	0,7	NS (0,726)	2,0a	1,0b	1,8ab	* (0,045)
Ramas primavera	2,0	2,0	2,0	NS (0,972)	1,7a	1,7b	2,7a	* (0,049)
Ramas jóvenes	2,6	2,8	2,7	NS (0,86)	4,0a	2,8b	4,6a	* (0,035)
<b>Órganos jóvenes</b>	14,6b	17,7a	15,3b	** (0,011)	34,0	39,3	33,6	NS (0,106)
Hojas viejas	12,8	12,0	14,1	NS (0,189)	6,8	5,8	6,4	NS (0,485)
Ramas viejas c/h	8,1a	6,8b	8,4a	* (0,048)	6,4	6,0	6,6	NS (0,579)
Ramas viejas s/h	11,5	10,3	9,8	NS (0,466)	9,2a	7,6b	8,9a	** (0,014)
Ramas viejas	19,6	17,1	18,2	NS (0,148)	15,6a	13,6b	15,5a	** (0,004)
Tronco	14,1	13,5	12,2	NS (0,324)	8,3	7,9	8,4	NS (0,342)
<b>Órganos viejos</b>	46,5a	42,6b	44,5ab	* (0,030)	30,7	27,3	30,4	NS (0,121)
<b>Parte aérea</b>	61,1	60,3	59,8	NS (0,615)	64,7	66,6	64,0	NS (0,566)
Raíz fibrosa	14,1	12,6	14,2	NS (0,234)	10,9	11,0	11,2	NS (0,892)
Raíz gruesa	24,8b	27,1a	26,0ab	* (0,016)	24,4	22,4	24,8	NS (0,487)
<b>Sistema radical</b>	38,9	39,7	40,2	NS (0,615)	35,3	33,4	36,0	NS (0,566)
<b>PLANTA</b>	100,0	100,0	100,0		100,0	100,0	100,0	

<sup>z</sup>: Distribución relativa (%) = peso seco órgano (g) x 100 / peso seco árbol (g) <sup>y</sup>: Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta octubre. <sup>x</sup>: ANOVA, diferencias significativas para P≤0,05 (\*); P≤0,01 (\*\*) y P≤0,001 (\*\*\*) y no significativas para P>0,05 (NS); entre paréntesis se indica el P-valor. <sup>w</sup>: Cada valor es la media de 3 árboles. <sup>v</sup>: Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas (P<0,05) según el test LSD-Fisher. <sup>u</sup>: Ramas del ciclo anterior con hojas. <sup>t</sup>: Ramas del ciclo anterior sin hojas.

La proporción relativa de la biomasa de la parte aérea y del sistema radical respecto al total de la planta, se mantuvo a lo largo del ciclo en torno al 60% y 40%, respectivamente, al igual que sucedió en el ensayo de absorción; incrementando ligeramente la proporción de la parte aérea en maduración debido al peso seco de la cosecha (Tabla 25).

Distribuciones similares en la biomasa han sido obtenidas por otros autores (Kubota *et al.*, 1974b; Legaz *et al.*, 1981; Legaz y Primo-Millo, 1988a; Martínez *et al.*, 2002; Quiñones, 2002; Alva *et al.*, 2003; Menino *et al.*, 2007), tal y como se ha discutido en el apartado 4.1.1.1.

#### 4.2.2.2 Concentración de N

En la tabla 26 y la figura 23 se presentan, en los momentos fenológicos estudiados, los valores promedio de la concentración de nitrógeno de los distintos órganos, expresados en porcentaje sobre el peso seco, así como el valor de la media ponderada para grupos de órganos y el total de la planta.

De acuerdo con lo expuesto en el ensayo de absorción, los valores más elevados de concentración de N se presentaron en las hojas jóvenes de las distintas brotaciones (primavera, verano y otoño) en los primeros estadios de su desarrollo. En la parte aérea (Figura 23), los valores de concentración de N más bajos correspondieron a los órganos leñosos, con valores del 0,70 al 0,86% para el tronco y del 0,93 al 1,12% en las ramas viejas, que apenas variaron a lo largo del ciclo (Tabla 26). En el sistema radical, las raíces finas presentaron una concentración superior a las gruesas durante todo el ciclo. Es importante destacar la reducción, desde el cuajado del fruto (junio), en la concentración de N en las hojas de primavera. Esta reducción en post-floración, observada a su vez por otros autores (Legaz *et al.*, 1982; Mooney y Richardson, 1994), sugiere la exportación de N por parte de las hojas de primavera en este periodo hacia los frutos y la brotación de verano en desarrollo. En la extracción realizada en madurez del fruto, las concentraciones de nitrógeno en todos los órganos disminuyeron, de manera más acentuada en los órganos jóvenes, como consecuencia del efecto de dilución asociado al incremento de biomasa de éstos, sobre todo, en los frutos.

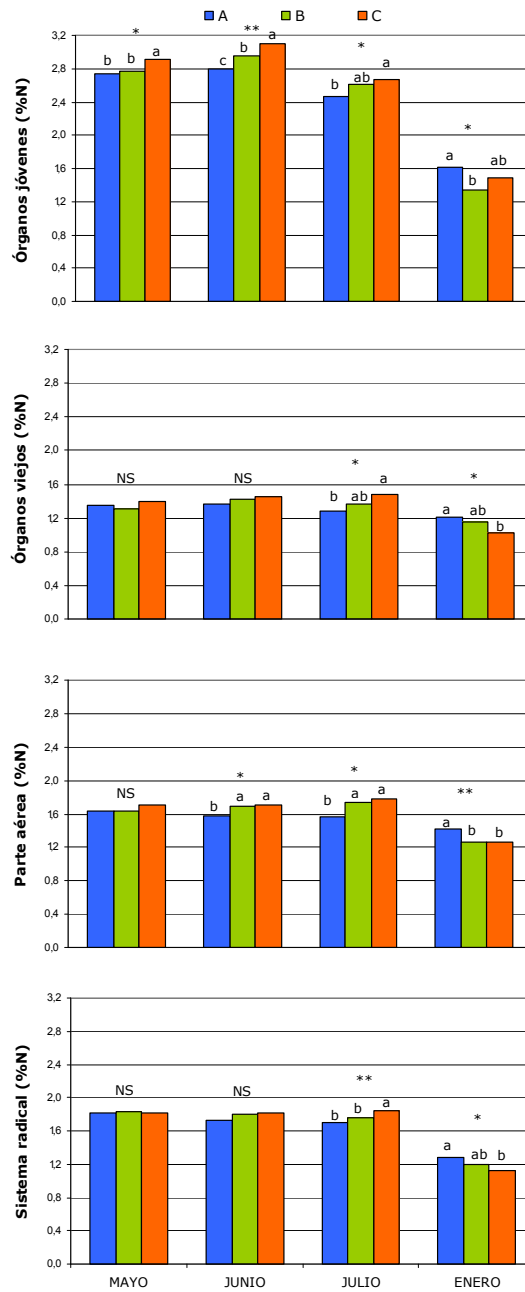
**Tabla 26.** Concentración de N total (%) en los distintos órganos de las plantas correspondientes a las distribuciones estacionales de N aplicado (A, B y C)<sup>z</sup> en los principales momentos fenológicos en el ensayo de translocación.

Órgano/Planta	FLORACIÓN (MAYO)				CUAJADO (JUNIO)			
	A	B	C	ANOVA <sup>y</sup>	A	B	C	ANOVA
Fruto					1,93 b	2,10 a	2,20 a	** (0,014)
Cáliz + pedúnculo					1,64 b	1,85 a	1,91 a	** (0,007)
Total flor/fruto	2,40 <sup>x</sup> b <sup>w</sup>	2,48 b	2,68 a	* (0,040)	1,90 b	2,07 a	2,17 a	** (0,014)
Hojas primavera	3,21	3,31	3,51	NS (0,294)	3,22 b	3,47 a	3,64 a	** (0,014)
Ramas primavera	2,47	2,41	2,39	NS (0,909)	2,39	2,47	2,54	NS (0,616)
Hojas viejas	2,42 b	2,38 b	2,54 a	** (0,006)	2,45 b	2,52 ab	2,67 a	* (0,044)
Ramas viejas c/h <sup>v</sup>	1,36	1,32	1,40	NS (0,704)	1,32	1,42	1,38	NS (0,394)
Ramas viejas s/h <sup>u</sup>	0,75	0,70	0,71	NS (0,472)	0,73 b	0,79 ab	0,93 a	* (0,052)
Ramas viejas <sup>t</sup>	1,01	1,01	1,02	NS (0,984)	1,01	1,06	1,12	NS (0,202)
Tronco	0,74	0,70	0,74	NS (0,405)	0,74	0,77	0,75	NS (0,766)
Raíz fibrosa	2,65 b	2,83 ab	2,95 a	* (0,052)	2,53 b	2,81 ab	3,01 a	* (0,033)
Raíz gruesa	1,38	1,38	1,38	NS (0,970)	1,28	1,24	1,34	NS (0,351)
PLANTA <sup>t</sup>	1,71	1,71	1,75	NS (0,710)	1,64 b	1,74 a	1,76 a	* (0,053)
Joven caído <sup>s</sup>	3,82	3,50	3,71	NS (0,404)	3,19	3,11	3,10	NS (0,758)
Hojas viejas caídas	2,36	2,27	2,28	NS (0,456)	2,20	2,33	2,15	NS (0,552)
TOTAL PLANTA <sup>t</sup>	1,85	1,82	1,86	NS (0,954)	1,85	1,91	1,93	NS (0,687)

Órgano/Planta	FINAL CAÍDA FISIOLÓGICA (JULIO)				MADUREZ FRUTO (ENERO)			
	A	B	C	ANOVA	A	B	C	ANOVA
Fruto	1,82 b	1,92 b	2,16 a	** (0,003)	0,94 a	0,82 ab	0,77 b	* (0,043)
Cáliz + pedúnculo	1,74	1,78	1,89	NS (0,076)	1,42	1,33	1,30	NS (0,416)
Total fruto	1,82 b	1,92 b	2,16 a	** (0,002)	0,95 a	0,82 ab	0,77 b	* (0,044)
Hojas otoño					2,13	2,07	1,94	NS (0,175)
Hojas verano	2,73	2,74	2,81	NS (0,651)	2,48	2,41	2,27	NS (0,226)
Hojas primavera	3,10	3,19	3,21	NS (0,507)	2,45	2,49	2,46	NS (0,743)
Hojas jóvenes <sup>t</sup>	2,94	2,95	2,96	NS (0,947)	2,45	2,43	2,33	NS (0,372)
Ramas otoño					1,30	1,28	1,24	NS (0,344)
Ramas verano	1,49	1,48	1,50	NS (0,907)	1,39	1,33	1,28	NS (0,130)
Ramas primavera	2,08 b	2,31 a	2,10 b	** (0,013)	1,65	1,60	1,51	NS (0,250)
Ramas jóvenes <sup>t</sup>	1,95	2,08	1,93	NS (0,222)	1,49 a	1,49 a	1,41 b	* (0,053)
Hojas viejas	2,35 b	2,54 a	2,55 a	** (0,014)	2,13	2,16	2,10	NS (0,571)
Ramas viejas c/h	1,19 b	1,35 a	1,39 a	* (0,021)	1,21 a	1,16 a	0,90 b	** (0,006)
Ramas viejas s/h	0,74	0,75	0,81	NS (0,266)	0,84 a	0,75 ab	0,65 b	* (0,032)
Ramas viejas <sup>t</sup>	0,93 b	0,99 ab	1,08 a	* (0,052)	0,99 a	0,93 a	0,76 b	** (0,003)
Tronco	0,82	0,83	0,86	NS (0,143)	0,84 a	0,81 ab	0,70 b	* (0,045)
Raíz fibrosa	2,44 b	2,77 a	2,83 a	*** (<0,001)	2,18	2,04	2,00	NS (0,194)
Raíz gruesa	1,27	1,29	1,31	NS (0,518)	0,89 a	0,78 ab	0,73 b	* (0,051)
PLANTA <sup>t</sup>	1,62 b	1,74 a	1,81 a	** (0,012)	1,37 a	1,24 b	1,22 b	** (0,005)
Joven caído	2,94	3,02	2,98	NS (0,551)	2,81	2,89	2,78	NS (0,472)
Hojas viejas caídas	2,11	2,27	2,17	NS (0,707)	2,15	2,24	2,21	NS (0,964)
TOTAL PLANTA <sup>t</sup>	1,83 b	1,92 ab	1,95 a	* (0,035)	1,50 a	1,36 b	1,33 b	** (0,004)

<sup>z</sup>: Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta octubre. <sup>y</sup>: ANOVA, diferencias significativas para  $P \leq 0,05$  (\*);  $P \leq 0,01$  (\*\*) y  $P \leq 0,001$  (\*\*\*) y no significativas para  $P > 0,05$  (NS); entre paréntesis se indica el P-valor. <sup>x</sup>: Cada valor es la media de 3 árboles. <sup>w</sup>: Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) según el test LSD-Fisher. <sup>v</sup>: Ramas del ciclo anterior con hojas. <sup>u</sup>: Ramas del ciclo anterior sin hojas. <sup>t</sup>: Concentración media ponderada. <sup>s</sup>: Incluye botón floral, pétalos, cálices y frutos abortados caídos.



**Figura 23.** Concentración ponderada de N en el conjunto de órganos jóvenes<sup>Z</sup>, viejos<sup>Y</sup>, parte aérea y sistema radical de los árboles extraídos a lo largo del segundo año del ensayo de translocación. Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta final octubre.

<sup>Z</sup>: Órganos jóvenes en extracción en mayo: estructuras reproductivas y hojas y ramas de la brotación de primavera; en junio: frutos cuajados y hojas y ramas de la brotación de primavera; en julio: frutos en desarrollo, hojas y ramas de las brotaciones de primavera y verano; en enero: frutos maduros, hojas y ramas de las brotaciones de primavera, verano y otoño. <sup>Y</sup>: Órganos viejos incluyen las ramas y hojas de las brotaciones del ciclo anterior, ramas leñosas sin hojas y tronco. ANOVA, diferencias significativas para  $P \leq 0,05$  (\*);  $P \leq 0,01$  (\*\*) y no significativas para  $P > 0,05$  (NS). Letras distintas en una misma extracción indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) según el test LSD-Fisher.



Desde la floración hasta el final de la caída fisiológica, los aportes diferenciales de N asociados a la distribución estacional de la dosis de N, originaron concentraciones crecientes de este elemento en los órganos jóvenes de las tres distribuciones (Figura 23). Concretamente, los árboles de la distribución C presentaron mayores concentraciones de N que los de A en sus órganos jóvenes; mientras que la distribución B conllevó concentraciones intermedias. Las hojas viejas de los árboles de las tres distribuciones presentaron concentraciones crecientes de N en este mismo sentido desde la extracción realizada en floración (Tabla 26). Las diferencias entre las distribuciones se hicieron también significativas para el conjunto de órganos viejos y el sistema radical (Figura 23), en la extracción realizada al final de caída la fisiológica. Una respuesta similar en la concentración de N de los distintos órganos ante la aplicación de dosis diferenciales de N, fue obtenida por Legaz *et al.* (1981).

En el momento de madurez del fruto, a igualdad de dosis de N aportada en todas las distribuciones, se observó sin embargo, un patrón opuesto al presentado en los anteriores periodos. Este cambio en la tendencia es reflejo de la inversión en la pauta de abonado realizada en el periodo entre final de caída fisiológica y madurez del fruto. Así, mientras que en el periodo hasta final de caída fisiológica los árboles recibieron el 25, 50 y 75% de la dosis en el último periodo, el aporte fue del 75, 50 y 25% restante, con las distribuciones A, B y C, respectivamente. Por tanto, al final del ciclo, los árboles de la distribución A presentaron valores significativamente mayores tanto en el conjunto de órganos jóvenes, como en los viejos y sistema radical (Figura 23). Los valores consultados en la bibliografía confirmarían estos resultados (Kubota *et al.*, 1974b; Okada *et al.*, 1992; Morgan *et al.*, 2009)

#### 4.2.2.3 Contenido de N y su distribución relativa

En la tabla 27 y la figura 24 se muestran los valores de contenido en N total (mg) de cada órgano, así como del conjunto de la planta.

De forma general, a lo largo del ciclo los árboles incrementaron su contenido en N debido al aporte acumulado de N y al desarrollo de nuevos tejidos. Únicamente se apreció un descenso en el contenido de N en los órganos jóvenes en la extracción realizada en cuajado del fruto, como consecuencia de la abscisión de estructuras reproductivas, y en las hojas viejas al final del ciclo, como consecuencia de los procesos de senescencia. El resto de órganos, con independencia de la distribución de N, incrementó su contenido neto en N desde el inicio al final del ciclo.

**Tabla 27.** Contenido de N total<sup>Z</sup> en los distintos órganos y en el total de las plantas correspondientes a las distribuciones estacionales del N aplicado (A, B y C)<sup>Y</sup> en los principales momentos fenológicos en el ensayo de translocación.

Órgano/Planta	FLORACIÓN (MAYO)				CUAJADO (JUNIO)			
	A	B	C	ANOVA <sup>X</sup>	A	B	C	ANOVA
Fruto					271	369	278	NS (0,153)
Cáliz + pedúnculo					25	43	27	NS (0,094)
Total flor/fruto	1.156 <sup>W</sup> b <sup>V</sup>	1.418 a	1.415 a	* (0,026)	296	412	305	NS (0,112)
Hojas primavera	1.332	1.284	1.136	NS (0,458)	1.510	1.746	1.615	NS (0,270)
Ramas primavera	350	315	291	NS (0,598)	376	418	482	NS (0,370)
Hojas viejas	2.945	2.758	3.021	NS (0,508)	3.294	2.995	3.201	NS (0,421)
Ramas viejas c/h <sup>U</sup>	838	878	878	NS (0,856)	1.081 a	886 b	928 b	* (0,028)
Ramas viejas s/h <sup>T</sup>	637	485	543	NS (0,180)	649 b	654 b	854 a	** (0,010)
Ramas viejas	1.475	1.363	1.421	NS (0,462)	1.730 a	1.540 b	1.782 a	* (0,053)
Tronco	988	953	938	NS (0,885)	1.024	960	996	NS (0,862)
Raíz fibrosa	3.262 a	3.015 a	2.835 b	* (0,036)	3.539 a	3.656 a	2.911 b	* (0,039)
Raíz gruesa	3.252	3.284	3.499	NS (0,612)	3.171	2.955	3.238	NS (0,132)
<b>PLANTA</b>	14.760	14.390	14.556	NS (0,747)	14.940	14.682	14.530	NS (0,452)
Joven caído <sup>S</sup>	2.238	1.912	1.695	NS (0,552)	4.291 a	3.455 b	3.751 ab	* (0,038)
Hojas viejas caídas	160 b	141 b	321 a	*** (0,001)	254 b	556 a	321 b	*** (<0,001)
<b>TOTAL PLANTA</b>	17.158	16.443	16.572	NS (0,252)	19.485	18.693	18.602	NS (0,512)

Órgano/Planta	FINAL CAÍDA FISIOLÓGICA (JULIO)				MADUREZ FRUTO (ENERO)			
	A	B	C	ANOVA	A	B	C	ANOVA
Fruto	649	629	461	NS (0,242)	3.059 ab	4.030 a	2.307 b	* (0,043)
Cáliz + pedúnculo	13 a	13 a	8 b	*** (0,001)	14 b	21 a	12 b	** (0,012)
Total fruto	662	642	469	NS (0,230)	3.073 ab	4.051 a	2.319 b	* (0,042)
Hojas otoño					398	151	231	NS (0,164)
Hojas verano	954 b	1.651 a	1.833 a	** (0,006)	4.358 a	3.234 b	3.480 b	* (0,022)
Hojas primavera	1.387	1.607	1.345	NS (0,561)	1.925	2.040	2.467	NS (0,180)
Hojas jóvenes	2.341 b	3.258 a	3.178 a	** (0,012)	6.681 a	5.425 b	6.178 ab	** (0,014)
Ramas otoño					77 a	24 b	31 b	** (0,014)
Ramas verano	85	111	115	NS (0,701)	555 a	268 b	462 ab	* (0,052)
Ramas primavera	412	460	423	NS (0,881)	574	543	774	NS (0,145)
Ramas jóvenes	497	571	538	NS (0,733)	1.206 a	835 b	1.267 a	* (0,048)
Hojas viejas	2.917 b	2.950 b	3.683 a	* (0,029)	2.890	2.462	2.637	NS (0,602)
Ramas viejas c/h	928 a	890 b	1.201 a	* (0,046)	1.543	1.383	1.152	NS (0,230)
Ramas viejas s/h	836	752	816	NS (0,715)	1.541 a	1.118 b	1.139 b	* (0,025)
Ramas viejas	1.764 a	1.642 b	2.017 a	* (0,046)	3.084 a	2.501 b	2.291 b	* (0,027)
Tronco	1.113	1.084	1.076	NS (0,927)	1.382	1.265	1.150	NS (0,166)
Raíz fibrosa	3.349 b	3.370 b	4.110 a	* (0,026)	4.730	4.417	4.388	NS (0,550)
Raíz gruesa	3.062 b	3.407 a	3.507 a	*** (0,001)	4.321 a	3.453 b	3.521 b	** (0,012)
<b>PLANTA</b>	15.705 b	16.924 b	18.578 a	** (0,005)	27.367 a	24.409 b	23.751 b	* (0,028)
Joven caído	5.303 a	4.471 b	3.949 b	** (0,014)	5.096 a	4.280 ab	3.890 b	* (0,022)
Hojas viejas caídas	210 b	217 b	414 a	** (0,002)	239 b	344 b	502 a	** (0,006)
<b>TOTAL PLANTA</b>	21.218 b	21.612 a	22.941 a	* (0,036)	3.2702 a	29.033 b	28.143 b	** (0,010)

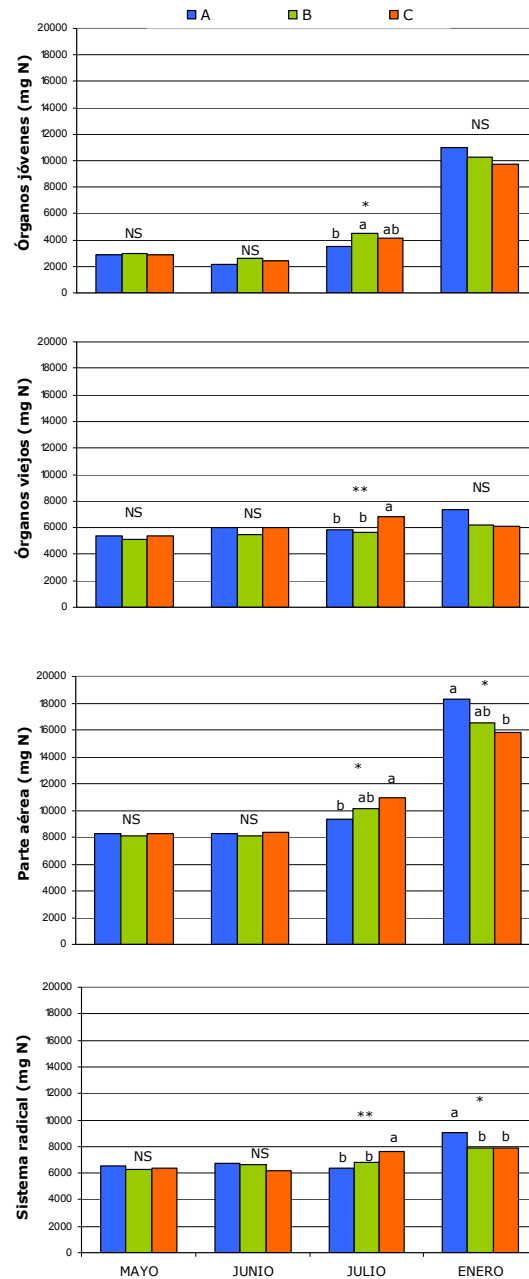
<sup>Z</sup>: Contenido en N (mg) = concentración N órgano (%) x peso seco órgano (mg) <sup>Y</sup>: Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta octubre. <sup>X</sup>: ANOVA, diferencias significativas para P<0,05 (\*); P<0,01 (\*\*) y P<0,001 (\*\*\*) y no significativas para P>0,05 (NS); entre paréntesis se indica el P-valor. <sup>W</sup>: Cada valor es la media de 3 árboles. <sup>V</sup>: Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas (P<0,05) según el test LSD-Fisher. <sup>U</sup>: Ramas del ciclo anterior con hojas. <sup>T</sup>: Ramas del ciclo anterior sin hojas. <sup>S</sup>: Incluye botón floral, pétalos, cáliz y frutos abortados caídos.

Al igual que en el ensayo de absorción, la distribución estacional no afectó al total de N acumulado por las plantas durante las extracciones realizadas en la floración y cuajado. Sin embargo, al final de caída fisiológica, el aporte diferencial acumulado de N, asociado a las curvas de distribución estacional (6,25; 12,50 y 18,75 g N·árbol<sup>-1</sup> con A, B y C, respectivamente), se tradujo en cantidades de N crecientes en las plantas. En concreto, los árboles de la distribución C mostraron un contenido en N significativamente superior al resto, como consecuencia de la mayor acumulación de este elemento en hojas de la brotación de verano, hojas y ramas viejas y sistema radical (Tabla 27).

