

*Tesis para optar por el grado de
Doctor de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales
Universidad Nacional de La Plata*

**CAMBIOS EN LA ARQUITECTURA Y FISIOLÓGÍA DE *Pinus taeda* EN
RESPUESTA A LA FERTILIZACIÓN Y AL ESTRÉS POR SEQUÍA**

Laura I. Faustino
Ingeniera Forestal

Directora: Dra. Corina Graciano
Co Director: Dr. Juan J. Guiamet

Lugar de trabajo:
Instituto de Fisiología Vegetal
(CONICET - Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP)

La Plata, 12 de marzo 2013

*"Caminante, son tus huellas
el camino y nada más;
caminante, no hay camino,
se hace camino al andar."*

Antonio Machado

Agradecimientos

Quiero agradecer especialmente a Corina Graciano, quien me abrió las puertas para poder realizar este doctorado. Por enseñarme, ayudarme y acompañarme incondicionalmente durante todos estos años. Gran parte de mi crecimiento profesional es gracias a su apoyo. Estoy eternamente agradecida por su calidez humana y su paciencia, por ser amiga y directora, y por hacer que esta etapa en mi formación haya sido infinitamente enriquecedora.

A Juan José Guiamet, por darme su apoyo siempre.

A Juan Goya quien fue el director de las becas que me permitieron realizar esta tesis, por sus valiosos aportes durante la gestación de ideas de esta tesis y por su compañía en los viajes a Misiones.

A todos mis compañeros de trabajo en el INFIVE. Especialmente a mis amigos becarios, "compañeros de emociones" durante estos años. A Lorenza Costa, por acercarme al instituto y ayudarme y aconsejarme siempre. A Fermín Gortari, con quien compartimos numerosísimas horas de trabajo junto a "los pinitos". A todos mis compañeros de laboratorio y oficina, quienes hicieron posible que ir a trabajar todos los días se transforme en una grata aventura y que sienta al instituto como "mi segunda casa".

Al personal de INTA EEA Montecarlo. Especialmente a Nardia Bulfe y Martín Pinazo, por su ayuda humana y profesional durante las campañas de trabajo en Misiones. Sin su apoyo hubiera sido imposible contar con los experimentos a campo.

A Silvia Monteoliva, por su aporte en los análisis morfológicos de la madera.

Al CONICET, que me ha dado el sustento económico para que pueda dedicarme a realizar este doctorado.

A la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, que ha sido "mi facultad" desde los comienzos de mi formación académica y me ha brindado el lugar de trabajo para realizar esta tesis.

A los miembros del proyecto de Ecofisiología Forestal de INTA, por las valiosas charlas e intercambios que hemos compartido y que han sido muy enriquecedores para mi formación.

Los experimentos de esta tesis se financiaron con fondos de los proyectos PIP1885 (CCT CONICET La Plata) y PNFOR 2213 (INTA).

A Javier Alvarez, con quien comparto diariamente valiosísimas charlas que fortalecen mi crecimiento profesional, pero que además es quien me quiere, me cuida y me aguanta. Gracias por no permitir que el "estrés tesístico" me lleve a la autodestrucción y por hacer que mi vida sea hermosa.

Quiero dedicar especialmente esta tesis a:

- Javier, mi compañero en el camino.
- Cuatro mujeres, mis maestras, quienes me inspiran con su ejemplo todos los días. Ellas son, por orden de aparición: mi mamá Alicia, Lorenza, Hilda y Corina.
- Mi papá Mario y a mis hermanos Rita y Gabriel, el mejor equipo!
- Mis amigos.

Resumen

Los nutrientes pueden afectar el uso de agua que realizan las plantas leñosas mediante diversos mecanismos, en diferentes niveles de organización, los que pueden resultar en diferente consumo de agua a nivel de individuo y población. La variedad de modificaciones posibles hace que resulte difícil predecir el resultado del cambio en la disponibilidad de nutrientes sobre el uso del agua, ya que, además de la interacción entre los recursos abióticos (i.e., agua y cada nutriente), hay que considerar las diferencias genotípicas en la capacidad de respuesta al ambiente.

En esta tesis se utilizó como modelo experimental plantas de *Pinus taeda*, la especie forestal más ampliamente cultivada en la provincia de Misiones, Argentina. El objetivo general fue evaluar integradamente, a nivel de individuo, las modificaciones en la distribución de materia seca y la arquitectura hidráulica de plantas de *Pinus taeda* fertilizadas con nitrógeno y con fósforo, y el efecto de estas modificaciones en la respuesta al estrés por sequía. Se presentan los resultados de experimentos que se realizaron en condiciones controladas y a campo, para dar cumplimiento a una serie de objetivos particulares, los cuales surgieron a partir de la información obtenida en las primeras etapas experimentales. El primer objetivo fue evaluar el efecto de la aplicación de nitrógeno y fósforo, y su interacción, en el crecimiento inicial de una plantación de *P. taeda* instalada sobre un suelo pedregoso, con baja conductividad hidráulica, de la provincia de Misiones. El segundo objetivo fue estudiar las principales modificaciones fisiológicas que produce la fertilización con nitrógeno y fósforo en las plantas de *P. taeda* creciendo sobre suelos pedregosos de la provincia de Misiones. El tercer objetivo fue estudiar los cambios fisiológicos de *P. taeda* creciendo en un sustrato con elevada conductividad hidráulica, en plantas fertilizadas con nitrógeno y fósforo, y expuestas a alta y baja disponibilidad de agua. El cuarto objetivo fue conocer si el sistema radical de *P. taeda* tiene capacidad de detectar parches ricos en nutrientes y generar respuestas a estos parches, tanto a nivel de raíz, como en la capacidad de conducir agua de la planta entera. El quinto objetivo fue

establecer si diferentes fuentes nitrogenadas producen efectos similares en las mermas en el crecimiento y las modificaciones en la arquitectura hidráulica de *P. taeda* observadas con la adición de urea, y analizar si la fertilización con cada fuente de nitrógeno modifica el efecto de la sequía impuesta en un sustrato con baja conductividad hidráulica. El sexto objetivo fue determinar si existe variabilidad genética en la respuesta en crecimiento a la suplementación con nitrógeno y fósforo mediante el análisis de cuatro familias de *P. taeda*. El séptimo objetivo fue examinar en dichas familias la variación en los cambios, producto de la fertilización, en la partición de materia seca y en diferentes rasgos de la arquitectura hidráulica, que puedan explicar la magnitud del efecto negativo de la fertilización con nitrógeno en el crecimiento.

A partir de los resultados obtenidos, se realizan aportes al conocimiento general sobre el efecto de la fertilización en situaciones de diferente disponibilidad hídrica. Los cambios generados a nivel individuo por la fertilización con nitrógeno y fósforo, como las modificaciones en la distribución de la materia seca y en la arquitectura hidráulica, determinan las respuestas en el crecimiento. La fertilización con nitrógeno exacerba el estrés por sequía en suelos rojos, mientras que no tiene efecto negativo en sustratos con alta conductividad hidráulica. Se genera nueva información de los efectos de la fertilización en suelos pedregosos marginales que actualmente se están utilizando para la plantación de *P. taeda* en Argentina. Se describen posibles causas fisiológicas del efecto depresivo de la urea en el crecimiento de plantas jóvenes de *P. taeda* sobre suelos rojos. Se demuestra que la especie no responde de manera diferencial a la aplicación de fertilizantes en forma dispersa o localizada. Por otro lado, la fuente de nitrógeno aplicada genera diferente respuesta a nivel hidráulico, aunque no se pudo determinar la implicancia de estos cambios en el crecimiento. Se demuestra que existe variabilidad en la respuesta a la fertilización en el crecimiento de genotipos seleccionados, producidos en el país. Estas diferencias en crecimiento resultan de formas contrastantes en la partición de materia seca de los diferentes genotipos, sumado a diferentes modificaciones en la arquitectura hidráulica. Estas respuestas diferenciales determinan que la familia con mayor tasa de crecimiento, sea además la menos afectada por la fertilización inicial con

nitrógeno y la más beneficiada por la adición de fósforo. El conocimiento de las respuestas fisiológicas de esta especie, brinda nuevas herramientas para la toma de decisiones en el uso de la tierra y el manejo sustentable de la producción.

Abstract

Nutrients can alter plant water use through different mechanisms. Nutrient availability alters hydraulic architecture at different organization levels, resulting in changes in water use at plant or population level. Possible modifications, and their interactions, make it difficult to predict the way nutrient availability can alter water use. Moreover, besides abiotic factors interactions (e.g., between water and each nutrient), genotypic differences in response capacity have to be taken into account.

In this thesis plants of *Pinus taeda* were used as experimental model. It is the widest exotic species planted in Misiones. The general aim is to evaluate dry mass partitioning and hydraulic architecture at whole plant level in *P. taeda* plants fertilized with nitrogen and phosphorus, and its implications in drought tolerance. In order to achieve specific objectives, experiments at field conditions and in pots were performed. The goals follow a sequential rationale because they derived from the results of the first experiments. The first aim was to evaluate the effect of the fertilization with nitrogen and phosphorus, and their interaction, in the initial growth of a *P. taeda* plantation installed on a rocky soil in Misiones. The second goal was to analyze the main physiological modifications that occur in *P. taeda* plants in response to nitrogen and phosphorus fertilization on the rocky soil from Misiones. The third goal was to study the physiological changes in *P. taeda* plants fertilized with nitrogen and phosphorus in a high hydraulic conductive substrate, growing with low and high water availability. The fourth goal was to know if the root system of *P. taeda* plants can detect nutrient rich patches in the soil and respond to these patches at root level and at whole plant water conductance capacity level. The fifth goal was to analyze if different nitrogen sources have the same depressive effect in growth and produce hydraulic architecture changes similar to those observed with urea fertilization; and to evaluate if each nitrogen source alters the tolerance to the drought stress imposed in the soil with low hydraulic conductance. The sixth and seventh goals were to determine if there exist genetic variability in the response in growth to fertilization to nitrogen and

phosphorus through the analysis of four families of *P. taeda*, and to analyze the changes in dry mass partitioning and different hydraulic traits those families, that can explain the different extent of the depressive effect in growth of nitrogen fertilization.

The results obtained are new contributions to the general knowledge about the effects of fertilization under different conditions of water availability. Plant level changes due to nitrogen and phosphorus fertilization in the hydraulic architecture is related with growth. Those changes exacerbate drought stress in the red soils but not in high conductance substrates. New information is generated about the effect of fertilization on marginal rocky soils which are use widely to plant *P. taeda* in Argentina. Possible physiological causes of the depressive effect of urea in young *P. taeda* plant growth on red soils are described. It is demonstrated that this species does not respond in different way to fertilizer placement, i.e disperse or localized. The nitrogen source produce different response in some hydraulic traits, but it is not possible to know the implication of those changes in growth. There is variability in the response to fertilization in growth between families that were selected in a breeding program of Argentina. Those different responses are the result of different dry mass partitioning and differences in some hydraulic traits. Therefore, the family with higher growing rate is the least affected by the fertilization with nitrogen and the most improved by phosphorus fertilization.

The knowledge about the physiological responses of this species brings new tools to land use and sustainable forest management decisions.

Trabajos derivados de esta tesis

Presentaciones en congresos y jornadas científicas

Faustino, L.I.; Gortari, F.; Guiamet, J.J.; Graciano, C. (2010). La elevada disponibilidad de nitrógeno aumenta el riesgo de fallas hidráulicas en *Pinus taeda*. IV Reunión Binacional de Ecología. Buenos Aires, 8 al 13 de agosto de 2010.

Faustino, L.I.; Gortari, F.; Graciano, C.; Guiamet, J.J. (2010). Primeras aproximaciones sobre las causas del efecto depresivo de la fertilización con urea sobre el crecimiento de *Pinus taeda*. XXVIII Reunión Argentina de Fisiología Vegetal. La Plata, del 26 al 29 de setiembre de 2010.

Faustino, L.I.; Graciano, C. (2012). Ajustes hidráulicos de *Pinus taeda* en respuesta a la fertilización con distintas fuentes nitrogenadas. 25º Reunión Argentina de Ecología. Lujan, 24 al 28 de setiembre de 2012.

Faustino, L.I.; Graciano, C. (2012). Modificaciones hidráulicas en *Pinus taeda* relacionadas a la disponibilidad de N y P. XXIX Reunión Argentina de Fisiología Vegetal. Mar del Plata, 17 al 20 de setiembre de 2012.

Publicaciones en revistas científicas

Faustino, L.I.; Graciano, C.; Gortari, F.; Guiamet, J.J. (2011) ¿Cómo afectan los nutrientes el uso del agua en plantas leñosas? *Ecología Austral* 21 (3): 233-250.

Faustino, L.I., Bulfe, N.M.L., Pinazo, M., Goya, J.F., Martiarena, R., Knebel, O., Graciano, C. (2011). Crecimiento inicial de *Pinus taeda* L. en suelo pedregoso de

la provincia de Misiones, en respuesta a la fertilización con P y N. Revista Forestal Yvyrareta 18: 52-57.

Faustino, L.I., Bulfe, N.M.L., Pinazo, M., Graciano, C. (2012) La utilización de familias selectas de *Pinus taeda* permite evitar el efecto depresivo de la fertilización con urea y maximizar el crecimiento con la aplicación de fósforo. Revista de la Facultad de Agronomía (UNLP) 111 (2): 54-63.

Faustino, L.I., Bulfe, N.M.L., Pinazo, M., Monteoliva, S., Graciano, C. (2013) Depressive effect of nitrogen fertilization is related with changes in partitioning to leaves and hydraulic traits in young *Pinus taeda*. Tree Physiology: *publicado online a partir del 25 de enero de 2013*. Disponible en: <http://treephys.oxfordjournals.org/cgi/reprint/tps129?ijkey=ZCQ5GZzVaiYMPRz&keytype=ref>

Índice general

		<i>pag.</i>
Capítulo 1	Introducción	
Capítulo 1a	Relación entre los nutrientes y el uso del agua en especies leñosas	
1a.1	Las poblaciones fertilizadas y no fertilizadas	7
1a.2	Los individuos con alta y baja disponibilidad de nutrientes	9
1a.3	Algunas modificaciones de la arquitectura hidráulica a nivel de órgano	15
1a.4	Algunos antecedentes a nivel subcelular	20
1a.5	En síntesis...	22
Capítulo 1b	<i>Pinus taeda</i> como sistema de estudio. Objetivos e hipótesis de trabajo	
1b.1	Sistema de estudio	25
1b.2	Condiciones ambientales en el área de origen de la especie	28
1b.3	Objetivos e hipótesis	30
1b.4	Sinopsis de esta tesis	33
Capítulo 2	Respuesta a la fertilización con nitrógeno y fósforo sobre suelo pedregoso	
Capítulo 2a	Crecimiento inicial en plantación sobre suelo pedregoso de la provincia de Misiones	
2a.1	Resumen	36
2a.2	Introducción	36
2a.3	Metodología	38
2a.4	Resultados	42
2a.5	Discusión	47
2a.6	Conclusiones	49

<i>Capítulo 2b</i>	Respuestas fisiológicas a la fertilización con nitrógeno y fósforo en suelo pedregoso	
<i>2b.1</i>	Resumen	51
<i>2b.2</i>	Introducción	52
<i>2b.3</i>	Metodología	54
<i>2b.4</i>	Resultados	60
<i>2b.5</i>	Discusión	73
<i>2b.6</i>	Conclusiones	77
<i>Capítulo 3</i>	Respuestas a la fertilización en un sustrato con baja disponibilidad de nutrientes y alta conductividad hidráulica	
<i>Capítulo 3a</i>	Interacción entre la fertilización y la sequía	
<i>3a.1</i>	Resumen	81
<i>3a.2</i>	Introducción	82
<i>3a.3</i>	Metodología	84
<i>3a.4</i>	Resultados	88
<i>3a.5</i>	Discusión	96
<i>3a.6</i>	Conclusiones	100
<i>Capítulo 3b</i>	Fertilización dispersa y localizada: modificaciones de la arquitectura hidráulica	
<i>3b.1</i>	Resumen	102
<i>3b.2</i>	Introducción	103
<i>3b.3</i>	Metodología	104
<i>3b.4</i>	Resultados	110
<i>3b.5</i>	Discusión	119
<i>3b.6</i>	Conclusiones	126
<i>Capítulo 4</i>	Distintas fuentes de nitrógeno y disponibilidad de agua en suelo pedregoso	
<i>4.1</i>	Resumen	128
<i>4.2</i>	Introducción	129

	4.3	Metodología	132
	4.4	Resultados	136
	4.5	Discusión	148
	4.6	Conclusiones	153
Capítulo 5	Variabilidad genética entre familias de <i>Pinus taeda</i> en la respuesta a la fertilización		
<i>Capítulo 5a</i>	Crecimiento de familias selectas fertilizadas con nitrógeno y fósforo		
	5a.1	Resumen	156
	5a.2	Introducción	156
	5a.3	Metodología	158
	5a.4	Resultados	162
	5a.5	Discusión	165
	5a.6	Conclusiones	167
<i>Capítulo 5b</i>	El efecto depresivo del nitrógeno en diferentes familias		
	5b.1	Resumen	170
	5b.2	Introducción	171
	5b.3	Metodología	173
	5b.4	Resultados	175
	5b.5	Discusión	185
	5b.6	Conclusiones	192
Capítulo 6	Contraste de hipótesis, conclusiones generales y perspectivas futuras		
	6.1	Contraste de hipótesis	194
	6.2	Conclusiones generales	198
	6.3	Aportes de esta tesis	202
	6.4	Perspectivas futuras	204
Capítulo 7	Bibliografía		206

Capítulo 1

Introducción

Capítulo 1a

Relación entre los nutrientes y el uso del agua en especies leñosas

Relación entre los nutrientes y el uso del agua en especies leñosas

El agua y los nutrientes son dos de los principales factores que determinan el crecimiento de los árboles (Lambers et al. 1998; Stoneman et al. 1996). La disponibilidad de nutrientes en el suelo puede variar tanto por las condiciones naturales del sitio como por la intervención antrópica, por ejemplo, mediante fertilización. Muchos estudios han demostrado que la fertilización es más efectiva cuando la disponibilidad de agua no es limitante (Sands y Mulligan 1990). El nitrógeno (N) y el fósforo (P) son los nutrientes que más frecuentemente limitan el crecimiento si su disponibilidad no es adecuada, sin embargo, el balance entre los distintos nutrientes es fundamental para determinar la condición nutricional óptima de las plantas. Hay numerosos trabajos que han analizado los efectos de la fertilización en el crecimiento de los árboles, muchos de estos concluyen que la interacción de la disponibilidad de nutrientes con todos los demás factores ambientales dificulta la predicción de los efectos de esta práctica (Dighton et al. 1993; Fisher y Binkley 2000; Graciano et al. 2006a; Judd et al. 1996; Neves et al. 1990).

La interacción entre la disponibilidad de agua y nutrientes se debe a que ambos factores, además de ser esenciales para las plantas, forman la solución del suelo (Figura 1 a.1). El agua en el suelo está ubicada en los poros que forman las partículas sólidas: los minerales (i.e., arena, limo y arcilla) y la materia orgánica. A medida que el suelo pierde agua, cada poro es ocupado parcialmente por aire, mientras que el agua queda retenida en contacto con las superficies sólidas. Es así que a medida que se produce la desecación del suelo, la resistencia al movimiento de agua se incrementa. Asimismo, la composición mineral y el contenido de materia orgánica afectan la fuerza con la que el agua es retenida sobre las superficies, haciéndolo con mayor fuerza cuanto menor es el tamaño de los poros. Las arcillas y la materia orgánica generan poros pequeños y tienen mayor superficie expuesta por unidad de volumen, por lo cual mayor cantidad de agua es adsorbida en superficie, fenómeno que incrementa la resistencia al movimiento del agua. Por el contrario, las partículas de arena generan poros grandes y tienen poca capacidad de adsorción, por lo tanto, cuando un suelo con alto contenido de arena está saturado, la resistencia

al movimiento de agua es baja; pero a medida que los poros pierden agua, la conductividad hidráulica disminuye abruptamente. Por otro lado, los iones minerales están en solución en el agua del suelo, en equilibrio dinámico con la fase sólida: si la concentración de un ion en la solución disminuye se producirá la solubilización o desorción desde las partículas sólidas hasta que se recupere el estado de equilibrio (Taiz y Zeiger 2003).

De la totalidad de iones que componen la solución del suelo, algunos están adsorbidos por las partículas sólidas con carga, como la arcilla y la materia orgánica, mientras que otros se mueven libremente en la solución lejos de las partículas sólidas. Los iones de la solución del suelo que se encuentran en la rizósfera ingresan a la raíz por vía apoplástica (i.e., las paredes celulares y los espacios intercelulares). Algunos cationes quedan retenidos por las cargas negativas de la pared celular, mientras que los demás iones se mueven por flujo masal en el apoplasto. El ingreso de los iones al simplasto (i.e., el continuo protoplasmático limitado por la membrana plasmática) puede ser por vías no específicas o mediante transportadores específicos. Cuando los iones ingresan al simplasto de la raíz, se produce la desorción de los mismos desde el apoplasto y, posteriormente, desde las partículas del suelo. Sin embargo, la velocidad de desorción y solubilización desde el suelo es menor a la tasa de absorción por las raíces, de modo que suele observarse disminución de la concentración de iones en la rizósfera con respecto a la concentración que tiene el suelo lejos de las raíces. Los iones y el agua presentes en el apoplasto de la raíz ineludiblemente ingresan al simplasto en la endodermis, y posteriormente siguen su recorrido hacia el xilema por vía simplástica o apoplástica. Una vez que los iones y el agua ingresan al xilema, son trasladados por la corriente transpiratoria (Marschner 1995).

Los elementos del xilema en las plantas leñosas ofrecen resistencia al movimiento del agua, esta resistencia aumenta al disminuir el diámetro de los conductos y al aumentar la longitud del recorrido. Las características estructurales de los elementos xilemáticos (e.g., rugosidad de las paredes, número de conexiones entre elementos, resistencia de las conexiones) también influyen en la resistencia al movimiento de agua. Además, la capacidad de conducir agua de este tejido puede modificarse en el corto plazo por la embolia

de los elementos que lo componen, fenómeno que ocurre cuando son sometidos a tensiones mayores a un nivel crítico, dependiente de la especie, edad, época del año y condiciones de crecimiento de cada planta. Una vez que el agua y los nutrientes llegan a las hojas, se produce el movimiento en el mesófilo por vía apoplástica y simplástica. Los minerales que sean nutrientes serán incorporados al metabolismo de la planta, y podrán posteriormente traslocarse a otros órganos como iones o parte de metabolitos, por vía xilemática o floemática, según sea el mineral. El agua se moverá desde el xilema hacia el mesófilo por vía apoplástica y simplástica, y se producirá su pasaje al estado de vapor en los espacios intercelulares y la cámara subestomática. Posteriormente, si los estomas están abiertos, el vapor de agua difundirá a la atmósfera, a mayor tasa cuanto mayor sea el déficit de saturación del aire y cuanto mayor sea la apertura estomática. En su pasaje a la atmósfera el agua atravesará la resistencia que ofrece la capa límite, que será mayor cuanto más rugosa sean la superficie del canopy y la superficie foliar, y menor sea la velocidad del viento. La difusión de agua desde la epidermis en general es reducida, debido a la presencia de la cutícula sobre la superficie de la hoja. La resistencia de la cutícula puede modificarse con las condiciones de crecimiento de la planta dado que puede cambiar el grosor y composición de esta capa, y además puede disminuir por deterioro físico cuando la hoja envejece. El agua perdida en estado de vapor forma parte de la humedad atmosférica, componente del ciclo hidrológico, y volverá al suelo como precipitaciones, cuando las condiciones atmosféricas sean las adecuadas. También parte de los nutrientes se perderán de la planta cuando se produzca la abscisión de órganos, de manera que serán posteriormente incorporados al suelo mediante la mineralización de la materia orgánica (Salisbury y Ross 1994; Taiz y Zeiger 2003).

Los distintos componentes del continuo suelo-planta-atmósfera pueden resumirse en el concepto de arquitectura hidráulica. La arquitectura hidráulica de una planta puede ser definida como la estructura del sistema conductor de agua, o el conjunto de características hidráulicas de los tejidos conductores de las plantas que califican y cuantifican el flujo de agua desde las raíces hasta las hojas (Cruziat et al. 2002).

El primer resultado esperable con la suplementación de nutrientes que se encuentran de manera limitante para una planta, es un incremento en el crecimiento. Las plantas más grandes tienen más área foliar, y por lo tanto transpiran más, siempre y cuando la disponibilidad de agua en el suelo sea suficiente. Sin embargo, la fertilización no sólo afecta la tasa de crecimiento sino también la distribución de materia seca en los diferentes órganos y consecuentemente la arquitectura hidráulica de las plantas, por lo tanto también podrían cambiar las relaciones hídricas (Bucci et al. 2006). Como criterios generales, al incrementarse la conductancia estomática, la conductividad hidráulica de tallos y raíces y la exploración radical del suelo, también se incrementa la cantidad de agua consumida por las plantas. En cambio, a mayor cantidad de conductos embolizados, la resistencia del xilema aumenta, y por lo tanto el consumo de agua disminuye (Atwell et al. 2009; Fernández y Reynolds 2000). Asimismo, se puede asumir que, en general, las plantas que crecen más rápido, pueden tener mayor probabilidad de fallas en las funciones hidráulicas y, por consiguiente, mayor riesgo de muerte frente a episodios de elevadas temperaturas o sequía, aunque esta aseveración no es válida para todas las especies. En síntesis, tanto la disponibilidad de nutrientes como la disponibilidad de agua pueden producir cambios en las plantas a nivel subcelular, de órgano y de planta entera que modifiquen el uso del agua de las mismas y tengan influencia en niveles de organización mayores, como son las poblaciones y los ecosistemas (Maseda y Fernández 2006; McDowell et al. 2008).

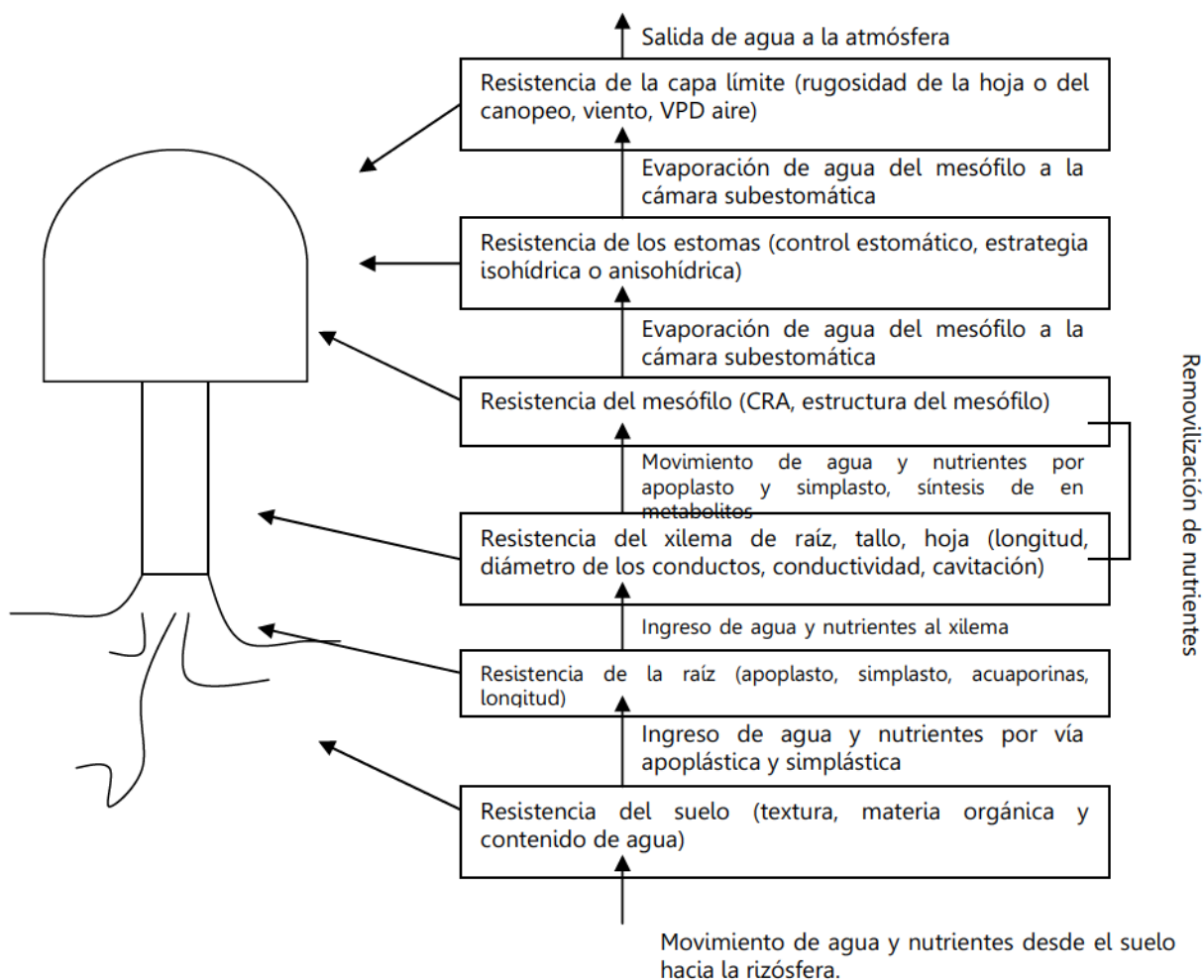


Figura 1a.1 Esquema del movimiento de agua y nutrientes en el continuo suelo-planta-atmósfera. Al costado de las flechas, se indica el flujo de agua. En los recuadros se indican las resistencias encontradas en cada etapa, y entre paréntesis se enuncian los factores que pueden modificar cada resistencia.

