



**Universitat de les  
Illes Balears**

Facultat de Ciències

**Memòria del Treball de Fi de Grau**

**Respuesta al estrés de gramíneas polares y  
cultivos: la importancia de la inversión de los  
recursos en hoja.**

José Enrique Cornejo Toledo

**Grau de Biologia**

Any acadèmic 2018-19

Treball tutelat per Xurxo Gago  
Departament de Fisiologia vegetal (Biologia)

S'autoritza la Universitat a incloure aquest treball en el Repositori Institucional per a la seva consulta en accés obert i difusió en línia, amb finalitats exclusivament acadèmiques i d'investigació	Autor		Tutor	
	Sí	No	Sí	No
	X		X	

Paraules clau del treball:

*Deschampsia antarctica*, *Poa pratensis*, *Triticum aestivum*, estrés hídrico, estrés térmico, déficit de nutrientes, masa foliar por área, iónica, fotosíntesis



# Contenido

<b>Resumen</b> .....	4
<b>Abstract</b> .....	4
<b>Introducción</b> .....	5
<b>Descripción de especies</b> .....	6
<i>Triticum aestivum</i> (Trigo) .....	6
<i>Poa pratensis</i> (Poa de los prados) .....	6
<i>Deschampsia antártica</i> (Pasto antártico) .....	7
<b>Factores estresantes</b> .....	7
Efecto del estrés hídrico .....	7
Efecto del estrés térmico .....	7
Efecto del estrés nutricional .....	8
<b>Materiales y métodos</b> .....	8
<b>Material vegetal</b> .....	8
<b>Condiciones de crecimiento</b> .....	8
<b>Diseño experimental</b> .....	9
Factor térmico .....	9
Factor hídrico .....	9
Factor nutricional .....	9
<b>Medición fotosintética</b> .....	10
<b>Masa foliar por área (LMA)</b> .....	11
<b>Ionómica</b> .....	12
<b>Estadística</b> .....	12
<b>Resultados y discusión</b> .....	12
<b>Evaluación visual del estado fenotípico</b> .....	12
<b>Evaluación del parámetro fotosintético</b> .....	15
<b>Evaluación del parámetro LMA</b> .....	16
<b>Evaluación Ionómica</b> .....	18
<b>Correlación entre Fotosíntesis y LMA</b> .....	20
<b>Correlación entre Fotosíntesis y ionómica</b> .....	20
<b>Correlación entre LMA y ionómica</b> .....	20
<b>Conclusión</b> .....	22
<b>Referencias</b> .....	22

## Resumen

El cambio climático y el aumento exponencial de la población mundial están provocando la necesidad de mejorar la tolerancia a estrés en los cultivos para sostener la producción alimentaria. Por este motivo, en este estudio se analizó las respuestas fisiológicas frente a los estreses por déficit hídrico, bajas temperaturas y a la deficiencia de nutrientes en 2 gramíneas polares: *Deschampsia antarctica* (Pasto antártico) proveniente de la Antártida y *Poa pratensis* (Poa de los prados) del alto Ártico, frente a una de las especies de gramíneas cultivables más importante del mundo, el trigo (*Triticum aestivum*). El objetivo de este estudio fue comprender la respuesta de la fotosíntesis a diferentes temperaturas a nivel de estructura y de nutrientes foliares.

Se observó que los resultados de fotosíntesis, en las 3 gramíneas, estaban influenciados por la temperatura baja y el déficit hídrico. Los valores del LMA se vieron afectados por la temperatura baja en trigo y *Poa pratensis*, y por el déficit hídrico en *Deschampsia antarctica*. La relación entre fotosíntesis y LMA se observó que fue significativa.

## Abstract

Climate change and the exponential increase in the world's population are causing the need to improve stress tolerance in crops to sustain food production. For this reason, this study analyzed physiological responses to stress due to water deficit, low temperatures and nutrient deficiency in 2 polar grasses: *Deschampsia antarctica* (Antarctic grass) from Antarctica and *Poa pratensis* (Poa of the meadows) from the high Arctic, compared to one of the world's most important cultivable grass species, wheat (*Triticum aestivum*). The objective of this study was to understand the response of photosynthesis at different temperatures at the level of structure and leaf nutrients. It was observed that the results of photosynthesis, in the 3 grasses, were influenced by low temperature and water deficit. The values of the LMA were affected by the low temperature in wheat and *Poa pratensis*, and by the water stress in *Deschampsia antarctica*. The relationship between photosynthesis and LMA was observed that it was significant.