Completado el aporte de fertilizante con las tres distribuciones, en la extracción realizada en madurez del fruto, se observó que la distribución estacional afectó significativamente al total de N acumulado por las plantas. Así, el aporte retrasado del grueso de la dosis de N (75%), desde el final de caída fisiológica hasta el final de octubre, asociado a la distribución A, supuso una acumulación de N un 12 y 15% superior en el total de la planta que con las distribuciones B y C, respectivamente. Concretamente, el conjunto de hojas y ramas jóvenes, ramas viejas y sistema radical de los árboles de la distribución A, acumularon significativamente más N que con el resto de distribuciones (Tabla 27). La bibliografía recoge respuestas similares asociadas al aporte retrasado del grueso de la dosis de N (Kubota *et al.*, 1974b; Quiñones, 2002).

Es importante destacar que las hojas viejas fueron el único órgano que disminuyó su contenido en N entre el final de caída fisiológica y madurez. Este decremento, al no verse acompañado por un descenso en la biomasa (Tabla 24), indicaría una cesión de N por parte de las hojas viejas, hacia los nuevos órganos en desarrollo. Este comportamiento se confirmó con los valores de exportación de <sup>15</sup>N (Tabla 36).

Por otro lado, cabe mencionar la variabilidad observada en el N acumulado en las hojas de otoño como consecuencia, al igual que sucedió en el ensayo de absorción, de la notable diferencia en la biomasa de dicha brotación en los árboles de los tratamientos A, B y C (Tabla 24). Tal y como se justificó en ese ensayo, el efecto competitivo como sumideros de los frutos y la brotación de otoño sería el motivo de dicha variabilidad (Lea-Cox *et al.*, 2001).



**Figura 24.** Contenido de N en el conjunto de órganos jóvenes<sup>Z</sup>, viejos<sup>Y</sup>, parte aérea y sistema radical de los árboles extraídos a lo largo del segundo año del ensayo de translocación. Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta final octubre.

<sup>Z</sup>: Órganos jóvenes en extracción en mayo: estructuras reproductivas y hojas y ramas de la brotación de primavera; en junio: frutos cuajados y hojas y ramas de la brotación de primavera; en julio: frutos en desarrollo, hojas y ramas de las brotaciones de primavera y verano; en enero: frutos maduros, hojas y ramas de las brotaciones de primavera, verano y otoño. <sup>Y</sup>: Órganos viejos incluyen las ramas y hojas de las brotaciones del ciclo anterior, ramas leñosas sin hojas y tronco. ANOVA, diferencias significativas para  $P \leq 0,05$  (\*);  $P \leq 0,01$  (\*\*) y no significativas para  $P > 0,05$  (NS). Letras distintas en una misma extracción indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) según el test LSD-Fisher.

El ciclo completo de abonado supuso el incremento en 1,8; 1,7 y 1,6 veces del contenido total en N de los árboles de las distribuciones A, B y C, respectivamente, entre la extracción en floración y la de madurez del fruto. Esta tendencia sería coherente con los valores de eficiencia de uso del N obtenidos en el ensayo paralelo de absorción al final del ciclo, 54, 51 y 46% para A, B y C, respectivamente (Tabla 19). En la bibliografía encontramos incrementos similares, en torno al doble, en el contenido de N en plantas jóvenes de cítricos tras un ciclo de abonado (Legaz *et al.*, 1981; Martínez, 2003; Menino *et al.*, 2007).

En la tabla 28 se presenta la distribución relativa del N en los distintos órganos en relación al total de este elemento en la planta en las extracciones realizadas a lo largo del ciclo. De manera análoga a la tendencia descrita en el ensayo de absorción, el N se acumuló principalmente en la parte aérea con valores entre el 55 y 60% del total de N, mientras que en el sistema radical se acumuló el 40-45% restante, independientemente de la curva de distribución aplicada. La proporción relativa de N acumulado en los órganos jóvenes fue incrementando, a excepción del periodo de cuajado del fruto, conforme éstos ganaron relevancia en el total de la planta, siendo máxima en el momento de madurez del fruto.

Las distintas distribuciones del N aplicado apenas alteraron la pauta de acumulación del N en los órganos de la planta hasta la extracción realizada al final de la caída fisiológica. Las escasas diferencias encontradas en la acumulación de N en los distintos órganos según tratamientos no parecen tener una pauta consistente asociada al mayor o menor aporte de N realizado según la distribución. En la extracción realizada en madurez del fruto, en los árboles de la distribución A el N se acumuló en los órganos leñosos, concretamente en ramas viejas y raíz gruesa, en mayor medida que en los árboles que siguieron la distribución C. Las hojas de primavera presentaron la tendencia opuesta como consecuencia por un lado de la menor biomasa de esta brotación en los árboles de A y, por otro, de la pauta de abonado en el momento de su desarrollo.

**Tabla 28.** Distribución relativa del N total<sup>z</sup> entre los distintos órganos de las plantas correspondientes a las distribuciones estacionales del N aplicado (A, B y C)<sup>y</sup> en los principales momentos fenológicos en el ensayo de translocación.

Órgano/Planta	FLORACIÓN (MAYO)				CUAJADO (JUNIO)			
	A	B	C	ANOVA <sup>x</sup>	A	B	C	ANOVA
Fruto					1,8b	2,5a	1,9ab	* (0,041)
Cáliz + pedúnculo					0,2	0,3	0,2	NS (0,083)
Total flor/fruto	7,8 <sup>w</sup> b <sup>v</sup>	9,9a	9,7a	* (0,053)	2,0b	2,8a	2,1ab	* (0,047)
Hojas primavera	9,0	8,9	7,8	NS (0,521)	10,1	11,9	11,1	NS (0,268)
Ramas primavera	2,4	2,2	2,0	NS (0,638)	2,5	2,8	3,3	NS (0,291)
<b>Órganos jóvenes</b>	19,2	21,0	19,5	NS (0,450)	14,6	17,5	16,5	NS (0,183)
Hojas viejas	20,0	19,2	20,8	NS (0,365)	22,0	20,4	22,0	NS (0,424)
Ramas viejas c/h <sup>u</sup>	5,7	6,1	6,0	NS (0,784)	7,2a	6,0b	6,4b	** (0,014)
Ramas viejas s/h <sup>t</sup>	4,3	3,4	3,7	NS (0,257)	4,3b	4,5b	5,9a	** (0,008)
Ramas viejas	10,0	9,5	9,7	NS (0,833)	11,5a	10,5b	12,3a	* (0,028)
Tronco	6,7	6,6	6,4	NS (0,916)	6,9	6,5	6,9	NS (0,910)
<b>Órganos viejos</b>	36,7a	35,3b	36,9a	* (0,044)	40,4	37,4	41,2	NS (0,225)
<b>Parte aérea</b>	55,9	56,3	56,4	NS (0,911)	55,0	54,9	57,7	NS (0,089)
Raíz fibrosa	22,1a	21,0b	19,5c	** (0,005)	23,8a	24,9a	20,0b	* (0,022)
Raíz gruesa	22,0	22,8	24,1	NS (0,297)	21,2	20,2	22,3	NS (0,143)
<b>Sistema radical</b>	44,1	43,8	43,6	NS (0,911)	45,0ab	45,1a	42,3b	* (0,049)
<b>PLANTA</b>	100,0	100,0	100,0		100,0	100,0	100,0	

Órgano/Planta	FINAL CAÍDA FISIOLÓGICA (JULIO)				MADUREZ FRUTO (ENERO)			
	A	B	C	ANOVA	A	B	C	ANOVA
Fruto	4,1a	3,7a	2,5b	NS (0,042)	11,2b	16,5a	9,7b	* (0,045)
Cáliz + pedúnculo	0,1a	0,1a	0,0b	*** (0,006)	0,1b	0,1a	0,1b	** (0,013)
Total fruto	4,2a	3,8ab	2,5b	* (0,043)	11,3ab	16,6a	9,8b	* (0,044)
Hojas otoño					1,5	0,6	1,0	NS (0,271)
Hojas verano	6,1b	9,8a	9,9a	* (0,027)	15,9	13,2	14,7	NS (0,303)
Hojas primavera	8,8	9,5	7,2	NS (0,266)	7,0b	8,4ab	10,4a	* (0,038)
Hojas jóvenes	14,9b	19,3a	17,1a	** (0,012)	24,4	22,2	26,1	NS (0,166)
Ramas otoño					0,3	0,1	0,1	NS (0,058)
Ramas verano	0,5	0,7	0,6	NS (0,915)	2,0	1,1	1,9	NS (0,114)
Ramas primavera	2,6	2,7	2,3	NS (0,700)	2,1b	2,2ab	3,3a	* (0,052)
Ramas jóvenes	3,1	3,4	2,9	NS (0,632)	4,4ab	3,4b	5,3a	* (0,053)
<b>Órganos jóvenes</b>	22,2b	26,5a	22,5b	* (0,043)	40,1	42,2	41,2	NS (0,585)
Hojas viejas	18,6	17,4	19,8	NS (0,220)	10,6	10,1	11,1	NS (0,764)
Ramas viejas c/h	5,9	5,3	6,5	NS (0,171)	5,7	5,7	4,9	NS (0,206)
Ramas viejas s/h	5,3	4,4	4,4	NS (0,326)	5,6	4,6	4,8	NS (0,105)
Ramas viejas	11,2a	9,7b	10,9a	* (0,052)	11,3a	10,3ab	9,7b	* (0,054)
Tronco	7,1	6,4	5,8	NS (0,186)	5,0	5,2	4,8	NS (0,421)
<b>Órganos viejos</b>	36,9a	33,5b	36,5a	* (0,019)	26,9	25,6	25,6	NS (0,599)
<b>Parte aérea</b>	59,1	60,0	59,0	NS (0,718)	67,0	67,8	66,8	NS (0,814)
Raíz fibrosa	21,4	19,9	22,1	NS (0,167)	17,3	18,1	18,5	NS (0,719)
Raíz gruesa	19,5	20,1	18,9	NS (0,236)	15,7a	14,1b	14,7ab	* (0,048)
<b>Sistema radical</b>	40,9	40,0	41,0	NS (0,718)	33,0	32,2	33,2	NS (0,814)
<b>PLANTA</b>	100,0	100,0	100,0		100,0	100,0	100,0	

<sup>z</sup>: Distribución relativa (%) = N total órgano (mg) x 100 / N total árbol (mg) <sup>y</sup>: Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta octubre. <sup>x</sup>: ANOVA, diferencias significativas para P<0,05 (\*); P<0,01 (\*\*); y P<0,001 (\*\*\*) y no significativas (NS); entre paréntesis se indica el P-valor. <sup>w</sup>: Cada valor es la media de 3 árboles. <sup>v</sup>: Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas (P< 0,05) según el test LSD-Fisher. <sup>u</sup>: Ramas del ciclo anterior con hojas. <sup>t</sup>: Ramas del ciclo anterior sin hojas.

#### 4.2.2.4 Porcentaje de $^{15}\text{N}$ en exceso

En la tabla 29 se muestran los valores de enriquecimiento en el isótopo  $^{15}\text{N}$ , expresado como porcentaje sobre el total de N en los distintos órganos de la planta, en cada uno de los arranques realizados a lo largo del ciclo.

Conviene recordar que en el ensayo de reservas las plantas recibieron el abono marcado con  $^{15}\text{N}$  en el año previo a las extracciones. Por lo tanto, la aparición del trazador en los nuevos órganos en desarrollo durante el ciclo vegetativo en que se llevaron a cabo las extracciones fue sin duda indicador de la translocación del N acumulado en las reservas durante el ciclo anterior.

En la extracción realizada durante la floración, los nuevos órganos formados (flores/frutos y hojas y ramas de la brotación de primavera) presentaron un enriquecimiento promedio elevado, en torno al 2,53%. Este enriquecimiento de los órganos en desarrollo, próximo al de los órganos de la planta en el estado de carga (3,55%; Tabla 23), sería indicativo de la escasa contribución de N procedente de otras fuentes no marcadas, externas a las propias reservas de la planta (fertilizante y suelo). En esta primera extracción ya se apreciaron diferencias significativas en el enriquecimiento de los árboles en función del aporte estacional del fertilizante. Las flores/frutos de los árboles de las distribuciones A y B presentaron un enriquecimiento un 4 y 9% superior, respectivamente, a la distribución C. El enriquecimiento promedio del total de los órganos jóvenes, incluyendo el de las estructuras reproductivas caídas, presentó una tendencia similar, siendo los enriquecimientos promedios en A y B un 5 y 4% superiores que en C.

Este enriquecimiento diferencial expuesto en los órganos reproductivos en floración se vio acompañado, por un empobrecimiento en  $^{15}\text{N}$  simétricamente opuesto en el conjunto de los órganos viejos (Figura 25); de modo que las distribuciones A y B presentaron enriquecimientos 8 y 3%, respectivamente, inferiores a C. Este decremento en la concentración de  $^{15}\text{N}$  en los órganos viejos se debió fundamentalmente a la translocación de éste hacia los órganos jóvenes, siendo más acusada en los árboles que recibieron el fertilizante según la distribución A.

**Tabla 29.** Enriquecimiento en  $^{15}\text{N}$  del total de N presente en los distintos órganos de las plantas correspondientes a las distribuciones estacionales del N aplicado (A, B y C)<sup>z</sup> en los principales momentos fenológicos en el ensayo de translocación.

Órganos/Planta	FLORACIÓN (MAYO)				CUAJADO (JUNIO)			
	A	B	C	ANOVA <sup>x</sup>	A	B	C	ANOVA
Fruto					2,09a	1,97ab	1,81b	* (0,039)
Cáliz + pedúnculo					2,38a	2,22ab	1,94b	* (0,047)
Total flor/fruto	2,68 <sup>w</sup> ab <sup>v</sup>	2,81a	2,58b	* (0,044)	2,11a	2,00ab	1,82b	* (0,033)
Hojas primavera	2,41	2,26	2,29	NS (0,325)	2,32a	2,17ab	2,06b	* (0,046)
Ramas primavera	2,77	2,60	2,74	NS (0,507)	2,43	2,52	2,38	NS (0,438)
Hojas viejas	3,46b	3,68ab	3,81a	* (0,054)	2,57b	2,75b	3,21a	** (0,008)
Ramas viejas c/h <sup>u</sup>	3,33b	3,57a	3,38a	* (0,050)	2,69	2,91	2,75	NS (0,120)
Ramas viejas s/h <sup>t</sup>	3,25	3,46	3,32	NS (0,226)	2,64b	2,87a	2,91a	* (0,033)
Ramas viejas <sup>s</sup>	3,30	3,53	3,35	NS (0,115)	2,67b	2,89a	2,83ab	* (0,056)
Tronco	2,71b	2,75b	3,16a	* (0,024)	2,31	2,57	2,64	NS (0,069)
Raíz fibrosa	3,14b	3,30a	3,29a	* (0,029)	2,64b	2,57b	2,83a	* (0,029)
Raíz gruesa	3,18	3,14	3,02	NS (0,722)	3,09	3,05	2,96	NS (0,335)
PLANTA <sup>s</sup>	3,09	3,16	3,17	NS (0,480)	2,65b	2,67ab	2,81a	* (0,053)
Joven caído <sup>r</sup>	3,24	3,27	3,16	NS (0,069)	3,18	3,12	2,90	NS (0,226)
Hojas viejas caídas	3,74	3,77	3,81	NS (0,226)	3,74	3,81	3,86	NS (0,115)
TOTAL PLANTA <sup>s</sup>	3,11	3,18	3,18	NS (0,115)	2,78	2,79	2,84	NS (0,335)

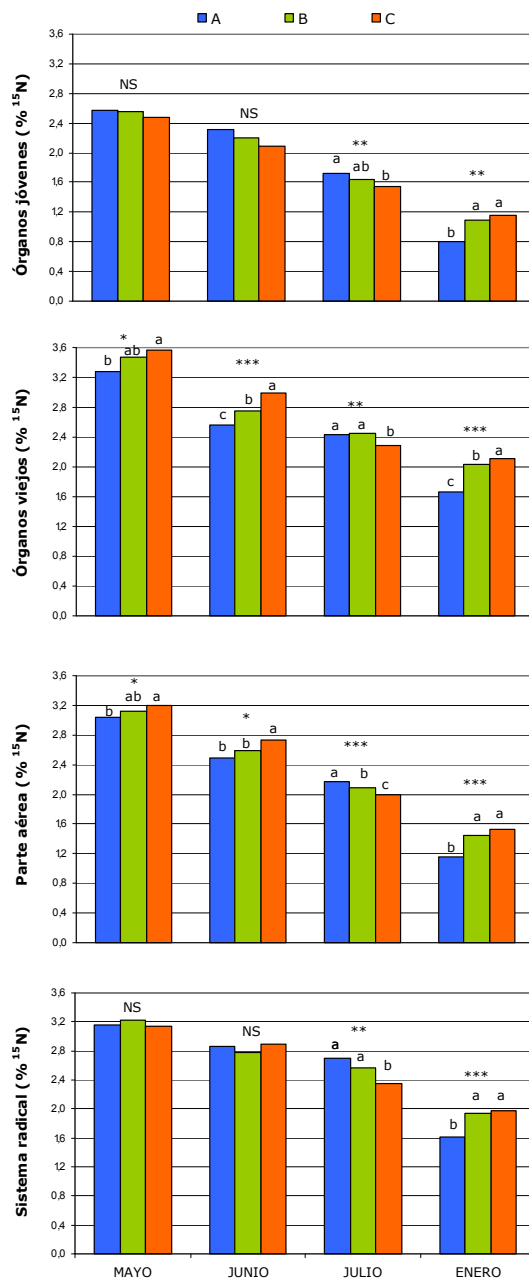
Órgano/Planta	FINAL CAÍDA FISIOLÓGICA (JULIO)				MADUREZ FRUTO (ENERO)			
	A	B	C	ANOVA	A	B	C	ANOVA
Fruto	1,56a	1,48b	1,54a	* (0,052)	0,25b	0,51a	0,46ab	* (0,053)
Cáliz + pedúnculo	1,29	1,31	1,20	NS (0,147)	0,96	1,02	0,86	NS (0,062)
Total fruto	1,56a	1,48b	1,53a	* (0,054)	0,25b	0,51a	0,47ab	* (0,053)
Hojas otoño					0,72	0,93	1,10	NS (0,275)
Hojas verano	1,47a	1,35ab	1,21b	** (0,013)	0,85b	1,18a	1,06a	** (0,002)
Hojas primavera	1,88	1,90	1,89	NS (0,947)	1,37b	1,88a	1,76a	* (0,027)
Hojas jóvenes <sup>s</sup>	1,71a	1,62ab	1,50b	* (0,035)	0,99b	1,44a	1,34a	** (0,003)
Ramas otoño					0,75	1,00	1,01	NS (0,130)
Ramas verano	1,65a	1,50b	1,34b	** (0,008)	0,87b	1,25a	1,09ab	* (0,034)
Ramas primavera	2,08a	2,00ab	1,86b	* (0,053)	1,48b	1,90a	1,82a	*** (<0,001)
Ramas jóvenes <sup>s</sup>	2,01a	1,90b	1,75c	** (0,004)	1,15b	1,66a	1,53a	*** (0,001)
Hojas viejas	2,52ab	2,53a	2,37b	* (0,052)	1,71b	2,20a	2,29a	** (0,014)
Ramas viejas c/h	2,33a	2,31ab	2,21b	* (0,048)	1,50b	1,84a	1,87a	*** (0,001)
Ramas viejas s/h	2,43a	2,43a	2,21b	*** (<0,001)	1,58b	1,88a	1,92a	*** (0,001)
Ramas viejas <sup>s</sup>	2,38a	2,37a	2,21b	** (0,007)	1,54b	1,86a	1,90a	*** (<0,001)
Tronco	2,29a	2,34a	2,13b	** (0,011)	1,87b	2,09a	2,14a	** (0,009)
Raíz fibrosa	2,37a	2,43a	2,14b	** (0,002)	1,21b	1,70a	1,71a	*** (0,001)
Raíz gruesa	3,04a	2,71b	2,60b	** (0,004)	2,04b	2,23a	2,30a	* (0,016)
PLANTA <sup>s</sup>	2,38a	2,28b	2,14c	*** (<0,001)	1,30b	1,60a	1,67a	*** (<0,001)
Joven caído	3,00	2,97	2,84	NS (0,130)	3,07	2,78	2,78	NS (0,847)
Hojas viejas caídas	3,58	3,78	3,80	NS (0,320)	3,68	3,72	3,82	NS (0,508)
TOTAL PLANTA <sup>s</sup>	2,55a	2,44b	2,29c	*** (<0,001)	1,59b	1,80a	1,86a	*** (<0,001)

<sup>z</sup>: Enriquecimiento  $^{15}\text{N}$  (%) = % átomos  $^{15}\text{N}$  órgano - 0,366% átomos  $^{15}\text{N}$  (valor abundancia natural) <sup>y</sup>: Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta octubre. <sup>x</sup>: ANOVA, diferencias significativas para  $P \leq 0,05$  (\*);  $P \leq 0,01$  (\*\*),  $P \leq 0,001$  (\*\*\*) y no significativas para  $P > 0,05$  (NS); entre paréntesis se indica el P-valor. <sup>w</sup>: Cada valor es la media de 3 árboles. <sup>v</sup>: Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) según el test LSD-Fisher. <sup>u</sup>: Ramas del ciclo anterior con hojas. <sup>t</sup>: Ramas del ciclo anterior sin hojas. <sup>s</sup>: Enriquecimiento promedio ponderado. <sup>r</sup>: Incluye botón floral, pétalos, cáliz y frutos abortados caídos.



Durante el cuajado de los frutos, los órganos jóvenes (órganos reproductivos y hojas de primavera) presentaron enriquecimientos diferenciales en el mismo sentido que en la extracción previa. El conjunto de órganos jóvenes de A mostró un enriquecimiento promedio un 10% superior al mostrado en C, mientras que con la distribución B se alcanzaron enriquecimientos intermedios a ambos (Figura 25). La inclusión de los órganos caídos en el conjunto de órganos jóvenes incrementó a un 12% las diferencias halladas entre las distribuciones A y C. Asimismo, el conjunto de órganos viejos mostró una tendencia opuesta, tal y como sucedió en floración. La translocación de los órganos viejos creció en el sentido  $A < B < C$ , al aumentar el enriquecimiento (Figura 25) en el sentido opuesto ( $A > B > C$ ).

Al final de caída fisiológica del fruto se mantuvieron las tendencias observadas en las extracciones anteriores en los enriquecimientos de los órganos jóvenes de los tres tratamientos, presentando los árboles de la distribución A un enriquecimiento un 12% superior a los de C (Figura 25). Dicho porcentaje ascendió a un 15% al incluir los enriquecimientos de las estructuras reproductivas escindidas. Sin embargo, en los órganos viejos se invirtió la tendencia presentada hasta el momento; de modo que los árboles de las distribuciones A y B presentaron un enriquecimiento significativamente superior a los de C. Esta depleción observada en los enriquecimientos de los órganos viejos de C, sería consecuencia del efecto de dilución isotópica asociado al aporte acumulado de N no marcado procedente del fertilizante y el suelo. Esta dilución fue diferencial, ya que de acuerdo con los resultados obtenidos en el ensayo paralelo de absorción, al final de caída fisiológica, en los árboles abonados según la distribución C, el 35% del N presente en los órganos viejos procedió del fertilizante; valor claramente superior al 24% correspondiente a la distribución A (Tabla 18). Por lo tanto, el efecto de dilución isotópica habría sido más acusado en los árboles de la distribución C, descendiendo así los enriquecimientos. La escasa contribución del N procedente del fertilizante a los órganos viejos al inicio del ciclo (Tabla 18) apenas produjo dilución isotópica en los enriquecimientos de éstos, por ello presentaron una pauta opuesta a los enriquecimientos de los órganos jóvenes.



**Figura 25.** Enriquecimiento en <sup>15</sup>N del N contenido en el conjunto de órganos jóvenes, viejos, parte aérea y sistema radical de los árboles extraídos a lo largo del segundo año del ensayo de translocación. Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta final octubre.

<sup>Z</sup>: Órganos jóvenes en extracción en mayo: estructuras reproductivas y hojas y ramas de la brotación de primavera. En junio: frutos cuajados y hojas y ramas de la brotación de primavera. En julio: frutos en desarrollo, hojas y ramas de las brotaciones de primavera y verano. En enero: frutos maduros, hojas y ramas de las brotaciones de primavera, verano y otoño. <sup>Y</sup>: Órganos viejos incluyen las ramas y hojas de las brotaciones del ciclo anterior, ramas leñosas sin hojas y tronco. ANOVA, diferencias significativas para P≤0,05 (\*); P≤0,01 (\*\*); P≤0,001 (\*\*\*) y no significativas para P>0,05 (NS). Letras distintas en una misma extracción indican diferencias significativas (P<0,05) según el test LSD-Fisher.

