

**SURCOS ULTRA-ESTRECHOS, DOSIS DE NITRÓGENO, ACTIVIDAD
ENZIMÁTICA NITRATO REDUCTASA, UREASA Y CONTENIDO
NUTRICIONAL DEL ALGODÓN**

ARMANDO EDGAR HERNÁNDEZ CRUZ

T E S I S

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO DE:**

MAESTRO EN CIENCIAS AGRARIAS



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

SUBDIRECCIÓN DE POSGRADO

Director de tesis: Dr. Armando Espinoza Banda

Torreón, Coahuila, México.

Julio de 2012

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO

SURCOS ULTRA-ESTRECHOS, DOSIS DE NITRÓGENO, ACTIVIDAD
ENZIMÁTICA NITRATO REDUCTASA, UREASA Y CONTENIDO
NUTRICIONAL DEL ALGODÓN

TESIS

ARMANDO EDGAR HERNÁNDEZ CRUZ

Elaborada bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada
como requisito parcial, para obtener el grado de:

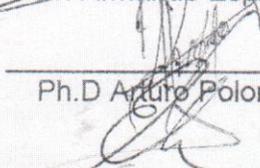
MAESTRO EN CIENCIAS AGRARIAS

COMITÉ PARTICULAR

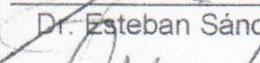
Asesor Principal:


Dr. Armando Espinoza Banda

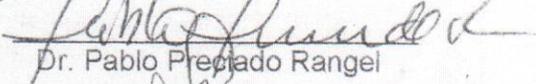
Asesor:

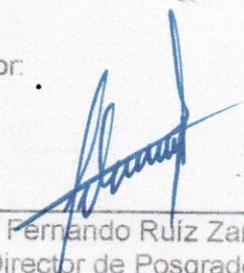

Ph.D Arturo Polomo Gil

Co. Asesor:


Dr. Esteban Sánchez Chávez

Asesor:


Dr. Pablo Preciado Rangel


Dr. Fernando Ruíz Zarate
Director de Posgrado


Dr. Pedro Antonio Robles Trillo
Jefe de Departamento de Posgrado

Torreón Coahuila, México.

Junio de 2012

AGRADECIMIENTOS

Al **Conceso Nacional de Ciencia y Tecnología** por asignarse el apoyo económico para la realización de mis estudios de posgrado (maestría en ciencias agrarias) y así encaminarme en el universo de la investigación.

Núm. de CVU 372172

A la **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.**

Por darme la oportunidad de realizar los estudios de posgrado.

A MIS ASESORES:

Los Drs.

Arturo Palomo Gil, Pablo Preciado Rangel y Armando Espinosa Banda

Profesores investigadores de la UAAAN UL por compartir sus conocimientos, observaciones, enseñanzas, consejos e innumerables sugerencias, y amistad.

Esteban Sánchez Chávez

Profesor investigador del CIAD, A.C Delicias Chihuahua, por su Co-dirección durante el proceso de mi investigación y de quien he aprendido lo que significa ser un investigador.

A los técnicos de laboratorio de Fisiología y Nutrición del CIAD AC. Delicias Chihuahua

MC. Mónica García Bañuelos, IQ. Alexandro Guevara Aguilar y MC. Ezequiel Muños Márquez.

Por el apoyo técnico en la realización de los análisis de muestras.

A mis compañeros Ing. Filiberto Martínez Lara é Ing. Fernando Corona Ramos.

Por su ayuda en la realización en las técnicas de laboratorio.

Al M.C. Juan Pedro Sidas Arreola y M.C. César Márquez Quiroz

Por su amistad, acertados consejos, compartir sus conocimientos y su apoyo incondicional en la realización de mis estudios.

DEDICATORIA

Especial dedicación a;

Mi esposa:

Veroardet Reyes Maldonado

Por haberse convertido en un pilar indestructible que sostiene mis
anhelos de brindarle siempre lo mejor.

Mis padres;

Alicia Cruz Cruz⁺

Y

Erasto Hernández Zambrano

Por su apoyo incondicional que me han brindado durante el transcurso
de mis días.

Mis Hermanos;

Hernández Cruz

José Luis, Feliz, María Asunción y Adela.

Por su comprensión, confianza y apoyo incondicional para realizar mis
estudios profesionales.

ÍNDICE DE GENERAL

AGRADECIMIENTOS	I
DEDICATORIA	II
ÍNDICE DE CONTENIDO	III
ÍNDICE DE FIGURAS	VI
ÍNDICE DE CUADROS	X
COMPENDIO	XI
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Objetivo.....	3
1.2. Hipótesis	3
II. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1. Surcos ultra-estrechos en la producción de Algodón	4
2.2. Nutrición mineral	5
2.3. Nitrógeno (N)	5
2.3.1. Aspectos generales.....	5
2.3.2. Nitrógeno en el suelo	7
2.3.3. Absorción y transporte de nitrato (NO_3^-) y amonio (NH_4^+).....	9
2.3.4. Reducción el nitrato (NO_3^-) y asimilación del amonio (NH_4^+)	12
2.3.4.1. Actividad Enzimática Nitrato Reductasa (NR)	13
2.3.4.2. Glutamina sintetasa (GS).....	15
2.3.4.3. Glutamato sintetasa (GOGAT)	16
2.3.4.4. Glutamato deshidrogenasa (GDH)	16
2.3.4.5. Fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEPC).....	17
2.3.5. Actividad enzimática de la ureasa.....	18
2.3.6. Nitrógeno en el cultivo de algodón.....	21
III. MATERIALES Y MÉTODOS	27
3.1. Área geográfica donde se estableció el experimento.....	27
3.1.1. Diseño experimental.....	27
3.2. Variedad de semilla	28

3.3. Labores de cultivo.....	28
3.3.1. Preparación del terreno.....	28
3.3.1.1. Barbecho.....	28
3.3.1.2. Rastreo.....	29
3.3.1.3. Nivelación.....	29
3.3.1.4. Surcado.....	29
3.4. Siembra.....	29
3.5. Riego.....	30
3.6. Fertilización.....	30
3.7. Control de plagas y malezas.....	31
3.8. Cosecha.....	31
3.9. Metodología del muestreo de hojas.....	32
3.10. Indicadores bioquímicos.....	33
3.10.1. Ensayo de la enzima nitrato reductasa “ <i>in vivo</i> ”.....	33
3.10.2. Ensayo de la enzima ureasa “ <i>in vivo</i> ”.....	35
3.11. Indicadores fisiológicos.....	36
3.11.1. Determinación de la concentración de nitrógeno orgánico (Nt) (Método de micro- <i>Kjeldahl</i>).....	36
3.11.2. Cuantificación de la concentración de Sodio, Cobre, Hierro, Manganeso, Zinc y Níquel, por el método de la mezcla digestora y espectrofotometría de absorción atómica.....	36
3.11.3 Determinación de la concentración de calcio, Potasio, Magnesio (Método de la mezcla digestora y absorción atómica).....	37
3.11.4. Cuantificación del Fósforo (Método de la mezcla triácida y metavanadato molibdato de amonio y colorimetría).....	38
3.12. Determinación clorofila.....	38
3.12.1. Contenido de clorofila total.....	38
3.12.2. Determinación de pigmentos con SPAD-502 portátil.....	39
9.13. Análisis estadístico.....	39
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	40
4.1 Producción.....	40
4.2. Dinámica de la acumulación de biomasa.....	42
4.3 indicadores bioquímicos.....	44
4.3.1 Actividad enzimática Nitrato Reductasa “ <i>in vivo</i> ”: Inicios de Floración.....	44
4.3.2. Actividad enzimática Nitrato Reductasa “ <i>in vivo</i> ”: Plena Floración.....	48

4.3.3. Actividad enzimática Nitrato Reductasa “ <i>in vivo</i> ”: Apertura de Capullos.	51
4.3.5. Actividad enzimática ureasa: Plena Floración.....	55
4.3.6. Actividad enzimática ureasa: Apertura de Capullos.....	57
4.4. contenido nutricional	59
4.4.1. Dinámica del Nitrógeno orgánico	60
4.4.2. Dinámica del Fósforo.....	63
4. 4. 3. Dinámica del Potasio.....	65
4. 4. 4. Dinámica del Calcio.....	67
4. 4. 5. Dinámica del Magnesio	69
4. 4. 6. Dinámica del Sodio.....	71
4. 4. 7. Dinámica del Zinc	73
4. 4. 8. Dinámica del Níquel	75
4. 4. 9. Dinámica del Cobre	77
4. 4. 10. Dinámica del Hierro.....	79
4. 4. 11. Dinámica del Manganeso	81
4. 5. Dinámica del contenido de clorofila total foliar en algodón	84
4.6. Dinámica de los valores SPAD en algodón.....	86
V. CONCLUSIONES.....	90
VII. LITERATURA CITADA	92

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mecanismo de transporte del nitrato a través del plasmalema. MP: Membrana Plasmática, T: Transportador, B: Bamba de protones. El gradiente de potencial electroquímico de protones requerido para el transporte activo es generado por el H ⁺ ATPasa que, con la energía de ATP bombea protones al exterior (Morot-Gaudry, 1997) con modificaciones de la autor.....	11
Figura 2. Reducción del nitrato NO ₃ ⁻ a amonio NH ₄ ⁺ catalizado por la Nitrato reductasa (NR) y la Nitrito reductasa (NiR). El poder requerido se genera en las reacciones lumínicas de la fotosíntesis o en la glucólisis y respiración (Azcón-Bieto y Talón, 2008).....	13
Figura 3. Ciclo de la urea modificado (Gerendás <i>et al.</i> , 1998).....	19
Figura 4. Influencia de la distancia entre surcos sobre la acumulación de biomasa.....	43
Figura 5. Influencia de la aplicación de diferentes dosis de nitrógeno en la acumulación de biomasa.....	44
Figura 6. Efecto de la distancia entre surcos sobre la actividad enzimática NR “ <i>in vivo</i> ” en algodón a los 74 DDS (inicio de floración).	46
Figura 7. Efecto de la dosis de nitrógeno sobre la actividad enzimática NR “ <i>in vivo</i> ” en algodón a los 74 DDS (inicio de floración).	48
Figura 8. Efecto de la distancia entre surcos sobre la actividad enzimática NR “ <i>in vivo</i> ” en algodón a los 94 DDS (plena floración).	49
Figura 9. Efecto de la dosis de nitrógeno sobre la actividad enzimática NR “ <i>in vivo</i> ” en algodón a los 94 DDS (plena floración).	50
Figura 10. Efecto de la distancia entre surcos sobre la actividad enzimática NR “ <i>in vivo</i> ” en algodón a los 136 DDS (Apertura de capullos).....	52
Figura 11. Efecto de la dosis de nitrógeno sobre la actividad enzimática NR “ <i>in vivo</i> ” en algodón a los 136 DDS (Apertura de capullos).	53
Figura 12. Influencia de la distancia entre surcos sobre la actividad enzimática ureasa del algodón a los 74 DDS (inicio de floración).....	54
Figura 13. Influencia de las dosis de nitrógeno sobre la actividad enzimática ureasa del algodón a los 74 DDS (inicio de floración).	55

Figura 14. Influencia de la distancia entre surcos sobre la actividad enzimática ureasa del algodón a los 94 DDS (plena de floración). ...	56
Figura 15. Influencia de la dosis de nitrógeno sobre la actividad enzimática ureasa del algodón a los 94 DDS (plena floración).	57
Figura 16. Influencia de la distancia entre surcos sobre la actividad enzimática ureasa del algodón a los 136 DDS (apertura de capullos).....	58
Figura 17. Influencia de la dosis de nitrógeno sobre la actividad enzimática ureasa del algodón a los 136 DDS (apertura de capullos).	59
Figura 18. Influencia de la distancia entre surcos sobre el contenido de Nitrógeno en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos).....	61
Figura 19. Influencia de las dosis de nitrógeno y su contenido foliar en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos). ..	62
Figura 20. Influencia de la distancia entre surcos sobre el contenido de Fósforo en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos).....	64
Figura 21. Influencia de las dosis de nitrógeno sobre el contenido de Fósforo en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos).....	65
Figura 22. Influencia de la distancia entre surcos sobre el contenido de Potasio en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos).....	66
Figura 23. Influencia de las dosis de N sobre el contenido de Potasio en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos). ..	66
Figura 24. Influencia de la distancia entre surcos sobre el contenido de y Calcio en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos).....	68
Figura 25. Influencia de las dosis de nitrógeno sobre el contenido de Calcio en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos).....	69
Figura 26. Influencia de la distancia entre surcos sobre el contenido de Magnesio en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos).....	70

Figura 27. Influencia de las dosis de nitrógeno sobre el contenido de Magnesio en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos).....	71
Figura 28. Influencia de la distancia entre surcos sobre el contenido de Sodio en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos).....	72
Figura 29. Influencia de las dosis de nitrógeno sobre el contenido de Sodio en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos).....	73
Figura 30. Influencia de la distancia entre surcos sobre el contenido de Zinc en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos).....	74
Figura 31. Influencia de la dosis de nitrógeno sobre el contenido de Zinc en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos).	75
Figura 32. Influencia de la distancia entre surcos sobre el contenido de Níquel en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos).....	76
Figura 33. Influencia de la dosis de nitrógeno sobre el contenido de Níquel en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos).....	76
Figura 34. Influencia de la distancia entre surcos sobre el contenido de Cobre en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos).....	78
Figura 35. Influencia de la dosis de nitrógeno sobre el contenido de Cobre en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos).....	79
Figura 36. Influencia de la distancia entre surcos sobre el contenido de Hierro en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos).....	80
Figura 37. Influencia de la dosis de nitrógeno sobre el contenido de Hierro en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos).....	81

Figura 38. Influencia de la distancia entre surcos sobre el contenido de Manganeso en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos).....	82
Figura 39. Influencia de la dosis de nitrógeno sobre el contenido de Manganeso en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos).....	83
Figura 40. Clorofila total en algodón bajo diferentes distancias entre surcos en las etapas de “inicio de floración, plena floración y apertura de capullos.	85
Figura 41. Clorofila total en algodón bajo diferentes dosis de nitrógeno en las etapas de “inicio de floración, plena floración y apertura de capullos.	86
Figura 42. Efecto de las distancias entre surcos sobre la dinámica de los valores SPAD en algodón.	87
Figura 43. Efecto de las dosis de nitrógeno sobre la dinámica de los valores SPAD en algodón.....	89
Figura 44.A. Absorción, reducción y acumulación del nitrato en los diferentes tejidos de la planta. Ciclo de los aminoácidos (Lea y Leegood, 1993).	108

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Rango de suficiencia de los Macronutrientes y Micronutrientes (inicios de floración de algodón) (Mills y Jones, 1991).	25
Cuadro 2. Rango de suficiencia de los Macronutrientes y Micronutrientes (Plena floración de algodón) (Mills y Jones, 1991).	26
Cuadro 3. Calendario de riegos de acuerdo a la etapa fenológica del cultivo.	30
Cuadro 4.A. Efecto de las diferentes dosis de nitrógeno y surcos ultra-estrechos sobre la concentración foliar de macronutrientes en algodón.....	106
Cuadro 5.A. Efecto de las diferentes dosis de nitrógeno y surcos ultra-estrechos sobre la concentración foliar de micronutrientes en algodón.....	107

COMPENDIO

**SURCOS ULTRA-ESTRECHOS, DOSIS DE NITRÓGENO, ACTIVIDAD
ENZIMÁTICA NITRATO REDUCTASA, UREASA Y CONTENIDO
NUTRICIONAL DEL ALGODÓN**

POR

ARMANDO EDGAR HERNÁNDEZ CRUZ

MAESTRO EN CIENCIAS AGRARIAS

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

Torreón Coahuila de Zaragoza, México, Junio de 2012

Asesor Principal: DR. ARMANDO ESPINOZA BANDA

En la producción de algodón la distancia entre surcos y fertilización nitrogenada son factores de suma importancia para alcanzar altos rendimientos. Una forma de incrementar la producción es a través del acortamiento entre surcos, actualmente conocido como surcos “ultra-estrechos” (Distancias menores a 75 cm) y la aplicación de dosis adecuadas de N. Es importante valorar la eficiencia de la fertilización nitrogenada a través de la acumulación de biomasa, cuantificación de la actividad enzimática ureasa, Nitrato reductasa (enzima clave en la asimilación del N dentro de la planta), contenido de nitrógeno y clorofila. El objetivo del presente estudio fue evaluar la producción del cultivo de algodón bajo diferentes dosis de nitrógeno y surcos ultra estrechos, además de determinar su efecto en la actividad de las enzimas nitrato reductasa, ureasa “*in vivo*” y Contenido nutrimental en la variedad de algodón Fiber Max 989. Las

distancias entre surcos evaluadas fueron 35, 50 y 75 cm. Las dosis de nitrógeno evaluadas fueron 0, 50, 100 y 150 kg ha⁻¹, utilizando como fuente Urea (46 % de N). Los tratamientos se distribuyeron en un diseño de bloques al azar con arreglo de parcelas divididas. Los surcos de 35 y 50 cm mostraron valores de N inferiores al rango de suficiencia, sin embargo incrementaron la producción en un 35 y 10 % respectivamente, a diferencia de la siembra de algodón en surcos a 75 cm que mostraron los valores dentro del rango de suficiencia y mayor biomasa. Por otro lado al aplicar la dosis de Nitrógeno de 100 kg ha⁻¹ se obtuvieron valores de N más altos, sin embargo, la dosis de 150 kg de N ha⁻¹ fue la mejor al obtener la máxima producción de algodón hueso, la mayor acumulación de biomasa total foliar a través del tiempo por lo tanto, el N no siempre se traduce en mayor producción de fibra sino que se utiliza en para la formación de estructuras foliares. La actividad enzimática NR endógena en las tres etapas fenológicas de análisis fue mayor en las plantas donde se aplicaron 150 kg de N ha⁻¹ y las sembradas en surcos de 35 cm que de igual forma obtuvieron el mayor rendimiento de algodón. Las diferentes dosis de N y distancias entre surcos, reflejaron, las necesidades fisiológicas de NO₃⁻ y Mo o la combinación de ambos factores para activar la enzima y expresar su mayor actividad en el metabolismo del N. Por, lo que, la actividad enzimática NR “*in vivo*” pudiera utilizarse como un bioindicador del estado nutricional del N en algodón a diferencia de la enzima ureasa. El K, Cu, He, Zn, Mn y Mg presentaron valores dentro del rango de suficiencia, por lo tanto, el crecimiento, desarrollo del cultivo y producción de algodón no fueron limitados por estos elementos, en caso contrario, el P presentó valores por debajo de los rangos

de suficiencia, siendo este elemento el que más limitó la producción de algodón, tanto en diferentes distancias de surcos y dosis de nitrógeno. La dinámica de la clorofila total y los valores SPAD presentaron un comportamiento muy similar a la concentración de nitrógeno total, disminuyó a través del tiempo, por lo tanto, el mayor requerimiento de nitrógeno por el cultivo de algodón es en inicios de floración y plena floración.

Palabras clave: *Gossypium hirsutum* L., diagnóstico nutrimental, rendimiento, actividad enzimática

ABSTRACT

The distance between furrows and the nitrogen fertilization in the cotton production are important factors to obtain high yield. One way to increase the crop production is through reducing the distance between the seed furrows, actually known as ultra-narrow furrows (distance less than 75 cm) and the optimum application rate of N. It's important assess the nitrogen fertilization efficiency through the biomass accumulation, quantitation of the urease and nitrate reductase enzyme activity (key enzyme in the nitrogen absorption), and leaf nitrogen and chlorophyll content.

The aim of the research was assessing the cotton production under different nitrogen rates and ultra-narrow furrows, in addition determining its effect on the *in vivo* nitrate reductase and urease enzyme activity and leaf nutrient content in the FiberMax 989 cotton variety. The row spacing and nitrogen rates assessed were 35, 50 and 75 cm (control), and, 0, 50, 100 and 150 kg ha⁻¹, respectively. Urea (46 % of N) was used as nitrogen source.

Treatments were distributed in a randomized complete block design in a split plot arrangement.

The furrows of 35 and 50 cm showed values below the range of sufficiency; however increased the production by 35 and 10 %, respectively, the 75 cm furrow had values within sufficiency range and the highest biomass. On the other hand applying the 100 kg ha⁻¹ nitrogen rate was obtained the highest foliar N values, however, the 150 kg ha⁻¹ nitrogen rate had the best production of cotton bone and the most foliar biomass accumulation through time, therefore, the N doesn't always result in increasing production of fiber but is used in the formation of leaf structures.

Endogenous NR enzyme activity in the three phenological stages of analysis was greater in plants planted in rows of 35 cm and with a N rate of 150 kg ha⁻¹ which had the highest cotton yield. The different N rates and row distances, reflected the physiological need of NO₃⁻ and Mo or combination of both factors to activate the enzyme and express their greatest activity in the metabolism of N. Therefore, NR enzyme activity *in vivo* may be used as a biomarker of nutritional status of N in cotton unlike the urease enzyme.

The values of K, Cu, I, Zn, Mn and Mg were within the range of sufficiency, both for application of different nitrogen rates and furrows spacing, therefore, the growth, development of cultivar and cotton crop production were not limited by these elements. The P values presented values below the sufficiency range and this element limited the production of cotton, in different furrows distances and nitrogen rates, the dynamics of the total chlorophyll and SPAD values showed a similar behavior to the total

nitrogen concentration, therefore, the increased requirement for nitrogen in the cotton crop is in early flowering and full bloom.

Keywords: *Gossypium hirsutum* L., nutritional diagnosis, yield, enzyme activity.

I. INTRODUCCIÓN

Debido a los problemas de altos costos de producción del cultivo de algodón (*Gossypium hirsutum* L.) y al bajo precio de la fibra en el mercado internacional, es necesario explorar nuevas alternativas para elevar el rendimiento y hacer más redituable el cultivo. En México se siembran alrededor de 120,117.81 hectáreas de Algodón, el promedio de producción es de 440,489.42 toneladas por año, con un rendimiento promedio de 3.9 ton ha⁻¹, donde el estado de Chihuahua representa el 57.7 % de la producción total del país, seguido de Baja California con 20.3 %, Coahuila 13 %, Sonora 4.8 %, Durango 2.2 % y Tamaulipas con el 2 %. En la Región Lagunera para el año 2010 se sembraron alrededor de 24,566.21 hectáreas obteniendo una producción de 66,660.14 toneladas, con un rendimiento de 5.73 ton ha⁻¹ (SIAP, 2012).

Algunos de los factores que intervienen en la producción de algodón son: la distancia entre surcos y las dosis de Nitrógeno (N) aplicadas al cultivo (Palomo *et al.*, 2003). La siembra de algodón en surcos inferiores a 75 cm ofrece múltiples ventajas como: eliminación de dos a tres pasos de maquinaria, disminuye la competencia con malezas, aumenta la intercepción de energía radiante, reduce la evaporación de agua en el suelo e incrementa el rendimiento hasta un 26 % (Estrada *et al.*, 2008).

Particularmente el N es el nutrimento más demandado en virtud que es esencial para un desarrollo y crecimiento óptimo del cultivo evitando excesos que puedan ocasionar serios problemas de manejo y pérdidas en la producción. La dosis óptima de N está determinada por muchas variables

ambientales, como clima, tipo de suelo, cultivar, fertilidad residual, humedad disponible y plagas (Rajendran *et al.*, 2010). El crecimiento y rendimiento de algodón al igual que la mayoría de las especies cultivables muestran alta dependencia de la disponibilidad de nitrógeno durante el ciclo vegetativo. Al respecto Reddy *et al.* (2004) detectaron incrementos en el rendimiento de algodón a medida que aumentó la cantidad de nitrógeno. La mayoría de las investigaciones sitúan la dosis óptima para algodón entre 35 y 135 Kg de N ha⁻¹ (Jian-Long *et al.*, 2005).

El análisis de concentración de nutrientes en los tejidos vegetales es una técnica de uso muy generalizado, como medio de evaluación para saber el estado nutricional de las plantas; sin embargo, en algunos casos las plantas que crecen en el mismo lugar bajo las mismas condiciones presentan diferencias de producción atribuibles a fertilización, sin reflejar diferencias en la concentración de elementos (Bourret *et al.*, 2009). En los últimos años se están realizando estudios sobre los cambios de la actividad metabólica, enzimática o fisiológica producidos por deficiencia, toxicidad o inducción de respuestas en plantas o tejidos por la acción de un nutriente a través de métodos bioquímicos mediante la actividad de ciertas enzimas dependiendo del nivel nutricional (Romero, 1995). Por ejemplo, uno de los métodos de diagnóstico que se utiliza como indicador del estado nutricional del N se basa en la determinación de la actividad de la enzima Nitrato Reductasa (NR) de los tejidos de las hojas (Xiau-yu *et al.*, 2010). Por otro lado la ureasa cataliza la hidrólisis de la urea [CO (NH₂)₂], reacción que divide la molécula en amonio (NH₃) y dióxido de carbono. Cuando se inhibe

la actividad de la ureasa, esta condición lleva a la acumulación de urea provocando la presencia de manchas necróticas en las hojas (Wood, 2006).

1.1. Objetivo

- Evaluar la producción y estado nutrimental del cultivo de algodón bajo diferentes dosis de nitrógeno y surcos ultra-estrechos.
- Determinar el efecto de las dosis de nitrógeno y surcos ultra-estrechos en la actividad de las enzimas nitrato reductasa y ureasa en algodón.

1.2. Hipótesis

- H_{a1} . La dosis de nitrógeno y el espaciamiento entre surcos afectan el rendimiento de fibra, la actividad de las enzimas nitrato reductasa, ureasa y el contenido nutrimental del algodón
- H_{o2} . La dosis de nitrógeno y el espaciamiento entre surcos no afectan el rendimiento de fibra, la actividad de las enzimas nitrato reductasa, ureasa y el contenido nutrimental del algodón

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Surcos ultra-estrechos en la producción de Algodón

El concepto de surcos ultra-estrechos se originó en 1920, con el objetivo de reducir los costos de producción, debido a que se pueden eliminar de dos a tres pasos de maquinaria, el follaje cubre más rápidamente el suelo, disminuye la competencia con la maleza, aumentando la intercepción de energía radiante y reduciendo la evaporación de agua en el suelo (Estrada *et al.*, 2008), estos autores también mencionan que la siembra de algodón en surcos ultra-estrechos incrementa el rendimiento hasta en 26 %, en comparación con la siembra en surcos de 76 cm. Gaytán *et al.* (2004) no encontraron diferencias en rendimiento al sembrar en surcos espaciados a 50 y 76 cm, pero indicaron que la siembra en surcos a 50 cm disminuyó en 7 días el ciclo del cultivo. Estrada *et al.* (2008) indican que la siembra en surcos de 35 cm aumenta en 26 % el rendimiento de algodón, independientemente si son variedades transgénicas o no transgénicas. El sistema de siembra en surcos ultra-estrechos es una buena alternativa para aumentar los rendimientos unitarios y para aumentar las ganancias del productor. Los surcos ultra-estrechos (50 y 35 cm) rinden 10 y 26 % más respectivamente que los surcos a 75 cm sin afectar la calidad de la fibra, según Palomo *et al.* (2003) en la distancia de 35 cm se disminuye el peso del capullo y el índice de semilla (tamaño).

2.2. Nutrición mineral

Para la obtención de una óptima calidad en la cosecha, la nutrición es la mejor vía para obtenerlo (Moggia *et al.*, 2006). El factor que más influye sobre la productividad es sin duda la nutrición mineral. El análisis de suelo, el análisis foliar solo muestran algunos factores que influyen sobre la disponibilidad de los nutrientes (Vázquez *et al.*, 2010). La concentración de nutrientes en la hoja es afectada por factores como: Edad de la planta, interacciones iónicas de los elementos, factores exógenos y endógenos. Por ejemplo, el N foliar, las concentraciones de Fosforo (P) y Potasio (K), generalmente disminuyen, mientras que las concentraciones de Ca y hasta cierto punto las de Magnesio (Mg), aumentan con la edad de la hoja. Los factores estacionales y de otro tipo que afectan a la concentración de nutrientes foliares deberían tenerse en cuenta en el momento de interpretar los datos del análisis foliar para objetivos de diagnóstico (Romero, 1995).

2.3. Nitrógeno (N)

2.3.1. Aspectos generales

El N es elemento clave en la nutrición mineral de las plantas. Como ningún otro nutriente es determinante en el vigor, producción y calidad del producto final. Por tal razón, el correcto manejo de la fertilización requiere del conocimiento de los ciclos internos de N en el suelo y en la planta, a estos temas se les dedica cierta profundidad por su importancia práctica. Afortunadamente en los últimos años se ha enfatizado mucho en comprender como las distintas especies utilizan el N y los resultados obtenidos permiten un manejo mucho más racional del fertilizante y del

sistema suelo-planta en su conjunto (Sánchez, 1999). El N es el nutrimento más esencial para un desarrollo óptimo del cultivo de algodón, teniendo en cuenta que el exceso puede ocasionar serios problemas de manejo y pérdidas en la producción. Bob *et al.* (2009) enfatizaron que la sobre fertilización produce plantas con gran crecimiento vegetativo, sin que esto se refleje en el rendimiento, además de que se incrementan las probabilidades de que se pierda el N del sistema suelo-planta. La dosis óptima de N está determinada por muchas variables ambientales, como clima, tipo de suelo, cultivar, fertilidad residual, humedad disponible y plagas (Boque y Breitenbeck 2000)

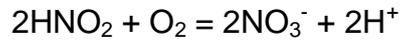
Las plantas con deficiencia de N pueden sufrir alteraciones severas en su crecimiento y rendimiento final (Sánchez *et al.*, 2006), por lo que dependen de un suministro adecuado del mismo para sintetizar aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos y otros constituyentes celulares necesarios para el desarrollo. En la biosfera el N está disponible para las plantas en diferentes formas, que incluyen el nitrógeno molecular (N_2), amoníaco (NH_3) volátil y el N mineral (NO_3^- y NH_4^+) y orgánico; en suelos agrícolas bien aireados el nitrato es la forma más abundante y disponible de N (Miller y Cramer, 2004). La asimilación de N por las plantas requiere la absorción de nitratos (NO_3^-), su reducción a nitritos (NO_2^-), la conversión de NO_2^- a NH_4^+ , y la incorporación de NH_4^+ a compuestos orgánicos (Stitt, 1999).

2.3.2. Nitrógeno en el suelo

Puede encontrarse en tres fracciones principales: a) Materia orgánica; b) Iones amonio (NH_4^+) fijados sobre los lugares de intercambio catiónico en los minerales de la arcilla; y c) Como iones amonio (NH_4^+) y nitrato (NO_3^-) en la solución del suelo. Las formas de nitrógeno de importancia en la nutrición de plantas son amonio (NH_4^+), nitrito (NO_2^-) y nitrato (NO_3^-). El nitrito es tóxico para las plantas a niveles muy bajos (< 5 ppm) y generalmente llega a ser un factor que afecta al proceso de nitrificación del suelo. El nitrógeno inorgánico presente en el suelo experimenta cambios en su estado de oxidación como resultado de la actividad metabólica de diversos grupos de bacterias. En suelos aireados se encuentra principalmente en su forma oxidada (NO_3^-), las plantas tienen la capacidad de reducir el NO_3^- a NH_4^+ e incorporar dicha molécula reducida a moléculas orgánicas a este proceso se le denomina absorción del NO_3^- . Otros grupos de bacterias (anaerobias-estrictas) que utilizan nitrato en lugar de oxígeno, como aceptores terminales de electrones en la oxidación de sustratos orgánicos, con lo que producen formas reducidas de nitrógeno. En estos casos el nitrógeno no tiene una finalidad asimiladora si no respiratoria (Azcón-Bieto y Talón, 2008). En el suelo según Miller y Cramer (2004) el nitrógeno puede ser:

- 1.- Transformado por mineralización que convierte el nitrógeno orgánico en inorgánico, seguido por nitrificación o conversión del amonio a nitrato. En este proceso, el amonio se oxida primeramente a NO_2^- el cual es posteriormente oxidado a NO_3^- , mediado por las bacterias nitrosomonas, mientras que las nitrobacter efectúan la oxidación del NO_2^- a NO_3^- . Estas dos

etapas de amonio NH_4^+ a NO_3^- tiene lugar de acuerdo a las siguientes reacciones:



La nitrificación está acompañada de liberación de hidrógeno (H^+) y esto da lugar a una acidificación en el suelo.

2.- Incorporado por fijación simbiótica que es la conversión del nitrógeno de la atmosfera en amonio en la que participan bacterias del género *Rhizobium* y *Bradyrhizobium* que pueden formar nódulos fijadores de N en las raíces de las leguminosas por medio de la enzima nitrogenasa, ésta puede alcanzar de 20 a 50 kg ha^{-1} al año (Azcón-Bieto y Talón, 2008).

3.- Perdido por desnitrificación o transformación del nitrato en nitrógeno en forma de gas en la que participan diferentes organismos anaeróbicos capaces de utilizar el NO_3^- o NO_2^- como una fuente de Oxígeno en lugar de O_2 molecular. Esto ocurre cuando el suelo se encuentra muy pantanoso y tiene lugar a descomposición anaeróbica. El nitrato se reduce en una serie de pasos a óxidos nitrosos y a N_2 , los cuales son después liberados hacia la atmosfera. La desnitrificación se ve fomentada por las condiciones de alta humedad en el suelo, la presencia de materia orgánica fresca y una tención baja de O_2 en el agua del suelo, aumento de temperatura, una alta relación Carbono/Nitrógeno y la presencia de altas concentraciones de sodio.

