

EFFECTO DE LAS FUENTES DE NITRÓGENO (NH_4^+ Y NO_3^-) SOBRE EL CRECIMIENTO DE PLANTAS DE GULUPA (*Passiflora edulis* Sims.) EN ETAPA DE VIVERO

William Felipe Melo¹, Hosman Ernesto Sastoque Herrera¹, Stanislav Magnitskiy^{1*}, Gabriel Roveda¹, Carlos Arturo Guerrero², Liz Patricia Moreno Fonseca¹

¹Departamento de Agronomía, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia

²Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia

* Corresponding author. E-mail: svmagnitskiy@unal.edu.co

Introducción

El Nitrógeno puede representar más del 2% de la materia vegetal seca total de la planta y es un componente principal de proteínas, enzimas, ácidos nucleicos, coenzimas y clorofila, siendo de este modo un nutriente esencial. Este es absorbido por las plantas en forma de amonio (NH_4^+), nitrato (NO_3^-) y nitrito (NO_2^-) (Marschner, 1995). Existen pocos reportes de los efectos de la fuente de N en el crecimiento de plantas pasifloráceas (Kondo y Higuchi, 2012). En Colombia, actualmente la Gulupa (*Passiflora edulis* Sims) ocupa el tercer renglón dentro de las frutas exportadas hacia el mercado europeo por lo cual es importante determinar sus requerimientos nutricionales específicos (Pinzón *et al.*, 2007). El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de nitrato y amonio, sobre el crecimiento, el contenido de clorofilas, la actividad antioxidante, el contenido de prolina y el estado nutricional de plantas de Gulupa en etapa de vivero.

Materiales y Métodos

Se utilizaron plantas de Gulupa (*Passiflora edulis* Sims.) de 15 días después de germinación que fueron sembradas en un sustrato inerte compuesto de arena cuarcítica, arena de río y granito en proporciones iguales. Antes de someter las plantas a los tratamientos se dejaron por 15 días sin fertilizar. Las plantas fueron fertilizadas con una solución Hoagland 0,8 (Hoagland y Arnon, 1950) y los tratamientos consistieron en las proporciones NO_3^- : NH_4^+ de cada uno de los tratamientos. Las diferentes proporciones de NO_3^- : NH_4^+ fueron 100% NO_3^- :0%, 50% NO_3^- : 50% NH_4^+ , 0% NO_3^- :100% NH_4^+ y un tratamiento control con el 25% de la dosis de N. Se realizó un diseño completamente al azar con 6 tratamientos y 4 repeticiones. El trabajo se desarrolló en invernadero en la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá.

Se determinó la masa seca de parte aérea y de las raíces de las plantas, para lo cual el material vegetal fue secado, hasta peso constante, en una estufa 70°C durante 48 horas. Se midió el contenido relativo de clorofilas en dos hojas del tercio medio de la planta con el clorofilómetro (Minolta) a los 28, 56, 84 y 112 días después de iniciar los tratamientos (DDIT). El contenido de elementos minerales se determinó a los 112 DDIT. Se determinó el contenido de prolina (Bates *et al.* 1973), la actividad de las enzimas catalasa (Ulrich, 1974) y peroxidasa (Kireyko *et al.*, 2006) y el contenido de proteínas (Bradford, 1976).

Los datos obtenidos cumplieron con los supuestos de normalidad (Shapiro-Wilk) y la homogeneidad de varianzas, por tanto se realizó un análisis de varianza (Anava) y una prueba de comparación de medias de Duncan a un nivel de confianza del 95% ($P \leq 0,05$) con el software estadístico Statistical Analysis System (SAS[®]) versión 9,2.

Resultados y Discusión

Las plantas presentaron diferencias significativas en la acumulación de biomasa a partir de los 56 DDIT, donde el tratamiento de 100%:0%, presentó el mayor valor, seguido del de 50%:50% y del de 0%:100% (figura 1). Aunque solo se presentaron diferencias significativas entre el tratamiento de 100%:0% y los demás, las tendencias mencionadas se mantuvieron en todos los puntos de muestreo a largo del experimento. La baja biomasa en las plantas del tratamiento 0%:100%, que fue semejante a las plantas con 25% de la dosis de N, se debe probablemente a un mayor costo energético de las plantas para asimilar el amonio e incorporarlo rápidamente a aminoácidos para evitar su toxicidad, además del posible antagonismo con Ca y Mg, elementos importantes en la expansión y desarrollo celular, lo que se evidenció en el análisis de tejido foliar.