En el estado fenológico de madurez del fruto, la tendencia observada tanto en los órganos jóvenes como en los viejos se invirtió, de modo que la práctica totalidad de éstos mostraron enriquecimientos superiores con la distribución B y C que con la A. La elevada contribución del N procedente del fertilizante al total de este elemento en órganos jóvenes (55-60%, Figura 9), viejos (40%) y sistema radical (40%) provocó una importante dilución del  $^{15}\text{N}$  presente en la planta, que descendió a prácticamente la mitad del alcanzado en el estado de carga. Esta dilución fue más acusada en los árboles de la distribución A, como consecuencia de los mayores aportes de N recibidos (75% de la dosis) en el periodo comprendido entre el final de caída fisiológica y la madurez del fruto, invirtiendo la tendencia observada hasta el momento.

Una pauta similar a la observada en el enriquecimiento en  $^{15}\text{N}$  en el presente ensayo ha sido observada por otros autores. Legaz *et al.* (1981) aplicaron dos dosis de N (15 y 245 ppm) a naranjos Valencia de 4 años cultivados en arena, en los que se había marcado las reservas como consecuencia del aporte de  $^{15}\text{N}$  durante el ciclo anterior. Extracciones periódicas a lo largo del segundo año mostraron un enriquecimiento en los órganos jóvenes, debido al flujo de N procedente de las reservas. Dichos enriquecimientos fueron mayores en las plantas que recibieron la dosis baja de N. Los enriquecimientos en  $^{15}\text{N}$  tanto de órganos jóvenes como viejos se redujeron a lo largo del ciclo; siendo este decremento más pronunciado en los árboles que recibieron más N.

Es conveniente destacar que, independientemente de la distribución estacional del fertilizante, los mayores enriquecimientos en  $^{15}\text{N}$  de los órganos jóvenes se produjeron en sus primeros estadios de desarrollo. Durante la floración, los órganos jóvenes presentaron un enriquecimiento promedio del 2,50%; dicho porcentaje descendió hasta valores en torno al 1,00% al final del ciclo. Este descenso fue como consecuencia, por un lado, de la dilución isotópica asociada al aporte continuo de N no marcado con el fertilizante y, por otro, al incremento en la proporción derivada del fertilizante en los órganos jóvenes asociado al crecimiento de los mismos (Tabla 18).

En los órganos caídos se observó una tendencia paralela no significativa a la de los respectivos órganos en la planta (Tabla 29). Así, mientras que los órganos jóvenes caídos presentaron enriquecimientos decrecientes en el sentido  $A > B > C$ , al igual que ocurría en los órganos jóvenes de la planta; en cambio, las hojas viejas caídas presentaron una pauta  $A < B < C$ .

#### 4.2.2.5 Contenido en $^{15}\text{N}$ y su distribución relativa en la planta

Los contenidos en  $^{15}\text{N}$  de los distintos órganos y total del árbol en las distintas extracciones realizadas se muestran en la tabla 30. Es importante destacar que el contenido en  $^{15}\text{N}$  de un órgano vendrá condicionado básicamente por la biomasa de éste, así como por la concentración en  $^{15}\text{N}$  y contenido total en N. Como consecuencia de ello, las variaciones en el contenido en  $^{15}\text{N}$  no serán suficientes para explicar una mayor o menor tasa de exportación/importación de N por los órganos viejos/jóvenes, al encontrarse este parámetro sujeto a la variabilidad intrínseca a la biomasa; siendo para ello necesario recurrir posteriormente al cálculo de otros parámetros como son el N exportado por los órganos viejos o el porcentaje de N procedente de translocación en los órganos jóvenes.

El balance total del  $^{15}\text{N}$  en el conjunto de la planta y los órganos caídos se mantuvo constante a lo largo de todo el ciclo, e igual a la cantidad que presentaron los árboles al final del primer año de ensayo en el estado de carga (535 mg; Tabla 23). En la extracción realizada posteriormente en floración (mayo), el contenido en  $^{15}\text{N}$  presente en los árboles descendió un 15% respecto al estado de carga, como consecuencia del  $^{15}\text{N}$  localizado en los órganos caídos (flores/pétalos y hojas viejas). En cuajado (junio), descendió un 13% adicional en promedio para las tres distribuciones, como consecuencia de las primeras abscisiones de frutos. Sin embargo, el  $^{15}\text{N}$  acumulado en la planta se mantuvo casi constante en las extracciones posteriores, al no producirse pérdidas reseñables de órganos caídos después de la caída fisiológica del fruto.

Las distintas distribuciones estacionales del N, aplicadas en el segundo año del ensayo, no afectaron al contenido en  $^{15}\text{N}$  de las plantas durante la floración y cuajado. Las variaciones en  $^{15}\text{N}$  encontradas en los frutos se debieron a la biomasa y concentración de N total; mientras que en el conjunto de ramas viejas con y sin hojas y el sistema radicular, influyó básicamente la biomasa en la extracción durante el cuajado del fruto (Tabla 30).

Al final de caída fisiológica, las diferencias en el contenido de  $^{15}\text{N}$  de los órganos jóvenes y viejos (Figura 26) fueron paralelas a las observadas en las biomásas de las tres distribuciones (Figura 22), viéndose asimismo influenciadas por la concentración de N (Figura 23). Aunque el sistema radicular no mostró diferencias notables, la tendencia observada en la parte aérea se hizo extensiva al total de la planta.

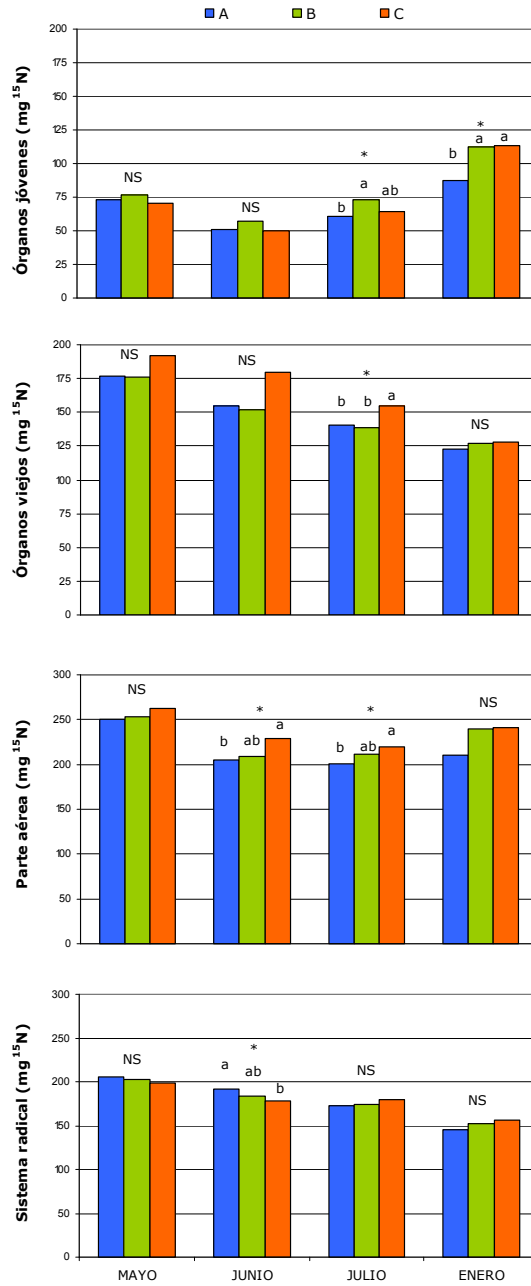
**Tabla 30.** Contenido en  $^{15}\text{N}^z$  en los distintos órganos y en el total de las plantas correspondientes a las distribuciones estacionales del N aplicado (A, B y C)<sup>y</sup> en los principales momentos fenológicos en el ensayo de translocación.

Órgano/Planta	FLORACIÓN (MAYO)				CUAJADO (JUNIO)			
	A	B	C	ANOVA <sup>x</sup>	A	B	C	ANOVA
Fruto					5,7	7,3	5,0	NS (0,193)
Cáliz + pedúnculo					0,6	0,9	0,5	NS (0,142)
Total flor/fruto	31,0 <sup>w</sup> c <sup>v</sup>	39,9a	36,5b	** (0,002)	6,3	8,2	5,5	NS (0,153)
Hojas primavera	32,2	29,0	26,0	NS (0,280)	35,1	37,9	33,2	NS (0,320)
Ramas primavera	9,7	8,2	8,0	NS (0,434)	9,2	10,5	11,5	NS (0,383)
Hojas viejas	101,9	101,4	115,0	NS (0,205)	84,5	82,4	102,6	NS (0,147)
Ramas viejas c/h <sup>u</sup>	27,9	31,4	29,6	NS (0,560)	29,0a	25,8b	25,5b	* (0,054)
Ramas viejas s/h <sup>t</sup>	20,7	16,8	18,1	NS (0,274)	17,1b	18,8b	24,9a	** (0,013)
Ramas viejas	48,6	48,2	47,7	NS (0,967)	46,1	44,6	50,4	NS (0,183)
Tronco	26,8	26,2	29,6	NS (0,437)	23,7	24,7	26,3	NS (0,677)
Raíz fibrosa	102,4	99,4	93,3	NS (0,367)	93,5	93,8	82,4	NS (0,099)
Raíz gruesa	103,3	103,2	105,7	NS (0,272)	98,0	90,2	95,7	NS (0,102)
<b>PLANTA</b>	455,9	455,5	461,8	NS (0,877)	396,4	392,3	407,6	NS (0,417)
Joven caído <sup>s</sup>	72,5a	62,5ab	53,5b	* (0,054)	136,5a	107,8b	108,7ab	* (0,035)
Hojas viejas caídas	6,0b	5,3b	12,2a	*** (<0,001)	9,5b	21,2a	12,4b	** (0,012)
<b>TOTAL PLANTA</b>	534,4	523,3	527,5	NS (0,378)	542,4	521,3	528,7	NS (0,418)

Órgano/Planta	FINAL CAÍDA FISIOLÓGICA (JULIO)				MADUREZ FRUTO (ENERO)			
	A	B	C	ANOVA	A	B	C	ANOVA
Fruto	10,2	9,3	7,1	NS (0,258)	7,6c	20,6a	10,7b	*** (<0,001)
Cáliz + pedúnculo	0,2a	0,2a	0,1b	** (0,002)	0,1b	0,2a	0,1b	** (0,002)
Total fruto	10,4	9,5	7,2	NS (0,248)	7,7c	20,8a	10,8b	*** (<0,001)
Hojas otoño					2,9	1,5	2,6	NS (0,115)
Hojas verano	14,1b	22,3a	22,2a	* (0,018)	37,1	38,2	36,8	NS (0,799)
Hojas primavera	26,0	30,5	25,4	NS (0,427)	26,3b	38,3ab	43,3a	* (0,045)
Hojas jóvenes	40,1b	52,8a	47,6a	* (0,030)	66,3	78,0	82,7	NS (0,160)
Ramas otoño					0,6a	0,2b	0,3b	** (0,008)
Ramas verano	1,4	1,7	1,5	NS (0,910)	4,8ab	3,3b	5,1a	* (0,049)
Ramas primavera	8,6	9,2	7,9	NS (0,760)	8,5b	10,4ab	14,1a	* (0,047)
Ramas jóvenes	10,0	10,9	9,4	NS (0,677)	13,9b	13,9b	19,5a	* (0,051)
Hojas viejas	73,4	74,8	87,3	NS (0,100)	49,5	54,1	60,4	NS (0,713)
Ramas viejas c/h	21,6ab	20,6b	26,6a	* (0,040)	23,1	25,5	21,6	NS (0,504)
Ramas viejas s/h	20,3	18,3	18,1	NS (0,659)	24,4	21,0	21,9	NS (0,376)
Ramas viejas	41,9	38,9	44,7	NS (0,226)	47,5	46,5	43,5	NS (0,547)
Tronco	25,5	25,4	22,9	NS (0,369)	25,9	26,4	24,6	NS (0,669)
Raíz fibrosa	79,3	81,8	87,8	NS (0,378)	57,2b	75,2a	75,1a	** (0,012)
Raíz gruesa	93,1	92,2	91,1	NS (0,552)	88,0a	76,8b	81,1ab	* (0,054)
<b>PLANTA</b>	373,7b	386,3ab	398,0a	* (0,051)	356,0	391,7	397,7	NS (0,118)
Joven caído	159,1a	133,0b	112,0b	** (0,009)	156,4a	118,9b	108,0b	** (0,009)
Hojas viejas caídas	7,5b	8,2b	15,7a	* (0,036)	8,8b	12,8b	19,2a	** (0,015)
<b>TOTAL PLANTA</b>	540,3	527,5	525,7	NS (0,548)	521,2	523,4	524,9	NS (0,823)

<sup>z</sup>: Contenido  $^{15}\text{N}$  (mg) = % átomos  $^{15}\text{N}$  en exceso x N (mg) en órgano. <sup>y</sup>: Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta octubre. <sup>x</sup>: ANOVA, diferencias significativas para  $P \leq 0,05$  (\*);  $P \leq 0,01$  (\*\*) y  $P \leq 0,001$  (\*\*\*) y no significativas para  $P > 0,05$  (NS); entre paréntesis se indica el P-valor. <sup>w</sup>: Cada valor es la media de 3 árboles. <sup>v</sup>: Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) según el test LSD-Fisher. <sup>u</sup>: Ramas del ciclo anterior con hojas. <sup>t</sup>: Ramas del ciclo anterior sin hojas. <sup>s</sup>: Incluye botón floral, pétalos, cáliz y frutos abortados caídos.



**Figura 26.** Contenido en <sup>15</sup>N en el conjunto de órganos jóvenes<sup>z</sup>, viejos<sup>y</sup>, parte aérea y sistema radical de los árboles extraídos a lo largo del segundo año del ensayo de translocación. Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta final octubre.

<sup>z</sup>: Órganos jóvenes en extracción en mayo: estructuras reproductivas y hojas y ramas de la brotación de primavera. En junio: frutos cuajados y hojas y ramas de la brotación de primavera. En julio: frutos en desarrollo, hojas y ramas de las brotaciones de primavera y verano. En enero: frutos maduros, hojas y ramas de las brotaciones de primavera, verano y otoño. <sup>y</sup>: Órganos viejos incluyen las ramas y hojas de las brotaciones del ciclo anterior, ramas leñosas sin hojas y tronco. ANOVA, diferencias significativas para  $P \leq 0,05$  (\*) y no significativas para  $P > 0,05$  (NS). Letras distintas en una misma extracción indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) según el test LSD-Fisher.

En la extracción realizada al final del ciclo (madurez del fruto), el contenido en  $^{15}\text{N}$  en el total de los órganos jóvenes de los árboles de las distribuciones B y C fue significativamente mayor que en el caso de la distribución A, pese a no existir diferencias significativas en la biomasa de éstos. En este caso, las diferencias se debieron a la mayor concentración de  $^{15}\text{N}$  de B y C (Figura 25). Sin embargo, los órganos viejos y la planta en su conjunto no presentaron diferencias en el contenido total de este isótopo, debido básicamente a la menor biomasa (Tabla 24, Figura 22) y concentración de N en B y C (Tabla 26, Figura 23), a pesar de que en B y C se concentró significativamente más  $^{15}\text{N}$  que en A (Figura 26).

El  $^{15}\text{N}$  acumulado por las estructuras reproductivas caídas (órganos caídos jóvenes) fue, desde el inicio del ciclo, significativamente mayor en los árboles de la distribución A que en las distribuciones B y C (Tabla 30). Esta tendencia se debió al mayor contenido en biomasa (Tabla 24) y en porcentaje de  $^{15}\text{N}$  (Tabla 29) en los órganos caídos del tratamiento A.

Respecto a la distribución porcentual del  $^{15}\text{N}$  en los distintos órganos de la planta (Tabla 31), se observa que los órganos jóvenes incrementaron notablemente hacia el final del ciclo el  $^{15}\text{N}$  acumulado, con independencia de la distribución estacional del fertilizante. Así, mientras que en floración los órganos jóvenes acumularon en promedio el 16% del total del isótopo presente en la planta, en madurez del fruto se alcanzaron valores en torno al 27%. En este momento, el mayor porcentaje correspondió a las hojas jóvenes que acumularon aproximadamente un 20% del  $^{15}\text{N}$  de la planta. La capacidad sumidero de los frutos respecto a este elemento se vio claramente condicionada por la biomasa; de modo que en madurez del fruto, la distribución B debido a su mayor producción (Tabla 24), conllevó una acumulación de  $^{15}\text{N}$  comparativamente superior a la del resto de distribuciones. El porcentaje de  $^{15}\text{N}$  acumulado en el conjunto de órganos viejos de la parte aérea decreció durante el ciclo, especialmente hacia el final; dicho decremento fue especialmente acusado en las hojas viejas, que pasaron de acumular un 23% a un 15% del total, con independencia de la distribución estacional del fertilizante. Asimismo, el sistema radical redujo ligeramente el porcentaje acumulado del total del  $^{15}\text{N}$  hacia el final del ciclo. Una tendencia similar en la distribución porcentual en los distintos órganos de la planta del  $^{15}\text{N}$  absorbido el ciclo anterior fue descrita por Legaz *et al.* (1981) en plantas jóvenes de cítricos.

**Tabla 31.** Distribución relativa<sup>Z</sup> del total de <sup>15</sup>N entre los distintos órganos de las plantas correspondientes a las distribuciones estacionales del N aplicado (A, B y C)<sup>Y</sup> en los principales momentos fenológicos en el ensayo de translocación.

Órgano/Planta	FLORACIÓN (MAYO)				CUAJADO (JUNIO)			
	A	B	C	ANOVA <sup>X</sup>	A	B	C	ANOVA
Fruto					1,4	1,9	1,2	NS (0,144)
Cáliz + pedúnculo					0,2	0,2	0,1	NS (0,118)
Total flor/fruto	6,8 <sup>W</sup> b <sup>V</sup>	8,7 a	7,9 a	** (0,012)	1,6	2,1	1,3	NS (0,111)
Hojas primavera	7,1	6,4	5,6	NS (0,231)	8,9	9,7	8,2	NS (0,229)
Ramas primavera	2,1	1,8	1,7	NS (0,354)	2,3	2,7	2,8	NS (0,434)
<b>Órganos jóvenes</b>	16,0	16,9	15,2	NS (0,336)	12,8	14,5	12,3	NS (0,278)
Hojas viejas	22,4	22,3	24,9	NS (0,119)	21,4	21,0	25,2	NS (0,139)
Ramas viejas c/h <sup>U</sup>	6,1	6,9	6,4	NS (0,533)	7,3 a	6,6 ab	6,3 b	* (0,048)
Ramas viejas s/h <sup>T</sup>	4,5	3,7	3,9	NS (0,281)	4,3 b	4,8 b	6,1 a	* (0,020)
Ramas viejas	10,7	10,6	10,3	NS (0,926)	11,6	11,4	12,4	NS (0,422)
Tronco	5,9	5,8	6,5	NS (0,522)	6,0	6,3	6,5	NS (0,771)
<b>Órganos viejos</b>	38,9 b	38,6 b	41,7 a	** (0,004)	39,0 ab	38,7 b	44,1 a	* (0,043)
<b>Parte aérea</b>	54,9	55,5	56,9	NS (0,147)	51,8 b	53,2 b	56,4 a	* (0,026)
Raíz fibrosa	22,5 a	21,8 ab	20,2 b	* (0,050)	23,5 a	23,8 a	20,2 b	* (0,054)
Raíz gruesa	22,7	22,7	22,9	NS (0,830)	24,7	23,0	23,4	NS (0,120)
<b>Sistema radical</b>	45,1	44,5	43,1	NS (0,147)	48,2 a	46,8 a	43,6 b	* (0,026)
<b>PLANTA</b>	100,0	100,0	100,0		100,0	100,0	100,0	

Órgano/Planta	FINAL CAÍDA FISIOLÓGICA (JULIO)				MADUREZ FRUTO (ENERO)			
	A	B	C	ANOVA	A	B	C	ANOVA
Fruto	2,7	2,4	1,8	NS (0,212)	2,1 b	5,3 a	2,7 b	*** (<0,001)
Cáliz + pedúnculo	<0,1 a	<0,1 a	<0,1 b	** (0,003)	<0,1 b	0,1 a	0,0 b	** (0,003)
Total fruto	2,8	2,5	1,8	NS (0,204)	2,2 b	5,3 a	2,7 b	*** (<0,001)
Hojas otoño					0,8 a	0,4 b	0,6 ab	* (0,054)
Hojas verano	3,8 b	5,8 a	5,6 a	* (0,042)	10,4	9,8	9,3	NS (0,486)
Hojas primavera	7,0	7,9	6,4	NS (0,313)	7,4	9,8	10,9	NS (0,125)
<i>Hojas jóvenes</i>	10,8 b	13,7 a	12,0 a	* (0,026)	18,6	20,0	20,8	NS (0,394)
Ramas otoño					0,2 a	0,1 b	0,1 b	** (0,007)
Ramas verano	0,4	0,4	0,4	NS (0,941)	1,4 a	0,9 b	1,3 ab	* (0,080)
Ramas primavera	2,3	2,4	2,0	NS (0,646)	2,3 b	2,5 ab	3,5 a	* (0,051)
<i>Ramas jóvenes</i>	2,7	2,8	2,4	NS (0,557)	3,9 ab	3,5 b	4,9 a	* (0,050)
<b>Órganos jóvenes</b>	16,3	19,0	16,2	NS (0,081)	24,7	28,8	28,4	NS (0,156)
Hojas viejas	19,7	19,4	21,9	NS (0,211)	13,9	13,8	15,2	NS (0,495)
Ramas viejas c/h	5,8 ab	5,3 b	6,7 a	* (0,054)	6,5	6,5	5,4	NS (0,433)
Ramas viejas s/h	5,4	4,7	4,5	NS (0,451)	6,8 a	5,4 b	5,5 b	* (0,051)
<i>Ramas viejas</i>	11,2	10,0	11,2	NS (0,192)	13,3 a	11,9 ab	10,9 b	* (0,047)
Tronco	6,7	6,6	5,8	NS (0,076)	7,3 a	6,7 ab	6,2 b	* (0,045)
<b>Órganos viejos</b>	37,6 ab	36,0 b	38,9 a	* (0,053)	34,5	32,4	32,3	NS (0,236)
<b>Parte aérea</b>	53,9	55,0	55,1	NS (0,451)	59,2	61,2	60,7	NS (0,707)
Raíz fibrosa	21,2	21,2	22,1	NS (0,701)	16,1 b	19,2 a	18,9 a	* (0,047)
Raíz gruesa	24,9 a	23,8 ab	22,8 b	* (0,049)	24,7 a	19,6 b	20,4 b	*** (0,001)
<b>Sistema radical</b>	46,1	45,0	44,9	NS (0,451)	40,8	38,8	39,3	NS (0,707)
<b>PLANTA</b>	100,0	100,0	100,0		100,0	100,0	100,0	

<sup>Z</sup>: Distribución relativa (%) = <sup>15</sup>N total órgano (mg) x 100 / <sup>15</sup>N total árbol (mg) <sup>Y</sup>: Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta octubre. <sup>X</sup>: ANOVA, diferencias significativas para P≤0,05 (\*); P≤0,01 (\*\*) y P≤0,001 (\*\*\*) y no significativas para P>0,05 (NS); entre paréntesis se indica el P-valor. <sup>W</sup>: Cada valor es la media de 3 árboles. <sup>V</sup>: Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas (P<0,05) según el test LSD-Fisher. <sup>U</sup>: Ramas del ciclo anterior con hojas. <sup>T</sup>: Ramas del ciclo anterior sin hojas.



**Tabla 32.** Distribución relativa del total de  $^{15}\text{N}^z$  entre el total de las plantas y sus órganos caídos, correspondientes a las distribuciones estacionales del N aplicado (A, B y C)<sup>t</sup> en los principales momentos fenológicos en el ensayo de translocación.