1a.1 - Las poblaciones fertilizadas y no fertilizadas

La fertilización puede modificar el consumo de agua de los rodales por diferentes vías: por un lado, el mayor crecimiento de las plantas fertilizadas, sin ninguna otra modificación en la arquitectura hidráulica ni la fisiología, lleva asociado un mayor consumo de agua, simplemente por el aumento del área foliar, i.e. la superficie transpirante. En este sentido, la fertilización aumentó el índice de área foliar y la transpiración total (mm de agua por día) en plantaciones de *Populus* (Samuelson et al. 2007) y de *Pinus taeda* (Samuelson y

Stokes 2006). Sin embargo, en otros trabajos, los resultados encontrados a nivel de población permiten suponer modificaciones en la tasa transpiratoria a un nivel de organización menor (posiblemente individuo u órgano). Por ejemplo, en plantaciones de *Pinus taeda* la transpiración por unidad de área foliar aumentó con la fertilización (Samuelson y Stokes 2006), mientras que en plantaciones de *Picea abies* la fertilización aumentó el índice de área foliar, pero redujo el flujo de savia (i.e., cantidad de agua transportada, por superficie de albura y por tiempo) y la transpiración del canopy (i.e., cantidad de agua total evaporada por planta referida al área foliar) (Phillips et al. 2001). Si bien en este último ejemplo la fertilización disminuyó el consumo de agua, hay que analizar que plantas más grandes pueden transpirar más, y por lo tanto disminuir el contenido de agua en el suelo con mayor velocidad. A su vez, el aumento del área foliar puede generar mayor interceptación de las precipitaciones, por lo que cantidad de agua que llega al suelo se reduce. El enfoque de respuesta vs. efecto (Goldberg y Landa 1991; Suding et al. 2008) enmarca este tipo de funcionamiento a nivel de población, en el cual se postula que las plantas responden a la disponibilidad de recursos, y consecuentemente modifican el sistema que habitan a través de la utilización de dichos recursos. Posteriormente, los efectos de las plantas sobre el ambiente a su vez condicionarán las respuestas futuras de los organismos que lo habitan. En consecuencia, en este tipo de estudios resulta imprescindible analizar si el contenido de agua en el suelo de las parcelas fertilizadas es similar al de las no fertilizadas, para poder discernir si los resultados encontrados se deben directamente a la fertilización o son efectos indirectos de una diferente disponibilidad de agua (Ewers et al. 1999; Stoneman et al. 1996). Tal es el caso en parcelas de *Pinus taeda* y de *Picea abies*, en las que la fertilización se aplicó con y sin riego. En estas especies la fertilización incrementó el índice de área foliar independientemente de que fuera aplicada con o sin riego adicional; se descarta de esta manera que los efectos se deban al menor contenido de agua en el suelo. Sin embargo, a pesar del aumento del índice de área foliar, la fertilización no modificó la conductancia estomática del canopy en *Picea abies*, y la redujo drásticamente en *Pinus taeda* (Ewers et al. 2001). Una posible explicación es la disminución del grosor o la cantidad de raíces. En este sentido

se encontró que la fertilización tanto con P como con una mezcla de nutrientes redujo la densidad y el grosor de raíces finas en parcelas de *Pinus pinaster* (Bakker et al. 2009). De igual modo, la fertilización (N, P, K) aumentó la biomasa subterránea pero disminuyó la relación de raíces respecto a la biomasa total (Samuelson et al. 2008a) y aumentó la densidad de raíces finas en profundidad (Ewers et al. 1999) en *Pinus taeda*. Estos últimos ejemplos muestran que la fertilización tiende a reducir la biomasa de raíces, o a producir raíces más finas, menos conductivas, lo que podría reducir la disponibilidad de agua para la parte aérea de la planta.

En síntesis, la fertilización afecta el uso del agua, y esto puede deberse al incremento del área foliar, a la modificación en la relación entre la biomasa aérea y subterránea (i.e., incremento del área transpirante y reducción del área absorbente) o a cambios en la distribución de raíces (i.e., menos raíces y más finas). Estos cambios poblacionales se deben a la capacidad que tienen los individuos de responder a la disponibilidad de nutrientes.

1a.2 - Los individuos con alta y baja disponibilidad de nutrientes

La morfología y fisiología de las plantas que crecen en condiciones de sequía es diferente a la de aquellas plantas que tienen suficiente disponibilidad de agua, y por otra parte, ciertos caracteres importantes para la supervivencia de los individuos en condiciones de sequía (e.g., la arquitectura hidráulica de la planta) pueden ser modificados también por la disponibilidad de nutrientes. En algunas ocasiones estas modificaciones pueden ser aún más importantes que las causadas por la disponibilidad de agua. Para este análisis, se agrupan por un lado los cambios en la distribución de materia seca que puedan afectar la cantidad de agua consumida o el acceso al agua (e.g. relación vástago:raíz, área foliar: área de xilema, distribución de raíces) y por otro, los cambios fisiológicos independientes de las modificaciones en asignación de materia seca (e.g. cambios en el intercambio de gases, en la eficiencia en el uso del agua).

Cambios en la distribución de materia seca

La disponibilidad de nutrientes afecta la partición de materia seca entre los diferentes órganos de la planta y también el uso del agua (Graciano et al. 2005, 2006b; Harvey y van den Driessche 1997; Sands y Mulligan 1990; Vilela et al. 2003). La arquitectura del sistema radical de los árboles responde tanto a la disminución del suministro de agua como a la baja disponibilidad de nutrientes, con señales opuestas para la distribución espacial de las raíces: cerca de la superficie, donde hay mayor abundancia de nutrientes, y exploración en profundidad en respuesta a la mayor disponibilidad de agua. Por lo general, la fertilización aumenta la relación vástago:raíz y la sequía la reduce, pero en presencia de ambos factores, el efecto de la sequía suele predominar sobre el de la fertilización, aunque las respuestas pueden variar según la especie y el sistema de estudio. Algunos de los muchos ejemplos que se encuentran en la bibliografía al respecto se enuncian a continuación. En cuatro especies de *Prosopis*, la disponibilidad de N no modificó la relación vástago:raíz, pero esta relación disminuyó en dos de las especies cuando fueron sometidas a sequía (Vilela et al. 2003). En *Pinus pinaster*, *Picea mariana* y *Picea glauca*, la escasez de agua y/o N disminuyó la relación vástago:raíz (Fernández et al. 2006; Patterson et al. 1997). En *Pinus taeda*, la deficiencia de N también causó una disminución de la relación tallo:raíz, pero este efecto se revirtió parcialmente cuando se sometió a las plantas a un período de sequía (Green et al. 1994). En algunas especies latifoliadas del Cerrado Brasileño la fertilización con N incrementó el área foliar por planta y la relación área foliar:área de xilema, sin embargo, estas relaciones no se modificaron cuando se les aplicó P, ya sea solo o combinado con N (Bucci et al. 2006). En *Tectona grandis*, *Swietenia macrophylla* y *Platymiscium pinnatum* se observó que la aplicación de una mezcla de fertilizantes (N, P y K) aumentó sustancialmente la relación vástago:raíz si las plantas estaban expuestas a buena disponibilidad de agua, pero que la reducción en la proporción de raíces no era tan marcada si las plantas fertilizadas estaban expuestas a condiciones de sequía (Cernusak et al. 2009). Hay que considerar también que no sólo la disponibilidad total, sino también la distribución espacial de los nutrientes tiene efectos en la arquitectura del sistema radical. Las plantas expuestas a parches ricos en nutrientes desarrollan

mayor cantidad de raíces dentro de esos sectores (George et al. 1997; Graciano et al. 2009; Hodge 2006; López-Bucio et al. 2003). Este mayor desarrollo puede ser a expensas del desarrollo de raíces fuera del parche (Durieux et al. 1994; Gloser et al. 2008) o de la relación vástago:raíz (Hutchings y John 2004). Son escasos los antecedentes encontrados al respecto en especies leñosas, por lo tanto en este apartado se amplió con bibliografía referente también a especies herbáceas. En *Eucalyptus grandis* se observó mayor biomasa de raíces a la profundidad de parches ricos en P (Graciano et al. 2009). En plantas de *Arabidopsis* proliferaron más raíces dentro de parches ricos en nitrato, mientras que con una disponibilidad de nitrato elevada y homogénea en todo el sistema radical, la proliferación de raíces disminuyó (Zhang y Forde 2000). La proliferación de raíces en el parche rico permite a la planta absorber eficientemente el nutriente existente en el parche (Linkohr et al. 2002). Por otro lado, también se ha observado que en soluciones hidropónicas con muy baja disponibilidad de nutrientes la velocidad de expansión de raíces es mayor, lo que podría interpretarse como un mecanismo de adaptación a ambientes pobres en nutrientes (Hermans et al. 2006; Walter et al. 2003; Zhang et al. 2007). Por lo tanto, la baja disponibilidad de nutrientes tiende a aumentar la proliferación de raíces, de la misma forma que la existencia de parches nutritivos en un suelo con baja disponibilidad general de nutrientes. Es importante considerar que el desarrollo de raíces en parches ricos en algún nutriente tiene consecuencias en la accesibilidad a otros recursos existentes fuera del parche, como agua y otros nutrientes (Graciano et al. 2009). Es así que la proliferación de raíces localizadas, podría traer aparejada una disminución de la capacidad de la planta de absorber agua, ya que muchas raíces absorberían agua, oxígeno y nutrientes de un sector reducido, y agotarían rápidamente los recursos, por lo que la planta debería invertir más energía en promover el crecimiento de raíces en sectores donde queden recursos disponibles. Consecuentemente, la capacidad de responder a parches ricos en nutrientes probablemente ocurra si la disponibilidad de nutrientes es baja y la disponibilidad de agua no es limitante. En síntesis, la conformación final del sistema radical dependerá de la disponibilidad de cada factor abiótico (i.e., agua y cada uno de los nutrientes) y de la heterogeneidad espacial y temporal con

que cada factor esté presente, influenciado también por la capacidad de respuesta que tenga el genotipo en análisis. El efecto de cada estrés abiótico (e.g., sequía, deficiencia de nutrientes) sobre las características fundamentales que definen la capacidad de transporte de agua varía ampliamente, por lo que es difícil predecir de qué manera las condiciones de campo afectarán el consumo de agua (Atwell et al. 2009). En casos de sequías severas, el aumento en la proporción de hojas y la disminución de la profundidad de raíces causado por la fertilización puede llevar a la ruptura del equilibrio entre el vástago y la raíz y aumentar la mortandad de plantas.

Cambios en intercambio de gases y eficiencia en el uso del agua

El cambio en el consumo de agua causado por la fertilización puede deberse simplemente al cambio del tamaño de los individuos, ya que individuos más grandes, transpiran más y consumen más agua (Wullschleger et al. 1998), como se ha mencionado en el apartado referente a poblaciones. Sin embargo, los antecedentes a continuación indican que la fertilización también modifica el uso del agua, aún en condiciones de igual disponibilidad hídrica.

Una de las características que está influenciada por la disponibilidad de nutrientes es la sensibilidad de la apertura y cierre estomático frente a la disminución del potencial hídrico de la hoja. En este sentido, las plantas fertilizadas pueden cambiar su estrategia y tender a un comportamiento más isohídrico o anisohídrico que las plantas no fertilizadas. Esto significa que, frente a un aumento de la demanda evapotranspirativa o a la disminución de agua del suelo, las plantas tenderán a cerrar los estomas y mantener el potencial hídrico más cercano a cero (i.e., plantas isohídricas) o a mantener los estomas abiertos y tolerar caídas marcadas del potencial hídrico (i.e., plantas anisohídricas) en comparación con las plantas no fertilizadas (McDowell et al. 2008). Por ejemplo, plantas de algodón con alta dosis de N redujeron la conductancia estomática y cesaron la expansión foliar a potenciales hídricos más bajos que individuos con baja disponibilidad de N (Radin y Parker 1979b), consecuentemente las plantas con alto N se tornaron más anisohídricas. Los cambios en la apertura y cierre estomático van a determinar modificaciones en

el consumo de agua, que pueden incrementar o contrarrestar los efectos de los cambios en el tamaño de los individuos y de su área foliar.

Contrariamente a los resultados discutidos previamente para algodón, hay antecedentes que indican que la fertilización reduce el consumo de agua a nivel de individuo en árboles. En tres especies tropicales la tasa de transpiración medida a nivel de planta entera disminuyó con la fertilización (Cernusak et al. 2009). En *Picea abies* la fertilización redujo el flujo de savia por superficie de albura y la transpiración por unidad de área foliar (Phillips et al. 2001).

El consumo de agua a nivel de individuo puede inferirse mediante mediciones instantáneas en hojas con porómetro o con analizador de gases infrarrojo (IRGA). La ventaja de estas mediciones es que son rápidas y permiten conocer, con ciertas restricciones, el estado de la planta entera. A partir de estas mediciones se puede calcular la eficiencia del uso del agua instantánea (EUAi), que es la relación entre los moles de CO₂ fijados y los moles de agua transpirados. Las modificaciones en la EUAi pueden deberse a cambios en la fotosíntesis, la transpiración o en ambos procesos pero en diferente magnitud. En general, las plantas fertilizadas tienen mayor tasa fotosintética, por lo que la EUAi aumenta (Guehl et al. 1995), como se observó en *Pinus taeda* (Green y Mitchell 1992) y en clones de *Populus* (Harvey y van den Driessche 1999) en respuesta a la fertilización con N. En condiciones de baja disponibilidad de agua, las plantas tienden a reducir la transpiración, de modo que sequías leves que no afecten la capacidad fotosintética, pueden incrementar la EUAi. Lo que no está tan claramente establecido es si la fertilización incrementa o disminuye la transpiración. Por ejemplo, en *Pinus pinaster* la transpiración fue mayor en plantas con alta disponibilidad de N, tanto con baja como con alta disponibilidad de agua (Fernández et al. 2006), pero sólo las plantas con alta disponibilidad de N aumentaron la EUAi en respuesta a la sequía. Similar comportamiento se observó en *Ulmus americana* bajo estrés moderado (Reich et al. 1989). Consistentemente, en *Pinus taeda* la fertilización combinada con N y P redujo la transpiración, y aumentó la EUAi (Tyree et al. 2009a). En *Pinus contorta* (Amponsah et al. 2004) y en *Quercus prinus* (Kleiner et al. 1992) la fertilización redujo la conductancia estomática a nivel de hoja. Asimismo, en tres especies del Cerrado Brasileño, la conductancia estomática nocturna y la

transpiración nocturna disminuyeron en las plantas fertilizadas con N o con P, con efecto más marcado del N (Scholz et al. 2007). En *Pinus pinaster* fertilizado con N, la conductancia estomática medida a lo largo del día fue menor que en las plantas sin fertilizar (Guehl et al. 1995). En *Quercus robur* la tasa transpiratoria disminuyó al aumentar la disponibilidad de nutrientes (Welander y Ottosson 2000). Estos ejemplos indicarían que en algunos casos puede ser relevante la función de la transpiración de movilizar nutrientes hacia la rizósfera. Es por eso que frente a una mayor disponibilidad de nutrientes la transpiración disminuye y reduce el consumo de agua. Este tipo de respuesta es más probable en sitios con baja dotación de nutrientes y buena disponibilidad de agua o en plantas con elevado requerimiento de nutrientes.

El mayor consumo de agua en plantas con baja disponibilidad de nutrientes respecto a plantas con alta disponibilidad de nutrientes es consistente con la idea de que la transpiración cumple la función de promover el flujo masal de agua en el suelo hacia las raíces (Scholz et al. 2007), función que es más importante en suelos con baja conductividad hidráulica y baja disponibilidad de nutrientes, ya que este mecanismo incrementa la capacidad de absorción de iones móviles como el nitrato (Cramer et al. 2009). Sin embargo, existen estudios que demuestran que el aumento en la disponibilidad de nutrientes puede aumentar el consumo de agua, por ejemplo en *Quercus robur* la fertilización aumentó la conductancia estomática (Guehl et al. 1995) y en *Prosopis chilensis*, la fertilización acompañada con abundante riego aumentó la transpiración, mientras que en caso de sequía, las plantas sin fertilización transpiraron más que las fertilizadas (Imo y Timmer 1992). Por lo tanto, si bien hay una tendencia general a que las plantas con mayor disponibilidad de recursos (e.g., agua, nutrientes) utilicen más recursos y con mayor eficiencia (Binkley et al. 2004; Stape et al. 2004), esta afirmación no puede generalizarse. Los antecedentes indican que la aplicación de fertilizantes puede reducir el consumo de agua, y que esto puede estar o no acompañado por incrementos proporcionales en la fotosíntesis, por lo que la eficiencia del uso del agua puede aumentar, pero también hay casos en que el consumo de agua puede ser mayor en plantas fertilizadas, por lo que esta eficiencia podría disminuir o no modificarse.

Además del control estomático, puede haber otras modificaciones en la arquitectura hidráulica que modifiquen la cantidad de agua utilizada por la planta, esto conduce a analizar qué órganos pueden sufrir modificaciones al variar la disponibilidad de nutrientes.

1a.3 - Algunas modificaciones de la arquitectura hidráulica a nivel de órgano

Los cambios en el consumo de agua a nivel de planta entera pueden deberse a cambios en uno o varios órganos. Más allá de que las alteraciones en la distribución de materia seca modifican la capacidad de exploración del suelo y la superficie transpirante, hay modificaciones a nivel de órgano que van a intervenir en el balance final de consumo de agua a nivel de planta entera. Principalmente, son importantes los cambios a) a nivel de raíz, porque determinan el acceso al agua y los nutrientes, b) a nivel de tallos, porque determinan la capacidad de conducción de agua hacia las hojas y ápices en crecimiento y c) a nivel de hojas, porque determinan si se puede mantener la turgencia celular, el crecimiento y la capacidad fotosintética frente a disminuciones en el estado hídrico de las plantas.

Modificaciones en la capacidad específica de absorción de agua de las raíces

La actividad de las raíces modifica las características físico-químicas de la rizósfera, que son diferentes a las del suelo sin raíces; pero a su vez, la disponibilidad de nutrientes y agua en el suelo modifica la cantidad y actividad de raíces (Neumann et al. 2009). Más allá de los efectos en la distribución espacial, la disponibilidad de nutrientes puede alterar la conductividad hidráulica de las raíces. Por ejemplo, la deficiencia severa de nitrato, fosfato y sulfato reduce la conductividad hidráulica de las raíces, y la conductividad aumenta con mayor disponibilidad de estos iones (Gloser et al. 2007; Li et al. 2009; Radin y Eidenbock 1984). Asimismo, el incremento en la disponibilidad de nutrientes aumenta la resistencia a la cavitación de las raíces (Ewers et al. 2000; Radin y Eidenbock 1984). En períodos de baja disponibilidad de agua en el suelo, con la consecuente reducción de la conductividad hidráulica del mismo,

una modificación posible que hace posible que las plantas absorben agua y nutrientes es el aumento de la proliferación de raíces, mientras que otra es el aumento de la conductividad de las raíces existentes (McElrone et al. 2007). En este último caso, la conductividad de las raíces aumentaría en períodos del año con elevada demanda evapotranspirativa, lo que implica una disminución en la resistencia al flujo de agua en las raíces en los momentos en que las hojas pierden mayor cantidad de agua. Una respuesta similar ocurre con la absorción de nutrientes desde el suelo: en suelos deficientes en nutrientes puede aumentar la proliferación de raíces y también la capacidad de absorción de iones específicos.

Los resultados siguientes en su mayoría se obtuvieron en diversas plantas herbáceas, pero por su valor ilustrativo y por no hallarse antecedentes en plantas leñosas, se tuvieron en cuenta para explicar mecanismos presentes en las plantas y factibles de ser encontrados en especies leñosas. Estos antecedentes indican que, además de las modificaciones descritas precedentemente, también pueden producirse respuestas en muy corto plazo de las propiedades hidráulicas de raíces ya formadas, cuando las plantas que crecieron con baja disponibilidad de nutrientes son expuestas a alta disponibilidad de algún ion determinado. En este sentido, el flujo de agua en las raíces se incrementó 4 horas después de la adición de altas dosis de nitrato en plantas que crecían en hidroponía con baja disponibilidad de nitrato (Gloser et al. 2007; Gorska et al. 2008a). Este flujo se incrementó cinco veces más que el cambio en el potencial osmótico de la savia del xilema, y se revirtió al valor inicial cuando las plantas fueron colocadas nuevamente en la solución con baja disponibilidad de nitrato. Asimismo, las plantas que continuaron con baja disponibilidad de nitrato, incrementaron la resistencia al flujo de agua gradualmente, a medida que disminuía la concentración de nitrato en la solución de cultivo. Estos datos indican que el efecto del nitrato en las propiedades hidráulicas de las raíces es directo (i.e., no mediado por cambios en el desarrollo de las raíces), mientras que la velocidad de respuesta y la reversibilidad son factores importantes a considerar para profundizar en el conocimiento de los procesos fisiológicos que subyacen en esta interacción. La sensibilidad de la resistencia hidráulica de las raíces a la concentración externa

de nitrato (Gloser et al. 2007) indica que el flujo de agua es estimulado sólo en la porción de raíces expuestas a altas concentraciones de nitrato (Gloser et al. 2008; Gorska et al. 2008a). Esta respuesta localizada sugiere que la absorción de agua aumenta sólo en los parches ricos en nitrato, lo que permite un ajuste entre la absorción de agua y N a nivel de planta entera, con mayor absorción de agua en las raíces que puedan absorber también mayor cantidad de nitrato (Gloser et al. 2009; Gorska et al. 2008b). La velocidad de respuesta permite a la planta optimizar la adquisición de los recursos en ambientes espacial y temporalmente heterogéneos (Gorska et al. 2008a). Cuando el sistema radical es expuesto a condiciones heterogéneas, las raíces dentro y fuera de parches ricos responderán en forma diferente.

Si se analizan otros nutrientes, el exceso o la ausencia de cationes como el calcio, potasio o magnesio en plantas de pimiento en hidroponia modifica reversiblemente la conductancia de las raíces y la conductancia estomática en diferentes direcciones según el catión (Cabañero y Carvajal 2007). Estos antecedentes, si bien se obtuvieron en el plazo de tres días y con disponibilidades de nutrientes muy contrastantes y poco representativas de una situación en un ambiente natural, indican que los mecanismos de respuesta al déficit o exceso de cada catión difieren según sea el catión en estudio, lo que debe ser considerado cuando se quiere analizar la interacción entre nutrientes y arquitectura hidráulica.

Modificaciones en las relaciones hídricas de las hojas

La fertilización puede modificar la arquitectura hidráulica de las plantas a través del cambio en las relaciones hídricas de las hojas. El potencial hídrico puede disminuir por la acumulación de osmolitos (Radin y Boyer 1982) y este ajuste puede contribuir a mantener la turgencia celular en condiciones de sequía. En plantas de algodón con baja disponibilidad de N, las hojas perdieron la mitad del agua por cada unidad de caída de potencial hídrico, respecto a aquellas expuestas a alta disponibilidad de N. Esta mayor resistencia a la desecación en las plantas con baja disponibilidad de N estuvo relacionada con hojas de menor área foliar específica y células de menor tamaño y con paredes más rígidas, que las de las plantas con alta disponibilidad de N (Radin y Parker 1979a, b). En

Pinus taeda la fertilización no modificó el potencial hídrico al amanecer, pero aumentó el potencial hídrico al mediodía, a pesar de aumentar también la tasa transpiratoria de estas plantas (Samuelson et al. 2008b). En algunas especies del Cerrado brasileño, la fertilización con N generó una disminución del potencial osmótico a saturación (i.e., acumulación de solutos), mientras que la aplicación de P no tuvo ningún efecto (Bucci et al. 2006).

En situaciones de fuerte disminución del contenido de agua en las hojas por transpiración, las plantas pueden realizar ajuste osmótico (i.e., generalmente estimado como la mayor acumulación de sustancias osmóticamente activas en plantas con baja disponibilidad de agua en relación a plantas con buena disponibilidad de agua) que conduce a la disminución del potencial osmótico a saturación (Babu et al. 1999), y por consiguiente a mantener la turgencia celular necesaria para el crecimiento. En un estudio con *Pinus pinaster*, las plantas tuvieron la capacidad de realizar ajuste osmótico independientemente de la disponibilidad de N a la que estaban expuestas (Fernández et al. 2006). Por el contrario, las plantas de *Quercus rubra* no realizaron ajuste osmótico tanto en presencia como en ausencia de fertilización (N, P, K), mientras que en *Quercus prinus* la fertilización se asoció con la capacidad de realizar ajuste osmótico (Kleiner et al. 1992). En *Eucalyptus grandis* se observó ajuste osmótico en plantas fertilizadas con P que crecían en suelo con buena disponibilidad de N, mientras que las fertilizadas sólo con N y las no fertilizadas no realizaron ajuste osmótico. Sin embargo, también el tipo de suelo podría afectar esta respuesta ya que en un suelo arenoso con baja disponibilidad de N, las plantas de esta especie no realizaron ajuste osmótico cuando fueron fertilizadas con P o con N (Graciano et al. 2005).

Anteriormente se mencionó que la fertilización puede modificar la apertura y cierre estomático en respuesta a diferentes factores. Otra forma en que la fertilización puede modificar el uso del agua es a través de la modificación de la densidad estomática. Las hojas de plantas de álamo expuestas a dosis crecientes de N tienen mayor cantidad de estomas pero de tamaño más pequeño (Harvey y van den Driessche 1997).

Modificaciones en el tallo

La principal característica a analizar referente a los tallos es su capacidad de conducir agua. La fertilización puede modificar la conductividad hidráulica del xilema. En *Populus* la fertilización con P incrementó la conductividad foliar específica (kl) máxima (i.e., el caudal que puede ser transportado a un diferencial de presión determinado, referido al área foliar abastecida por ese tallo), mientras que el aumento del N disponible generó una disminución de kl medida con embolismos, y aumentó la vulnerabilidad a la cavitación (Harvey y van den Driessche 1997). En algunas especies del Cerrado brasileiro, se observó un aumento de la conductividad hidráulica específica del xilema del tallo (ks) (i.e., el caudal que puede ser transportado a un diferencial de presión determinado, referido al área de xilema del tallo) con la fertilización con N, pero cuando se analizó kl, esta fue igual a la de las plantas no fertilizadas, o incluso menor (Bucci et al. 2006), por lo tanto el aumento en ks pudo deberse a un aumento en la demanda producida por el incremento en el área foliar. Por el contrario, en *Eucalyptus grandis* no se observó modificación en la conductividad hidráulica de los tallos con la adición de dosis crecientes de N (Clearwater y Meinzer 2001).