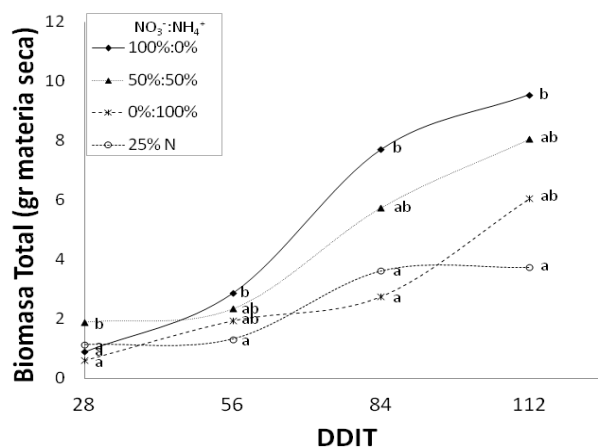


Figura 1. Acumulación de biomasa en plantas de Gulupa fertilizadas con diferentes proporciones de $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$. Se realizó un ANAVA seguido de una prueba de Duncan de comparación de medias α 0.05.

El contenido de clorofilas mostró a partir de los 56 DDIT diferencias significativas entre los tratamientos 100%:0%, 50%:50% y el de 0%:100% que fue similar al tratamiento de 25% de la dosis de N. El valor de unidades SPAD para el tratamiento 50%:50% en todos los muestreos fue semejante al del tratamiento 100%:0% pero en el primero y el último fue mayor (tabla 1).

Tabla 1. Contenido relativo de clorofilas en unidades SPAD en plantas de Gulupa fertilizadas con diferentes proporciones de $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$. Se realizó un ANAVA seguido de una prueba de Duncan de comparación de medias α 0.05.

$\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$	Unidades SPAD			
	28 DDIT	56 DDIT	84 DDIT	112 DDIT
100%:0%	42,3 ab	49,1 a	53,8 a	42,1 a
50%:50%	48,7 a	49,2 a	49,2 a	43,3 a
0%:100%	39,1 b	37,9 b	37,9 b	36,8 b
25%N	45,1 ab	38,8 b	40,2 b	31,4 b

Se observó que la cantidad de N total en hojas (tabla 2) fue proporcional a la presencia de nitrato en el tratamiento. Los valores más bajos correspondieron a los tratamientos de 0%:100% y de 25% de N. Estos datos correlacionan con el contenido de clorofilas, el cual se usa como un

indicador del contenido de N y podría indicar que hay una mejor absorción o transporte de N a la hoja cuando la fuente en la solución nutritiva era el nitrato.

Se observó un incremento en la cantidad de P foliar al aumentar la proporción de NO_3^- lo que indica que no hubo antagonismo entre P y NO_3^- (tabla 2). Es posible que la disminución en la cantidad de P en hojas tratadas con NH_4^+ se deba a una mayor acumulación de este en la raíz, dado la alta demanda energética necesaria para asimilar rápidamente el NH_4^+ e incorporarlo en aminoácidos y amidos para evitar la toxicidad.

Tabla 2. Concentración de nutrientes en tejido foliar en plantas de Gulupa de 112 DDIT fertilizadas con diferentes proporciones de $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$.

$\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$	g Kg ⁻¹ peso seco					mg Kg ⁻¹ peso seco				
	N	P	Ca	K	Mg	S	Fe	Mn	Zn	B
100%:0%	24,1	1,3	20,8	25	2,2	1565	173	20,7	63,4	102
50%:50%	20,2	1,3	17,4	22,8	1,9	2671	97,1	16,9	74,2	131
0%:100%	18,6	1	17,3	28,4	2,4	3668	124	30,2	78,6	118
25% N	16,3	1,4	20,4	20,8	2,4	2661	106	21,5	71,4	102

Se encontró una mayor concentración de K en hojas en el tratamiento 50%:50%, sin embargo no se observa una relación aparente con las proporciones $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$. Se observó una disminución en la concentración de Ca al aumentar la proporción de NH_4^+ en la solución, lo que sugiere la existencia de antagonismo entre estos dos elementos (tabla 3).

Tabla 3. Composición química de parte aérea de plantas de Gulupa de 112 DDIT, fertilizados con diferentes proporciones de $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$.