Órgano/Planta	FLORACIÓN (MAYO)				CUAJADO (JUNIO)			
	A	B	C	ANOVA <sup>x</sup>	A	B	C	ANOVA
Fruto					1,0	1,4	1,0	NS (0,101)
Cáliz + pedúnculo					0,1	0,2	0,1	NS (0,115)
Total flor/fruto	5,8 b	7,6 a	6,9 a	** (0,005)	1,1	1,6	1,1	NS (0,078)
Hojas primavera	6,0	5,5	4,9	NS (0,351)	6,5	7,3	6,3	NS (0,234)
Ramas primavera	1,8	1,6	1,5	NS (0,487)	1,7	2,1	2,2	NS (0,282)
<b>Órganos jóvenes</b>	13,6	14,7	13,3	NS (0,370)	9,3	11,0	9,6	NS (0,199)
Hojas viejas	19,1	19,4	21,8	NS (0,104)	15,6 b	15,8 ab	19,4 a	* (0,055)
Ramas viejas c/h <sup>u</sup>	5,2	6,0	5,6	NS (0,477)	5,3	4,9	4,8	NS (0,255)
Ramas viejas s/h <sup>t</sup>	3,9	3,2	3,4	NS (0,347)	3,2 b	3,6 b	4,7 a	** (0,015)
Ramas viejas	9,1	9,2	9,0	NS (0,968)	8,5	8,5	9,5	NS (0,256)
Tronco	5,0	5,0	5,6	NS (0,385)	4,4	4,7	5,0	NS (0,554)
<b>Órganos viejos</b>	33,2 b	33,6 b	36,5 a	** (0,009)	28,5 b	29,0 b	33,9 a	* (0,053)
<b>Parte aérea</b>	46,8	48,3	49,8	NS (0,135)	37,8 b	40,0 b	43,5 a	** (0,010)
Raíz fibrosa	19,2	19,0	17,7	NS (0,228)	17,2	18,0	15,6	NS (0,146)
Raíz gruesa	19,3 b	19,7 ab	20,0 a	* (0,054)	18,1	17,3	18,1	NS (0,436)
<b>Sistema radical</b>	38,5	38,7	37,7	NS (0,447)	35,3	35,3	33,7	NS (0,350)
<b>PLANTA</b>	85,3	87,0	87,5	NS (0,264)	73,1 b	75,3 ab	77,2 a	* (0,046)
Joven caído <sup>s</sup>	13,6	11,9	10,2	NS (0,133)	25,2 a	20,6 b	20,5 b	* (0,031)
Hojas viejas caídas	1,1 b	1,1 b	2,3 a	*** (<0,001)	1,7 b	4,1 a	2,3 b	*** (0,001)
<b>TOTAL PLANTA</b>	100,0	100,0	100,0		100,0	100,0	100,0	

Órgano/Planta	FINAL CAÍDA FISIOLÓGICA (JULIO)				MADUREZ FRUTO (ENERO)			
	A	B	C	ANOVA	A	B	C	ANOVA
Fruto	1,9	1,8	1,3	NS (0,285)	1,5 c	3,9 a	2,0 b	*** (<0,001)
Cáliz + pedúnculo	<0,1	<0,1	<0,1	NS (0,356)	<0,1	<0,1	<0,1	NS (0,257)
Total fruto	1,9	1,8	1,4	NS (0,274)	1,5 c	4,0 a	2,1 b	*** (<0,001)
Hojas otoño					0,6	0,3	0,5	NS (0,140)
Hojas verano	2,6 b	4,2 a	4,2 a	* (0,023)	7,1	7,3	7,0	NS (0,798)
Hojas primavera	4,8	5,8	4,9	NS (0,345)	5,0 b	7,3 ab	8,3 a	* (0,057)
Hojas jóvenes	7,4 b	10,0 a	9,1 a	* (0,023)	12,7	14,9	15,8	NS (0,166)
Ramas otoño					0,1 a	<0,1 b	0,1 b	** (0,011)
Ramas verano	0,3	0,3	0,3	NS (0,903)	0,9	0,6	1,0	NS (0,112)
Ramas primavera	1,6	1,7	1,5	NS (0,778)	1,6 b	2,0 ab	2,7 a	* (0,054)
Ramas jóvenes	1,9	2,0	1,8	NS (0,702)	2,6 b	2,7 b	3,8 a	* (0,054)
<b>Órganos jóvenes</b>	11,2 b	13,8 a	12,3 a	* (0,054)	16,8 b	21,6 a	21,7 a	* (0,045)
Hojas viejas	13,6 b	14,2 b	16,6 a	* (0,030)	9,5	10,3	11,5	NS (0,673)
Ramas viejas c/h	4,0 b	3,9 b	5,1 a	* (0,053)	4,4	4,9	4,1	NS (0,423)
Ramas viejas s/h	3,8	3,5	3,4	NS (0,804)	4,7	4,0	4,2	NS (0,404)
Ramas viejas	7,8	7,4	8,5	NS (0,178)	9,1	8,9	8,3	NS (0,450)
Tronco	4,7	4,8	4,4	NS (0,587)	5,0	5,0	4,7	NS (0,526)
<b>Órganos viejos</b>	26,1 b	26,4 b	29,5 a	** (0,004)	23,6	24,2	24,5	NS (0,895)
<b>Parte aérea</b>	37,2 b	40,2 a	41,7 a	** (0,009)	40,4 b	45,8 a	46,2 a	* (0,039)
Raíz fibrosa	14,7	15,5	16,7	NS (0,230)	11,0 b	14,4 a	14,3 a	** (0,014)
Raíz gruesa	17,2	17,5	17,3	NS (0,867)	16,9 a	14,7 b	15,5 ab	* (0,025)
<b>Sistema radical</b>	31,9	33,0	34,0	NS (0,239)	27,9 b	29,1 ab	29,8 a	* (0,049)
<b>PLANTA</b>	69,2 b	73,2 a	75,7 a	** (0,011)	68,3 b	74,9 a	76,0 a	** (0,014)
Joven caído	29,5 a	25,2 b	21,3 c	** (0,005)	30,0 a	22,7 b	20,5 b	** (0,008)
Hojas viejas caídas	1,4 b	1,6 b	3,0 a	* (0,030)	1,7 b	2,4 b	3,5 a	** (0,017)
<b>TOTAL PLANTA</b>	100,0	100,0	100,0		100,0	100,0	100,0	

<sup>z</sup>: Distribución relativa (%) =  $^{15}\text{N}$  total órgano (mg) x 100 /  $^{15}\text{N}$  total árbol incluidos caídos (mg). Y, X, W, V, U, T, S: Id. Tabla 30. <sup>s</sup>: Incluye botón floral, pétalos, cálices y frutos abortados caídos.

Las distribuciones estacionales del N aplicado produjeron diferencias significativas en las fracciones de  $^{15}\text{N}$  acumuladas en los órganos viejos hasta el final de caída fisiológica; de modo que con la distribución C éstos retuvieron una mayor proporción del isótopo que en el resto de tratamientos. En cambio, los órganos jóvenes de la planta, receptores del  $^{15}\text{N}$  exportado por los órganos viejos, no mostraron la tendencia opuesta como cabría esperar, debido al considerable contenido de  $^{15}\text{N}$  retenido en las estructuras reproductivas caídas (Tabla 30) y no computado en la distribución relativa (Tabla 31). Es mediante la distribución porcentual del  $^{15}\text{N}$  en el conjunto de la planta más los órganos jóvenes caídos donde se aprecia el destino del N exportado por los órganos viejos (Tabla 32). Parece por tanto que hasta el final de la caída fisiológica la exportación del  $^{15}\text{N}$  acumulado desde el ciclo anterior fue menor con la distribución C.

Este resultado sería coherente con Legaz *et al.* (1981), quienes obtuvieron un mayor porcentaje de distribución de  $^{15}\text{N}$  en los órganos jóvenes de los árboles fertilizados en arena con una dosis baja de N, mientras que los órganos viejos presentaron la tendencia opuesta, y por tanto, una mayor pérdida del  $^{15}\text{N}$  acumulado el año anterior. Este hecho llevó a estos autores a concluir que se habría movilizado más N procedente de las reservas en condiciones de baja disponibilidad de este elemento en la solución nutritiva.

Al final del ciclo, pareció invertirse la tendencia, de modo que la fracción leñosa (ramas viejas, tronco y raíces gruesas) de los árboles de A retuvo proporcionalmente más  $^{15}\text{N}$  del total de la planta que el resto de distribuciones. Sin embargo, el conjunto de órganos viejos, aunque presentó una tendencia paralela a la de los órganos leñosos, ésta no fue estadísticamente significativa. En el conjunto de órganos jóvenes de la planta no se apreciaron diferencias como consecuencia de la distribución del fertilizante, debido a la diferente respuesta presentada por cada uno de los órganos que lo componen. En el conjunto de órganos jóvenes vegetativos (hojas y ramas) los valores presentados fueron significativamente inferiores para la distribución A; en cambio, en los frutos, se obtuvo una pauta inconsistente por diferencias en la biomasa de éstos. Sin embargo, la consideración en el cómputo total del  $^{15}\text{N}$  acumulado en los órganos caídos supuso una mayor acumulación en los árboles de la distribución A (Tabla 32). Como consecuencia de este resultado, las diferencias observadas se deberían exclusivamente al comportamiento diferencial en la exportación producido en las etapas comprendidas hasta el final de caída fisiológica. No se dispone de bibliografía que permita discutir el presente resultado, ya que en el trabajo llevado a cabo por Legaz *et al.* (1981), las dosis diferenciales de N (baja y alta) se aportaron todo el ciclo, por lo que la tendencia observada por estos autores hasta el final del cuajado se mantuvo constante el resto del ciclo.

#### 4.2.2.6 Contenido de N en los órganos jóvenes procedente de translocación y su distribución relativa

La tabla 33 recoge los valores de contenido en N de los órganos jóvenes procedente de la translocación de las reservas del ciclo anterior (Nt).

El mayor contenido de N procedente de translocación fue sin duda al inicio del ciclo, ya que desde el inicio de la floración-brotación de primavera (mediados de marzo) hasta la primera extracción (principio de mayo), el total de los órganos jóvenes acumularon entre 3,5 y 4,0 g N procedente de las reservas. Aproximadamente el 50% de este N se acumuló en los órganos caídos, que en este periodo son pétalos principalmente.

**Tabla 33.** Contenido en N en los órganos jóvenes procedente de la translocación (Nt)<sup>z</sup> de las reservas de los órganos viejos en los distintos órganos de las plantas correspondientes a las distribuciones estacionales del N aplicado (A, B y C)<sup>y</sup> en los principales momentos fenológicos en el ensayo de translocación.

Órgano/Planta	FLORACIÓN (MAYO)				CUAJADO (JUNIO)			
	A	B	C	ANOVA <sup>x</sup>	A	B	C	ANOVA
Fruto					159	205	142	NS (0,193)
Cáliz + pedúnculo					17	27	15	NS (0,142)
Total flor/fruto	872 <sup>w</sup> c <sup>v</sup>	1.123 a	1.026 b	** (0,002)	176	232	157	NS (0,153)
Hojas primavera	906	815	733	NS (0,280)	987	1.068	936	NS (0,320)
Ramas primavera	272	230	225	NS (0,434)	257	296	324	NS (0,383)
<b>Total jóvenes planta</b>	2.050	2.168	1.984	NS (0,420)	1.420	1.596	1.417	NS (0,364)
Caídos jóvenes	2.040 a	1.759 ab	1.507 b	* (0,054)	3.844 a	3.034 b	3.059 ab	* (0,049)
<b>TOTAL JOVEN</b>	4.090 a	3.927 a	3.491 b	** (0,011)	5.264	4.630	4.476	NS (0,212)

Órgano/Planta	FINAL CAÍDA FISIOLÓGICA (JULIO)				MADUREZ FRUTO (ENERO)			
	A	B	C	ANOVA	A	B	C	ANOVA
Fruto	286	262	200	NS (0,258)	214 c	579 a	301 b	*** (<0,001)
Cáliz + pedúnculo	5 a	5 a	3 b	** (0,002)	4 b	6 a	3 b	** (0,002)
Total fruto	291	267	203	NS (0,248)	218 c	585 a	304 b	*** (<0,001)
Hojas otoño					81	40	72	NS (0,115)
Hojas verano	395 b	626 a	626 a	** (0,016)	1.043	1.077	1.037	NS (0,799)
Hojas primavera	733	860	714	NS (0,427)	741 b	1.079 ab	1.220 a	* (0,045)
Hojas jóvenes	1.128 b	1.486 a	1.340 a	* (0,030)	1.865	2.196	2.329	NS (0,160)
Ramas otoño					16 a	7 b	9 b	** (0,008)
Ramas verano	40	47	43	NS (0,910)	136 ab	94 b	142 a	* (0,049)
Ramas primavera	242	259	222	NS (0,760)	239 b	290 ab	396 a	* (0,048)
Ramas jóvenes	281	306	265	NS (0,677)	392 b	391 b	548 a	* (0,051)
<b>Total jóvenes planta</b>	1.701 b	2.059 a	1.808 a	* (0,044)	2.474 b	3.172 a	3.181 a	* (0,052)
Caídos jóvenes	4.479 a	3.744 b	3.153 b	** (0,010)	4.404 a	3.348 b	3.039 b	** (0,009)
<b>TOTAL JOVEN</b>	6.180 a	5.803 a	4.961 b	** (0,012)	6.878 a	6.520 b	6.220 b	** (0,006)

<sup>z</sup>: Nt (mg) = % <sup>15</sup>N exceso órgano joven x N órgano joven (mg) / 3,55% <sup>15</sup>N exceso en planta en el estado de carga.  
<sup>y</sup>: Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta octubre. <sup>x</sup>: ANOVA, diferencias significativas para P≤0,05 (\*); P≤0,01 (\*\*), y P≤0,001 (\*\*\*) y no significativas para P>0,05 (NS); entre paréntesis se indica el P-valor. <sup>w</sup>: Cada valor es la media de 3 árboles. <sup>v</sup>: Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas (P<0,05) según el test LSD-Fisher.

El total de Nt en el conjunto de órganos jóvenes con sus respectivos caídos incrementó continuamente a lo largo del ciclo. Sin embargo, en los órganos jóvenes que permanecieron en la planta se observó un importante descenso en la segunda extracción realizada, en el cuajado, como consecuencia de la abscisión de estructuras reproductivas (pétalos y flores abortadas), en las que se había acumulado en torno al 70% del total del N importado (Tabla 34). Posteriormente, el N procedente de translocación incrementó de nuevo en los órganos jóvenes de las plantas hasta el final del ciclo. En este momento, la totalidad de órganos jóvenes acumuló entre 6,2 y 6,9 g N procedente de las reservas (Tabla 33).

Las diferencias en el N recibido por el total de los órganos jóvenes en los tres tratamientos fueron en general paralelas a las observadas en las biomásas de los mismos (Tabla 24). Debido a esto, las diferencias observadas en el Nt fueron consecuencia no sólo de las variaciones en el aporte de N con el fertilizante, sino también del potencial sumidero asociado al mayor desarrollo.

En la tabla 34 se muestra la distribución porcentual entre los distintos órganos jóvenes del total de N exportado por los órganos de reservas. El reparto del N exportado por los órganos viejos entre los distintos órganos jóvenes varió notablemente a lo largo del ciclo con el desarrollo de las flores/frutos y nuevas brotaciones; dicha variación fue común para los árboles de las tres distribuciones estacionales estudiadas. Concretamente, en floración fueron las estructuras reproductivas el principal destino (50% en promedio) del N exportado por los órganos viejos. Sin embargo, en junio, la importante reducción de la biomasa de los frutos recién cuajados redujo considerablemente la capacidad sumidero de éstos, por lo que las hojas de la brotación de primavera en desarrollo se convirtieron en el principal destino del N translocado (70% en promedio). En la extracción llevada a cabo al final de caída fisiológica, con el desarrollo de la segunda brotación, se redujo la proporción del N procedente de reservas destinada a las hojas de primavera a un 40% en promedio, a favor de las hojas de la brotación de verano (30% en promedio). Los frutos en cambio, mantuvieron su asignación en el reparto del N exportado. Al final del ciclo, el total de las hojas jóvenes acumularon en promedio el 70% del N procedente de translocación, principalmente en las hojas de la primera y segunda brotación.

En la bibliografía consultada al respecto las proporciones son similares. Menino *et al.* (2007), con el fin de estudiar la movilización del N de reservas, aplicaron un fertilizante marcado con <sup>15</sup>N durante un ciclo a 5 naranjos Lane Late de 4 años en campo, y extrajeron las plantas en noviembre del siguiente ciclo. El 80% del N translocado por los

órganos viejos se acumuló en las hojas jóvenes mientras que el 20% restante se localizó en las ramas de las nuevas brotaciones. Dichos porcentajes son ligeramente superiores a los obtenidos en el presente ensayo como consecuencia de la ausencia de producción.

**Tabla 34.** Distribución relativa entre los órganos jóvenes, incluidos los caídos, del total de N procedente de la translocación de las reservas.

Órgano/Planta	FLORACIÓN (MAYO)				CUAJADO (JUNIO)			
	A	B	C	ANOVA <sup>x</sup>	A	B	C	ANOVA
Fruto					3,0 b	4,4 a	3,2 b	* (0,023)
Cáliz + pedúnculo					0,3 b	0,6 a	0,3 ab	* (0,046)
<i>Total flor/fruto</i>	21,3 <sup>w</sup> b	28,6 a	29,4 a	*** (<0,001)	3,3 b	5,0 a	3,5 b	** (0,018)
Hojas primavera	22,1	20,8	21,0	NS (0,830)	18,8 b	23,1 a	20,9 ab	* (0,055)
Ramas primavera	6,7	5,9	6,4	NS (0,700)	4,9 b	6,4 ab	7,2 a	* (0,039)
<b>Total jóvenes planta</b>	50,1	55,2	56,8	NS (0,279)	27,0 b	34,5 a	31,6 a	** (0,012)
Caídos jóvenes	49,9	44,8	43,2	NS (0,270)	73,0 a	65,5 b	68,4 b	** (0,011)
<b>TOTAL JOVEN</b>	100,0	100,0	100,0		100,0	100,0	100,0	

Órgano/Planta	FINAL CAÍDA FISIOLÓGICA (JULIO)				MADUREZ FRUTO (ENERO)			
	A	B	C	ANOVA	A	B	C	ANOVA
Fruto	4,6	4,5	4,0	NS (0,699)	3,1 c	8,9 a	4,8 b	*** (<0,001)
Cáliz + pedúnculo	0,1 a	0,1 a	0,1 b	** (0,005)	0,1 b	0,1 a	0,1 b	*** (<0,001)
<i>Total fruto</i>	4,7	4,6	4,1	NS (0,679)	3,2 c	9,0 a	4,9 b	*** (<0,001)
Hojas otoño					1,2	0,6	1,1	NS (0,120)
Hojas verano	6,4 b	10,8 a	12,6 a	** (0,008)	15,2	16,5	16,7	NS (0,388)
Hojas primavera	11,9	14,8	14,4	NS (0,274)	10,8 b	16,6 ab	19,6 a	* (0,053)
<i>Hojas jóvenes</i>	18,2 b	25,6 a	27,0 a	** (0,006)	27,2 b	33,7 ab	37,5 a	* (0,052)
Ramas otoño					0,2 a	0,1 b	0,1 b	** (0,010)
Ramas verano	0,6	0,8	0,9	NS (0,759)	2,0 ab	1,4 b	2,3 a	* (0,056)
Ramas primavera	3,9	4,5	4,5	NS (0,807)	3,4 b	4,4 ab	6,4 a	* (0,028)
<i>Ramas jóvenes</i>	4,5	5,3	5,3	NS (0,666)	5,6 b	5,9 b	8,8 a	* (0,025)
<b>Total jóvenes planta</b>	27,5 b	35,5 a	36,5 a	** (0,015)	36,0 b	48,6 a	51,2 a	* (0,024)
Caídos jóvenes	72,5 a	64,5 b	63,5 b	** (0,012)	64,0 a	51,4 b	48,8 b	* (0,035)
<b>TOTAL JOVEN</b>	100,0	100,0	100,0		100,0	100,0	100,0	

<sup>z</sup>: Distribución relativa N translocado (%) = Nt (mg) órgano joven x 100 / Nt en total de órganos jóvenes incluido caídos.  
<sup>y</sup>: Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta octubre. <sup>x</sup>: ANOVA, diferencias significativas para P≤0,05 (\*); P≤0,01 (\*\*\*) y P≤0,001 (\*\*\*\*) y no significativas para P>0,05 (NS); entre paréntesis se indica el P-valor. <sup>w</sup>: Cada valor es la media de 3 árboles. <sup>v</sup>: Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas (P<0,05) según el test LSD-Fisher.

Las diferencias observadas en los porcentajes para las distintas distribuciones estudiadas fueron consecuencia de las variaciones observadas en biomasa (Tabla 24). Estas diferencias fueron especialmente acusadas en el caso de los frutos en la extracción realizada en madurez como consecuencia de la elevada variabilidad en la producción observada entre tratamientos. Legaz *et al.* (1981) obtuvieron asimismo una respuesta paralela en el destino del N translocado de los órganos viejos hacia los jóvenes y las variaciones en biomasa de las plantas que recibieron una dosis alta o baja de N.

#### 4.2.2.7 Nitrógeno de los órganos jóvenes derivado de reservas

En la tabla 35 se muestra el porcentaje de N presente en los órganos jóvenes derivado de reservas (Nddr). Este parámetro cuantifica por tanto la contribución relativa del N procedente de translocación al total de N de los órganos jóvenes. Los valores del Nddr fueron máximos al inicio del ciclo, disminuyendo progresivamente con el desarrollo de los mismos, independientemente de la distribución de N aplicada. Al inicio del ciclo, el N translocado representó aproximadamente el 70% del total de este elemento en los órganos jóvenes (flores y hojas y ramas de la brotación de primavera); sin embargo en el momento de madurez del fruto éste representó en torno al 30%. La disminución en la proporción relativa del N procedente de reservas se vería acompañada por el incremento en el N procedente del fertilizante, tal y como se observó en el ensayo de absorción mediante el cálculo del nitrógeno derivado del fertilizante (Nddf, Tabla 18). Esta mayor contribución del N procedente de reservas al inicio del ciclo, se debería a que la absorción radical no sería suficiente para abastecer la demanda simultánea de las brotaciones de la brotación-floración de primavera (Kubota *et al.*, 1976a; 1976b).

Las distribuciones estacionales del N aplicado influyeron notablemente en este parámetro. Al igual que en el resto de variables, se presentaron dos tendencias claramente diferenciadas, siendo el final de la caída fisiológica el punto de inflexión. Hasta ese momento, la contribución del N procedente de las reservas al total de este elemento en los órganos jóvenes incrementó al disminuir el aporte de N con el fertilizante. De modo que, el Nddr en los órganos jóvenes representó una tendencia decreciente al comparar los árboles de las distribuciones A, B y C, ya que con éstas se aportó el 25, 50 y 75% de la dosis de N al final de caída fisiológica (Tabla 7, Figura 2). Esta tendencia, fue significativa en los órganos reproductivos en floración y se fue haciendo extensiva en las hojas de la brotación de primavera en el cuajado, así como a las hojas y ramas de la brotación de verano al final de la caída fisiológica (Tabla 35). Legaz *et al.* (1981) obtuvieron porcentajes similares, del 70, 57 y 40% en floración, cuajado y brotación de verano (equivalente al final de caída fisiológica), en los órganos jóvenes de árboles que recibieron una dosis alta de N, mientras que los porcentajes fueron claramente superiores en los tres periodos estudiados (87, 86 y 78%) en los órganos jóvenes de los árboles que recibieron una dosis baja de N. Las diferencias observadas con ambas dosis de N son superiores a las obtenidas en el presente estudio a causa principalmente de dos motivos; por un lado, al mayor contraste existente entre las dosis de N empleadas por estos autores, y por otro, a la ausencia de otra fuente de N puesto que el estudio fue realizado en hidroponía.

**Tabla 35.** Nitrógeno en los órganos jóvenes derivado de las reservas (N<sub>ddr</sub>) en las plantas correspondientes a las distribuciones estacionales del N aplicado (A, B y C)<sup>Y</sup> en los principales momentos fenológicos en el ensayo de translocación.