## Introducción

El cambio climático afecta con mayor intensidad en regiones tropicales y subtropicales, en donde se ubica la mayoría de países en desarrollo y cuyas economías son más dependientes de la agricultura (CEPAL, 2010). Ésto viene acompañado de un notable crecimiento en la demanda de los alimentos y recursos. Satisfacer dicha demanda para abastecer a toda la población obliga a incrementar los volúmenes de producción agrícola año tras año. Según la FAO (2009) para el 2050 la población humana requerirá un aumento del 70% en la producción agrícola mundial (Bruulsema, et al., 2012). Para lograr este objetivo se podría cultivar en zonas no tradicionales con régimen climático más complicado o aumentar la productividad por superficie (Faggioli, et al., 2003). Esta última alternativa se presenta como el método más conveniente a causa de la limitada disponibilidad de terreno y sobre todo a la carencia de recursos para cultivar. El objetivo del aumento en la productividad se ha logrado gracias al estudio fisiológico de respuesta de las plantas frente al estrés abiótico y cómo, en algunos casos, esas respuestas se traducen en tolerancia al estrés y estrés biótico como los patógenos (Chaves, Flexas y Pinheiro, 2009).

Es interesante especialmente la tolerancia a la sequía, de igual manera al frío, al calor y al déficit de nutrientes, ya que son las condiciones ambientales que causan las mayores pérdidas en la producción agrícola, a la vez que determinan en gran medida la distribución de las especies vegetales en la naturaleza.

Tanto el estrés abiótico como el biótico provocan una gran variedad de respuestas de las plantas, desde cambios en el metabolismo, en el crecimiento y desarrollo de las células, hasta cambios en la expresión génica y en el rendimiento de los cultivos. Entender como las plantas responden a la sequía, al frío y al déficit de nutrientes puede desencadenar un papel importante en el rendimiento de cultivos en condiciones de estrés.

El estrés abiótico afecta a la fotosíntesis y al crecimiento celular (Chaves, 1991), y puede provocar un efecto directo como es la disminución de la asimilación del CO<sub>2</sub> a causa de las limitaciones de difusión estomática o por alteraciones del metabolismo fotosintético (Flexas, et al., 2004, 2007), lo que provocaría como efecto secundario, un estrés oxidativo (Chaves y Oliveira, 2004). Este estrés oxidativo afecta gravemente la fotosíntesis por parte de las hojas (Ort, 2001).

Intentar explicar cómo las plantas responden frente a los estreses abióticos, permitiría comprender la estabilidad en el rendimiento de los cultivos en estas condiciones, por ello, este estudio tuvo como objetivo, estudiar la respuesta de la fotosíntesis a un rango de temperatura a nivel estructural (masa foliar por área) y de inversión de recursos (ionómica) comparando dos grandes especialistas de clima fríos como *Deschampsia antarctica* (Da), extraída de la Antártida (Isla Rey Jorge) y *Poa pratensis* (Pp), extraída del Ártico (Islas Svalbard) que presenta una gran plasticidad y por ello es una gran invasora distribuida por varias zonas del planeta (Frenot, et al., 2005), en comparación a las dos gramíneas polares, se utilizó uno de los cultivo más importantes *Triticum aestivum* (el trigo), extraída de los campos de cultivo en España, y que, debido a las condiciones mediterráneas, este cultivo sufre de sequía durante el verano, lluvias insuficientes y heladas durante el invierno. Estas condiciones son las que determinan el crecimiento y la productividad del cultivo provocando como resultado que el grano presenta un rendimiento ineficiente.

## Descripción de especies

### ***Triticum aestivum* (Trigo)**

Es una gramínea anual de unos 60 – 200cm, presenta una raíz fasciculada, su tallo es de tipo herbáceo con pocas ramificaciones, a lo largo de este tallo, en la zonal apical, se encuentra la inflorescencia. Esta inflorescencia es una espiga que puede contener de 20 a 30 espiguillas llevando cada una nueve flores, de las cuales la mayoría abortan. Esta hierba crece a una temperatura óptima de 10 – 25°C, además de que requiere un bajo requerimiento de agua.

