

# EFECTOS DE LA DISPONIBILIDAD DE AGUA Y NUTRIENTES EN EL PATRÓN DE ACUMULACIÓN DE CARBOHIDRATOS EN PLÁNTULAS DE TRES ESPECIES DE *QUERCUS*

Virginia Sanz Pérez<sup>1</sup>, Pilar Castro Díez<sup>1</sup> y Fernando Valladares<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ecología. Universidad de Alcalá. Alcalá de Henares 28871-MADRID (España). Correo electrónico: virginia.sanz@uah.es.

<sup>2</sup>Centro de Ciencias Medioambientales. CSIC. Serrano 115. 28006-MADRID (España)

## Resumen

Se pretende estimar el efecto de un eventual cambio climático y edáfico sobre el patrón de almacenamiento de carbohidratos en plántulas de un año de tres especies leñosas mediterráneas del género *Quercus*. Para ello se han cultivado las plántulas bajo tres condiciones contrastadas de fertilidad y tres de riego, experimento no factorial, durante una estación de crecimiento. Se espera que en los medios menos fértiles se acumule carbono en forma de reservas debido a la limitación en el crecimiento por falta de nutrientes. Asimismo, en condiciones de riego bajo, aumente la concentración de glucosa para contribuir al ajuste osmótico de las hojas. Por último, esperamos que *Q. faginea*, la especie de crecimiento más rápido, invierta mayor cantidad de carbono en crecimiento y por tanto acumule menos almidón. Las concentraciones de almidón en raíz y tallo de *Q. ilex* y *Q. coccifera* fue inversamente proporcional al nivel de fertilización. La concentración de glucosa foliar mostró mayores concentraciones en las plántulas que experimentaron déficit hídrico. La especie que más carbohidratos almacenó fue *Q. faginea*. Nuestro estudio sugiere, que el efecto de un incremento de aridez sobre el almacenamiento de carbohidratos depende, no sólo de la especie, sino también de la fertilidad del suelo sobre el que se asiente.

Palabras clave: Carbohidratos, Reservas, *Quercus coccifera*, *Quercus ilex*, *Quercus faginea*, Estrés hídrico, Fertilización, Nitrógeno, Glucosa, Almidón

## INTRODUCCIÓN

El reparto de carbono asimilado por fotosíntesis puede seguir distintas vías de destino: crecimiento (TOGNETTI *et al.*, 1998), respiración, metabolismo secundario y formación de reservas (HERMS & MATTSON, 1992).

Las reservas de carbohidratos pueden conferir una mayor capacidad competitiva o de supervivencia en situaciones de estrés hídrico (CHAPIN III *et al.*, 1990; RUNION *et al.*, 1999),

tras perturbaciones que reduzcan la porción asimiladora, en periodos con baja intensidad lumínica y en zonas con frecuentes heladas (BHATT & KNOWLER, 1992; FRANKOW-LINDBERG, 2001). Por tanto, el conocimiento del patrón de asignación de carbono a reservas y de los factores que le afectan, puede ser muy importante para prever cómo las plantas van a responder a cambios ambientales (MOONEY, 1972).

Entre los cambios ambientales, modificaciones en el régimen hídrico y en la disponibilidad

de nutrientes pueden ser cruciales para la supervivencia de las plantas en los bosques mediterráneos, ya que son los principales factores que limitan el crecimiento vegetativo (VAITKUS & MCLEOD, 1995). Actualmente, y dentro del cambio global, se predice, para nuestras latitudes, un incremento de la aridez estival y de la deposición de nutrientes (SALA et al., 2000).