Órgano/Planta	FLORACIÓN (MAYO)				CUAJADO (JUNIO)			
	A	B	C	ANOVA <sup>X</sup>	A	B	C	ANOVA
Fruto					58,8	55,6	51,0	NS (0,245)
Cáliz + pedúnculo					67,0	62,4	54,6	NS (0,087)
<i>Total flor/fruto</i>	75,4ab	79,2a	72,5b	* (0,044)	59,5	56,3	51,3	NS (0,223)
Hojas primavera	68,0	63,5	64,5	NS (0,327)	65,4a	61,2ab	57,9b	* (0,045)
Ramas primavera	77,9	73,1	77,2	NS (0,508)	68,5	70,9	67,1	NS (0,437)
<b>Total jóvenes planta</b>	72,2	71,9	69,8	NS (0,299)	65,1a	62,0ab	58,9b	* (0,044)
Caídos jóvenes	91,2	92,0	88,9	NS (0,614)	89,6	87,8	81,5	NS (0,307)
<b>TOTAL JOVEN</b>	80,6a	79,7a	76,9b	* (0,037)	81,3	76,8	72,7	NS (0,174)

Órgano/Planta	FINAL CAÍDA FISIOLÓGICA (JULIO)				MADUREZ FRUTO (ENERO)			
	A	B	C	ANOVA	A	B	C	ANOVA
Fruto	44,0	41,6	43,3	NS (0,060)	7,0b	14,4a	13,0ab	* (0,056)
Cáliz + pedúnculo	36,4	36,8	33,7	NS (0,147)	27,0	28,8	24,2	NS (0,221)
<i>Total fruto</i>	43,9	41,5	43,2	NS (0,047)	7,1b	14,4a	13,1ab	* (0,056)
Hojas otoño					20,3	26,3	31,0	NS (0,274)
Hojas verano	41,4a	37,9ab	34,2b	** (0,013)	23,9b	33,3a	29,8a	** (0,002)
Hojas primavera	52,8	53,5	53,1	NS (0,947)	38,5b	52,9a	49,5a	* (0,027)
<i>Hojas jóvenes</i>	48,2a	45,6ab	42,2b	* (0,030)	27,9b	40,5a	37,7a	** (0,003)
Ramas otoño					21,1	28,0	28,5	NS (0,130)
Ramas verano	46,6a	42,2b	37,6b	** (0,008)	24,5b	35,1a	30,8ab	* (0,034)
Ramas primavera	58,7a	56,4ab	52,5b	* (0,056)	41,7b	53,3a	51,1a	*** (<0,001)
<i>Ramas jóvenes</i>	56,6a	53,6a	49,3b	** (0,004)	32,5b	46,7a	43,2a	*** (0,001)
<b>Total jóvenes planta</b>	48,6a	46,0ab	43,2b	** (0,015)	22,6b	30,8a	32,6a	** (0,011)
Caídos jóvenes	84,5	83,7	79,9	NS (0,124)	86,4	78,2	78,1	NS (0,125)
<b>TOTAL JOVEN</b>	70,2a	64,9b	61,0b	** (0,004)	42,8	44,7	45,5	NS (0,218)

<sup>Z</sup>: N<sub>ddr</sub> (%) = % <sup>15</sup>N exceso en órgano joven x 100 / 3,55 % átomos <sup>15</sup>N exceso en planta en el estado de carga. <sup>Y</sup>: Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta octubre. <sup>X</sup>: ANOVA, diferencias significativas para P≤0,05 (\*); P≤0,01 (\*\*) y P≤0,001 (\*\*\*) y no significativas para P>0,05 (NS); entre paréntesis se indica el P-valor. <sup>W</sup>: Cada valor es la media de 3 árboles. <sup>V</sup>: Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas (P<0,05) según el test LSD-Fisher. <sup>U</sup>: Promedio ponderado.

Al final del ciclo en cambio, se presentó la tendencia opuesta. Los mayores aportes de N realizados con la distribución A entre el final de caída fisiológica y el final del abonado (octubre), conllevaron una reducción considerable de la contribución relativa del N de reservas al total de N de sus órganos jóvenes. En cambio, con las distribuciones B y C esta proporción fue significativamente mayor. Es interesante destacar, que independiente de la distribución estacional del fertilizante, del conjunto de brotaciones del ciclo (primavera, verano y otoño), fue la de primavera la que presentó un porcentaje más elevado de N procedente de reservas. Esto es como consecuencia de que su desarrollo inicial se produce en las épocas en que la absorción radical es notablemente inferior a la máxima (Legaz y Primo-Millo, 1988a). Otro aspecto de notable interés es que estas hojas recibieron de las reservas una proporción constante de N para las tres distribuciones en el final de caída fisiológica, en cambio, en la madurez del fruto, su N<sub>ddr</sub> descendió un 42% para la

distribución A. Esto se debió a que el mayor aporte de N no marcado con dicha distribución produjo un notable efecto de dilución isotópica.

Además, es conveniente subrayar que la tendencia expuesta en la contribución a los órganos jóvenes del N procedente de reservas resulta complementaria a la obtenida en el Nddf (Tabla 18). Esto es lógico si se tiene en cuenta que el total de N presente en los órganos jóvenes se compone de la suma del procedente de las reservas, del fertilizante aplicado y en menor medida del N nativo del suelo y el aportado con el agua de riego.

Los órganos caídos correspondientes a los árboles extraídos en madurez del fruto mantuvieron la tendencia observada hasta el final de caída fisiológica, puesto que corresponden a la etapa previa

#### 4.2.2.8 Nitrógeno exportado por los órganos viejos

Las tablas 36 y 37 muestran el total de N cedido por los órganos exportadores así como la contribución relativa del N cedido por cada órgano al total exportado. El total exportado es lógicamente muy similar al N presente en los órganos jóvenes procedente de translocación de reservas (Tabla 33), puesto que el N exportado por los órganos viejos es incorporado en los nuevos tejidos en desarrollo.

La cantidad de N exportada por los órganos de reserva incrementó progresivamente en las hojas viejas y sistema radical a lo largo del ciclo de forma paralela al desarrollo de los nuevos órganos. Por otro lado, independientemente de la distribución mensual del fertilizante, las hojas viejas constituyeron, durante todo el ciclo, el principal órgano exportador, seguidas por las raíces fibrosas, las ramas viejas y el tronco que cedieron cantidades similares de N. La raíz gruesa fue el órgano leñoso que exportó menos N hasta el final de la caída fisiológica; en cambio, esta pauta se invirtió en la extracción en enero, especialmente con las distribuciones B y C.

Tal y como se observó en la extracción realizada en floración, durante el inicio de la actividad vegetativa, fue el periodo de mayor intensidad exportadora. De modo que en los 3 meses transcurridos desde el final de latencia (febrero, marzo y abril), los órganos viejos exportaron en torno a los 4,0 g N (Tabla 36). Como se ha explicado en apartados previos, la baja absorción radical durante estos meses es incapaz de satisfacer el requerimiento en N de la brotación de primavera y la floración (Kubota *et al.*, 1976a,b; Legaz y Primo Millo, 1988a), por lo que se produjo una mayor tasa de exportación de las reservas del árbol. Si



bien el total de N exportado por el conjunto de órganos de reserva no se vio afectado por la distribución del fertilizante, en cambio, las hojas viejas mostraron un comportamiento diferencial. De modo que con las distribuciones A y B, en las que el aporte de N con el fertilizante fue inferior, la cantidad exportada por las hojas viejas fue significativamente superior, hasta el final de la caída fisiológica del fruto, que con la distribución C, que conllevó un mayor aporte de N con el fertilizante. El N exportado por el tronco, siguió una pauta similar aunque no significativa hasta el cuajado, esta tendencia contribuyó a que resultara claramente significativa en el conjunto de la parte aérea. Esta tendencia en el N exportado por los órganos de la parte aérea se mantuvo un mes después en la extracción realizada en el cuajado.

Al final de la caída fisiológica, las diferencias observadas en la parte aérea se hicieron extensivas al total de los órganos exportadores. De modo que los órganos viejos de los árboles que recibieron el 25 (A) ó 50% (B) de la dosis exportaron un 14% más N a los órganos en desarrollo que los que recibieron el 75% (C) de la dosis.

Al final del ciclo, en madurez del fruto, apenas se observaron cambios en la tendencia exportadora a pesar de la inversión en los aportes de N asociados a las distribuciones mensuales. Las hojas viejas siguieron exportando más N con el tratamiento A, incrementando la cantidad de N exportada un 25, 18 y 34% en las distribuciones A, B y C, respectivamente, con respecto a la extracción realizada en final de caída fisiológica. Este mayor incremento en las cantidades de N exportadas como consecuencia de la reducción en el aporte de N asociado a la distribución C no se observó en el resto de órganos leñosos. Como consecuencia de esta tendencia, los órganos viejos de la parte aérea de los árboles de la distribución A cedieron significativamente más N que con la distribución C, pese al aporte del grueso de la dosis de N (75%) en el periodo comprendido entre julio y octubre.

Cabe destacar la mayor proporción de N exportada en los estadios iniciales por parte del sistema radical de los árboles de la distribución C. Dicha tendencia, opuesta a la observada en los órganos viejos de la parte aérea, y significativa en el cuajado, fue especialmente acusada en la raíz fibrosa (Tabla 37).

**Tabla 36.** Nitrógeno exportado por los órganos viejos (Ne)<sup>Z</sup> en las plantas correspondientes a las distribuciones estacionales del N aplicado (A, B y C)<sup>Y</sup> en los principales momentos fenológicos en el ensayo de translocación.

Órgano	FLORACIÓN (MAYO)				CUAJADO (JUNIO)			
	A	B	C	ANOVA <sup>X</sup>	A	B	C	ANOVA
Hojas viejas	1.648 a	1.678 a	1.174 b	** (0,012)	2.004 a	1.759 ab	1.466 b	* (0,050)
Ramas viejas	628	640	654	NS (0,968)	696	739	580	NS (0,183)
Tronco	626	644	526	NS (0,438)	732	698	641	NS (0,677)
<b>Total parte aérea</b>	<b>2.902 a</b>	<b>2.962 a</b>	<b>2.354 b</b>	<b>** (0,014)</b>	<b>3.432 a</b>	<b>3.196 ab</b>	<b>2.687 b</b>	<b>* (0,034)</b>
Raíz fibrosa	831	913	1.076	NS (0,367)	1.070	1.060	1.368	NS (0,099)
Raíz gruesa	315	319	242	NS (0,272)	483 b	726 a	553 ab	* (0,042)
<b>Total sistema radical</b>	<b>1.146</b>	<b>1.232</b>	<b>1.318</b>	<b>NS (0,701)</b>	<b>1.553 b</b>	<b>1.786 ab</b>	<b>1.921 a</b>	<b>* (0,043)</b>
<b>TOTAL ÓRG. VIEJOS</b>	<b>4.048</b>	<b>4.194</b>	<b>3.672</b>	<b>NS (0,340)</b>	<b>4.985</b>	<b>4.982</b>	<b>4.608</b>	<b>NS (0,134)</b>

Órgano	FINAL CAÍDA FISIOLÓGICA (JULIO)				MADUREZ FRUTO (ENERO)			
	A	B	C	ANOVA	A	B	C	ANOVA
Hojas viejas	2.339 a	2.287 a	1.773 b	** (0,014)	2.921 a	2.698 ab	2.374 b	* (0,038)
Ramas viejas	812	896	737	NS (0,226)	677	704	789	NS (0,547)
Tronco	671	674	758	NS (0,370)	656	639	702	NS (0,670)
<b>Total parte aérea</b>	<b>3.822 a</b>	<b>3.857 a</b>	<b>3.268 b</b>	<b>** (0,008)</b>	<b>4.254</b>	<b>4.041</b>	<b>3.865</b>	<b>NS (0,840)</b>
Raíz fibrosa	1.451	1.384	1.223	NS (0,378)	2.046 a	1.562 b	1.563 b	** (0,012)
Raíz gruesa	635	663	699	NS (0,552)	794 b	1.144 a	1.009 ab	* (0,054)
<b>Total sistema radical</b>	<b>2.146</b>	<b>2.047</b>	<b>1.922</b>	<b>NS (0,544)</b>	<b>2.840</b>	<b>2.706</b>	<b>2.573</b>	<b>NS (0,200)</b>
<b>TOTAL ÓRG. VIEJOS</b>	<b>5.908 a</b>	<b>5.904 a</b>	<b>5.190 b</b>	<b>* (0,038)</b>	<b>7.094 a</b>	<b>6.747 ab</b>	<b>6.407 b</b>	<b>* (0,038)</b>

<sup>Z</sup>: Ne por cada órgano (mg) = [<sup>15</sup>N órgano viejo en estado carga (mg) - <sup>15</sup>N órgano viejo en cada extracción (mg)] x 100 / % átomos <sup>15</sup>N en exceso en cada órgano viejo en el estado carga. <sup>Y</sup>: Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta octubre. <sup>X</sup>: ANOVA, diferencias significativas para P≤0,05 (\*); P≤0,01 (\*\*\*) y no significativas para P>0,05 (NS); entre paréntesis se indica el P-valor. <sup>W</sup>: Cada valor es la media de 3 árboles. <sup>V</sup>: Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas (P<0,05) según el test LSD-Fisher.

**Tabla 37.** Contribución relativa<sup>Z</sup> (%) de cada órgano al total de N exportado por los órganos viejos en las plantas correspondientes a las distribuciones estacionales del N aplicado (A, B y C)<sup>Y</sup> en los principales momentos fenológicos en el ensayo de translocación.

Órgano	FLORACIÓN (MAYO)				CUAJADO (JUNIO)			
	A	B	C	ANOVA <sup>X</sup>	A	B	C	ANOVA
Hojas viejas	40,7 a	40,0 a	32,0 b	* (0,029)	40,2 a	35,3 ab	31,8 b	* (0,057)
Ramas viejas	15,5	15,3	17,8	NS (0,657)	14,0	14,8	12,6	NS (0,476)
Tronco	15,5	15,4	14,3	NS (0,856)	14,6	14,0	13,9	NS (0,842)
<b>Total parte aérea</b>	<b>71,7 a</b>	<b>70,7 ab</b>	<b>64,1 b</b>	<b>* (0,055)</b>	<b>68,8 a</b>	<b>64,1 ab</b>	<b>58,3 b</b>	<b>* (0,024)</b>
Raíz fibrosa	20,5 b	21,7 b	29,3 a	* (0,027)	21,5 ab	21,3 b	29,7 a	* (0,058)
Raíz gruesa	7,8	7,6	6,6	NS (0,180)	9,7 b	14,6 a	12,0 ab	* (0,039)
<b>Total sistema radical</b>	<b>28,3 b</b>	<b>29,3 ab</b>	<b>35,9 a</b>	<b>* (0,048)</b>	<b>31,2 b</b>	<b>35,9 ab</b>	<b>41,7 a</b>	<b>* (0,023)</b>
<b>TOTAL ÓRG. VIEJOS</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>		<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	

Órgano	FINAL CAÍDA FISIOLÓGICA (JULIO)				MADUREZ FRUTO (ENERO)			
	A	B	C	ANOVA	A	B	C	ANOVA
Hojas viejas	39,7 a	38,7 ab	34,2 b	* (0,048)	41,2	40,0	36,9	NS (0,362)
Ramas viejas	13,7	15,2	14,2	NS (0,564)	9,5	10,4	12,3	NS (0,237)
Tronco	11,3	11,4	14,6	NS (0,084)	9,2	9,5	10,9	NS (0,105)
<b>Total parte aérea</b>	<b>64,7</b>	<b>65,3</b>	<b>63,0</b>	<b>NS (0,375)</b>	<b>60,0</b>	<b>59,9</b>	<b>60,0</b>	<b>NS (0,430)</b>
Raíz fibrosa	24,6	23,5	23,5	NS (0,848)	28,8 a	23,2 b	24,3 b	* (0,035)
Raíz gruesa	10,7 b	11,2 ab	13,5 a	* (0,054)	11,2 b	17,0 a	15,7 a	* (0,023)

<sup>Z</sup>: (%)=Ne por órgano viejo (mg) x 100/Ne por el total de órganos viejos (mg). <sup>Y</sup>, <sup>X</sup>, <sup>W</sup>, <sup>V</sup>: Idem Tabla 36

#### 4.2.2.9 Porcentaje de N exportado por los órganos viejos respecto al acumulado el ciclo anterior

La proporción de N exportado por los órganos de reserva (Tabla 38), respecto al total acumulado por estos órganos en el ciclo anterior (estado de carga) incrementó de manera continuada a lo largo de todo el ciclo. De acuerdo con lo expuesto en el apartado anterior, hasta la extracción durante la floración se produjo la mayor exportación, de modo que los órganos viejos exportaron prácticamente la cuarta parte (24% para C y 27% para A) del N acumulado en el año previo. Los órganos de la parte aérea cedieron proporcionalmente más N (30 y 37% en tratamiento A y C, respectivamente) que el sistema radical (16 y 18%, para A y C), siendo la raíz gruesa, el órgano de reserva que menos N exportó en esta fase, con menos del 10% del acumulado el ciclo previo. El tronco fue el órgano que más exportó de su contenido en N con un promedio del 38% para las tres distribuciones, seguido por las hojas viejas. Éstas mostraron un comportamiento diferencial, así en los árboles de las distribuciones A y B exportaron un 38%, valor significativamente superior al exportado con C (27%). El conjunto de ramas viejas, raíz fibrosa y gruesa con un 33, 26 y 8% en promedio, respectivamente, no mostraron diferencias en las cantidades exportadas en función del N aportado con el fertilizante.

Un mes después, en la extracción realizada en el cuajado del fruto, el promedio de la proporción de N translocada (32%) incrementó en un 22% con respecto a la floración. El porcentaje de N exportado por la parte aérea se mantuvo inversamente proporcional al fertilizante aportado, al igual que sucedió en la extracción anterior, siendo significativamente superior en los árboles de la distribución A que en C. En el cuajado del fruto el sistema radical presentó la tendencia opuesta a la parte aérea; de modo que con las distribuciones B y C, éste cedió en proporción más N.

Al final de caída fisiológica, aportado el 25, 50 y 75% de la dosis de N con las distribuciones A, B y C, respectivamente, las diferencias en el N exportado se hicieron significativas para el conjunto de órganos viejos. Así con las distribuciones A y B éstos cedieron en torno al 39%, valor que fue significativamente superior que con la C (34%). Estas diferencias fueron especialmente acusadas en las hojas viejas, de modo que en las distribuciones A y B habían cedido algo más de la mitad del N acumulado el año anterior; mientras que con la distribución C exportaron un 10% menos de este elemento. En el total de la parte aérea la tendencia fue paralela a la descrita.

**Tabla 38.** Proporción de N exportado<sup>z</sup> por los órganos de reserva respecto al total acumulado en el estado de carga en las plantas correspondientes a las distribuciones estacionales del N aplicado (A, B y C)<sup>y</sup> extraídas en los principales momentos fenológicos en el ensayo de translocación.

Órgano	FLORACIÓN (MAYO)				CUAJADO (JUNIO)			
	A	B	C	ANOVA <sup>x</sup>	A	B	C	ANOVA
Hojas viejas	37,3a	38,0a	26,6b	** (0,015)	45,4a	39,8ab	33,2b	* (0,046)
Total ramas viejas	32,0	32,6	33,3	NS (0,968)	35,5	37,7	29,6	NS (0,183)
Tronco	40,2	41,4	33,8	NS (0,437)	47,0	44,8	41,2	NS (0,677)
<b>Total parte aérea</b>	<b>36,6a</b>	<b>37,3a</b>	<b>29,7b</b>	<b>** (0,014)</b>	<b>43,3a</b>	<b>40,3ab</b>	<b>33,9b</b>	<b>* (0,044)</b>
Raíz fibrosa	23,2	25,4	30,0	NS (0,367)	29,8	29,6	38,2	NS (0,094)
Raíz gruesa	8,9	9,0	6,8	NS (0,272)	13,6b	20,5a	15,6ab	* (0,036)
<b>Total sistema radical</b>	<b>16,1</b>	<b>17,3</b>	<b>18,5</b>	<b>NS (0,701)</b>	<b>21,8b</b>	<b>25,0ab</b>	<b>26,9a</b>	<b>* (0,043)</b>
<b>TOTAL ÓRG. VIEJOS</b>	<b>26,9</b>	<b>27,8</b>	<b>24,4</b>	<b>NS (0,340)</b>	<b>33,1</b>	<b>33,1</b>	<b>30,6</b>	<b>NS (0,365)</b>

Órgano	FINAL CAÍDA FISIOLÓGICA (JULIO)				MADUREZ FRUTO (ENERO)			
	A	B	C	ANOVA	A	B	C	ANOVA
Hojas viejas	53,0a	51,8a	40,2b	** (0,015)	66,2a	61,1 ab	53,8b	* (0,028)
Total ramas viejas	41,4	45,7	37,6	NS (0,226)	34,5	35,9	40,2	NS (0,547)
Tronco	43,1	43,3	48,7	NS (0,369)	42,1	41,0	45,1	NS (0,670)
<b>Total parte aérea</b>	<b>48,2a</b>	<b>48,6a</b>	<b>41,2b</b>	<b>** (0,007)</b>	<b>53,6</b>	<b>50,9</b>	<b>48,7</b>	<b>NS (0,839)</b>
Raíz fibrosa	40,5	38,6	34,1	NS (0,378)	57,1a	43,6b	43,6b	** (0,012)
Raíz gruesa	17,9	18,7	19,7	NS (0,552)	22,4b	32,3a	28,5ab	* (0,054)
<b>Total sistema radical</b>	<b>30,1</b>	<b>29,5</b>	<b>27,5</b>	<b>NS (0,544)</b>	<b>39,8</b>	<b>37,9</b>	<b>36,1</b>	<b>NS (0,200)</b>
<b>TOTAL ÓRG. VIEJOS</b>	<b>39,2a</b>	<b>39,2a</b>	<b>34,5b</b>	<b>* (0,040)</b>	<b>42,6a</b>	<b>40,1 ab</b>	<b>37,5b</b>	<b>* (0,038)</b>

<sup>z</sup>: Exportado (%) = Ne por órgano viejo (mg) x 100/ N órgano viejo en estado de carga (mg) <sup>y</sup>: Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta octubre. <sup>x</sup>: ANOVA, diferencias significativas para P≤0,05 (\*); P≤0,01 (\*\*), y no significativas para P>0,05 (NS); entre paréntesis se indica el P-valor. <sup>w</sup>: Cada valor es la media de 3 árboles. <sup>v</sup>: Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas (P<0,05) según el test LSD-Fisher.

En los 6 meses siguientes (de julio a enero) la proporción de N cedida por el total de los órganos de reservas sólo incrementó del 2 al 8% en función de la curva de abonado aplicada. En la extracción realizada en madurez del fruto, se mantuvieron las tendencias observadas en el total de exportadores. Sin embargo, las hojas viejas incrementaron su exportación en un 25, 18 y 34% y en el total del ciclo cedieron un 66, 61 y 54% con las distribuciones A, B y C, respectivamente, del total de N acumulado el año anterior. En cambio, en los órganos leñosos se observó una aparente reducción en el porcentaje de N translocado con respecto a la extracción previa, a excepción de las ramas en la distribución C. Esta reducción fue especialmente acusada, del 17 y 21% en las ramas de los árboles de las distribuciones A y B, respectivamente.

Menino *et al.* (2007) concluyeron que al final del ciclo vegetativo las hojas viejas exportaron la práctica totalidad del N acumulado en el ciclo anterior (90%), las ramas y el sistema radical exportaron el 60%, mientras que el tronco exportó en torno al 20%. Legaz *et al.* (1995) en naranjos Valencia de 4 años en arena concluyeron que las hojas viejas exportaron un 56% del N acumulado el año anterior, mientras que las raíces y el tronco translocaron un 39 y 34%, respectivamente. A pesar de las discrepancias en las cifras,

ambos estudios coinciden en que las hojas constituyen el principal órgano de reserva de N, suministrándolo en el siguiente ciclo a los órganos jóvenes. Los resultados obtenidos en el presente ensayo se acercarán más a los obtenidos por Legaz *et al.* (1995), al tratarse también de árboles con producción.

#### 4.2.2.10 Parámetros de calidad del fruto

En la tabla 39 se muestra el efecto de las distribuciones estacionales del N sobre la producción y calidad del fruto. Al igual que se expuso en el ensayo de absorción, si bien se encontraron diferencias estadísticas en el peso y número de frutos por árbol, la respuesta se consideraría inconsistente como consecuencia de la disparidad presentada por ambos ensayos. No se observaron diferencias significativas como consecuencia de la distribución estacional del N en el resto de parámetros de calidad.

**Tabla 39.** Parámetros de calidad del fruto en las plantas correspondientes a las distribuciones estacionales del N aplicado (A, B y C)<sup>z</sup> en el ensayo de translocación.

	A	B	C	ANOVA <sup>v</sup>
Peso fresco (g)	1.975,9 <sup>x</sup> ab <sup>w</sup>	3.048,6 a	1.859,1 b	* (0,048)
Nº frutos-árbol <sup>-1</sup>	7,7 ab	12,7 a	6,7 b	* (0,050)
Diámetro fruto (mm)	79,6	76,6	83,4	NS (0,221)
Espesor corteza (mm)	4,6	4,2	4,8	NS (0,415)
Índice color <sup>u</sup>	10,3	9,9	11,0	NS (0,607)

	A	B	C	ANOVA
Corteza (g·kg <sup>-1</sup> )	26,1	23,8	24,5	NS (0,368)
Pulpa (g·kg <sup>-1</sup> )	29,2	29,2	28,3	NS (0,528)
Zumo (g·kg <sup>-1</sup> )	42,9	45,2	45,1	NS (0,412)
Sólidos solubles (g·kg zumo <sup>-1</sup> )	121,7	121,7	110,3	NS (0,066)
Acidez total (g·L <sup>-1</sup> )	11,8	12,6	11,6	NS (0,081)
Índice madurez	10,3	9,7	9,5	NS (0,085)

<sup>z</sup>: Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta octubre. <sup>v</sup>: ANOVA, diferencias significativas para  $P \leq 0,05$  (\*) y no significativas para  $P > 0,05$  (NS); entre paréntesis se indica el P-valor. <sup>x</sup>: Cada valor es la media de 3 árboles. <sup>w</sup>: Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) según el test LSD-Fisher. <sup>u</sup>: Según escala Hunter Lab.

#### 4.2.3 SUELO

A continuación se presentan los resultados obtenidos del análisis del N presente en los suelos en las diferentes extracciones realizadas en el ensayo de translocación. Concretamente se muestran los valores de las concentraciones de N en las distintas fracciones; nítrica, amoniacal y orgánica. Las tendencias en todas ellas coinciden con las

presentadas en el ensayo de absorción, por lo que los resultados en este apartado se abordarán de forma sucinta.