El trigo es uno de los tres granos con mayor producción mundial, junto con el maíz y el arroz. Esta gramínea juega un papel importante en la economía de muchos países siendo los principales productores China, India, Rusia, EEUU, etc.



Figura 1: *Triticum aestivum* en cámara de crecimiento a 25°C en las instalaciones de la UIB.

### ***Poa pratensis* (Poa de los prados)**

Es una planta perenne de unos 10 – 100cm, originaria de Europa y Asia naturalizada en diversas regiones templadas del planeta. Tolera muy bien el frío y las heladas, en condiciones de intenso calor paraliza su crecimiento y es poco tolerante a la falta de agua. Prefiere condiciones de buena iluminación, aunque también condiciones umbrías (Pertíerra, et al., 2013).

*Pp* presenta una buena capacidad de rebrote y responde bien a los pastoreos intensos, por lo que es un cultivo de interés forrajero de producción inferior a la de otras gramíneas. Esta especie puede presentar una infección por hongo endófito productores de micotoxinas.



Figura 2: *Poa pratensis* en cámara de crecimiento a 15°C en las instalaciones de la UIB.

### ***Deschampsia antártica* (Pasto antártico)**

Es una de las dos únicas plantas vasculares nativa de la Antártida, la otra es *Colobanthus quitensis*, además, está extendida en regiones templada de los ambos hemisferios y en zonas altas de los trópicos, siendo capaz de colonizar diferente tipo de suelos (Ruhland y Krna, 2010).

Esta planta forma comunidades en las duras condiciones ambientales que presenta la Antártida, además presenta resistencia a las radiaciones ultravioletas. Esta especie, con el aumento de la de temperatura, produce un aumento de semillas que germinan creando un gran número de céspedes y comunidades (Convey, 1996).



**Figura 3:** *Deschampsia antártica* en cámara de crecimiento a 15°C en las instalaciones de la UIB.

### **Factores estresantes**

En este experimento sólo se evaluaron los efectos diferentes estreses abióticos, como la sequía, la temperatura, déficit de nutrientes, etc., que provocan como respuestas modificaciones en las plantas que si no logran aclimatarse a los mismos pueden provocar la muerte de esos individuos (Fujita, et al., 2006).

#### **Efecto del estrés hídrico**

De todos los recursos que la planta necesita para su crecimiento y desarrollo, el agua es el más importante. El agua es el componente mayoritario de las plantas, y están continuamente absorbiendo agua por la raíz y evaporándola por las hojas. La planta solamente absorbe agua si su potencial hídrico tiene un valor mayor que el del suelo (cuando sea más negativo).

El estrés hídrico está asociado a los ambientes con baja pluviometría o con una distribución irregular de las lluvias. Además, las plantas pueden experimentar períodos transitorios de estrés hídrico durante el mediodía. El número de adaptaciones de las plantas al estrés hídrico es muy elevado (Yamaguchi-Shinozaki y Shinozaki, 2006).

#### **Efecto del estrés térmico**

La temperatura condiciona la velocidad de las reacciones químicas catalizadas enzimáticamente, modifica la estructura y la actividad de las macromoléculas, y determina el estado físico del agua. Las especies se ven expuestas, generalmente, a fluctuaciones estacionales de la temperatura baja en los meses invernales y elevada en el verano. Así, las plantas pueden estar sometidas a situaciones de estrés por temperaturas extremas debidas al calor, al frío y a la congelación. La mayoría de las plantas ralentiza su crecimiento a temperaturas superiores a 40 °C. El estrés por frío aparece entre 0 y 15 °C, y por debajo de los 0 °C suele producirse estrés por congelación. Una vez se han producido los primeros cristales de hielo, si la temperatura extrema se mantiene, los cristales aumentan de tamaño y, en