2.3.3. Absorción y transporte de nitrato (NO_3^-) y amonio (NH_4^+)

Los dos procesos biológicos por los que el nitrógeno inorgánico es convertido a nitrógeno orgánico son la fijación de nitrógeno molecular (N_2) y la asimilación del nitrato. La asimilación de nitratos consta de tres etapas. 1) Absorción; 2) Reducción de nitrato a amonio y 3) Incorporación del amonio a esqueletos carbonados para la síntesis de aminoácidos proceso que recibe el nombre de asimilación del amonio. Las plantas absorben N desde el suelo en sus formas inorgánicas: NO_3^- y NH_4^+ (Azcón-Bieto, 2000). La absorción del NO_3^- del medio por las plantas disminuye a bajas temperaturas, en la anaerobiosis y en presencia de inhibidores metabólicos. Lo que demuestra que es un transporte activo (Azcón-Bieto y Talón, 2008). La absorción de NO_3^- aumenta cuando el abastecimiento externo es alto llegando al exceso de las necesidades de la planta y se acumula internamente, este es un problema que se presenta en muchos cultivos (López-Cantorero *et al.*, 1997).

La mayoría de las plantas exhiben un sistema bifásico para la absorción del NO_3^- definido como de alta y baja afinidad a la absorción de este anión (Miller y Smith, 1996). La energía para la absorción proviene de la creación de un gradiente de concentración, por medio del funcionamiento de las ATPasas de membranas. Además la absorción de NO_3^- está asociada con la despolarización de la membrana plasmática es decir, con el aumento de las cargas positivas dentro de la célula (Crawford y Glass, 1998).

La absorción del NH_4^+ es más afectiva en un medio neutro y va disminuyendo a medida que se reduce el pH (Miller y Cramer 2004). La aceptación de amino está influenciada por el nivel de carbohidratos de las

plantas, puesto que se ha comprobado que a elevados niveles de estos compuestos se favorece su absorción, debido probablemente a que estos compuestos están energéticamente enriquecidos (Mengel y Kirkby, 2001). En oposición a lo que ocurre con los NO_3^- , la absorción de NH_4^+ no está influenciada por la disponibilidad de N en la planta no existiendo una relación directamente, proporcional, entre la concentración intracelular de NH_4^+ y su absorción. Sin embargo, y según varios autores los productos resultantes de la asimilación de NH_4^+ , como los aminoácidos, si podrían estar implicadas en la absorción, de forma similar a lo que ocurre con los NO_3^- (Wang *et al.*, 1993).

El transporte de elementos a través del xilema hacia la parte aérea está estrechamente relacionado con el transporte de agua. Este transporte ocurre cuando el movimiento del agua se produce con el proceso denominado “presión radical” que da lugar a la exudación, o excreción xilemática, cuando las plantas son decapitadas (Orsell *et al.*, 2002). Muchas especies muestran más de un tipo de transportes. Básicamente se han descrito dos: El sistema de transporte de alta afinidad (K_m para el nitrato entre 20 y 100 μM) se satura a concentraciones externas de nitrato inferiores a 1 μM y es inducible por el propio nitrato. Algunas especies poseen un segundo sistema de transporte de alta afinidad, a diferencia del anterior es constitutivo y muestra mayor afinidad por el nitrato ($k_m < 20 \mu\text{M}$) y menor V_{max} de transporte. De concentraciones externas de NO_3^- superiores a 1 mM, opera un sistema de transporte de baja afinidad. Este se distingue del de alta afinidad en que su cinética de transporte es lineal, y menos sensible a la temperatura y a inhibidores metabólicos, lo cual sugiere que está constituido

por canales iónicos (Azcón-Bieto y Talón, 2008). Estos mismos autores mencionan que el nitrato es transportado al interior de la célula mediante un simporte con protones de una estequiometria de $2\text{H}^+/\text{NO}_3^-$ (Figura 1) el gradiente potencial electroquímico de protones a través del plasmalema, necesario para sustentar el transporte activo del nitrato, es generado y mantenido por un H^+ -ATPasa que bombea protones hacia el exterior con la energía de hidrolisis del ATP.

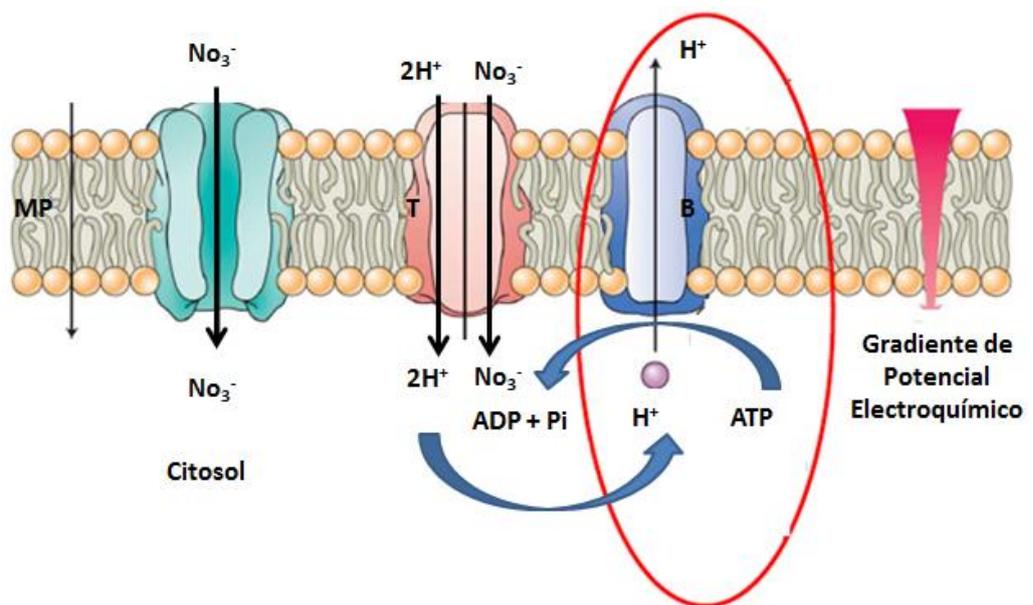


Figura 1. Mecanismo de transporte del nitrato a través del plasmalema. MP: Membrana Plasmática, T: Transportador, B: Bomba de protones. El gradiente de potencial electroquímico de protones requerido para el transporte activo es generado por el H^+ ATPasa que, con la energía de ATP bombea protones al exterior (Morot-Gaudry, 1997) con modificaciones de la autor.

El flujo de NH_4^+ depende en gran medida de las concentraciones de este catión en el medio externo. Dependiendo de las condiciones de saturación y de su afinidad por el NH_4^+ , existen dos sistemas de transporte que continuación se describen: a) Sistema de transporte de alta afinidad. En

el cual el componente de influjo depende de su saturación (Wang *et al.*, 1993). Este sistema es constitutivo y puede ser inducible, particularmente por su sustrato (Guo *et al.*, 2002 b) Sistema de transporte de baja afinidad, corresponde a un sistema de elevada capacidad pero de baja afinidad al sustrato. Este mecanismo es constitutivo y no es saturable a elevadas concentraciones del medio (más de 40 mM de NH_4^+) (Chaillou y Lameze, 2001).

2.3.4. Reducción del nitrato (NO_3^-) y asimilación del amonio (NH_4^+)

Una vez que el NO_3^- ha entrado a la célula son asimilados en el tejido vegetal por medio de una serie de etapas, en las cuales están implicadas distintas enzimas. Por ejemplo, la reducción del nitrato a amonio tiene lugar mediante dos reacciones catalizadas por las enzimas Nitrato Reductasa (NR; EC 1.6.6.1) y Nitrito Reductasa (NiR; EC 1.6.6.4); en la primera reacción el nitrato es reducido a nitrito por la NR. Dicha reacción requiere dos electrones suministrados por una molécula de piridín-nucleótido. A continuación el nitrito es reducido a amonio por a NiR, reacción que requiere seis electrones donados por la ferredoxina reducida. El poder requerido se genera en las reacciones lumínicas de la fotosíntesis o en la glucólisis y respiración (Azcón-Bieto y Talón, 2008).

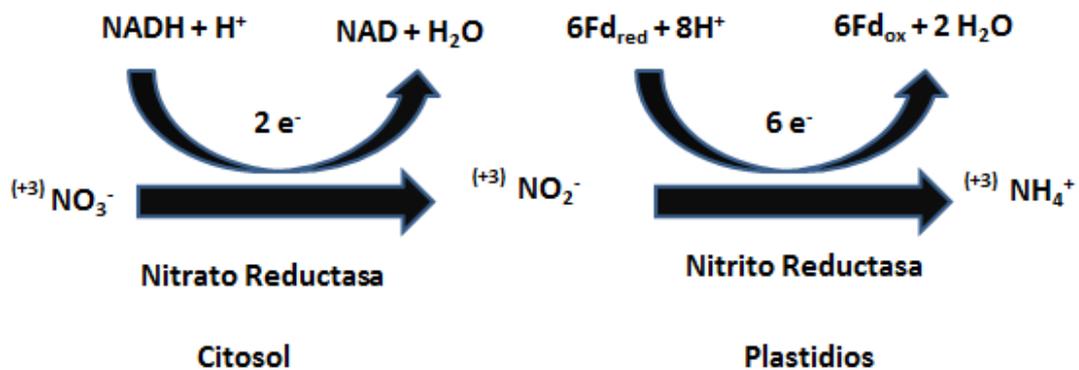


Figura 2. Reducción del nitrato NO_3^- a amonio NH_4^+ catalizado por la Nitrato reductasa (NR) y la Nitrito reductasa (NiR). El poder requerido se genera en las reacciones lumínicas de la fotosíntesis o en la glucólisis y respiración (Azcón-Bieto y Talón, 2008).

2.3.4.1. Actividad Enzimática Nitrato Reductasa (NR)

El análisis de la concentración de nutrientes en tejidos vegetales es una técnica de uso muy generalizado como medio para evaluar el estado nutricional de las plantas. Sin embargo, en algunos casos, diferencias de producción atribuibles a fertilización nitrogenada no aparecen reflejadas en la concentración de Nitrógeno total foliar (Romero 1995). La actividad de la NR *in vivo* es la mejor estimación de las tasas de asimilación de NO_3^- y proporciona una razonable estimación de la cantidad de reserva metabólica de NO_3^- , se ha sugerido además como una herramienta en los sistemas de monitoreo que determinan los cambios en la concentración de N en las hojas, cuando se añaden NO_3^- al medio de ensayo (NR), se determina la máxima capacidad de asimilación de NO_3^- bajo condiciones no limitantes (Islam *et al.*, 2001); así a mismo, se puede evaluar la necesidad del cofactor Mo, el cual puede estar limitando la actividad de la enzima. La NR se localiza en el citosol, aunque en algunas especies se ha descrito que parte de la enzima también se puede encontrar débilmente unida a plasmalema o a la membrana externa del cloroplasto.

La NR es un homodimero con una masa molecular de 200-230 KDa. Cada una de las dos subunidades (100-115 kDa) contiene FAD, hemo (citocromo b_{557}) y un cofactor de molibdeno (MoCo) como grupos prostéticos redox. El MoCo es un complejo entre un átomo de molibdeno y una pterina

fosforilada. La secuencia de análisis de la NR, y su comparación con las secuencias conocidas de otras proteínas, han permitido identificar en la molécula tres fragmentos funcionales de 28 KDa, 14 KDa y 75 KDa que se corresponden con los dominios del FAD hemo y MoCo respectivamente. Los tres dominios están unidos entre sí, por regiones bisagras hidrófilas que son muy susceptibles al ataque de la proteasas. Los electrones suministrados por el NADH son transportados, a través de los grupos FAD, hemo y MoCo, hasta el nitrato que, como resultado, es reducido a nitrito (Azcón-Bieto y Talón 2008). La acción de la enzima consiste en reducir los nitratos (NO_3^-) a nitritos (NO_2^-). El NO_3^- es la forma predominante en que el N es absorbido y transportado hacia las hojas, en la mayoría de las especies cultivadas. Los tejidos verdes de la planta poseen mucha más actividad NiR probablemente con el fin de asegurar que todo el nitrato producido por NR sea reducido evitando así su acumulación y los consiguientes efectos tóxicos. Los factores que influyen en la regulación de las enzimas responsables de la asimilación del N son: Etapa fenológica de la planta (Ireland y Lea, 1999); relación luz/obscuridad (Migge *et al.*, 1996); concentración de sacarosa (Lam *et al.*, 1996; Sánchez *et al.*, 2005); fuente nitrogenada: NO_3^- y NH_4^+ (Ruiz y Romero, 1999); nivel de CO_2 (Edwards y Coruzzi, 1989); temperatura (Woodall *et al.*, 1996); nutrientes (López-Lefebvre *et al.*, 2000; Ruiz y Romero, 2002); reguladores del crecimiento (Ruiz *et al.*, 2000); productos de la asimilación de N (Padgett y Leonard, 1996); y variabilidad genética (Ruiz y Romero, 1998).

La asimilación de nitrógeno por las plantas requiere la toma de NO_3^- , la reducción a NO_2^- , la conversión de NO_2^- a NH_4^+ y la incorporación de NH_4^+

en compuestos orgánicos (Sánchez *et al.*, 2006). La asimilación del Nitrógeno depende del rendimiento fotosintético, el cloroplasto es el lugar de síntesis de una buena parte de proteínas totales de la planta y por lo tanto requiere una gran cantidad de compuestos nitrogenados reducidos (Le Bot *et al.*, 1994). Una vez que se encuentra el NH_4^+ dentro de la célula, bien procedente del medio u originado por la reducción de NO_3^- , este es asimilado en varios pasos en los cuales participan distintas enzimas que a continuación pasamos a describir.

2.3.4.2. Glutamina sintetasa (GS)

Es una enzima clave en la asimilación de NH_4^+ en plantas (Leat *et al.*, 1990; Brechlin *et al.*, 2000; Miflin y Habash, 2002; Stitt *et al.*, 2002; Weber y Flugge, 2002). En plantas superiores la GS es una proteína de ocho subunidades con un peso molecular aproximado de 350-400 kDa (Woodall y Forde, 1996). En hojas se han identificado dos isoformas de enzima, la GS1 y la GS2, localizadas en el citoplasma y en el cloroplasto respectivamente, la proporción puede variar en respuesta a distintas condiciones ambientales o la edad de la planta. Esta distribución de las isoformas de la enzima GS en las células foliares va en correlación con la estrategia fotosintética o fotorespiratoria que adopte en cada caso la planta. Entre los factores que pueden modificar la actividad de la GS2 está la luz, provocando un aumento considerable de los niveles de ARN mensajero y proteínas, implicados en este mecanismo de regulación a un fitocromo o a un receptor de luz (Woodall *et al.*, 1996)

2.3.4.3. Glutamato sintetasa (GOGAT)

Es una enzima clave en las primeras etapas de la asimilación de amonio en bacterias, algas y plantas superiores (Weber y Flugge, 2002). Las reacciones juntas de la GS y la GOGAT se conocen como ciclo GS/GOGAT. Las dos moléculas de glutamato sintetizadas por la actividad GOGAT pueden ser usados como sustratos de la GS o pueden, a partir de su grupo amino, formar otra serie de derivados nitrogenados (Hodges, 2002).

En plantas superiores, la GOGAT aparece bajo dos isoformas distintas en función de la fuente reductora que utilicen: la Ferredoxina-GOGAT (fd-GOGAT; EC1.2.4.7.1) y la NADH-GOGAT (EC 1.4.1.14). Las cuales difieren en un peso molecular, en su composición, en su cinética enzimática y en sus funciones metabólicas (Suárez *et al.*, 2002). En combinación con la GS de los plastidios, la Fd-GOGAT cataliza la asimilación del NH_4^+ originada por la reducción de NO_3^- dependiente de la luz y de la foto respiración (Lea *et al.*, 1990).

2.3.4.4. Glutamato deshidrogenasa (GDH)

El papel de la GDH en la asimilación del NH_4^+ es todavía hoy motivo de discusión (Miflin y Habash, 2002). La GDH se cataliza principalmente en las mitocondrias de todos los tejidos estudiados. El número de subunidades por la que está compuesta varía entre 4 y 6, el peso molecular varía entre 230 y 300 kDa dependiendo de la especie vegetal. Se han encontrado hasta tres isoformas de la enzima GDH₁, GDH₂, GDH₃, esta última localizada en los hipocótilos y raíces de soja (Turano *et al.*, 1996).

Actualmente existen distintos puntos de vista opuestos sobre la función de la GDH. En primer lugar Oaks (1994) sugiere que la enzima cataliza la asimilación reductiva de 2-oxoglutarato y funciona como una alternativa para el ciclo de la glutamato sintasa (GOGAT) (Yamaya *et al.*, 1984). La segunda alternativa presentada por (Robinson *et al.*, 1992) es que la enzima cataliza la denominación oxidativa del glutamato para proveer esqueletos carbónicos al ácido cítrico, particularmente bajo condiciones de limitación de carbono.

2.3.4.5. Fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEPC)

La enzima PEPC (EC 4.1.1.31) es esencial en el suministro de la estructura carbonada, derivada de los ciclos de los ácidos tricarbónicos, que es utilizada en la síntesis de glutamato y aspartato y de sus amidas. Es por lo tanto, una pieza clave en la conjunción entre el metabolismo carbonado y metabolismo nitrogenado. La enzima PEPC cataliza la β -carboxilación del fosfoenolpiruvato (PEP) en presencia de HCO_3^- y Mg^{2+} , para producir oxaloacetato (OAA) y P_i . Esta enzima ha sido muy estudiada en plantas C_4 y CAM en las que juega un papel especial en el metabolismo fotosintético del carbono, En plantas C_3 los niveles de PEPC son menores y la enzima se encuentra distribuida en prácticamente todos los órganos de la planta llevando a cabo diferentes funciones. En cuanto a su regulación de NO_3^- o NH_4^+ activan la transcripción del gen PEPC en hojas de trigo. Estos datos muestran la contribución de la PEPC en la asimilación del N (Champion y Foyer, 1992).

Los niveles de la proteína PEPC en raíces aumentan por la adición de NH_4^+ , sin embargo no hay un efecto real en los tejidos radiculares cuando los NO_3^- , la asparagina o la glutamina son incluidos en el medio. En cuanto a la actividad foliar de esta enzima no está influenciada por la adición de NO_3^- o NH_4^+ (Oaks, 1994).

2.3.5. Actividad enzimática de la ureasa

En las plantas la ureasa (EC 3.5.1.5) es la única enzima capaz de capturar N de la urea (Polacco y Holland, 1993), juega un papel importante en la germinación y en el metabolismo nitrogenado de las plantas. Puede funcionar de manera coordinada con la arginasa en la utilización de reservas de proteínas de la semilla durante la germinación. La ureasa se encuentra en todos los tejidos de la planta responsable de reciclar la urea derivada metabólicamente y es la única metaloenzima identificada que contiene Níquel (Ni) en las plantas (Polacco y Holland, 1994), dos iones de Ni en su sitio activo (Ciurli, 2001). Las evidencias indican que las especies transportadoras de ureidos, como el nogal, poseen un mayor requerimiento de Ni en las especies transportadoras de amidas (Wood, 2006).

La ureasa cataliza la hidrólisis de urea ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) reacción que divide la molécula en amoníaco (NH_3) y bióxido de carbono (CO_2). La reacción de la enzima ureasa es esencial para que el N de la urea esté disponible y sea accesible a las plantas, el producto es incorporado en compuestos orgánicos, principalmente por la glutamina sintetasa (Gerendás y Sattelmacher 1999). La función principal de las ureasas es permitir usar la

urea generada de manera interna o externa como una fuente de N (Mobley *et al.*, 1995), lo que a su vez ayuda al crecimiento y desarrollo de las plantas.

La actividad de la ureasa se ha detectado en muchas plantas (Witte y Medina-Escobar, 2001). Se sabe que es inducida por la urea en el arroz (*Oryza sativa*), frijol (*Canavalia ensiformis*) y la cebada (*Hordeum vulgare*), donde además se observó la formación de diferentes isoformas de ureasa (Chen y Ching, 1988). Importantes cantidades de N de la planta fluyen a través de la urea. Este compuesto deriva de la arginina (Figura 3) y posiblemente de la degradación de purinas y ureidos (Polacco y Holland, 1994).

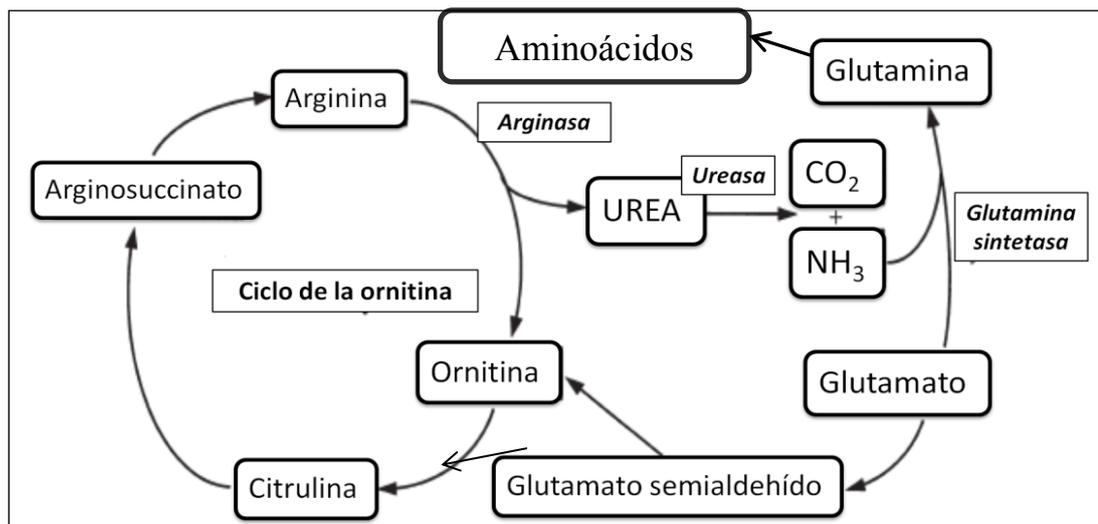


Figura 3. Ciclo de la urea modificado (Gerendás *et al.*, 1998)

El amonio liberado por desaminación oxidativa del glutamato es incorporado a una molécula de CO₂ con gasto de ATP, reacción que produce el carbamil fosfato. Esta molécula se condensa con la ornitina y rinde citrulina, dando origen a una ruta conocida como ciclo de la urea, que incluye también la síntesis de la arginina (Figura 3). De esta forma, el

amonio liberado por desaminación oxidativa del glutamato ahora se encuentra en la citrulina. La citrulina obtiene del aspartato el grupo amino y rinde succinil-arginina con gasto de 2 ATP. La conversión de succinil-arginina en arginina se logra por la liberación de un fumarato, que puede ingresar al Ciclo de Krebs. La arginina es la principal fuente de almacenamiento nitrogenado en plantas y constituye el 40% del nitrógeno en proteínas de semillas. La enzima arginasa permite que el ciclo se cierre con la liberación de urea. La urea tiene distintos destinos, en plantas es una molécula de reserva y movilización de nitrógeno. Las plantas y los microorganismos poseen la enzima ureasa que hidroliza la urea en amonio y CO_2 . El NH_4^+ liberado es reasimilado por el ciclo GS/GOGAT (Gerendás *et al.*, 1998). El Níquel (Ni) es un micronutriente esencial para algunas plantas superiores (Brown *et al.*, 1987). Dada su relación con la enzima ureasa como catalizador o inhibidor y constituyente de esta, el Ni también puede reemplazar al Zinc (Zn) o Hierro (Fe) y otros iones metálicos en otras metaloenzimas de plantas inferiores (Mulrooney y Hausinger, 2003). Algunos investigadores demostraron que el crecimiento de la planta se ve afectado por la deficiencia de Ni cuando la urea es la única fuente de nitrógeno (Gerendas y Sattelmacher, 1999). La urea es un fertilizante muy utilizado debido a su bajo costo, facilidad de manejo y alto contenido de N (Molbley y Hausinger, 1998). La urea puede ser suministrada a las plantas a través del follaje, lo que facilita el manejo óptimo del N y minimiza las pérdidas al ambiente sin afectar el rendimiento (Haverkort y MacKerron, 2000). El efecto observado del Ni sobre el metabolismo del N es una evidencia de que la nutrición con Ni es más importante para el manejo del N y para el transporte

de los ureidos en los cultivos (Bai *et al.*, 2006). Este elemento es requerido para el metabolismo de las plantas en cantidades menores de 0.001 mg Kg^{-1} de peso seco (Mahler, 2003). La importancia del níquel para la actividad ureasa fue demostrada con la observación en las plantas de arroz (*Oriza sativa*) desarrolladas con urea, privadas de Ni, dichas plantas acumularon urea y exhibieron necrosis en las puntas de las hojas, aparentemente debido a un “quemado” por urea (Polacco y Holland, 1993). Se ha demostrado que el Ni estimula el crecimiento de las plantas y es un cofactor de la ureasa e hidrogenasa (Maeir *et al.*, 1990). Por otro lado, una deficiencia de Ni, a la fecha, solo han sido reportados para unas pocas especies anuales. Por ejemplo, en cebada (*Hordeum Vulgare*) exhiben interrupción de los aminoácidos, malatos, varios aminoácidos inorgánicos (Brown *et al.*, 1990), en leñosas perennes (oreja de ratón) u hoja pequeña, trastorno al replante a los huertos (Wood *et al.*, 2004a; Ruter, 2005), interrumpe el metabolismo del N y del Ca (Bai *et al.*, 2006), provoca una acumulación de la urea en el follaje de la soya (*Glycine max*) (Walker *et al.*, 1985), una reducción de la actividad de la ureasa e induce una deficiencia del metabolismo nitrogenado afectando aminoácidos, amidas y los intermediarios del ciclo de la urea en especies como: Centeno (*Secale cereale*), trigo (*Triticum aestivum*), soya (*Glycine max*), mostaza (*Brassica nigra*), calabacita (*Cucurbita pepo*), y girasol (*Helianthus annuus*) (Gerendás y Sattelmacher, 1997).

2.3.6. Nitrógeno en el cultivo de algodón

Las plantas son capaces de utilizar varias formas de Nitrógeno (N), de las cuales las más importantes son el nitrato (NO_3^-) y el amonio (NH_4^+). La

urea es también una fuente de N proporcionada de fertilizantes o del pastoreo de ganado y aunque la mayoría de esta es hidrolizada en el suelo, la aplicación de urea directa al follaje es una buena opción, debido a la tolerancia de las plantas a esta forma iónica de N. Las plantas superiores transportan N orgánico ya sea como amida, amonio o ureido (Schubert y Boland, 1990). La planta de algodón contiene más N que cualquier otro nutriente mineral y promueve especialmente el crecimiento vegetativo (longitud del tallo principal, área del corte transversal del tallo, peso de materia seca, índice de área foliar, etc.), por lo tanto, el número de posiciones axilares en las ramas vegetativas se incrementa. De esta forma aumenta la floración debido al incremento de lugares para la formación de flores. De hecho, la adición de N a suelos con deficiencia incrementa el número total de flores y capullos, además el N incrementa la producción total al aumentar el tamaño del capullo. Esto se debe a un incremento en el peso individual de la semilla con la consecuente reducción en el porcentaje de la fibra (Rochester, 2007). El agricultor no está interesado demasiado en el crecimiento vegetativo, que puede deberse a una alta dosis de N, porque no existe un balance entre el crecimiento vegetativo y reproductivo. El excesivo crecimiento vegetativo reduce la penetración de la luz en las partes interiores y bajas de la planta reduciendo la capacidad fotosintética, por otro lado la cobertura de plantas altas y densas produce acumulación de humedad que facilita la pudrición del capullo y crea buenas condiciones para el desarrollo de insectos evitando la penetración de insecticidas y fungicidas. Boquet *et al.*, (1991) enfatizaron que la sobre fertilización produce plantas con gran crecimiento vegetativo, sin que esto se refleje en el rendimiento, además de

que se incrementan las posibilidades de que se pierda N en el sistema suelo-planta. En lugares donde se realiza la cosecha manual las plantas altas causan dificultades al recolectar la fibra, también el exceso de N incrementa la cantidad de hojas del cultivo y causa dificultades en la defoliación para la cosecha con maquinaria. El efecto del N en la calidad de la fibra no es muy grande (Sabino *et al.*, 1984), estos mismos autores registraron incrementos relativamente pequeños en el tamaño de la fibra con la aplicación de tasas crecientes de N. La aplicación de N puede reducir el micronaire de la fibra al incrementar el número de capullos que son cosechados antes de alcanzar el promedio máximo de desarrollo. Palomo *et al.*, (2002) mencionaron que dosis altas suelen incrementar ligeramente la longitud de fibra. La resistencia de la fibra aumenta a medida que se incrementó la cantidad de N aplicado (Palomo y Chávez, 1997). La tasa de absorción de N es muy baja desde la germinación hasta el inicio de floración, después de ese punto se incrementa muy rápidamente y alcanza el máximo cuando los capullos se llenan. Una forma práctica de estimar aproximadamente la absorción de N en algodón irrigado es multiplicando la producción de semilla por 0.035 % (el contenido porcentual aproximado de N en la semilla es de 3.5 %) y después multiplicarlo por 2.5 (la cantidad de N en el algodón en rama es casi 40 % de la encontrada en toda la planta) (Fritschi *et al.*, 2003). La deficiencia de N en algodón se caracteriza por tener hojas pálidas de color verde amarillento y de tamaño considerablemente reducido. Si el cultivo es deficiente desde la emergencia, todas las hojas son amarillas y pequeñas y habrá pocas ramas en floración y fructificación las cuales serán también pequeñas. Cuando la deficiencia se desarrolla durante

el ciclo, las hojas más viejas se tornan amarillas primero y envejecen prematuramente a medida que el N se transporta de las hojas viejas hacia las nuevas (Hutmacher *et al.*, 2004). El nitrógeno es necesario para todas las etapas de crecimiento de las plantas y desarrollo, ya que es el elemento esencial en la estructura (membranas celulares, aminoácidos, enzimas, proteínas, ácidos nucleicos y clorofila). Otros síntomas de deficiencia de N son retraso de crecimiento, clorosis, menor número de bellotas y más pequeñas. Durante la etapa vegetativa de crecimiento, la rápida expansión de las hojas requiere grandes cantidades de N, la producción de bellotas depende de la actividad fotosintética (Bob *et al.*, 2009). El crecimiento y el rendimiento de algodón, al igual que la mayoría de las especies cultivadas, muestran alta dependencia por la disponibilidad de N y agua durante el ciclo de cultivo (Palomo *et al.*, 2002). Recientes ensayos en algodón conducidos en surcos estrechos demuestran que los algodones no fertilizados producen menor rendimiento que los fertilizados con nitrógeno (Mondino y Peterlin, 2003; Modino *et al.*, 2005). La dosis óptima de nitrógeno está determinada por muchas variables, clima, tipo de suelo, cultivar, fertilidad residual, humedad disponible, plagas, etc. (Gaylor *et al.*, 1983). Tanto las deficiencias como los excesos de nitrógeno afectan negativamente el rendimiento de algodón. La mayoría de las investigaciones sitúa la dosis óptima entre 35 y 135 kg N ha⁻¹ (Boman *et al.*, 1995). Palomo *et al.*, (1996, 1999) encontraron resultados que coinciden con los reportados por (Maples y Frizzell, 1985), quienes señalaron que de 60 a 100 Kg ha⁻¹ de N son suficientes para obtener un alto rendimiento de algodón. La dosis óptima de fertilización nitrogenada depende de las condiciones ambientales prevalecientes durante

el ciclo de cultivo; así, en años de alta precipitación pluvial se requieren dosis más altas de nitrógeno, ya que gran parte del fertilizante aplicado se pierde por desnitrificación y lixiviación (Matocha *et al.*, 1992). Bronson y Bordovsky (2003); Harrison *et al.*, (2004) trabajando en surcos distanciados a 0,76 m con dos fuentes de N (urea y UAN), no encontraron diferencias en la producción de biomasa, rendimiento y porcentaje de fibra. (McConnell y Kirst 2000) reportaron que en surcos ultra-estrechos tanto el rendimiento como sus componentes, número y peso de capullo son mayores cuando se aplica fertilizante nitrogenado, pero indican que no encuentran diferencias de respuesta cuando emplean dos fuentes de nitrógeno.

Cuadro 1. Rango de suficiencia de los Macronutrientes y Micronutrientes (inicios de floración de algodón) (Mills y Jones, 1991).

Rango de Suficiencia en Inicio de Floración			
Macronutrientes		Micronutrientes	
Elemento	%	Elemento	ppm
N	3.5 -- 4.5	Fe	50 -- 250
P	0.3 -- 0.5	Mn	25 -- 350
K	1.5 -- 3	B	20 -- 60
Ca	2 -- 3	Cu	5 --25
Mg	0.3 -- 0.9	Zn	20 -- 200
S	0.25 -- 0.80	Mo	No reportado
Elementos no esenciales ppm: "Na", "Al" (No reportado)			

Nombre común: *Gossypium hirsutum*, Nombre Común: Algodón.
 Recolectadas: Campos de producción. Partes de la planta: 25 tallos vegetativos.