#### 4.2.3.1 Concentración de N total en el suelo

La concentración de N en el total del suelo ( $\text{mg N}\cdot\text{kg}^{-1}$  suelo) se vio, hasta el final de la caída fisiológica, claramente influenciada por los aportes diferenciales de N asociados a las curvas de distribución del fertilizante (Figura 27). De modo que los mayores aportes de N asociados a la distribución C durante las tres primeras extracciones, se tradujeron en concentraciones significativamente superiores en los suelos de estas plantas, en comparación con las que recibieron el fertilizante de acuerdo con la curva A. Con la distribución B, en cambio, se obtuvieron valores intermedios en la concentración de N total. Concretamente, la concentración de N total en los suelos correspondientes a los árboles de la distribución C, fue un 12% superior a los de la distribución A en el momento de la floración; dicha diferencia llegó hasta el 24% en el cuajado y al final de caída fisiológica.

En la extracción realizada en madurez del fruto, cuando el total de la dosis de N fue aportada en todos los tratamientos, fue posible evaluar el efecto de la distribución estacional de una misma dosis de N sobre la concentración residual de éste en el suelo. En ese momento, la tendencia encontrada fue similar a la observada hasta el final de caída fisiológica, sin embargo las diferencias entre distribuciones fueron menos acusadas. La concentración del N total en el suelo del tratamiento A sólo fue un 9% menor que en el suelo de C a pesar del aporte (75% de la dosis) realizado desde julio a octubre. Esto se debió, tal y como se explicó en el ensayo de absorción, a la mayor EUN mostrada por los árboles de A. Por otro lado, se observó una disminución en la concentración de N en el total del suelo con respecto a la extracción anterior a excepción de los suelos de la distribución A. Esta disminución fue especialmente acusada en C, suelos que presentaron una concentración un 11% inferior, como consecuencia del escaso aporte de fertilizante (25% de la dosis) realizado en ese periodo.

#### 4.2.3.2 Concentración de N en la fracción nítrica

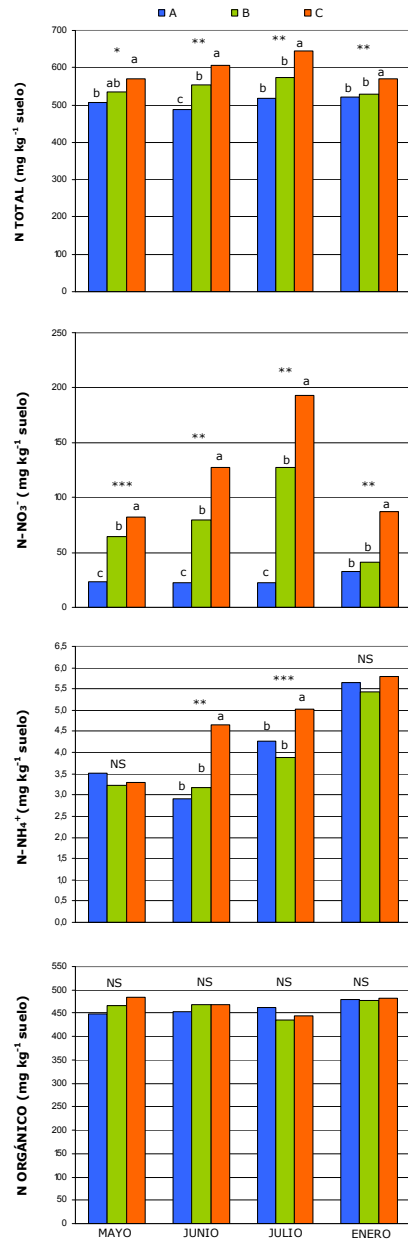
La concentración de N en forma nítrica en el suelo (Figura 27) en las sucesivas extracciones varió en función de la curva de distribución del abonado. Las diferencias entre

tratamientos fueron más acusadas que las observadas en el total del N del suelo, como consecuencia de que el aporte de fertilizante se realizó en forma nítrica.

En las extracciones coincidentes con la floración, cuajado y final de caída fisiológica, las concentraciones de  $\text{N-NO}_3^-$  fueron paralelas a los aportes de fertilizante. De modo que los suelos de la distribución C presentaron concentraciones de la forma nítrica significativamente superiores a los de B y éstos a su vez mayores que A. Las mayores diferencias se presentaron al final de la caída fisiológica, momento en el que la concentración en C superó en 8,5 veces la presentada en los suelos de A, como consecuencia por un lado del aporte acumulado de nitrato con el fertilizante, y por otro, a las importantes diferencias observadas en las EUN (Tabla 19, ensayo de absorción) de las plantas de ambas distribuciones en este periodo.

Al final del ciclo, en la extracción realizada en la madurez del fruto, se observó una disminución considerable del  $\text{N-NO}_3^-$ , de 85,6 y 106,1  $\text{mg N}\cdot\text{kg}^{-1}$  suelo en las distribuciones B y C, respectivamente. En cambio, con la distribución A se mantuvo prácticamente constante a pesar de la importante cantidad de N aplicada desde el final de la caída fisiológica (18,75  $\text{g}\cdot\text{árbol}^{-1}$ ). Esta pauta se debió a que en este periodo, de acuerdo con el ensayo de absorción, se produjo la máxima absorción de N por parte de los árboles de las tres distribuciones; por lo que se redujo por un lado el  $\text{N-NO}_3^-$  residual del suelo (B y C) y se absorbió con mayor eficiencia el N aplicado (A).

Cabe destacar que la concentración de  $\text{N-NO}_3^-$  en los suelos de la distribución A se mantuvo prácticamente constante y a un nivel bajo a lo largo de todo el ciclo, como consecuencia de la mayor EUN asociada a esta distribución. Este resultado tiene una importante repercusión medioambiental puesto que la menor concentración residual de nitrato conllevaría disminuir el riesgo potencial de lixiviado de este ión en condiciones de riegos excesivos o lluvias abundantes.



**Figura 27.** Concentración de N en el total del suelo, fracción nítrica, amoniacal y orgánica en el ensayo de translocación, en floración (mayo), cuajado (junio), final de caída fisiológica (julio) y madurez del fruto (enero). Distribuciones estacionales A, B y C: aporte del 25, 50 y 75%, respectivamente, del total de la dosis de N desde marzo hasta julio y el 75, 50 y 25% restante hasta final octubre.

ANOVA, diferencias significativas para  $P \leq 0,05$  (\*);  $P \leq 0,01$  (\*\*) y  $P \leq 0,001$  (\*\*\*) y no significativas para  $P > 0,05$  (NS). Letras distintas en cada extracción indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) según el test LSD-Fisher.



#### 4.2.3.3 Concentración de N en la fracción amoniacal

A pesar de ser escaso el N presente en esta fracción, con valores que apenas sobrepasaron los 5 mg N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>·kg<sup>-1</sup> suelo, las distribuciones aplicadas condujeron a diferencias significativas en este parámetro en las extracciones de cuajado y final de caída fisiológica (Figura 27). La distribución C mostró, en estas extracciones una concentración significativa superior del N de esta fracción en comparación con las distribuciones A y B. Al inicio y final del ciclo no se observaron diferencias significativas entre distribuciones.

#### 4.2.3.4 Concentración de N en la fracción orgánica

La concentración de N en esta fracción se mantuvo prácticamente constante a lo largo de las sucesivas extracciones, independientemente de la distribución estacional del fertilizante (Figura 27). Los valores oscilaron entre los 435 y 484 mg N-Norg·kg<sup>-1</sup> suelo, de forma similar a los obtenidos en el ensayo de absorción. En cambio, a pesar de mostrar una tendencia ligeramente creciente, no se encontraron diferencias en la concentración de N de esta fracción en la extracción durante la floración, como sucedió en el ensayo paralelo de absorción.



## **5 CONCLUSIONES**



De acuerdo con los resultados obtenidos en el estudio del efecto de la distribución estacional diferencial de una misma dosis de N sobre la absorción y translocación de este elemento en plantas jóvenes de cítricos, se extraen las conclusiones siguientes:

- El aporte de forma tardía de la mayor parte de la dosis de N, desde el final de la caída fisiológica (principio de julio) hasta final de octubre, supuso una mejora en la eficiencia de absorción por la planta del N aplicado, reduciendo el nitrato residual en el suelo, en relación con un suministro mayoritario temprano, desde el inicio de la actividad vegetativa (marzo) hasta final de junio. La fertilización tardía supondría por tanto una ventaja desde el punto de vista medioambiental, como consecuencia de la reducción del nitrato residual del suelo susceptible de lixiviación.
- El aumento en la absorción de N con la aplicación tardía del grueso del fertilizante nitrogenado también incrementó el N acumulado en la planta al final del ciclo, lo que conllevaría a un aumento en las reservas de la planta, y por tanto en su disponibilidad para el desarrollo de nuevos órganos en el siguiente ciclo vegetativo.
- La concentración más alta de N en los frutos durante la fase final de su desarrollo, como consecuencia de la aplicación tardía de N, retrasaría el cambio de color de éstos, con la posible repercusión en el momento de la recolección de las variedades tempranas y tardías.
- La mayor tasa de translocación del N acumulado en los órganos de reserva tuvo lugar durante la floración y brotación de primavera, como consecuencia de la escasa contribución del N procedente del fertilizante al desarrollo de los órganos jóvenes, derivado de la escasa tasa de absorción propia de este periodo. Aportes bajos de N con el fertilizante durante este periodo, conllevaron una menor contribución del N aplicado al crecimiento de los órganos jóvenes, esto acentuó la tasa de exportación del N de reserva, lo que podría afectar el desarrollo de nuevos tejidos en plantaciones que parten de un bajo contenido en N de reservas.
- Independientemente de la distribución estacional del N, las hojas viejas constituyeron el principal órgano exportador durante todo el ciclo, seguido por el sistema radical y los órganos leñosos de la parte aérea (ramas y tronco). Asimismo, la proporción exportada por las hojas viejas aumentó con el aporte tardío de la mayor parte de la dosis de N.

- El aporte temprano del grueso de la dosis disminuyó la absorción de fosfato, sulfato, borato y cloruro hasta el final de caída fisiológica, como consecuencia del antagonismo del nitrato frente a estos iones. Este efecto se mantuvo hasta el final del ciclo en madurez del fruto, a excepción del fosfato. Esto podría tener un efecto beneficioso en plantas cultivadas en condiciones salinas.

La información preliminar obtenida en el presente estudio sería conveniente validarla en un futuro en condiciones de campo, con el fin de verificar la respuesta a las distribuciones estacionales diferenciales de la dosis de N en plantas adultas de cítricos, así como su repercusión en variedades tempranas o tardías.

## **6 BIBLIOGRAFÍA**





**Aduayi, E.A.** 1978. Role of boron on growth components and elemental composition of Ife plum tomato. *Commun. Soil. Sci. Plant Anual.* 9: 1-11.

**AEMA** 2003. Agencia Europea de Medio Ambiente. El agua en Europa: una evaluación basada en indicadores. Environmental Issue report Nº 34. Disponible en Internet: [http://reports.es.eea.europa.eu/report\\_2003\\_0617\\_150910/es/index\\_html\\_local](http://reports.es.eea.europa.eu/report_2003_0617_150910/es/index_html_local). [Fecha de acceso 28 de agosto de 2008].

**AEMA** 2005. Agencia Europea de Medio Ambiente. El medio ambiente europeo. Estado y perspectivas-2005. Disponible en Internet: [http://reports.es.eea.europa.eu/state\\_of\\_environment\\_report\\_2005\\_1/es/part-b\\_ES.pdf](http://reports.es.eea.europa.eu/state_of_environment_report_2005_1/es/part-b_ES.pdf). [Fecha de acceso 20 de septiembre de 2008].

**Agustí, M.** 2003. Citricultura. Ed. Mundi-Prensa. Madrid. España.

**Agustí, M., Zaragoza, S., Bleiholder, H., Buhr, L., Hack, H., Klose, R., Staub, R.** 1995. Escala BBCH para la descripción de los estadios fenológicos del desarrollo de los agrios (Gén. *Citrus*). *Levante Agrícola.* 332: 189-199.

**Akao, S., Kubota, S., Hayashida, M.** 1978a. Utilization of reserve nitrogen, especially autumn nitrogen, by Satsuma mandarin trees during the development of spring shoots (I). *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 47:31-38.

**Akao, S., Kubota, S., Hayashida, M.** 1978b. Utilization of reserve nitrogen, especially autumn nitrogen, by Satsuma mandarin trees during the development of spring shoots (II). *Bull. Shikoku Agric. Exp. Stn.* 32: 49-56.

**Alva, A.K., Paramasivam, S.** 1998. Nitrogen management for high yield and quality of citrus in sandy soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 62: 1335-1342.

**Alva, A.K., Paramasivam, S., Graham, W.D.** 1998. Impact of nitrogen management practices on nutritional status and yield of Valencia orange trees and groundwater nitrate. *J. Environ. Qual.* 27, 904-910.

**Alva, A.K., Fares, A., Dou, H.** 2003a. Managing citrus trees to optimize dry mass and nutrient partitioning. *J. Plant Nutr.* 26(8):1541-1559.

**Alva, A.K., Paramasivam, S., Graham, W.D., Wheaton, T.A.** 2003b. Best nitrogen and irrigation management practices for citrus production in sandy soils. *Water Air Soil Pollution*. 143(1-4), 139-154.

**Alva, A.K., Paramasivam, S., Obreza, T.A., Schumann, A.W.** 2006a. Nitrogen best management practice for citrus trees I. Fruit yield, quality, and leaf nutritional status. *Scientia Horticulturae* 107 (3) 233–244.

**Alva, A.K., Paramasivam, S., Fares, A., Obreza, T.A., Schumann, A.W.** 2006b. Nitrogen best management practice for citrus trees II. Nitrogen fate, transport, and components of N budget. *Scientia Horticulturae* 109 (3) 223–233.

**Amorós, M.** 1999. Fertilización. En: Producción de agrios. Mundi Prensa (Ed.). Cap. V: 67-94.

**Anderssen, F.G.** 1937. Citrus manuring; its effect on cropping and on the composition and keeping quality of oranges. *Jour. Pomol. Hort. Sci.* 15:117-59.

**Andrews, M.** 1986. The partitioning of nitrate assimilation between root and shoot of higher plants. *Plant Cell Environ.* 9, 511–519.

**AOAC** 1980. Official methods of analysis. Titrable acidity (22.060). Thirteenth edition, Washington, USA. 1018p.

**Aso, P.J., Hernandez, C., Vinciguerra, H.F.** 1987. Effects of split nitrogen application on growth and yield of young lemon trees. *Rev. Ind. Agr. Tucumán.* 64:65-70.

**Audesley, E.** 1997. Harmonisation of environmental life cycle assessment for agriculture. Final Report Concert Action AIR3-CT94-2028. Silsoe Research Institute, Silsoe, UK.

**Avinimelech, Y., Raveh, J.** 1976. Nitrate leakage from soils differing in texture and nitrogen load. *J. Environ. Qual.* 5, 79–82.

**Axley, J.H., Legg, J.O.** 1960. Ammonium fixation in soils and the influence of potassium on nitrogen availability from nitrate and ammonium sources. *Soil Sci.* 90:151-156.

- Axmann, H., Zapata, F.** 1990. Stable and radioactive isotopes. In: Use of Nuclear Techniques in Studies of Soil-Plant Relationships (G. Hardarson, ed.). Training Course Series No. 2. International Atomic Energy Agency. Vienna, Austria. pp: 9-25.
- Bañuls, J., Legaz, F., Primo-Millo, E.** 1990. Effects of salinity level on uptake and distribution of chloride and sodium in some citrus scion-rootstock combinations. *J. Hort. Sci.* 65 (6): 715-724.
- Bañuls J., Serna M.D., Legaz F., Primo-Millo, E.** 1997. Growth and gas exchange parameters of Citrus plants stressed with different salts. *J. Plant Physiol.* 150: 194-199.
- Bañuls, J., Ferrer, P., Talón, M., Legaz, F.** 1998. Influencia de la fertilización nitrogenada en naranjo Navelino en riego por inundación. *Levante Agrícola.* 345: 313-316.
- Bañuls, J., Serna, M.D., Quiñones, A., Martín, B., Primo-Millo, E., Legaz, F.** 2000. Optimización de la fertilización nitrogenada con el inhibidor de la nitrificación (DMPP) con riego por goteo en cítricos. *Levante Agrícola.* 351: 117-121.
- Bañuls, J., Quiñones, A., Primo-Millo, E., Legaz, F.** 2001. A new nitrification inhibitor (DMPP) improves the nitrogen fertilizer efficiency in citrus-growing systems. Proc. 14<sup>th</sup> International Plant Nutrition Colloquium. Plant nutrition-Food security and sustainability of agro-ecosystems Netherlands. Hannover, Germany, July 2001. pp. 776-777.
- Bar, Y., Apelbaum, A., Kafkafi, U., Goren, R.** 1997. Relationship between chloride and nitrate and its effect on growth and mineral composition of avocado and citrus plants. *J. Plant Nutr.* 20 (6): 715-731.
- Barnes, H., Folkard, A.R.** 1951. The determination of nitrates. *Analyst.* 76:599-603.
- Barnette, R.M., Debusk, E.F., Hester, J.B., Jones, H.W.** 1931. The mineral analysis of a nineteen-year-old Marsh Seedless grapefruit tree. *Citrus Industry.* 12(3):5-6,34.
- Barraclough, D.** 1995. <sup>15</sup>N isotope dilution techniques to study soil nitrogen transformations and plant uptake. *Fertilizer Research.* 42: 185-192.
- Bengtsson, G., Bergwall, C.** 2000. Fate of <sup>15</sup>N labelled nitrate and ammonium in a fertilizer forest soil. *Soil Biol. Biochem.* 32:545-557.

**Bielorai, H., Dasberg, S., Erner, Y., Brum, M.** 1988. The effect of saline irrigation water on Shamouti orange production. In: Goren R., Mendel K., eds. *Proceedings of the International Society of Citriculture*, Vol. 1., Tel Aviv, Israel. Rehovot, Israel: Balaban, 707-715.

**Bingham, F.T., Davis, S., Shade, E.** 1971. Water relations, salt balance, and nitrate leaching losses of a 960-acre citrus watershed. *Soil Sci.* 112, 410-418.

**Bloom, A.J., Sukrapanna, S.S., Warner, R.L.** 1992. Root respiration associated with ammonium and nitrate absorption and assimilation by barley. *Plant Physiol.* 99: 1294-1301.

**Boaretto, R.M., Mattos, D., Trivelin, P., Muraoka, T., Boaretto, A.E.** 2007a. Nutrient accumulation and fate of nitrogen (N-15) in young bearing orange trees. *Revista Brasileira de Fruticultura.* 29(3): 600-605.

**Boaretto, A.E., Muraoka, T., Trivelin, P.** 2007b. Uso eficiente de nitrogenio nos fertilizantes convencionais. *Informações Agronomicas.* 120: 13-14.

**Boman, B.J.** 1996. Fertigation versus conventional fertilization of Flatwoods grapefruit. *Fertilizer Research.* 44(2):123-128.

**Boman, B.J., Battikhi, A.M.** 2007. Growth, evapotranspiration, and nitrogen leaching from young lysimeter-grown orange trees. *J. Irrig. Drain. Eng.* 133(4): 350-358.

**Boutton, T.W.** 1991a. Stable carbon isotopes ratios of natural materials. I. Sample preparation and mass spectrometric analysis. p. 155-171. In D.C. Coleman and B. Fry (eds.). *Carbon isotopes techniques*. Academic Press, San Diego, California, USA.

**Boutton, T.W.** 1991b. Stable carbon isotopes ratios of natural materials. II. Atmospheric, terrestrial, marine, and freshwater. p. 173-185. In D.C. Coleman and B. Fry (eds.). *Carbon isotopes techniques*. Academic Press, San Diego, California, USA.

**Bowling, D.J.F.** 1976. Uptake of ions by plant roots. Halstead Press., Chapman and Hall. Halstead Press, John Wiley and Sons, Inc. London.

- Bredemeier, C., Schmidhalter, U.** 2001. Laser-induced chlorophyll fluorescence to determine the nitrogen status of plants. In: WJ Horst et al. (eds.) Plant nutrition- Food security and sustainability of agro-ecosystems. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 726-727.
- Breimer, T., Slangen, J.H.G.** 1981. Pretreatment of soil samples before  $\text{NO}_3^-$ -N analysis. *Neth. J. Agric. Sci.* 29: 15-22.
- Breitenbeck, G.A., Paramasivam, S.** 1995. Availability of  $^{15}\text{N}$ -labeled non-exchangeable ammonium to soil microorganisms. *Soil Sci.* 159:301-310.
- Bremner, J.M.** 1965. Isotope-ratio analysis of nitrogen in  $^{15}\text{N}$  tracer investigations. In: Methods of soil analysis. American Society of Agronomy Inc. C.A. Black (eds.). Part 2: 1256-1286.
- Bremner, J.M.** 1996. Total nitrogen. In: Methods of soil analysis. Part 3-chemical methods. American Society of Agronomy Inc. Sparks DL (ed). Chapter 37:1085-1121.
- Bremner, J.M., Hauck, R.D.** 1982. Advances in methodology for research on nitrogen transformations in soils. In: Nitrogen in agricultural soils. Stevenson FJ, Bremner JM, Hauck RD and Kenney DR (eds.). Chap 13:467-502.
- Breteler, H., Siegerist, M.** 1984. Effect of ammonium on nitrate utilization by roots of dwarf bean. *Plant Physiol.* 75(4):1099-1103.
- Bullock, D.G., Anderson, D.S.** 1998. Evaluation of the Minolta SPAD-502 chlorophyll meter for nitrogen management in corn. *J. Plant Nutr.* 21:741-755.
- Calot, M.C., Guerri, J., Legaz, F., Culiáñez, F., Tadeo, J.L., Primo-Millo, E.** 1984. Seasonal changes in nitrogen and protein content in organs of Valencia late (*Citrus sinensis* [L.] Osbeck) young trees. *Proc. Int. Soc. Citriculture.* 1:233-240.
- Cameron, S.H., Appelman, D.** 1933. Total N in developing flowers and young fruits of the Valencia orange. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 32: 204-207.
- Cameron, S.H., Compton, O.C.** 1945. Nitrogen in bearing orange trees. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 46:60-68.

**Cameron, S.H., Mueller, R.T., Wallace, A., Sartori, E.** 1952. Influence of age of leaf, season of growth, and fruit production on the size and inorganic composition of Valencia orange leaves. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.*, 60:42-50.

**Camm, E.** 1993. Photosynthetic response in developing year-old Douglas-Fir needles during new shoot development. *Trees* 8: 61-66.

**Cantarella, H., Mattos, D., Quaggio, J.A., Rigolin, A.T.** 2003. Fruit yield of Valencia seed orange fertilized with different N sources and the loss of applied N. *Nutrient cycling in agroecosystems*. 67(3): 215-223.

**CAPA** 2008. Datos Básicos del Sector Agrario Valenciano. Conselleria de Agricultura Pesca y Alimentación. Disponible en Internet: <http://www.agricultura.gva.es/publicaciones>. [Fecha de acceso 10 de noviembre de 2009].

**Cerezo, M.** 2001. Caracterización de los sistemas de absorción de nitrato en los cítricos e influencia de la salinidad en los mismos. Tesis Doctoral. Publicacions de la Universitat Jaume I, D.L. ed, II.

**Cerezo, M., Flors, V., Legaz, F., García-Agustín, P.** 2000. Characterization of the low affinity transport system for NO<sub>3</sub><sup>-</sup> uptake by *Citrus* roots. *Plant Sci.* 160: 95-104.

**Cerezo, M., Camañes, G., Flors, V., Primo-Millo, E., García-Agustín, P.** 2007. Regulation of nitrate transport in *Citrus* rootstocks depending on Nitrogen availability. *Plant Signaling & Behavior*. Disponible en Internet: <http://www.landesbioscience.com/journals/psb/article/4578> [Fecha de acceso 3 de enero de 2009].

**Chapin, I., Schulze, E.S., Mooney, H.A.** 1990. The ecology and economics of storage in plants. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 21:423-447.

**Chapman, H.D., Parker, E.R.** 1942. Weekly absorption of nitrate by young, bearing orange trees growing out of doors in solution cultures. *Plant Physiol.* 17:366-376.

**Chapman, H. D., Rayner, D.S.** 1951. Effect of various maintained levels of phosphate on the growth, yield, composition, and quality of Washington navel oranges. *Hilgardia* 20:325-58.

**Clarkson, D.T., Warner, A.J.** 1979. Relationship between root temperature and the transport of ammonium and nitrate ions by Italian and perennial ryegrass (*Lolium multiflorum* and *Lolium perenne*). *Plant Physiol.* 64:557-561.

**Collado-Fernández, M.** 2000. Improvement of the external quality of Navelina oranges by nitrogenous fertilization. *Alimentaria*.310:91-95.