Para ninguno de los ejemplos anteriores se conoce el mecanismo responsable del cambio en la conductividad hidráulica del xilema, pero existen algunos antecedentes de las posibles modificaciones en este tejido que pueden traer aparejadas modificaciones en la conductividad. Por un lado, la capacidad de conducir agua puede incrementarse a medida que aumenta la concentración salina de la savia (Zwieniecki et al. 2001), la que a su vez puede estar influenciada por la concentración de nutrientes en el suelo (Smith y Shortle 2001). En este caso la conductividad varía sin modificación del tamaño o número de los conductos xilemáticos. Otra fuente de modificación de la conductividad hidráulica es la variación del número o el tamaño de los elementos conductivos del xilema. Por ejemplo, la adición de N en *Eucalyptus pauciflora* incrementó el diámetro de los vasos del xilema y la superficie del leño ocupado por lúmenes en el cuello de la planta. Sin embargo, este aumento no se correspondió con un incremento en la conductividad hidráulica de la raíz ni del tallo (Atwell et al. 2009), por lo que la conductividad de cada vaso debe

haber disminuido con la fertilización, lo que resultó en una conductividad integrada igual a la de las plantas sin fertilizar. En *Populus*, la fertilización con N aumentó el diámetro de los vasos xilemáticos (Harvey y van den Driessche 1999), sin embargo el diámetro disminuyó, posiblemente debido al gran aumento del área foliar que produjo la fertilización con N. Contrariamente, la fertilización con P no tuvo efecto en el diámetro de los vasos, pero la resistencia a la cavitación fue mayor en plantas con mayor disponibilidad de P, y este aumento se correspondió con punteaduras de vasos de menor tamaño (Harvey y van den Driessche 1997). Esto es consistente con la hipótesis de que los embolismos comienzan con una burbuja de aire que ingresa al vaso a través de las punteaduras, y que por lo tanto, punteaduras más pequeñas confieren mayor resistencia a perder funcionalidad por embolia del tejido conductivo (Domec et al. 2006).

1a.4 - Algunos antecedentes a nivel subcelular

El ingreso del agua al cilindro central de las raíces, el movimiento de agua entre células y el equilibrio hídrico entre las distintas organelas de la célula requieren la difusión del agua a través de membranas celulares. Las acuaporinas son proteínas intrínsecas de membrana que permiten el pasaje de agua y explican una parte importante de la difusión de agua a través de las membranas. Su permeabilidad al agua (i.e., el grado de apertura del canal hídrico) puede ser regulada por el pH intracelular, la concentración intracelular de calcio, la fosforilación reversible, la concentración de osmolitos y por pulsos de alta presión (Vandeleur et al. 2009). Por lo tanto, las acuaporinas modifican la resistencia al pasaje de agua de célula a célula de manera dinámica, de acuerdo a las condiciones del medio externo y a los requerimientos de la planta. En un estudio de las raíces finas a 18 m de profundidad en dos especies leñosas se observó que la conductividad hidráulica de las raíces aumentaba durante el día con respecto a la noche y en los períodos del año con mayor demanda evapotranspirativa. En este estudio se comprobó que la conductividad disminuía si se inhibía la actividad de las acuaporinas mediante el tratamiento

de las raíces in situ con radicales hidroxilos (McElrone et al. 2007). En especies herbáceas, la conductividad hidráulica de las raíces aumenta con la adición de nitrato (Gorska et al. 2008a) o con la adición de fosfato (Li et al. 2009). Estos cambios en la conductividad han sido asociados con la actividad de las acuaporinas, ya que si se inhibe la actividad de las mismas (por radicales hidroxilos, por anoxia o por cloruro de magnesio), la conductividad de las raíces disminuye drásticamente. Existen algunos indicios de cómo puede producirse la regulación de las acuaporinas por la disponibilidad de nitratos. Si se inhibe la acumulación intracelular de nitrato, la conductividad hidráulica no se incrementa por la adición de nitrato a la solución externa. Sin embargo, si se incrementa la concentración de nitrato intracelular mediante la inyección de este ion dentro de las células, la conductividad hidráulica aumenta (Gorska et al. 2008a). Por lo tanto, la mayor conductividad se debe a que el nitrato intracelular (no el extracelular) regula las acuaporinas. La regulación podría darse por aumento en la síntesis de acuaporinas, por la modificación en el balance entre acuaporinas abiertas y cerradas o por cambios en el balance entre síntesis y degradación (McElrone et al. 2007). El nitrato no modifica la expresión de los genes que codifican las acuaporinas, lo que se confirmó por el análisis del nivel de expresión de varios genes que codifican estas proteínas (Gorska et al. 2008b). Aparentemente, dada la velocidad de respuesta (i.e., de pocos minutos a una hora), la disponibilidad de nitrato regula postranscripcionalmente la actividad de las acuaporinas, esto es, el nitrato intracelular modifica el balance entre las acuaporinas abiertas y las cerradas. La señal estaría dada por el nitrato propiamente, ya que el agregado de otras fuentes de N, como el amonio o la urea (productos generados posteriormente a la acción de la nitrato reductasa), no incrementa el flujo de agua (Gorska et al. 2008a; Gorska et al. 2008b).

Con respecto a otros iones, si bien los resultados no son contundentes, la ausencia de calcio y potasio y el exceso de calcio y magnesio en la solución nutritiva disminuye la actividad de las acuaporinas en *Capsicum annum*, lo cual podría deberse a la regulación postranscripcional negativa por el calcio y el magnesio (Cabañero y Carvajal 2007).

Si bien el mecanismo de regulación de la conductividad hidráulica mediante las acuaporinas parece ser universal en las plantas superiores (McElrone et al. 2007),

aún no se conoce cómo la disponibilidad de nutrientes en la rizósfera afecta el grado de apertura y cierre de acuaporinas, y consecuentemente la conductividad radial de las raíces.

1a.5 - En síntesis...

La disponibilidad de nutrientes modifica la arquitectura hidráulica de las plantas. Por un lado, si la fertilización estimula el crecimiento y el aumento de área foliar, habrá mayor consumo de agua, y si la disponibilidad de agua no es suficiente, las plantas fertilizadas podrán estar sometidas a estrés por sequía más tempranamente que las plantas no fertilizadas. La fertilización puede modificar la arquitectura hidráulica de la planta, y así aumentar o revertir el efecto explicado anteriormente. Si, por ejemplo, la fertilización aumenta la relación vástago:raíz, el estrés por sequía en plantas fertilizadas podría exacerbarse o evidenciarse más tempranamente aún. La fertilización también promueve el desarrollo sectorizado de raíces en parches ricos en nutrientes y, si estas raíces tienen una mayor conductividad hidráulica, el abastecimiento de agua al vástago de la planta puede incrementarse en el corto plazo.

Por otra parte, una mayor disponibilidad de nutrientes puede aumentar la conductancia estomática de las plantas, consecuentemente el potencial hídrico de los tejidos cae y las células quedan más cerca del punto de pérdida de turgencia. Sin embargo, la disponibilidad de nutrientes puede afectar también las relaciones hídricas de las hojas (e.g., si las plantas realizan ajuste osmótico), o tornar el comportamiento de las plantas más isohídrico, y así mejorar el estado hídrico de los tejidos durante períodos de baja disponibilidad de agua. Si la capacidad de conducir agua del sistema aumenta con la disponibilidad de nutrientes (i.e., mayor conductividad hidráulica de raíces y tallos o mayor área de xilema activo), la mayor demanda de agua de las hojas podría ser suplida con suficiente velocidad para mantener el buen estado hídrico del vástago.

Claramente la disponibilidad de nutrientes afecta el uso del agua y la arquitectura hidráulica de las plantas, pero la compleja interacción entre factores abióticos y genotipo hace que no se pueda predecir en qué dirección y con qué magnitud un cambio en la disponibilidad de un nutriente afectará cada

uno de las posibles características hídricas o hidráulicas del sistema en sus diferentes niveles.

Capítulo 1b

***Pinus taeda* como sistema de estudio. Objetivos e hipótesis de trabajo**

Pinus taeda como sistema de estudio. Objetivos e hipótesis de trabajo

1b.1 - Sistema de estudio

Argentina posee en la actualidad más de un millón de hectáreas forestadas, de las cuales el 55% corresponden a plantaciones del género *Pinus* (Gauchat y Rodríguez 2005). En las provincias de Corrientes y Misiones está la mayor superficie ocupada por bosques implantados en la actualidad. Entre ambas suman aproximadamente 500.000 ha forestadas con especies de éste género, dentro de las cuales *Pinus taeda* es la especie más difundida (Elizondo y Consejo Federal de Inversiones 2009; SIFIP 2010). Esta especie es la conífera que más se planta en el mundo por su alta productividad en madera. La mayor superficie forestada está en Estados Unidos, de donde es originaria, seguido de Brasil, Argentina y Uruguay (FAO 2006). Los crecimientos en las zonas subtropicales de Sudamérica superan en más del doble la productividad alcanzada por la especie en su lugar de origen, llegando a los 30-35 m³ ha⁻¹ año⁻¹ (Cubbage et al. 2007).

Los suelos con principal uso forestal en Misiones se denominan "rojos profundos" y ocupan el 32,7 % de la superficie provincial. Dentro de esta denominación se encuentran suelos de los órdenes Ultisol, Alfisol y Oxisol, de origen basáltico, arcillosos, que se ubican en relieves suavemente ondulados a ondulados. Se caracterizan por tener un desarrollo en profundidad mayor a los 2 metros, ser de color rojo, tener permeabilidad moderada, buen drenaje y estar libres de pedregosidad y fragmentos gruesos. La superficie plantada con *P. taeda* en la provincia se halla en expansión hacia suelos pedregosos de escasa profundidad, ubicados en zonas de pendientes (Martín Pinazo, comunicación personal). Los suelos denominados pedregosos ocupan el 35 % del total provincial y están comprendidos en los órdenes Molisol, Entisol e Inceptisol. Se caracterizan por ser también de origen basáltico, poco profundos a someros (profundidad efectiva inferior a un metro), bien drenados y fértiles, con fragmentos gruesos desde la superficie, y se ubican en relieves fuertemente ondulados a montañosos. Estos suelos, si bien contienen mayor disponibilidad

de algunos nutrientes, tienen baja capacidad de retención hídrica en comparación con los suelos rojos profundos (Fernández et al. 1989; Fernández et al. 1999a; SAGyP 1989).

Con la cosecha de pinos en Misiones se extraen 550 kg de N, 20 kg de P y 230 kg de potasio por hectárea (Goya et al. 2003). Si bien las dotaciones iniciales de nutrientes en los suelos pedregosos no son críticas, la disminución de las concentraciones de macronutrientes en el suelo luego de un turno de plantación con *P. taeda* (Goya et al. 2003; Pérez et al. 2006) podría repercutir sobre las tasas de crecimiento de las rotaciones siguientes, haciendo necesaria la aplicación de fertilizantes para mantener los rendimientos. Además, dada la alta exportación de nutrientes, su reposición es imprescindible para mantener la sustentabilidad de la producción forestal. Sin embargo, la fertilización en plantaciones comerciales en Misiones no es habitual.

El N es el único nutriente que puede ingresar al sistema en cantidades significativas, principalmente mediante la fijación biológica, que puede ser libre o simbiótica, generalmente asociada a las leguminosas (Knops et al. 2002). La reposición de N por fijación biológica asociada a plantaciones de pino es baja (Barkmann y Schwintzer 1998) comparada con la cantidad de este nutriente extraída en la cosecha; por ejemplo en plantaciones de *P. elliotii* del sudeste de Estados Unidos, la fijación no simbiótica anual de N es menor a $5 \text{ kg ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ (Son 2001).

La fertilización es una práctica silvícola ampliamente difundida en el mundo, tendiente a mejorar la calidad y la productividad de los sitios (Allen 1987). Además es una herramienta útil para mitigar la extracción de nutrientes que se realiza con las sucesivas cosechas y el posterior preparado del terreno, de manera que sea posible mantener la estabilidad nutritiva y la fertilidad del sitio, y tender a la sustentabilidad del sistema forestal (Fox 2000; Goya et al. 2003; Nambiar 1996). Existen numerosos antecedentes de la buena respuesta de *P. taeda* a la fertilización con N y con P en su zona de origen (Albaugh et al. 1998; Albaugh et al. 2008; Albaugh et al. 2004; Fox et al. 2006; Fox et al. 2007; Nilsson y Allen 2003). En cambio, en plantaciones sobre suelos rojos de Corrientes, Misiones y sur de Brasil se ha observado diferente respuesta dependiendo del nutriente y la dosis aplicados. En general, el crecimiento es mayor con la

aplicación de P, mientras que la aplicación de N en forma de urea reduce el crecimiento de materiales comerciales de *P. taeda* con respecto a plantas sin fertilizar (Costa Muniz et al. 1975; Fernández et al. 2000b; Fernández et al. 1999b; Ibañez et al. 2004; Vogel et al. 2005). La fertilización al inicio de plantación es elegida en diversos sistemas para estimular el crecimiento inicial de las plantas, con el objetivo de amortiguar el efecto del estrés posterior al trasplante y superar rápidamente la competencia de las malezas. La adición de fertilizantes durante el establecimiento de las plantaciones es una práctica habitual en los sistemas forestales del país en los cuales se contempla el aporte de nutrientes al sitio. Estos sistemas son principalmente de cultivo de Eucalyptus en Mesopotamia, en los cuales la fertilización se realiza manualmente, con incorporación o no del fertilizante al suelo, como parte del paquete tecnológico de plantación. Generalmente se aplican dosis que están entre 70 y 100 g de fosfato diamónico por planta, sin embargo no se realizan diagnósticos específicos para cada sitio para determinar la cantidad de fertilizante a aplicar (Aparicio et al. 2005; Gaitán et al. 2004; Larocca et al. 2004). Por otro lado, las grandes extensiones de pino ubicadas en el centro y norte de Corrientes en algunos casos son fertilizadas como parte del paquete tecnológico de plantación. Se aplican generalmente alrededor de 200 kg de super fosfato triple de calcio (SFT) por hectárea. Las dosis recomendadas surgen a partir de estudios que determinaron ganancias en diámetro y altura durante el establecimiento (Ibañez et al. 2004; Rubilar et al. 2008). Como se mencionó con anterioridad, la fertilización en plantaciones de pino en Misiones no es habitual. La información tecnológica disponible para este sistema es escasa, no se cuenta con datos de plantaciones fertilizadas que hayan llegado al turno y no se han hecho evaluaciones económicas de la práctica. En general, la incertidumbre que existe en cuanto a la magnitud de la respuesta combinada con la ausencia actual de problemas en la productividad relacionados a la fertilidad de los sitios, hacen que la adopción de la fertilización no sea considerada por los productores. Por lo tanto, generar información sobre la fisiología y el crecimiento de *P. taeda* frente a la fertilización inicial en sitios con suelos rojos, sometidos a rotaciones sucesivas de plantación y cosecha, sumará información

a los conocimientos actuales en el área, que será relevante para la toma de decisiones en el marco productivo en un futuro cercano.

1b.2 - Condiciones ambientales en el área de origen de la especie

Pinus taeda es una especie de la familia *Pinaceae*, nativa del sudeste de Estados Unidos. El área de distribución natural es muy amplia (Figura 1b.1), abarca principalmente tres regiones geográficas: la llanura costera Atlántica ("Atlantic Coastal plain"), el pedemonte ("the Piedmont") y las tierras altas interiores ("Interior Highlands"). Esta especie es extremadamente versátil, capaz de crecer en asociación con numerosas especies anuales y perennes, incluyendo bosques mixtos con arbóreas latifoliadas y otras coníferas, como *P. palustris*, *P. echinata* y *P. elliotii* (Schulzy 1997).

Es una especie temprana en la sucesión, tiene alta tasa de reproducción y se establece y crece rápidamente en diversos sitios. Alcanza la madurez a los 80 años y puede vivir hasta 300, llegando a tener 30 m de altura y 70 cm de diámetro. En ausencia de disturbios, la sucesión natural la elimina casi por completo, dando como ecosistema climácico a un bosque mixto de especies latifoliadas. Bajo condiciones naturales, raramente forma rodales puros, pero coloniza rápidamente sitios degradados. La colonización, la agricultura y la tala intensiva en el 1800, seguidos por el control de incendios y plantación extensiva en 1900, iniciaron el camino hasta convertirla actualmente en la especie maderable más importante en Estados Unidos (Hu et al. 2012). El amplio rango natural de distribución de la especie indica su gran capacidad de adaptación a diferentes ambientes. Los ecosistemas donde crece tienen clima húmedo, con veranos largos y calurosos e inviernos suaves. La temperatura promedio del área de distribución es de más de 24 °C, y con máximas que superan los 38 °C en verano y mínimas promedio de 2 a 17 °C. En general, la especie alcanza mayor altura y mayor producción en biomasa en suelos con perfiles francos en relación a sitios con suelos de textura predominantemente fina o gruesa. Generalmente supera en crecimiento a todos los demás pinos del sur de Estados Unidos en suelos moderadamente a bien drenados. El crecimiento de *P.*

taeda está limitado en suelos profundos y excesivamente drenados con la napa en profundidad, pero si la misma es accesible para las raíces, la especie puede crecer bien. Los suelos menos productivos son aquellos muy erosionados con subsuelos plásticos. El mejor crecimiento se produce cuando la acidez del suelo está entre pH 4,5 y 6,0. La cantidad de materia orgánica presente en la capa superficial del suelo es un índice especialmente importante para la productividad de la especie ya que determina la cantidad de N disponible para el crecimiento. Sin embargo, puede crecer en sitios de baja fertilidad dada su bajo requerimiento en nutrientes y su alta eficiencia en el uso de los mismos (Schulzy 1997).

Alrededor de tres cuartas partes del ecosistema dominado por *P. taeda* se ubica en las llanuras costeras. La región costera es muy diversa en topografía y tipos de suelo (Schulzy 1997). Gran parte del material genético introducido a Argentina proviene de estos ambientes. Actualmente, las semillas de origen Marion, Livingston y Columbia, de la costa sudeste y el estado de Florida, son utilizadas comercialmente y en los planes de mejoramiento genético (Rodríguez y Gauchat 2005). Las zonas de origen de estos materiales tienen una topografía suavemente ondulada a montañosa, con un drenaje natural bien desarrollado y una amplia cantidad de suelos. Las precipitaciones alcanzan los 1300 mm anuales y la temperatura media anual es de 22 °C. Entre los suelos más adecuados para el desarrollo de la especie en estos ambientes predominan los Ultisoles, caracterizados por una capa superficial arenosa de aproximadamente 50 cm de profundidad, y un subsuelo arcilloso, caolinítico y friable (horizonte Bt, argílico), que aporta fertilidad y retención hídrica al perfil, y en algunos casos dificulta el drenaje de los sitios (Buster et al. 1979; Jokela y Long 2012; Schulzy 1997). Los suelos de las tierras más altas son Alfisoles derivados del loess o calizas fosfatadas, susceptibles a la erosión, particularmente porque presentan capas superficiales con sedimentos arenosos. Los suelos menos adecuados de la región para sostener a la especie son los Vertisoles calcáreos con arcillas expandibles y contraíbles (Schulzy 1997).

Existe mucha similitud entre los ambientes de la zona de origen de los materiales utilizados en Argentina y los lugares donde se planta este pino en el país en cuanto a clima y clasificación de suelos. Sin embargo, si bien los suelos

pertenecen a los mismos órdenes, las capas superficiales de los suelos rojos misioneros (rojo profundo y pedregoso) no presentan cambios texturales importantes, presentando alto contenido de arcilla en todo el perfil.



Figura 1b.1: Mapa de la distribución natural de *Pinus taeda* (eFloras 2008). La especie es originaria del sudeste de Estados Unidos de Norteamérica.

1b.3 - Objetivos e hipótesis

Objetivo general

El objetivo general de esta tesis fue evaluar integradamente a nivel de individuo las modificaciones en distribución de materia seca y arquitectura hidráulica de plantas de *Pinus taeda* fertilizadas con nitrógeno o con fósforo, y el efecto de estas modificaciones en la respuesta al estrés por sequía.

A partir de los resultados obtenidos secuencialmente en una serie de experimentos, se plantearon encadenadamente objetivos particulares e hipótesis para profundizar en la comprensión del sistema de estudio.

Objetivos particulares e hipótesis

1 - Evaluar el efecto de la aplicación de N y P, y su interacción, en el crecimiento inicial de una plantación de *P. taeda* instalada sobre un suelo pedregoso, con baja conductividad hidráulica, de la provincia de Misiones, Argentina.

Hipótesis: La fertilización con P estimulará el crecimiento inicial de una plantación de *P. taeda* instalada sobre un suelo pedregoso, de la provincia de Misiones, mientras que la fertilización con N tendrá un efecto depresivo, que será mayor a mayor dosis aplicada. El crecimiento de las plantas con la aplicación combinada de ambos nutrientes dependerá del balance entre la magnitud de respuesta a cada nutriente.

2 - Estudiar las principales modificaciones fisiológicas que produce la fertilización con N y P en las plantas de *P. taeda* creciendo sobre suelos pedregosos de la provincia de Misiones.

Hipótesis: La fertilización con N, a diferencia de la fertilización con P, modifica la fisiología de la planta de manera que impide que las plantas mantengan un buen estado de hidratación, de modo que la adición de N en el suelo con baja conductividad hidráulica generará un menor crecimiento, mientras que la fertilización con P tendrá efecto positivo en el crecimiento.

3 - Estudiar los cambios fisiológicos de *P. taeda* creciendo en un sustrato con elevada conductividad hidráulica, en plantas fertilizadas con N y P y expuestas a alta y baja disponibilidad de agua. De este modo se busca evaluar si la sequía genera patrones de respuesta similares a los encontrados en respuesta a la fertilización nitrogenada en suelos pedregosos, con buena disponibilidad de agua.

Hipótesis: Las plantas fertilizadas responden de manera diferente según la disponibilidad de agua, y las respuestas observadas en las plantas con estrés por sequía se asemejarán a las observadas en las plantas fertilizadas con N que crecen en el suelo pedregoso.

4 - Conocer si el sistema radical de *P. taeda* tiene capacidad de detectar parches ricos en nutrientes y generar respuestas a estos parches, tanto a nivel de raíz, como en la capacidad de conducir agua de la planta entera.

Hipótesis: Las plantas responden a la mayor disponibilidad de nutrientes aumentando su crecimiento, pero la distribución espacial del fertilizante desencadenará cambios en la conductividad hidráulica de los tejidos y, consecuentemente, la arquitectura hidráulica de las plantas será diferente según el modo de aplicación del fertilizante.

5 - Establecer si diferentes fuentes nitrogenadas producen efectos similares en las mermas en el crecimiento y las modificaciones en la arquitectura hidráulica de *P. taeda* observadas con la adición de urea y analizar si la fertilización con cada fuente de N modifica el efecto de la sequía, impuesta en un sustrato con baja conductividad hidráulica.

Hipótesis: Tanto la urea como el nitrato generan respuestas similares en crecimiento y arquitectura hidráulica, que serán diferentes a las producidas por la fertilización con amonio, y que mejorarán su tolerancia frente al estrés hídrico. El amonio no afecta la arquitectura hidráulica de la planta, consecuentemente, las plantas fertilizadas con esta fuente serán más susceptibles a la sequía.

6 - Determinar si existe variabilidad genética en la respuesta en crecimiento a la suplementación con N y P mediante el análisis de cuatro familias de *P. taeda*.

Hipótesis: Diferentes familias responderán a la fertilización en diferente magnitud porque existe variabilidad genética en la capacidad de respuesta a la elevada disponibilidad de nutrientes.

7 - Examinar en plantas jóvenes de cuatro familias de *P. taeda* la variación en los cambios en la partición de materia seca y en diferentes rasgos de la arquitectura hidráulica, producto de la fertilización, que puedan explicar la magnitud del efecto negativo de la fertilización con N en el crecimiento.

Hipótesis: La diferente arquitectura hidráulica de cada familia condicionará su respuesta en crecimiento a la fertilización en condiciones de campo.

1b.4 - Sinopsis de la Tesis

Esta tesis presenta los resultados de experimentos que se realizaron en diferentes condiciones: a campo, en macetas, con suelos forestales de la provincia de Misiones, y con mezclas de tierra y arena. En el Capítulo 1 se presenta una introducción al tema de la tesis y al sistema de estudio. En el Capítulo 2 se muestran los resultados de un ensayo a campo, sobre suelo pedregoso, en el cual se observó efecto depresivo de la urea en el crecimiento de las plantas. Estos resultados se corroboraron en un ensayo en macetas, y se obtuvieron los primeros indicios de las causas fisiológicas del efecto depresivo. Los siguientes ensayos fueron planificados para responder preguntas que surgieron de estos resultados. En el Capítulo 3 se presentan los resultados de dos ensayos que se realizaron en contenedores utilizando un sustrato con alta conductividad hidráulica y bajo contenido de nutrientes, en los cuales se comprobó efecto positivo de la urea. Este resultado refuerza la idea de que el efecto depresivo de la urea está relacionado con características propias de los suelos arcillosos misioneros. En este sistema, en el que la respuesta a la urea fue positiva, se verificó si la especie en estudio tiene la capacidad de responder de manera diferencial a la aplicación localizada o dispersa de N y P. En el Capítulo 4 se corrobora si el efecto depresivo de la urea en suelo pedregoso se repite si se aplican otras fuentes nitrogenadas (amonio y nitrato). En el Capítulo 5 se evalúa a campo la respuesta de diferentes familias, provenientes de un plan de mejoramiento genético, a la fertilización con N y P, y las causas fisiológicas que explican las diferencias encontradas. Finalmente, en el Capítulo 6 se contrastan las hipótesis y se realiza una conclusión general de esta tesis.

Capítulo 2

Respuesta a la fertilización con nitrógeno y fósforo sobre suelo pedregoso

Capítulo 2a

Crecimiento inicial en plantación sobre suelo pedregoso de la provincia de Misiones

Crecimiento inicial en plantación sobre suelo pedregoso de la provincia de Misiones

2a.1 -Resumen

La superficie plantada con *Pinus taeda* en la provincia de Misiones se halla en expansión hacia suelos marginales, pedregosos, someros y de escasa profundidad, ubicados en zonas de pendientes. Estos suelos poseen baja conductividad hidráulica y baja capacidad de retención hídrica, consecuentemente en las lomas y medias lomas las plantas pueden estar expuestas a periodos de estrés hídrico por sequía. No existen antecedentes de ensayos de fertilización en plantaciones realizadas sobre este tipo de suelos. El objetivo de este capítulo fue evaluar el efecto de la aplicación de N y P en el establecimiento de una plantación de *P. taeda* sobre un suelo somero, pedregoso, ubicado en pendientes en la provincia de Misiones. Se evaluó el crecimiento en altura total y en diámetro a la altura del cuello (DAC) en respuesta a la fertilización con diferentes niveles de N y P, a los seis y a los dieciocho meses posteriores a la fertilización. Se observó heterogeneidad en la respuesta a la fertilización según la posición en la pendiente. La aplicación de P tuvo efecto positivo o nulo, dependiendo de la dosis y la combinación con N. La aplicación de N tuvo un efecto negativo, nulo o positivo sobre el crecimiento, dependiendo del bloque y la combinación con P. La aplicación combinada de P y N sobre suelo pedregoso de la provincia de Misiones puede tener efectos negativos en el crecimiento de *P. taeda* fundamentalmente producto de la acción depresiva del N.

2a.2 - Introducción

La superficie plantada con *P. taeda* en la provincia de Misiones se halla en expansión hacia suelos marginales, pedregosos, someros y de escasa profundidad, ubicados en zonas de pendientes. Este tipo de suelos, perteneciente al grupo de los comúnmente denominados pedregosos, ocupan

un 35 % del total provincial, y tienen baja capacidad de retención hídrica en comparación con los suelos rojos profundos, los cuales son considerados como los más aptos para el establecimiento de plantaciones en la provincia (Fernández et al. 1999a).

Si bien los pinos son considerados poco exigentes en sus requerimientos de nutrientes, se han obtenido marcados incrementos en la productividad al mejorar el estado nutricional de las plantaciones. El crecimiento de plantaciones de 8 años de edad de *P. taeda* en el sudeste de Estados Unidos fue mayor con la aplicación de fertilizantes en dosis suficiente para mantener relaciones óptimas entre nutrientes. El mayor crecimiento se registró desde un año luego de iniciada la fertilización (Albaugh et al. 1998), y se mantuvo hasta el final del ensayo a los 21 años (Albaugh et al. 2008; Albaugh et al. 2004). También la fertilización con P aplicada en el establecimiento de la plantación y la fertilización con N y P durante el cierre del canopy incrementan el crecimiento y los efectos positivos pueden durar más de 20 años (Fox et al. 2006; Nilsson y Allen 2003). Asimismo, la fertilización con N, P, K y micronutrientes aumenta la supervivencia y el crecimiento de las plantas aún en condiciones de sitios con problemas de drenaje (Rahman et al. 2006).