Cuadro 2. Rango de suficiencia de los Macronutrientes y Micronutrientes (Plena floración de algodón) (Mills y Jones, 1991).

Rango de Suficiencia en Plena de Floración			
Macronutrientes		Micronutrientes	
Elemento	%	Elemento	ppm
N	3 -- 4.30	Fe	40 -- 300
P	0.25 -- 0.45	Mn	30 -- 300
K	0.9 -- 2	B	20 -- 60
Ca	2.20 -- 3.50	Cu	5 -- 25
Mg	0.30 -- 0.80	Zn	20 --100
S	No dato	Mo	No reportado

Elementos no esenciales ppm: "Na", "Al" (No reportado)

Nombre común: *Gossypium hirsutum*, Nombre Común: Algodón.
 Recolectadas: Campos de producción. Partes de la planta: 25 tallos vegetativos.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Área geográfica donde se estableció el experimento

La presente investigación se realizó durante el año agrícola 2011, en el Campo Experimental de la UAAAN, en Torreón Coahuila, México. Municipio que se encuentra en la Comarca Lagunera, ubicada geográficamente entre 24° 30' y 27° LN y entre 102° y 105° LO, a 1120 msnm. El clima es seco, la temperatura media mensual durante el ciclo del cultivo (abril a agosto) es de 25° C, con precipitación media anual de 220 mm (Palomo *et al.*, 2004). El suelo del área experimental es medianamente alcalino, pH (8.06), no salino ni sódico. Su nivel de nitratos (N) es bajo (14.5 ppm), de Fósforo es medio (18.9 ppm). Con un nivel de Potasio alto (193 ppm). El porcentaje de carbonatos totales es medio (14.5 %). Cantidad de materia orgánica pobre (1.56 %). Tiene un alto nivel de Manganeso (3.15 ppm), medio en Zinc (0.91) y cobre (0.71) ppm respectivamente, bajo en hierro (2.20 ppm). Su textura es Migajón Arenoso con 62 % arena, 28 % limo y 10 % arcilla total, capacidad de intercambio catiónico de 23 meq/100 gr y densidad aparente de 1.31.

3.1.1. Diseño experimental

Se estudiaron tres distanciamientos entre surcos; de 75 (testigo), 50 y 35 cm (surcos ultra estrechos) y cuatro dosis de N (0, 50, 100 y 150 kg ha⁻¹). Los tratamientos se distribuyeron en un diseño de bloques al azar con arreglo de parcelas divididas. Localizándose los distanciamientos entre surcos en la parcela grande y, las dosis de N con tres repeticiones en la

parcela menor. La parcela chica consistió de 8 surcos de 5 m de largo y la útil, para tomar datos de rendimiento, muestras de hojas y biomasa fueron 6 surcos de 4 m de longitud para disminuir el efecto orilla.

3.2. Variedad de semilla

La variedad de algodón utilizada fue Fibermax 989. Se considera una variedad de ciclo intermedio-tardío, convencional no resistente a glifosato ni a daño por lepidópteros, posee semilla grande de alta capacidad de germinación bajo condiciones de baja temperatura. La planta es muy vigorosa con ramas fructíferas cortas. Su calidad de fibra es excelente y altamente solicitada por la industria textil.

3.3. Labores de cultivo

En el experimento se realizaron labores convencionales de acuerdo a la Región Lagunera, permitiendo así el desarrollo óptimo del cultivo que inicia desde la germinación de la semilla hasta la cosecha del producto final.

3.3.1. Preparación del terreno

Se realizó previo a la siembra con el fin de propiciar las condiciones favorables para el sostén y buen desarrollo del cultivo.

3.3.1.1. Barbecho

Se realizó con un arado de discos, con el objetivo de remover el suelo a una profundidad de 30 cm, logrando así la incorporación de residuos de cosechas y al mismo tiempo la destrucción por medio de la exposición a la

intemperie de plagas y malezas presentes en el suelo que pudieran causar un daño directo o indirecto al cultivo.

3.3.1.2. Rastreo

Esta labor se efectuó con el arado de rastreo compuesto por dos hileras de discos, con el fin de desintegrar las congregaciones de tierra (terrones) que quedan después del barbecho y al mismo tiempo hacer más pequeños los tallos, tanto de malezas como de las plantas que se cultivaron en el ciclo anterior.

3.3.1.3. Nivelación

Esta actividad se hizo con el implemento de nivelación de tierras (escrepa), con el fin de uniformizar la superficie del suelo para lograr la distribución adecuada del agua de riego.

3.3.1.4. Surcado

Los surcos se trazaron con un arado de cinceles suspendidos en una barra de soporte, a distancias de 35, 50 y 75 cm de ancho respectivamente.

3.4. Siembra

La siembra se hizo de forma manual el 16 de abril de 2011 a una profundidad de 3 cm aproximadamente.

Con el fin de uniformizar la población aproximada de 1 10,000.00 mil plantas por hectárea ($p\ ha^{-1}$). Se realizó el desahije a los 35 días después de

la siembra (DDS),dejando a una distancia entre plantas de 12, 20, 28 cm en surcos de 75, 50 y 35 cm, respectivamente.

3.5. Riego

El sistema de riego empleado fue el de gravedad (riego rodado) y se realizó mediante tubería con multicompuertas, se hicieron cuatro riegos, uno de presiembra y tres de auxilio con una lámina aproximada de 65 cm en el ciclo de cultivo, (Cuadro 3).

Cuadro 3. Calendario de riegos de acuerdo a la etapa fenológica del cultivo.

Riegos	DDS	Lamina de Riego (cm)
Riego de presiembra		20
1° Riego de auxilio	57	15
2° Riego de auxilio	74	15
3° Riego de auxilio	94	15

DDS= Días después de la siembra.

3.6. Fertilización

Con la finalidad de blanquear el terreno y minimizar la influencia de los residuos minerales en el cultivo de algodón, en el ciclo otoño-invierno anterior al establecimiento del mismo se sembró avena para extraer los nutrimentos minerales en lo mayor posible.

En la fertilización del cultivo, se distribuyeron aleatoriamente los tratamientos de N, 0 (testigo), 50, 100 y 150 kg de N ha⁻¹. El fertilizante utilizado fue Urea (CO (NH₂)₂) como fuente de nitrógeno (N). En todos los

tratamientos se aplicaron 50 kg de Fosfato Monoamónico ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$) MAP como fuente de fósforo. La fertilización se llevó a cabo aplicando el 100 % de N y P en la siembra.

3.7. Control de plagas y malezas

- El control de plagas durante el ciclo de crecimiento del cultivo se realizó mediante la aplicación de insecticida, efectuándose de la siguiente manera. Para el control del gusano soldado (*Spodoptera exigua*) se aplicó CLORVER[®] 480 CE (Clorpirifós etil) con dosis de 1 L ha⁻¹. La aplicación de producto se realizaron mediante una fumigadora manual de mochila marca GIBER[®] GM-20 con capacidad para 20 L.
- El control de malezas se realizó de manera manual con la ayuda de palas y azadones.

3.8. Cosecha

Una vez que el cultivo se encontraba en madurez fisiológica total, se evaluó el rendimiento de algodón en hueso y en pluma. Para obtener los valores de componentes de rendimiento, se tomó una muestra aleatoria de 20 capullos por parcela y se pesó. Se determinó el peso por capullo (peso de la muestra entre el número de capullos). Posteriormente, se separó la fibra de la semilla y se cuantificó el porcentaje de fibra e índice de semilla (peso de 100 semillas). La producción de biomasa foliar se determinó a los 77, 99 y 146 DDS, esta última reflejo la biomasa total foliar en g m⁻².

3.9. Metodología del muestreo de hojas

Las muestras de hojas se recolectaron en las etapas donde el algodón presenta su mayor demanda de nutrimentos especialmente de N; se muestreo la quinta hoja a partir del brote principal, hojas que se encontraba fotosintéticamente activas, completamente desarrolladas pero no en estado de senescencia (Salgado *et al.*, 2006). El primer muestreo se realizó a los 74 DDS en la etapa fenológica de inicio de floración, el siguiente muestreo se hizo a los 94 DDS en la etapa de plena floración e inicio de amarre de bellotas y, un tercer muestreo a los 136 DDS que coincidió con la apertura de capullos. Las hojas fueron transportadas en hielo al Laboratorio de Fisiología y Nutrición Vegetal del Centro de Investigación Alimentación y Desarrollo A.C., Unidad Delicias, Chihuahua. Donde primeramente se lavaron dos veces con agua de la llave y posteriormente una vez con agua destilada desionizada. Se tomó el material vegetativo necesario para el análisis de los indicadores bioquímicos y el resto se puso a secar a temperatura ambiente en la sombra, posteriormente se pasaron a la estufa para eliminar la humedad a una temperatura de 60°C durante 24 horas, se molieron en un molino Willey con cámara de acero inoxidable malla número 20 y se prepararon para la determinación del contenido nutricional.

3.10. Indicadores bioquímicos

3.10.1. Ensayo de la enzima nitrato reductasa “*in vivo*”

El procedimiento utilizado es una adaptación de los métodos propuestos por Joworski (1971) y Mauriño (1986). El ensayo se puede llevar a cabo tanto en el limbo foliar como en la raíz de la planta en cuestión.

Para la cuantificación de la actividad NR “*in vivo*” se pesaron 0.15 g de taleolas de hojas con un diámetro de 7 mm. Los discos foliares se introdujeron en 10 mL de medio infiltración, que fue distinto dependiendo de la actividad NR determinada:

- En el caso de la actividad NR endógena se pusieron 10 mL del Buffer de fosfato potásico 100 mM pH 7.5 + 1 % de propanol,
- Actividad NR inducida con NO_3^- se pusieron 10 mL Buffer de fosfato potásico 100 mL pH 7.5 que contiene nitrato potásico 50 mM + 1 % de propanol.
- Actividad NR inducida con Molibdato se aplicaron 10 mL del Buffer de fosfato potásico 100 mM pH 7.5 que contiene molibdato sódico dihidrato 50 mM más 1 % de propanol.
- Actividad NR inducida con Molibdato y NO_3^- se pusieron 10 mL de Buffer de fosfato potásico 100 mM pH 7.5 que contiene nitrato potásico 50 mM y Molibdato sódico dihidrato más 1 % de propanol.

En seguida las muestras se sometieron a un proceso de vacío (aproximadamente 8 bar) durante 10 minutos en la oscuridad. Posteriormente, las muestras se incubaron a 30 °C en la oscuridad durante 60 minutos. Tras ese tiempo los tubos se introdujeron en baño de agua caliente a 100 °C durante 15 minutos.

Para la determinación de la actividad NR “*in vivo*” se tomó: 1 mL de la alícuota (Muestra), 2 mL de sulfanilamida al 1 % disuelta en HCl 1.5 normal, (1 g de sulfanilamida más 20 mL de HCl al 35 %, todo ello disuelto en 100 mL de agua), 2 mL de NNEDA (N-1- naftil- etilendiamida) al 0 .02%, disuelta en HCl 0.2 normal (20 mg de NNEDA disueltos en 100 mL de HCl en este caso “agua”). Pasando 20 minutos, se procedió a la lectura de la absorbancia en el espectrofotómetro JENWAY UV/Vis, Spectrophotometer a una longitud de onda de 540 nanómetros (nm), frente a una curva patrón de NO_2^- entre 0.25 - 2 $\mu\text{g mL}^{-1}$, siguiendo el método propuesto por Hageman y Hcklesby (1971). La actividad nitrato reductasa “*in vivo*” se expresa en: μmol de NO_2^- formados por g^{-1} p. f. h^{-1} (micro moles de nitritos formados por gramos de peso fresco en una hora) y se calculó de la siguiente manera.

$$\text{ANR} = (\text{Lect.}) * (\text{Cotg}) * (V_f / V_{\text{alc}}) * (V_{\text{inf}})^* (1 / \text{peso}) * (1 / 46) * (t)$$

- Lect: Lectura a 540 nm.
- Cotg: Cotangente media del patrón NO_2^- .
- V_f : Volumen Final o Buffer mL de KH_2PO_4 (O + KNO_3^- , O + $\text{Na}_2 \text{MO}_4$ 2 H_2O).
- V_{alc} : Volumen de la alícuota, mL del extracto.
- 46: Corresponde a 1 mol de NO_2^- .
- t: Actividad en 1 hora.

3.10.2. Ensayo de la enzima ureasa “*in vivo*”

Para la cuantificación de la actividad enzimática ureasa se prepararon 0.5 g de material fresco (taleolas de 3 mm de diámetro), las cuales se pusieron en tubos de ensayo se agregaron 5 mL de KH_2PO_4 100 mM a un pH 7.5 en presencia de propanol al 5 % con urea al 0.2 M y sin urea. Se sometieron al vacío durante 5 minutos (min) a 30 mm de Hg. Posteriormente se incubó en una estufa, durante 30 min a 30 °C, agitando de vez en cuando los tubos. Se procedió a desactivar la enzima mediante inmersión de los tubos en un baño maría a 100 °C durante 3 min. Se utilizó 1 mL de extracto para la cuantificación del amonio liberado, 6 mL de KH_2PO_4 100 mM a un pH 7.5 (buffer de trabajo), 4 mL de Salicilato-Nitroprusiato-Na al 15 %, 2 mL de Hipoclorito-Na al 5.35 %. Se incubaron durante 20 min a 37 °C en oscuridad. Finalmente, el proceso se realizó a temperatura ambiente y en oscuridad. Posterior a ese tiempo se tomó la lectura de absorbancia en el espectrofotómetro marca JENWAY UV/Vis, Spectrophotometer a una longitud de onda de 560 nm de las muestras con y sin urea frente a una curva patrón de NH_4^+ desde 5 a 160 ppm. La actividad de la enzima ureasa se expresó en μmol de NH_4^+ formado por $\text{min}^{-1} \text{g}^{-1}$ p. f. y se calculó de la siguiente manera (Bai *et al.*, 2007a).

$$[\text{Lect (+urea)} - \text{Lect (-urea)}] * (\text{Cotg}) * (\text{Vf/Va}) * (1/30) * (1/p)$$

- Cotangente: Cotangente del patrón NH_4^+ .
- Vf: Volumen Final del ensayo.
- Va: Volumen del alicuota.
- 30: tiempo de incubación de la enzima en minutos.

- P: peso de las taleolas expresado en gramos.

3.11. Indicadores fisiológicos

3.11.1. Determinación de la concentración de nitrógeno orgánico (Nt)

(Método de micro-Kjeldahl)

Se colocó 0.1 g de la muestra en matraces Kjeldahl, se adicionaron 0.6 g de mezcla reactiva de selenio y 5 mL de ácido sulfúrico concentrado. Se colocaron a en una parrilla digestora dentro de la campana de extracción de humo (marca Labconco) hasta que la muestra adquirió un color cristalino, se retiró de la placa y se dejó enfriar, una vez fría se les añadieron 20 mL de agua desionizada y se puso a enfriar de nuevo. Por otra parte, se preparó una mezcla receptora colocando 6 mL de ácido bórico al 4% en repeticiones (vasos de precipitado) adicionándole 6 gotas de reactivo de Wessoul; posteriormente, se colocó para su destilación en el Kjeldahl hasta que cambio de un color azul fuerte a un color verde turquesa, luego se tituló con ácido clorhídrico 0.0181 normal y se calculó el nitrógeno de la siguiente manera:

$$\% N = [(mL HCL) * (Normalidad del HCl) * (0.014) * (100)] / \text{Peso de la muestra en (g)}$$

3.11.2. Cuantificación de la concentración de Sodio, Cobre, Hierro, Manganeso, Zinc y Níquel, por el método de la mezcla digestora y espectrofotometría de absorción atómica

Se colocó 1 g de muestra en vasos de precipitado de 250 mL, se añadieron 25 mL de mezcla trácida (1000 mL de HNO₃ concentrado, 100 mL de HCl concentrado, 25 mL de H₂SO₄ concentrado) se colocó en la parrilla digestora de la campana de extracción de humos hasta tomar un color blanco lechoso, se filtró en matraces volumétricos de 50 mL (solución madre) se aforo con agua desionizada y se agito, después se colocó la solución en tubos graduados de 50 mL para posteriormente ser leídos en el espectrofotómetro de absorción atómica (Thermo Scientific iCE 3000 Series AA Spectrometer) y realizar el cálculo de la siguiente forma.

$$\% \text{ Na} = \text{Lectura del aparato ppm} * 0.005$$

$$\text{Ppm Cu, Fe, Mn, Zn y Ni} = \text{Lectura del aparato en ppm} * 50$$

3.11.3 Determinación de la concentración de calcio, Potasio, Magnesio (Método de la mezcla digestora y absorción atómica)

De la solución madre que quedo en el matraces volumétrico de 50 mL, se tomó 1 mL y se colocó en matraces volumétricos de 100 mL, se aforó, se agitó y se procedió a leer en el espectrofotómetro de absorción atómica realizándose los cálculos de la siguiente manera.

$$\% \text{ Ca, K, Mg} = \text{Lectura del aparato en ppm} * 0.5$$

3.11.4. Cuantificación del Fósforo (Método de la mezcla triácida y metavanadato molibdato de amonio y colorimetría)

De la solución madre la primera determinación, se tomó una alícuota de 0.5 mL se vació en un tubo de ensaye de 10 mL, se le agregaron 1 mL de solución de nitro-venadato-molibdato de amonio, 3.5 mL de agua desionizada y se agitó, después de una hora se procedió a leer en el espectrofotómetro marca JENWAY 6405 UV/Vis. Spectrophotometer a 430 nm de absorbancia frente a una curva de 34 estándar (0-100 ppm de P), simultáneamente se preparó un blanco. El cálculo fue de la siguiente manera:

$$\% P = \text{Concentración de la muestra en ppm} * 50 / 10,000 * \text{Peso de la muestra en (g)}$$

3.12. Determinación clorofila

3.12.1. Contenido de clorofila total

El método utilizado para la determinación de la concentración de clorofila “a” y “b”, se basó en la utilización de un agente químico que extrae los pigmentos foliares y fue descrito por Wellburn (1994). Se recolectaron taleolas (discos foliares de 7 mm de diámetro) de cada uno de los tratamientos y repeticiones evaluadas, libres de nervaduras con un peso aproximado de 0.125 g y se colectaron en tubos de ensaye. Seguidamente se adicionaron 10 mL de metanol a cada tubo de ensaye y se dejó reposar por 24 horas en oscuridad. Pasado este tiempo se procedió a la lectura en el espectrofotómetro marca JENWAY 6405 UV/Vis. Spectrophotometer a

longitudes de onda de 666, 653 y 470 nm. Se incluyó el blanco que contenía exclusivamente metanol. Las concentraciones de clorofila “a” y “b” se expresaron como g cm^{-2} de peso fresco. La suma de clorofilas “a” y “b” dio como resultado, a la clorofila total.

3.12.2. Determinación de pigmentos con SPAD-502 portátil

Las lecturas con el medidor portátil de clorofila SPAD-502 se realizaron a los 69, 80, 89, 101, 111, 120 y 129 dds, en nuestro estudio para los tratamientos distancias de surcos se tomaron lecturas de 36 hojas y para los tratamientos de N se tomaron lecturas de 9 hojas en cada muestreo respectivamente.

9.13. Análisis estadístico

A los resultados obtenidos se les realizó un análisis de varianza convencional con el paquete estadístico (SAS 9.1). Los datos mostrados en los cuadros y figuras corresponden a las medias obtenidas entre las repeticiones, en el caso de los tratamientos $n=3$. Las diferencias entre tratamientos se compararon utilizando la prueba de Diferencia Mínima Significativa (DMS) a un nivel de probabilidad de 0.05 %. Finalmente, los niveles de significancia están representados como $P \leq 0.05$, $P \leq 0.01$, $P \leq 0.001$, y $P > 0.05$ no significativo.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Producción

La siembra del algodón en surcos ultra-estrechos incrementa el rendimiento (Palomo *et al.*, 2003). En el presente trabajo de investigación, se observaron diferencias significativas en el rendimiento del algodón hueso y pluma por efecto de los surcos ultra-estrechos (Cuadro 4, $P \leq 0.05$), siendo la distancia de surcos de 35 cm, la que presentó la máxima producción con un incremento del 35 % en relación a la distancia de surcos de 75 cm que presentó los valores mínimos de producción. Los surcos sembrados a 50 cm mostraron un incremento del rendimiento de algodón hueso y pluma del 10 % más que el testigo (75 cm). Estrada *et al.* (2008) mencionan que el rendimiento en un espaciamiento a 35 cm superó en 10 % al de 50 cm y 26 % al de 75 cm (testigo). Jost y Cothren (2000) compararon anchura de surcos de 19, 38, 76 y 101 cm y encontraron que el de 19 cm rindió de 4 a 32 % más que el de 38 cm. Lo cual se explica que a medida que se disminuye la distancia entre surcos existe mayor número de flores, bellotas y capullos, además de que el follaje cubre más rápidamente el suelo, disminuye la competencia de malezas, aumenta la intersección de energía radiante y se reduce la evaporación del suelo (Estrada *et al.*, 2008). Debido a que el nivel de luz solar y la cantidad de agua disponible son potencialmente limitados en muchas áreas, cualquier aumento de eficiencia en el uso de estos recursos puede mejorar el rendimiento.

Por otro lado, el N es el nutriente más ampliamente usado y demandado para el crecimiento y producción de las plantas cultivadas

(Näsholm *et al.*, 2008). En nuestro estudio, se encontró un efecto significativo de las diferentes dosis de N sobre la producción de algodón (Cuadro 4, $P \leq 0.05$), Donde el valor más alto de producción fue con la dosis de N de 150 kg ha⁻¹ e incrementó de 25 y 11 % en relación a las dosis de N de 50 y 0 kg ha⁻¹ respectivamente. La dosis 100 kg ha⁻¹ mostró un aumento en el rendimiento de 0.7 y 13.5 % con respecto a las dosis de 0 y 50 kg N ha⁻¹ respectivamente, las plantas donde se aplicó una dosis de 50 kg ha⁻¹ mostraron un rendimiento del 12.6 % por debajo del testigo, este comportamiento se atribuye al nivel residual de N que existía en el suelo (14.30 ppm) siendo este suficiente para el desarrollo del cultivo.

Cuadro 4. Rendimientos de algodón y sus componentes en surcos ultra-estrechos y diferentes dosis de nitrógeno.

Factor de variación	Rendimiento algodón (kg ha ⁻¹)		Fibra (%)	Peso de Capullo (g)	Índice Semilla (g)
	Hueso	Pluma			
Distancia entre surcos (cm)					
35	5605 a	2471 a	44.1 a	5.6 a	8.8 a
50	4563 b	2057 b	45.1 a	5.3 a	8.4 b
75	4165 b	1846 b	44.3 a	5.6 a	8.7 a
Dosis de Nitrógeno (kg ha ⁻¹)					
0	4777 ab	2166 ab	45.3 a	5.3 b	8.7 a
50	4234 b	1891 b	44.7 a	5.4 ab	8.7 a
100	4809 ab	2169 ab	45.1 a	5.6 ab	8.6 a
150	5290 a	2268 a	42.9 a	5.7 a	8.5 a

Letras iguales, para la misma fuente de variación y variable, son estadísticamente iguales DMS ($P \leq 0.05$).

Se detectó interacción de ambos factores, distancia de surcos y dosis de nitrógeno, donde el mayor rendimiento de algodón hueso 5958 kg ha⁻¹ se

obtuvo cuando se combinaron las dosis de N de 150 kg de ha⁻¹ y surcos de 35 cm.

Por otro lado, en los componentes de rendimiento, el peso de capullo y porcentaje de fibra no presentaron diferencias significativas para la distancia entre surcos, sin embargo, en el índice de semilla si las hubo, presentándose el mayor peso de semillas en los surcos a 35 cm y el menor en los surcos de 50 cm (Cuadro 4, $P \leq 0.05$). Las dosis de nitrógeno solo mostraron significancia en el peso de capullo donde el valor más alto se obtuvo al aplicar 150 kg N ha⁻¹ y el valor mínimo se registró donde no se aplicó N, con un peso de 5.7 y 5.3 g respectivamente. El porcentaje de fibra no presenta significancia, sin embargo, el mínimo valor se obtuvo con la dosis de 150 Kg N ha⁻¹ y donde no se aplicó N obtuvo el mayor valor (42.9 y 45.3 %) respectivamente, lo cual coincide con (Craig *et al.*, 2000) donde mencionan que el N incrementa el tamaño del capullo debido a un incremento en el peso individual de la semilla con la consecuente reducción en el porcentaje de la fibra. El parámetro índice de semilla no mostró significancia al aplicar diferentes dosis de nitrógeno.

4.2. Dinámica de la acumulación de biomasa

En la acumulación de biomasa foliar (g m⁻²), de forma general para la tres distancias de surcos, se observó un incremento gradual de biomasa a través del tiempo. Los surcos sembrados a 75 cm presentaron la mayor acumulación de biomasa foliar total (1194.2 g m⁻²), sin embargo, esto no se reflejó con una mayor producción. Los surcos de 50 cm presentaron la acumulación de biomasa total foliar más baja (1009.4 g m⁻²) y durante todo

el desarrollo del cultivo pero alcanzaron un rendimiento mayor que los surcos de 75 cm. En cambio, la biomasa total acumulada en los surcos de 35 cm se encontró ligeramente por debajo (9.2 g m^{-2}) de la mayor acumulación, sin embargo, alcanzaron el mayor rendimiento de algodón lo que indica que en las etapas finales del cultivo la planta envió más fotoasimilados a las estructuras productivas y no en la formación de más follaje (Figura 4). Jost y Cothren (2001) encontraron diferencias significativas entre las distancias entre surcos en la acumulación de biomasa a los 91 días después de la siembra.

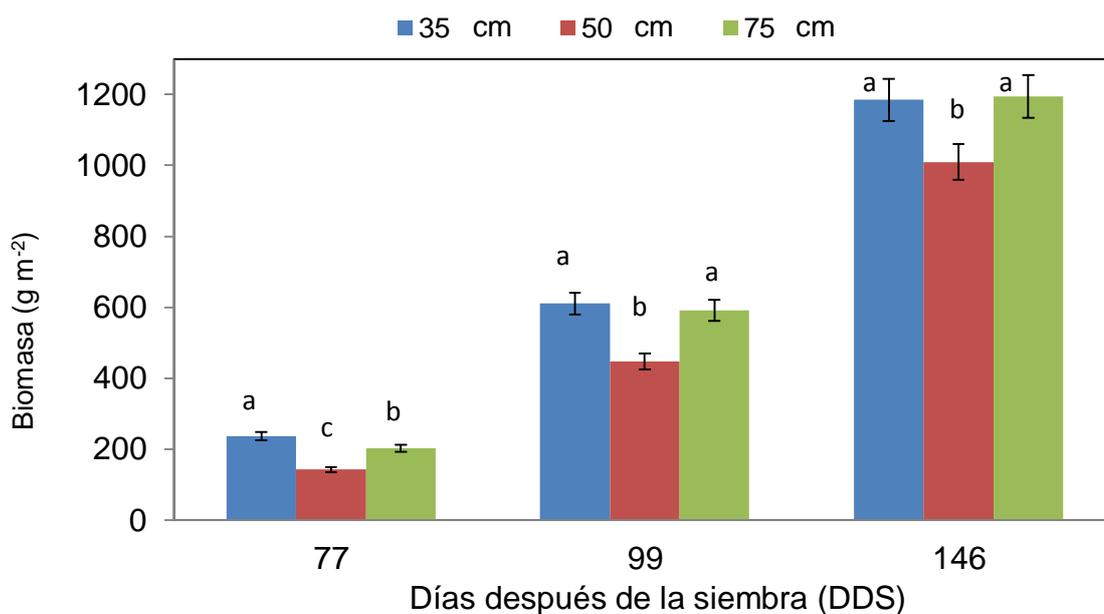


Figura 4. Influencia de la distancia entre surcos sobre la acumulación de biomasa.

El N es el nutrimento más ampliamente usado como fertilizante y demandado para el crecimiento de las plantas cultivadas (Gitelson, 2004). En nuestro estudio, la acumulación de biomasa foliar de acuerdo a las

diferentes dosis de N aplicadas, en general presentó una dinámica creciente a medida que trascurrieron las etapas del cultivo, y en todas ellas la dosis de 150 kg de N ha⁻¹ obtuvo la mayor acumulación de biomasa total (1191.6 g m⁻²) y está decreció a medida que se redujo la cantidad de N aplicado (Figura 5). Sánchez *et al.* (2006) mencionan que la menor asimilación de N produce mínimas concentraciones de compuestos orgánicos nitrogenados (aminoácidos, proteínas y N orgánico), lo que explicaría su inferior producción de biomasa.

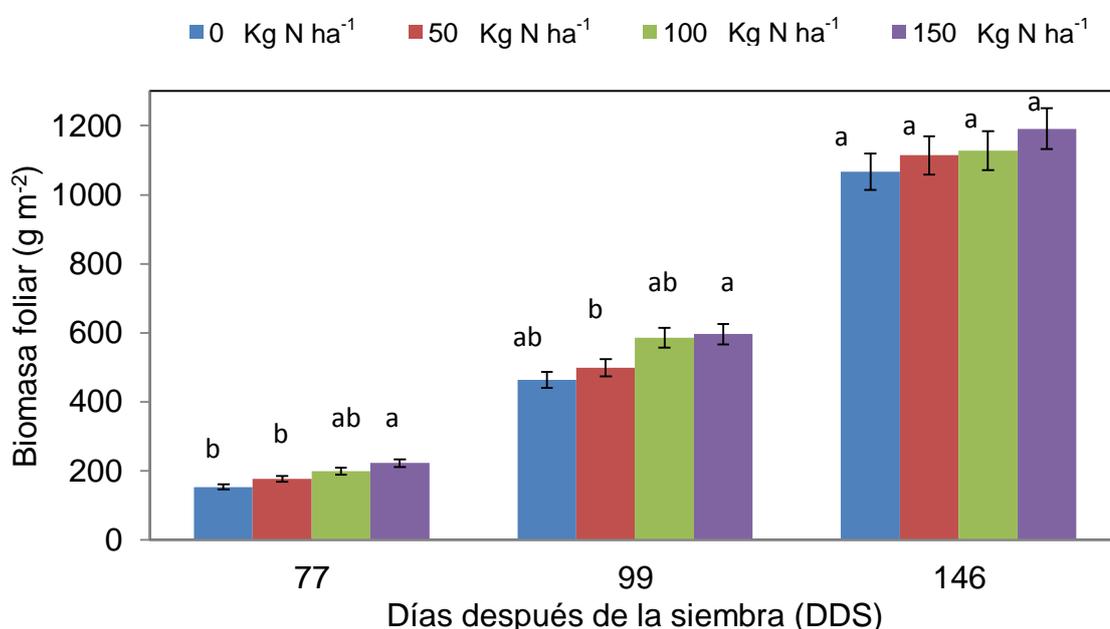


Figura 5. Influencia de la aplicación de diferentes dosis de nitrógeno en la acumulación de biomasa.

4.3 INDICADORES BIOQUÍMICOS

4.3.1 Actividad enzimática Nitrato Reductasa “*in vivo*”: Inicios de Floración

La nitrato reductasa (NR) es la enzima clave en el proceso global de asimilación de nitrato por las plantas (De la Haba *et al.*, 2001). Los

resultados de este estudio muestran que la mayor actividad endógena de la enzima NR se registró en las plantas sembradas a surcos de 35 cm lo cual coincidió con mayor producción en kg de algodón hueso y pluma (Cuadro 2), en caso contrario, la actividad de la enzima disminuyó a medida que la distancia entre surcos fue mayor (Figura 6). Esto probablemente se debió a que las plantas sembradas a surcos de 35 cm captaron más radiación solar al haber un cierre de cultivo más rápido y mayor área foliar, que los surcos de 75 cm, Figueroa y Viñegla (2001) mencionan que la radiación solar modula los cambios en la asimilación de Carbono y N. además la actividad enzima NR está regulada por la concentración del sustrato dentro de la planta, en este caso el ión nitrato (Vázquez *et al.*, 2010). Rodríguez *et al.* (2002) Sugieren que los incrementos en la actividad NR propician que los procesos anabólicos se hagan más intensos con el fin de suplir las demandas de metabolitos durante la fase de crecimiento, en este caso el inicio de floración del algodón. La actividad NR inducida con nitratos incrementó la cantidad de nitritos formados a medida que se fue más grande la distancia entre surcos (35, 50 y 75 cm) respectivamente. Se observó que a mayor nivel endógeno menor es la capacidad de inducción con NO_3^- indicando las necesidades fisiológicas que tuvieron las plantas del nitrato (Figura 6). Esto coincidió con lo dicho por Vázquez *et al.* (2010) al analizar la actividad de la NR endógena y observar que su actividad inducida con nitratos disminuía a medida que incrementaba la actividad endógena. Al comparar la actividad enzimática NR Endógena con la actividad enzimática infiltrada con Molibdeno (Mo), los resultados indicaron la necesidad de las plantas de algodón del cofactor (Mo), ya que todos los valores fueron

superiores a la actividad NR endógena en todas las plantas sembradas a diferentes distancias entre surcos (Figura 6). Incluso la inducción por Mo fue mayor que por nitratos. Probablemente esto se debe a que los NO_3^- almacenados en vacuolas pueden ser excretados al citoplasma y asimilados cuando sus niveles externos han sido agotados (Galván y Fernández, 2001). Es importante destacar que las plantas sembradas en surcos a distancias de 50 cm tuvieron más actividad enzimática incluso por arriba de la inducida con la combinación de nitratos y Mo. En forma general, nos indica que no existían reservas de Mo en las vacuolas o bien en el citoplasma pues una de las funciones del cofactor es precisamente la habilidad de disponer de las reservas de nitratos para mantener el nivel de asimilación de N, cuando el nivel fisiológico de este empieza a disminuir.