**COM** 2007. Informe de la Comisión, de 19 de marzo de 2007, sobre la aplicación de la Directiva 91/676/CEE del Consejo, relativa a la protección de las aguas contra la contaminación producida por nitratos procedentes de fuentes agrarias, en el período de 2000-2003 [COM (2007) 120 final - no publicado en el Diario Oficial] Disponible en internet: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=COM:2007:0120:FIN:ES> : PDF [Fecha de acceso 20 de septiembre de 2008].

**Cooper, W.C.** 1961. Toxicity and accumulation of salts in citrus trees on various rootstocks in Texas. *Fla. St. Hort. Soc.* 95-104.

**Cotolí, A., García-Martínez, J.L., Picó, F.** 1973. Estudio de las necesidades nutritivas del naranjo II. Evolución del contenido en macroelementos y diversas formas de los mismos en hojas y frutos de W. Navel y Valencia Late a lo largo del año. *Rev. Agroquim. Tecnol. Aliment.* 13:401-415.

**Cram, W.J.** 1973. Internal factors regulating nitrate and chloride influx in plant cells. *J. Exp. Bot.* 24: 328-341.

**Criddle, R.S., Ward, M.R., Huffaker, R.C.** 1988. Nitrogen uptake by wheat seedlings, interactive effects of four Nitrogen sources:  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NH}_4^+$  and urea. *Plant Physiol.* 86: 166-175.

**Culiñez, F., Martin, B., Guerri, J., Tadeo, J.L., Primo-Millo, E.** 1981. Proteins and amino acid changes in citrus oranges during the fruiting period. *Proceedings of the International Society of Citriculture 2* , pp. 566-571. International Society of Citriculture , Riverside, CA.

**Dasberg, S.** 1987. Nitrogen fertilization in citrus orchards. *Plant Soil.* 100: 1-9.

**Dasberg, S., Erner, Y., Bielorai, H.** 1984. Nitrogen balance in a citrus orchard. *J. Environ. Qual.* 13: 353-356.

**Dasberg, S., Bar-Akiva, A., Spazisky, S., Cohen, A.** 1988. Fertigation versus broadcasting in an orange grove. *Fert. Res.* 15: 147-154.

**Davidson, E.A., Stark, J.M., Firestone, M.K.** 1990. Microbial production and consumption of nitrate in an annual grassland. *Ecology.* 71(5):1968-75.

**Davies, F.S., Albrigo, L.G.** 1999. Historia, distribución y uso de los cítricos. En: Cítricos. Editorial Acribia S.A. Zaragoza. España, pp. 1-12.

**Doram, D.R., Evans, L.J.** 1983. Native fixed ammonium and fixation of added ammonium in relation to clay mineralogy in some Ontario soils. *Can. J. Soil Sci.* 63:631-639.

**Dou, H., Alva, A.K.** 1998. Nitrogen uptake and growth of two citrus rootstock seedlings in a sandy soil receiving different controlled-release fertilizer sources. *Biol. Fert. Soils.* 26: 169-172.

**Du Plessis, S.F., Koen, T.J.** 1988. The effect of N and K fertilisation on yield and fruit size of Valencia. *Proceedings of the Sixth International Citrus Congress, Middle-East.* p: 663-672.

**Dutra, M., Lopes, D., Gomes, P.R., Alvarez, V.H., Chamhum, L.C., Altino, J.** 2003. Assessment of nitrogenized nutrition of citrus rootstocks using chlorophyll concentrations in the leaf. *J. Plant Nutr.* 26 (6): 1287-1299.

**El-Komy, H.M., Hamdia, M.A., El-Baky, G.K.A.** 2003. Nitrate reductase in wheat plants grown under water stress and inoculated with *Azospirillum spp.* *Biol. Plantarum* 46(2): 281-287.

**Embleton, T.W., Jones, W.W., Labanauskas, C.K., Reuther, W.** 1973a. Leaf analysis as a diagnostic tool and guide to fertilization. In: The citrus industry. (Ed.) Reuther, W. Rev. Ed. Univ. Calif. Div. Agric. Sci. Berkeley. Calif., 3:183-210.

**Embleton, T.W., Reitz, H., Jones, W.W.** 1973b. Citrus fertilization. In: The citrus industry. (Ed.) Reuther, W. Rev. Ed. Univ. Calif. Div. Agric. Sci. Berkeley. Calif., 3:122-182.



- Estruch, V.** 2007. La citricultura española. Evolución y perspectivas de futuro. Agricultura Familiar en España 2007. 126-140. Disponible en Internet: [http://www.upa.es/anuario\\_2007/pag\\_126-140\\_estruch.pdf](http://www.upa.es/anuario_2007/pag_126-140_estruch.pdf) [Fecha de acceso: 4 de octubre de 2008].
- Fan, X., Gordon-Weeks, R., Shen, Q., Miller, A.** 2006. Glutamine transport and feedback regulation of nitrate reductase activity in barley roots leads to changes in cytosolic nitrate pools. *J. Exp. Bot.* 57, 1333-1340.
- FAO** 1970. Physical and Chemical Methods of soil and Water analysis. *Soils bulletin num. 10*. Roma. 19 pp.
- FAO** 2009. Food and Agriculture Organization. Citrus fruits. Annual statistics. [en línea]. Disponible en Internet: <http://www.fao.org/es/esc/common/ecg/243/fr/bull2006.pdf>. [Fecha de acceso: 22 de septiembre de 2009].
- Feigenbaum, S., Bielorai, H., Erner, Y., Dasberg, S.** 1987. The fate of <sup>15</sup>N labelled nitrogen applied to mature citrus trees. *Plant Soil*. 97:179-187.
- Feigenbaum, S., Hadas, A., Sofer, M., Molina, J.A.** 1994. Clay-fixed labeled ammonium as a source of available nitrogen. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 58: 980-985.
- Finnan, J.M., Burke, J.I., Jones, M.B.** 1997. A note on a non-destructive method of chlorophyll determination in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Irish of Agricultural and Food Research* 36:85-89.
- Forner, M.A.** 2002. Comportamiento de nuevos patrones híbridos de cítricos frente a la salinidad y el estrés hídrico. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.
- Frith, G.J.T., Nichols, D.G.** 1975. Preferential assimilation of ammonium ions from ammonium nitrate solution by apple seedlings. *Physiol. Plant.* 33:247-250.
- Genovés, J.C.** 1993. El problema de la contaminación difusa: estrategias de planificación. Jornadas sobre la contaminación por nitrato de las aguas continentales. Conselleria de Medi Ambient, Valencia, 1993.
- Gilliam, J.W.** 1971. Rapid measurement of chloride in plant material. *Proc. Am. Soil Sci. Soc.* 35: 512-513.

**Golomb, A., Goldschmidt, E.E.** 1980. The mineral balance in the biannual bearing mandarin Wilking. *Alon Hanotea*. 35: 639-648.

**Golomb, A., Goldschmidt, E.E.** 1987. Mineral nutrient balance and impairment of the nitrate-reducing system in alternate-bearing «Wilking» mandarin trees. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 112(1): 397-401.

**González-Sicilia, E.** 1968. El cultivo de los agrios. Ed.Bello, Valencia, España.

**Greenwood, D.J.** 1990. Production or productivity: the nitrate problem? *Ann. Appl. Biology*. 117: 209-231.

**Grelet, G.A.** 2001. Remobilisation of N by two heath species: *Vaccinium myrtillus* (deciduous) and *V. vitis-idaea* (evergreen) compared. PhD University of Aberdeen, UK.

**Grelet, G.A., Alexander, I.J., Proe, M.F., Frossard, J.S., Millard, P.** 2001. Leaf habit influences nitrogen remobilization in *Vaccinium* species. *J. Exp. Bot.* 52 (358): 993-1002.

**Grindlay, D.J.C.** 1997. Towards an explanation of crop nitrogen demand based on leaf nitrogen per unit leaf area. *J. Agric. Sci. Camb.* 128: 377-396.

**Hageman, R.H.** 1992. Ammonium versus nitrate nutrition of higher plants. In: R.D. Hauck, J.D. Beaton, C.A.I. Goring, R.G. Hoeft, G.W. Randall y D.A. Russel (eds.). Nitrogen in crop production pp. 67-88. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America and Soil Society of America. Madison, WI, USA.

**Hartman, P.L., Mills, H.A., Jones, Jr. J.B.** 1986. The influence of nitrate: ammonium ratios on growth, fruit development, and element concentration in "Floradel" tomato plants. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 111(4): 487-490.

**Helmissaari, H.S.** 1995. Nutrient cycling in *Pinus-sylvestris* stands in eastern Finland. *Plant Soil* 170: 359-370.

**Herrero, M., Acerete, A.** 1937. Análisis de elementos nutritivos en el fruto, la flor y el tallo del naranjo. Boletín del INIA, Tomo II.

**Iglesias, D.J., Levy, Y., Gómez-Cadenas, A., Tadeo, F.R., Primo-Millo, E., Talón, M.** 2004. Nitrate improves growth in salt-stressed citrus seedlings through effects on photosynthetic activity and chloride accumulation. *Tree Physiol.* 24 (9): 1027-1034.

**Ilosvay, L.** 1889. Determination of nitrite in saliva and exhaled air. *Bull. Soc. Chim. Fr.* 2: 388-391.

**Intrigliolo, F., Rocuzzo, G., Anac, D., Martín-Prevel, P.** 1999. Improved crop quality by nutrient management. *Kluwer Academic Publisher.* 23-26.

**ISAV** 2007. Informe del Sector Agrario Valenciano. Disponible en Internet: <http://www.agricultura.gva.es/publicaciones/revistasint.php?id=4&rnum=358&comu=> [Fecha de acceso: 6 de diciembre de 2009].

**ITGE** 1996. Instituto Tecnológico Geominero de España. Los recursos hídricos en la Comunidad Valenciana. Conselleria de Agricultura y Medio Ambiente. 77pp.

**Iwakiri, T., Nakahara, M.** 1981. Nitrogen fertilization programs in Satsuma mandarin groves in Japan. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, 571-574.

**Iwakiri, T., Shibuya, M., Koyama, T.** 1991. Uptake and traslocation of nitrogen in satsuma mandarin trees. *JARQ, Japan Agricultural Research Quarterly.* 25: 125-132.

**Jifon, J.L., Syvertsen, J.P., Whaley, E.** 2005. Growth environment and leaf anatomy affect nondestructive estimates of chlorophyll and nitrogen in *Citrus* sp. leaves. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 130: 152-158.

**Jiménez-Cuesta, M., Cuquerella, J., Martínez-Jávega, J.M.** 1981. Determination of a colour index for citrus degreening. *Proc. Int. Soc. Citriculture, 4<sup>th</sup>*, Tokio, Japan, 1981, 2: 750-753.

**Jones, W.W., Emblenton, T.W.** 1967. Yield and fruit quality of Washington Navel orange trees as related to leaf nitrogen and nitrogen fertilization. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 91:138-142.

**Jones, W.W., Parker, E.R.** 1950. Seasonal variations in mineral composition of orange leaves as influenced by fertilizer practices. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 55: 92-100.

**Jones, W.W., Embleton, T.W., Boswell, S.B., Steinacker, M.L., Lee, B.W., Barnhart, E.L.** 1963. Nitrogen control program for oranges and high sulphate and/or high boron. *Calif. Citrograph*. 48(4): 107, 128-129.

**Junk, G., Svec, H.J.** 1958. The absolute abundance of the nitrogen isotopes in the atmosphere and compressed gas from various sources. *Geochim. Cosmochim. Acta*. 14: 234-243.

**Kallesen, C.** 2003. Fall leaf tissue samples important for maintaining citrus growth, fruit quality and yield. Topics in the Subtropics Newsletter, Vol. 1, Issue 3. Disponible en Internet: <http://cetulare.ucdavis.edu/pub/Subtropics%20Fall%2003.pdf> [Fecha de acceso: 16 de noviembre de 2009].

**Kato, T.** 1980. Nitrogen assimilation in citrus trees. *Physiol. Plant*. 48: 416-420.

**Kato, T.** 1981. Major nitrogen compounds transported in xylem vessels from roots to top in citrus trees. *Physiol. Plant*. 52: 275-279.

**Kato, T.** 1986. Nitrogen metabolism and utilization in citrus. In: Janick J (ed.). AVI Publishing Co. Horticultural Reviews 8: 81-216.

**Kato, T., Kubota, S.** 1982a. Reduction and assimilation of <sup>15</sup>N-nitrate by citrus trees in cold season in comparison with summer. *J. Japan Soc. Hort. Sci.* 50(4): 413-420.

**Kato, T., Kubota, S.** 1982b. Effects of low temperature in autumn on the uptake, assimilation and partitioning of nitrogen in citrus trees. *J. Japan Soc. Hort. Sci.* 51: 1-8.

**Kato, T., Kubota, S., Tsukahara, S.** 1981. <sup>15</sup>N absorption and translocation in Satsuma trees. VI. Uptake and distribution of nitrogen supplied in summer. *Bull. Shikoku Agric. Exp. Stn.* 36: 1-6.

**Kato, T., Kubota, S., Bambang, S.** 1982a. Uptake of <sup>15</sup>N nitrate by citrus trees in winter and repartitioning in spring. *J. Japan Soc. Hort. Sci.* 50: 421-426.

**Kato, T., Kubota, S., Bambang, S.** 1982b. Uptake and utilization of nitrogen by Satsuma mandarin tree in low temperature season. *Bull. Shikoku Agric. Exp. Stn.* 40: 1-15.

- Kato, T., Yamagata, M., Tsukahara, S.** 1984a. Storage forms and reservoirs of nitrogen used for new shoot development in satsuma mandarin tree. *J. Japan Soc. Hort. Sci.* 52 (4): 393-398.
- Kato, T., Yamagata, M., Tsukahara, S.** 1984b. Seasonal variations in major nitrogenous components in buds, leaves, bark and wood of Satsuma mandarin trees. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 53: 17-22.
- Kato, T., Yamagata, M., Tsukahara, S.** 1985a. Metabolism of  $^{14}\text{C}$ -L-arginine and  $^{14}\text{C}$ -L-proline in excised buds and stem sections of citrus tress (*Citrus unshiu* Marc.). *J. Japan Soc. Hort. Sci.* 53: 412-448.
- Kato, T., Yamagata, M., Tsukahara, S.** 1985b. Translocation of  $^{14}\text{C}$ -L- proline to stems and roots in citrus trees (*Citrus unshiu* Marc.) in late fall. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 54: 323-326.
- Kato, T., Yamagata, M., Tsukahara, S.** 1986. Relationships between nitrogen levels of leaves and nitrogenous components in various organs in adult Satsuma mandarin trees. *Bull. Shikoku Agric. Exp. Stn.* 46: 1-9.
- Kato, T., Yamagata, M., Tsukahara, S.** 1987. A trial using a  $^{13}\text{C}$  and  $^{15}\text{N}$ -double labelling technique for the analysis of carbon and nitrogen storage in a young satsuma tree from autumn to winter. *Bull. Shikoku Agric. Exp. Stn.* 48: 16-25.
- Kirkby, E.A.** 1981. Plant growth in relation to nitrogen supply. F.E. Clark and T. Rosswall (eds.), *Terrestrial nitrogen cycles*. *Ecol. Bull.* (Stockholm) 33: 249-267.
- Koo, R.C.J.** 1980. Results of citrus fertigation studies. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 93: 33-36.
- Koo, R.C.J.** 1988a. Fertilization and irrigation effects of fruit quality. In: Ferguson, J.J., Wardowski, W.F. (Eds.), *Factors Affecting Fruit Quality —Citrus Short Course*. Proceedings, 97. Univ. of Florida, Coop. Extension Ser., Gainesville, FL, pp. 35-42.
- Koo, R.C.J.** 1988b. Use of controlled-release nitrogen for citurs in a humid region. In: Goren R and Mendel K (eds). *Proceedings of the International Society of Citriculture*, 2: 633-640. 6<sup>th</sup> International Citrus Congress, Tel Aviv, Israel.

**Krugh, B., Bichham, L., Miles, D.** 1994. The solid-state chlorophyll meter, a novel instrument for rapidly and accurately determining the chlorophyll concentrations in seedling leaves. Maize genetics cooperation. News Letter 68: 25-27.

**Kubota, S., Akao, S., Fukui, H.** 1972a. <sup>15</sup>N absorption and translocation by Satsuma mandarin trees. I. Behaviour of nitrogen supplied in early summer (Preliminary experiment). *Bull. Shikoku Agric. Exp. Stn.*, 25:93-103.

**Kubota, S., Akao, S., Fukui, H.** 1972b. <sup>15</sup>N absorption and translocation by Satsuma mandarin trees. II. Behaviour of nitrogen supplied in autumn. *Bull. Shikoku Agric. Exp. Stn.*, 25:105-118.

**Kubota, S., Fukui, H., Akao, S.** 1974a. Studies on nitrogen metabolism in Satsuma mandarin trees. Part 3. Seasonal changes with composition of amino acids under different nitrogen nutrition supplies. *Bull. Shikoku Agric. Exp. Stn.* 28: 133-150.

**Kubota, S., Fukui, H., Motoyama, E.** 1974b. Effects of the period of intensive application of nitrogen on growth and chemical composition of unfructified Satsuma mandarin trees. Part 1. On growth, absorption of nitrogen and composition of carbohydrates. *Bull. Shikoku Agric. Exp. Stn.* 28: 107-131.

**Kubota, S., Kato, T., Akao, S., Bunya, C.** 1976a. <sup>15</sup>N absorption and translocation by Satsumas mandarin trees. III. Behaviour of nitrogen supplied in early spring. *Bull. Shikoku Agric. Exp. Stn.*, 29:49-54.

**Kubota, S., Kato, T., Akao, S., Bunya, C.** 1976b. <sup>15</sup>N absorption and translocation by Satsumas mandarin trees. IV. Behaviour of nitrogen supplied in early summer. *Bull. Shikoku Agric. Exp. Stn.*, 29:55-66.

**Kudeyarov, V.N.** 1981. Mobility of fixed ammonium in soil. *Ecol. Bull.* (Stockholm) 33:281-290.

**Lea-Cox, J.D., Syvertsen, J.P.** 1996. How nitrogen supply affects growth and nitrogen uptake, use efficiency, and loss from *Citrus* seedlings. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 121(1): 105-114.

**Lea-Cox, J.D., Syvertsen, J.P., Graetz, D.A.** 2001. Springtime  $^{15}\text{N}$  uptake, partitioning, and leaching losses from young bearing citrus trees of differing nitrogen status. *J. Am. Soc. Hort. Sci.*. 126(2): 242-251.

**Legaz, F.** 1993. Absorción, distribución y traslocación de N en cítricos. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Valencia.

**Legaz, F., Primo-Millo, E.** 1984. Influence of flowering, summer and autumn flushes on the absorption and distribution of nitrogen compounds in citrus. In: Proceedings of the International Society of Citriculture, 1: 224-233. 5<sup>th</sup> International Citrus Congress, Sao Paulo, Brasil.

**Legaz, F., Primo-Millo, E.** 1988a. Absorption and distribution of Nitrogen-15 applied to young orange trees. In: Goren R and Mendel K (eds). Proceedings of the International Society of Citriculture, 2: 643-661. 6<sup>th</sup> International Citrus Congress, Tel Aviv, Israel.

**Legaz, F., Primo-Millo, E.** 1988b. Normas para la fertilización de los agríos. Conselleria d'Agricultura i Pesca. *Fulletts Divulgació* 5-88: 29 pp.

**Legaz, F., Primo-Millo, E.** 1992. Influencia de la fertilización nitrogenada en la contaminación por nitratos de las aguas subterráneas. *Levante Agrícola*. 317-318: 4-15.

**Legaz, F., Primo-Millo, E.** 2000. Criterios para la fertilización de los cítricos en riego localizado por goteo. En: Phytoma-España, S.L. (ed.) Curso de Fertirrigación de Cítricos. Universitat Politècnica València. Conselleria d'Agricultura, Peixca i Alimentació. J. 137-155.

**Legaz, F., Primo-Millo, E., Primo-Yúfera, E., Gil, C.** 1981. Dynamics of  $^{15}\text{N}$ -labelled nitrogen nutrition in Valencia orange trees. In: Matsumoto K, Oogaki C and Kozaki I (eds) Proceedings of the International Society of Citriculture 2: 575-582. 4<sup>th</sup> International Citrus Congress, Tokio, Japan.

**Legaz, F., Primo-Millo, E., Primo-Yúfera, E., Gil, C., Rubio, L.** 1982. Nitrogen fertilization in citrus. Absorption and distribution of nitrogen in calamondin trees (*Citrus mitis* B1.), during flowering, fruit set and initial fruit development periods. *Plant Soil*. 66 (3): 339-351.

**Legaz, F., Primo-Millo, E., Primo-Yúfera, E., Gil, C.** 1983. Dynamics of <sup>15</sup>N-labelled nitrogen nutrients in «Valencia» orange trees. Proc. Int. Soc. Citriculture, 4th, International Citrus Congress, Tokio, Japan 1981, 2: 575-582.

**Legaz, F., Pérez-García, M., Serna, M.D., Puchades, M., Maquieira, A., Primo-Millo, E.** 1992. Effectiveness for the N form applied by a drip irrigation system to citrus. In: Tribulato E, Gentile A and Reforgiato G (eds.) Proceedings of the International Society of Citriculture 2: 590-592. 7<sup>th</sup> International Citrus Congress. Acireale, Italy.

**Legaz, F., Serna, M.D., Primo-Millo, E.** 1993. Mejora de la eficiencia de la utilización de los fertilizantes nitrogenados. En: Ediciones y Promociones L.A.V., S.L. (ed) Sèrie Estudis i Investigacions nº4: 137-155. I Congreso de Citricultura de la Plana.

**Legaz, F., Serna, M.D., Primo-Millo, E.** 1995a. Mobilization of the reserve N in citrus. *Plant Soil* 173: 205-210.

**Legaz, F., Serna, M.D., Ferrer, P., Cebolla, V., Primo-Millo, E.** 1995b. Análisis de hojas, suelos y aguas para el diagnóstico nutricional de plantaciones de cítricos. Procedimiento de toma de muestras. Servicio de Transferencia de Tecnología Agraria. Conselleria d'Agricultura Pesca i Alimentació. Generalitat Valenciana.

**Legaz, F., Bañuls, J., Primo-Millo, E.** 2000. Influencia del abonado en la calidad del fruto. *Levante Agrícola*. 350: 12-17.

**Levy Y., Shalhevet J., Lifshitz J.** 1992. The effect of salinity on citrus rootstocks and scions. Proceedings of the International Society of Citriculture. Acireale, Italy, 391-396.

**Livingston, N.J., Whitehead, D., Kelliher, F.M., Wang, Y.P., Grace, J.C., Walcroft, A.S., Byers, J.N., McSeveny, T.M., Millard, P.** 1998. Nitrogen allocation and carbon isotope fractionation in relation to intercepted radiation and position in a young *Pinus radiata* D. Don Tree. *Plant Cell Environ.* 21(8): 795-803.

**Longeri, L., Vidal, P., Fernández, M.** 2001. Fijación de amonio en seis suelos de la VIII región de Chile. *Agric. Téc.* vol.61, no.2, p.180-191. Disponible en Internet: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0365-28072001000200008&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-28072001000200008&lng=es&nrm=iso). ISSN 0365-2807 [Fecha de acceso: 2 de enero de 2009].

**López-Bellido, R.J., Shepherd, C.E., Barraclough, P.B.** 2004. Predicting postanthesis N requirements of bread wheat with a Minolta SPAD meter. *Eur. J. Agron.* 20:313-320.



**Malaguti, D., Millar, P., Wendler, R., Hepburn, A., Tagliavini, M.** 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.

**Malavolta, E., Nogueira, N., Heinrichs, R., Higashi, E., Rodriguez, V., Guerra, E., Oliveira, S., de Cabral, C.** 2004. Evaluation of nutritional status of the cotton plant with respect to nitrogen. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 35: 1007-1019.

**Manahan, S.E.** 1994. Environmental Chemistry, 6th Edition. Lewis Publishers CRC Press, Boca Raton, Florida. OMS, 2000. Bottled drinking water Factsheet N 256.

**Mariotti, A.** 1983. Atmospheric nitrogen is a reliable standard for natural  $^{15}\text{N}$  abundance measurements. *Nature.* 303: 685-687.

**MARM** 2008. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. Anuario de estadística agroalimentaria y pesquera. Disponible en Internet: <http://www.mapa.es/es/estadistica/pags/anuario/introduccion.htm>. [Fecha de acceso: noviembre de 2009].

**Marmann, P., Wendler, R., Millard, P., Heilmeyer, H.** 1997. Nitrogen storage and remobilization in ash (*Fraxinus excelsior*) under field and laboratory. *Trees Structure and Function* 11(5): 298-305.

**Marschner, H.** 1986. Mineral Nutrition of higher plants. Academic Press, Harcourt Brace Jovanovich. Fla. USA. 543pp.

**Martínez, J.M.** 2003. Determinación de la eficiencia de absorción del N aplicado en cítricos en función de la época de aplicación, tipo de fertilizante y de las características del suelo. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.