El objetivo de este trabajo es estudiar cómo un aumento de la aridez y de la fertilización del suelo puede modificar el patrón de reserva de carbohidratos en plantas de un año de tres especies leñosas mediterráneas. Para ello se han escogido tres especies de *Quercus* frecuentes en los bosques mediterráneos, que difieren en longevidad foliar, la encina (*Quercus ilex* subsp. *ballota*) y la coscoja (*Q. coccifera*) son perennifolias y el quejigo (*Q. faginea* subsp. *faginea*) caducifolio o marcescente. Estas especies habitan en ambientes con distinta disponibilidad hídrica: la coscoja ocupa los suelos más secos y el quejigo los más húmedos (BLANCO CASTRO, 1997).

Se han cultivado las plántulas bajo tres condiciones contrastadas de fertilidad y tres de riego, durante una estación de crecimiento. Las hipótesis planteadas son: 1) En los medios menos fértiles el crecimiento estará limitado por nutrientes, dando lugar a un excedente de carbono, que será acumulado en forma de almidón en los tejidos de las plántulas. 2) En condiciones de riego bajo, la acumulación de almidón se verá limitada por la reducción de fotosíntesis impuesta por el cierre estomático y por una mayor tasa de hidrólisis de almidón para producir glucosa, que puede contribuir a un ajuste osmótico en las hojas. 3) El quejigo invertirá mayor proporción de carbono en crecimiento en detrimento de las reservas para conseguir una tasa de crecimiento mayor que sus congéneres perennifolios.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Semillas de las especies seleccionadas, procedentes de la Alcarria (Guadalajara) y de la Serranía de Cuenca, se pusieron a germinar durante el invierno de 2002 en bandejas de plástico con alveolos de 300 cc con un sustrato compuesto por turba rubia tipo “*Sphagnum*” (ph = 4) sin fertilizar y vermiculita (50-50 volumen). Se

dispusieron 200 individuos por especie y tratamiento, divididos en 4 réplicas de 50 individuos (una bandeja forestal). Las plantas se mantuvieron en el exterior, en los viveros de la empresa TRAGSA en San Fernando de Henares (Madrid). Al finalizar la primavera, dieron comienzo los tratamientos, que se mantuvieron durante todo el verano y principios del otoño de 2002. El riego se realizó de forma automática mediante carros, y los distintos tratamientos se obtuvieron ajustando el número de pasadas del carro y la frecuencia de riego. La disponibilidad de agua para las plantas en cada tratamiento se monitorizó regularmente mediante pesada de las bandejas, obteniéndose tres niveles contrastados de disponibilidad hídrica: baja, media y alta, correspondientes a 30-42, 50-66 y 60-75% de capacidad de campo respectivamente. Su fertilización se correspondió con el tratamiento medio del experimento siguiente. Los tratamientos de fertilización se obtuvieron aplicando manualmente distintas dosis de fertilizante Peters de crecimiento (N:P:K, 20:7:19), disuelto en agua de forma que se obtuvieron tres niveles de fertilización: baja, media y alta, correspondientes con dosis totales de 5, 50 y 200 mg de N por planta, repartidas de forma exponencial creciente durante las 20 semanas de crecimiento más intenso. Estas plantas se regaron para mantener el 50-66% de capacidad de campo (tratamiento medio de riego).

Tras la cosecha de octubre y cesado el crecimiento, las plantas se separaron en raíz, tallo y hojas. Una vez secas y molidas las muestras, se procedió a la extracción de los carbohidratos con etanol absoluto en baño de 80°C durante una hora. Tras centrifugar, el sobrenadante se mantuvo en la estufa 48 horas. A partir de éste, se obtuvieron los carbohidratos solubles (glucosa y sacarosa) mediante disolución en agua caliente. Se guardó una alícuota de la disolución para determinación de glucosa; otra alícuota se incubó con invertasa para romper la sacarosa, y posteriormente se transformó la fructosa en glucosa con fosfoglucoisomerasa. Para romper el almidón del precipitado en unidades de glucosa, se incubó con alfa-amilasa y amilogucosidasa durante 16 h a 55°C. Las tres fracciones reducidas a glucosa se analizaron mediante el kit enzimático *Infinity Glucose Reagent* (HK) (Sigma

Diagnósticos 17-25) para determinar la concentración de glucosa por espectrofotometría.