consecuencia, se incrementa la concentración de solutos en el líquido extracelular y se produce la ruptura de las membranas y estructuras celulares, la deshidratación irreversible del citoplasma y la muerte celular (Yamaguchi-Shinozaki y Shinozaki, 2006). El estrés, tanto por calor como por frío, provoca la pérdida de semipermeabilidad, ya que modifica la microviscosidad o fluidez de las membranas. Además, el estrés por temperaturas extremas tiene otros efectos, tales como la reducción de la tasa de crecimiento, la inhibición de la fotosíntesis y de la respiración, así como la activación de la senescencia y la abscisión. A medida que la planta envejece, su capacidad de resistencia al estrés suele aumentar. En general, los órganos subterráneos de las plantas (las raíces, los bulbos y los rizomas) son más sensibles a la temperatura que los aéreos (los tallos y las hojas). Sin embargo, los órganos reproductivos son también muy sensibles. El efecto del estrés por frío se agudiza en condiciones de baja humedad relativa, ya que las temperaturas bajas reducen la capacidad de las raíces para absorber agua.

### **Efecto del estrés nutricional**

Las alteraciones nutricionales que reducen ligeramente el crecimiento y la producción no presentan síntomas visibles claros. Normalmente, los síntomas se hacen presentes cuando la deficiencia nutricional es aguda y el ritmo de crecimiento y la producción disminuyen significativamente. Además, muchas especies vegetales naturales, sobre todo las adaptadas a lugares pobres en nutrientes, ajustan su crecimiento al nutriente limitante, por lo que no se desarrollan síntomas visibles (Loneragan, 1997).

Con objeto de diferenciar los síntomas de alteraciones nutricionales de otros síntomas, es importante tener en cuenta que los causados por las alteraciones nutricionales siempre tienen un patrón de distribución simétrico: las hojas de una planta en posiciones iguales o similares, de la misma edad fisiológica, presentarán una distribución de síntomas casi idéntica.

Como consecuencia a este tipo de estrés surgen problemas como: la clorosis (amarilleamiento de las hojas) y la necrosis (manchas de color variable, normalmente de marrón a negro). Como norma general, los síntomas visibles de la deficiencia de un nutriente son más específicos que los de su toxicidad.

## **Materiales y métodos**

### **Material vegetal**

El estudio se llevó a cabo en el laboratorio del Departamento de Fisiología Vegetal de la Universidad de las Islas Baleares (UIB). Para la realización de este experimento se utilizaron dos gramíneas polares, *Poa pratensis* (L.), recogida de las islas Svalbard (ver figura 2) y *Deschampsia antarctica* (E. Desv.), recogidas de la isla Rey Jorge (ver figura 3), y una especie cultivable, *Triticum aestivum* (L.), plantada de semillas (ver figura 1).

### **Condiciones de crecimiento**

El experimento se llevó a cabo el 11 de septiembre de 2018, y se comenzó germinando las semillas de trigo. *Poa pratensis* (Pp) y *Deschampsia antarctica* (Da) se propagaron vegetativamente. Las tres gramíneas se colocaron en macetas, con un volumen de 2 litros, y con una mezcla perlita y sustrato cuya proporción fue de 3:1 respectivamente.

Tras el crecimiento de las plántulas, se seleccionaron según su fenotipo, y se plantaron 3 plántula por maceta, el cual contenía solamente vermiculita. Las macetas de las gramíneas polares se colocaron en una cámara de crecimiento a temperatura de 15°C y con intensidad PAR de 300  $\mu\text{mol}$  de fotones  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , las macetas de trigo se colocaron en una cámara de crecimiento a temperatura de 25°C, para su correcto

desarrollo y con intensidad PAR de  $300 \mu\text{mol}$  de fotones  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 10 días después las macetas de trigo se trasladaron a la misma cámaras de crecimiento que las gramíneas polares (ver figura 4).

Todas las plantas se regaron dos veces por semana y se fertilizaron dos veces por semana con una solución del 50% de Hoagland (ver tabla 1) hasta que se sometieran a los tratamientos.