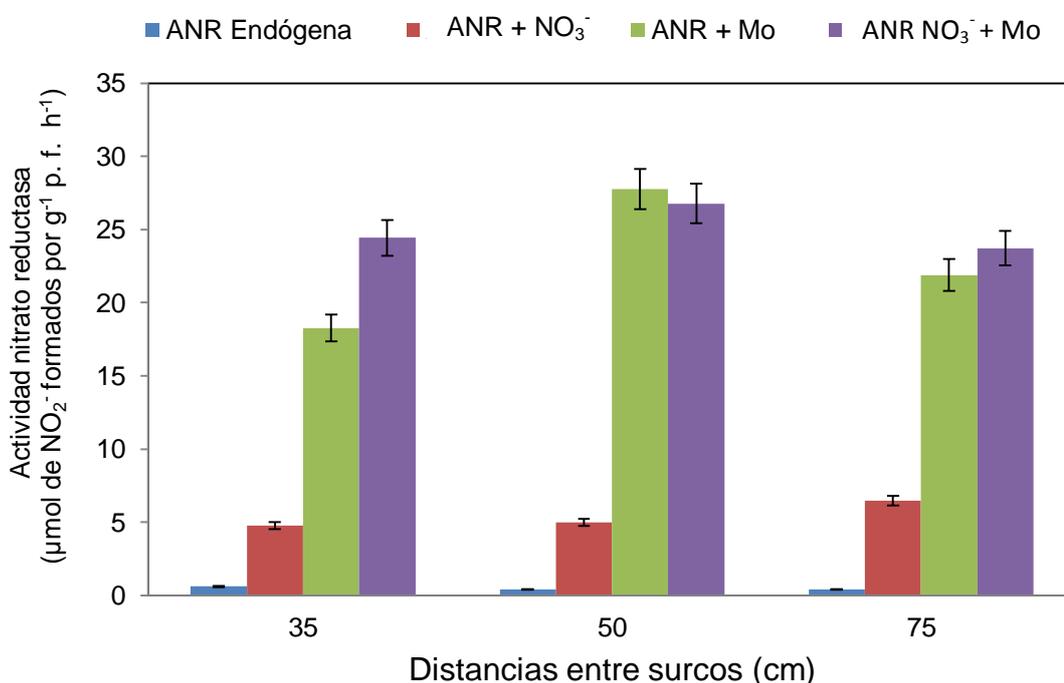


Figura 6. Efecto de la distancia entre surcos sobre la actividad enzimática NR “*in vivo*” en algodón a los 74 DDS (inicio de floración).

Cuando la actividad enzimática se indujo con nitratos e infiltró con Mo al mismo tiempo, se registró un incremento de nitritos formados en las distancias entre surcos de 35 y 75 cm respectivamente (Figura 6). Lo que refuerza la mayor necesidad o distribución (fraccionamiento) del N (Vásquez *et al.*, 2010).

Silva y Uchida (2000) mencionan que todas las enzimas de la planta están hechas de proteínas, el N es necesario para todas las reacciones enzimáticas en una planta. En nuestro estudio la actividad enzimática NR endógena donde no se aplicó N presentó el valor más bajo y el valor más alto de la actividad enzimática endógena se obtuvo cuando se aplicaron 150 kg N ha⁻¹ (Figura 7). Es importante señalar que donde se obtuvo el valor más alto de la actividad enzimática endógena también se obtuvo el mayor rendimiento en kg de algodón.

La actividad enzimática infiltrada con NO₃⁻ y Mo fue muy similar al comportamiento en diferentes distancias de surcos, hubo un incremento al inducir la actividad con NO₃⁻ y Mo siendo mayor donde se aplicó la dosis de 150 kg N ha⁻¹ disminuyendo en la dosis de 100 kg N ha⁻¹ y posteriormente en la dosis de 50 kg N ha⁻¹. Donde no se aplicó N mostró un incremento indicando la falta de NO₃⁻ y el cofactor Mo que activa la enzima NR para la conversión de nitratos a nitritos.

La actividad enzimática inducida con nitratos e infiltrada con Mo al mismo tiempo, incremento de 24.08, 25.05, 23.93 y 24.66 de NO₂⁻ formados donde no se aplicó N y en las dosis de 50, 100 y 150 kg ha⁻¹ respectivamente, sin embargo, la actividad enzimática de la NR en la dosis de 150 fue menor que la infiltrada con Mo (Figura 7). De forma general, se

puede apreciar la necesidad de las plantas tanto por nitratos como de molibdeno para activar su sistema metabólico y así aprovechar al máximo el N.

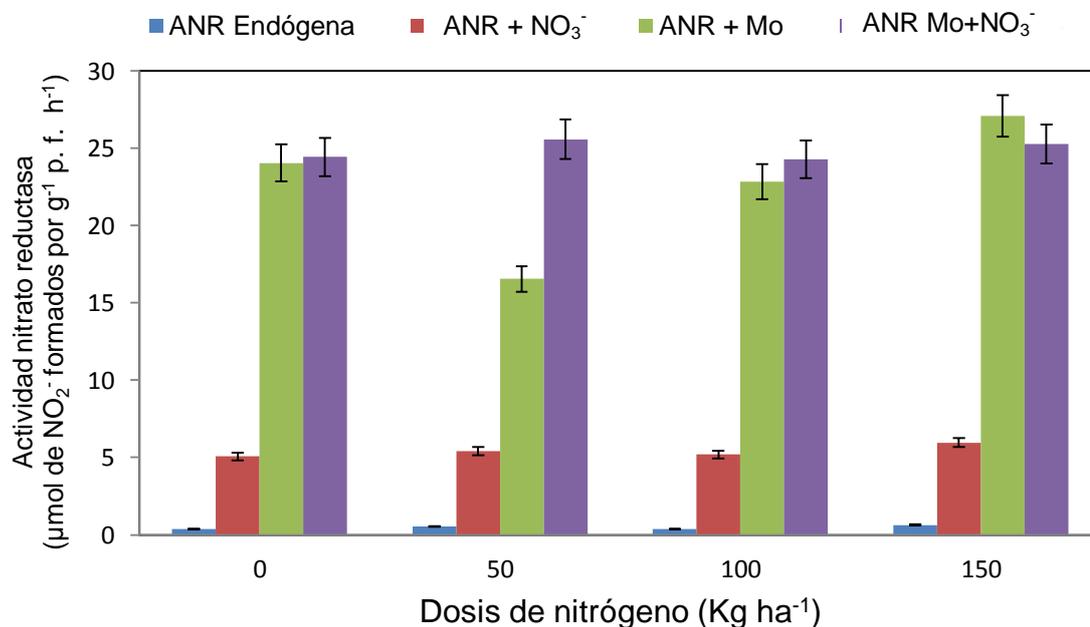


Figura 7. Efecto de la dosis de nitrógeno sobre la actividad enzimática NR “*in vivo*” en algodón a los 74 DDS (inicio de floración).

4.3.2. Actividad enzimática Nitrato Reductasa “*in vivo*”: Plena Floración

La actividad enzimática de la NR en esta etapa del cultivo, de forma general se comportamiento similar a los resultados obtenidos en inicios de floración, se observó claramente la necesidad que tiene la planta del sustrato (nitratos), el cofactor (Molibdeno) y sin duda de la combinación de ambos para activar la enzima NR y aprovechar el nitrógeno celular (Figura 8).

La actividad enzimática endógena siguió presentando el mayor valor en las plantas sembradas en surcos de 35 cm. Es importante resaltar que la actividad enzimática endógena a diferencia de la etapa de inicio de floración tuvo un incremento general de nitritos formados para las tres distancias entre

surcos (Figura 8), probablemente debido a que existe una mayor demanda de nitrógeno en la etapa de plena floración y que se conjunta con la formación de estructuras productivas, Carvalho *et al.* (1989) mencionan que la presencia de flores y frutos en algunas plantas acelera la actividad NR endógena, lo que coincide con la etapa de mayor presencia de flores y formación de bellotas en nuestro experimento.

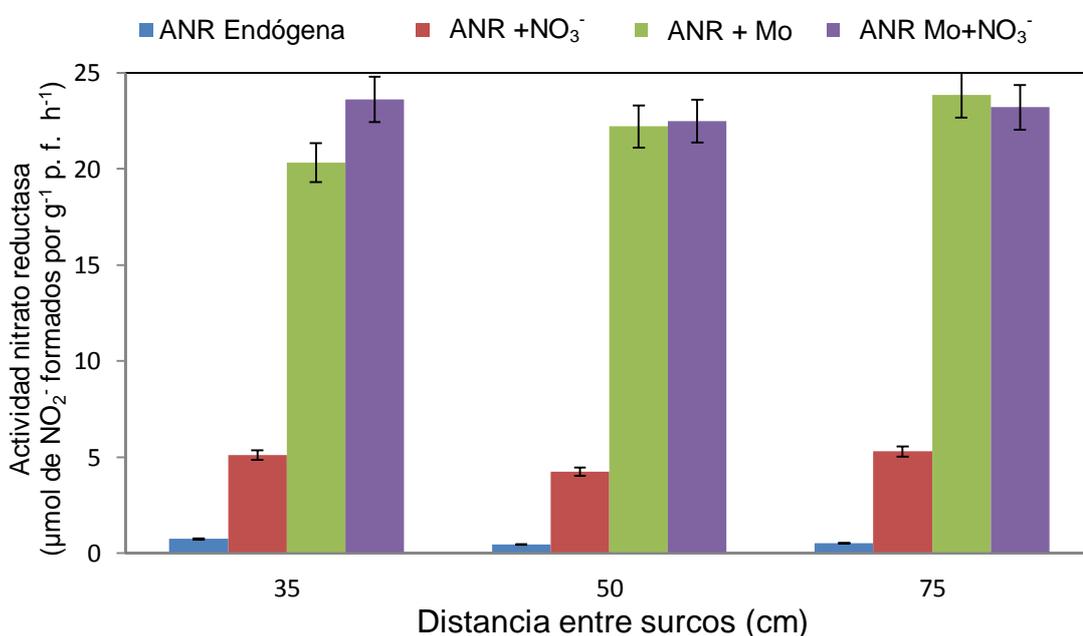


Figura 8. Efecto de la distancia entre surcos sobre la actividad enzimática NR “*in vivo*” en algodón a los 94 DDS (plena floración).

Por otro lado, las diferentes dosis de N aplicadas al igual que inicio de floración presentaron necesidades fisiológicas de nitratos, Mo y la combinación de ambos factores, es importante destacar, un incremento en la actividad enzimática endógena (donde no se aplicó N, las dosis de 50 y 100 kg N ha⁻¹) a diferencia de la etapa inicio de floración. En la dosis de 150 kg N ha⁻¹ disminuyó ligeramente la actividad enzimática endógena (Figura 9). Aun

así la plena floración del algodón coincide con la mayor actividad enzimática. Fahl *et al.*, (1992) encontraron una estrecha relación entre la actividad NR endógena, el contenido de N-total y de clorofila, que coincidió con el período de máxima actividad metabólica y justifica los argumentos de que la actividad NR endógena depende de la capacidad de los tejidos para sintetizar proteínas y del proceso fotosintético, ya sea a través del suministro de energía y de los esqueletos carbonados provenientes de la oxidación de los fotoasimilados o directamente de las reacciones fotoquímicas de los cloroplastos (Dennis y Turpin, 1998). Estudios realizados en otros cultivos han indicado que, además de nitrato, la deficiencia individual de algunos nutrientes como el He y Mo causa una disminución de la actividad NR (Upendra *et al.*, 2005).

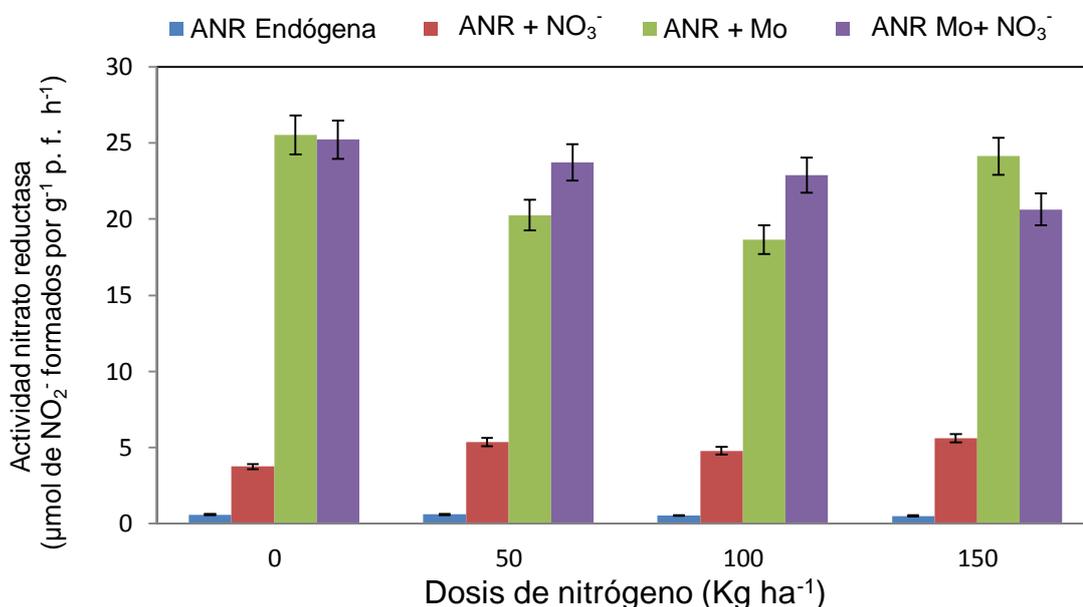


Figura 9. Efecto de la dosis de nitrógeno sobre la actividad enzimática NR “*in vivo*” en algodón a los 94 DDS (plena floración).

4.3.3. Actividad enzimática Nitrato Reductasa “*in vivo*”: Apertura de Capullos

De manera general, durante las tres etapas de análisis (inicio de floración, plena floración y apertura de capullos) la actividad enzimática endógena presentó valores más altos en las plantas sembradas en surcos a 35 cm y disminuyó en las plantas sembradas a surcos de 50 cm para terminar en un valor más bajo en las plantas cultivadas en surcos de 75 cm (Figura 10). Dejando en claro que la actividad endógena de la NR tiene relación directa con el rendimiento. Es importante destacar que en los surcos a 35 cm existe un cierre de cultivo más rápido provocando mayor captación de luz solar y una mayor producción de fotoasimilados, al mismo tiempo esto evita la evaporación del agua del suelo provocando una mayor retención de humedad del suelo que evita el estrés por falta de agua de las plantas (Estrada *et al.*, 2008). Rodríguez *et al.* (2002) citan que la actividad NR endógena es mayor al incrementar la humedad del suelo, estudios realizados por estos autores demuestran que a valores inferiores 30 % de humedad del suelo, la actividad de la enzima disminuye drásticamente, de manera contraria en cada incremento del porcentaje de humedad del suelo la actividad de la enzima incrementó, lo cual es un reflejo de la sensibilidad de esta enzima a las variaciones en la disponibilidad de agua en el suelo. Esta disminución de la actividad NR endógena en condiciones de baja disponibilidad de agua puede estar asociado con disminuciones en la síntesis de la enzima o a su ruptura o quizás a las afectaciones que el déficit de agua en el suelo pueda causar sobre la corriente transpiratoria por el xilema que afecte el flujo de nitratos hacia las hojas. Por otro lado, al inducir

la NR con nitratos, Mo y la combinación de ambos factores, los valores incrementan, indicando la necesidad de la planta del sustrato y el cofactor, cabe hacer mención que los niveles de inducción de la enzima NR son mayores a medida que el ciclo del cultivo transcurre lo que coincide con la dinámica de disminución en el contenido de nitrógeno total foliar, indicando que el nitrógeno es mayormente demandado en las etapas de inicio de floración y plena floración respectivamente que es cuando se forman las estructuras reproductivas del algodón.

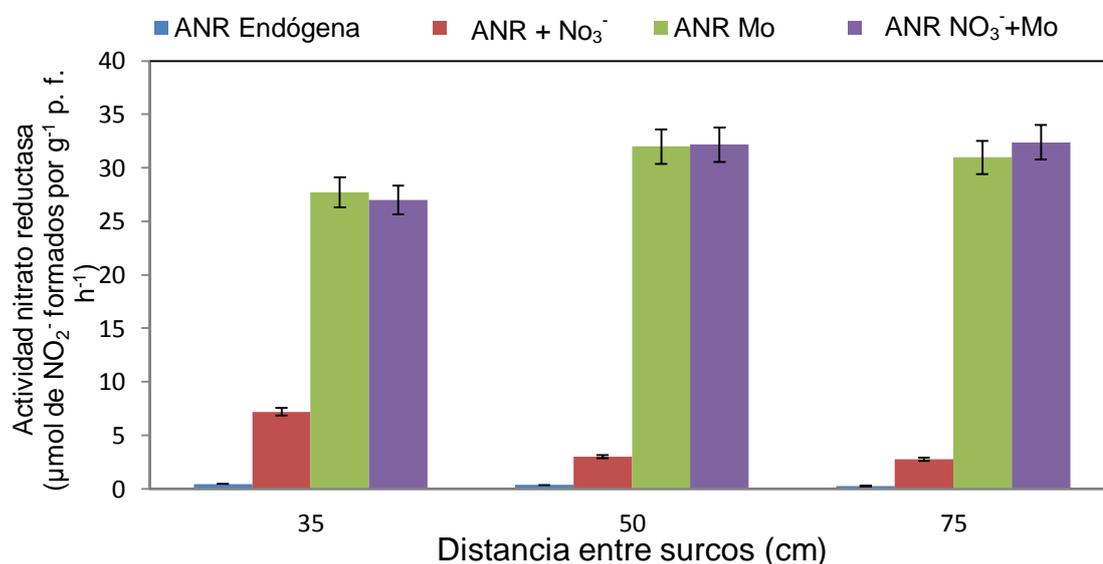


Figura 10. Efecto de la distancia entre surcos sobre la actividad enzimática NR *in vivo* en algodón a los 136 DDS (Apertura de capullos).

Las dosis de nitrógeno aplicadas, al igual que en inicio y plena floración del cultivo las plantas de algodón siguieron mostrando necesidades fisiológicas de nitratos, Mo y por su puesto la combinación de ambos factores (Figura 11). Cabe hacer mención que al igual que en distancias entre surcos la inducción fue mayor al trascurrir el ciclo del cultivo. Es importante resaltar, que la actividad enzimática endógena en promedio fue mayor en donde se aplicaron 150 kg de N ha⁻¹, posteriormente disminuyó en

la dosis de 100, y por último donde no se aplicó N al cultivo. Comparando estos resultados con el rendimiento de algodón a medida que disminuyó la actividad enzimática endógena disminuyeron los kg de algodón producidos. Por otra parte, la dosis donde se aplicó 50 kg ha⁻¹ de N, tuvo una actividad enzimática promedio similar a la dosis de 150 kg N ha⁻¹, sin embargo, esto no se reflejó en el rendimiento de algodón. Se tiene que tener en consideración que en la regulación de la actividad NR intervienen tanto factores endógenos como ambientales. Su actividad en el tejido varía de acuerdo con la edad fisiológica del mismo, el estado hídrico, la intensidad luminosa a que está expuesto, la disponibilidad de nitrato, la fuente de nitrógeno, la temperatura y otros (Dennis y Turpin, 1998).

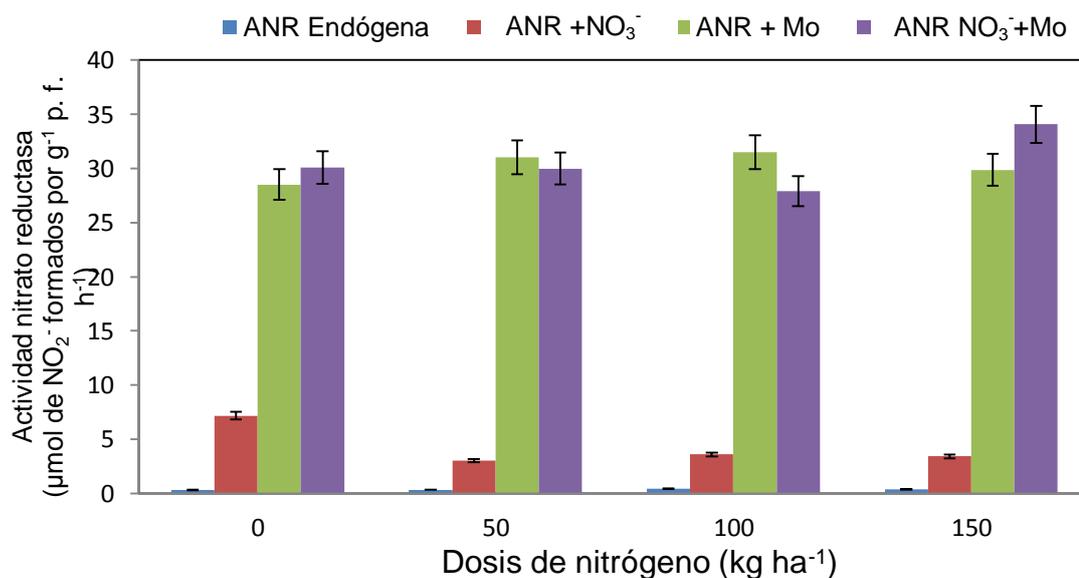


Figura 11. Efecto de la dosis de nitrógeno sobre la actividad enzimática NR “*in vivo*” en algodón a los 136 DDS (Apertura de capullos).

4.3.4. Actividad enzimática ureasa: Inicio de Floración

La importancia de la enzima ureasa está ligada en la transformación de la urea (CO(NH₂)₂) en NH₄⁺ y CO₂ para contribuir al metabolismo del nitrógeno (Díaz *et al.*, 2001). Los resultados de esta investigación muestran

que la actividad de la enzima ureasa tanto endógena como inducida tienden a decrecer a medida que se reduce el espacio entre surcos, siendo más activa en los surcos de 35 cm y menor en la distancia de 75 cm. En los surcos de 35 cm los valores de NH_4^+ registrados de la actividad enzimática ureasa inducida son similares a los de la actividad enzimática endógena lo cual sugiere que el grado de desintegración de la urea en las células vegetales y los niveles fisiológicos en la plantas de algodón es bueno. En cambio, en los surcos a 50 y 75 cm la actividad de la ureasa inducida fue mayor a medida que incrementaba la distancia que la actividad enzimática endógena, indicando que había un bajo nivel fisiológico del sustrato (urea) en las células. Esto fue más notorio en los surcos de 75 cm probablemente a la falta de Ni que actúa como cofactor en la actividad de la enzima ureasa para degradar la urea (Figura 12). Dado que el Ni es un elemento indispensable para la actividad de la ureasa, podría pensarse que era escaso en el terreno donde se estableció el trabajo, pero se descarta porque la distribución de los tratamientos fue aleatorio y en el mismo tipo de suelo.

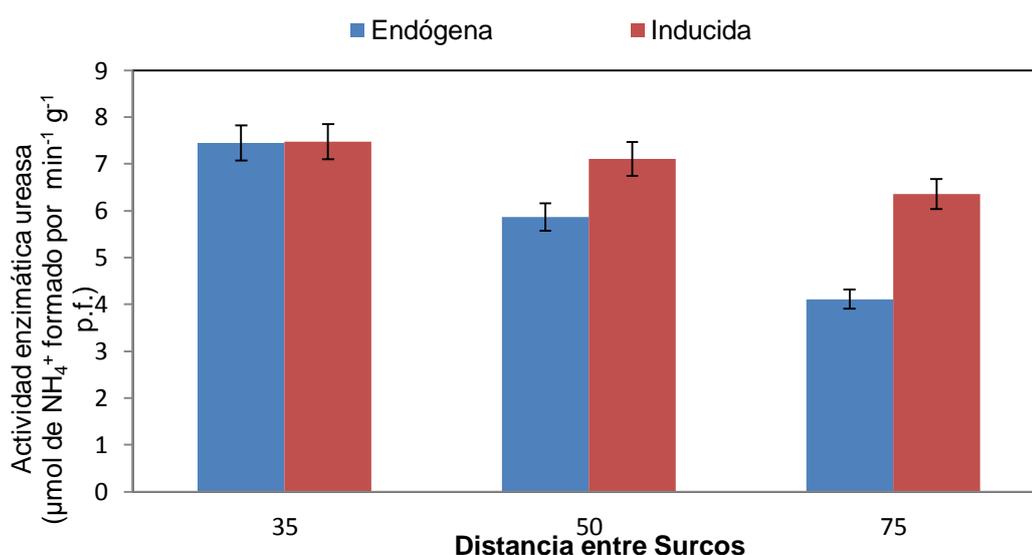


Figura 12. Influencia de la distancia entre surcos sobre la actividad enzimática ureasa del algodón a los 74 DDS (inicio de floración).

En cuanto a la respuesta a las dosis de N, la actividad enzimática ureasa inducida fue superior que la actividad enzimática endógena, en todas las dosis de N aplicadas (Figura 13). Es importante resaltar que la actividad de la enzima de la ureasa donde no se aplicó N fue superior a la actividad mostrada en los tratamientos que si lo recibieron, lo cual sugiere que la aplicación de N inhibe la actividad de la ureasa endógena.

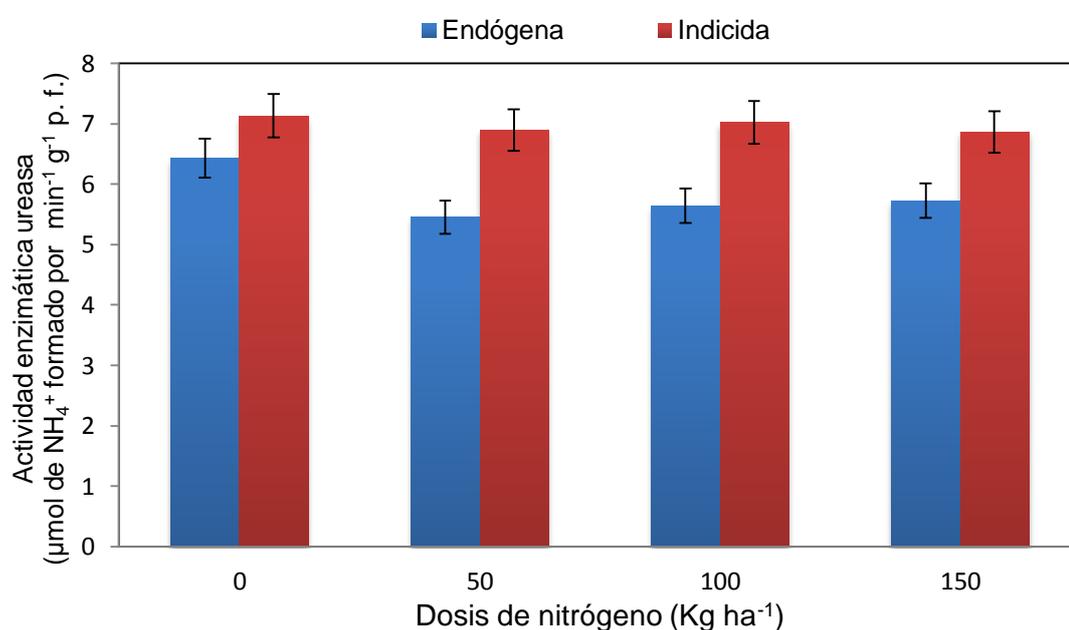


Figura 13. Influencia de las dosis de nitrógeno sobre la actividad enzimática ureasa del algodón a los 74 DDS (inicio de floración).

4.3.5. Actividad enzimática ureasa: Plena Floración

En los surcos de 35, 50 y 75 cm la actividad enzimática inducida con urea en comparación con la endógena mostró un incremento de 0.27, 0.86 y 0.18 respectivamente. De forma general, a pesar de reflejarse un comportamiento similar (descendente) a medida que se incrementó la distancia entre surcos como en la etapa de inicio de floración, los valores de la actividad enzimática fueron menores indicándonos que los niveles

fisiológicos de urea en las células de las plantas han disminuido o que probablemente la actividad de la enzima ureasa fue menor debido a la falta del cofactor Ni para activarse lo que provocó una acumulación de la urea en la hojas (Figura 14).

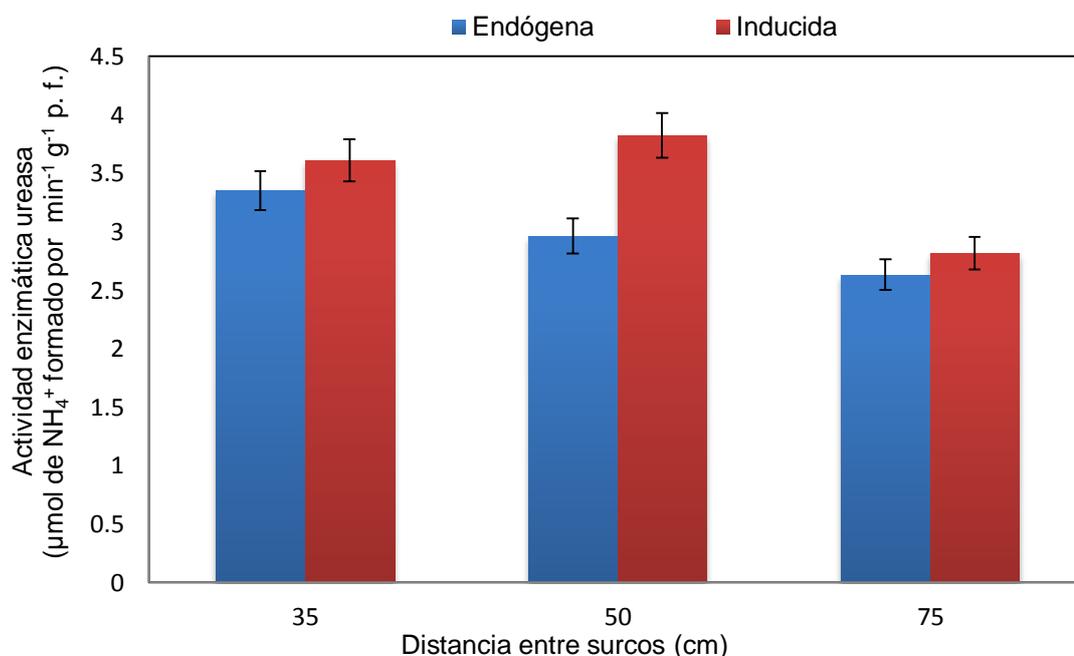


Figura 14. Influencia de la distancia entre surcos sobre la actividad enzimática ureasa del algodón a los 94 DDS (plena de floración).

La actividad de la enzima ureasa en las diferentes dosis de nitrógeno aplicadas, de igual forma mostraron un comportamiento similar al de inicio de floración. En la actividad enzimática endógena de la ureasa se registró una tendencia de incremento a medida que aumentó la dosis de N 50, 100 y 150 Kg ha⁻¹ respectivamente, lo que nos sugiere que probablemente los niveles de urea en la planta fueron altos y la enzima no hidroliza toda la urea liberada. Por otro lado, donde no se aplicó N la actividad endógena de la ureasa fue alta y al inducirse con urea se presentó un incremento

indicándonos que hay una buena actividad enzimática y sobre todo que se está hidrolizando la urea (Figura 15).

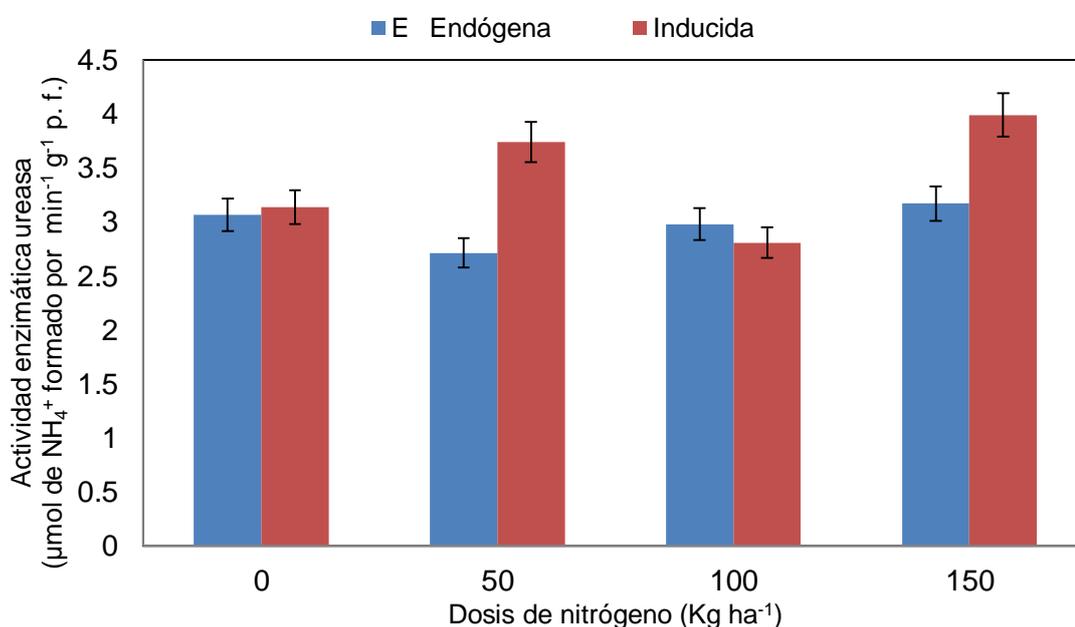


Figura 15. Influencia de la dosis de nitrógeno sobre la actividad enzimática ureasa del algodón a los 94 DDS (plena floración).