El efecto de la especie y la fertilización (Experimento 1) y de la especie y el nivel de riego (Experimento 2) sobre la concentración de carbohidratos de cada fracción, se evaluó mediante ANOVAs de dos factores. En algunos casos la variable dependiente fue transformada con logaritmo para conseguir homogeneidad de varianzas. Los análisis se realizaron con SPSS 12.0.

## RESULTADOS

La mayor concentración de carbohidratos se encontró en la raíz de las tres especies. La forma de reserva de carbono que alcanzó mayores concentraciones fue el almidón, llegándose a valores de 800 mg g<sup>-1</sup> en la raíz del quejigo.

### Experimento de fertilización

La concentración de almidón en raíz y tallo difirió entre especies, aunque las diferencias varían entre tratamientos. El quejigo fue la especie con mayor concentración global de almidón, seguido de la encina y por último la coscoja. La concentración de glucosa en el tallo y en las hojas también se vio afectada por el factor especie, con concentraciones máximas en el quejigo.

La fertilización afectó de forma significativa a la concentración de almidón en raíz y tallo,

siendo inversamente proporcional a la disponibilidad de nutrientes en la coscoja y la encina. En contraste, en el quejigo las concentraciones mínimas aparecieron en nivel medio de nutrientes. La concentración de almidón en hojas no fue afectada por la especie ni por la fertilización. Las mayores concentraciones de glucosa se obtuvieron a menor fertilización.

### Experimento de riego

En el experimento de riego, las concentraciones de almidón más altas las presentó el quejigo (datos no mostrados). En cuanto al efecto del riego, solo detectamos un patrón claro de variación en el caso de la concentración de glucosa en hojas, con valores máximos en riego bajo, seguidos de riego alto y por último riego medio.

La concentración de sacarosa no se vio afectada ni por la especie ni por la fertilización ni por el riego en ninguno de los experimentos.

## DISCUSIÓN

En las tres especies la raíz fue el principal órgano de reserva de almidón. La importancia del acúmulo de almidón en raíz ha sido observada en muchas especies leñosas mediterráneas con capacidad de rebrote tras una (HUDDLE & PALLARDY, 1999; VERDAGUER & OJEDA, 2002). Estas reservas proporcionan la energía necesaria para que

Variable	Factor	Raíz		Tallo		Hojas	
		F	Sign	F	Sign	F	Sign
Almidón	Especie	5,80	0,007	8,64	0,001	1,03	0,367
	Nutriente	7,21	0,002	4,69	0,016	0,51	0,603
	E x N	3,59	0,015	0,91	0,471	0,32	0,865
Glucosa	Especie	0,87	0,427	6,36	0,004	7,41	0,002
	Nutriente	6,41	0,004	10,29	0,000	6,85	0,003
	E x N	0,55	0,700	0,73	0,579	0,41	0,803

**Tabla 1.** Efectos de la especie (*Quercus coccifera*, *Q. faginea* y *Q. ilex*) y de los nutrientes sobre la concentración de almidón y glucosa de raíces, tallos y hojas (Resultados del ANOVA de dos vías)

Factor	F	Sign
Especie	6,57	0,003
Riego	14,63	0,000
E x R	0,59	0,672

**Tabla 2.** Efectos de la especie (*Quercus coccifera*, *Q. faginea* y *Q. ilex*) y del riego sobre la concentración de glucosa en hojas. (Resultados del ANOVA de dos vías)