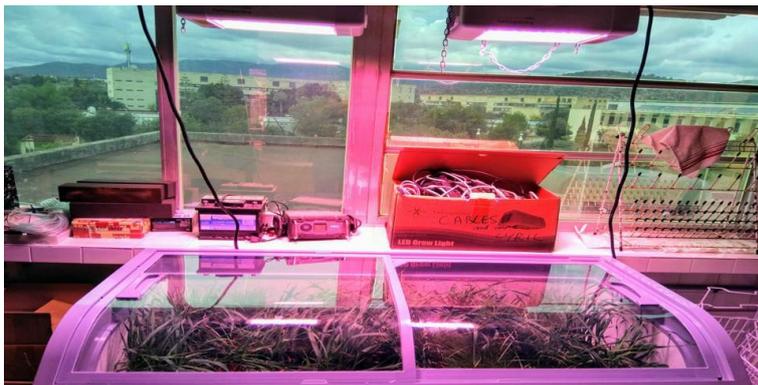


**Figura 4:** Cámara de crecimiento a 15°C donde se encuentran las 3 gramíneas.

## Diseño experimental

### Factor térmico

Todas las especies de gramíneas se separaron en dos grupos, un grupo se colocó en el fitotrón a temperatura de 18°C bajo una intensidad PAR de  $300 \mu\text{mol}$  de fotones  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , el otro grupo se colocó en un frigorífico horizontal a temperatura de 4°C, estrés, bajo una intensidad PAR de  $300 \mu\text{mol}$  de fotones  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (ver figura 5).



**Figura 5:** Cámara frigorífica a 4°C donde se encuentran las 3 gramíneas.

### Factor hídrico

Para el tratamiento sequía, S, se dejó de regar y para determinar y mantener un nivel de estrés común para las 3 especies, las plantas se llevaron a nivel de estrés de  $50 - 75 \text{ mmol}$  de  $\text{H}_2\text{O}$   $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

Para las plantas de tratamiento agua, W, se las continuó regando con agua a capacidad de campo.

### Factor nutricional

Se realizaron dos niveles de solución nutritiva de fertilizante Hoagland, tratamiento nutriente, N, con un 50% de solución nutritiva para las plantas que no sufrieron este

estrés nutricional y tratamiento deficiencia nutricional, D, con un 10% de solución nutricional para las que si tuvieron en estrés.

Las plantas con tratamiento sequía solo se las regó con la solución nutritiva Hoagland pertinente a su tratamiento y se regaron las plantas dos veces por semana.

Solución	Macronutrientes	g/l	Preparación de 20l de solución
A	KNO <sub>3</sub> (Nitrato de potasio)	1,02	200ml
	4(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Ca 4H <sub>2</sub> O (Nitrato de calcio hidratado)	0,708	
B	PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> NH <sub>4</sub> (Fosfato amónico)	0,23	200ml
C	7SO <sub>4</sub> Mg 7H <sub>2</sub> O (Sulfato de magnesio hidratado)	0,49	200 ml
Solución	Micronutrientes	g/l	Preparación de 20l de solución
D	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> (Ácido bórico)	2,86	200ml
D	7SO <sub>4</sub> Zn 7H <sub>2</sub> O (Sulfato de zinc hidratado)	0,22	200ml
D	2Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> 2H <sub>2</sub> O (Molibdato de sodio hidratado)	0,14	200ml
D	5SO <sub>4</sub> Cu 5H <sub>2</sub> O (Sulfato de cobre hidratado)	0,08	200 ml
D	SO <sub>4</sub> Mn H <sub>2</sub> O (Sulfato de manganeso hidratado)	1,63	200ml
D	Fe EDDHA, sequestrane 138 Fe G-100 (Hierro)	16,66	200ml

**Tabla 1:** Tabla de nutrientes presentes en la solución fertilizante Hoagland.

### Medición fotosintética

La fotosíntesis es un proceso complejo en el que las plantas incorporan CO<sub>2</sub> desde la atmósfera a través de los estomas gracias a la energía lumínica y a la asimilación de fuentes minerales inorgánicas (agua, nitratos, sulfatos, etc.) que se constituyen en biomoléculas metabolizables. Es muy importante para las plantas el proceso fotosintético porque cuando el agua es abundante y la radiación solar favorece la actividad fotosintética, la demanda por el CO<sub>2</sub> en el interior de la hoja es grande, los estomas están muy abiertos, disminuyendo la resistencia estomática a la difusión del CO<sub>2</sub>, además, se origina la corriente transpiratoria que transporta rápidamente los nutrientes minerales desde las raíces a las partes aéreas en crecimiento.