**Martínez, J.M., Bañuls, J., Quiñones, A., Martín, B., Primo-Millo, E., Legaz, F.** 2002. Fate and transformation of  $^{15}\text{N}$  labelled applied in spring to Citrus trees. *J. Hortic. Sci. Biotech.* 77(3): 361-367.

**Martínez-Corbalán, A.** 1972. Experiencias sobre fertilizantes nitrogenados en el abonado del naranjo. Efectos sobre el rendimiento (C.R.I.D.A.7) I.N.I.A. 16 pp.

**Marzadori, C., Scudellari, D., Maragoni, B., Simoni, A., Antisari, L.V., Gessa, C.** 1989. Season variation of interlayer ammonium in the soil of a peach orchard. *Acta Hort.* 383: 35-46.

**Mateo, M.A., Ferrio, P., Araus, J.L.** 2004. Isótopos estables en ecofisiología vegetal. La Ecofisiología Vegetal. Una ciencia de síntesis. Reigosa M.J., Pedrol N. y Sánchez-Moreiras A. eds. Paraninfo S.A. pp 113-160.

**Mattos, Jr. D., Quaggio, J.A., Cantarella, H., Alva, A.K., Graetz, D.A.** 2006. Response of young citrus trees on selected rootstocks to nitrogen, phosphorus, and potassium fertilization. *J. Plant Nutr.* 29(8): 1371-1385.

**Maust, B.E., Williamson, J.G.** 1994. Nitrogen nutrition of containerized citrus nursery plants. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 119(2): 195-201.

**Menino, M.R., Carranca, C., de Varennes, A., Valente D'almeida, V., Baeta, J.** 2003. Tree size and flower intensity as affected by nitrogen fertilization in non-bearing orange trees grown under Mediterranean conditions. *J. Plant Physiol.* 160: 1435-1440.

**Menino, R.M., Matos, M.C., Carranca, C., Semedo, J., Marques, N., Matos, M.C., Tomás, J.C., Baeta, J., de Varennes, A.** 2004. Effect of nitrogen levels on some physiological characteristics of young "Lane Late" orange trees fertigated by drip irrigation X<sup>th</sup> International Citrus Congress. Agadir, Marroco.

**Menino, M.R., Carranca, C., de Varennes, A.** 2007. Distribution and remobilization of nitrogen in young non-bearing orange trees grown under mediterranean conditions. *J. Plant Nutr.* 30: 1083-1096.

**Meunchang, S., Panichsakpatana, S., Weaver, R.W.** 2006. Tomato growth in soil amended with sugar mill by-products compost. *Plant Soil* 280 (1-2): 171-176.

**Middelboe, V., Johansen, H.S.** 1990. Analysis of nitrogen, carbon and oxygen isotope ratios by optical emission spectrometry. In: Soil Analysis. Modern Instrumental Techniques (KA Smith, ed.) Marcel Dekker, Inc., New York, USA. Pp: 433-464.

**Millard, P.** 1996. Ecophysiology of the internal cycling of nitrogen for tree growth. *Zeitschrift fur Pflanzenernahrung und Bodenkunde* 159(1): 1-10.

- Millard, P., Neilsen, G.H.** 1989. The influence of nitrogen supply on the uptake and remobilization of stored N for the seasonal growth of apple trees. *Ann. Bot.* 63: 301–309.
- Millard, P., Proe, M.F.** 1991. Leaf demography and the seasonal internal cycling of nitrogen in sycamore (*Acer-pseudoplatanus* L.) seedlings in relation to nitrogen supply. *New Phytol.* 117 (4): 587-596.
- Millard, P., Proe, M.F.** 1993. Nitrogen uptake, partitioning and internal cycling in *Picea-sitichensis* (Bong.) Carr. as influenced by nitrogen supply. *New Phytol.* 125 (1): 113-119.
- Millard, P., Thomson, C.M.** 1989. The effect of the autumn senescence of leaves on the internal cycling of nitrogen for the spring growth of apple-trees. *J. Exp. Bot.* 40(220): 1285-1289.
- Millard, P., Wendler, R., Hepburn, A., Smith, A.** 1998. Variation in the amino acid composition of xylem sap of *Betula pendula* Roth. trees due to remobilization of stored N in the spring. *Plant Cell Environ.* 21 (7): 715-722.
- Millard, P., Wendler, R., Grassi, G., Grellet, G.A., Tagliavini, M.** 2006. Translocation of nitrogen in the xylem of field grown cherry and poplar trees during remobilization. *Tree Physiol.* 26: 527-536.
- Miller, A.J., Fan, X., Shen, Q., Smith, S.J.** 2008. Amino acids and nitrate as signals for the regulation of nitrogen acquisition. *J. Exp. Bot.* 59: 111–119.
- Minotti, P.L., Halseth, D.E., Sieczka, J.B.** 1994. Field chlorophyll measurements to asses the nitrogen status of potato varieties. *HortScience* 29: 1497-1500.
- MITYC** 2007. Ministerio de Industria, Turismo y Comercio; Serie "Ahorro y Eficiencia energética en la agricultura" nº6, Ahorro, Eficiencia Energética y Fertilización Nitrogenada. Instituto para la Diversificación y Ahorro de la Energía.
- Mooney, P.A., Richardson, A.C.** 1994. Seasonal trends in the uptake and distribution of nitrogen in satsuma mandarins. 7th International Citrus Congress, 1992, Acireale, Italy, *Proceedings International Society of Citriculture.* 2: 593-597.

**Moran, R.** 1982. Formulae for determination of chlorophyllous pigments extracted with *N,N*-Dimethylformamide. *Plant Physiol.* 69(6): 1376–1381.

**Moran, R., Porath, D.** 1980. Chlorophyll determination in intact tissue using *N,N*-Dimethylformamide. *Plant Physiol.* 65: 478-479.

**Moreno, J., García-Martínez, J.L.** 1984. Nitrogen accumulation and mobilization in *Citrus* leaves throughout the annual cycle *Physiol. Plantarum* 61(3): 429–434.

**Morgan, K.T., Hanlon, E.A.** 2006a. Improving Citrus Nitrogen Uptake Efficiency: Understanding Citrus Nitrogen Requirements. Disponible en Internet: <http://edis.ifas.ufl.edu/SS459> [Fecha de acceso: 4 de septiembre de 2009].

**Morgan, K.T., Hanlon, E.A.** 2006b. Improving Citrus Nitrogen Uptake Efficiency: Linking citrus irrigation management to citrus fertilizer practices. Disponible en Internet: <http://edis.ifas.ufl.edu/SS466> [Fecha de acceso: 4 de septiembre de 2009].

**Morgan, K.T., Wheaton, T.A., Castle, W.S., Parsons, L.R.** 2009. Response of young and maturing citrus trees grown on a sandy soil to irrigation scheduling, nitrogen fertilizer rate, and nitrogen application method. *HortScience.* 44(1): 145-150.

**Mungomery, W.V., Jorgensen, K.R., Barnes, J.A.** 1978. Rate and timing of nitrogen application to navel oranges: Effects on yield and fruit quality. *Proc. Int. Soc. Citriculture.* 285-288.

**Nakahara, M., Iwakiri, T., Yamatsu, K., Shibata, Y., Shibutani, M., Koyama, M., Nishigaki, S., Sato, K.** 1973. The nitrogen mobilization in Satsuma mandarin trees applied at different times. *Soils and Fertilizer of Pomology Congress co-ordin. by Fruit Tree Res. Exp. Sta., Ministr. Agr. Forest.* 5: 1-45.

**Nadir, M.** 1974. Repartition et taux des éléments minéraux dans les différents organes et parties des citrus in production. *Proc. 1<sup>st</sup>. Int. Citrus Congr., 1973 : Murcia and Valencia, Spain* 1:193-205.

**Nambiar, E.K.S., Fife, D.N.** 1987. Growth and nutrient retranslocation in needles of radiata pine in relation to nitrogen supply. *Ann. Bot.* 60: 147-156.

- Okada, N., Ooshiro, A., Ishida, T.** 1992. Effect of the level of fertilizer application on the nutrient status of Satsuma mandarin trees. *Proc. Int. Soc. Citriculture* (2): 575-579.
- OMS** 1995. Organización Mundial de la Salud. Informe sobre la salud en el mundo. Reducir desigualdades. Disponible en Internet: <http://www.who.int/whr/1995/es/index.html>
- Pazzaglia, L., Ricarte, B., Martínez-Alcántara, B., Bañuls, J., Tagliavini, M., Primo-Millo, E., Legaz, F.** 2004. Improvement of the eco-efficiency of the N fertilization by using the nitrification inhibitor (DMPP) in citrus under drip irrigation system. In: El-Otmani M, Ait-Oubahou A (eds.) *Proc. Int. Soc. Citriculture*, 2: 583-586. 10th. International Citrus Congress. Agadir, Morocco.
- Pérez, F., Góriz, B., Fasbado, G., Moltó, E.** 1997. Estudio sobre la reducción de costes de producción de cítricos mediante la mecanización de las prácticas de cultivo. Comunidad Valenciana Agraria.
- Powlson, D.S., Barraclough, D.** 1993. Mineralization and assimilation in soil-plant systems. p. 209-242. In R. Knowles and T.H. Blackburn (eds.). Nitrogen isotopes techniques. Academic Press, San Diego, California, USA.
- Prasad, R., Power, J.F.** 1995. Nitrification inhibitors for agriculture, health, and the environment. *Adv. in Agronomy* 54: 233-281.
- Preston, C.M.** 1982. The availability of residual fertilizer nitrogen immobilized as clay-fixed ammonium and organic N. *Can. J. Soil Sci.* 62: 479-486.
- Primo-Millo, E.** 1993. Regulación del cuajado del fruto en los cítricos. Temas Citrícolas. Edipublic S.L. p:1-8
- Primo-Millo, E., Legaz, F.** 1983. Fertilización N-P-K en agrios. I Abonado nitrogenado. *Levante Agrícola*. 245: 39-59.
- Primo-Millo, E., Legaz, F., Talón, M.** 2000. Repercusión de la concentración de nitrato y la salinidad del agua de riego sobre la calidad del fruto de los cítricos. IV Congreso de Nules. *Levante Agrícola*. 1<sup>er</sup> trimestre, 18-26.

**Quiñones, A.** 2002. Estudio de la eficiencia del uso de fertilizantes nitrogenados en fertirrigación de cítricos. Tesis Doctoral. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad Politécnica de Valencia.

**Quiñones, A., Bañuls, E., Primo-Millo, E., Legaz, F.** 2003a. Effects of <sup>15</sup>N application frequency on nitrogen uptake efficiency in citrus trees. *J. Plant Physiol.* 160: 1429-1434.

**Quiñones, A., Bañuls, J., Primo-Millo, E., Legaz, F.** 2003b. Fertilización nítrica en cítricos. I. Dinámica en la planta del N procedente del fertilizante. *Levante Agrícola.* 364: 9-16.

**Quiñones, A., Bañuls, E., Primo-Millo, E., Legaz, F.** 2005. Recovery of the <sup>15</sup>N-labelled fertiliser in citrus trees in relation with timing of application and irrigation system. *Plant Soil.* 268: 367-376.

**Quiñones, A., Martínez-Alcántara, B., Legaz, F.** 2007a. Influence of irrigation system and fertilization management on seasonal distribution of N in the soil profile and on N-uptake by citrus trees. *Agriculture Ecosystems and Environment* 122: 399-409.

**Quiñones, A., Martínez-Alcántara, B., Legaz, F.** 2007b. Optimization of N fertilization management in citrus trees: <sup>15</sup>N as a tool in NUE improvement studies. In: *Fertilizers: Properties, Applications and Effects.* Frank Columbus (ed). Nova Science Publishers, Inc. Hauppauge, NY. 181-206

**Quiñones, A., Martínez-Alcántara, B., Garcés-Mora, M., González-Mas, M.C., Chi Bacab, U., Legaz, F.** 2007c. Salinidad y fertilización nitrogenada. I. Interacciones entre los aniones nitrato y cloruro en la planta. *Levante Agrícola.* 386: 212-222.

**Quiñones, A., Martínez-Alcántara, B., Garcés, M., Legaz, F.** 2008. Minimización de los daños producidos por salinidad en cítricos mediante la fertilización nitrogenada. *Vida Rural.* 278: 44-47.

**Quiñones, A., Martínez-Alcántara, B., Chi Bacab, U., Legaz, F.** 2009. Improvement of N fertilization by using the nitrification inhibitor DMPP in drip-irrigated citrus trees. *Spanish Journal of Agricultural Research* 7(1): 190-199.

**Raigón, M.D., Pérez-García, M., Maquieira, A., Puchades, R.** 1992. Determination of available nitrogen (nitric and ammoniacal) in soils by flow injection analysis. *Analysis.* 20: 483-487.

- Rajaie, M., Ejraie, A.K., Owliaie, H.R., Tavakoli, A.R.** 2009. Effect of zinc and boron interaction on growth and mineral composition of lemon seedlings in a calcareous soil. *Int. J. Plant Prod.* 3(1): 39-49.
- Ramos, C., Agut, A., Lidon, A.L.** 2002. Nitrate leaching in important crops of the Valencian Community region (Spain). *Environ. Pollut.* 118(2): 215-223.
- Recous, S., Machet, J.M., Mary, B.** 1988. The fate of labelled <sup>15</sup>N urea and ammonium nitrate applied to a winter wheat crop. I. Nitrogen transformations in the soil. *Plant Soil* 112: 205-214.
- Reese, R.L., Koo, R.C.J.** 1974. Responses of Hamlin, Pineapple, and Valencia orange trees to nitrogen and potash applications. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 87:1-5.
- Reitz, H.J.** 1956. Timing fertilization of citrus in the Indian River arca. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 69: 58-64.
- Retuerto, R., Rodríguez-Roiloa, S., Fernández-Lema, B., Obeso, J.R.** 2003. Respuestas compensatorias de plantas en situaciones de estrés. *Ecosistemas* 12 (1). Disponible en Internet: <http://www.revistaecosistemas.net/articulo.asp?Id=230> [Fecha de acceso 19 de agosto de 2009].
- Reuther, W., Smith P.F.** 1950. A preliminary report on the relation of N, K and Mg fertilization to yield, leaf composition and the incidence of Zn deficiency in oranges. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 56: 27-33.
- Reuther, W., Smith, P.F.** 1954. Effect of method of timing N fertilization on yield and quality of oranges. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 67: 20-26.
- Reuther, W., Smith, P.F., Scuader, G.K., Hrciar, G.** 1957. Responses of Valencia orange trees to timing, rates and ratios of nitrogen fertilization. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 70:223-236.
- Rokba, A.M., Abdel-Messih, M.N., Mohammed, M.A.** 1979. Breeding and screening some citrus rootstocks for salt tolerance in Egypt. *Egypt J. Hort.* 6: 69-79.

**Romero-Aranda, R., Syvertsen, J.P.** 1996. The influence of foliar-applied urea nitrogen and saline solutions on net gas Exchange of Citrus leaves. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 121: 501-506.

**Rosecrance, R.C., Weinbaum, S.A., Brown, P.H.** 1998. Alternate bearing affects nitrogen, phosphorus, potassium and starch storage pools in mature pistachio trees. *Ann. Bot.* 82: 463-470.

**Roy, W.R., Gardner, F.E.** 1946. Seasonal absorption of nutrient ions by orange trees in sand culture. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 47: 107-118.

**Rubio, J.L.** 1979. Inhibidores de la nitrificación. *Rev. Agroquim. Tecnol. Aliment.* 19(4):453-442.

**Ruschel, J., Carmello, Q.A.C., Bernardi, A.C.C., Carvalho, S.A., Mattos, Jr. D.** 2004. Leaf nutrient contents of rangpur lime rootstock as affected by N, P, K, Ca and S fertilization. *Sci. Agr.* 61(5): 501-506.

**Sala, J.M., Cuñat, P.M.** 1982. Influencia de la forma nítrica y amoniacal, en que se administra el nitrógeno, sobre la productividad y absorción de macronutrientes del naranjo W. Navel. *Rev. Agroquim. Tecnol. Alimentos* 22(4): 589-597.

**Sala, J.M., Cuñat, P., Collado, M., Moncholi, V.** 1992. Effect on nitrogenous fertilization (quantity and nitrogen form) in precocity of colour change of "Navelina" oranges. *Proc. Int. Soc. Citriculture.* 598-602.

**Sanchís, E.J.** 1991. Estudio de la contaminación por nitratos de las aguas de la provincia de Valencia. Origen, balance y evolución espacial y temporal. Generalitat Valenciana. Conselleria d'Administració Pública.

**Sanz, A., Monerri, C., González-Ferrer, J., Guardiola, J.L.** 1987. Changes in carbohydrates and mineral elements in Citrus leaves during flowering and fruit set. *Physiol. Plantarum.* 69: 93-98.

**Schimel, J.** 1996. Assumptions and errors in the  $^{15}\text{NH}_4^+$  pool dilution technique for measuring mineralization and immobilization *Soil Biology and Biochemistry.* 28(6): 827-828.



- Schjoerring, J.K., Husted, S., Mäck, G., Mattsson, M.** 2002. The regulation of ammonium translocation in plants. *J. Exp. Bot.* 53: 883–890.
- Schumann, A.W., Fares, A., Alva, A.K., Paramasivam, S.** 2003. Response of Hamlin orange to fertilizer source, annual rate and irrigated area. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 116(21): 256-260.
- Serna, M.D., Borrás, R., Legaz, F., Primo-Millo, E.** 1992. The influence of nitrogen concentration and ammonium/nitrate ratio on N-uptake, mineral composition and yield citrus. *Plant Soil.* 147: 13-23.
- Serna, M.D., Legaz, F., Primo-Millo, E.** 1994. Efficacy of Dicyandiamide as a soil nitrification inhibitor in citrus production. *Soil Science Society America Journal* 58(6): 1817-1824.
- Serna, M.D., Bañuls, J., Quiñones, A., Primo-Millo, E., Legaz, F.** 2000. Evaluation of 3,4-dimethylpyrazole phosphate as a nitrification inhibitor in a *Citrus*-cultivated soil. *Biol. Fert. Soils.* 32: 41-46.
- Shanky, I., El-Tomi, A., Nasr, A.F.** 1979. Effect of nitrogen fertilization on Navel oranges. *Egyptian Journal of Horticulture.* Ain Shams University, Egypt 6 (1):1-12.
- Shearer, G., Kohl, D.H.** 1989. Estimates of N<sub>2</sub> fixation in ecosystems: the need for and the basis of the <sup>15</sup>N natural abundance method. In RW Rundel, JR. Ehleringer, KA. Nagy, eds. Stable isotopes in ecological research. Ecological Studies 68, Springer-Verlag, Berlin, Germany pp 342-374.
- Shearer, G., Kohl, D.H., Chien, S.H.** 1978. The nitrogen-15 abundance in a wide variety of soils. *Soil Sci. Soc. Amer. J.* 42: 889-902.
- Singh, B.R., Kanehiro, Y.** 1969. Adsorption of nitrate in amorphous and kaolinitic Hawaiian soils. (Ion exchange). *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 33(5): 681-383.
- Smith, P.F.** 1966. Citrus Nutrition. In Temperate and tropical fruit nutrition. Childers, N.F. (ed.). Hort. Pub. State Univ.: New Brunswick, New Jersey, Chap. VII, pp: 174-207.

**Smith, P.F., Reuther, W.** 1950. Seasonal Changes in Valencia orange trees. I. Changes in dry leaf weight, ash and macronutrient elements. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 55: 61-72.

**Smith P.F., Reuther, W., Scudder, Jr.** 1954 Effect of differential supplies of nitrogen, potassium and magnesium on growth and fruiting of young Valencia orange trees in sand culture. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 61:38-48.

**Stevenson, F.J., Cole, M.A.** 1999. Cycles of soil. p. 427. 2nd ed. John Wiley and Sons, New York, USA.

**Stewart, I., Leonard, C.D., Wander, I.W.** 1961. Comparison of nitrogen rates and sources for pineapple oranges. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 74:75-79.

**Suárez, M.F., Ávila, C., Gallardo, F., Cantón, F.R., García-Gutiérrez, A., Claros, M.G., Cánovas, F.M.** 2002. Molecular and enzymatic analysis of ammonium assimilation in woody plants. *J. Exp. Bot.* 53: 891-904.

**Syvertsen, J.P.** 1987. Nitrogen content and CO<sub>2</sub> assimilation characteristics of *Citrus* leaves. *HortScience.* 22: 289-291.

**Syvertsen, J.P., Jifon, L.** 2001. Frequent fertigation does not affect citrus tree growth, fruit yield, nitrogen uptake, and leaching losses. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 114: 88-93.

**Syvertsen, J.P., Smith, M.L.** 1996. Nitrogen uptake efficiency and leaching losses from lysimeter-grown. *Citrus* trees fertilized at three nitrogen rates. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 121(1): 57-62.

**Tagliavini, M., Quartieri, M., Millard, P.** 1997. Remobilised nitrogen and root uptake of nitrate for leaf growth, flowers and developing fruits of pear (*P. communis*) trees. *Plant Soil.* 195(1): 137-142.

**Tagliavini, M., Millard, P., Quartieri, M., Marangoni, B.** 1999. Timing of N uptake affects storage and remobilisation of nitrogen in nectarine trees. *Plant Soil.* 211(2): 149-153.

**Taylor, B.K.** 1967. The nitrogen nutrition of the peach I. Seasonal changes in nitrogenous constituents in mature trees. *Austral. J. Biol. Sci.* 20: 379-387.

**Tiessen, H., Karamanos, R.E., Stewart, J.W.B., Selles, F.** 1984. Natural nitrogen-15 abundance as an indicator of soil organic matter transformations in native and cultivated soils. *Soil Sci. Soc. Amer. J.* 48: 312-315.

**Turner, F.T., Jund, M.F.** 1991. Chlorophyll meter to predict nitrogen topdress requirement for semidwarf rice. *Agron. J.* 83: 926-928.

**Varela, M.** 1991. Situación de la contaminación por nitratos en las aguas subterráneas del territorio peninsular y balear. Servicio Geológico del MOPU. Informaciones y Estudios, 53: 1-71.

**Voroney, R.P., Winter, J.P., Gregorich, E.G.** 1991. Microbe/plant/soil interactions. p. 77-99. In D.C. Coleman and B. Fry (eds.). Carbon isotopes techniques. Academic Press, San Diego, California, USA.

**Walker R.R., Törökfalvy E., Downton J. S.** 1983. Photosynthetic responses of the Citrus varieties Rangpur lime and Etrog citron to salt treatment. *Austral. J. Plant Physiol.* 9: 783-790.

**Wallace, A.** 1953. Nitrogen absorption and translocation by citrus cuttings at different root temperatures. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.*, 61: 89-94.

**Wallace, A.** 1954. Ammonium and nitrate nitrogen absorption by citrus. *Soil Sci.* 78:89-94.

**Wallace, A.** 1990. Nitrogen, phosphorus, potassium interactions on Valencia orange trees. *J. Plant Nutr.* 13: 357-365.

**Wallace, A., Mueller, R.T.** 1957. Ammonium and nitrate absorption from sand culture by rough lemon cuttings. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 69: 183-188.

**Wallace, A., Zidan, Z.I., Mueller, R.T., North, C.P.** 1954. Translocation of nitrogen in citrus trees. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 64: 87-104.

**Walsh, L.M., Murdock, J.T.** 1960. Native fixed ammonium and fixation of applied ammonium in several Wisconsin soils. *Soil Sci.* 89: 183-193.

**Weinert, T.L., Thompson, T.L., White, S.A., Maurer, M.A.** 2002. Nitrogen fertigation on young Navel oranges: growth, N status and uptake of fertilizer N. *HortScience.* 119: 24-31.

**WHO** 2004. World Health Organization. Guidelines for drinking water quality, 3rd ed. Vol. 1. Recommendations. Geneva. Disponible en Internet: [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/GDWQ2004web.pdf](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/GDWQ2004web.pdf). [Fecha de acceso 10 de julio de 2008].

**Wild, A.** 1992. Elementos nutritivos en el suelo: Nitrógeno. En: Condiciones del suelo y desarrollo de las plantas según Russell. Madrid. Mundi prensa, pp. 687-732.

**Willis, L.E., Davies, F.S.** 1990. Fertilization, nitrogen leaching and growth of young «Hamlin» orange trees on two rootstocks. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 103: 30-37.

**Witty, J., Ritz, K.** 1984. Slow-Release <sup>15</sup>N fertilizer formulations to measure N<sub>2</sub>-fixation by isotope dilution. *Soil Biol. Biochem.* 16: 657-661.

**Young, J.L., Aldag, R.W.** 1982. Inorganic forms of Nitrogen in Soil. In: Nitrogen in agricultural soils. Stevenson F J (ed), Bremmer J M (ed), Hauck R D (ed) y Kenney D R (ed). The American Society of Agronomy Inc. Chap 2: 43-67.

**Zaragoza, S.** 2007. Aproximación a la historia de los cítricos. Origen, dispersión y evolución de su uso y cultivo. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Valencia, Departamento de Producción Vegetal. Valencia.