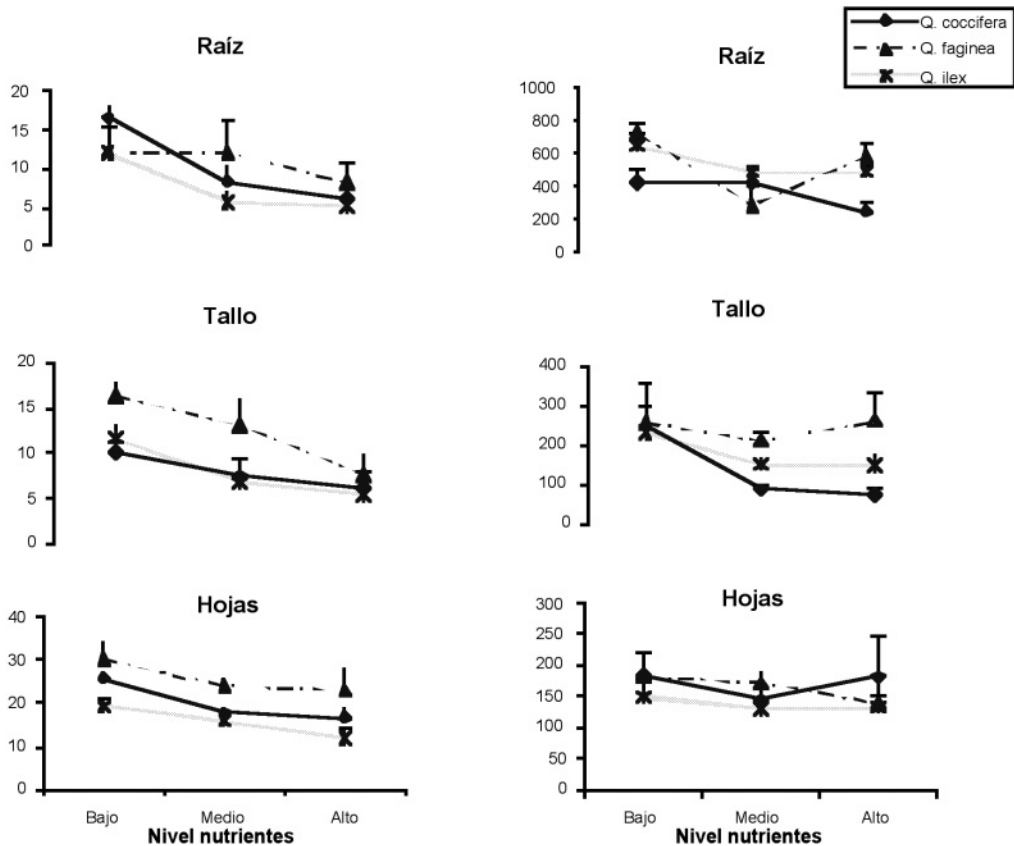


Figura 1. Concentración de glucosa y almidón en raíz, tallo y hojas de las tres especies de estudio (*Quercus coccifera*, *Q. faginea* y *Q. ilex*) en los tres niveles de fertilización (Bajo, Medio y Alto)

estas plantas rebroten cuando la parte aérea es destruida. Además de abastecer demandas inesperadas, algunos procesos fenológicos, como la expansión foliar, pueden movilizar reservas de carbono desde la raíz (MOONEY, 1972).

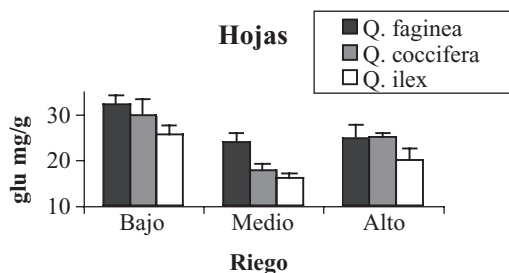
**Efectos de la especie**

Se esperaba que el quejigo, al tener más limitada su estación de crecimiento, destinara más carbono a crecer en detrimento de la formación de reservas. Sin embargo, en la mayor parte de los tratamientos, el quejigo mostró mayor concentración de almidón que la encina y la coscoja. En otros estudios se ha encontrado que las especies perennes tienen su pico de almacén de almidón en invierno tardío, justo antes de la apertura de las yemas, y las especies caducifolias lo tienen a finales de verano (CERASOLI *et al.*, 2004) ya que estas se quedan parcial o totalmente sin hojas en otoño y estas reservas probablemente contribuyen a abastecer las demandas energéticas asociadas al inicio del crecimiento primaveral (GUARDIOLA & GARCÍA 1990). Por lo tanto, dado que el periodo de muestreo no coincide con el máximo de acumulación de los perennifolios, nuestro resultado no permite validar ni rechazar la hipótesis.