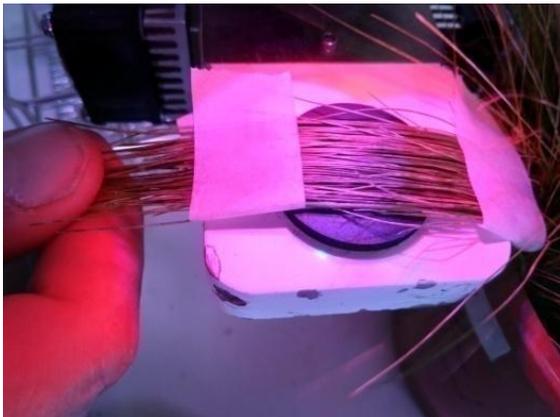
Se usó un sistema abierto de intercambio gaseoso (Li-6400, Li-Cor, Inc., Lincoln, NE, USA) con un fluorímetro de cámara foliar integrado (Li-6400-40; Li-Cor, Inc., Nebraska, USA), (Flexas, et al., 2007), (ver figura 6).

La fotosíntesis se midió en condiciones de luz saturada (1500 μmol fotones m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) de CO<sub>2</sub> con una concentración de 400 μmol de CO<sub>2</sub> mol<sup>-1</sup> aire.

Se realizaron las mediciones para cada uno de los tratamientos y cada una de las especies. Las hojas de las tres especies de gramíneas no llegaron a cubrir totalmente la cámara de medición, por lo que, se tuvo que unir paralelamente las hojas para formar una lámina que cubriera toda la cámara de medición, se unieron las hojas con cinta adhesiva y sin que hubiera solapamiento entre las hojas (ver figura 7).



**Figura 6:** Li-6400, sistema abierto de intercambio gaseoso (Li-Cor, Inc, Nebraska, USA).



**Figura 7:** Preparado de las hojas de las gramíneas para la medición con el sistema abierto de intercambio gaseoso (Li-6400).

### **Masa foliar por área (LMA)**

La masa foliar por área (LMA) se define como la relación entre la masa de la hoja y el área de la hoja; así siendo el inverso del área foliar específica. El LMA condiciona fuertemente la fotosíntesis de las hojas y la absorción de carbono. Por esa razón, el LMA es un parámetro clave (Bertin y Gary, 1998; Gracia et al., 1999; Wirtz, 2000; Dufrene et al., 2005; Davi et al., 2006). Además, es un rasgo principal de la hoja que caracteriza la adaptación de la especie a las condiciones ambientales y sus propiedades ecofisiológicas (Castro-Díez et al., 2000; Green et al., 2003).

Para la determinación del LMA se requiere estimar el área de la superficie ( $m^2$ ) de cada muestra de hojas, y para ello, se cogieron muestras de hojas de cada tratamiento por especies. Se hizo una referencia de 1 cm en el papel y se realizaron imágenes de las muestras. Se estimó el área foliar utilizando el programa *IMAGEJ* (Rasband, 1997), el cual marcando los bordes de las hojas se obtiene el área foliar en pixeles y a través de la referencia de 1 cm se puede extrapolar el área foliar en  $m^2$  (Florin et al., 2015). Además, para la determinación de LMA se requiere el peso seco de las hojas, por ello, se tomaron muestras de las hojas de cada tratamiento y de cada especie y se secaron en una estufa a  $66^\circ C$  durante 48h.

El LMA se calculó a través de la siguiente fórmula:

$$LMA \text{ (g peso seco} \cdot m^2) = \frac{\text{Peso seco (g)}}{\text{Área foliar (m}^2)}$$

## Ionómica

La ionómica se define como la cantidad y medida de la composición elemental de los organismos y los cambios en esta composición como respuesta a los estímulos fisiológicos, el estado de desarrollo y las modificaciones genéticas (Salt, et al., 2008). Los datos ionómicos se obtuvieron gracias al Servicio de Ionomica, CEBAS-CSIC (Murcia). Para ello, tras secarse las hojas en las mismas condiciones que para la determinación del LMA, se molieron en un molinillo (Retsch mm200) a 1800 revoluciones por minuto hasta obtenerse un polvo fino (ver figura 8). Se enviaron al Servicio anteriormente citado alrededor de 0.5 g de hoja por réplica biológica.