4.3.6. Actividad enzimática ureasa: Apertura de Capullos

De forma general en las tres etapas de análisis donde se evaluó el grado de actividad enzimática ureasa, se observó un descenso de la actividad enzimática endógena a medida que se incrementó la distancia entre surcos. Este comportamiento se debió a un gran número de factores dentro de los que destacan el traslape de la fertilización en los surcos de 35 cm y que disminuyó a medida que incremento la distancia entre surcos, provocado una baja en los niveles fisiológicos de urea en la planta; la captación de luz solar que influye sobre diversos procesos metabólicos y fisiológicos (fotosíntesis, respiración, metabolismo del nitrógeno, etc.); la humedad disponible que siempre fue mayor en los surcos de 35 cm y menor en los surcos de 75 cm debido al cierre de cultivo, siendo estos factores los

que se relacionan y afectan el ciclo de la urea dentro de la planta (Figura 16).

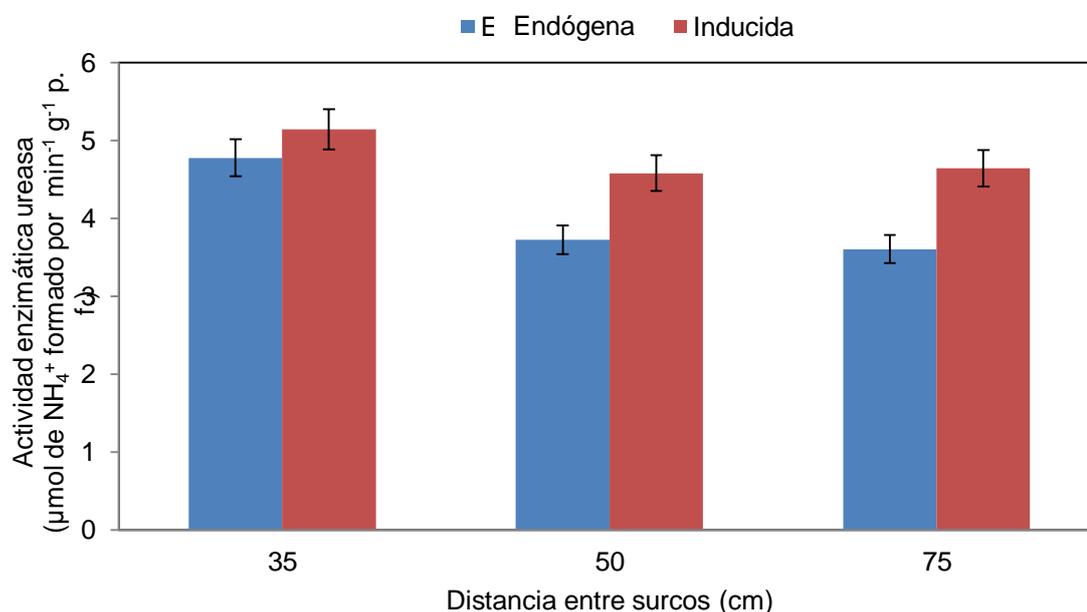


Figura 16. Influencia de la distancia entre surcos sobre la actividad enzimática ureasa del algodón a los 136 DDS (apertura de capullos)

En cuanto a las diferentes dosis de nitrógeno aplicadas, en las tres etapas donde se evaluó la actividad enzimática de la ureasa (inicio de floración, plena floración y apertura de capullos) se obtuvo un comportamiento similar en las actividades enzimáticas de las tres fechas, hay una tendencia de incremento a partir de la dosis de 50, 100 y 150 kg de N ha⁻¹ respectivamente, al hacer la comparación con la actividad enzimática inducida con urea esta disminuyó su inducción a medida que incrementó la actividad enzimática endógena (Figura 17). Por otro lado, la actividad enzimática endógena de la ureasa en donde no se aplicó N, siempre presentó valores altos, lo que sugiere que la enzima hidrolizó correctamente la urea que se encontraban en la planta para formar amonio, caso contrario,

cuando se hicieron aplicaciones de N de 50, 100 y 150 kg ha⁻¹ solamente se registraron incrementos a medida que incrementó la dosis de N, probablemente debido a que la enzima carecía del cofactor Ni para activarse o los niveles fisiológicos de urea eran muy altos inhibiendo su actividad y provocando la baja hidrolización de la urea.

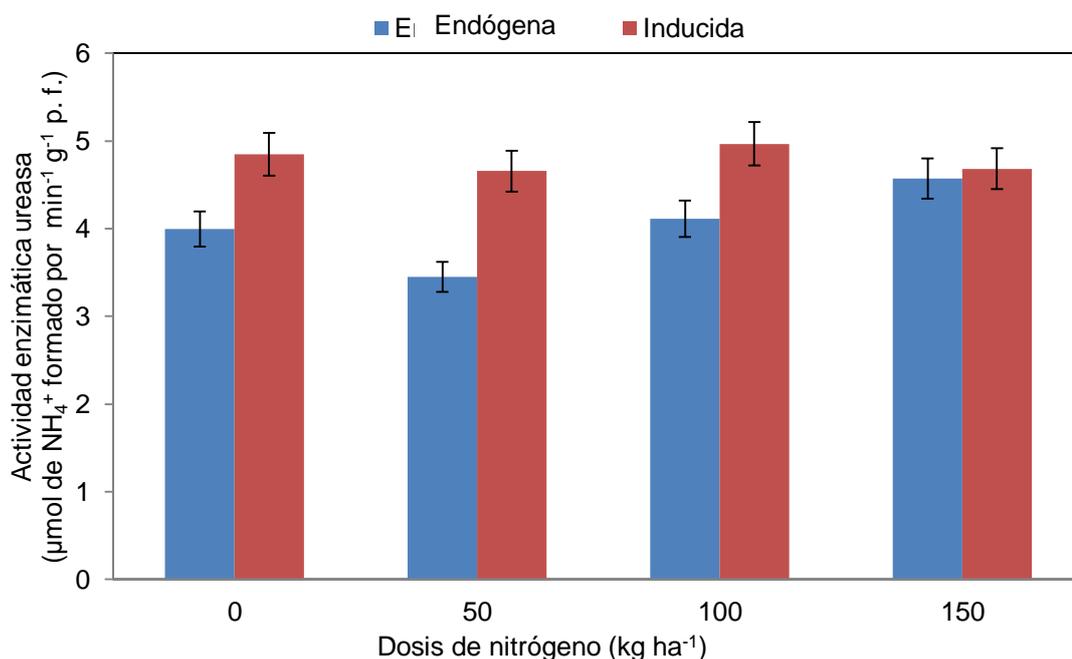


Figura 17. Influencia de la dosis de nitrógeno sobre la actividad enzimática ureasa del algodón a los 136 DDS (apertura de capullos).

4.4. CONTENIDO NUTRICIONAL

El análisis nutricional foliar es el método más adecuado para diagnosticar el estado nutricional del cultivo y evaluar la disponibilidad de reservas de la planta (Romero, 1995).

4.4.1. Dinámica del Nitrógeno orgánico

El N se considera el nutriente más ampliamente utilizado en la fertilización y es el más demandado para el crecimiento de las plantas cultivadas (Weinhold *et al.*, 1995). Los surcos sembrados a 75 cm presentaron los valores de concentración más altos de N en las tres etapas del cultivo (Inicio de floración 4.01 %, plena floración 3.22 % y 2.18 % en apertura de capullos), sin embargo, esto no se reflejó en la producción de algodón ya que estos surcos obtuvieron el rendimiento más bajo comparado con los surcos de 35 cm que mantuvieron niveles de N intermedios pero alcanzaron la máxima producción. Esto probablemente se debe que el nitrógeno se utilizó más para la formación de ramas, tallos y hojas, caso contrario en los surcos de 35 cm que se utilizó más para la formación de estructuras reproductivas, lo que explica su mayor rendimiento, resultados que coinciden con Estrada *et al.* (2008), donde surcos a 35 cm rindieron hasta 26 % más que los surcos a 75 cm. Los valores más bajos de N se presentaron en los surcos sembrados a 50 cm (Figura 18).

De forma general, la concentración de N fue decreciente para las tres distancias entre surcos, lo que sugiere que la mayor demanda de nitrógeno es en periodo de floración y llenado de bellotas, para la etapa de apertura de capullos la demanda de N disminuyó aún más y, por lo tanto, su concentración en la hoja.

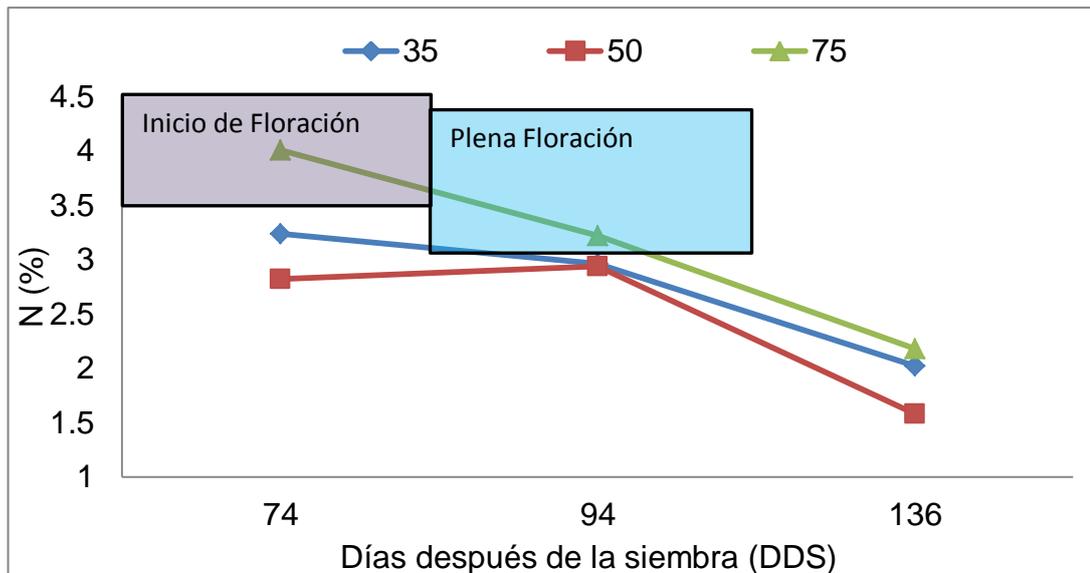


Figura 18. Influencia de la distancia entre surcos sobre el contenido de Nitrógeno en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos).

De acuerdo con la dosis de N aplicada, las plantas a inicio de floración y en plena floración obtuvieron los valores superiores 3.6 y 3.26 % respectivamente al aplicar la dosis de 100 kg de N ha⁻¹. El valor inferior de N foliar en la etapa de inicio de floración se obtuvo al aplicar la dosis de 50 kg de N ha⁻¹; en plena floración del cultivo el mínimo valor fue de 2.76 % al no aplicar N. En la etapa de apertura de capullos el porcentaje de N más alto se registró cuando se aplicaron 150 kg N ha⁻¹ y el valor más bajo al aplicar 100 kg N ha⁻¹ (Figura 19).

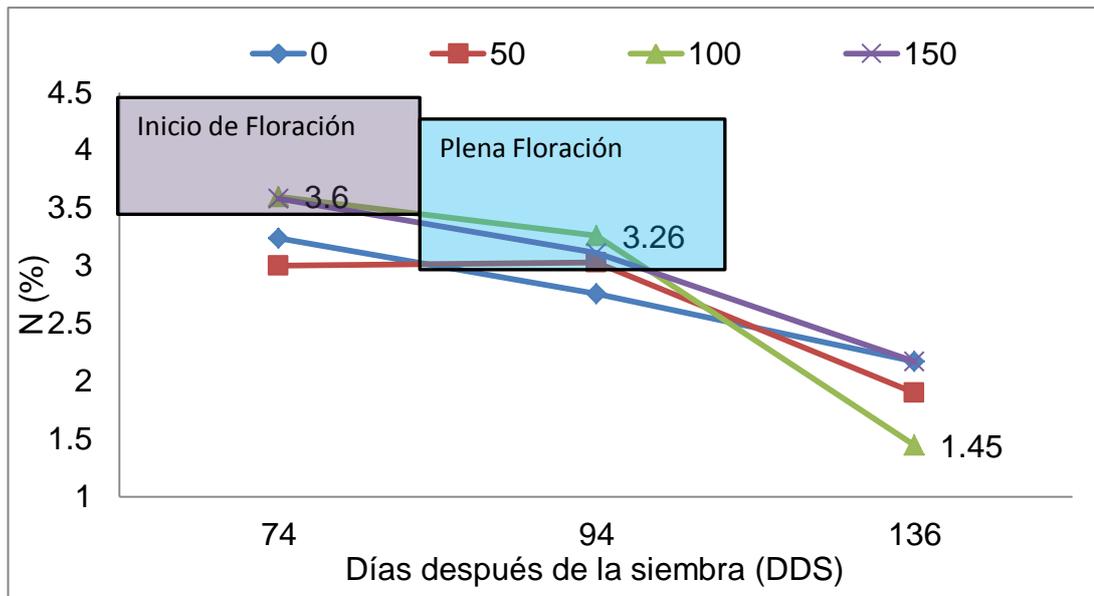


Figura 19. Influencia de las dosis de nitrógeno y su contenido foliar en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos).

De forma general, existió una disminución en la concentración del N a medida que transcurrió el tiempo, demandando más a inicio de floración, posteriormente disminuyó en plena floración y por último registro niveles bajos en la etapa de apertura de capullos (Figura 19). Si observamos el comportamiento individual de la concentración de N para cada una de las diferentes dosis aplicadas y lo asociamos con el rendimiento, la dosis de 150 Kg ha⁻¹ obtuvo el mayor rendimiento y concentraciones de N intermedias, superada ligeramente por la dosis de 100 Kg de n ha⁻¹ que presentó un rendimiento más bajo. El efecto general del N parece ser el incremento total de producción (fibra y semilla) al prolongar el período de fructificación, además, incrementa principalmente el tamaño del capullo (Halevy y Bazelet, 1992). Mills y Jones (1991), mencionan que los rangos de suficiencia para inicios de floración del algodón van desde 3.5 a 4.5 % de N y para la etapa de plena floración desde 3 a 4.3 % de N (Cuadros 1 y 2 respectivamente).

Los valores de las plantas sembradas en los surcos a 75 cm se encontraron dentro del rango de suficiencia y los porcentajes de concentración de las plantas sembradas en surcos de 35 y 50 cm por debajo del rango de suficiencia en inicio y plena floración del cultivo. (Figura 18). Por otro lado, los valores de las dosis de 100 y 150 kg ha⁻¹ se encontraron dentro del rango de suficiencia, a diferencia de donde se aplicaron 50 kg de N Ha⁻¹ y donde no se aplicó N que presentaron niveles por debajo del rango en inicio de floración (Figura 19); para la etapa de plena floración las dosis de 50, 100 y 150 kg ha⁻¹ tuvieron valores dentro del rango de suficiencia a diferencia de donde no se aplicó N que se encuentra en niveles bajos.

4.4.2. Dinámica del Fósforo

El Fósforo es un elemento esencial para las plantas superiores, se requiere en concentraciones mayores en los tejidos y es particularmente indispensable durante el crecimiento vegetativo (Carrol *et al.*, 2002). En el presente estudio, en las tres etapas de crecimiento del cultivo muestreadas, las plantas en los surcos espaciados a 75 cm mostraron contenidos foliares de fósforo ligeramente superiores a los obtenidos en los demás espaciamientos. Al cultivo en forma general se aplicaron 50 kg de P, sin embargo, en los tres espaciamientos los valores foliares obtenidos fueron muy inferiores a los requerimientos mínimos necesarios para un buen desarrollo del cultivo los cuales van de 0.3 a 0.5 % (Cuadro. 1) a inicios de floración y, de 0.25 a 0.45 % (Cuadro. 2) en plena floración (Mills y Jones 1991). Lo anterior sugiere que el P pudo haber sido un factor limitante en los

rendimientos que se obtuvieron y que es necesario aumentar la cantidad de mismo en la fertilización química. Independientemente de la cantidad de N aplicada al cultivo el porcentaje de P incrementó de inicios de floración a una mayor concentración en plena floración y disminuyó en la etapa de apertura de capullos. El cultivo del algodón demanda altas concentraciones de P en plena floración haciendo posible un mayor porcentaje de flores durante las primeras dos semanas de floración.

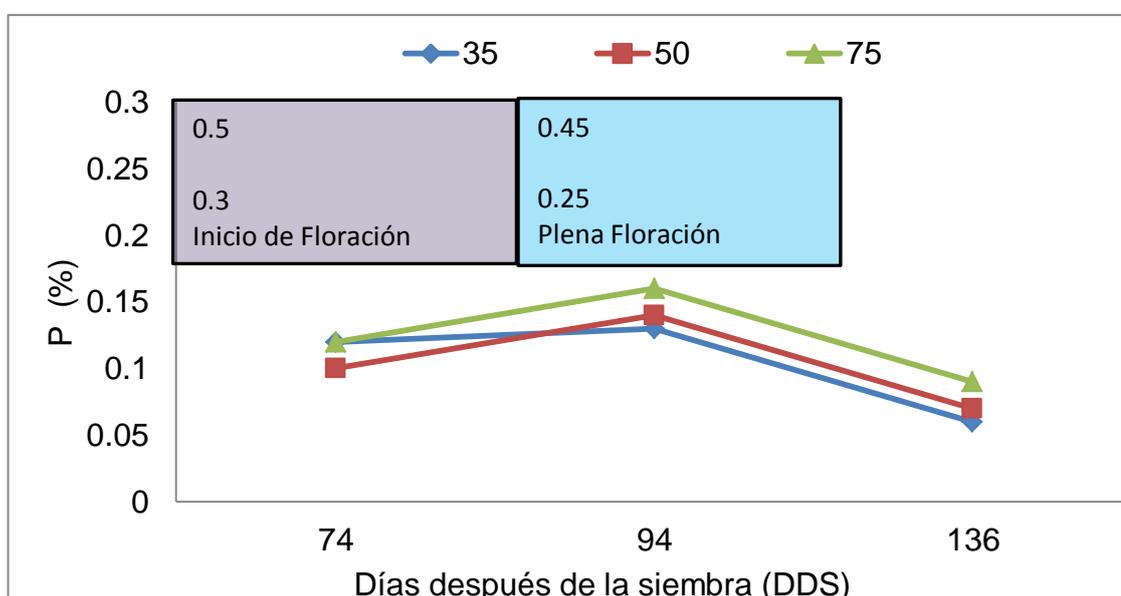


Figura 20. Influencia de la distancia entre surcos sobre el contenido de Fósforo en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos).

Independientemente de la cantidad de N aplicado al cultivo de algodón, el porcentaje de P incrementó de inicios de floración a una mayor concentración en plena floración, disminuyendo en la etapa de apertura de capullos. Al igual que el espaciamiento entre surcos los valores para todas las dosis de nitrógeno se encuentran por debajo de los requerimientos necesarios para un buen desarrollo del cultivo que son de 0.3 a 0.5 %

(Cuadro. 1) a inicios de floración y, de 0.25 a 0.45 % (Cuadro. 2) en plena floración (Mills y Jones, 1991).

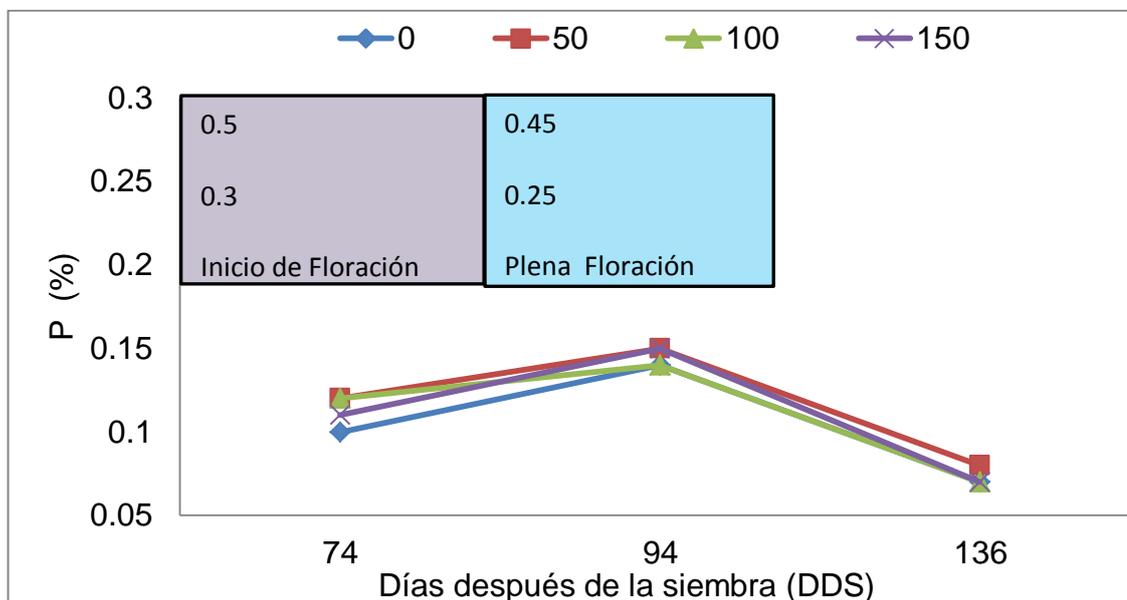


Figura 21. Influencia de las dosis de nitrógeno sobre el contenido de Fósforo en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos).

4. 4. 3. Dinámica del Potasio

Al igual que el N, el K es el nutriente que más se necesita para un adecuado crecimiento de las plantas (Daliparty *et al.*, 1994; Marschner, 1995). Para un buen crecimiento del cultivo, el rango de suficiencia se sitúa de 1.5 a 3 % al inicio de floración y entre 0.9 y 2 %) en plena floración (Mills y Jones 1991). La concentración de K foliar en el presente trabajo, tanto entre espaciamientos de surcos como entre dosis de N se encuentran dentro del rango de suficiencia (Cuadro 1 y 2), lo que sugiere que este elemento no fue factor limitante en el desarrollo del cultivo y en los rendimientos obtenidos (Figura 22). Halevy y Bazelet (1992) reportaron que al corregir la

deficiencia de K incrementa el número y el tamaño de los capullos, lo que a su vez aumenta la producción, así mismo al añadir K en suelos con deficiencia se incrementa la cantidad de fibra y de semilla producida (Kerby y Adams, 1985).

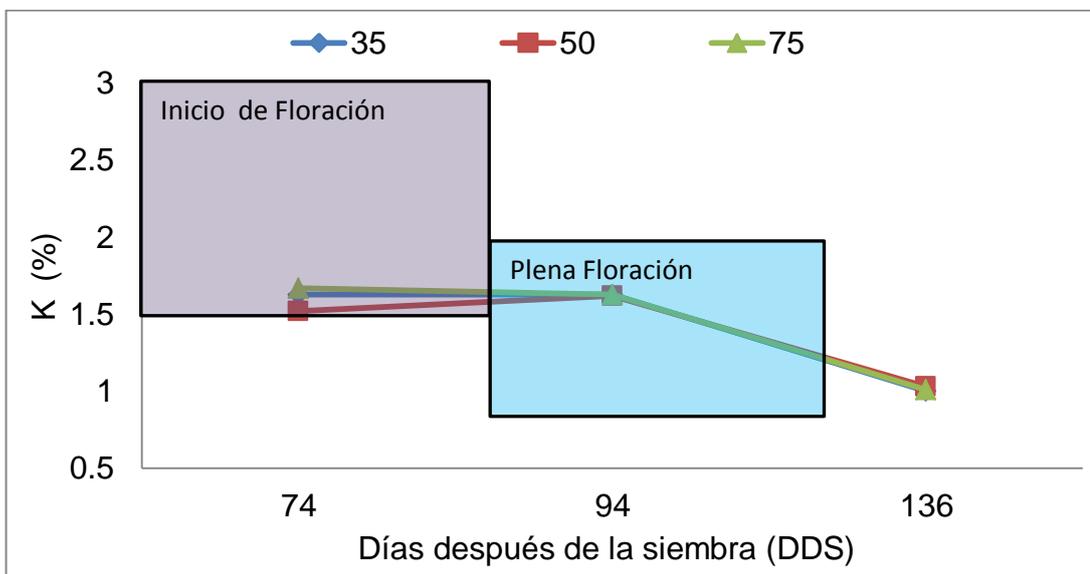


Figura 22. Influencia de la distancia entre surcos sobre el contenido de Potasio en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos)

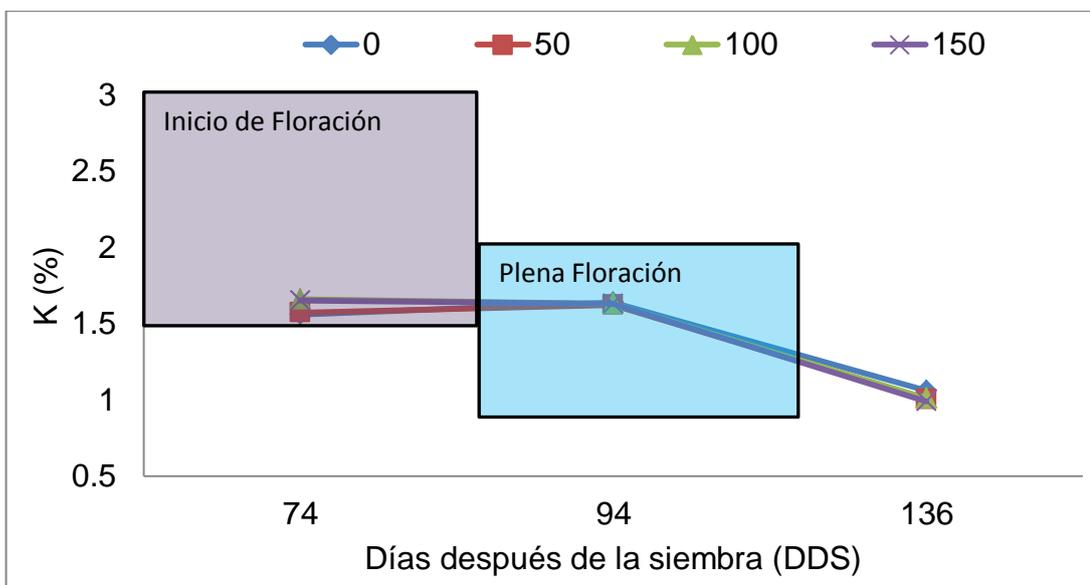


Figura 23. Influencia de las dosis de N sobre el contenido de Potasio en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos).

Weir *et al.* (1986) mencionan que el mayor depósito de K en las plantas son los carpelos (la pared del capullo del algodón) que puede contener hasta el 4 % de K y representa hasta el 60 % de todo el potasio acumulado por la planta, además Usherwood (1985) reporta que el K aumenta el grosor, longitud y la resistencia de la fibra del algodón.

4. 4. 4. Dinámica del Calcio

El calcio (Ca) es un constituyente vital de la pared celular y, en consecuencia, es indispensable para la actividad meristemática Halevy y Bazelet (1992). Mills y Jones (1991) indican que los rangos de suficiencia de Ca para la etapa de inicio de floración oscila de 2 a 3 % y para la etapa de plena floración entre 2.20 y 3.5 % (Cuadro 1 y 2), el análisis nutricional de Ca en esta investigación, para las distancias entre surcos (35, 50 y 75 cm) reflejó que la mayor concentración se obtuvo en los surcos sembrados a 35 cm y, la menor concentración en inicio y plena floración se obtuvieron en los surcos a 75 cm, en la etapa de apertura de capullos los surcos sembrados a 50 cm obtuvieron el menor valor de Ca foliar. Es importante resaltar que en todos los casos el contenido de Ca aumentó a medida que avanzó el desarrollo del cultivo (Figura 24). Lo anterior es entendible dado que el Ca es un elemento inmóvil por lo que se concentra en las hojas a través del tiempo, sucediendo lo contrario con los elementos móviles como el N, el cual se desplaza hacia los tejidos más jóvenes.

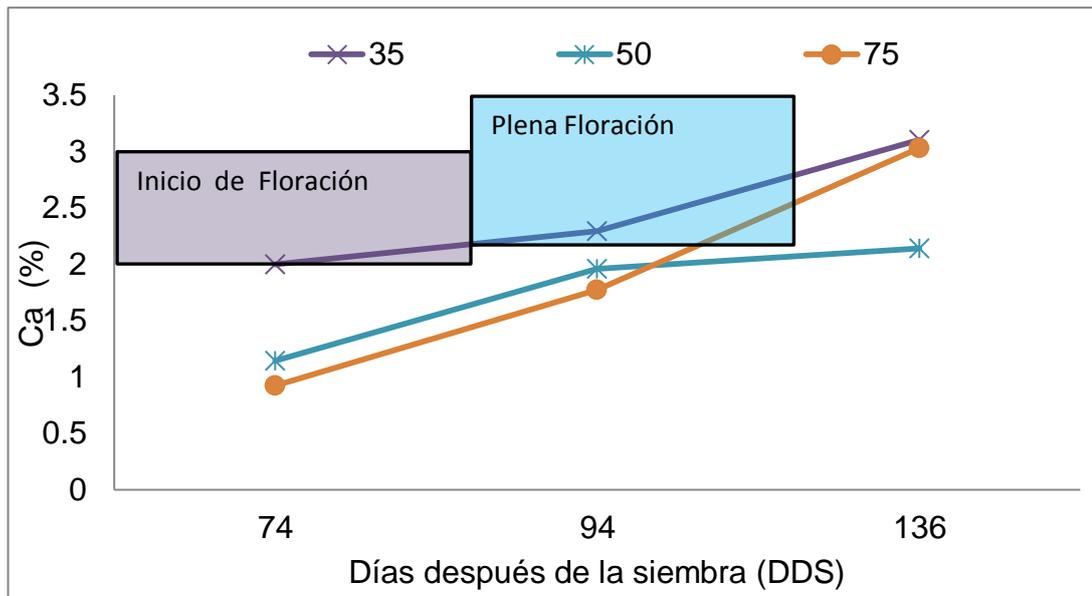


Figura 24. Influencia de la distancia entre surcos sobre el contenido de y Calcio en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos).

La influencia del Ca en el metabolismo del N depende principalmente de la fuente nitrogenada usada. Cuando la forma nitrogenada es NH_4^+ , la aplicación de calcio aumenta la absorción de NH_4^+ y mejora la utilización de N en la planta, mejorando los rendimientos de producción y biomasa (Ascón-Bieto, 2000). En cuanto a las diferentes dosis de nitrógeno aplicadas podemos apreciar que la concentración de Ca incrementó a medida que avanzaron las etapas fenológicas del cultivo (Figura 25).

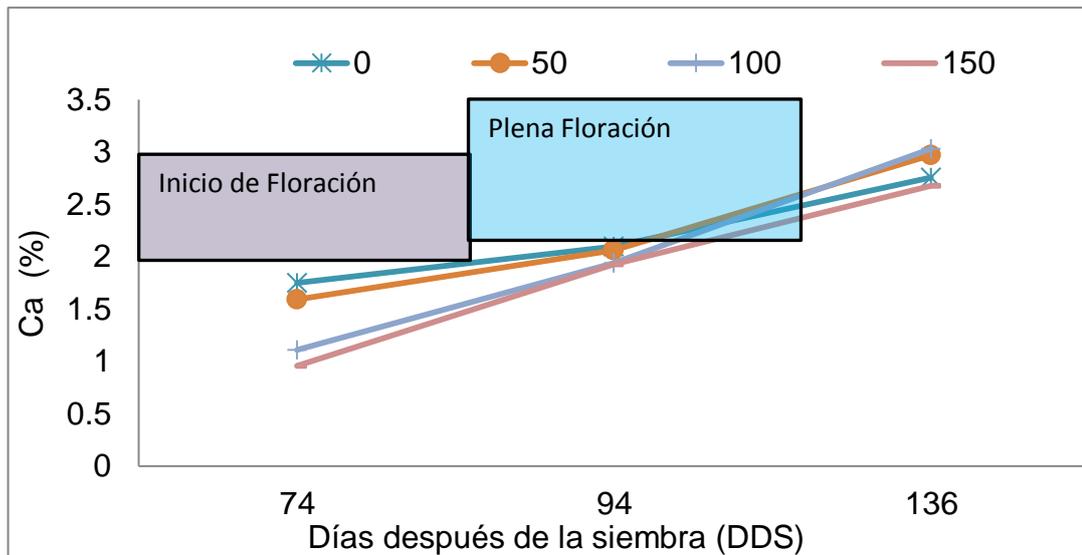


Figura 25. Influencia de las dosis de nitrógeno sobre el contenido de Calcio en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos).