Si bien la fertilización no es una práctica silvícola adoptada por los productores de pinos de Misiones, existen registros de que se producen disminuciones en las concentraciones de macronutrientes del suelo luego de un turno de plantación con *P. taeda* (Goya et al. 2003; Pérez et al. 2006). Sumado a la extracción de nutrientes que se realiza con la madera durante la cosecha, se produce además una gran pérdida de nutrientes en el período que abarca desde que se realiza la corta hasta el establecimiento de la nueva plantación (Martarena et al. 2009). La magnitud de las pérdidas depende de las distintas prácticas que se realicen durante ese período, maximizándose si el suelo queda descubierto y se realiza quema de residuos (Goya et al. 2003; Martarena et al. 2009). Dado que la pérdida de nutrientes en el suelo podría repercutir sobre las tasas de crecimiento de las rotaciones siguientes, fertilizar puede ser una estrategia adecuada para mantener la fertilidad y estabilidad nutricional de los sitios, y la sustentabilidad del sistema productivo (Goya et al. 2003). La aplicación inicial de P en plantaciones de *P. taeda* ubicadas en suelos arenosos

y rojos profundos en la provincia de Corrientes tuvo un impacto positivo sobre el crecimiento en diámetro y altura (Aparicio et al. 2003; Fernández et al. 2000b; Fernández et al. 1999b; Fernández et al. 2003), mientras que la adición de N tuvo un efecto negativo sobre el crecimiento de las plantas, siendo éste menor incluso al de las no fertilizadas (Fernández et al. 2000c; Fernández et al. 1999b; Fernández et al. 2003). Este efecto depresor del N también está documentado para *P. taeda* en el sur de Brasil (Costa Muniz et al. 1975). Hasta el momento, no se habían instalado ensayos de fertilización de *P. taeda* sobre suelos marginales y pedregosos de la provincia de Misiones.

En función de estos antecedentes, el objetivo de este capítulo es evaluar el efecto de la aplicación de N y P, y su interacción, en el crecimiento inicial de una plantación de *P. taeda* instalada sobre un suelo pedregoso, con baja conductividad hidráulica, de la provincia de Misiones, Argentina.

Hipótesis: La fertilización con P estimulará el crecimiento inicial de una plantación de *P. taeda* instalada sobre un suelo pedregoso, de la provincia de Misiones, mientras que la fertilización con N tendrá un efecto depresivo, que será mayor a mayor dosis aplicada. El crecimiento de las plantas con la aplicación combinada de ambos nutrientes dependerá del balance entre la magnitud de respuesta a cada nutriente.

2a.3 - Metodología

Condiciones experimentales

El ensayo se localizó al centro oeste de la provincia de Misiones, Argentina, en una plantación comercial perteneciente a la empresa Taeda S.A. ubicada en el departamento de Montecarlo. El clima de la región se define como subtropical sin estación seca marcada, las precipitaciones anuales son del orden de los 2000 mm y la temperatura media anual ronda los 20° C (Servicio Meteorológico Nacional 2000). El lote donde se ubicó el ensayo se encuentra aproximadamente a los 26° 34' de latitud sur y 54° 42' de longitud oeste y presenta suelo pedregoso con abundancia de fragmentos gruesos no

meteorizados entre los que predominan gravas y guijarros (de 2 mm a 25 cm). La pendiente del mismo es de alrededor de 10% (Figura 2a.1).

En mayo de 2008 se realizó la plantación utilizando plantines comerciales de *P. taeda* L., los cuales se dispusieron con un distanciamiento de 5 m x 2 m. Esta operación estuvo a cargo de la empresa, y se realizó con las técnicas que habitualmente se utilizan en la zona. Hacia fines de julio del mismo año se aplicó el fertilizante en dos orificios de 10 cm de profundidad, que se realizaron con pala a 20 cm a cada lado del cuello de la planta y posteriormente fueron tapados con tierra (Figura 2a.1). Se utilizó un diseño factorial en el que se consideraron tres factores, con tres niveles cada uno, distribuidos en tres bloques completos al azar. Se evaluaron tres dosis de N aportado como urea (45 % de N) y tres dosis de P aportado como superfosfato triple de calcio (46 % P_2O_5). Se aplicaron 0 g; 22,5 g o 45 g de N combinados con 0 g; 46g o 92 g de P_2O_5 , correspondientes a 0 g (N0); 50 g (N50) o 100 g (N100) de urea, y 0 g (P0); 100 g (P100) o 200 g (P200) de superfosfato triple (SFT) respectivamente. Se fertilizaron 40 individuos por parcela, ubicados en 5 filas de 8 plantas cada una. Se utilizaron los 18 individuos centrales de cada parcela para realizar las mediciones, de manera de dejar una fila de bordura fertilizada alrededor del sector de las plantas medidas. Se realizó control de hormigas y desmalezado en forma periódica sobre la plantación.

Debido a la alta mortandad de plantas en todos los tratamientos de uno de los bloques, sólo fueron considerados para el análisis los dos bloques restantes (bloque 1 y bloque 2).

Las principales características físico-químicas de los suelos del lote se muestran en la Tabla 2a.1. El bloque 1 se ubicó en la loma, y el bloque 2, en la media loma del terreno. En cada bloque se tomó una muestra compuesta por 5 submuestras de igual volumen, a la que se le extrajo los fragmentos gruesos no meteorizados. El muestreo se realizó en la parcela testigo de cada bloque, tomando las submuestras sobre dos diagonales de la parcela, con pala, hasta los 20 cm de profundidad. El carbono (C) orgánico fue determinado por combustión seca mediante un analizador automático de Carbono marca LECO modelo CR12, el P extractable (Pe), por el método de Bray-Kurtz, el N total (Nt), por el método semi-micro Kjeldahl, la capacidad de intercambio catiónico (CIC),

por el método Polemio-Rhoades y la textura, por el método de la pipeta de Robinson (determinaciones efectuadas por el laboratorio LANAIS N-15, CONICET-UNS (Agronomía), Bahía Blanca, Argentina).

La conductividad hidráulica saturada del suelo (k_{suelo}) ($g\ s\ m^{-3}$) se calculó según Gaylon (1985) a partir de la fórmula:

$$k_{suelo} = C (- 6,9\ mc - 3,7\ ms)$$

donde C es igual a $4 \times 10^{-3}\ g\ s\ m^{-3}$, mc es la fracción de arcilla del suelo y ms es la fracción de limo del suelo.

Tabla 2a.1. Características químicas y físicas de los suelos pedregosos del sitio del ensayo.

Propiedades químicas	Bloque 1	Bloque 2
C orgánico (%)	4,05	2,57
Nt (%)	0,32	0,27
Pe (ppm)	9,6	4,2
pH	5,1	5,9
CIC ($cmol\ kg^{-1}$)	12,1	10,1
Propiedades físicas	Bloque 1	Bloque 2
Arena (%)	17,9	21
Limo (%)	41,2	44,7
Arcilla (%)	40,9	34,3
Clase	Franco arcilloso limoso	Franco arcilloso
k_{suelo} ($g\ s\ m^{-3}$)	0,052	0,072

Mediciones realizadas

Se evaluó la altura total y el diámetro a la altura del cuello (DAC) a los seis y a los dieciocho meses posteriores a la aplicación del fertilizante (Figura 2a.2). La altura se midió con pértiga y el diámetro con calibre en dos posiciones ortogonales.

Análisis de datos

Los datos se analizaron mediante análisis de varianza (ANOVA factorial), considerando al N (niveles: 0; 50; 100), al P (niveles: 0; 100; 200) y al bloque como factores de clasificación. En el caso de encontrarse diferencias significativas, las medias se contrastaron con el test de comparación de medias Fisher LSD ($p < 0,05$).



Figura 2a.1: Vista del ensayo al momento de la fertilización.



Figura 2a.2: Vista del ensayo a los 18 meses de realizada la fertilización.

2a.4 -Resultados

A los 6 meses de realizada la fertilización, la altura de las plantas estuvo significativamente afectada por una interacción entre el N y el P ($p= 0,042$) (Figura 2a.3). La aplicación de cualquiera de las dosis de P sin la adición de N incrementó la altura. Asimismo, la altura aumentó en igual magnitud con la aplicación de N solo, en la dosis máxima (100g de urea). El resto de las combinaciones de N y P no resultaron mejores que la aplicación de N o P por separado.

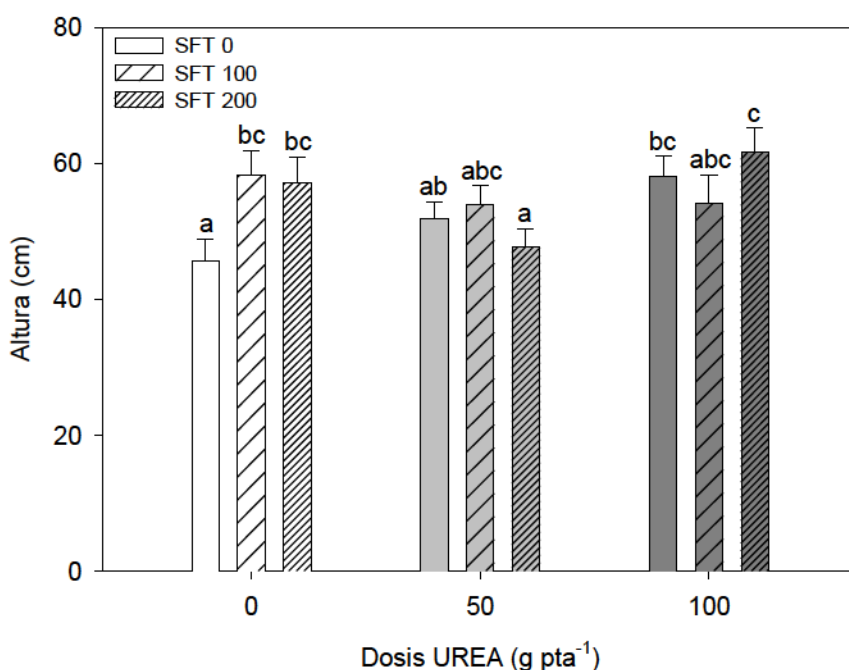


Figura 2a.3: Altura de las plantas (cm) transcurridos 6 meses de la fertilización, para cada combinación de las distintas dosis de urea y SFT (n=324). Las diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (LSD $p<0,05$). Las líneas sobre las barras corresponden al error estándar de la media.

En el caso del DAC a los 6 meses de realizada la fertilización, se observó interacción significativa entre el bloque y ambos nutrientes ($p=0,010$) (Figura 2a.4). Dado que el efecto del bloque fue significativo, se reportan los resultados de cada bloque por separado. En el Bloque 1, la fertilización sólo con P en la

dosis máxima supera al testigo en crecimiento en DAC, al igual que la aplicación de la dosis máxima de N combinada con la dosis máxima de P. Las demás combinaciones no difirieron significativamente del testigo sin fertilizar. En el Bloque 2 ninguna de las combinaciones aplicadas produjo aumentos en el crecimiento en comparación con las plantas sin fertilizar.

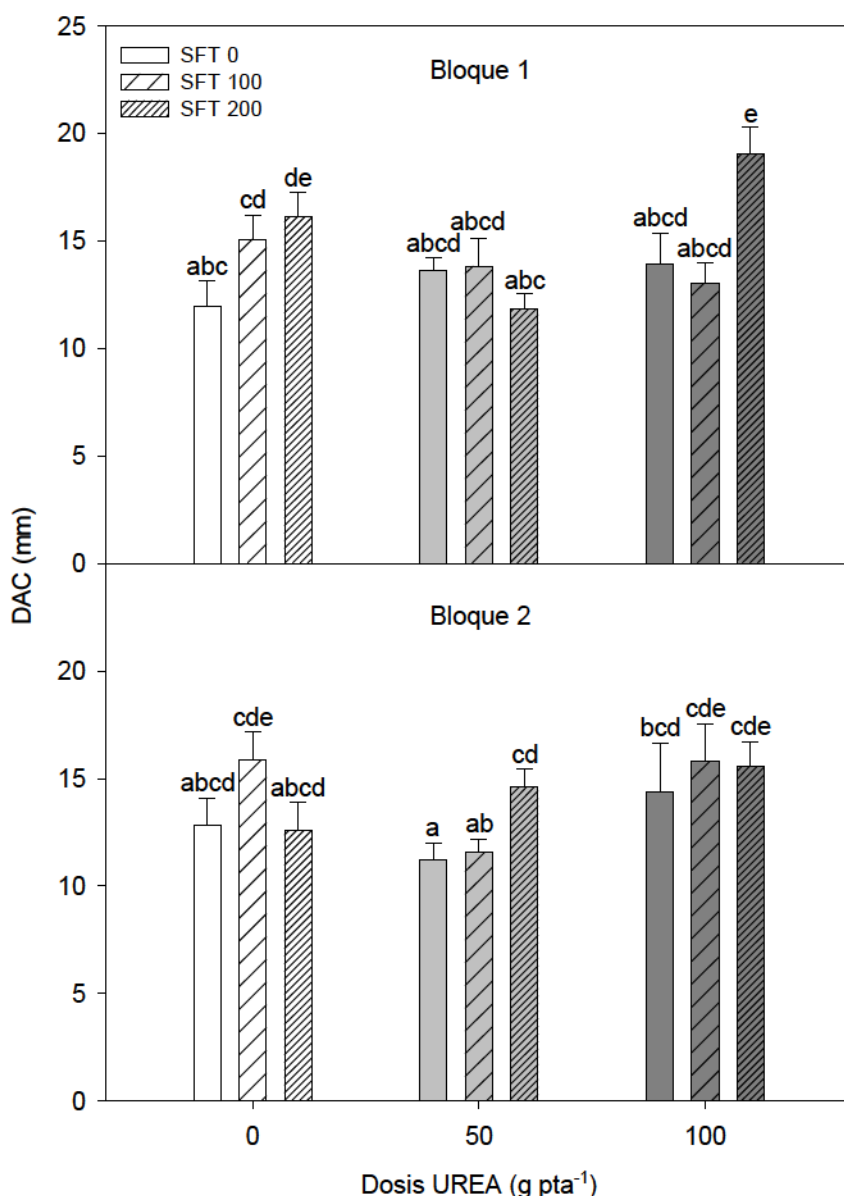


Figura 2a.4: Diámetro a la altura del cuello de las plantas (DAC) (mm) transcurridos 6 meses de la fertilización, para cada combinación de las distintas dosis de urea y SPT, en cada bloque (n=324). Las diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (LSD $p < 0,05$). Las líneas sobre las barras corresponden al error estándar de la media.

A los 18 meses, la interacción entre el P, el N y el bloque tuvo efectos significativos para la altura y el DAC de las plantas (altura $p=0,048$; DAC $p<0,001$).

En el bloque 1 ninguna dosis de N y P estimuló el crecimiento con respecto al testigo, mientras que la dosis intermedia de N combinada con la aplicación de P disminuyeron el crecimiento en altura y DAC (Figuras 2a.5 y 6).

En el bloque 2 la fertilización con P incrementó la altura y diámetro de las plantas. Ninguna de las aplicaciones de N ni las combinaciones con P tuvo un efecto mejor que la aplicación de P solo (Figuras 2a.5 y 6).

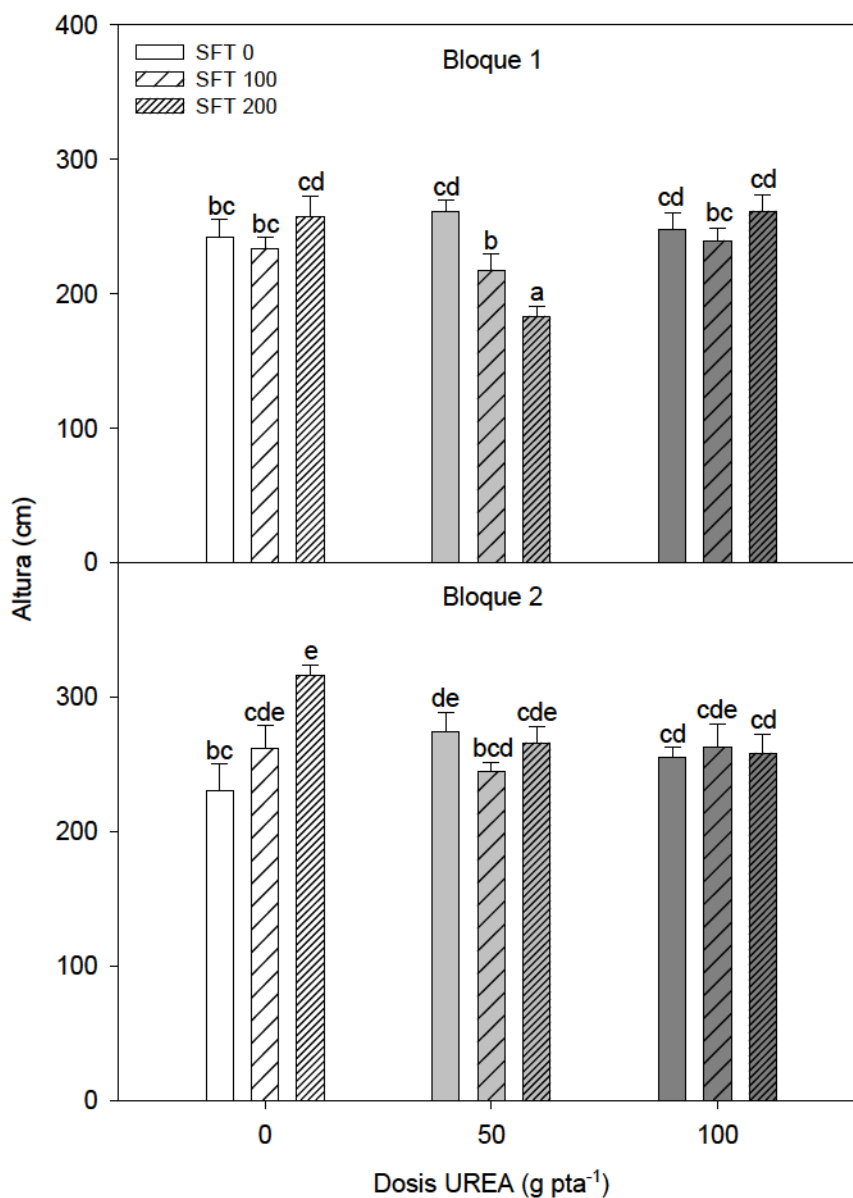


Figura 2a.5: Altura de las plantas (cm) transcurridos dieciocho meses de la fertilización, para cada combinación de las distintas dosis de urea y SFT, en cada bloque (n=324). Las diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (LSD $p < 0,05$). Las líneas sobre las barras corresponden al error estándar de la media.

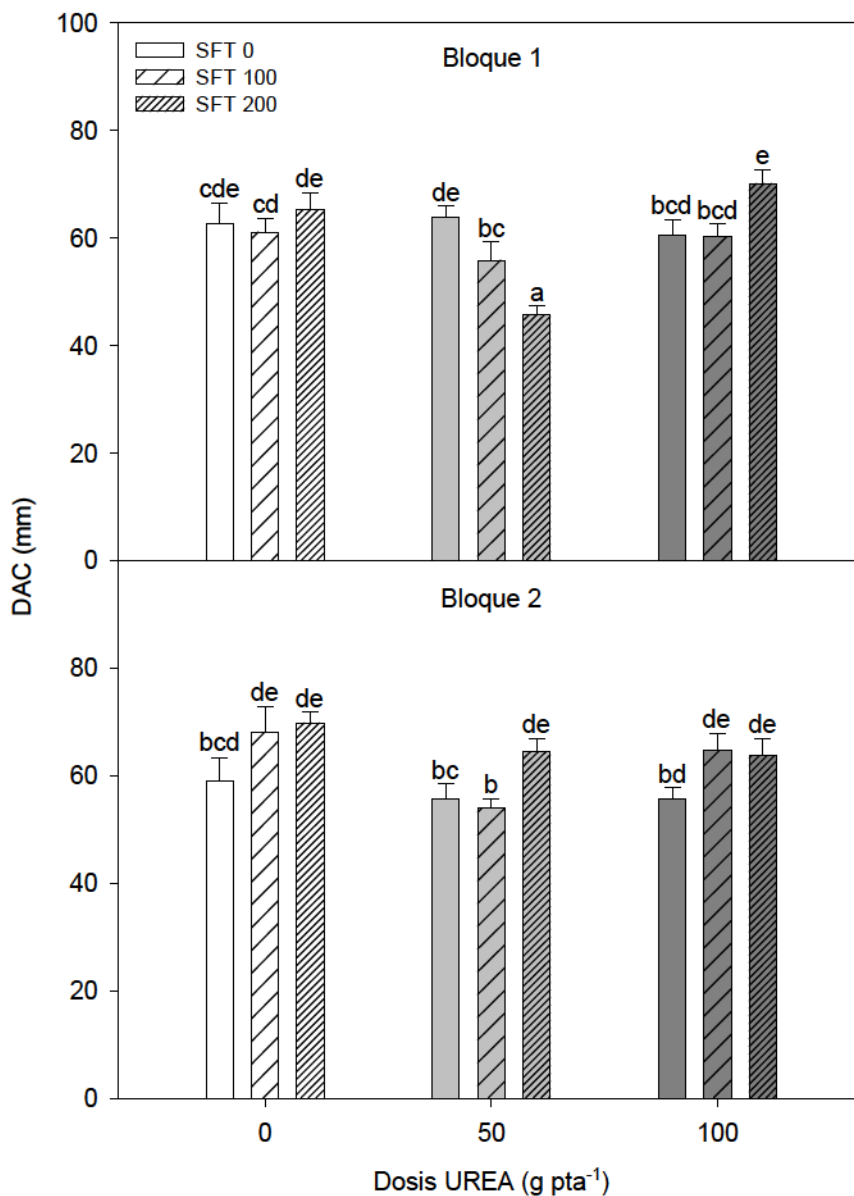


Figura 2a.6: Diámetro a la altura del cuello de las plantas (DAC) (mm) transcurridos dieciocho meses de la fertilización, para cada combinación de las distintas dosis de urea y SFT, en cada bloque ((n=324). Las diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (LSD $p < 0,05$). Las líneas sobre las barras corresponden al error estándar de la media.

2a.5 - Discusión

La interacción de la fertilización con el bloque encontrada al analizar los resultados refleja la alta heterogeneidad del sitio, caracterizado por poseer pendientes elevadas y variabilidad en las características químicas del suelo (Tabla 2a.1).

En general, los suelos del sitio tuvieron mayor contenido de nutrientes, sobre todo mayor P disponible, y mayor pH y CIC que los valores reportados para suelos rojos profundos en la zona (Fernández et al. 2003). El bloque 1, ubicado en la parte más elevada del sitio, tiene un suelo con menor conductividad hidráulica y mayor contenido de N, y fundamentalmente de P, que el bloque 2.

Las plantas del bloque 1 tuvieron una respuesta inicial (a los 6 meses) positiva en crecimiento en DAC y altura a la fertilización con P, especialmente en alta dosis, cuando se aplicó solo o combinado con la mayor dosis de N. Sin embargo, este efecto se perdió a los 18 meses. En esta medición se visualizó un efecto depresivo de la dosis intermedia de N que se potenció con la aplicación de P. Esta tendencia se observó a los 6 meses y se acentuó a los 18 meses. Como la aplicación de N o P por separado no estimuló el crecimiento en este bloque a los 18 meses, evidentemente la limitante al crecimiento fue otro nutriente u otro factor no contemplado en este ensayo. Es posible que las plantas tuvieran menor disponibilidad de agua dado que el suelo del bloque tuvo muy baja conductividad hidráulica (Tabla 2.a.1), a lo que se suma que esa parte del terreno es la que tiene mayor elevación, donde las pérdidas de agua por escorrentía superficial y subsuperficial son mayores.

Las plantas del bloque 2, que tuvo relativamente baja cantidad de P en suelo, respondieron positivamente en crecimiento en altura a la adición de P, cuando este nutriente se aplicó solo. El incremento en DAC que produjo el P no fue significativo. Este efecto se observó desde los 6 meses, y se exacerbó en la medición a los 18 meses.

Los resultados obtenidos son parcialmente concordantes con las respuestas a la aplicación de P y N en *P. taeda* en suelos rojos de Corrientes halladas por Fernández et al. (2000b; 1999b; 2003) en sucesivas oportunidades de medición, desde los 6 hasta los 34 meses posteriores a la fertilización en el

establecimiento de la plantación. En plantaciones de 2 años de edad en un sitio similar, también con suelo rojo profundo, se registraron respuestas positivas más acentuadas en el caso de la aplicación de P, posiblemente debido a que estos suelos poseen menor disponibilidad de este nutriente (alrededor de 1-2 ppm) (Ibañez et al. 2004). Si bien se encontró respuesta positiva en crecimiento a la adición de P en el ensayo de este capítulo, las diferencias no llegan a ser significativas en todos los casos, posiblemente debido a las interferencias que se generan con el N, a la heterogeneidad de los bloques, y a la mayor abundancia general de este nutriente en el sitio.

El P es un nutriente frecuentemente limitante en los suelos ácidos tropicales y subtropicales, debido a la alta adsorción del hierro y aluminio activos (Vazquez et al. 2004) y es el más crítico para sostener la productividad de los sitios forestales en Misiones (Goya et al. 2003; Martiarena et al. 2009). La fertilización fosforada en estos suelos genera un aumento en las fracciones lábiles, es decir, que aumenta la disponibilidad para la planta, en los primeros 120 días posteriores a la fertilización. Luego de este período, las fracciones menos degradables del P en el suelo comienzan a enriquecerse (Vázquez et al. 2011).

Fernández et al. (2000b; 1999b; 2003) señalan que la aplicación de N se asoció con una disminución en el crecimiento en altura y en diámetro, relacionando dicho efecto con una posible interferencia del N en la absorción de P por inmovilización microbiana, o a una inhibición de la micorrización producida por el N que, consecuentemente afecta la absorción de P. En el ensayo de este capítulo no se encontró efecto del N cuando se aplicó solo. Dado que el efecto negativo del N se encontró con la dosis intermedia de N, dicho efecto no sería atribuible a cambios químicos generados por la urea en el suelo, ni a la toxicidad de un subproducto de la síntesis de este fertilizante denominado biuret (Mikkelsen 2007), ni a la inhibición de la formación de micorrizas, porque el efecto negativo no se observa con la dosis mayor de N, condición que debería exacerbar dichas causas. Si bien la información encontrada en la bibliografía es contradictoria y difícilmente extrapolable entre sistemas de estudio, la mayor disponibilidad de N tiene baja incidencia en el grado de micorrización de las raíces (Menge et al. 1977; Wallenda y Kottke 1998),

mientras que la fertilización con P aumenta la micorrización y la adquisición de este nutriente para la planta (Ali et al. 2009).

2a.6 - Conclusiones

Preliminarmente, la aplicación combinada de P y N sobre suelo pedregoso de la provincia de Misiones puede tener efectos negativos en el crecimiento de *P. taeda*, fundamentalmente producto de la acción del N. En este caso de estudio en particular, el efecto de la fertilización en el crecimiento fue diferente en cada bloque, lo que refleja la alta heterogeneidad de los sitios donde se desarrollan los suelos pedregosos.

Es necesario profundizar los estudios nutricionales para encontrar las causas de los efectos negativos de la fertilización con urea que se observaron.

Capítulo 2b

Respuestas fisiológicas a la fertilización con nitrógeno y fósforo en suelo pedregoso

Respuestas fisiológicas a la fertilización con nitrógeno y fósforo en el suelo pedregoso

2b.1 - Resumen

A partir de los resultados hallados a campo, se realizó un ensayo con condiciones controladas para indagar en los efectos fisiológicos que tiene la fertilización con N y P en *P. taeda*. Los resultados obtenidos en el campo sugieren que el efecto negativo de la urea se asocia a sitios con baja disponibilidad de agua en el suelo. Posiblemente, la fertilización con N en un suelo con baja conductividad hidráulica induzca cambios fisiológicos que afecten el crecimiento en condiciones de sequía, mientras que la fertilización con P no afecte la fisiología de las plantas en esa dirección. El objetivo de este capítulo fue estudiar las principales modificaciones fisiológicas que produce la fertilización con N y P en las plantas de *P. taeda* creciendo sobre suelos pedregosos de la provincia de Misiones.