estas plantas rebroten cuando la parte aérea es destruida. Además de abastecer demandas inesperadas, algunos procesos fenológicos, como la expansión foliar, pueden movilizar reservas de carbono desde la raíz (MOONEY, 1972).

**Efecto de la fertilización**

Los individuos de coscoja y encina cultivados con mayor disponibilidad de nitrógeno mostraron menores concentraciones de almidón en sus órganos. Una mayor disponibilidad de nutrientes permite un mayor crecimiento (datos



**Figura 2.** Concentración de glucosa en hojas de las tres especies de estudio (*Quercus coccifera*, *Q. faginea* y *Q. ilex*) en los tres niveles de riego (Bajo, Medio y Alto)

no mostrados), demandando una mayor proporción del carbono asimilado para crecimiento, en detrimento del almacén de reservas.

La concentración de glucosa también aumentó con bajas disponibilidades de nutrientes en suelo. Cabría esperar una disminución de la glucosa a favor del aumento del almidón. Sin embargo, (SUN *et al.*, 2002), observaron un aumento de azúcares solubles cuando el nitrógeno era limitado, regulando la actividad de la Rubisco para favorecer una reducción del crecimiento.

### Efecto del riego

Muchos autores reflejan que el almidón se hidroliza rápidamente bajo estrés ambiental (CHAPIN III *et al.*, 1990), sobre todo en situaciones de estrés hídrico, para aumentar la cantidad de azúcares solubles (Rey BENAYAS *et al.*, 2003; STANCATO *et al.*, 2001). Nuestros resultados muestran que la mayor concentración de glucosa foliar se da en condiciones de estrés hídrico. La escasez de agua puede ser un problema, no sólo al limitar el crecimiento por limitación en la fotosíntesis, sino porque puede provocar daños en estructuras celulares. Acumular solutos favorece la entrada de agua en las células y su mantenimiento conservando el turgor de las mismas.

Debido a la época de la cosecha de las plántulas (octubre) parece más lógico pensar que el aumento de osmolitos en hojas fuera causado por una preparación frente a la congelación de los tejidos y sequías por helada (WALTER, 1997). Para evitar la formación de hielo en los tejidos las plantas tienen un periodo de preparación para la resistencia en la cual una primera fase es el enriquecimiento del protoplasma en azúcares y otros materiales protectores (LARCHER, 1997).

### CONCLUSIONES

Una reducción de la precipitación reducirá el crecimiento de las poblaciones de *Quercus*, sin afectar al patrón de reserva. Sin embargo, la deposición de nitrógeno, dará lugar a plantas más grandes, pero con menores reservas de carbohidratos y, por tanto, con menor capacidad para recuperarse de perturbaciones como el fuego

### BIBLIOGRAFÍA

- BHATT, A.M. & KNOWLER, J.T.; 1992. Tissue distribution and change in potato starch phosphorylase mRNA levels in wounded tissue and sprouting tubers. *Eur. J. Biochem.* 204: 971-975.
- CERASOLI, S., SCARTAZZA, A., BRUGNOLI, E., CHAVES, M.M. & PEREIRA, J.S.; 2004. Effects of partial defoliation on carbon and nitrogen partitioning and photosynthetic carbon uptake by two-year-old cork oak (*Quercus suber*) saplings. *Tree Physiol.* 24: 83-90.
- CHAPIN III, F.S., SCHULZE, E.D. & MOONEY, H.A.; 1990. The ecology and economics of storage in plants. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 21: 423-47.
- FRANKOW-LINDBERG G.; 2001. Adaptation to winter stress in nine white clover populations: changes in non-structural carbohydrates during exposure to simulated winter conditions and spring regrowth potential. *Ann. Bot.* 88: 745-751.
- GUARDIOLA, J.L. Y GARCÍA, A.; 1990. *Fisiología vegetal I: Nutrición y transporte*. Ed. Síntesis. Madrid