Figura 8: Molinillo Retsch mm200 con muestras de *Deschampsia antarctica*.

## Estadística

Los efectos de los diferentes tratamientos sobre el rendimiento de la tasa fotosintética de las tres especies se evaluaron con un tamaño de muestras de:  $n=68$  para trigo,  $n=89$  para *Pp* y  $n=47$  para *Da*. Los datos de LMA se evaluaron con un tamaño de muestras de:  $n=48$  para trigo,  $n=40$  para *Pp* y  $n=48$  para *Da*, por último, los datos de ionómica se evaluaron a tamaño de muestras de:  $n=27$  para trigo,  $n=15$  para *Pp* y  $n=38$  para *Da*. Estas tres variables se analizaron a través de un ANOVA de 3 factores y post-hoc de Tukey test ( $p<0,05$ ), que permitieron comparar todas las posibles combinaciones entre parámetros para detectar si hay diferencias significativas entre los tratamientos y las especies.

Para las correlaciones de las variables: fotosíntesis, LMA, ionómica; se evaluaron con un tamaño de muestras (para fotosíntesis y LMA) de:  $n=55$  para trigo,  $n=86$  para *Pp* y  $n=47$  para *Da*, para ionómica se utilizó un tamaño de muestras (en los 3 bioelementos: nitrógeno, potasio y fósforo) de:  $n=27$  para trigo,  $n=15$  para *Pp* y  $n=38$  para *Da*. Estas tres variables se analizaron a través de la correlación de Pearson ( $p<0,05$ ).

## Resultados y discusión

### Evaluación visual del estado fenotípico

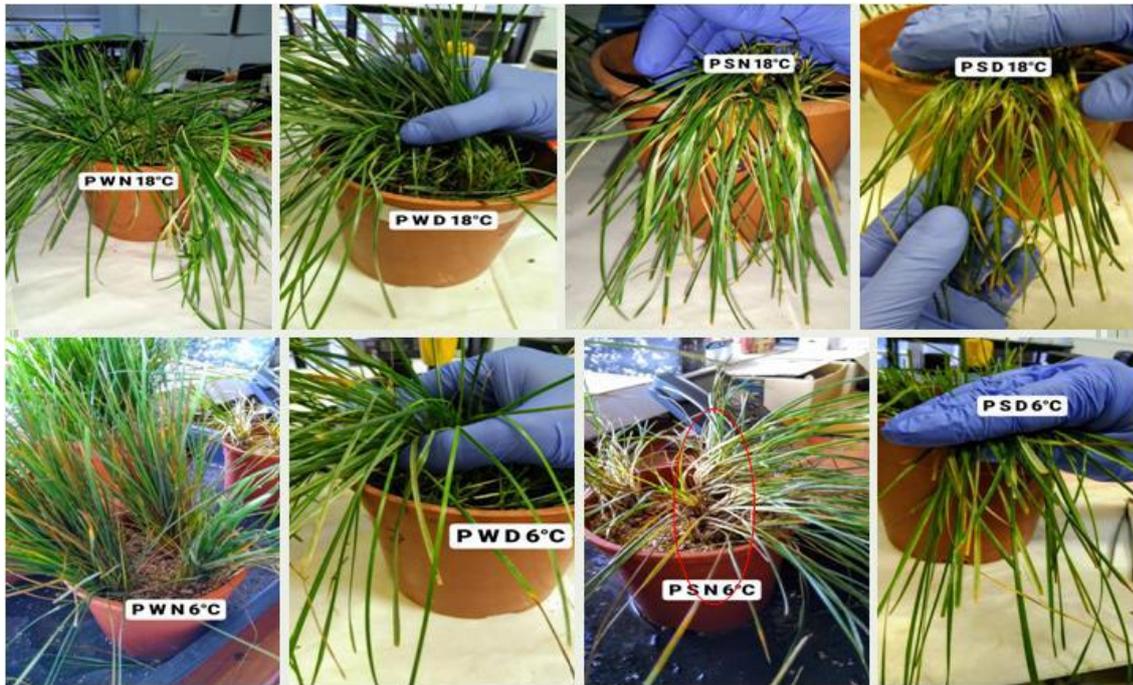
El trigo se vio afectado por el déficit hídrico combinado con temperatura baja, no se encontró afectado por el déficit de nutrientes. Las hojas que fueron bien regadas y a temperatura óptima presentaron una pequeña decoloración, no se observaron efectos graves. Debido a una temperatura baja se observó que las hojas cambiaron de color notablemente, de un verde a un amarillo independientemente de la presencia o déficit de nutrientes (T.W.N.4 y T.W.D.4). Combinando déficit hídrico y temperatura baja se observó marchitamiento de las hojas y la posterior ruptura de las hojas (T.S.N.4 y T.S.D.4), (ver figura 9).