Mills y Jones (1991) propusieron que los rangos de suficiencia de Ca para la etapa de inicio de floración se encuentran de 2 a 3 % de Ca y para la etapa de plena floración los rangos fluctúan entre 2.20 y 3.5 % de Ca (Cuadro 1 y 2), sin embargo, únicamente las plantas que presentaron valores dentro de los rangos de suficiencia para ambas etapas son las sembradas en surcos de 35 cm. Por otro lado, las plantas de los surcos a 50 y 75 cm se encontraron por debajo del rango óptimo (Figura 24). En cuanto a las dosis de N aplicadas, el análisis foliar reflejó una concentración de Ca por debajo del rango de suficiencia en ambas etapas del cultivo (Figura 25).

4. 4. 5. Dinámica del Magnesio

El papel más conocido del magnesio (Mg) en las plantas es su presencia en el centro de la molécula de clorofila y por esto es esencial para la fotosíntesis, también está involucrado en el metabolismo de proteínas

(Mengel y Kirkby, 1978). El análisis nutricional de Mg en nuestro estudio indica que su concentración a inicio de floración y plena floración es muy similar lo que sugiere que en ambas etapas del cultivo existió una gran demanda del Mg, sin embargo, en la fase de apertura de capullos decayó la concentración (Figura 26).

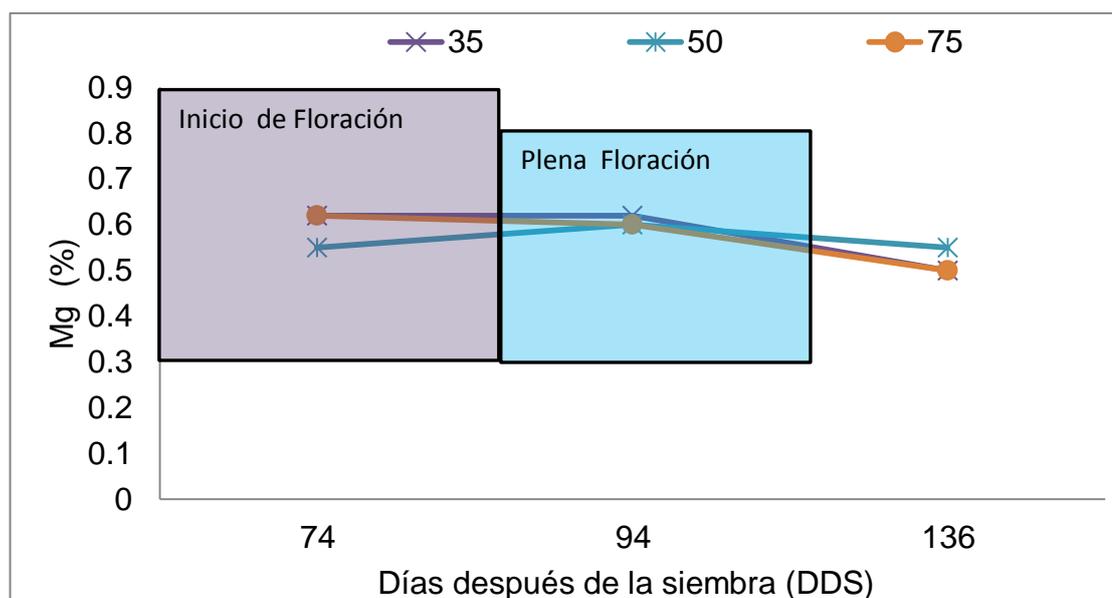


Figura 26. Influencia de la distancia entre surcos sobre el contenido de Magnesio en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos).

Los niveles de N aplicados no afectaron el porcentaje de Mg en las etapas del cultivo (inicio de floración, plena floración y apertura de capullos) (Figura 27). El síntoma característico de la deficiencia de Mg es el color purpura-rojizo de las hojas mientras las nervaduras permanecen verdes, las hojas bajas son afectadas primero, luego las situadas inmediatamente arriba. A medida que las hojas más viejas mueren caen prematuramente y el rendimiento de fibra de algodón se reduce apreciablemente debido a la pérdida de hojas (Ebelhar y Welch, 1996).

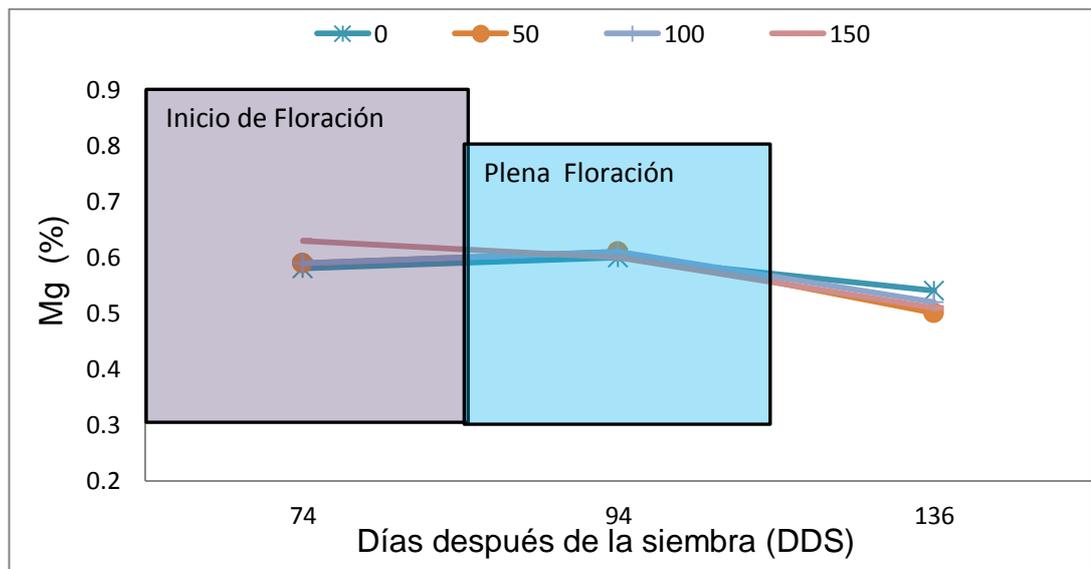


Figura 27. Influencia de las dosis de nitrógeno sobre el contenido de Magnesio en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos).

El rango de suficiencia del Mg se encuentra de (0.30 a 0.90 %) en la etapa de inicio de floración (0.30 a 0.80 %) y en plena floración del algodón (Cuadro 1 y 2 respectivamente), los valores obtenidos en distancias entre surcos y diferentes niveles de nitrógeno se encuentran dentro de los rangos de suficiencia respectivamente (Figura 26 y 27 respectivamente) (Mills y Jones, 1991).

4. 4. 6. Dinámica del Sodio

El sodio estimula el crecimiento a través del alargamiento celular y puede sustituir al potasio como un soluto osmóticamente activo (Gil-Martínez, 1994). Los resultados obtenidos muestran que la concentración más alta de Na en la etapa de inicio de floración se obtuvo los surcos de 35 cm y respecto a las plantas sembradas en los surcos de 50 y 75 cm quienes obtuvieron los valores más bajos de Na respectivamente. En plena floración

también se mostraron valores donde los surcos de 35 y 75 cm obtuvieron los estándares más altos (0.021 %) respectivamente y por consiguiente los surcos a 50 cm presentaron un valor bajo (0.02 %) (Figura 28). En los surcos espaciados a 35 y 50 cm el contenido de Na foliar tendió a incrementarse a medida que aumentó la distancia entre surcos, en cambio en los surcos de 75 cm tendió a incrementarse hasta los 94 DDS, después decayó.

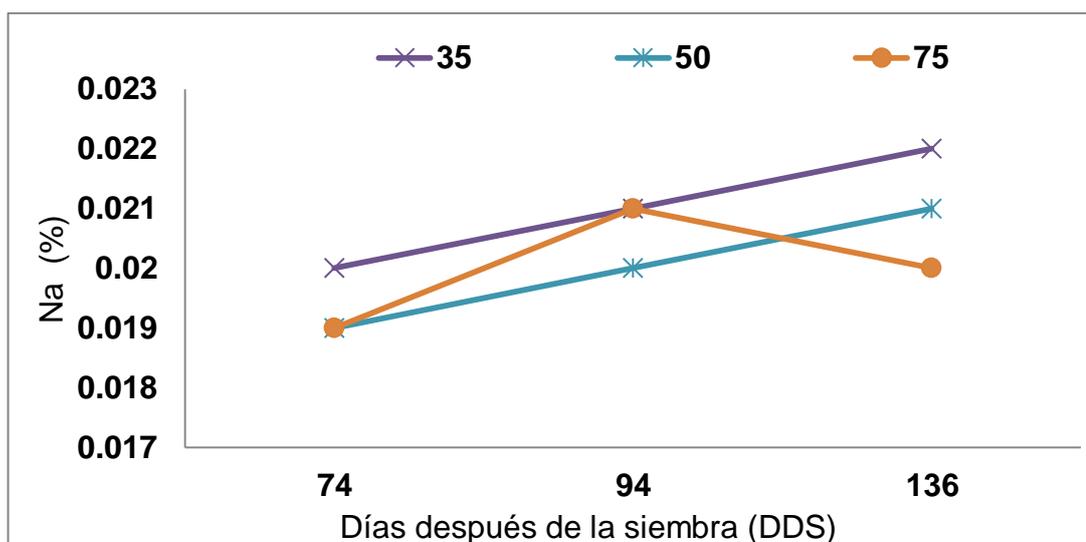


Figura 28. Influencia de la distancia entre surcos sobre el contenido de Sodio en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos).

La dinámica del Na al aplicar diferentes dosis de N presentó valores bajos en la etapa de inicio de floración y posteriormente incrementó en plena floración pero al final, en apertura de capullos decreció nuevamente (Figura 29).

En todas las dosis de N aplicadas el contenido de Na foliar tiende a incrementarse desde inicios de floración a máxima floración (94 DDS) para después declinar en la fase de apertura de capullos (136 dds). El mayor contenido de Na se presentó en la dosis de 150 kg de N ha⁻¹ y, la menor en

los tratamientos que no recibieron N. Lo cual indica que la dosis de N influye en la absorción de Na por la planta (Figura 29).

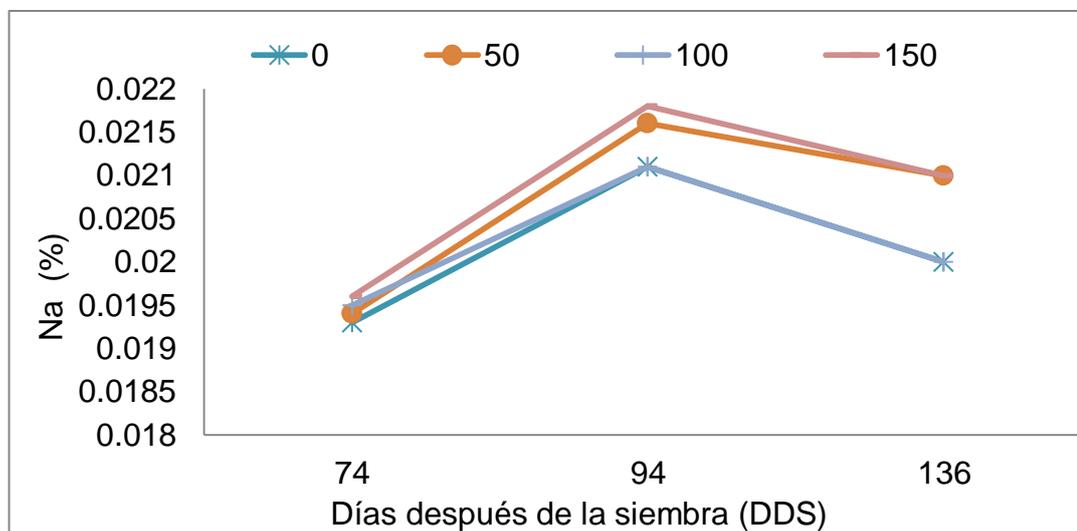


Figura 29. Influencia de las dosis de nitrógeno sobre el contenido de Sodio en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos).

4. 4. 7. Dinámica del Zinc

Es importante en la regulación del crecimiento vegetal y participa como activador de numerosas enzimas como la anhidrasa carbónica, e interviene en la síntesis de proteínas, la deficiencia de zinc se presenta en brotes nuevos de las plantas por ser un elemento inmóvil (Favela *et al.*, 2000). En los tres espaciamientos de surcos los valores obtenidos en la concentración de Zinc, se observó un incremento en plena floración a diferencia de la fase de inicio de floración y posteriormente en apertura de capullos decreció la concentración, lo que sugiere una mayor demanda del nutriente en plena floración (Figura 30).

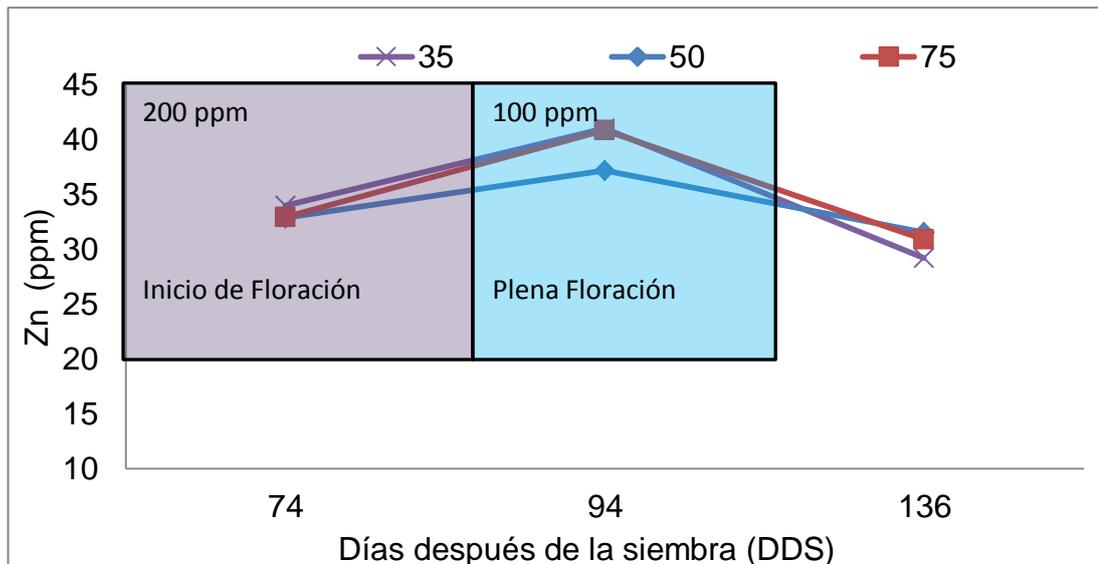


Figura 30. Influencia de la distancia entre surcos sobre el contenido de Zinc en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos)

La aplicación de las diferentes dosis de N mostró un comportamiento similar a la dinámica que muestra las diferentes distancias de surcos. Independientemente de la dosis de N aplicada, la concentración de zinc incrementó de inicio de floración a plena floración, posteriormente en apertura de capullos declinó su concentración (Figura 31). El zinc aumenta su eficiencia de absorción, ya que es requerido para la síntesis de auxinas y la fotosíntesis. Además es crítico para varias enzimas clave en la planta que convierten el dióxido de carbono a bicarbonato. Lo que permite la respiración en puntas de las raíces en condiciones anaeróbicas (falta de oxígeno) y se utiliza en la formación de proteínas (Oosterhuis *et al.* 1991).

Mills y Jones (1991) mencionan que la concentración del Zinc a inicio de floración se encuentra en un rango de suficiencia de 20 a 200 ppm (Cuadro 1), para la etapa de plena floración de 20 a 100 ppm (Cuadro 2). En el presente estudio tanto para distancias entre surcos y dosis de nitrógeno la concentración de Zinc se ubicó dentro del rango de suficiencia (Figura 30 y

31), lo que indica que este elemento por sí solo no pudo ser un factor limitante en el desarrollo y rendimiento del algodón.

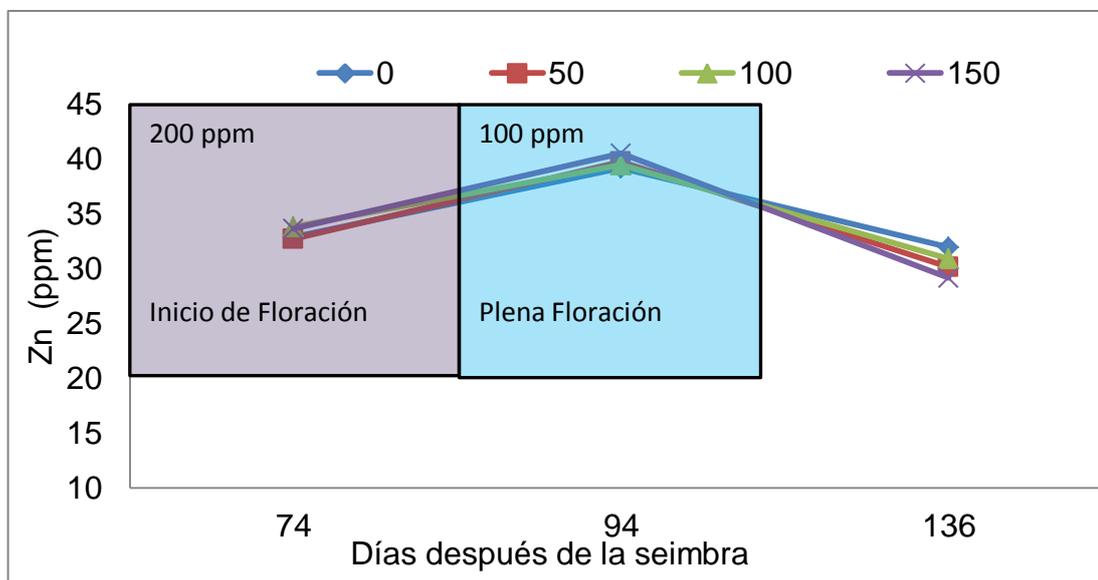


Figura 31. Influencia de la dosis de nitrógeno sobre el contenido de Zinc en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos).

4. 4. 8. Dinámica del Níquel

El Ni es un micronutriente que está fuertemente relacionado con el metabolismo del N en las plantas (Bai *et al.*, 2007). Los resultados obtenidos en este estudio reflejan que el comportamiento del Ni es inconsistente en los tres espaciamientos entre surcos, tendiendo a bajar en plena floración en los surcos de 35 y 50 cm sucediendo lo contrario en los surcos de 75 cm (Figura 32).

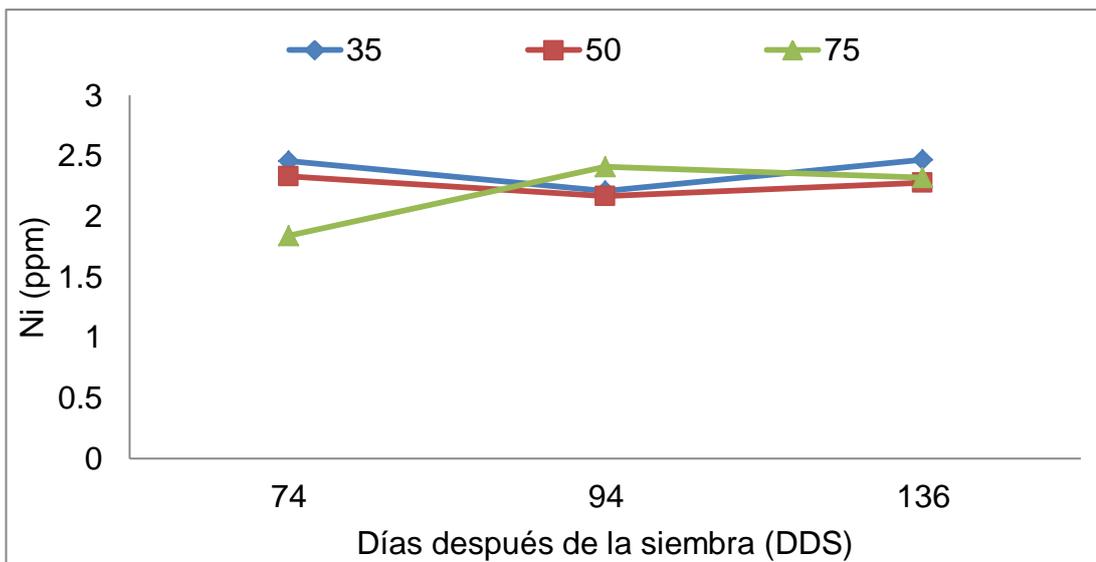


Figura 32. Influencia de la distancia entre surcos sobre el contenido de Níquel en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos).

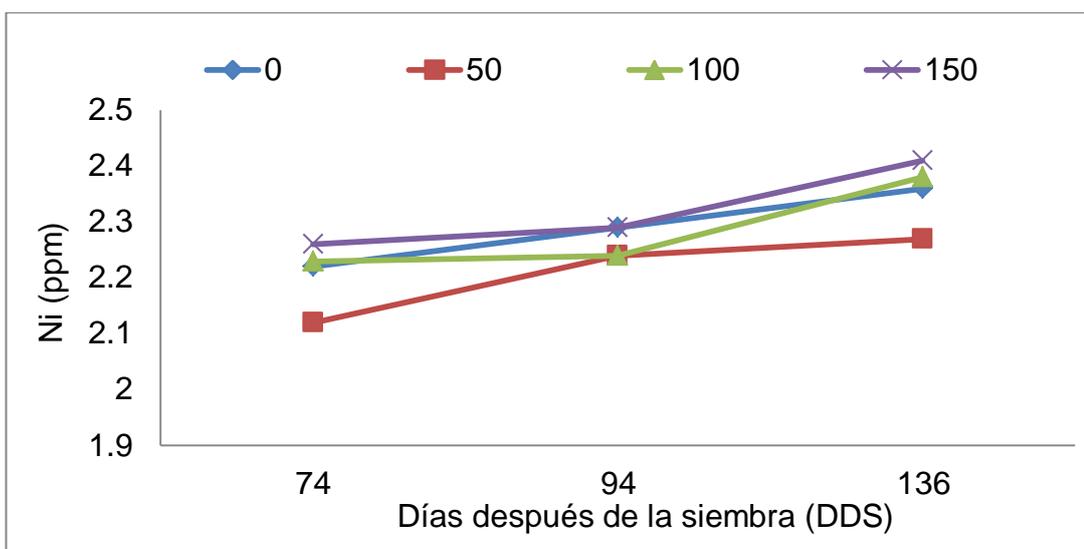


Figura 33. Influencia de la dosis de nitrógeno sobre el contenido de Níquel en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos)

La dinámica del Níquel según la dosis de nitrógeno presentó un incremento en la concentración a medida que avanzaron las etapas fenológicas del cultivo. Los valores más altos se presentaron donde se

aplicaron 150 kg de N ha⁻¹ que a su vez alcanzaron el mayor rendimiento y los valores más bajos en la concentración de Ni se obtuvieron con la dosis de 50 kg de N ha⁻¹ (Figura 33).

4. 4. 9. Dinámica del Cobre

El cobre es un micronutriente que se encuentra presente en diversas enzimas o proteínas implicadas en los procesos de oxidación y reducción, por ejemplo, la citocromo oxidasa, una enzima respiratoria que se encuentra en las mitocondrias y la plastocianina, una proteína de los cloroplastos que cataliza la transferencia de electrones entre el citocromo b₆f y el fotosistema I (Raven *et al.*, 1999). Las concentraciones de Cu de acuerdo al análisis foliar, al inicio de floración fueron menores que en la etapa de plena floración, sin embargo, en apertura de capullos disminuyó su concentración, lo que indica que la mayor demanda de Cu ocurre en plena floración (Figura 33). Al respecto las plantas rara vez tienen deficiencia de Cu, en parte porque lo requieren en cantidades muy pequeñas. En ausencia de Cu las hojas jóvenes con frecuencia adquieren un color verde oscuro y están arrugadas o deformes, y muchas veces exhiben manchones necróticos (Salisbury y Ross 1991).

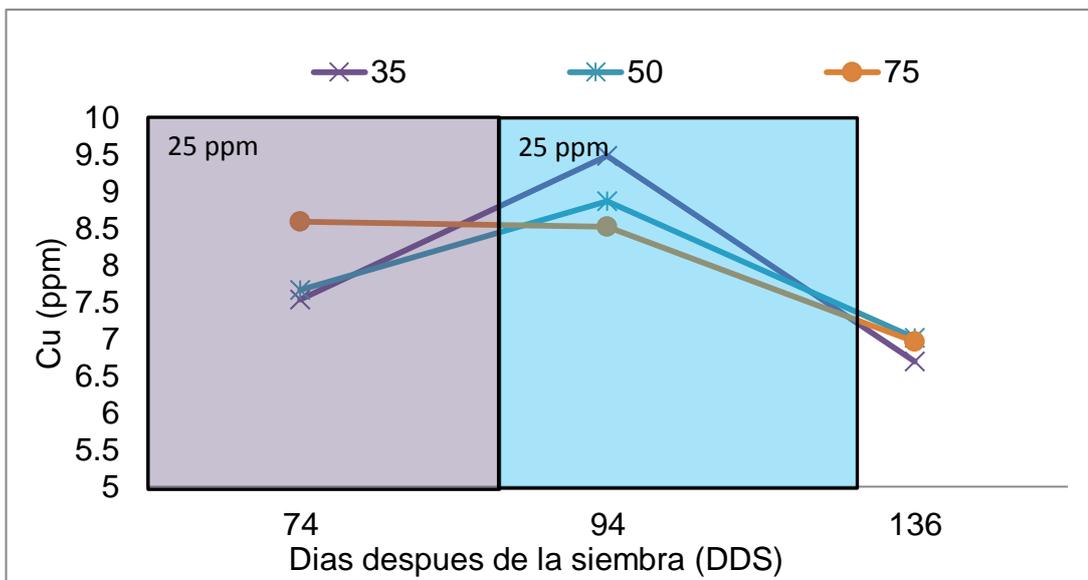


Figura 34. Influencia de la distancia entre surcos sobre el contenido de Cobre en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos).

Por otro lado, de acuerdo a las dosis de N aplicadas la concentración de Cu en las plantas siguió un comportamiento similar al de la distancia entre surcos. Existió un notable incremento en la concentración de Cu en plena floración (Figura 34).

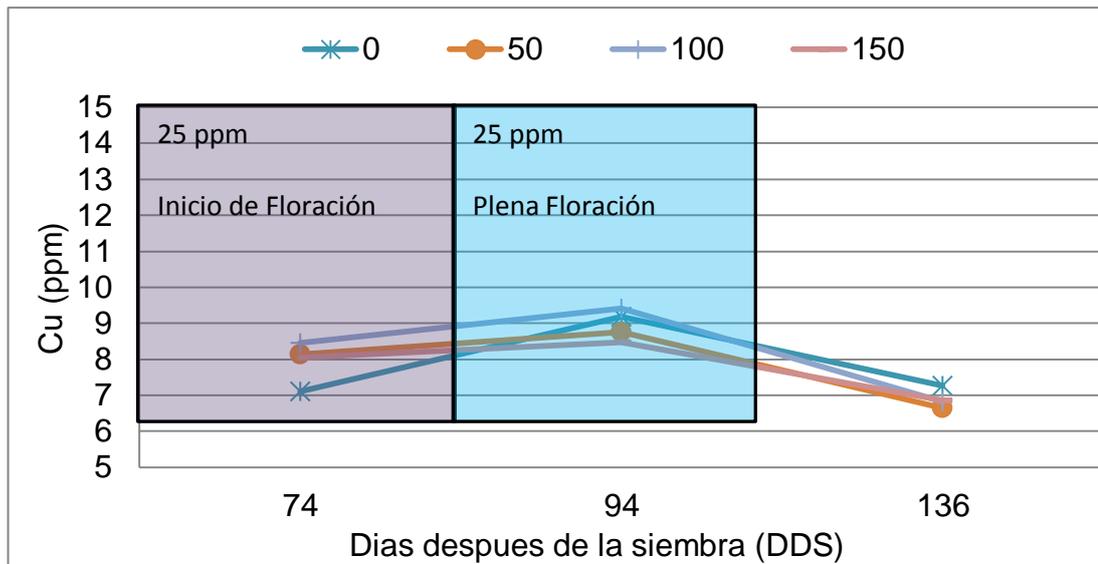


Figura 35. Influencia de la dosis de nitrógeno sobre el contenido de Cobre en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos).

Los rangos de suficiencia en la concentración de Cu para inicios de floración y plena floración en algodón van de 5 a 25 ppm en ambas etapas del cultivo (Cuadro 1 y 2) (Mills y Jones, 1991). Los resultados del análisis foliar mostró que los contenidos de Cu, tanto en distancias entre surcos y dosis de N las concentraciones se encontraron dentro del rango de suficiencia.

4. 4. 10. Dinámica del Hierro

El Fe es un elemento esencial necesario para la respiración, la fotosíntesis y muchas otras funciones celulares como la síntesis del ADN, fijación el nitrógeno y la producción de hormonas. Aun que es abundante en la naturaleza, a menudo no está disponible debido a que se forman complejos insolubles de hidróxido férrico en presencia de oxígeno aun pH neutro o básico (Guerinot y Yi, 1994) El análisis foliar para determinar la

concentración y comportamiento de Fe indicó que los surcos de 35 y 50 cm tuvieron un comportamiento similar mostrando un incremento en la etapa de plena floración, para posteriormente disminuir, indicando una mayor demanda del nutriente en esta etapa (Figura 35).

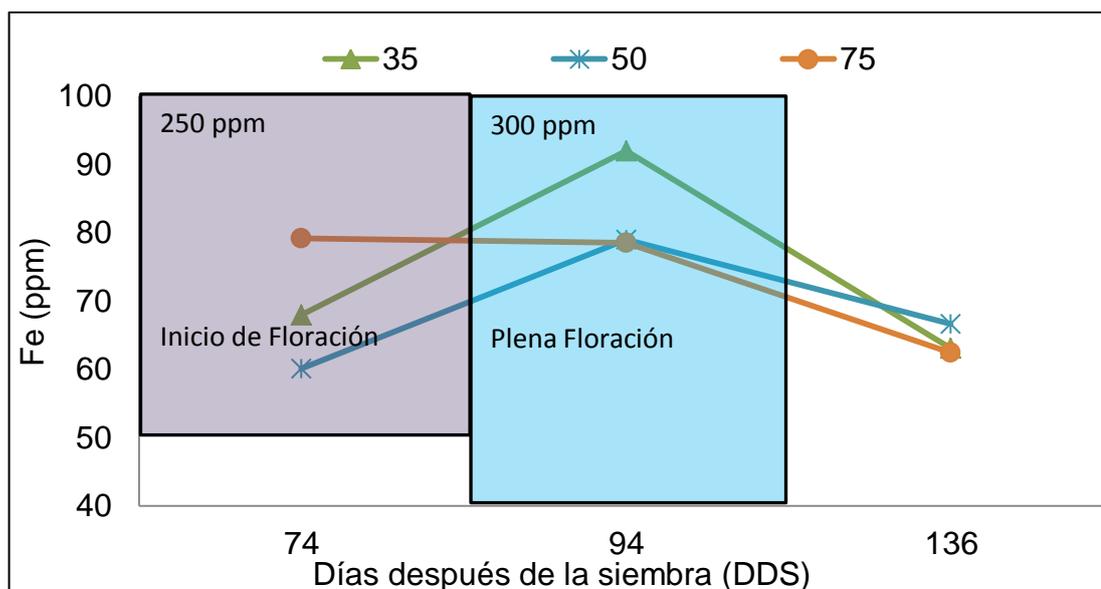


Figura 36. Influencia de la distancia entre surcos sobre el contenido de Hierro en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos).

A inicios de floración se presentó un mayor contenido de Fe en los surcos de 75 cm, luego en los de 35 y las plantas que menos concentración mostraron fueron las sembradas en surcos de 50 cm. En plena floración la mayor concentración de hierro se tuvo en los surcos de 35 cm, en tanto que en los surcos de 50 y 75 cm se obtuvo la misma concentración. De lo anterior se infiere que la distancia entre surcos influye en el contenido foliar de hierro en la etapa que más lo necesita.

Por otra parte en las dosis de nitrógeno aplicadas, en general las plantas de algodón mostraron un incremento en el contenido de Fe en la etapa de plena floración, indicando que el cultivo de algodón requiere más nutrimento en esta etapa (Figura 36).