Las plantas fertilizadas con P no tuvieron modificaciones relevantes en crecimiento ni en sus variables fisiológicas con respecto a las plantas sin fertilizar. La fertilización con N disminuyó significativamente el tamaño del vástago y la raíz, y la proporción de raíces finas con respecto a la materia seca total. La concentración foliar de N y P fue en todos los tratamientos superior a los valores considerados como limitantes para la especie. La tasa de fotosíntesis neta a saturación lumínica no varió con la fertilización. Las plantas fertilizadas con N consumieron menor cantidad de agua, independientemente de su tamaño, pero no se modificó el consumo por cm² de área foliar. Sin embargo, el N aumentó la cantidad de agua consumida por g de raíz fina, lo cual indicaría que la capacidad de absorción y conducción de agua de las raíces no disminuyó con la adición de urea. Por lo tanto, las plantas fertilizadas con N no tuvieron limitantes nutricionales ni fotosintéticas para crecer, entonces, ¿por qué consumieron menos agua y crecieron menos? La capacidad conductiva del leño de las plantas fertilizadas con N fue menor y la conductancia estomática tuvo valores siempre menores al resto de los tratamientos. La menor conductancia permitió que al final del día estas plantas recuperaran el potencial de las hojas a

valores similares a los que tenían por la mañana. La tasa de expansión foliar de las plantas fertilizadas con N fue mayor a la del resto de los tratamientos, indicando posiblemente que la turgencia celular se mantuvo durante más tiempo. Se concluye que el menor crecimiento de las plantas fertilizadas con N se relaciona con el menor consumo de agua y la menor apertura estomática que limita la fijación de carbono en estas plantas.

2b.2 - Introducción

La fertilización inicial con P estimula el crecimiento, mientras que la adición de N tiene un efecto perjudicial en el crecimiento de plantaciones de *P. taeda* ubicadas en las provincias de Corrientes y Misiones y el sur de Brasil (Aparicio et al. 2003; Costa Muniz et al. 1975; Fernández et al. 2000c; Fernández et al. 1999b; Fernández et al. 2003).

Se ha postulado una teoría que explica la respuesta de la especie a la fertilización (Gough y Seiler 2004; Gough et al. 2004; King et al. 1999; Stovall et al. 2012). Inmediatamente después de la aplicación del fertilizante los nutrientes, especialmente el N, se asignan a las hojas y hay un aumento de la tasa fotosintética. Esto produce un aumento de la cantidad de fotoasimilados disponibles, los cuales permiten aumentar el área foliar y, por lo tanto, la cantidad de luz interceptada. Los nutrientes disponibles son retranslocados entonces a las nuevas hojas, y la tasa fotosintética vuelve a valores similares a los de las plantas sin fertilizar. La mayor área foliar de los árboles fertilizados motoriza el mayor crecimiento de las plantas con respecto a las no fertilizadas. Este aumento del área foliar puede desencadenar cambios en la compartimentalización de la materia seca. Este mecanismo de respuesta concuerda con lo postulado en la teoría de asignación de biomasa entre compartimentos, que indica que la mayor disponibilidad de nutrientes genera cambio en la asignación de carbono desde los compartimentos subterráneos a los aéreos (McConnaughay y Coleman 1999; Poorter y Nagel 2000). Los cambios en la partición de materia seca posteriores a la fertilización en *P. taeda* son efímeros, es decir que tienden a desaparecer con los meses, y por lo tanto, los

tejidos más implicados en estos cambios serán las hojas y las raíces finas (Stovall et al. 2012). La disminución de raíces finas (Albaugh et al. 1998; Samuelson 2000) y el aumento del área foliar es una respuesta típica de la especie ante la mayor disponibilidad de nutrientes (Albaugh et al. 1998; Albaugh et al. 2004; Coyle et al. 2008; Green y Mitchell 1992; Green et al. 1994; Tyree et al. 2009b), así como también lo es el aumento de los compartimentos aéreos en relación a los subterráneos, a diferentes edades y en distintas condiciones de crecimiento (a campo y en contenedores) (Gebauer et al. 1996; Green et al. 1994; Griffin et al. 1995; Samuelson 2000). Además se ha encontrado que en respuesta a la fertilización la especie sufre cambios en la proporción de ramas, la cual disminuye, y consecuentemente aumenta el área foliar soportada por las mismas (Colbert et al. 1990; Samuelson et al. 2008a).

A su vez, la fertilización genera cambios en otras características de la arquitectura hidráulica en *P. taeda* y otras especies. Por ejemplo, disminución de la conductancia estomática (Ewers et al. 2000; Munger et al. 2003; Samuelson et al. 2008b; Scholz et al. 2007), del potencial hídrico de las hojas (Bucci et al. 2006; Ewers et al. 2000; Lovelock et al. 2006; Samuelson et al. 2008a; Scholz et al. 2007; Stoneman et al. 1996) y de la conductividad hidráulica del xilema (Bucci et al. 2006; Harvey y van den Driessche 1997, 1999). Cabe señalar que en todos los estudios mencionados, las plantas fertilizadas crecieron más que las no fertilizadas.

El objetivo de este capítulo fue estudiar las principales modificaciones fisiológicas que produce la fertilización con N y P en las plantas de *P. taeda* creciendo sobre suelos pedregosos de la provincia de Misiones.

Hipótesis: La fertilización con N, a diferencia de la fertilización con P, modifica la fisiología de la planta de manera que impide que las plantas mantengan un buen estado de hidratación, de modo que la adición de N en el suelo con baja conductividad hidráulica generará un menor crecimiento, mientras que la fertilización con P tendrá efecto positivo en el crecimiento.

2b.3 - Metodología

Condiciones experimentales

El experimento se instaló en invernáculo (INFIVE, La Plata) a principios de agosto de 2008 (Figura 2b.1). Se utilizaron recipientes de 4,5 litros con suelo pedregoso de la provincia de Misiones y plantines comerciales de *P. taeda* de seis meses de edad aproximadamente (30 cm de altura). Se evaluaron 5 tratamientos: un testigo sin fertilizar, dos dosis de N (3 g y 6 g de urea) y dos dosis de P (6 g y 12 g de superfosfato triple de calcio (SFT)). Los tratamientos se denominaron: T (testigo), N1 (3 g urea), N2 (6 g urea), P1 (6 g SFT) y P2 (12 g SFT). Se trabajó con doce individuos por tratamiento, totalizando 60 macetas. El ensayo finalizó a comienzos de abril de 2009, a los 8 meses de la instalación.

El agua para el ensayo se suministró por riego con agua de red aplicado en forma manual. Las plantas fueron regadas dependiendo de la percepción visual de la humedad en las macetas. En los meses de mayor evapotranspiración las plantas se regaron dos veces por día.

Los valores medios para las características del suelo se muestran en la tabla 2b.1. Las determinaciones de las características físico-químicas del suelo (sobre 3 muestras del sustrato utilizado) se realizaron según se detalla en el capítulo 2a.

Tabla 2b.1: Características químicas y físicas del suelo pedregoso utilizado en el ensayo.

Propiedades químicas	
C orgánico (%)	3,7
Nt (%)	0,3
Pe (ppm)	4,1
pH	6,0
CIC (cmol kg ⁻¹)	16,9
Propiedades físicas	
Arena (%)	27,6
Limo (%)	38,5
Arcilla (%)	34,0
Clase	Franco arcilloso
ksuelo (g s m ⁻³)	0,092

Mediciones realizadas en las plantas

Entre los meses de diciembre y marzo se midió el consumo de agua por individuo, por diferencia gravimétrica, en 15 momentos a lo largo del período. Las macetas se introdujeron en bolsas de polietileno y se colocó una capa de esferas de poliestireno expandido sobre la superficie del suelo y rodeando las macetas para evitar pérdidas de agua por evaporación del suelo (Figura 2b.2). Cada día de medición se pesó cada una de las macetas y se les repuso el agua perdida por transpiración. Al finalizar el período de medición se calculó el consumo de agua acumulado por individuo. Con este valor se calculó el consumo de agua por g de raíz fina y por el área foliar de cada individuo, medidos una vez terminado el ensayo.

En el mes de enero se obtuvieron muestras de acículas de cada tratamiento para determinar el área foliar específica (AFE). Cada muestra estuvo compuesta por aproximadamente 90 acículas, a las que se fotografió en grupos de a 5 acículas en forma extendida para medirles el área foliar proyectada con el software UTHSCSA - Image Tool 3.0. Los grupos de acículas posteriormente se

secaron y se pesaron con una precisión de 0,001 g. El área foliar específica se calculó dividiendo el área de cada grupo por el peso seco del mismo ($\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$). Entre los meses de enero y marzo se midió la tasa fotosintética máxima (Asat) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$), a 25 °C y $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de densidad de flujo de fotones fotosintéticos (DFFF), con un Analizador de Gases por Infrarrojo (IRGA) (CIRAS2, PPSsystem). Las mediciones se realizaron en tres fechas, en horas cercanas al mediodía, en cinco individuos por tratamiento. Simultáneamente se midió la eficiencia instantánea en el uso del agua (WUEi) ($\mu\text{mol CO}_2 \mu\text{mol H}_2\text{O}^{-1}$). Dado que las mediciones no se realizaron con la cámara completamente llena de acículas, las porciones de acícula medidas se recuperaron para determinar su peso seco, calcular el área foliar de las mismas y corregir el valor de fotosíntesis obtenido.

Entre el 25 de febrero y el 20 de marzo se midió la expansión foliar en 3 acículas de diferente largo inicial, de 5 individuos por tratamiento. Las acículas medidas se ubicaron en ramas intermedias de la copa de cada individuo, con similar orientación cardinal. Se seleccionaron sectores de la parte apical de la rama en activo crecimiento, donde se ubican los fascículos con hojas en expansión, para elegir las acículas sobre las cuales se realizó la medición. La expansión se registró en 6 días del período mencionado. A partir de los datos obtenidos se calculó la tasa de expansión foliar relativa para cada acícula, en cada momento de medición:

$$\text{Longitud final (cm) - Longitud inicial (cm) / Longitud final (cm) x n}^\circ \text{ días}$$

A partir de las tasas obtenidas por tratamiento, para cada rango de tamaño de acícula elegido (3 en total) y considerando la longitud final de las acículas, se simuló la expansión foliar en el tiempo para cada tratamiento.

La conductancia estomática (gs) ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) se midió en 5 momentos del día (10, 12, 14, 16 y 18 horas) con porómetro (SC-1, Decagon Devices Inc.) en 3 plantas por tratamiento. Las mediciones se realizaron en 4 jornadas, entre el 12 de febrero y el 18 de marzo. Se utilizó un grupo de fascículos para llenar totalmente la cámara al realizar cada medición.

El potencial hídrico de las hojas (MPa) se midió en tres momentos del día (10, 13 y 18 horas) con cámara de presión tipo Scholander (Biocontrol), en tres plantas por tratamiento, los días 6 y 18 de marzo.

A finales de marzo, 5 plantas por tratamiento fueron utilizadas para determinar la componente axial de la conductividad hidráulica del tallo (kh) ($\text{g m MPa}^{-1} \text{s}^{-1}$). Las mediciones se realizaron sobre la porción basal del tallo principal de las plantas, con conductímetro multicanal (Fernández et al. 2010) (Figura 2b.3). La perfusión se realizó con agua bidestilada, a la cual se le extrajo el gas en campana de vacío. Se utilizó una presión de 8 kPa. A partir de kh y el área basal de la porción medida sin corteza (AX) (m^2) o el área foliar de cada individuo (AF) (m^2) se calcularon la conductividad hidráulica específica (ks) y foliar específica (kl) del tallo, respectivamente:

$$ks = kh (\text{g m MPa}^{-1} \text{s}^{-1}) / AX (\text{m}^2)$$

$$kl = kh (\text{g m MPa}^{-1} \text{s}^{-1}) / AF (\text{m}^2)$$

Los primeros días de abril se descalzaron los individuos restantes de cada tratamiento. Todas las plantas se secaron en estufa a 60 ± 5 °C hasta peso constante. Luego se separaron en los distintos compartimentos aéreos y subterráneos: hojas, ramas, tallo principal, raíz pivotante, raíces medias y raíces finas. Cada compartimento se pesó con una precisión de 0,01 g. Se calcularon las relaciones entre los distintos compartimentos de materia seca, para cada individuo. A partir del peso seco de hojas y el área foliar específica para cada tratamiento, se calculó el área foliar para cada individuo. Se obtuvieron tres muestras compuestas de acículas para cada tratamiento, a partir de las cuales se determinó la concentración foliar de N y P. Cada muestra compuesta estuvo formada por igual peso de acículas de 4 individuos. A partir de la concentración foliar de estos nutrientes y el peso seco de acículas de cada planta, se calculó el contenido de N y P foliares.

Las determinaciones de las concentraciones foliares de N y P se realizaron según se detalla en el capítulo 2a.

Análisis de datos

Los datos se analizaron utilizando el análisis de la varianza (ANOVA). Todos los compartimentos de materia seca, el área foliar, el área foliar específica, la concentración y el contenido de nutrientes, la tasa de expansión foliar, la eficiencia instantánea en el uso del agua y la fotosíntesis neta fueron analizados utilizando al tratamiento como factor de clasificación (ANOVA simple). La conductancia estomática y el potencial hídrico de la hoja se analizaron considerando el tratamiento y el momento del día en que se realizó cada medición como factores principales (ANOVA factorial). Dado que las mediciones realizadas en cada momento se llevaron a cabo en individuos elegidos al azar, se descartó el uso de un análisis de medidas repetidas en el tiempo para analizar estas variables, por violarse la condición de factor intra-sujeto que contempla dicho análisis (Onofri et al. 2010; Piepho et al. 2004). Dado que la partición de materia seca cambia con el tamaño de las plantas (Maseda y Fernández 2006) y que los tratamientos aplicados tuvieron efecto en el tamaño, las relaciones de materia seca se analizaron utilizando la materia seca total como covariable y tratamiento como factor de clasificación (ANCOVA). De la misma manera se analizó el consumo de agua acumulado por individuo.

En el caso de encontrarse efectos significativos ($p \leq 0,05$), las medias se compararon con el test de Fisher LSD ($p < 0,05$).

Se ajustó una regresión lineal entre los valores promedios de fotosíntesis neta máxima y la concentración foliar de N para cada tratamiento.



Figura 2b.1: Vista del ensayo al momento de la instalación.



Figura 2b.2: Vista del ensayo al con las macetas preparadas para medir consumo de agua.



Figura 2b.3: Vista del conductímetro multicanal durante las mediciones de conductividad hidráulica del tallo.

2b.4 - Resultados

Se observaron diferencias significativas entre tratamientos en el área foliar y en todos los compartimentos de materia seca, excepto para la materia seca de raíz pivotante (Tabla 2b.2). La fertilización con P no produjo aumentos significativos del área foliar y los compartimentos de materia seca con respecto al testigo en ninguna de las dosis aplicadas, excepto en el caso de las raíces medias de P2, que tuvieron mayor materia seca que las plantas sin fertilizar. Por el contrario, la fertilización con N redujo el área foliar y todos los compartimentos de materia seca con respecto al testigo. En el caso de la dosis más baja, la reducción fue significativa en la materia seca total, del vástago y de raíces finas. La dosis más alta redujo todos los compartimentos, excepto el de raíces medias (Figura 2b.4 y 5).

Tabla 2b.2: Valores de p para el área foliar (cm^2) y todos los compartimentos de materia seca (g), considerando al tratamiento como factor principal (ANOVA simple).

Compartimento	p
Área foliar	0,002
Hojas	0,048
Ramas	<0,001
Tallo principal	0,007
Vástago	0,002
Raíz pivotante	0,083
Raíces medias	0,022
Raíces finas	<0,001
Raíz total	<0,001
Total	<0,001

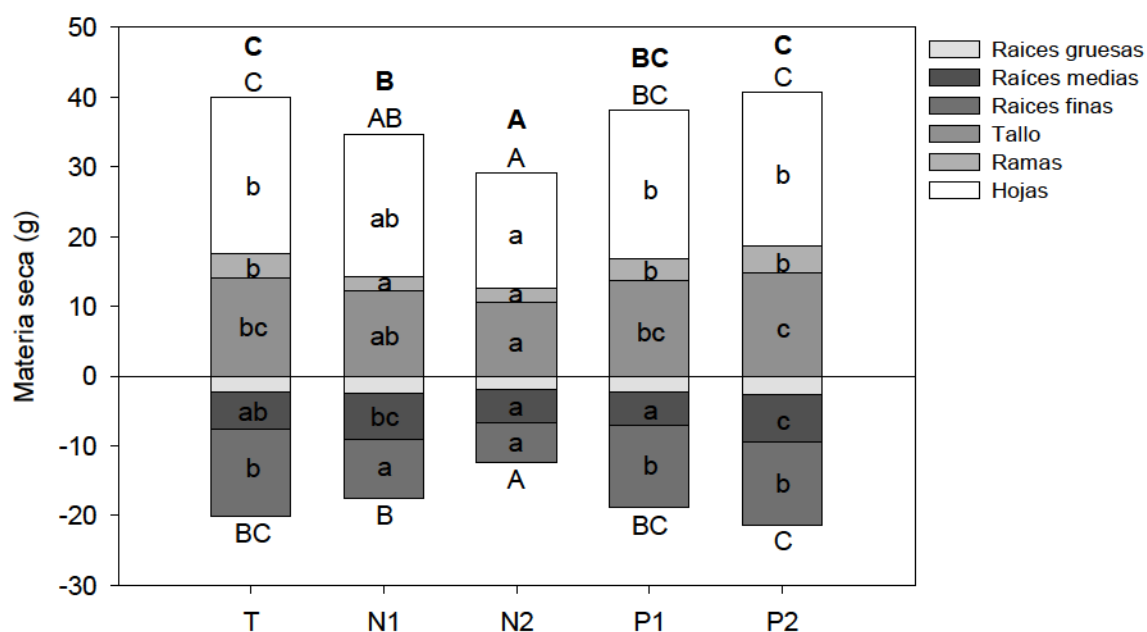


Figura 2b.4: Materia seca por compartimento (g) para cada tratamiento (n=60). Las diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas entre medias para cada compartimento. Las diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas para la materia seca aérea y subterránea, y las mayúsculas en negrita indican diferencias para la materia seca total (LSD $p < 0,05$).

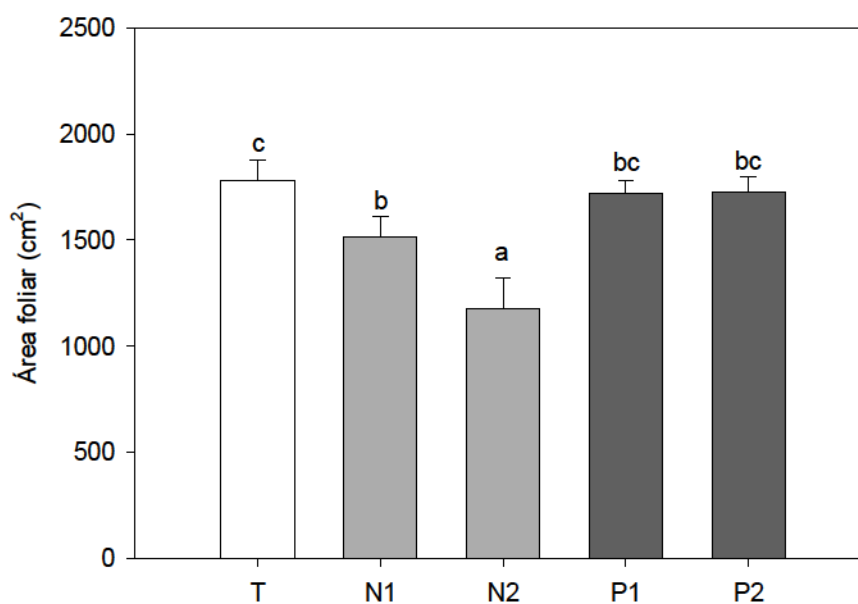


Figura 2b.5: Área foliar (cm²) para cada tratamiento (n=60). Las diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (LSD $p < 0,05$). Las líneas sobre las barras corresponden al error estándar de la media.

La fertilización también modificó las relaciones entre compartimentos de materia seca, excepto la relación entre la materia seca del vástago y la raíz total (Tabla 2b.3). Ninguna de las dosis de P aplicadas provocó diferencias en comparación con las plantas testigo. En contraposición, las dos dosis de N produjeron un aumento significativo de la proporción de materia seca de hojas con respecto a la materia seca de raíces finas (Tabla 2b.3). Las diferencias entre tratamientos encontradas para los cocientes son independientes del tamaño de los individuos, ya que la covariable no fue significativa.

Tabla 2b.3: Medias calculadas y valores de p para las relaciones entre compartimentos de materia seca (g g^{-1}), considerando al tratamiento como factor principal y la materia seca total del individuo (MS) como covariable (ANCOVA simple). Las diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (LSD $p < 0,05$).

		Relaciones de Materia seca (g g^{-1})						
Nivel		Vástago : Raíz total	Vástago : Raíces finas		Hojas : Raíces finas		Hojas : Ramas	
Tratamiento	T	2,03	3,36	a	1,87	a	6,49	a
	N1	2,01	4,19	a	2,46	b	9,99	b
	N2	2,37	5,26	b	2,99	c	8,86	ab
	P1	2,13	3,47	a	1,91	a	7,46	ab
	P2	1,91	3,52	a	1,89	a	6,09	a
p	Tratamiento	0,723	0,025		0,002		0,039	
	Covariable (MS)	0,448	0,958		0,448		0,297	

Las concentraciones foliares de N y P variaron significativamente con el tratamiento. Las plantas fertilizadas con la mayor dosis de N tuvieron mayor concentración foliar de este nutriente con respecto al tratamiento testigo. La concentración foliar de P fue mayor en las plantas fertilizadas con la dosis menor de P con respecto a las plantas testigo (Tabla 2b.4).

No se encontraron diferencias significativas en el contenido foliar de N entre tratamientos. El contenido foliar de P fue mayor en las plantas fertilizadas con P con respecto a las plantas sin fertilizar y fertilizadas con la dosis menor de N (Tabla 2b.4). Las plantas que recibieron la mayor dosis de N tuvieron menor contenido de P foliar.

Tabla 2b.4: Medias y valores de p para las concentraciones y los contenidos foliares de N y P, considerando al tratamiento como factor principal (ANOVA simple). Las diferentes letras indican diferencias significativas entre medias para cada variable (LSD $p < 0,05$).

	Nivel	[N] (mg g ⁻¹)	[P] (mg g ⁻¹)	N foliar (mg)	P foliar (mg)
	T	10,17 a	1,16 ab	228,11	26,09 b
	N1	8,98 a	0,89 a	183,49	18,26 a
Tratamiento	N2	11,92 b	1,00 a	198,00	16,55 a
	P1	10,58 ab	1,55 c	223,81	32,85 c
	P2	11,05 ab	1,35 bc	228,90	29,59 bc
	p	0,035	0,003	0,067	<0,001

Se observaron diferencias significativas en el área foliar específica entre tratamientos (Tabla 2b.5). Las plantas fertilizadas con P no se diferenciaron del testigo pero las plantas fertilizadas con N tuvieron menor AFE que el testigo. Además, el AFE del tratamiento N1 fue mayor que la del tratamiento N2 (Figura 2b.6).

La fotosíntesis neta a DFFF saturante (Asat) y la eficiencia instantánea en el uso del agua no difirieron entre tratamientos (Tabla 2b.5). Se encontró una relación positiva y significativa entre la concentración foliar media de N y la Asat por tratamiento (Figura 2b.7).

Tabla 2b.5: Valores de p para área foliar específica (AFE) ($\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$), fotosíntesis neta a DFFF saturante (1500) (Asat) ($\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$), eficiencia instantánea en el uso del agua (WUEi) ($\mu\text{mol CO}_2 \mu\text{mol H}_2\text{O}^{-1}$), consumo acumulado de agua por g de raíz fina ($\text{dm}^3 \text{g}^{-1}$), consumo acumulado de agua por cm^2 de área foliar ($\text{dm}^3 \text{cm}^{-2}$) y tasa relativa de expansión foliar (TEFR) ($\text{cm cm}^{-1} \text{día}^{-1}$) (ANOVA simple).

Parámetro	p
AFE	<0,001
Asat	0,350
WUEi	0,298
Consumo H_2O : MS raíz fina	0,026
Consumo H_2O : AF	0,520
TEFR	<0,001

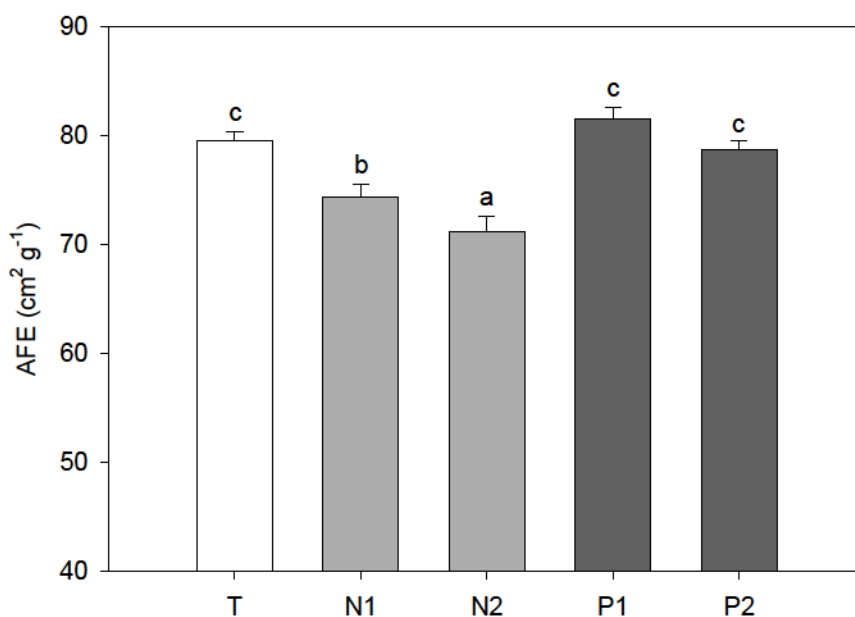


Figura 2b.6: Área foliar específica ($\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$) para cada tratamiento ($n=90$). Las diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (LSD $p<0,05$). Las líneas sobre las barras corresponden al error estándar de la media.

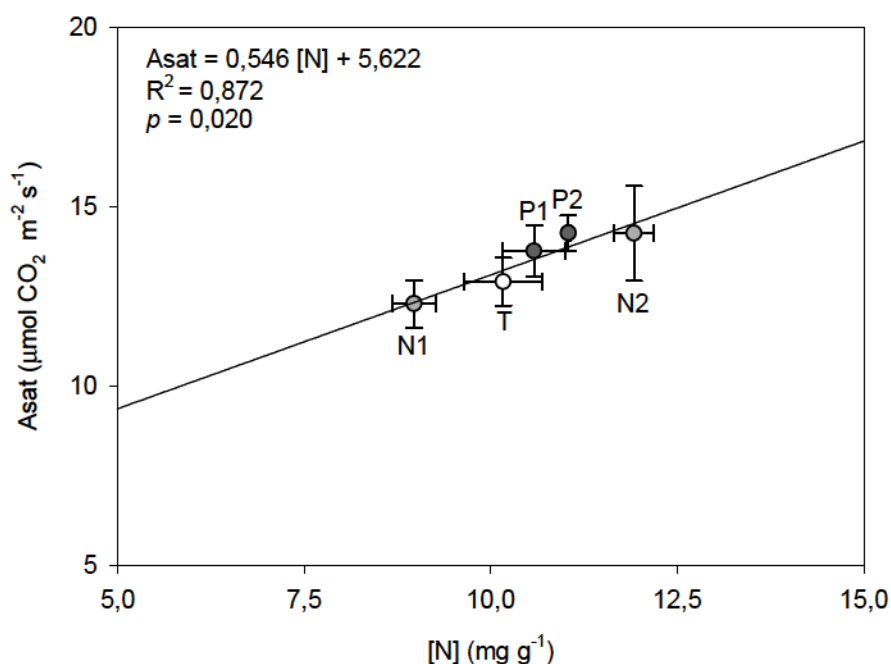


Figura 2b.7: Relación lineal entre fotosíntesis neta media a DFFF saturante (1500) (Asat) y concentración foliar de N ([N]) para cada tratamiento. Las líneas en los puntos corresponden al error estándar de la media.

El consumo de agua acumulado al final del periodo de medición fue diferente entre tratamientos ($p < 0,001$). El consumo de agua no covarió con la materia seca total ($p = 0,146$). Las plantas P1 consumieron más agua que el resto de los tratamientos, mientras que las N2 consumieron menos que los demás tratamientos (Figura 2b.8). El consumo acumulado por cm^2 de área foliar no difirió entre tratamientos, pero sí el consumo por g de materia seca de raíces finas (Tabla 2b.5). Las plantas fertilizadas con N tuvieron mayor consumo por g de materia seca de raíces finas que las plantas sin fertilizar. Sin embargo, las plantas fertilizadas con P no difirieron de estas últimas (Figura 2b.9).