$\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$	Cationes acumulados			Total Cationes	Aniones acumulados		Total Aniones	C-A
	K	Ca	Mg		PO_4^{-3}	SO_4^{-2}		
	% de materia seca				% de materia seca			
100%:0%	2,84	1,73	0,24	4,81	0,1	0,0037	0,10	4,71
50%:50%	2,28	1,74	0,19	4,21	0,13	0,0027	0,13	4,08
0%:100%	2,5	2,08	0,22	4,8	0,13	0,0016	0,13	4,67
25% N	2,08	2,04	0,24	4,36	0,14	0,0027	0,14	4,22

Se observó una relación entre el contenido de amonio y la cantidad de prolina en plantas, presentándose los valores más altos en el tratamiento de 0%:100% y los menores en donde la única fuente fue el nitrato (tabla 4). La acumulación de prolina en gulupa podría indicar la presencia de estrés oxidativo por déficit de N o toxicidad de altos niveles amonio. El tratamiento de 25% de la dosis de N presentó un valor más alto asociado a las alteraciones producidas por la deficiencia de nitrógeno. Esta relación entre mayores contenidos de prolina y menores de proteína puede indicar una competencia entre la prolina, molécula cuya síntesis está inducida por el estrés nutricional y la síntesis de proteínas no asociadas a la respuesta a estrés.

Tabla 4. Contenido de enzimas antioxidantes CAT Y POD, de prolina y proteína foliar de plantas de Gulupa de 112 DDIT, fertilizados con diferentes proporciones de $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$. Se realizó un ANAVA seguido de una prueba de Duncan de comparación de medias α 0.05.

$\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$	UA CAT $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ consumido/min x gr	UA POD Δ A436nm /min x gr	mg de prolina /gr de peso seco	mg proteína / gr de tejido seco
100%:0%	19,9 c	0,33 b	2,5 d	2,13 a
50%:50%	26 c	0,34 b	15,3 c	2,36 a
0%:100%	174,3 b	0,78 a	88,8 a	1,17 b
25% N	284,2 a	0,34 b	54,2 b	0,85 c

Los resultados obtenidos en esta investigación sugieren que las plantas de Gulupa tienen una preferencia por la fertilización con NO_3^- en la etapa del desarrollo vegetativa. La acumulación de biomasa total y el contenido de clorofilas fueron mayores cuando la fuente en la solución nutritiva era el nitrato, lo cual fue acompañado por los bajos niveles de acumulación de prolina y bajas actividades de las enzimas CAT y POD.

Agradecimientos

Los autores expresan sus agradecimientos a la profesora Luz Marina Melgarejo (Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Departamento de Biología) por su colaboración en la realización del experimento y a Darwin Moreno por la realización de las determinaciones bioquímicas.

Referencias

- Bates, L., Walderen, R., y I. Teare. Rapid determination of free proline in water stress studies. *Plant and Soil*. 39(1). 205-208, 1973.
- Bradford, M. A rapid and sensitive method for the quantitation of micrograms quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry*. 75(1). 248-254, 1976.
- Hoagland, D. y D. Arnon. The culture method for growing plants without soil. *California Agriculture Experimental Circle*. 347. 1-32, 1950.
- Kireyko, A., Veselova, I. y T. Shekhovtsova. 2006. Mechanisms of peroxidase oxidation of o-dianisidine, 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine, and o-phenylenediamine in the presence of sodium dodecyl sulfate. *Russ. J. Bioorg. Chem.* 32. 71-77, 2006.
- Kondo, T. y H. Higuchi. Effects of excess of $\text{NH}_4\text{-N}$ or $\text{NO}_3\text{-N}$ fertilizer applications on leaf injury, vegetative growth and, and leaf mineral contents in passion fruit. *Trop. Agr. Develop.* 56(3). 88-94, 2012.
- Marschner, H. Functions of mineral nutrients: macronutrients. In: *Mineral nutrition of higher plants*. 2nd ed. San Diego, CA. Academic Press. 229-99, 1995.
- Pinzon, I., G. Fischer, y G. Corredor. Determinación de los estados de madurez del fruto de la gulupa (*Passiflora edulis* Sims.). *Agronomía Colombiana*. 25 (1). 83-95, 2007.
- Ulrich, B. Catalase. *Methods of Enzymatic Analysis*. New York: Academic Press, Inc. 673-684, 1974.