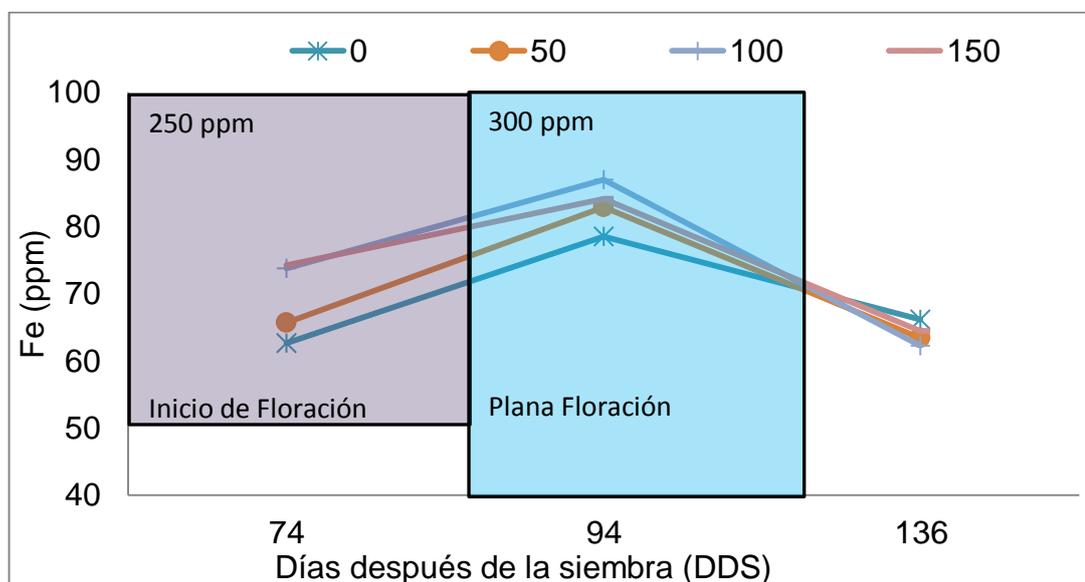


Figura 37. Influencia de la dosis de nitrógeno sobre el contenido de Hierro en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos).

Mills y Jones (1991) describen que el rango de suficiencia para el Fe en la etapa de inicio de floración va desde 50 a 250 ppm y desde 40 a 300 ppm en la fase de plena floración (Cuadro 1 y 2), de acuerdo con lo anterior, los valores presentados por las plantas sembradas tanto en diferentes distancia entre surcos como distintas dosis de N se encuentran dentro del rango de suficiencia (Figura 35 y 36).

4. 4. 11. Dinámica del Manganeso

El Manganeso es un micronutriente esencial para la síntesis de clorofila, su función principal está relacionada con la activación de enzimas

como la arginasa y fosfotransferasas (Romheld *et al.*, 1993). En el presente trabajo, la concentración de Mn registró un incremento en plena floración, en esta fase el mayor contenido de Mn se obtuvo en los surcos de 35 cm seguido por los espaciados a 75 cm (Figura 38).

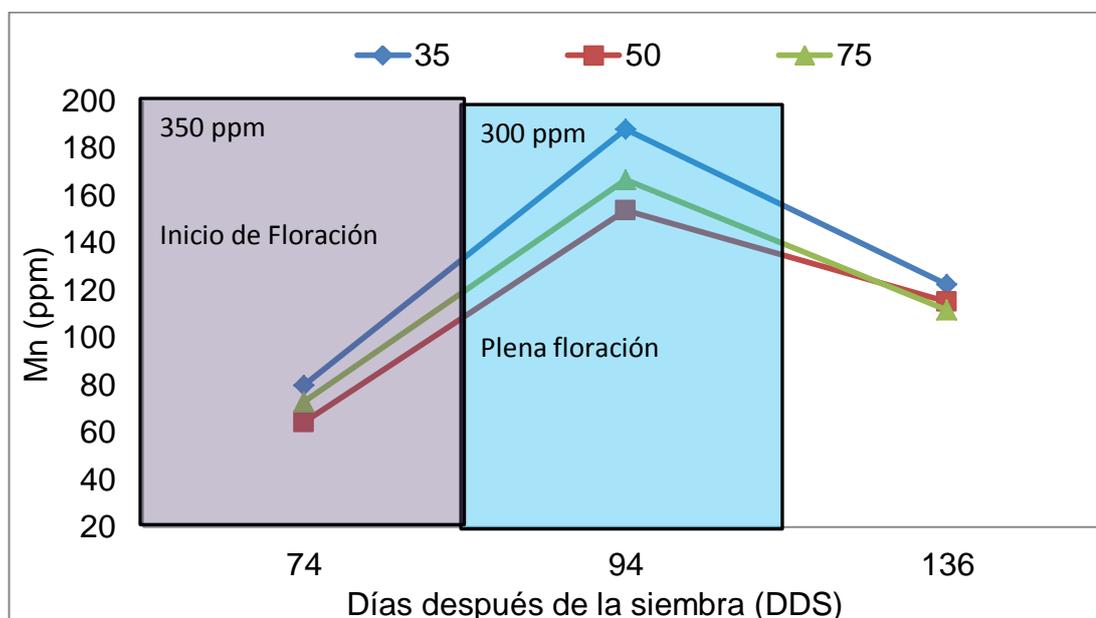


Figura 38. Influencia de la distancia entre surcos sobre el contenido de Manganeso en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos).

En dosis de nitrógeno, la concentración foliar de Mn, aunque con mínimas diferencias entre ellas, presentó un comportamiento similar a la dinámica presentada por la distancia entre surcos. Como en todos los casos el contenido de elementos minerales en la etapa de plena floración, fue mayor que en otras fases de crecimiento del cultivo, lo que implica una mayor extracción de dichos elementos del suelo para satisfacer la demanda del mismo. Se puede apreciar una mayor demanda de Mn en la fase de plena floración a diferencia de inicios de floración que es menor y

posteriormente en la fase de apertura de capullos disminuyó su concentración (Figura 38).

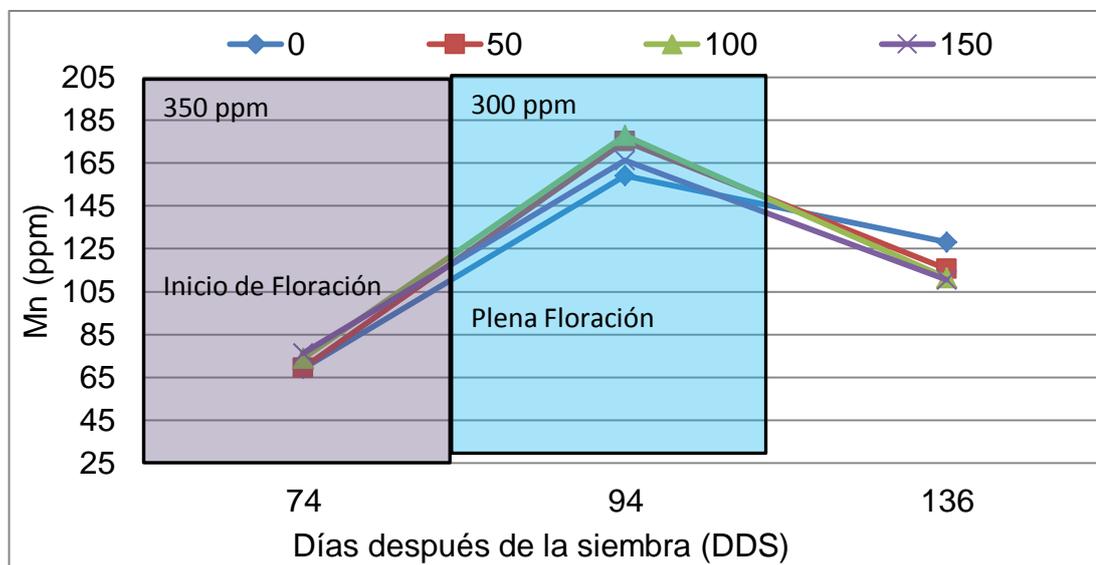


Figura 39. Influencia de la dosis de nitrógeno sobre el contenido de Manganeso en algodón (Inicio de floración, plena floración y apertura de capullos).

La deficiencia de Mn no es común. La dosis de N no tuvo un mínimo efecto en la absorción de Mn ya que en todos los niveles de N se observó un incremento en su contenido foliar en la etapa de plena floración (Figura 38). Las plantas de algodón pueden absorber cantidades tóxicas de Mn cuando el pH del suelo es menor a 5 (Le Mare, 1982), sin embargo, en nuestro estudio el rango de suficiencia del Mn al inicio de la floración del algodón es de 25 a 300 ppm y para plena floración va de 30 a 350 ppm (Mills y Jones, 1991). En este estudio los valores de concentración se encontraron dentro del rango de suficiencia (Cuadro 1 y 2), tanto para distancias entre surcos y diferentes dosis de nitrógeno (Figura 37 y 38).

4. 5. Dinámica del contenido de clorofila total foliar en algodón

La clorofila, en sus diversas formas, es el pigmento fotosintético primario en las plantas superiores y su contenido depende de la concentración de N foliar y la dosis de fertilización del mismo (Haboudane *et al.*, 2002). En nuestro estudio, el comportamiento de clorofila total para diferentes distancias entre surcos y dosis de N presentó una dinámica donde a inicios de floración hay una alta concentración de clorofila total en las hojas de algodón indicando un mayor contenido de N (Figura 39 y 40), posteriormente disminuyó en la etapa de plena floración probablemente una menor disponibilidad de N en las hojas de algodón, debido a una alta demanda de los pigmentos para la formación de estructuras productivas. Es importante resaltar que la cantidad de clorofila por unidad de área de las hojas constituye uno de los indicadores de la capacidad fotosintética de las plantas, ya que representa una medida de las dimensiones del sistema fotosintético y de su eficiencia (Huang *et al.*, 2004; García., *et al.* 2005). Por esta razón, el estudio de la dinámica de los pigmentos fotosintéticos a través del tiempo nos ayudó a esclarecer el comportamiento de las plantas de algodón en la utilización de N, sin olvidar el efecto que tienen la energía lumínica, CO₂, agua y otros nutrimentos durante su ciclo de desarrollo, además esto se relaciona con el rendimiento de materia seca, la edad de la planta y sus respectivos contenidos de pigmentos. En forma general, los surcos de 35 cm tuvieron valores superiores de clorofila y el mayor rendimiento de algodón hueso y pluma, se debió probablemente a que captan mayor radiación solar evitando que llegue al suelo y manteniendo la humedad del mismo lo que se traduce en mayor producción de

fotoasimilados. Es claro que la cantidad de radiación solar absorbida por una hoja es, mayormente, una función de la concentración foliar de pigmentos fotosintéticos activos, por tanto, mayores concentraciones de clorofila pueden favorecer directamente el potencial fotosintético y la producción primaria de la planta (Richardson *et al.* 2002). Los surcos de 50 cm tuvieron valores intermedios y ocuparon el segundo lugar en rendimiento de algodón hueso y pluma, por último, los surcos de 75 cm presentaron los valores más bajos de clorofila total y también el menor rendimiento.

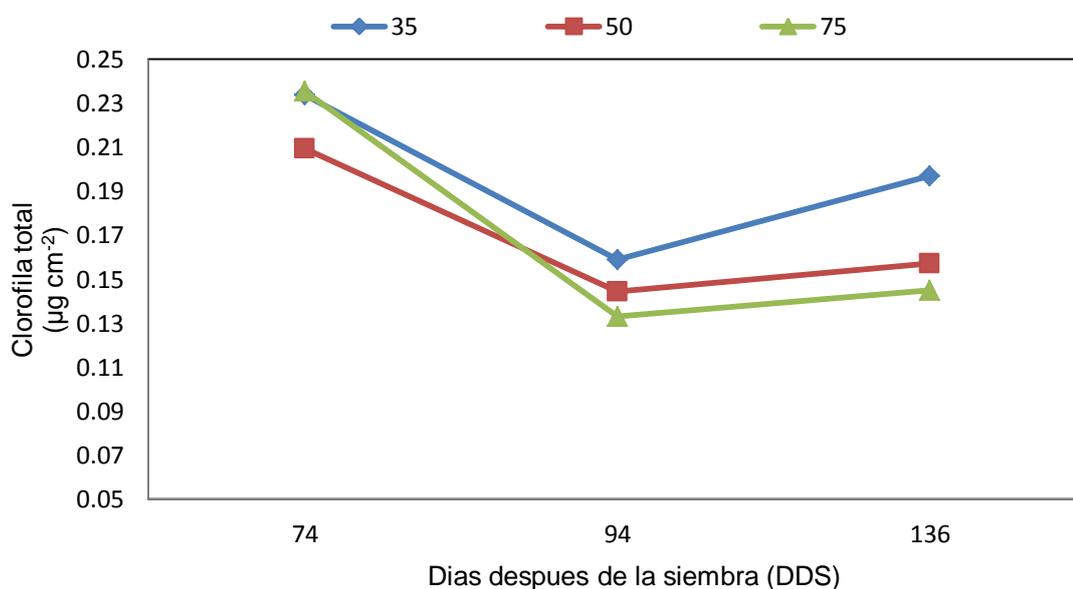


Figura 40. Clorofila total en algodón bajo diferentes distancias entre surcos en las etapas de “inicio de floración, plena floración y apertura de capullos.

La clorofila total de acuerdo a la aplicación de diferentes dosis de N, reflejó en forma general que las plantas donde se aplicó una dosis de 150 kg de N ha⁻¹ mantuvieron valores superiores a los registrados donde se aplicaron las demás dosis (Figura 40), lo cual se relaciona con el mayor rendimiento de algodón hueso y pluma obtenido, la productividad y

rendimiento de los cultivos depende de muchos procesos fisiológicos, entre ellos, la fotosíntesis es el principal, pues está bien establecido que este proceso contribuye con 90 % del total de materia seca de la planta (Sage y Kubien, 2007). Existen además, múltiples factores, como la radiación solar, temperatura, precipitaciones, edad, tipo de planta, nutrición y manejo, que influyen en su eficiencia. En caso contrario, las plantas donde se aplicaron dosis de 50 kg de N ha⁻¹ presentaron los valores de clorofila más bajos y a su vez el menor rendimiento de algodón, incluso por debajo de donde no se aplicó N.

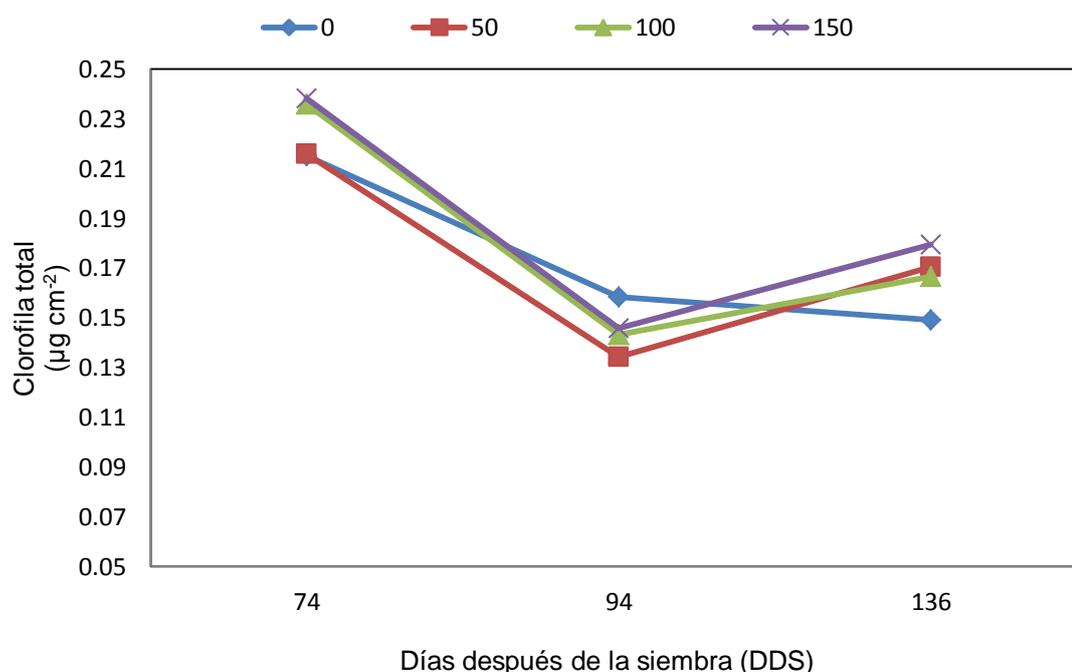


Figura 41. Clorofila total en algodón bajo diferentes dosis de nitrógeno en las etapas de “inicio de floración, plena floración y apertura de capullos.

4.6. Dinámica de los valores SPAD en algodón

El medidor portátil de clorofila SPAD-502, es un instrumento utilizado para la medida relativa del verdor en los tejidos de las hojas (Hoeft Peck,

2002). Es utilizado como una herramienta a tener en cuenta en los programas de fertilización de los diferentes cultivos como: maíz, algodón, trigo, papa, entre otros (Arregui *et al.*, 2000). En esta investigación, de forma general para las tres distancias entre surcos se pudo observar que al inicio de floración los valores SPAD fueron altos lo que sugirió una buena concentración N en las hojas de algodón, sin embargo, en la segunda semana de floración se registraron valores SPAD bajos probablemente debido a que la concentración de N disminuyó en hoja como se muestra en el contenido de N orgánico y que coincide con la gráfica de clorofila total, lo que sugiere que existió una considerable demanda de n por el cultivo para la formación de estructuras productivas. Se ha reportado que la cantidad de clorofila presenta una alta correlación con las unidades SPAD medidas (Piekielek y Fox, 1992).

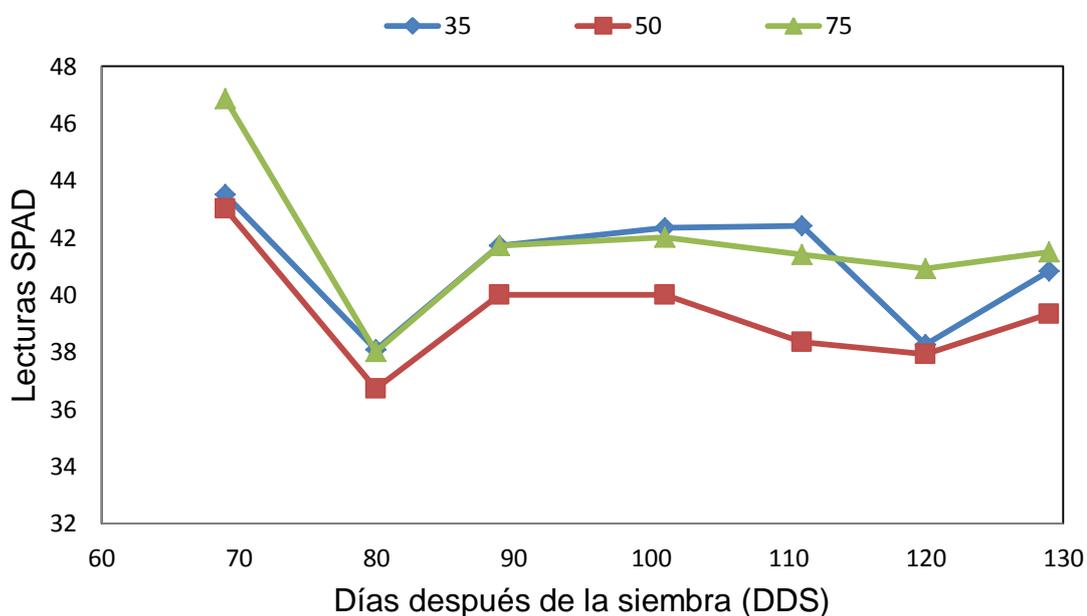


Figura 42. Efecto de las distancias entre surcos sobre la dinámica de los valores SPAD en algodón.

Cabe hacer mención que los valores más altos se registraron en los surcos a 75 cm sin reflejarse en mayor rendimiento pero si en acumulación de biomasa, por otro lado, los surcos de 35 cm tuvieron valores intermedios pero alcanzaron el máximo rendimiento de algodón. Por último, los surcos de 50 cm presentaron los valores SPAD más bajos y tuvieron un rendimiento de algodón intermedio.

Feibo *et al.* (1998) encontraron que es posible diagnosticar la condición de crecimiento durante los estados iniciales de la floración de algodón, usando las unidades SPAD, al descubrir regresiones altamente significativas entre estos valores y la dosis de fertilizante nitrogenado. Los valores SPAD de acuerdo a las diferentes dosis de N aplicadas mostraron un comportamiento similar a la dinámica general que se presentó en diferentes distancias entre surcos (Figura 42). En la mayoría de los trabajos publicados donde correlacionan las unidades SPAD con nitrógeno o clorofila, se presentó la misma tendencia, incluso es factible dar seguimiento al contenido de nitrógeno en el desarrollo del cultivo con el manejo del SPAD-502 (Wood *et al.*, 1992). En este caso, las unidades SPAD y la clorofila total presentaron una dinámica semejante. Es importante resaltar que la dosis de 150 kg de N ha⁻¹ presentó los valores SPAD más elevados y a su vez el mayor rendimiento de algodón, en seguida la dosis de 100 kg de N ha⁻¹ con valores SPAD intermedios obtuvo el segundo lugar en rendimiento y, por último, la dosis de 50 kg de N ha⁻¹ presentó una dinámica similar a donde no se aplicó N, sin embargo, el rendimiento fue menor. Esto probablemente se

debió a que el nitrógeno fue utilizado para formar más estructuras foliares (tallos, ramas, hojas) sin traducirse en mayor producción de fibra.

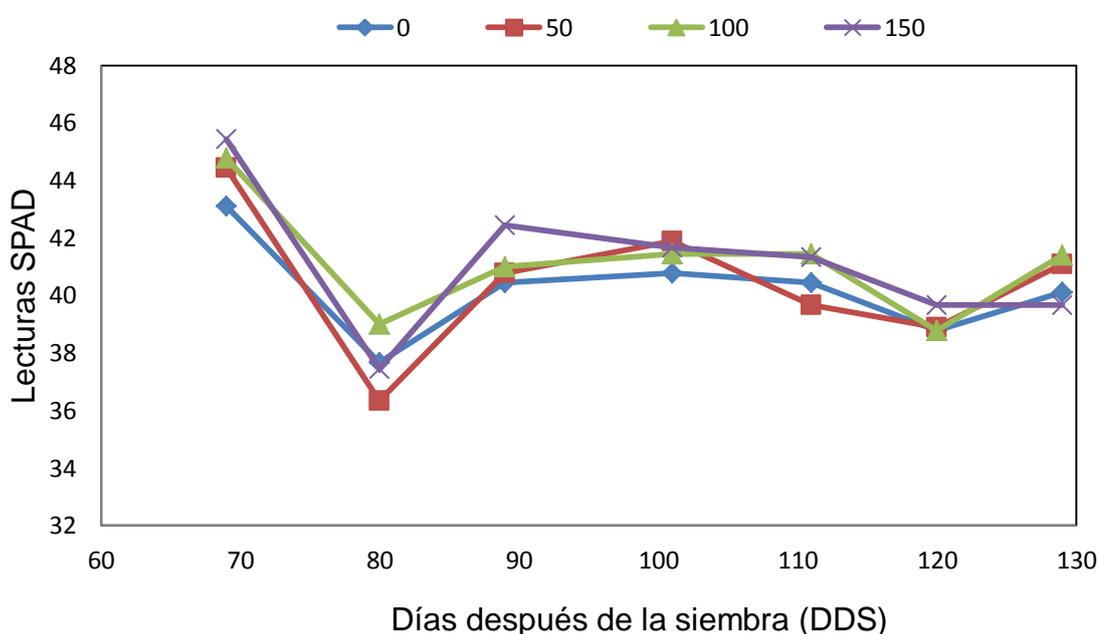


Figura 43. Efecto de las dosis de nitrógeno sobre la dinámica de los valores SPAD en algodón.

Los valores SPAD se basan en el principio de que la parte de luz que llega a la hoja es absorbida por la clorofila y el resto se trasmite a través de ella entrando en contacto con la celda detectora, la cual es convertida 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 a dimensiones que van desde 0 a 199, por lo que las unidades SPAD serán siempre las mismas de acuerdo con el tono verde de las hojas (Sainz y Echeverria, 1998).

V. CONCLUSIONES

- La siembra de algodón a distancias entre surcos de 35 y 50 cm mostraron valores de nitrógeno inferiores al rango de suficiencia, sin embargo incrementaron la producción en un 35 y 10 % respectivamente, a diferencia de la siembra de algodón en surcos a 75 cm que mostraron los valores más altos de nitrógeno (dentro del rango de suficiencia) y biomasa total foliar, por lo tanto, el nitrógeno no siempre se traduce en mayor producción de fibra sino que se utiliza en para la formación de estructuras foliares.
- Por otro lado al aplicar la dosis de Nitrógeno de 100 Kg ha⁻¹ se obtuvieron valores de N más altos (dentro del rango de suficiencia en inicio y plena floración del algodón), sin embargo, la dosis de 150 Kg de N ha⁻¹ fue la mejor al obtener la máxima producción de algodón hueso, la mayor acumulación de biomasa total foliar a través del tiempo y valores de N intermedios dentro del rango de suficiencia, lo que indica que no siempre una alta concentración de N se traduce en una mayor producción.
- La actividad enzimática NR endógena en las tres etapas fenológicas de análisis fue mayor en las plantas donde se aplicaron 150 kg de N ha⁻¹ y las sembradas en surcos de 35 cm que de igual forma obtuvieron el mayor rendimiento de algodón. Las diferentes dosis de N y distancias entre surcos, reflejaron durante las tres etapas de análisis, las necesidades fisiológicas de NO₃⁻ y Mo o la combinación de ambos factores para activar la enzima y expresar su mayor

actividad en el metabolismo del N. Por, lo que, la actividad enzimática NR *“in vivo”* pudiera utilizarse como un bioindicador del estado nutricional del N en algodón a diferencia de la enzima ureasa.

- Potasio, Cobre, Hierro, Zinc, Manganeso y Magnesio presentaron valores dentro del rango de suficiencia, tanto para aplicación de diferentes dosis de nitrógeno como para distancia entre surcos, por lo tanto, el crecimiento, desarrollo del cultivo y producción de algodón no fueron limitados por estos elementos. El fósforo presentó valores por debajo de los rangos de suficiencia, siendo este elemento el que más limitó la producción de algodón.
- Tanto en diferentes distancias de surcos y dosis de nitrógeno, la dinámica de la clorofila total y los valores SPAD presentaron un comportamiento muy similar a la concentración de nitrógeno total, el cual disminuyó a través del tiempo, por lo tanto, el mayor requerimiento de nitrógeno por el cultivo de algodón es en inicios de floración y plena floración.

VII. LITERATURA CITADA

- Arregui, L.M., M. Merina y A.M. Mingo-Castel. 2000. Aplicación del medidor portátil de clorofila en los programas de fertilización nitrogenada en siembra de patata. Actas del 1 Congreso Iberoamericano de investigación y Desarrollo de patata. 3-6 julio. Victoria–Gastéis, España. pp 157-170.
- Ascon-Bieto, J. y M. Talon. 2008. Fundamentos de fisiología vegetal 2ª Edición, Editorial McGraw-Hill Interamericana, Madrid pp 287-297.
- Bai, C., C.C. Reilly and B.W. Woo. 2006. Nickel deficiency disrupts metabolism of ureides, amino acids, and organic acids of young pecan foliage. *Plant physiol.* 140: 433-443
- Bai, C., C.C. Reilly, and B.W. Woo. 2007. Nickel deficiency affects nitrogenous forms and urease activity in spring xylem sap of pecan. *J. Amer. Soc Hort. Sci.* 132: 302-309.
- Baker, A.V. 1980. Ammonium and nitrate nutrition of horticultural crops. *Horticultural Reviews*. Vol. 2. Avi Publishing Company. Perdue University.
- Boman, R.K., W.R. Raun, R.L. Westerman and J.C. Banks. 1995. Nitrogen by environment interactions in long term cotton production. *Proc. Beltwide cotton Conf.* pp. 1300-1303.
- Bourret, M.M., J.E. Brummer and W.C. Leininger. 2009. Establishment and growth of two willow species in a riparian zone impacted by mine tailings. *J. Environ. Qual.* 38, 693–701.
- Brechlin. P., A. Unterhalt, R. Tischner y G. Mäck 200 Cytosolic and chloroplastic glutamine synthetase of sugarbeet (*Beta vulgaris*) respond differently to organ ontogeny and nitrogen source. *Physiol Plant* 108:263-269.
- Bronson, K. and J.P. Bordovsky. 2003. Improving nitrogen fertilizer management in drip irrigated cotton. Disponible en: <Lubbock.tamu.edu/cotton/helms/2003annualreport/improvingnitro20.pdf>. Fecha de consulta 4 de junio 2012.
- Brown, P.H., R.M. Welch and E.E. Cary. 1987. «Nickel: a micronutrient essential for higher plants». *Plant Physiology*, 85, 801-803.

- Brown, P.H., R.M. Welch and J.T. Madison. 1990. Effect of nickel deficiency on soluble anion, amonio acid, and nitrogen levels in barley. *Plant Soil* 125: 19-27.
- Chaillou S and T. Lamaze 2001. Ammoniacal nutrition of plants. In: Morot-Gaudry J.F. (Ed.) Nitrogen assimilation by plants – Physiological, biochemical and molecular aspects. –Enfield (NH₄ USA), Plymouth (UK), Science Publihers ine,, pp53-69.
- Champigny, M L, and C. Foyer 1992. Nitrate activation of cytosolic protein kinases diverts photosynthetic carbon from sucrose to amino acid biosynthesis: basis for a new concept. *Plant Physiol.* 100:7-12.
- Chen, Y.G. and T.M. Ching. 1988. Induction of barley leaf urease. *Plant Physiol* 86:941–945.
- Crawford, N.M. and A.D.M. Glass. 1998. Molecular and physiological aspects of nitrate uptake in plants. *Trend Plant Sci.*3: 389-395.
- Dennis, T.D. and H.D. Turpin. 1998. *Plant Physiology, biochemestry and molecular biology.* Logman Scientific & Technical. John Wiley & Sons, Inc, NY. pp 529.
- Díaz, I., M. Larqué, G. González, A. Alarcón, F. González y R. González. 2001. Acumulaciones tóxicas de níquel en el crecimiento y la nutrición de trigo. *Terra* 19, 199-299.
- Ebelhar, M. W., R. A. Welch, and W. R. Meredith. 1996. Nitrogen rates and mepiquat chloride effects on cotton lint yield and quality. pp. 1377-1378. In: Proc. Beltwide Cotton Conf . National Cotton Council of America. Memphis, TN, USA
- Edwards, J,W. and G.M. Coruzzi. 1989. Photorespiration and light act in concert to regulate expression of the nuclear gene for chloroplast and cytosolic glutamine synthetase. *Plant Cell* 1:241-248.
- Estrada, T.O., A. Polomo-Gil, A. Espinoza-Banda, S.A. Rodríguez-Herrera y N.A. Ruiz-Torres 2008. Rendimiento y calidad de fibra de algodón cultivado en surcos ultra-estrechos. *Revista Fitotecnia Mexicana* 31: 79-83.
- Fahl, I.J., C.M.L. Carvalho e y A.C. Magalhaes. 1992. Medida da fotosíntesis líquida por cromatografía, a gas em folhas intactas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). *Revta. Brasil. Bot.* 15:57-65.

- Favela, C.H., F.J. Cortés, G.G. Alcántar, B.J. Etchevers, C.A. Baca, y A.J. Rodríguez. 2000. Aspersiones foliares de zinc en nogal pecanero en suelos alcalinos. *Terra* 18: 239–245.
- Feibo, W., W. Lianghuan y X. Fuhua. 1998. Chlorophyll meter to predict nitrogen sidedress requirements for short-season *cotton* (*Gossypium hirsutum* L.). *Field Crops Res.* 56: 309-314. Disponible en: http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/html/573/57320403/57320403_1.html. Fecha de consulta 2 de Mayo 2012.
- Galván, A., y E. Fernández. 2001. Eukaryotic nitrate and nitrate transporters. *Cell. Mol. Life Sci.* 58: 225-233.
- García, X., E. García, Q. Rascón, L. Herrera, and G.A. Aguado. 2005. Chlorophyll accumulation is enhanced by osmotic stress in graminaceous chlorophyll cells. *J. Plant Physiol.* 162: 650
- Gaylor, M.J., G.A. Buchanan, F.R. Guilliland and R.I. Davis. 1983. Interacción among a herbicide program, nitrogen fertilization, tarnished plant bugs, and planting dates for yield and maturity of cotton. *Agron. J.* 75:903-907.
- Gaytan, M.A., A. Palomo, D.G. Reta, S. Godoy, y E.A. García. 2004. Respuesta el algodón cv cian precoz 3 al al espaciamento entre surcos y densidad poblacional. I. Rendimiento, precocidad y calidad de fibra. *Rev. PYTON BOTANY* pp: 57-67.
- Gerendás J., S. B. Sattelmacher. 1997. Significance of Ni supply for growth, urease activity and concentrations of urea, amino acids and mineral nutrients of urea-grown plants. *Plant Soil* 190: 153–162.
- Gerendás, J., S.B. Sattelmacher. 1999. Influence of Ni supply on growth, urease activity and nitrogen metabolites of *Brassica napus* grown with NH₄ NO₃ or urea as nitrogen source. *Ann. Bot.* 83:65–71.
- Gerendás, J., Z. Zhu y B. Sattelmacher. 1998. Influence of N and Ni supply on nitrogen metabolism and urease activity in rice (*Oryza sativa* L.). *J. Exp. Bot.* 49, 1545-1554.
- Guerinot, M.L., and Y. Yi 1994. Iron: Nutritious, noxious, and not readily available. *Plant Physiol.* 104, 815–820.