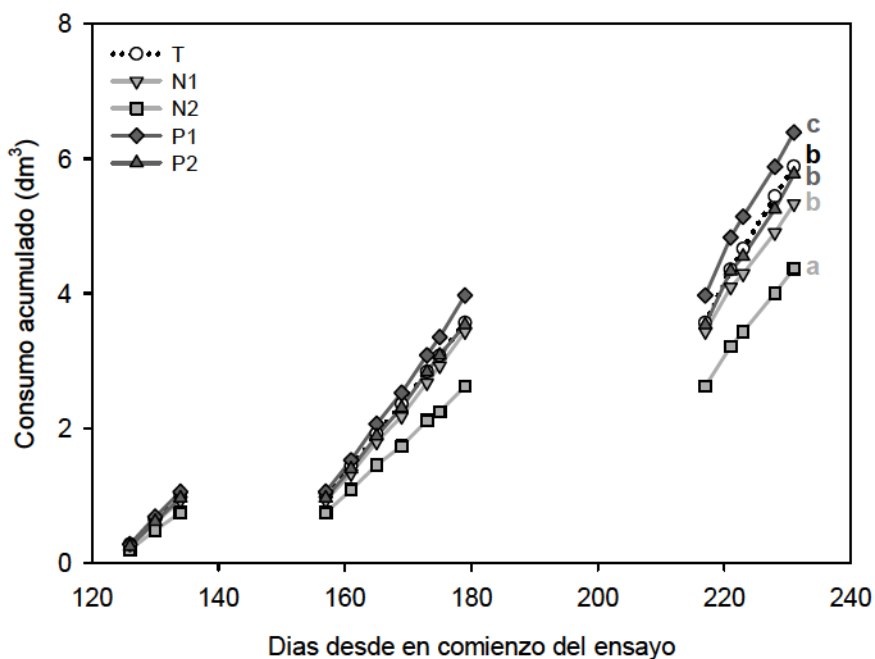


Figura 2b.8: Consumo acumulado de agua (dm^3) en el tiempo para los diferentes tratamientos ($n=60$). Las diferentes letras indican diferencias significativas entre medias para el consumo acumulado final (LSD $p<0,05$).

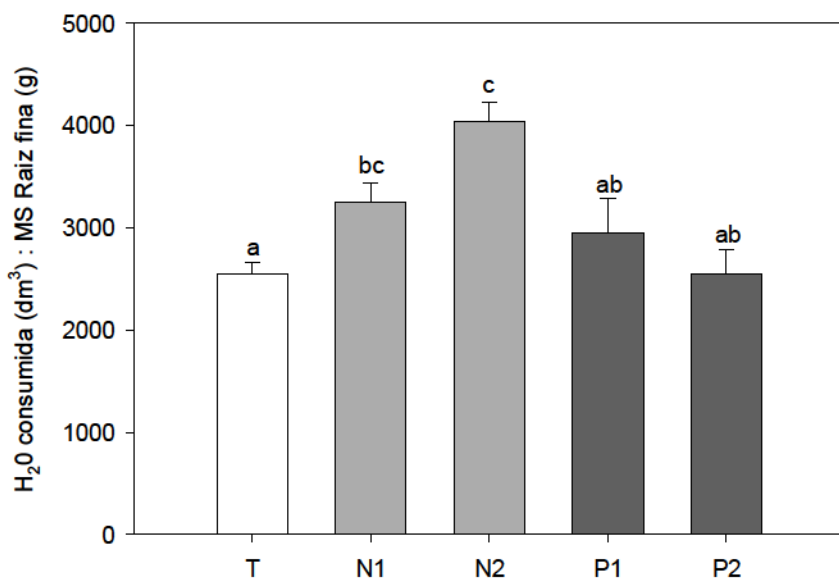


Figura 2b.9: Consumo acumulado de agua por g de raíz fina ($\text{dm}^3 \text{g}^{-1}$) para cada tratamiento ($n=60$). Las diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (LSD $p<0,05$). Las líneas sobre las barras corresponden al error estándar de la media.

La conductancia estomática varió significativamente con el tratamiento y el momento del día en que se realizó la medición, pero no hubo interacción entre factores (Tabla 2b.6). Las plantas N2 tuvieron menor gs diaria que el resto de los tratamientos, mientras que las P1 tuvieron mayor gs que las plantas testigo y las fertilizadas con N. La variación de gs a lo largo del día no difirió entre tratamientos. La mayor gs se registró al mediodía (12 horas) y la menor al atardecer (18 horas), mientras que las demás horas de medición tuvieron valores intermedios (Figura 2b.10).

Tabla 2b.6: Valores de p para la conductancia estomática (gs) ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y el potencial hídrico de las hojas (Ψ) (MPa), considerando al tratamiento y al momento del día en que se realizó la medición como factores principales (ANOVA factorial).

Factor	gs	Ψ
Tratamiento	<0,001	0,447
Momento del día	<0,001	<0,001
Tratamiento x Momento del día	0,924	0,021

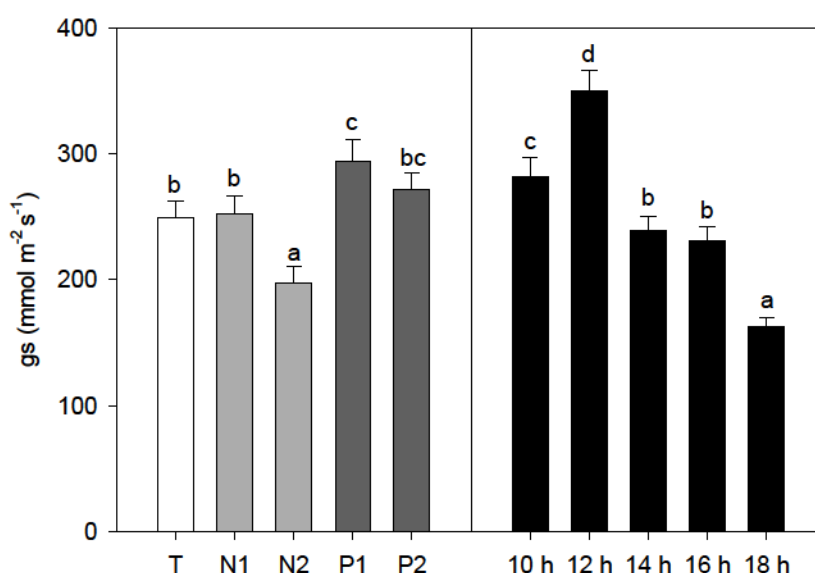


Figura 2b.10: Conductancia estomática (gs) ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) por tratamiento y momento del día (n=300). Las diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (LSD $p < 0,05$). Las líneas sobre las barras corresponden al error estándar de la media.

El potencial hídrico de la hoja varió con el tratamiento dependiendo de la hora del día en que se realizó la medición (interacción tratamiento x momento del día) (Tabla 2b.6). El potencial a la mañana y al mediodía fue similar en todos los tratamientos. Al atardecer, las plantas fertilizadas con P y las testigo mantuvieron el potencial en valores similares a los registrados al mediodía, sin embargo, las plantas fertilizadas con N recuperaron el potencial de las hojas a valores similares a los registrados a la mañana (Figura 2b.11).

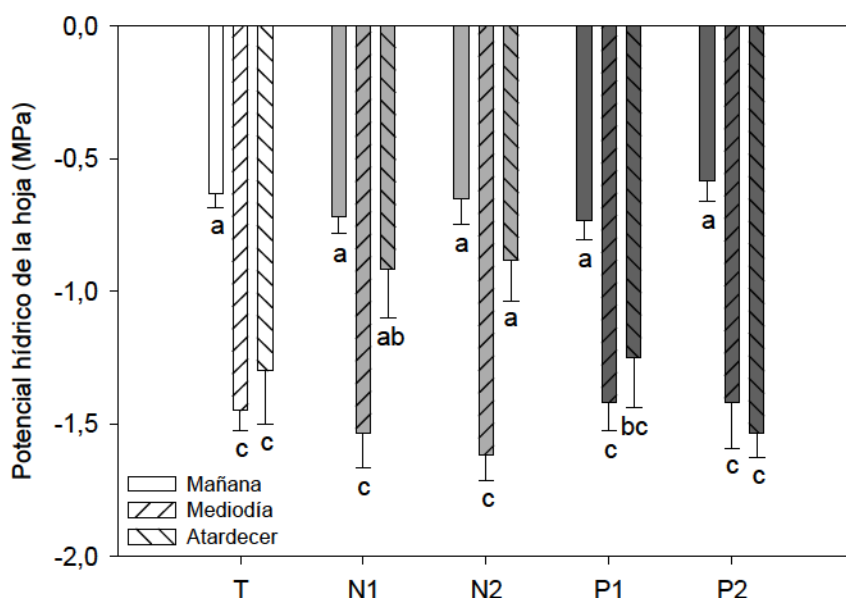


Figura 2b.11: Potencial hídrico de la hoja (MPa) por tratamiento para cada momento del día (n=90). Las diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (LSD $p < 0,05$). Las líneas sobre las barras corresponden al error estándar de la media.

La tasa de expansión foliar de las hojas fue significativamente mayor en las plantas del tratamiento N2 con respecto a las demás (Tabla 2b.5, Figura 2b.12). Las acículas de este tratamiento alcanzan su tamaño final en aproximadamente 45 días, mientras que las del resto de los tratamientos demoran más de 70 días (Figura 2b.13).

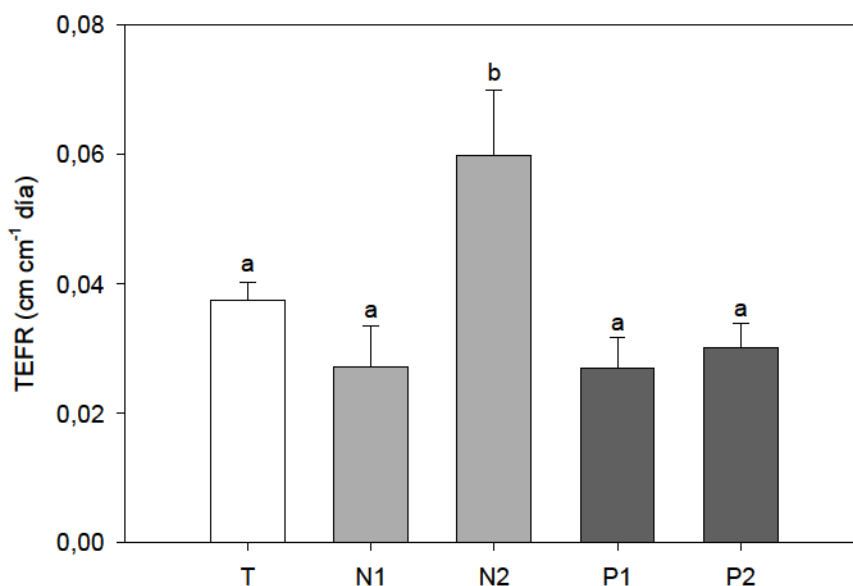


Figura 2b.12: Tasa relativa de expansión foliar (TEFR) para cada tratamiento (n=75). Las diferentes letras indican diferencias entre medias (LSD $p < 0,05$). Las líneas sobre las barras corresponden al error estándar de la media.

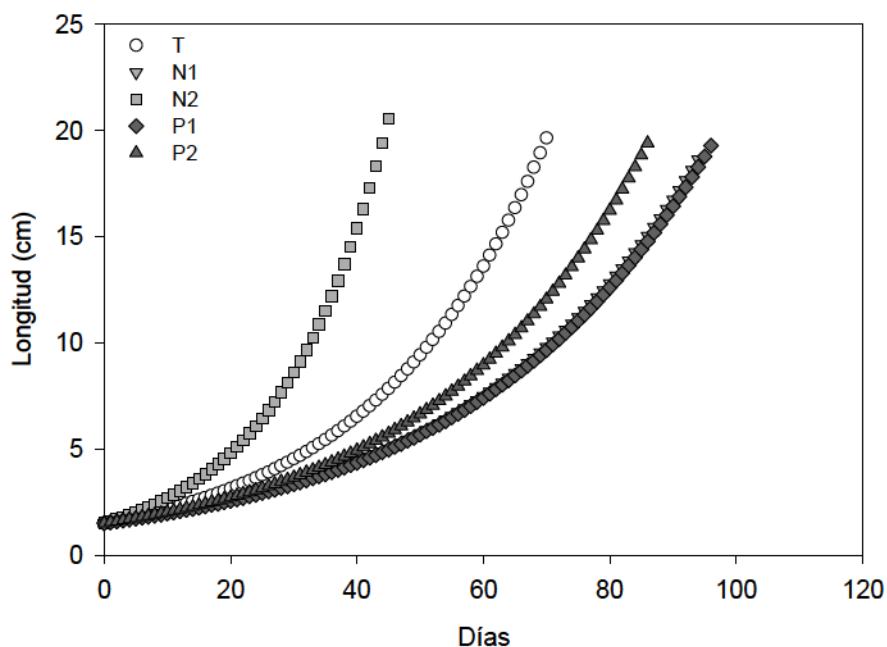


Figura 2b.13: Simulación de la expansión foliar en el tiempo por tratamiento hasta alcanzar el tamaño final de la acícula.

La conductividad hidráulica del tallo (kh) fue menor en las plantas fertilizadas con la dosis más alta de N con respecto a las fertilizadas con P y sin fertilizar ($p=0,007$). Las plantas N1 también tendieron a tener menor kh, pero sólo se diferenciaron significativamente de las P2. No se encontraron diferencias entre tratamientos para las conductividades específica (ks) ($p=0,123$) ni foliar específica (kl) ($p=0,073$) (Figura 2b.14).

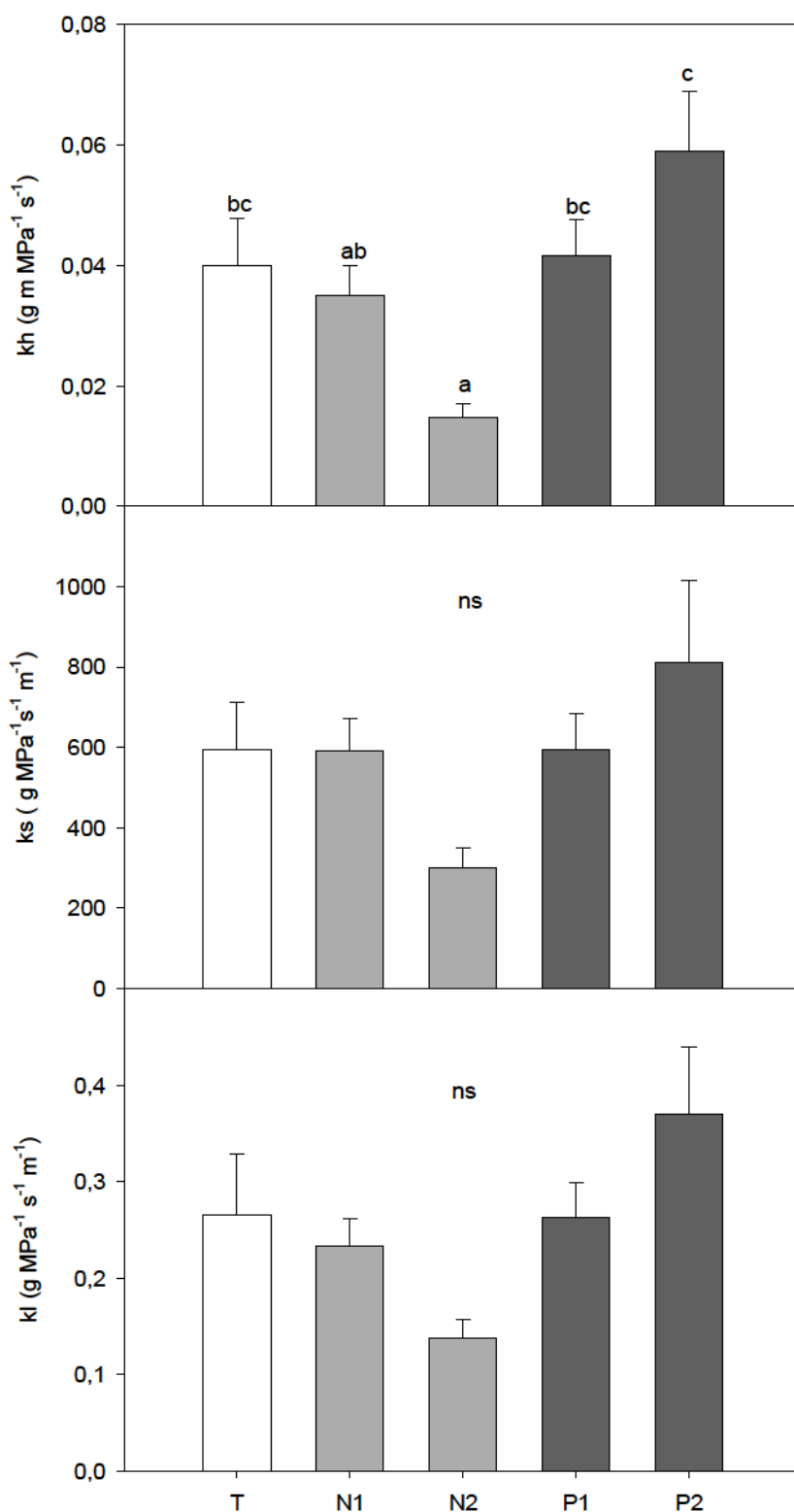


Figura 2b.14: Conductividad hidráulica (kh), conductividad hidráulica específica (ks) y conductividad hidráulica foliar específica del leño (kl), por tratamiento (n=25). Las diferentes letras indican diferencias significativas entre medias para cada panel (LSD $p < 0,05$). Las líneas sobre las barras corresponden al error estándar de la media.

2b.5 - Discusión

Efecto de la fertilización sobre el crecimiento

Las plantas fertilizadas con P no tuvieron aumentos significativos de materia seca ni cambios en la partición de la misma con respecto a las plantas sin fertilizar para ninguna de las dosis aplicadas. La adición de este fertilizante tampoco produjo cambios en el área foliar de las plantas ni en el área foliar específica de las hojas.

Las plantas fertilizadas con N acumularon menos materia seca en todos sus compartimentos. Las que recibieron la máxima dosis de urea se diferenciaron significativamente de las plantas fertilizadas con P y de las no fertilizadas. Las que recibieron la dosis más baja sufrieron una disminución significativa de la materia seca de raíces finas y ramas, este resultado indicaría que estos compartimentos son los más afectados por la adición de N. Los demás compartimentos tendieron a ser menores que los de las plantas testigo, lo cual dio como resultado una menor materia seca total y del vástago con respecto al testigo (Figura 2b.4).

La reducción de raíces finas con la adición de N provocó un incremento de la relación entre el vástago y las hojas y éste compartimento. Algo similar sucedió con el efecto de la adición de este nutriente sobre la acumulación de materia seca de ramas, que resultó en un incremento en la materia seca de hojas soportada por cada g de rama. Todos estos cambios fueron independientes del tamaño de la planta, ya que las relaciones de materia seca no covariaron con la materia seca total (Tabla 2b.3).

La adición de N provocó una disminución en el área foliar total de las plantas, que se intensificó con la dosis aplicada (Figura 2b.5). Además, el área foliar específica también disminuyó progresivamente con la dosis de N, disminuyendo por lo tanto el área expuesta por cada g de materia seca de hojas invertida por la planta en formar este tejido (Figura 2b.6).

Las características físico-químicas del sustrato utilizado en este ensayo son similares a las que se encontraron en el suelo del bloque 2 del ensayo a campo abordado en el capítulo 2a. Las diferencias en las condiciones experimentales

entre este ensayo en contenedores y el ensayo a campo hacen que la comparación de resultados no sea correcta. Sin embargo, las respuestas encontradas son similares en cuanto a la fertilización con P. En las mediciones realizadas en el bloque 2, no se encontró respuesta satisfactoria a la fertilización con P en el diámetro de las plantas.

Efecto de la fertilización en la concentración de nutrientes foliares y en la actividad fotosintética

La concentración foliar de N sólo aumentó en las plantas fertilizadas con la dosis más alta de urea, mientras que la concentración foliar de P aumentó con la adición de SFT en la dosis más baja. No se observa una acumulación excesiva del nutriente aplicado que indique toxicidad. Los valores de concentración encontrados están dentro del rango que indica suficiencia para la especie, excepto para el tratamiento N1. El límite entre la deficiencia y la suficiencia es de 10 mg g⁻¹ de N y de 1,0 mg g⁻¹ de P (Allen 1987). Pese a que no se encontraron diferencias en Asat entre tratamientos (Tabla 2b.5), las concentraciones foliares medias se relacionaron positivamente con la Asat media de cada tratamiento (Figura 2b.7). Las plantas fertilizadas con N cambiaron la relación entre la materia seca de hojas y raíces finas y no tuvieron cambios en Asat con respecto a las plantas testigo, por lo tanto es posible que estuvieran en la segunda etapa de respuesta al momento de la medición, según la teoría de respuesta a la fertilización postulada para esta especie (Gough y Seiler 2004; Gough et al. 2004; King et al. 1999; Stovall et al. 2012). Sin embargo, dado que el crecimiento es menor, especialmente en las plantas N2, la redistribución de los nutrientes absorbidos a las nuevas hojas no es suficiente para que la concentración foliar de N y P baje y se equilibre. Todos estos resultados demuestran que las plantas fertilizadas con N responden a la fertilización y no tienen limitantes nutricionales ni fotosintéticas, sin embargo, crecen menos que las plantas sin fertilizar.

Efecto de la fertilización en el uso de agua

Al analizar el consumo de agua, se encontró que las plantas N2 consumían menos agua que el resto de los tratamientos, independientemente de tener menor materia seca total (Figura 2b.8). El consumo de agua por g de raíz fina aumentó en las plantas fertilizadas con N, lo cual indicaría que no existe una limitante hidráulica en las raíces que impida la absorción suficiente de agua (Figura 2b.9). La capacidad conductiva del tallo (kh) fue significativamente menor en estas plantas, mientras que ks y kl fueron iguales a los otros tratamientos (Figura 2b.14). Estos resultados indican que no existe una reducción importante en la capacidad de abastecimiento de agua para las hojas. Sin embargo, la conductancia estomática de las hojas de las plantas fertilizadas con N fue significativamente menor a lo largo del día (Figura 2b.10). En otros trabajos se han encontrado resultados similares en la respuesta estomática a la fertilización. En *Pinus pinaster* fertilizado con N, la conductancia estomática medida a lo largo del día fue menor que en las plantas sin fertilizar (Guehl et al. 1995). En *P. taeda*, la gs disminuyó con la fertilización con N (Munger et al. 2003; Samuelson 2000; Tyree et al. 2009a) y este cambio se asoció con una mayor eficiencia en el uso del agua instantánea de las plantas. Dicho cambio en la eficiencia en el uso del agua puede relacionarse con un aumento del control estomático y una disminución en el área foliar específica de las hojas de las plantas fertilizadas (Tyree et al. 2009a). Aunque no se encontraron diferencias en la eficiencia en el uso del agua en este ensayo, se observó un cambio en la morfología foliar que podría tener influencia en la disminución de gs. Aunque los sistemas de estudio no son comparables, en plantación de *P. taeda* se observó disminución en la conductancia estomática a nivel de canopy acompañada por disminución en la cantidad de raíces finas y mayor área foliar en plantas fertilizadas; dicho comportamiento estomático se relacionó con una disminución en la disponibilidad de agua para las plantas fertilizadas producto del cambio en la partición de biomasa (Ewers et al. 2000).

La reducción en la conductancia estomática de las plantas fertilizadas con N puede relacionarse con el patrón diario de potencial hídrico. Mientras que no hubo diferencias en el potencial de las hojas a la mañana ni al mediodía entre tratamientos, las plantas N1 y N2 recuperaron el potencial al atardecer a valores

similares a los encontrados por la mañana, mientras que las plantas testigo y las fertilizadas con P a esa hora lo mantenían a niveles similares al mediodía (Figura 2b.11). La tendencia isohídrica (McDowell et al. 2008) que se encontró en las plantas fertilizadas con N seguramente condicionó la fijación de carbono, limitando el crecimiento. Otros trabajos han reportado modificaciones en el potencial hídrico de las hojas producto de la fertilización (Bucci et al. 2006; Lovelock et al. 2006; Stoneman et al. 1996). En *P. taeda*, Samuelson et al. (2008a) encontraron que la fertilización aumentó el $\Psi_{\text{mediodía}}$, al igual que en *P. pinaster* (Fernández et al. 2006), mientras que Ewers et al. (2000) no encontraron diferencias en $\Psi_{\text{mediodía}}$ entre plantas fertilizadas y no fertilizadas.

Un indicio complementario del comportamiento isohídrico de las plantas fertilizadas con N es la mayor tasa de expansión foliar de las plantas del tratamiento N2 (Figura 2b.12). La expansión foliar es impulsada por la turgencia celular, la mayor cantidad de tiempo que las hojas tuvieron el potencial alto se reflejó en una mayor tasa de expansión foliar. En otros trabajos se observó que la alta disponibilidad de N produjo paredes celulares más flexibles y redujo la conductancia estomática, lo cual permitió que la expansión foliar se mantenga con potenciales más bajos que las plantas con baja disponibilidad de N (Radin y Parker 1979b). Por otro lado, se encontró que la baja disponibilidad de N y P reduce la tasa de expansión foliar por falta de abastecimiento de agua a las hojas, producto de la caída en la conductividad hidráulica de las raíces (Radin y Boyer 1982; Radin y Eidenbock 1984). En *Eucalyptus grandis* no se encontraron modificaciones en la expansión foliar con la adición de N (Laclau et al. 2009). Aunque estos resultados no concuerdan con los encontrados en este capítulo, hay una clara asociación entre los cambios en la arquitectura hidráulica de las plantas producto de la disponibilidad de nutrientes y la expansión foliar de las hojas.

La conductividad hidráulica del xilema puede modificarse producto de la fertilización, por ejemplo k_s aumentó y k_l disminuyó producto de la fertilización con N en especies latifoliadas (Bucci et al. 2006). En este caso, el aumento en k_s fue proporcionalmente menor al incremento que dicho nutriente provocó en el área foliar. La fertilización con P no produjo modificaciones en estos parámetros, al igual que los resultados hallados en este capítulo. En *Populus* la

fertilización con P incrementó kl, mientras que la fertilización con N generó una disminución de kl medida con embolismos, y aumentó la vulnerabilidad a la cavitación, es decir, favoreció la formación de embolismos (Harvey y van den Driessche 1997). En *Eucalyptus grandis* no hubo modificaciones en la conductividad hidráulica de los tallos con la adición de dosis crecientes de N (Clearwater y Meinzer 2001). Sin embargo, la fuerte reducción en la conductividad hidráulica en la planta es una respuesta general ante condiciones de baja disponibilidad hídrica en el suelo (Maseda y Fernández 2006). La baja conductividad hidráulica del suelo utilizado en este capítulo (Tabla 2b.1), sumado a la disminución proporcional del tejido absorbente podrían estar condicionando la disponibilidad de agua para el vástago de las plantas fertilizadas con urea.

2b.6 - Conclusiones

Las plantas fertilizadas con P no tuvieron modificaciones relevantes en crecimiento ni en sus variables fisiológicas con respecto a las plantas sin fertilizar. Por otro lado, la fertilización no produjo ni alivió limitantes nutricionales ni fotosintéticas en las plantas. La fertilización con N redujo el crecimiento de las plantas y produjo modificaciones en diferentes aspectos de la arquitectura hidráulica de las plantas (aumento de la relación MS hojas:MS raíz fina, menor conductancia estomática diaria, temprana recuperación del Ψ hídrico en las hojas, menor conductividad hidráulica del xilema del tallo), que se acentuaron con el aumento de la dosis de urea aplicada. Las modificaciones observadas en estas plantas tuvieron una estrecha relación con un uso más conservativo del agua. El menor crecimiento de las plantas fertilizadas con N se relacionó con el menor consumo de agua y la menor apertura estomática que limita la fijación de carbono en estas plantas.

Capítulo 3

Respuestas a la fertilización en un sustrato con baja disponibilidad de nutrientes y alta conductividad hidráulica

Capítulo 3a

Interacción entre la fertilización y la sequía

Interacción entre la fertilización y la sequía

3a.1 - Resumen

La estructura de los sistemas radicales, y a partir de ésta, toda la arquitectura hidráulica de la planta, está determinada por la disponibilidad de agua y nutrientes del suelo. Las características físicas y químicas de los suelos determinan la cantidad de nutrientes disponibles y la cantidad y dinámica de la disponibilidad de agua para las plantas. El objetivo de este capítulo fue estudiar los cambios fisiológicos de *P. taeda* creciendo en un sustrato con elevada conductividad hidráulica, en plantas fertilizadas con N y P y expuestas a alta y baja disponibilidad de agua. De este modo se busca evaluar si la sequía genera patrones de respuesta similares a los encontrados en respuesta a la fertilización nitrogenada en suelos pedregosos, con buena disponibilidad de agua.