- HERMS, D.A. & MATTSON, W.J.; 1992. The dilemma of plants: to growth or defend. *Quart. Rev. Biol.* 67: 283-335.
- HUDDLE, J.S. & PALLARDY, S.G.; 1999. Effect of fire on survival and growth of *Acer rubrum* and *Quercus* seedlings. *Forest Ecol. Manag.* 118: 49-56.
- LARCHER, W.; 1997. *Ecofisiología vegetal*. Ed. Omega. Barcelona.
- MOONEY, H.A.; 1972. The Carbon Balance of Plants. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 3: 315-346.
- REY BENAYAS, J.M., ESPIGARES, T. & CASTRO DÍEZ, P.; 2003. Simulated effects of herb competition on planted *Quercus faginea* seedlings in Mediterranean abandoned cropland. *Appl. Veg. Sci.* 6: 213-222.
- RUNION, G.B., ENTRY, J.A., PRIOR, S.A., MITCHELL, R.J. & ROGERS, H.H.; 1999. Tissue chemistry and carbon allocation in seedlings of *Pinus palustris* subjected to elevated atmospheric CO<sub>2</sub> and water stress. *Tree Physiol.* 19: 329-335.
- SALA, O.E.; CHAPIN III, F.S.; ARMESTO, J.J.; BERLOW, E.; BLOOMFIELD, J.; DIRZO, R.; HUBER-SAMWALD, E.; HUENNEKE, L.F.; JACKSON, R.B.; KINZIG, A.; LEEMANS, R.; LODGE, D.M.; MOONEY, H.A.; OERSTERHELD, M.; POFF, N.L.; SYKES, M.T.; BRIAN, H.; WALKER, M. & WALL, D.H.; 2000. Global biodiversity scenarios for the year 2100. *Science* 287: 1770-1774.
- STANCATO, G.C.; MAZZAFERA, P. & BUCKERIDGE, M.S.; 2001. Effect of drought period on the mobilisation of non-structural carbohydrates, photosynthetic efficiency and water status in an epiphytic orchid. *Plant Physiol. Biochem.* 39: 1009-1016.
- SUN, J.; GIBSON, K.M.; KIIRATS, O.; OKITA, T.W. & EDWARDS, G.E.; 2002. Interactions of nitrate and CO<sub>2</sub> enrichment on growth, carbohydrates, and rubisco in *Arabidopsis* starch mutants. Significance of starch and hexosa. *Plant Physiol.* 130: 1573-83.
- TOGNETTI, R.; JOHNSON, J.D.; MICHELOZZI, M. & RASCHI, A.; 1998. Response of foliar metabolism in mature trees of *Quercus pubescens* and *Quercus ilex* to long term elevated CO<sub>2</sub>. *Environ. Exp. Botany* 39: 233-245.
- VAITKUS, M.R. & MCLEOD, K.W.; 1995. Photosynthesis and water-use efficiency of two sandhill oaks following additions of water and nutrients. *Bull. Torrey Bot. Club* 122: 30-39.
- VERDAGUER, D. & OJEDA, F.; 2002. Root starch storage and allocation patterns in seeder and resprouter seedlings of two Cape Erica (*Ericaceae*) species. *Amer. J. Bot.* 89: 1189-1196.
- WALTER, H.; 1997. *Zonas de vegetación y clima. Breve exposición desde un punto de vista causal y global*. Ed. Omega. Barcelona.