- Guo, F.Q., R. Wang, N.M. Crawford. 2002. The Arabidopsis dual-affinity nitrate transporter gene AtNRT1.1 (CHL1) is regulated by auxin in both shoots and roots. *Journal of Experimental Botany* 53: 835-844.
- Hageman, R.H., and D.P. Hucklesby. 1971. Nitrate reductase. *Meth. Enzymol.* 23:497-503.
- Halevy, J. y M. Bazelet. 1992. Fertilización de algodón para rendimientos altos. Instituto internacional de la potasa., Instituto de la potasa y el fosforo. pp 17-42.
- Harrison, M.P., N.W. Buehring, R.R. Dobbs. 2004. Nitrogen source influence on cotton yield. 2 p. Disponible en: <msucares.com/nmrec/reports/2004/cotton/fertility/nitrogen.pdf> Fecha de consulta: 23 Abril de 2012.
- Haverkort, A.J., D.K.L. MacKerron. 2000. Management of Nitrogen and Water in Potato Production. Wageningen Pers, Wageningen.
- Hoeft, R.G. and T.R. Peck. 2002. Illinois Agronomy Handbook. Chapter 11. University of Illinois. USA.
- Huang, X.D., Y.D. Alawi, D.M. Penrose, B.R. Glick, y B.M. Greenberg, 2004. Responses of three grass species to creosote during phytoremediation. *Environmental Pollution*. 130: 453
- Ireland, R.J., P.J. Lea. 1999. The enzymes of glutamine, glutamate, asparagine and aspartate metabolism. *In: Plant amino acids. Biochemistry and Biotechnology*. B K Singh (ed). Marcell Dekker, Inc. New York. pp:49-109.
- Islam M., R.L Travis and D.W. Rains. 2001. Diurnal fluctuations of nitrate and *in vivo* nitrate reductase activity in Pima and Acala cotton. *Crop Sci.* 41:372-378.
- Jost P.H. J.T. Cothren 2000. Growth and yield comparisons of cotton planted in conventional and ultra-narrow row spacings. *Crop Science* 40:430-435.
- Jost P.H., J.T. Cothren. 2000. Growth and yield comparisons of cotton planted in conventional and ultra-narrow row spacing. *Crop Sci.* 40:430-435.
- Joworski, E.G. 1971. Nitrate reductase assay in intact plant tissues. *Biochem Biophys Res Commun* 43: 1274-1279.

- Lam, H.M., K.T. Coschigano, I.C. Oliveira, R. Melo-Oliveira, and G.M. Coruzzi 1996. The molecular genetics of nitrogen assimilation into amino acids in higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 47:569-593.
- Le Bot, J., D.J. Pilbeam, and E. A. Kirkby. 1994. Plant mineral nutrition in crop production. In: *Mechanisms of Plant Growth and improved productivity*. Basra A. S. Ed. Marcel Dekker, Inc. New York. P33-71.
- Le Mare P H 1982 Sorption of isotopically exchangeable and non-exchangeable phosphate by some soils of Colombia and Brazil, and comparison with soils of southern Nigeria. *J. Soil Sci.* 33, 691-707.
- Lea PJ, S.A. Robinson, G.R. Stewart. 1990. The enzymology and metabolism of glutamine, glutamate and asparagine. In: *The biochemistry of plants*. Mifling BJ, Lea H (eds.) Vol 16.
- López-Cantorero I., J.M. Ruiz, S. Hernández, and L. Romero. 1997. Phosphorus metabolism and yield response to increases in nitrogen-phosphorus fertilization: Improvement in greenhouse cultivation of eggplant (*Solanum melongena* c.v. bonica). *J. Agric. Food Chem.* 45: 4227-4231.
- López-Lefebvre, L.R., J.M. Ruiz, R.M. Rivero, P.C. García, E. Sánchez, L. Romero 2000. Role of CaCl₂ in ammonium assimilation in roots of tobacco plants (*Nicotiana tabacum* L.). *J. Plant Physiol.* 156:672-677.
- Mahler, R.L. 2003. General overview of nutrition for field and container crops. In: Riley, L. E.; Dumroese, R. K.; Landis, T. D., Tech Coords. National Proceedings: Forest and Conservation Nursery Associations. June 9 – 12; Coeur d'Alene, ID; and 2003 July 14 – 17; Springfield, IL. Proc. RMRS-P-33. Fort Collins, CO: U. S. Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station.
- Maier, R.J., T.D. Pihl, L. Stults, and W. Sray. 1990. Nickel accumulation and storage in *Bradyrhizobium japonicum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 56 (6): 1905–1911. Fecha de consulta: 12 de Abril 2012.
- Maples, R. y M. Frizzell. 1985. Effects of varying rates of nitrogen on three cotton cultivars. Bull. 822. Arkansas agric. Exp. Station. Fayetteville, AR.

- Marschner H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. second edition. 889 pp. London: Academic Press.
- Matocha, J.E., K.L. Barber and F.I. Hopper. 1992. Fertilizer nitrogen effects on lint yield and fiber properties. Proc. Beltwide Cotton conf. pp: 1103-1105.
- Mauriño, S.G., E.C. chevarria, J.A. Mejias, M.A. Vargas, J.M. Maldonado. 1986. Properties in the *in vivo* nitrate reductase assay in maize, soybean, and spinach leaves. J Plant Physiol 124:123-130
- McConnell, J.S., B.S. Frizzell, R.L. Maples, M.H. Wilkerson and G.A. Mitchell. 1989. Relationships of irrigation methods and nitrogen fertilization rates in cotton production. Arkansas. Agric. Exp Stn. Rep. Fayetteville, AR.
- McConnell, J.S. and R.C. Kirst Jr. 2000. Nitrogen fertilization of ultra-narrow row cotton. In: Cotton Research Meeting, Proceedings. pp. 187-189. AAES Special Report 198.
- Mengel, K., E.A. Kirkby. 2001. Principles of plant nutrition. 5th Edition. Kluwer Academic Publishers. The Netherlands . 849p.
- Mengel. K., E.A. Kirkby. 1987. Principles of plant nutrition. 4rd. Ed. Bern Switzerland, International Potash Institute. P-686.
- Miflin, B, D.Z. Habash. 2002. The role of glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase in nitrogen assimilation and possibilities for improvement in the nitrogen utilization of crops. J. Exp. Bot. 53: 979-987
- Migge, A. and T.W. Becker. 1996. In tobacco leaves, the genes encoding the nitrate-reducing or the ammonium-assimilating enzymes are regulated differently by external nitrogen-sources. Plant Physiol. Biochem. 34:665-671.
- Mill, H.A. and J.B. Jones. 1991. Plant Analysis Handbook II: a Practical Sampling, Preparation, analysis, and interpretation guide. Micro-Macro Pub. P-422
- Millard, P. and D. Robinson. 1990. Effect of the timing and rate of nitrogen-fertilization on the growth and recovery of fertilizer nitrogen within the potato (*Solanum tuberosum* L.). Crop Fert Res 21: 133–140

- Miller, A.J., S.J. Smith. 1996. Nitrate transport and compartmentation in cereal root cells. *J. Exp. Bot.* 47: 843-854.
- Mobley, H.L.T., M.D. Island and R.P. Hausinger. 1995. Microbial biology of microbial ureases. *Microbiological Reviews.* 59: 451-480.
- Moggia, C., J.A. Yuri, and M. Pereira. 2006. Mineral content of different apple cultivars in relation to fruit quality during storage. *Acta Horticulturae.* 721: 265-271
- Mondino, M. and O. Peterlin. 2003. Respuesta del cultivo de algodón (*Gossipium hirsutum* L.) sembrado en surcos ultraestrechos a la aplicación de fertilizantes nitrogenados. 1. rendimientos y sus componentes. in: congreso brasileiro do algodão.
- Mondino, M., O. Peterlin, N. Gómez. 2005 Influencia de diferentes dosis de nitrógeno sobre el rendimiento de algodón en surcos estrechos. In: Sosa, M. A.; Peterlin, O. A. (Ed.). Proyecto Nacional de Algodón, Informe de avance N° 1, 2ª Reunión Anual. Ediciones INTA. p. 37-40.
- Morot-Gaudry, J.F. Assimilation del azote chez les plantes. 1997. INRA editions. Pp. 418.
- Mulrooney, S.B., R.P. Hausinger. 2003. Nickel uptake and utilization by microorganisms. *FEMS Microbiol Rev* 27: 239–261
- Oosterhuis, D., K. Hake, and C. Burmester. 1991. Leaf feeding insects and mites. *Cotton Physiol. Today* 2,1-7.
- Orsel, M., S. Filleur, V. Fraasier and F. Daniel-Vedele. 2002. Nitrate transport in plants: which gene and which control. *Exp. Bot.* 53: 825-833.
- Padget, P.E., R.T. Leonard. 1996. Free amino acid levels and the regulation of nitrate uptake in maize cell suspension cultures. *J. Exp. Bot.* 47:871-883.
- Palomo, G.A. y J.F. Chávez. 1997. Respuesta de la variedad precoz de algodón "CIAN 95" a la fertilización nitrogenada. *Información Técnica Económica Agraria (ITEA)* 93 V (2): 126-132.
- Palomo, G.A., A. Gaytán y M.G. Chavarría. 2002. Respuesta de una variedad precoz de algodón al número de riegos y dosis de nitrógeno. *Revista Fitotecnia Mexicana* 25: 43-47.
- Palomo, G.A., A. Gaytán-Mascorro, R. Faz-Contreras, D.G. Sánchez-Reta, E. Gutiérrez-Del Rio. 2004. Rendimiento y calidad de fibra de algodón

- en respuesta al número de riegos y dosis de nitrógeno. *Terra Lat.* 22: 299-305.
- Palomo, G.A., A. Gaytán-Mascorro, S. Godoy-Ávila. 2003. Rendimiento, componentes de rendimiento y calidad de fibra del algodón en relación con la dosis de nitrógeno y la densidad poblacional. *Rev. Fitotecnia Mexicana.* 26: 167-171.
- Piekielek, W.P. y R.H. Fox. 1992. Use of a chlorophyll meter to predict sidedress nitrogen requirements for maize. *Agronomy Journal*, 84: 59-65.
- Polacco, J.C. y M.A. Holland. 1994. Genetic control of plant ureases; in *Genetic Engineering* (Setlow, J.K., ed.) vol. 16, pp. 33-48, Plenum Press, New York.
- Polacco, J.C., M.A. Holland. 1993. Roles of urease in plant cells. *Int Rev Cytol* 145: 65–103.
- Raven, J.A., M.C. Evans and R.E. Corp. 1999. The role of trace metals in photosynthetic electron transport in O₂ evolving organisms. *Photosynthesis Research* 60: 111-149.
- Richardson, A.D., S.P. Duigan and G.P. Berlyn. 2002. An evaluation of noninvasive methods to estimate foliar chlorophyll content. *New Phytologist.* 153:185 Experimental alto Valla de Rio Negro. Macroregión Patagonia Norte. Rio Negro, Argentina. p 84-93.
- Robinson SA, G.R. Stewart, and R. Phillips. 1992. Regulation of glutamate dehydrogenase activity in relation to carbon limitation and protein catabolism in carrot cell suspension cultures. *Plant Physiol.* 98: 1190-1195.
- Romheld, E. and H. Marschner. 1993. Function of micronutrients in Plant. Eds. Mortvedt J.J, F.R. Cox, L.M. Shuman and R.M. Welch. In: *Micronutrients in Agriculture. Second Edition* Soil Science Society of America, Madison Wisconsin.
- Ruiz, J.M. and L. Romero. 1998. Tomato genotype in relation to nitrogen utilization and yield. *J. Agric. Food Chem* 46:4420-4422.
- Ruiz, J.M. and L. Romero. 1999. Nitrogen efficiency and metabolism in grafted melón plants. *Scientia Horticulturae.* 81:113-123.

- Ruiz, J.M. and L. Romero. 2002. Relationship between potassium fertilization and nitrate assimilation in leaves and fruits of cucumber (*Cucumis sativus*) plants. *Assoc. Appl. Biol.* 140:241-249.
- Ruiz, J.M., N. Castila, and L. Romero. 2000. Nitrogen metabolism in pepper plants applied with different bioregulators. *J. Agric. Food Chem.* 48:2925-2929.
- Sabino, N.P., N.M. Silva, J.C. Sabini, I.I. Kondo. 1984. Effects of splitting the potassic fertilization on the agronomic characteristics and technological properties of cotton fiber (Portuguese). *Bragantia*, 43, 221-228.
- Sainz, R.H. and H.E. Echavarria. 1998. Relación entre las lecturas del medidor de clorofilas (Minolta SPAD 502) en distintos estadios del cultivo de maíz y el rendimiento de grano. *Revista de la facultad de Agronomía, La planta* 1: 103.
- Salgado-García S, D. J. Palma-López, J. Lagunes-Espinoza y M. Castelán-Estrada. 2006. Manual para el muestreo de suelos plantas y aguas e interpretación de análisis. Colegio de Postgraduados, Campus Tabasco-ISPROTAB. H. Cárdenas, Tabasco, México. P-90.
- Salisbury, F.B. and C.W. Ross. 1991. *Plant physiology*. Wadsworth Publishing Company. 3 Ed. California, Belmont. P-692.
- Sánchez E., J. Soto, J. Ruíz y L. Romero. 2006. Caracterización del estado nutricional y fisiológico en plantas de judía (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Strike) sometidas a un estrés por nitrógeno. Editorial de la universidad de Granada. ISBN 84-338-4168-8.
- Sánchez, E., J.M. Soto, R.M. Yáñez, y F. Montes. 2005. Avances de investigación en nutrición de nogal pecanero en chihuahua. Nogatec, Torreón, Coah. México. P. 16-23.
- Schubert, K.R. and M.J. Boland. 1990. The ureides. *Biochem. Plant* 16: 197-282.
- SIAP. 2012. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, Inicio / producción anual / resumen nacional por cultivo. http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=86&Itemid=67. Consultado el 01 de Marzo de 2012

- Silva J.A. and R. Uchida. 2000. Essential Nutrients for Plant Growth: Nutrient Functions and Deficiency Symptoms. College of Tropical Agriculture and Human Resources, University of Hawaii at Manoa
- Stitt M., C. Muller, P. Matt, Y. Gibon, P. Carrillo, R. Morcuende, W. Scheible, A. Krapp 2002. Steps towards an integrated view of nitrogen metabolism. *Journal of Experimental Botany* 53:959-970.
- Suárez M.F. C. Avila, F. Gallardo, F.R. Cantón, A. Garcia-Gutiérrez, M.G. Claros and F.M. Cánovas. 2002. Molecular and enzymatic análisis of ammonium assimilation in woody plants. *J. Exp. Bot.* 53: 891-904.
- Turano, F.J., R. Dashner, A. Upadhyaya, C.R. Caldwell. 1996. Purification of mitochondrial glutamate dehydrogenase from dark-grown soybean seedlings. *Plant Physiol.* 112: 1357-1364.
- Usherwood, N. R. 1985. The role of potassium in crop quality. Chap. 21, 498-499. In: *Potassium in Agriculture* (edt. Munson, R.D.). Amer. Soc. of Agronomy, Madison, Wisconsin.
- Vázquez J.M., J.M. Soto, E. Sánchez, R.M. Yáñez, F. Montes, M.L. García, M. Basurto, R. Pérez, D.A. Porras. 2010. Influencia de la fertilización nitrogenada sobre la actividad enzimática nitrato reductasa en manzano *Golden delicious*. Editorial LUIS ROMERO. Granada España, pp 11, 57-60.
- Walker, D.W., R.D. Graham, J.T. Madison, E.E. Cary, and R.M. Welch. 1985. Effects of Ni deficiency on some nitrogen metabolites in cowpeas (*Vigna unguiculata* L. Walp). *Plant Physiol.* 79: 447-479.
- Wang, M.Y., M. Siddiqui, T.J. Ruth, A.D.M. Glaas. 1993. Kinetics of $^{13}\text{NH}_4^+$ influx across the plasmalemma. *Plant Physiol.* 87:258-263.
- Weber, A., U. Flugge. 2002. Interaction of cytosolic and plastidic nitrogen metabolism in plants. *J. Exp. Bot.* 53: 865-874.
- Weir, B.L., T.A. Kerby, B.A. Roberts, D.S. Mikkelsen and R.H. Garber. 1986. Potassium deficiency syndrome in cotton, *Calif Agr*, 40, (5) 13-14
- Wellburn A.R. 1994. The spectral determination of chlorophylls a and well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometer of different resolution. *J. Plant Physiol.* 144: 307-313.
- Witte, C-P., N. Medina-Escobar, 2001. In-gel detection of urease with nitroblue tetrazolium and quantification of the enzyme from different

- crop plants using the indophenol reaction. *Anal Biochem* 290: 102–107.
- Wood, B.W., R. Chaney, M. Crawford. 2006. Correcting micronutrient deficiency using metal hyperaccumulators: *Alyssum* biomass as a natural product for nickel deficiency correction. *Hort Science* 41: 1231-1234.
- Wood, C.W., P.W. Tracy, D.W. Reeves and K.L. Edmisten. 1992. Determination of cotton nitrogen status with a hand-held chlorophyll meter. *J Plant Nutri* 15: 1435 -1448.
- Woodall J, J.B. Boxall, J. Pearson. 1996. Changing perspectives in plant nitrogen metabolism the central role of glutamine synthetase. *Sci prog.* 79: 1-26.
- Woodall, J. and B.G. Forde. 1996. Glutamine synthetase polypeptides in the root of 55 legume species in relation to their climatic origin and the partitioning of nitrate assimilation. *Plant Cell Environ.* 19:848-858.
- Yamaya, T., A. Oaks, H. Matsumoto. 1984. Characteristic glutamate dehydrogenase in mitochondria prepared from corn shoots. *Plant physiol.* 76: 1009-1013.
- Zelinski, L.J., and D.W. Grimes. 1995. Interaction of water and nitrogen on the growth and development of cotton. *Proc. Beltwide Cotton Conf.* pp: 1109-1114.
- Rajendran, K., M.A. Mohamed y K. Vaiyapuri. 2010. Foliar nutrition in cotton- a review. *Agricultural Research Communication Centre* 31: 120-125.
- Reddy, K.R., Koti, S., Davidonis, G.H., Reddy, V.R., 2004. Interactive effects of carbon dioxide and nitrogen nutrition on cotton growth, development, yield, and fiber quality. *Agron. J.* 96, 1148–1157.
- Haboudane, D., Miller, J.R., Tremblay, N., Zarco-Tejada, P.J., Dextraze, L., 2002. Integrated narrow-band vegetation indices for prediction of crop chlorophyll content for application to precision agriculture. *Remote Sens. Environ.* 81, 416–426.
- Jian-Long B.I., L. Dong-Mei, L.Keh-Shen y N.C.Toscano. 2005. Impact of cotton planting date and nitrogen fertilization on *Bemisia argentifolii* populations. *Insect Science* 12: 31-36.

- Xiao-yu Y., W. Xiu-feng, W. Min, Y. Feng-juan y S.H.I. Qing-hua. 2010. Changes of Nitrate Reductase Activity in Cucumber Seedlings in Response to Nitrate Stress. *Science Direct* 9:216-222.
- Hutmacher, R. B., R. L. Travis, D.W. Rains, R. N Vargas, B. A. Roberts, B. L. Weir, S. D.Wright, D. S. Munk, B. H. Marsh, M. P. Keeley, F. B. Fritschi, D. J. Munier, R. L. Nichols, and R. Delgado. 2004. Response of recent Acala cotton varieties to variable nitrogen rates in the San Joaquin Valley of California. *Agronomy Journal* 96: 48–62.
- Fritschi, F. B., B. A. Roberts, R. L. Travis, D. W. Rains, and R. B. Hutmacher. 2003. Response of irrigated Acala and Pima cotton to nitrogen fertilization: growth, dry matter partitioning, and yield. *Agronomy Journal* 95: 133–146.
- Bob W.B., W. Webb y H. Frank. 2009. Foliar Application of Urea and Triazone Nitrogen to Cotton. *Journal Plant Nutrition* 32: 274-286.
- Boquet D.J. y A.G. Breitenbeck. 2000. Nitrogen Rate Effect on Partitioning of Nitrogen and Dry Matter by Cotton. *Crop Science* 40:1685–1693.
- Miller, A.J. y M.D. Cramer. 2004. Root nitrogen acquisition and assimilation. *Plant and Soil* 274: 1–36.
- Näsholm, T., K. Kielland y U. Ganeteg. 2008. Uptake of organic nitrogen by plants. *Nuw phytologist* 182: 31-48.
- Upendra M.S., P.S. Bharat, y F.W. Wayne. 2005. Tillage, Cover Crops, and Nitrogen Fertilization Effects on Cotton and Sorghum Root Biomass, Carbon, and Nitrogen. *Agronomy Journal* 97:1279-1290.
- Craig W.B., C.B. David y M.B. Steve. 2000. Cotton: Analysis of Cotton Yield Stability Across Population Densities. *Agronomy Journal* 92: 128-135.
- Figueroa, F.L. y B. Viñepla. 2001. Effects of solar UV radiation on photosynthesis and enzyme activities (carbonic anhydrase and nitrate reductase) in marine macroalgae from southern Spain. *Revista Chilena de Historia Natural* 74: 237-249.
- Carroll P. V., C. Uhde-Stone y D.L. Allan. 2002. Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. *New Phytologist* 157: 423-447.

- Boquet, D.J., G.A. Breitenbeck, A.B. Coco and W. Agillard. 1991. Fertilizer N rates to optimize cotton yield and fiber quality. *Louisiana Agric.* 35(2): 10-11.
- Tisdale S.L., W.L. Nielson, J.D. Beaten and J.L. Halving. 1993. Elements required in plant nutrition. In *Soil fertility and fertilizers*. McMillan Publishing Co., NY. pp. 48-49.
- Gil-Martínez, F. 1994. Elementos de fisiología vegetal: Relaciones hídricas nutrición mineral, transporte, metabolismo, editorial Mundi Prensa. España. P-105.
- Oaks, A. 1994. Primary nitrogen assimilation in higher plants and its regulation. *Can. J. Bot.* 72:739-750.
- Romero, L.M. 1995. Algunos aspectos de la nutrición mineral de la plantas. 206 p. Depto. De fisiología vegetal, Fac. de Ciencias Universidad de Granada España.
- Sánchez, E.E. 1999. Nutrición mineral de frutos de pepita y corozo. Publicación del Instituto de Nacional de Tecnología Agropecuaria, Estación
- Stitt M. 1999. Nitrate regulation of metabolism and growth. *Current Opinion Plant Biology* 2:178-186.
- Ascón-Bieto, J. 2000. Fundamentos de fisiología vegetal. Editorial McGraw-Hill Interamericana, España. pp 235-246.
- De la Haba, P., E. Agüera, L. Benitez and J.M. Maldonado. 2001. Modulation of nitrate reductase activity in cucumber (*Cucumis sativus*) roots. *Plant Science* 161, 231–237.
- Ciurli S 2001. Electronic structure of the nickel ions in the active site of urease. *Chem.* (Easton). pp. 99-100.
- Hodges, M. 2002. Enzyme redundancy and the importance of 2-oxoglutarate in plant ammonium assimilation. *J. Expo. Bot.* 53: 905-916.
- Rodríguez L.L.A., C.R. Valdés, R.R. Medina and R. Zamora. 2002. Actividad *in vivo* de la enzima nitrato reductasa en hojas de cafetos bajo diferentes condiciones de luz y dos densidades de plantación. *Agronomía Tropical* 52: 75-87.
- Rodríguez., L.L.A., C.R. Valdés, R.L. Medina y R. Zamora. 2002. Actividad *in vivo* de la enzima nitrato reductasa en hojas de cafetos bajo

diferentes condiciones de luz y dos densidades de plantación. *Agronomia Tropical* 1:75-87.

Gitelson, A.A., 2004. Wide dynamic range vegetation index for remote quantification of biophysical characteristics of vegetation. *J. Plant Physiol.* 161, 165–173.

Rochester, I. J. 2007. Nutrient uptake and export from an Australian cotton field. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 77: 213–223.

Sage, R.F. and D.S. Kubien. 2007. The temperature response of C₃ and C₄ photosynthesis. *Plant. Cell and Environment* 30: 1086.

VI. ANEXOS

Cuadro 4.A. Efecto de las diferentes dosis de nitrógeno y surcos ultra-estrechos sobre la concentración foliar de macronutrientes en algodón.

F V	%	Distancia de Surcos (cm)			Dosis de Nitrógeno kg h ⁻¹				R S
		35	50	75	0	50	100	150	
DDS	N	3.24 b	2.82 b	4.01 a	3.24 a	3 a	3.60 a	3.58 a	3.5-4.5
	P	0.12 a	0.10 b	0.12 a	0.10 b	0.12 ab	0.12 a	0.11 ab	0.3-0.5
	K	1.63 ab	1.52 b	1.67 a	1.56 a	1.57 a	1.66 a	1.65 a	1.5-3
74	Ca	2 a	1.14 b	0.92 c	1.75 a	1.59 a	1.11 b	0.96 b	2-3
	Mg	0.62 a	0.55 b	0.62 a	0.58 a	0.59 a	0.59 a	0.63 a	0.3-0.9
	Na	0.020 a	0.019 b	0.019 b	0.01 a	0.01 a	0.01 a	0.01 a	No dato
94	N	2.96 a	2.94 a	3.22 a	2.76 b	3.03 ab	3.26 a	3.11 ab	3 - 4.3
	P	0.13 b	0.14 a	0.16 a	0.14 a	0.15 a	0.14 a	0.15 a	0.25–0.45
	K	1.63 a	1.62 a	1.63 a	1.64 a	1.62 a	1.63 a	1.63 a	0.9 – 2
	Ca	2.29 a	1.96 b	1.77 b	2.1 a	2.06 a	1.94 a	1.93 a	2.2 - 3.5
	Mg	0.62 a	0.6 a	0.6 a	0.60 a	0.61 a	0.61 a	0.60 a	0.3 – 0.8
	Na	0.021 a	0.02b	0.021 a	0.021 b	0.021 ab	0.021 b	0.021 a	No dato
136	N	2.02 a	1.58 b	2.18 a	2.17 a	1.90 a	1.45 b	2.17 a	No dato
	P	0.06 b	0.07 b	0.09 a	0.07 a	0.08 a	0.07 a	0.07 a	No dato
	K	1 a	1.03 a	1.01 a	1.06 a	1 a	1.01 a	0.99 a	No dato
	Ca	3.10 a	2.14 b	3.03 a	2.76 a	2.97 a	3.03 a	2.68 a	No dato
	Mg	0.5 a	0.55 a	0.5 a	0.54 a	0.50 a	0.52 a	0.51 a	No dato
	Na	0.022 a	0.021 a	0.020 a	2.22 a	2.12 a	2.23 a	2.26 a	No dato

%; Concentración en porcentaje; R S: Rango de suficiencia (Mills y Jones, 1991); FV: Fuente de variación; DDS: Días después de la siembra.

Cuadro 5.A. Efecto de las diferentes dosis de nitrógeno y surcos ultra-estrechos sobre la concentración foliar de micronutrientes en algodón.

F V	ppm	Distancia de Surcos (cm)			Dosis de Nitrógeno (Kg ha ⁻¹)				R S
		35	50	75	0	50	100	150	
DDS	Ni	2.46 a	2.33 a	1.84 b	2.22 a	2.12 a	2.23 a	2.26 a	No dato
	Cu	7.54 b	7.67 b	8.59 a	7.11 b	8.13 ab	8.46 a	8.04 ab	5-25
74	Mn	79.76 a	64.16 b	72.8 ab	69.14 a	69.46 a	74 a	76.34	25-350
	Zn	33.99 a	32.87 a	32.93 a	32.89 a	32.69 a	33.83 a	33.64 a	20-200
	Fe	67.96 b	60.07 c	79.16 a	62.61 b	65.67 ab	73.76 a	74.21 a	50-250
	Ni	2.21 b	2.17 b	2.41 a	2.29 a	2.24 a	2.24 a	2.29 a	No dato
94	Cu	9.48 a	8.87 a	8.52 a	9.18 a	8.76 a	9.42 a	8.47 a	5-25
	Mn	188.1 a	153.72 b	166.6 ab	158.95 a	174.99 a	177.78 a	166.27 a	30-300
	Zn	41.04 a	37.21 b	40.87 a	39.18 a	39.72 a	39.44 a	40.49 a	20-100
	Fe	91.93 a	78.93 b	78.53 b	78.55 b	82.85 ab	86.99 a	84.13 ab	40-300
136	Ni	2.47 a	2.28 b	2.32 ab	2.36 a	2.27 a	2.38 a	2.41 a	No dato
	Cu	6.70 a	7.02 a	6.97 a	7.27 a	6.64 a	6.83 a	6.85 a	No dato
	Mn	122.32 a	115.16 a	111.72 a	128.21 a	115.44 a	111.56 a	110.39 a	No dato
	Zn	29.21 a	31.53 a	30.88 a	31.95 a	30.14 a	30.9 a	29.17 a	No dato
	Fe	63.07 a	66.64 a	62.39 a	66.11 a	63.35 a	62.24 a	64.42 a	No dato

Ppm: Partes por millón; R S: Rango de suficiencia (Mills y Jones, 1991); FV: Fuente de variación; DDS: Días después de la siembra.

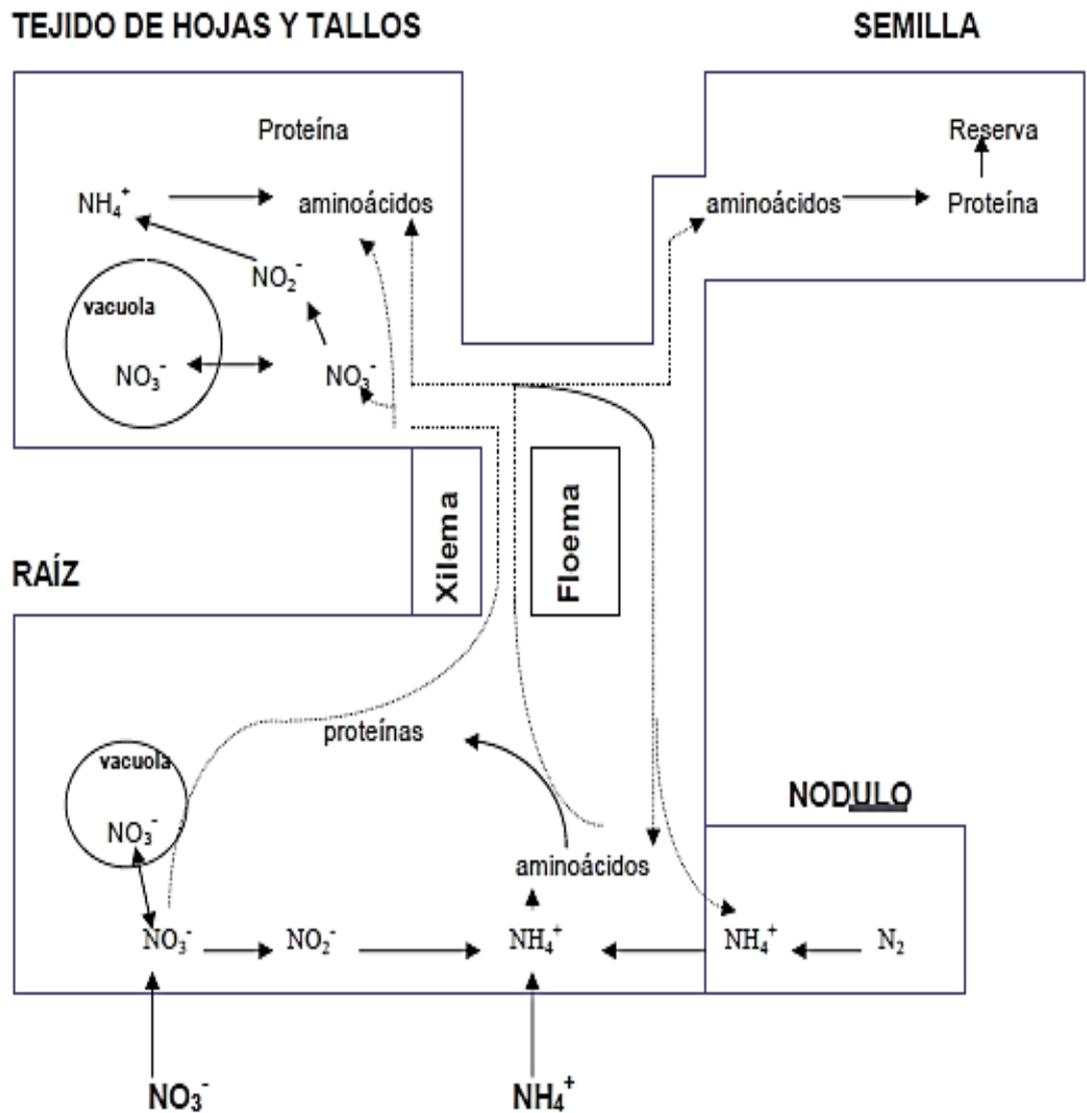


Figura 44.A. Absorción, reducción y acumulación del nitrato en los diferentes tejidos de la planta. Ciclo de los aminoácidos (Lea y Leegood, 1993).