Se evaluó el crecimiento, la tasa fotosintética a diferentes disponibilidades de luz, la tasa de expansión foliar, los patrones de conductancia estomática y potencial hídrico de las hojas a lo largo del día y la conductividad hidráulica del xilema de las ramas, en plantas en contenedores con un sustrato arenoso, fertilizadas con N o P, o sin fertilizar, que se mantuvieron con alta o baja disponibilidad hídrica.

Algunas respuestas fisiológicas encontradas en las plantas fertilizadas con N y baja disponibilidad de agua son similares a las halladas en las plantas fertilizadas con N creciendo sobre suelo pedregoso (Capítulo 2.b), por lo cual se podría deducir que en suelo pedregoso, con buen contenido de agua, las plantas fertilizadas con N desarrollan cambios fisiológicos y en partición de materia seca en respuesta a la fertilización que generan un desbalance entre el sistema hidráulico de la planta y el suelo, análogos a los producidos bajo estrés por sequía.

3a.2 - Introducción

El suelo en el que crece la planta afecta tanto la disponibilidad de nutrientes como la de agua. El contenido de cationes en el suelo está determinado principalmente por la meteorización de los materiales originarios. La materia orgánica contiene el 95% del N en los suelos forestales y una gran proporción del P (Khanna y Ulrich 1991). Los contenidos de arcilla y materia orgánica son las fracciones que otorgan al suelo capacidad de intercambio iónico, que es muy importante para evitar la lixiviación de los fertilizantes y amortiguar cambios bruscos en la acidez del suelo. Las características químicas del suelo determinan la disponibilidad de nutrientes, y por lo tanto afectan los resultados de la aplicación de fertilizantes (Fisher y Binkley 2000).

La textura del suelo cumple un rol fundamental en la disponibilidad de agua para las plantas. Los suelos de textura gruesa tienen alto porcentaje de poros grandes, con mucho espacio para contener agua, pero baja capacidad para retenerla. A medida que el contenido de humedad baja, las partículas retienen con poca fuerza el agua restante debido al bajo potencial mátrico que tiene este tipo de poros, por lo cual la disponibilidad de agua para las plantas en suelos de textura gruesa baja abruptamente a medida que se secan, es decir, tiene baja cantidad de agua disponible a potenciales relativamente altos. Por el contrario, los suelos de textura fina tienen un alto porcentaje de poros pequeños, donde se desarrollan tensiones muy fuertes, por lo cual, la disminución de disponibilidad de agua para las plantas de estos suelos es mucho más gradual. Por otro lado, el tipo de textura también determina la conductividad hidráulica de los suelos a diferentes grados de humedad. Los suelos de textura gruesa tienen alta conductividad cuando están saturados, pero la misma cae abruptamente con la pérdida de humedad, mientras que en los suelos de textura fina, esta caída es más paulatina (Fernández y Trillo 2005; Hacke et al. 2000; Sperry et al. 2002). Por lo tanto, las plantas que crecen en suelos arenosos requieren potenciales menos negativos para agotar el agua disponible que las que crecen en suelos francos o de textura fina (Hacke et al. 2000). Las plantas que crecen en suelos de textura gruesa en general desarrollan amplios sistemas radicales, a diferentes profundidades y con baja

tasa de absorción de agua por superficie de raíz. Esta última característica permite contrarrestar la posible caída abrupta en la conductancia hidráulica de la rizósfera durante la absorción de agua, producto de la pérdida de contacto hidráulico entre la raíz y el suelo. La disminución de la conductancia hidráulica del sistema radical puede ser producto, por ejemplo, del desarrollo de una mayor relación entre la raíz y el área foliar y/o de la reducción de la tasa transpiratoria. Ambas características reducen la densidad de flujo de agua en la rizósfera. Por otro lado, dado que las raíces que crecen en suelos de textura gruesa funcionan en un rango estrecho de potenciales hídricos, es esperable que sean más vulnerables a perder funcionalidad por embolia del xilema frente a episodios de sequía extrema (Hacke et al. 2000; Sperry et al. 2002). Por el contrario, los sistemas radicales de las plantas que crecen en suelos arcillosos son, en general, más superficiales y menos extensos, y tiene menor vulnerabilidad a perder funcionalidad por embolia de tejidos conductivos frente a la sequía, ya que se han desarrollado en un ambiente en el que la disponibilidad de agua se da en un rango amplio de potencial hídrico (Hacke et al. 2000). Esto se debe a que una adecuada asignación de materia seca a las raíces permite que la rizósfera no limite la absorción de agua, pero ésta no debe exceder la proporción justa necesaria, dado que una mayor partición a las raíces no redundaría en mayor disponibilidad de agua. Sin embargo, mayor proporción de raíces sobre el límite requerido para permitir que la absorción de agua no sea limitante en cada tipo de suelo puede reflejar mayor requerimiento en la absorción de nutrientes (Sperry et al. 1998). Es por eso que el tipo de suelo interactúa con la disponibilidad de agua y la de nutrientes, de tal forma que altera la respuesta de las plantas tanto a la fertilización como al estrés hídrico. En síntesis, las características físicas y químicas de los suelos determinan la cantidad de nutrientes disponibles y la retención de los fertilizantes aplicados, además de la dinámica en la disponibilidad de agua. Las raíces responden, en distribución, morfología y fisiología a la disponibilidad de agua y nutrientes. Por lo tanto, la estructura de los sistemas radicales, y a partir de ésta, la arquitectura hidráulica de la planta entera, están determinados por la disponibilidad de agua y nutrientes del suelo.

En el capítulo anterior se describió que las plantas fertilizadas con nitrógeno desarrollaron repuestas fisiológicas que pueden asemejarse a las que se observan en plantas con estrés por sequía. Como los suelos pedregosos tienen baja conductividad hidráulica e impondrían a las plantas estrés por sequía por más que se realicen riegos diarios, en este capítulo se empleó un sustrato con mayor conductividad hidráulica que asegure que las plantas regadas diariamente tengan buena disponibilidad de agua y no sufran estrés hídrico. El objetivo de este capítulo es estudiar los cambios fisiológicos de *P. taeda* creciendo en un sustrato con elevada conductividad hidráulica, en plantas fertilizadas con N y P y expuestas a alta y baja disponibilidad de agua. De este modo se busca evaluar si la sequía genera patrones de respuesta similares a los encontrados en respuesta a la fertilización nitrogenada en suelos pedregosos, con buena disponibilidad de agua.

Hipótesis: Las plantas fertilizadas responden de manera diferente según la disponibilidad de agua, y las respuestas observadas en las plantas con estrés por sequía se asemejarán a las observadas en las plantas fertilizadas con N que crecen en el suelo pedregoso.

3a.3 - Metodología

Condiciones experimentales

El experimento se llevó a cabo en invernáculo (INFIVE, La Plata). Se utilizaron plantas comerciales de *P. taeda* de aproximadamente de un año y medio de edad que crecieron en el invernáculo en recipientes de 30 litros, con un sustrato de alta conductividad hidráulica (mezcla 1:4 tierra:arena). Las características físico-químicas del sustrato se muestran en la Tabla 3a.1. En julio de 2009 se instalaron 4 tratamientos de fertilización que surgieron de la combinación de dos disponibilidades de N (sin o con urea, -N o +N respectivamente) y dos disponibilidades de P (sin o con SFT, -P o +P respectivamente). Se utilizaron una dosis de N (6 g de urea) y una dosis de P (12 g de SFT). Los tratamientos se denominaron: -N-P (testigo), +N-P (6 g urea), -N+P (12 g SFT) y +N+P (6 g urea y 12 g SFT). Se destinaron 12 individuos a cada tratamiento. El SFT se aplicó en

dos orificios realizados en el sustrato a 10 cm del cuello de las plantas, que posteriormente fueron tapados. La dosis de urea se aplicó en solución acuosa dividida en dos momentos durante el ensayo, la primera aplicación se realizó junto con el SFT y la segunda, en enero de 2010.

En octubre de 2009 la mitad de las plantas de cada tratamiento de fertilización se sometió a estrés por sequía. Los 8 tratamientos finales resultaron de la combinación de la fertilización (-N-P, +N-P, -N+P, +N+P) y la disponibilidad de agua (alta (A) y baja (B)), quedando establecido un diseño factorial con tres factores (N, P y disponibilidad de agua), cada uno de los cuales contó con dos niveles. El agua para el ensayo se suministró por riego con agua de red aplicado en forma manual. Antes del sometimiento a estrés las plantas se mantuvieron con buena disponibilidad de agua. A partir de la fecha de inicio del estrés, las plantas del tratamiento de baja disponibilidad hídrica se regaron con 500 ml de agua cada 10 días, mientras que las plantas con alta disponibilidad de agua se regaron cada tres días a saturación, tratando de evitar la percolación de agua para minimizar las pérdidas de nutrientes por lixiviación.

Tabla 3a.1: Características químicas y físicas del sustrato utilizado en el ensayo (tierra y arena en proporción 1:4).

Propiedades químicas	
C orgánico (%)	1,8
Nt (%)	0,02
Pe (ppm)	13,3
pH	6,5
CIC (cmol kg ⁻¹)	0,9
Propiedades físicas	
Arena (%)	73,6
Limo (%)	7,9
Arcilla (%)	18,3
Clase	Franco arenoso arcilloso
ksuelo (g s m ⁻³)	0,878

Mediciones realizadas en las plantas

Se midió el diámetro a la altura del cuello de las plantas (DAC) como estimador del crecimiento, a partir del 19 de junio de 2009 y en tres oportunidades más durante el período experimental.

Entre los meses de enero y febrero de 2010 se midió la tasa fotosintética a una densidad de flujo de fotones fotosintéticos (DFFF) baja (300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y otra saturante (1500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) con un Analizador de Intercambio de Gases por Infrarrojo (IRGA) (CIRAS2, PPSsystem). Las mediciones se realizaron en cuatro fechas, a horas cercanas al mediodía, en tres individuos por tratamiento.

Entre el 19 de enero y el 1 de marzo de 2010 se midió la expansión foliar en 3 acículas de largo inicial similar, de tres individuos por tratamiento. La expansión se registró en 7 días del período mencionado. A partir de los datos obtenidos se calculó la tasa de expansión foliar relativa para cada acícula, en cada momento de medición, según se indica en la metodología del capítulo 2b.

La conductancia estomática (gs) ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) se midió en 4 momentos del día (9, 11, 14, y 18 hs) con porómetro (SC-1, Decagon Devices Inc.) en 4 plantas por tratamiento. Las mediciones se realizaron en tres jornadas, entre el 12 de

febrero y el 3 de marzo de 2010. Se utilizó un grupo de fascículos para llenar totalmente la cámara al realizar cada medición.

El potencial hídrico de las hojas (MPa) se midió en tres momentos del día, al amanecer, al mediodía y al atardecer, con cámara de presión tipo Scholander (Biocontrol), en 4 plantas por tratamiento, los mismos días que se midió gs. Se calculó la diferencia de potencial entre las mediciones del amanecer y el mediodía ($\Delta\Psi$).

A finales de febrero de 2010, se cortaron ramas de 4 plantas por tratamiento a la mañana temprano y se colocaron en un recipiente con agua destilada, cubiertas con una bolsa de polietileno para permitir la rehidratación de los tejidos. Se determinó el componente axial de la conductividad hidráulica del xilema de las mismas (kh) ($g\ m\ MPa^{-1}\ s^{-1}$). Las mediciones se realizaron sobre la porción basal de la rama, con conductímetro multicanal (Fernández et al. 2010). La perfusión se realizó con agua bidestilada, a la cual se le extrajo el gas en campana de vacío. Se utilizó una presión de 7,8 kPa. A partir de kh , el área basal de la porción medida sin corteza (AX) (m^2) y materia seca foliar de cada individuo (g) se calcularon las conductividades hidráulicas específica (ks) y foliar específica (kl) de la rama, según se indica en la metodología del capítulo 2b.

Análisis estadístico

Los datos se analizaron utilizando el análisis de la varianza (ANOVA). Para cada fecha de medición, los datos de DAC se analizaron con un análisis de la varianza, considerando N (-N, +N) y P (-P, +P) como factores principales (ANOVA factorial) antes de que se impusiera el estrés, y N, P y disponibilidad de agua (Alta, Baja) como factores principales para los datos de las mediciones posteriores a la imposición del estrés.

La fotosíntesis neta a cada DFFF, la tasa de expansión foliar y la diferencia de potencial entre el amanecer y el mediodía ($\Delta\Psi$) fueron analizadas utilizando N, P y disponibilidad de agua como factores principales (ANOVA factorial). Para el análisis de gs y el potencial hídrico de las hojas se incorporó además como factor el momento del día en que se realizaron las mediciones. Dado que las mediciones realizadas en cada momento se llevaron a cabo en individuos elegidos al azar, se descartó el uso de un análisis de medidas repetidas en el

tiempo para analizar estas últimas dos variables, por violarse la condición de factor intra-sujeto que contempla dicho análisis (Onofri et al. 2010; Piepho et al. 2004). En el caso de encontrarse efectos significativos ($p \leq 0,05$), las medias se compararon con el test de Fisher LSD ($p < 0,05$).

3a.4 - Resultados

No se registraron diferencias en el diámetro de las plantas en las mediciones anteriores al comienzo del estrés hídrico. La baja disponibilidad de agua redujo significativamente el DAC en las mediciones posteriores al comienzo del estrés ($p < 0,001$). El N tuvo efecto significativo sólo en la última medición, las plantas +N tuvieron significativamente mayor DAC que las plantas -N ($p = 0,006$) (Figura 3a.1). No se encontró interacción entre factores para ninguna de las mediciones.

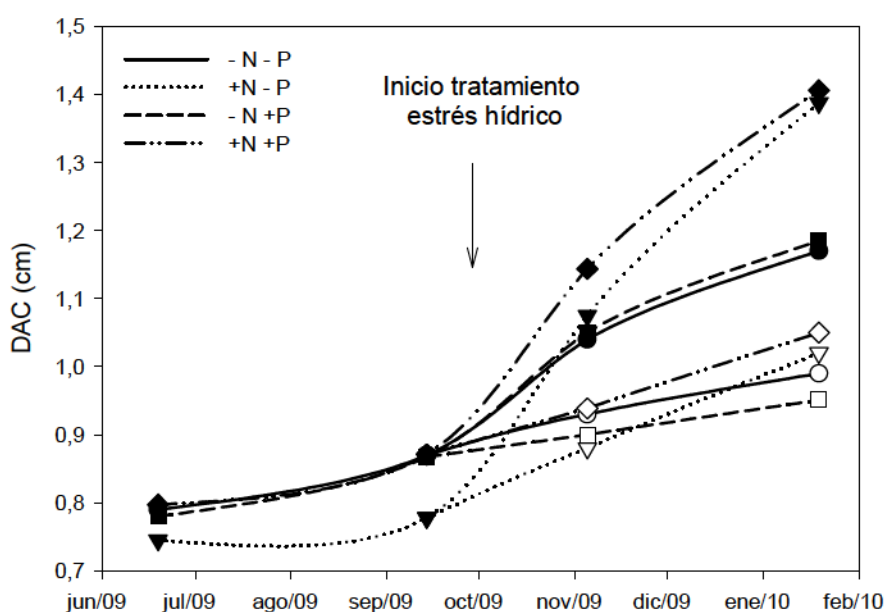


Figura 3a.1: Evolución del diámetro a la altura del cuello (DAC) en el tiempo para los diferentes tratamientos (n=48). Los símbolos llenos indican alta disponibilidad de agua y los vacíos, baja disponibilidad de agua, a partir del 1 de octubre de 2010.

La fertilización con N aumentó la fotosíntesis neta a las dos DFFF analizadas, dependiendo de la disponibilidad de agua que tuvieron las plantas (interacción N x disponibilidad de agua) (Tabla 3a.2). Las plantas con baja disponibilidad de agua tuvieron igual fotosíntesis neta a las dos DFFF analizadas. Las plantas fertilizadas con N que crecieron con buena disponibilidad de agua tuvieron significativamente mayor fotosíntesis neta que las plantas que no recibieron N, para ambas DFFF. En general, en las plantas regadas se visualiza una mayor fotosíntesis neta con respecto a las estresadas (Figura 3a.2). Las plantas estresadas, independientemente de la disponibilidad de N y de la DFFF, tuvieron una fotosíntesis neta similar a la que se registró a DFFF 300 en plantas sin estrés hídrico.

Tabla 3a.2: Valores de p para la fotosíntesis neta ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) a baja densidad de flujo de fotones fotosintéticos (DFFF) ($300 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) y DFFF saturante ($1500 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), considerando al N, al P y a la disponibilidad de agua como factores principales (ANOVA factorial).

DFFF	Factores principales			Interacciones			
	N	P	Agua (H ₂ O)	N x P	N x H ₂ O	P x H ₂ O	N x P x H ₂ O
300	0,086	0,138	0,001	0,609	0,005	0,419	0,585
1500	0,624	0,552	<0,001	0,692	0,006	0,140	0,826

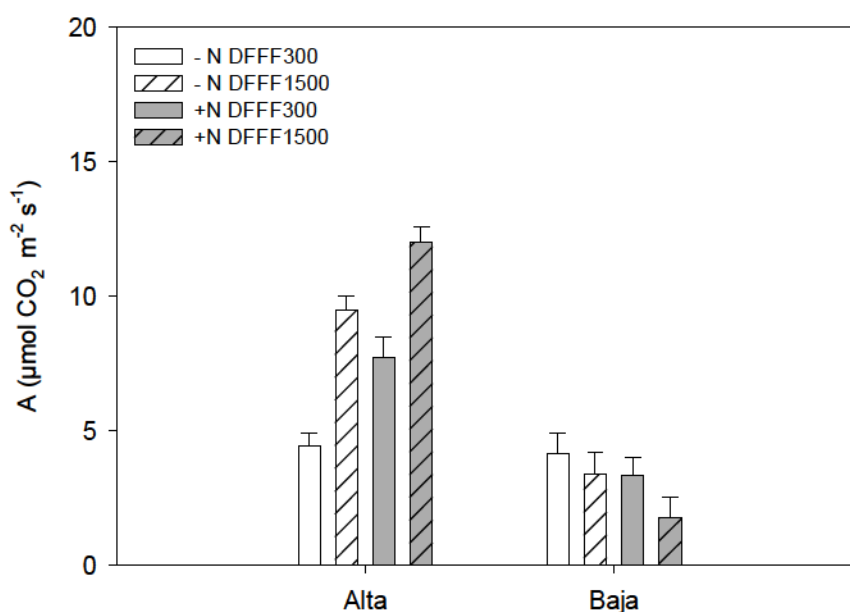


Figura 3a.2: Fotosíntesis neta (A) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) para las plantas -N y +N con alta y baja disponibilidad de agua, a densidad de flujo de fotones fotosintéticos (DFFF) baja ($300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) y saturante ($1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) ($n=90$). Las diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas entre medias para las mediciones a DFFF de 300 (barras lisas). Las diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas entre medias a DFFF 1500 (barras rayadas) (LSD $p<0,05$). Las líneas sobre las barras corresponden al error estándar de la media.

Los patrones diarios de la conductancia estomática y el potencial hídrico de las hojas, para cada tratamiento, se muestran en la Figura 3a.3 a modo descriptivo. El potencial hídrico de las hojas fue afectado significativamente por la disponibilidad de agua y el momento del día, y no hubo interacción entre factores para esta variable. El potencial de las hojas de plantas con baja disponibilidad de agua (B) fue significativamente menor al registrado con alta disponibilidad de agua (A) (A: $-0,9 \text{ MPa}$; B: $-1,7 \text{ MPa}$). El potencial de las hojas fue igual al amanecer y al atardecer, y disminuyó significativamente al mediodía (Amanecer: -1 MPa , Mediodía: $-1,5 \text{ MPa}$, Atardecer: $-1,1 \text{ MPa}$). El P no modificó este parámetro. Aunque las medias por factor no se muestran en gráficos, es posible visualizar estos efectos en la Figura 3a.3. Ninguno de los factores tuvo efecto significativo para la diferencia entre el potencial hídrico al amanecer y el mediodía ($\Delta\Psi$) (Tabla 3a.3).

Tabla 3a.3: Valores de p para la conductancia estomática (gs) y el potencial hídrico de las hojas (Ψ_{hoja}), considerando al N, al P, a la disponibilidad de agua y al momento del día como factores principales, y la diferencia entre el potencial hídrico de las hojas al amanecer y al mediodía ($\Delta\Psi$), considerando sólo a los factores N, P y disponibilidad de agua (ANOVA factorial).

Factores e interacciones	gs	Ψ_{hoja}	$\Delta\Psi$
Nitrógeno (N)	0,514	0,339	0,584
Fósforo (P)	0,092	0,909	0,292
Agua (H_2O)	<0,001	<0,001	0,307
Momento del día (M)	0,001	<0,001	
N x P	0,325	0,167	0,094
N x H_2O	<0,001	0,654	0,795
N x M	0,800	0,582	
P x H_2O	0,811	0,609	0,340
P x M	0,784	0,683	
H_2O x M	0,002	0,513	
N x P x H_2O	0,591	0,577	0,345
N x P x M	0,987	0,570	
N x H_2O x M	0,162	0,911	
P x H_2O x M	0,803	0,646	
N x P x H_2O x M	0,785	0,781	

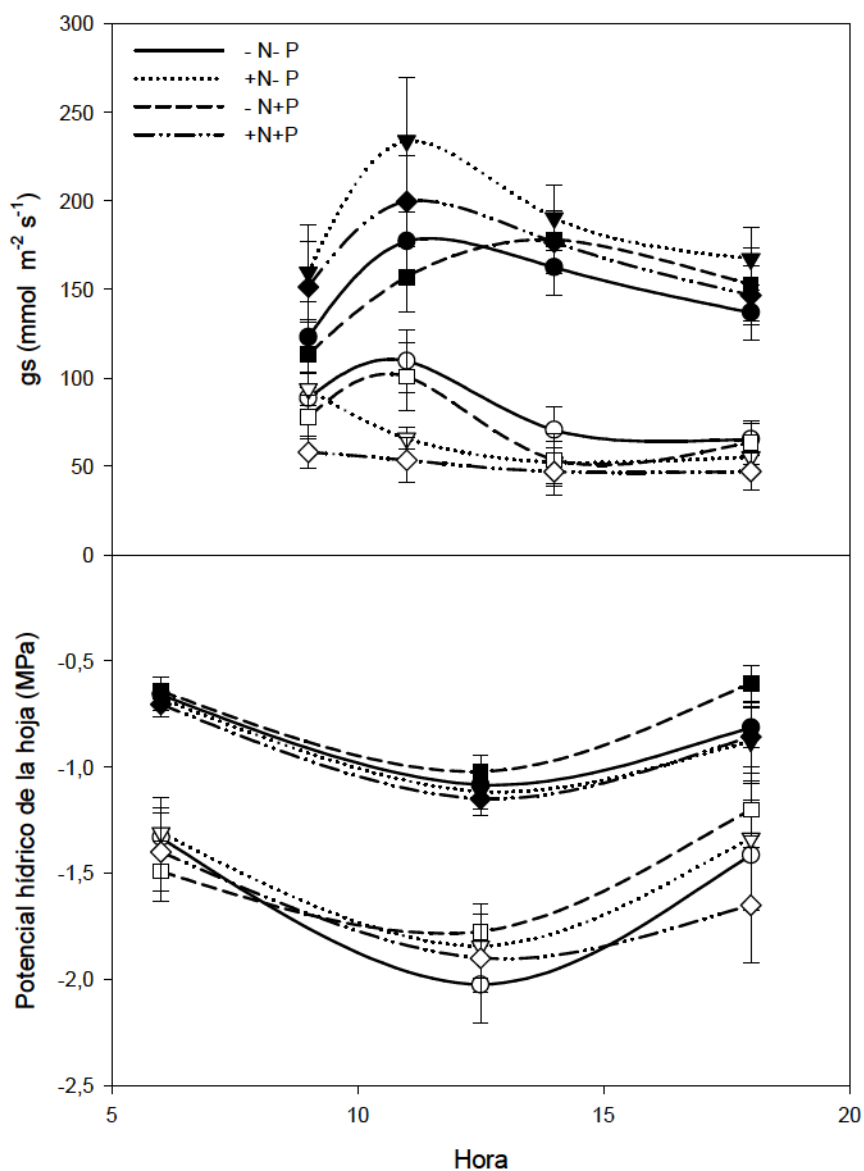


Figura 3a.3: Patrones diarios de la conductancia estomática (gs) ($n=384$) y el potencial hídrico de las hojas (MPa) ($n=288$), para los diferentes tratamientos. Los símbolos llenos indican alta disponibilidad de agua y los vacíos, baja disponibilidad de agua. Las barras sobre las líneas corresponden al error estándar de la media.

La conductancia estomática varió significativamente con la disponibilidad de N y el momento del día, dependiendo de la disponibilidad de agua (interacciones N x disponibilidad de agua, y momento del día x disponibilidad de agua). El P no modificó este parámetro (Tabla 3a.3). Entre las plantas con buena disponibilidad de agua, las fertilizadas con N tuvieron mayor gs diaria que las

que no recibieron N. En las plantas con baja disponibilidad de agua el comportamiento fue inverso: las fertilizadas con N tuvieron significativamente menor gs. Por otro lado, las plantas con buena disponibilidad de agua tuvieron significativamente mayor gs que las estresadas en todos los momentos del día. Además, las plantas con buena disponibilidad de agua aumentaron gs en las mediciones del mediodía con respecto a las 9 horas, mientras que en las estresadas las diferencias entre momentos de medición son menores (Figura 3a.4).

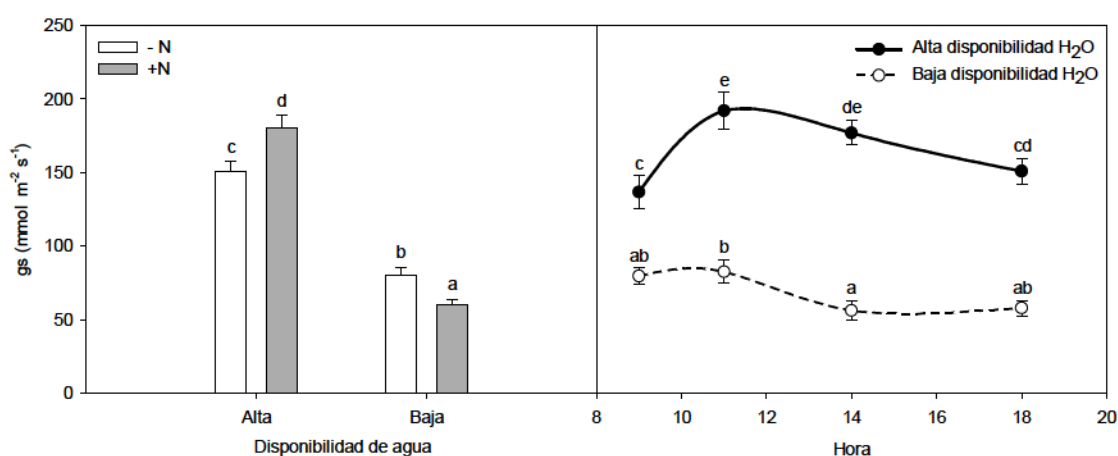


Figura 3a.4: Conductancia estomática media para las plantas -N y +N, con alta y baja disponibilidad de agua (panel izquierdo), y para todos los tratamientos de fertilización juntos en las diferentes horas de medición, con alta y baja disponibilidad de agua (panel derecho) (n=384). Las diferentes letras indican diferencias significativas entre medias para cada panel (LSD $p < 0,05$). Las líneas sobre las barras y los símbolos corresponden al error estándar de la media.

La tasa de expansión foliar aumentó significativamente con la disponibilidad de N y de agua, y no se encontró interacción entre factores (Tabla 3a.4 y Figura 3a.5). El P no modificó este parámetro.

Tabla 3a.4: Valores de p para la tasa relativa de expansión foliar (TEFR) ($\text{cm cm}^{-1} \text{ día}^{-1}$), considerando al N, el P y a la disponibilidad de agua como factores principales (ANOVA factorial).

Factores principales			Interacciones			
N	P	Agua (H_2O)	N x P	N x H_2O	P x H_2O	N x P x H_2O
0,005	0,123	<0,001	0,380	0,530	0,778	0,748

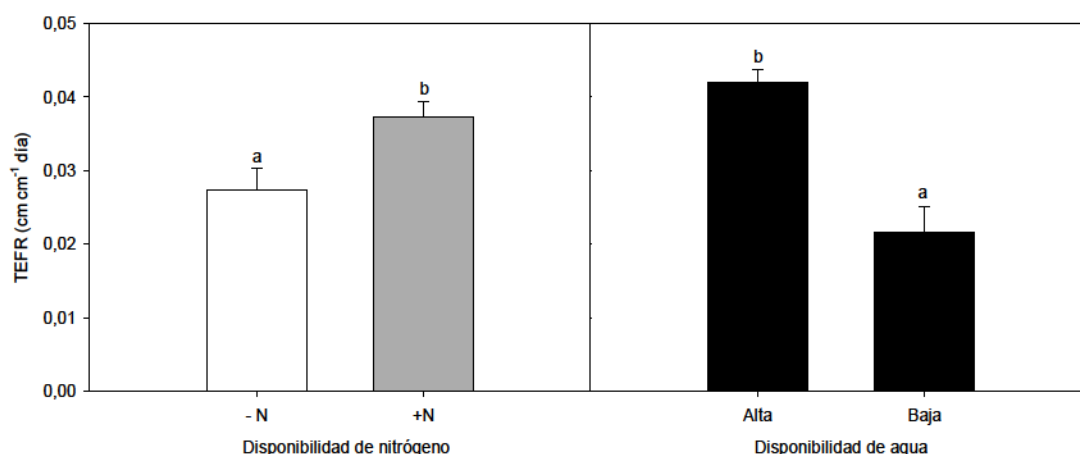


Figura 3a.5: Tasa relativa de expansión foliar (TEFR) para las plantas -N y +N (panel izquierdo), y para las plantas con alta y baja disponibilidad de agua (panel derecho) (n=432). Las diferentes letras indican diferencias significativas entre medias para cada panel (LSD $p < 0,05$). Las líneas sobre las barras corresponden al error estándar de la media.

Las conductividades hidráulicas de la rama (k_h , k_s y k_l) estuvieron afectadas por la disponibilidad de agua (Tabla 3a.5). Las plantas con baja disponibilidad de agua tuvieron significativamente menor k_h y k_l que las que tuvieron alta disponibilidad de agua (k_h : alta disponibilidad de agua: $0,0078 \text{ g m MPa}^{-1} \text{ s}^{-1}$, baja disponibilidad de agua: $0,0026 \text{ g m MPa}^{-1} \text{ s}^{-1}$, k_l alta disponibilidad de agua: $0,0031 \text{ g m MPa}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ g}^{-1}$, baja disponibilidad de agua: $0,0020 \text{ g m MPa}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ g}^{-1}$). Estas medias no se muestran en gráficos. La disponibilidad de agua modificó k_s dependiendo de la fertilización con N (interacción N x disponibilidad de agua). Mientras que en las plantas con alta disponibilidad de agua no hubo diferencias entre las que fueron fertilizadas o no con N, en las

plantas bajo sequía, las que recibieron N tuvieron menos ks que las demás (Figura 3a.6). El P no modificó estas variables.

Tabla 3a.5: Valores de p para la conductividad hidráulica (kh) ($\text{g m MPa}^{-1} \text{s}^{-1}$), la conductividad hidráulica específica (ks) ($\text{g MPa}^{-1} \text{s}^{-1} \text{m}^{-2}$) y la conductividad hidráulica foliar específica (kl) ($\text{g m MPa}^{-1} \text{s}^{-1} \text{g}^{-1}$) del leño de la rama, considerando al N, al P y a la disponibilidad de agua como factores principales (ANOVA factorial).

	Factores principales			Interacciones			
	N	P	Agua (H_2O)	N x P	N x H_2O	P x H_2O	N x P x H_2O
kh	0,675	0,973	< 0,001	0,310	0,723	0,285	0,869
ks	0,019	0,318	< 0,001	0,666	0,043	0,538	0,728
kl	0,221	0,859	< 0,001	0,496	0,209	0,582	0,248

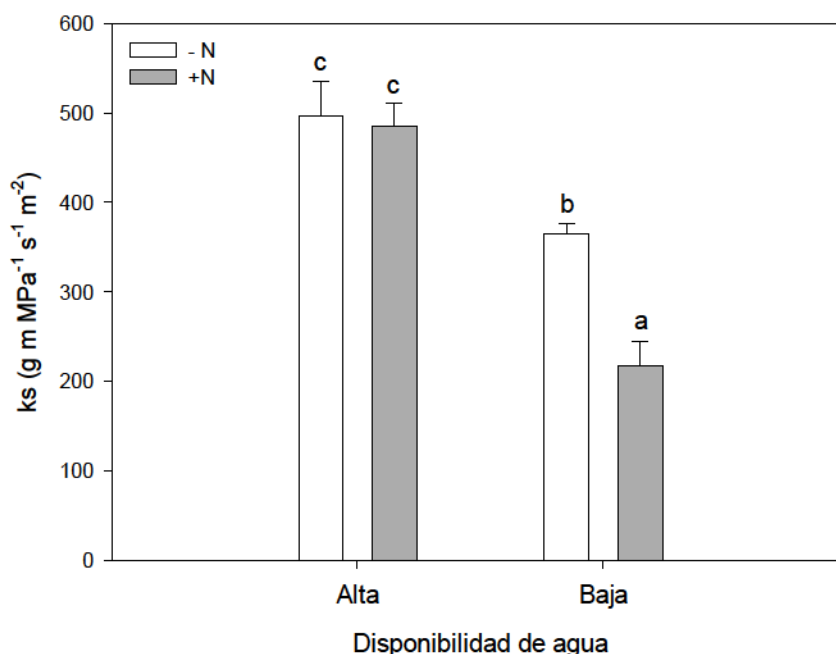


Figura 3a.6: Conductividad hidráulica específica (ks) de la rama, para las plantas -N y +N con alta y baja disponibilidad de agua (n=32). Las diferentes letras indican diferencias significativas entre medias (LSD $p < 0,05$). Las líneas sobre las barras corresponden al error estándar de la media.

3a.5 - Discusión

Efecto de la fertilización y la sequía en el intercambio de gases

La fertilización con N aumentó la tasa fotosintética de las plantas con buena disponibilidad de agua. Este resultado evidencia que, en este sustrato y a diferencia del suelo pedregoso, las plantas tienen limitación de N para la fotosíntesis. Sin embargo, en condiciones de sequía, la fertilización con N no redundó en mayor tasa de fotosíntesis, posiblemente porque las limitaciones hídricas son mayores que la deficiencia de N. Las plantas con baja disponibilidad de agua tuvieron baja tasa de fotosíntesis a alta y baja irradiancia, independientemente de la disponibilidad N, la cual fue equiparable a la tasa de fotosíntesis que realizó una planta sin fertilizar con buena disponibilidad de agua a una DFFF de $300 \mu\text{moles de fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Por lo tanto, las plantas con baja disponibilidad de agua, tuvieron una tasa fotosintética baja durante todo el día, comparable a la que realizan las plantas sin fertilizar y con buena disponibilidad de agua en las horas de menor disponibilidad de luz (Figura 3a.2).

El estrés por sequía indujo el cierre estomático parcial. Las plantas con baja disponibilidad de agua tuvieron una g_s baja y similar a lo largo del día, con un pequeño incremento a las 11 horas. La g_s de las plantas con alta disponibilidad de agua tuvo valores altos que se mantuvieron entre las 11 y las 14 horas, pero en general fue mayor en todos los momentos de medición comparada con la de las plantas con baja disponibilidad de agua (Figura 3a.4).

La conductancia estomática media diaria aumentó en las plantas fertilizadas con N con buena disponibilidad de agua (Figura 3a.4). Este aumento puede estar relacionado con la función de la transpiración de movilizar iones de la solución del suelo hacia la rizósfera en suelos con baja disponibilidad de nutrientes pero sin restricciones hidráulicas. La mezcla de suelo utilizada tiene una conductividad hidráulica a saturación (K_{suelo}) diez veces superior a la que posee el suelo pedregoso (Tablas 3a.1 y 2b.1). En las plantas con baja disponibilidad de agua, la g_s media diaria disminuyó con la presencia de N, similar a lo observado en el suelo pedregoso de baja conductividad hidráulica (Capítulo 2b). Posiblemente, cuando el suelo está seco, como la conductividad

del mismo disminuye, el aumento en gs no traería aparejado mayor disponibilidad de nutrientes en la rizósfera, y en consecuencia en la planta se desencadenan señales que redundan en una estrategia más conservativa del agua, según se analizará en el apartado siguiente.

Estos resultados concuerdan con los hallados en las plantas de *P. taeda* creciendo en arena y con buena disponibilidad de agua, en los que la tasa fotosintética aumentó con el aumento de la disponibilidad de N, aunque en ese caso no hubo aumentos en gs relacionados a la mayor disponibilidad de agua (Green y Mitchell 1992). En el mismo ensayo, la tasa fotosintética disminuyó en las plantas a medida que se redujo la disponibilidad de agua, pero la disponibilidad de N no tuvo efecto en esta respuesta (Green y Mitchell 1992). Estos autores concluyen que la adición de N no afectaría el mejor estado hídrico de las plantas bajo situaciones de sequía, como se reporta en otros estudios con coníferas (Linder et al. 1987; Myers 1988).

Efectos de la fertilización y la sequía en el potencial hídrico y la conductividad hidráulica

No se observó influencias de la fertilización sobre el potencial hídrico de las acículas, el cual disminuyó significativamente en las plantas con baja disponibilidad de agua, en todos los momentos de medición. Independientemente de la disponibilidad de agua, el potencial hídrico de las acículas fue menor al mediodía (Figura 3a.3) y no se encontraron diferencias en la caída de potencial entre el amanecer y el mediodía. Esto demuestra un comportamiento isohidrodinámico de todos los tratamientos, es decir, que los cambios encontrados en los potenciales al amanecer y al mediodía respondieron a la disponibilidad de agua en el suelo, pero la diferencia entre estos dos potenciales se mantuvo constante (Franks et al. 2007; Gonzalez-Benecke y Martin 2009) (Tabla 3a.3).

La mayor tasa de expansión foliar en las plantas con buena disponibilidad de agua (Figura 3a.5) puede relacionarse con la mayor turgencia celular debido al buen estado de hidratación de los tejidos (Figura 3a.3), que a la vez está acompañada de una elevada disponibilidad de fotoasimilados, derivados de altas tasas fotosintéticas (Figura 3a.2) y una elevada conductancia estomática

(Figura 3a.4). Entre las plantas con baja disponibilidad de agua, las fertilizadas con N tuvieron una mayor tasa de expansión foliar que las demás (Figura 3a.5), esto coincide con lo observado en el suelo pedregoso (Capítulo 2b). Dado que la fotosíntesis neta no varió con la fertilización en condiciones de baja disponibilidad de agua (Figura 3a.2), seguramente la mayor tasa de expansión foliar se relacione, en este caso, con una mayor estabilidad en el contenido hídrico de las células de los tejidos en expansión como consecuencia del cierre estomático parcial (Figura 3a.4).

La conductividad hidráulica específica del xilema (k_s) de las ramas disminuyó significativamente con la baja disponibilidad de agua (Figura 3a.6). Como estas mediciones se realizaron sin remover los embolismos, este resultado puede reflejar cambios anatómicos y/o embolismos permanentes como consecuencia del estrés hídrico. La fertilización con N con baja disponibilidad de agua redujo aún más k_s (Figura 3 a.6). Posiblemente esta reducción en la capacidad de conducir agua de las ramas sea la causa de la reducción en g_s observada en estas plantas (Figura 3 a. 4) que, en consecuencia, mantienen similar potencial hídrico y mayor tasa de expansión foliar que las plantas no fertilizadas.

Efectos de la fertilización y la sequía en el crecimiento

La baja disponibilidad de agua tuvo un marcado efecto en el crecimiento de las plantas y en las variables fisiológicas analizadas (Figura 3a.1). En cuanto a la fertilización, la adición de P no tuvo efectos significativos en el crecimiento (Figura 3a.1) ni la fisiología. La adición de N modificó la fisiología, en algunos casos interactuando con la disponibilidad de agua, y mejoró el crecimiento en DAC de las plantas (Figura 3a.1). Seguramente estas respuestas se relacionen con que el sustrato utilizado tiene un alto contenido de P en relación al contenido de N (Tabla 3a.1). Las respuestas encontradas en crecimiento en este ensayo son similares a las reportadas en múltiples ocasiones para la especie en sitios con suelos de textura gruesa y escasa disponibilidad de nutrientes (Albaugh et al. 2008; Albaugh et al. 2004; Samuelson et al. 2008b). Sin embargo, la respuesta al P suele ser mayor dado que los sitios son limitantes en este nutriente a diferencia del sustrato utilizado en este ensayo.

Bajo estas condiciones experimentales, no se observó efecto depresivo del N en el crecimiento. Por un lado, la alta tasa fotosintética (Figura 3a.2) y la mayor conductancia estomática (Figura 3a. 4) de las plantas con buena disponibilidad de agua y N permitieron un mayor crecimiento en DAC. En este caso, la mayor expansión foliar (Figura 3a.5) seguramente se relacione con una mayor disponibilidad de fotoasimilados y la elevada conductividad hidráulica del suelo y del xilema que permiten abastecer de agua a las hojas y compensar las pérdidas por transpiración.

Por otro lado, las modificaciones hidráulicas en las plantas expuestas a baja disponibilidad de agua y fertilizadas con N permitieron que el crecimiento sea mayor con respecto a las no fertilizadas con este nutriente. Las disminuciones observadas en k_s de las plantas bajo sequía (Figura 3a.6), en el caso de las plantas fertilizadas con N, fue parcialmente compensado con la reducción de g_s (Figura 3a.4). Este cierre estomático parcial permitió mantener una tasa de expansión foliar mayor a la de las plantas no fertilizadas con N (Figura 3a.4). Estos cambios son parte de la respuesta integral del individuo que permiten equilibrar su sistema hidráulico con la baja conductividad hidráulica del sustrato cuando los potenciales disminuyen (Hacke et al. 2000).

Las modificaciones hidráulicas encontradas en las plantas estresadas y fertilizadas con N son similares a las halladas en las plantas fertilizadas con N que crecieron en suelo pedregoso (Capítulo 2b). La disminución de la conductividad del xilema y la menor conductancia estomática en estas plantas son respuestas relacionadas a un bajo abastecimiento de agua a la parte aérea de la planta. Los resultados de este capítulo indican una tendencia a un patrón isohídrico de las plantas fertilizadas con N ante la falta de agua, a partir de mecanismos de ajuste en la arquitectura hidráulica, al igual que lo encontrado por Ewers et al. (2000) en plantas fertilizadas y sin riego en un experimento a campo, ubicado en un sitio con suelo arenoso y con baja fertilidad.

3a.6 - Conclusiones

A partir de los resultados obtenidos se puede concluir que el efecto depresivo de la fertilización con N no se manifiesta en este sustrato de textura gruesa y con bajo contenido de este nutriente. Se observó una respuesta favorable en crecimiento a la fertilización con N, mientras que la adición de P no afectó el crecimiento ni la arquitectura hidráulica, dado que seguramente no fue limitante para las plantas en este sistema.

Algunas respuestas fisiológicas encontradas en las plantas fertilizadas con N y baja disponibilidad de agua son similares a las halladas en las plantas fertilizadas con N creciendo sobre suelo pedregoso de Capítulo 2.b, por lo cual se deduce que las plantas fertilizadas con N en el suelo pedregoso, aún en buenas condiciones de disponibilidad hídrica, desarrollan cambios fisiológicos y en partición de materia seca en respuesta a la fertilización que modifican el sistema hidráulico de la planta de manera análoga a lo producido bajo estrés por sequía en un suelo con elevada conductividad hidráulica.

Capítulo 3b

Fertilización dispersa y localizada: modificaciones de la arquitectura hidráulica

Fertilización dispersa y localizada: modificaciones de la arquitectura hidráulica

3b.1 - Resumen

La disposición espacial del fertilizante, además de la dosis aplicada, puede generar cambios en las respuestas morfológicas y fisiológicas. El objetivo de este capítulo fue conocer si el sistema radical de *P. taeda* tiene capacidad de responder a parches ricos en nutrientes, tanto a nivel de raíz, como en la capacidad de conducir agua de la planta entera. Se evaluó el crecimiento y el consumo y la capacidad de conducir agua de plantas fertilizadas con N o con P, con respecto a plantas sin fertilizar, que crecieron en contenedores con un sistema de raíces divididas. Se utilizó un sustrato de escasa fertilidad y alta conductividad hidráulica. La aplicación de la dosis de fertilizante se realizó, dependiendo del tratamiento, mezclado en los dos compartimentos de la maceta (aplicación dispersa), o localizado en un solo compartimento (aplicación localizada). La dosis de fertilizante fue la misma en ambos tratamientos, independientemente de la forma de aplicación.

La distribución espacial del fertilizante no tuvo influencia en el crecimiento. La fertilización con P aumentó todos los compartimentos de materia seca con respecto al testigo, mientras que el N incrementó la materia seca de hojas. La fertilización modificó significativamente el área foliar específica (AFE). Por otro lado, la fertilización con N modificó la relación entre la materia seca de hojas y la de raíces finas. La fertilización con P aumentó el área foliar de los individuos. Este cambio se relacionó a un aumento en la conductancia hidráulica del vástago que derivó en un aumento de la conductancia a nivel individuo. La fertilización con N no produjo cambios significativos en el área foliar por individuo, sin embargo generó una reducción proporcional de la masa de raíces absorbentes en relación a la masa de hojas, que se relacionó con un aumento de la conductancia hidráulica de la raíz. Las modificaciones de las características hidráulicas de las plantas fertilizadas no implicaron un aumento en el consumo de agua relativo a la materia seca de los individuos, es decir que las plantas consumieron proporcionalmente la misma cantidad de agua.

3b.2 - Introducción

La elección del modo de aplicación de los fertilizantes a campo depende en gran medida de los costos y de la efectividad de la práctica. Dentro de la gran gama de formas existentes para aplicar fertilizantes, podemos diferenciar a las aplicaciones superficiales y dispersas sobre el suelo de las aplicaciones localizadas y en profundidad. En general, en Argentina la aplicación de fertilizantes durante el establecimiento de la plantación, en caso de realizarse, se efectúa en forma manual y de manera localizada en cada árbol, en orificios al costado del cuello de la planta que luego son tapados con tierra. Este tipo de aplicación minimiza el contacto entre el fertilizante y el suelo, reduciendo de esta manera la inmovilización del mismo (Fernández et al. 2000a). A la vez, implica que un sector del sistema radical está expuesto a una dosis muy elevada del nutriente aplicado, mientras que otro sector está a concentraciones sensiblemente menores. La exposición del sistema radical de plantas que crecen en sustratos de baja fertilidad a parches ricos en un nutriente en particular, como ocurre en el caso de la fertilización localizada, puede generar por un lado, una mayor proliferación de raíces en el parche que permitiría tomar el nutriente. Por otro lado, el aumento de la exploración radical fuera del parche permitiría adquirir el resto de los nutrientes que son limitantes. El balance entre estas dos respuestas modulan la morfología del sistema radical (Graciano et al. 2009). La aplicación del fertilizante de manera dispersa, es decir, distribuido en el suelo alrededor de la planta, aumenta la concentración en la rizósfera del nutriente aplicado, y todo el sistema radical está expuesto a una dosis intermedia entre la que se encuentra en el suelo no fertilizado, y la concentración en el sector del suelo en que se aplica el fertilizante localizado. Por lo tanto, es probable que la respuesta de la planta sea diferente a la que se evidencia con la fertilización localizada. Posiblemente, se producirá un crecimiento de las raíces más parejo en todo el volumen de suelo, y no se producirán las típicas respuestas a los parches ricos en nutrientes (Hodge 2006).

En el marco de la teoría que postula que una de las funciones de la corriente transpiratoria es movilizar nutrientes por flujo masal desde el suelo a la rizósfera, la existencia de un parche rico en nutrientes puede aumentar la

conductividad hidráulica de las raíces de ese sector (Gloser et al. 2009; Gorska et al. 2010; Gorska et al. 2008a; Gorska et al. 2008b). El cambio en la capacidad conductiva de las raíces podría desencadenar modificaciones en la capacidad conductiva del vástago, ya que es necesaria una coordinación entre los distintos órganos que componen la planta. Por lo tanto, la disponibilidad de nutrientes en el suelo puede tener implicancia en la transpiración de las plantas y modificar la eficiencia en el uso del agua (Cramer et al. 2009).

El objetivo de este capítulo fue conocer si el sistema radical de *P. taeda* tiene capacidad de detectar parches ricos en nutrientes y generar respuestas a estos parches, tanto a nivel de raíz, como en la capacidad de conducir agua de la planta entera.

Hipótesis: Las plantas responden a la mayor disponibilidad de nutrientes aumentando su crecimiento, pero la distribución espacial del fertilizante desencadenará cambios en la conductividad hidráulica de los tejidos, y consecuentemente la arquitectura hidráulica de las plantas será diferente según el modo de aplicación del fertilizante.

3b.3 - Metodología

Condiciones de crecimiento

El ensayo se instaló a principios de septiembre de 2011 en el invernáculo del INFIVE, La Plata, Buenos Aires. Se utilizaron 70 contenedores de 1,7 litros. Los contenedores estaban formados por dos compartimentos iguales para disponer el sistema radical dividido en dos mitades (Figura 3b.2). Uno de los compartimentos se denominó "lateral" (CL) y el otro "principal" (CP). En el compartimento "lateral" se ubicó sólo raíz fina lateral y en el denominado "principal" se dispuso la raíz pivotante (Figura 3b.1). El sustrato fue una mezcla 2:1 de arena y suelo pedregoso. Se trabajó con plantas de 4 meses de edad obtenidas a partir de semillas de la familia M20 (PMG INTA Montecarlo) (ver información detallada de la familia en Capítulo 4). A mediados de septiembre de 2011 se realizó el trasplante. Los fertilizantes se colocaron al momento de ubicar las plantas en los contenedores. Las plantas fueron fertilizadas con N o

con P, con dos modos de aplicación, y se dejó un testigo sin fertilizar. Los tratamientos fueron: P con aplicación dispersa (PD), P con aplicación localizada (PL), N con aplicación dispersa (ND), N con aplicación localizada (NL) y testigo sin fertilizar (T). En los tratamiento L y D la dosis aplicada fue la misma, pero en el tratamiento L el fertilizante se aplicó sólo en una mitad del sistema de raíces divididas, mientras que en el tratamiento D la misma dosis se mezcló con el suelo que se utilizó para rellenar las dos mitades del contenedor. En los tratamientos con aplicación localizada, el fertilizante se colocó sólo en el compartimento "lateral", es decir, el que no contenía la raíz pivotante, según se indica en la Figura 3b.1. Se destinaron 14 plantas a cada tratamiento. A las plantas fertilizadas con N se les aplicó 1 g de urea granulada (46-0-0), y a las fertilizadas con P, 3 g de superfosfato triple de calcio (SFT) (0-96-0).

Las plantas fueron regadas periódicamente dependiendo de la humedad observada en la maceta, con cantidad de agua suficiente para humedecer todo el sustrato. En cada momento de riego, todas las plantas recibieron la misma cantidad de agua. El ensayo culminó a mediados de febrero de 2012, tuvo una duración de cinco meses y medio.

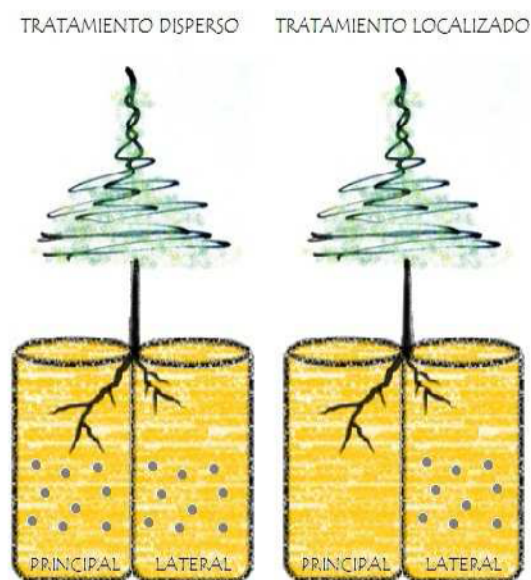


Figura 3b.1: Esquema de la forma de aplicación de los fertilizantes en los contenedores.



Figura 3b.2: Vista de los individuos al momento de la instalación (foto a la izquierda y central) y finalización del ensayo (foto a la derecha).

Medición de consumo de agua

A mediados de enero, se estimó el consumo de agua diario para cada individuo por diferencia gravimétrica. Todos los contenedores se cubrieron con una capa de bolitas de poliestireno expandido de 2 cm de espesor para evitar la evaporación de agua desde el suelo. Además, se registró la pérdida de agua por evaporación en dos contenedores con el mismo sustrato pero sin planta para corregir el consumo por las pérdidas de agua por evaporación directa. Las macetas se regaron a saturación y a la mañana siguiente se pesaron con una precisión de 0,01 g. Cuatro días después se repitió la operación.

Mediciones de conductancias y conductividades hidráulicas

Para evaluar si la fertilización y la forma de aplicación de los fertilizantes produjo modificaciones en las características hidráulicas de las plantas se midió la conductancia hidráulica del vástago (K_v), de la raíz (K_r) y de la planta (K_p), y las conductividades hidráulica (k_h), específica (k_s) y foliar específica (k_l) del tallo en 6 individuos por tratamiento.

Las plantas fueron regadas en abundancia la noche anterior a la medición. Por la mañana se descalzaron, cuidando que el sistema radical quede intacto, y se cortó bajo agua la parte aérea por encima del cuello. La conductividad hidráulica (k_h ; $\text{g m MPa}^{-1} \text{ s}^{-1}$) del tallo y la resistencia hidráulica del vástago (R_v ; MPa s g^{-1}) se determinaron con el método de flujo estacionario a baja presión

(SSFm), el cual utiliza la caída de presión a través de un tubo de resistencia conocida para medir la velocidad de flujo en el segmento de tallo o vástago, junto con la presión en la conexión del vástago (Brodrribb y Feild 2000; Zwieniecki et al. 2000) (Figura 3b.3). La perfusión se realizó con agua bidestilada, a la cual se le extrajo el gas en campana de vacío. Se utilizó una presión de 4,5 kPa. La resistencia hidráulica del vástago se midió cuando el flujo estuvo estable. Luego de la medición de R_v , se cortó la porción terminal con hojas de la planta y se procedió a la medición de la conductividad (kh) de la porción basal del tallo (aproximadamente 5 cm de largo).

A partir de R se calculó su inversa, la conductancia hidráulica del vástago (K_v):

$$K_v \text{ (g MPa}^{-1} \text{ s}^{-1}) = 1/R_v$$

La conductividad hidráulica específica (k_s ; g MPa⁻¹ s⁻¹ m⁻¹) y la conductividad hidráulica foliar específica (k_l ; g MPa⁻¹ s⁻¹ m⁻¹) se calcularon a partir de kh y el área transversal del tallo o el área foliar soportada por el tallo, respectivamente. La conductancia del sistema radical (K_r ; g MPa⁻¹ s⁻¹) se midió mediante presurización en cámara de presión de Scholander. El sistema radical se introdujo en un recipiente con agua y el conjunto se introdujo en la cámara de presión. El cuello de la planta quedó expuesto al exterior a través del tapón. La cámara se presurizó a una presión constante, suficiente para que se visualice la salida de líquido por el extremo cortado (aproximadamente 0,5 MPa). Durante una cantidad de tiempo medida (1 o 2 minutos) se recolectó el agua que salía por el extremo de la raíz con un hisopo de algodón previamente pesado. Para determinar la cantidad de agua recolectada se calculó la diferencia entre el peso húmedo y seco del hisopo, el cual se pesó con una precisión de 0,001 g. Se minimizó la pérdida de líquido por evaporación, manteniendo el hisopo dentro de un tubo tipo Eppendorf en cada pesaje y durante la recolección. Con la cantidad de agua calculada gravimétricamente y el tiempo se calculó el flujo total (F ; g s⁻¹). A partir del F y el gradiente de potencial de presión entre la cámara y la atmósfera (ΔP ; MPa) se calculó K_r :

$$K_r \text{ (g MPa}^{-1} \text{ s}^{-1}) = F / \Delta P$$