Las observaciones realizadas en *Pp* se evidenciaron visualmente que las hojas estaban afectadas por el déficit hídrico combinado con la temperatura baja y deficiencia de nutrientes (P.S.N.4 y P.S.D.4) fueron los tratamientos que provocaron este amarillamiento y el plegamiento de las hojas. Por el lado contrario, las hojas que estuvieron bien regadas y a temperatura a 18°C (P.W.N.18 y P.W.D.18) parecieron estar visualmente verdes, vigorosas y aplanadas (ver figura 10).

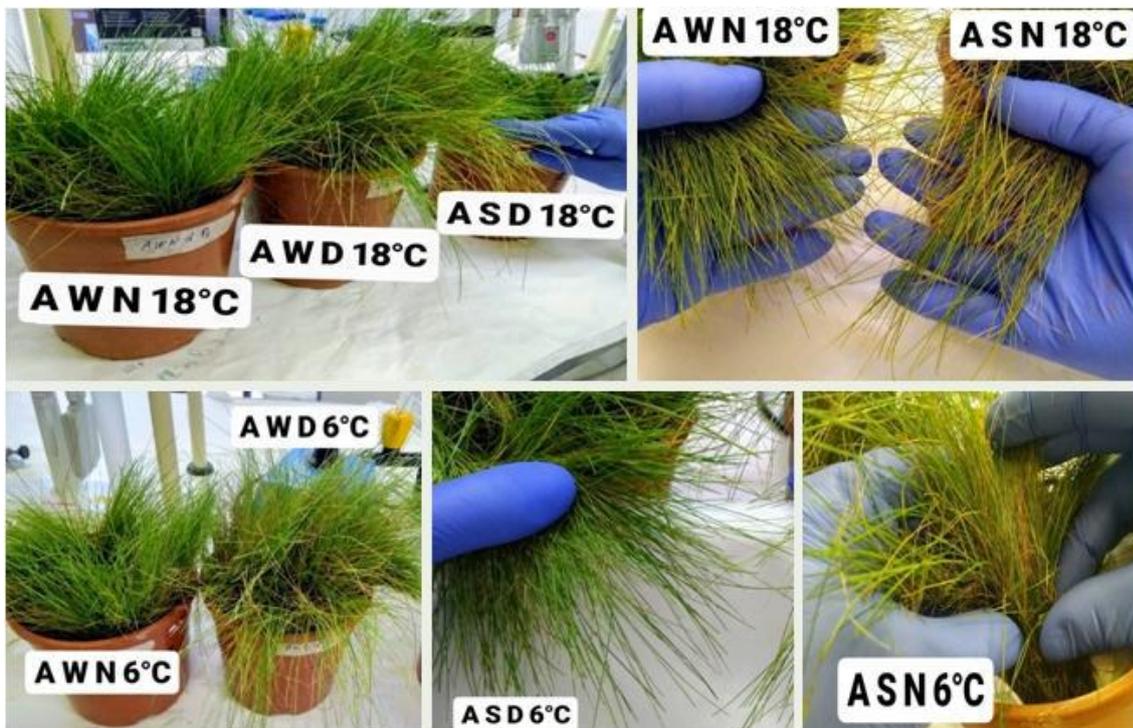
*Da* mostró estar afectada por el déficit hídrico y la combinación de déficit hídrico y una temperatura baja, enseñando amarillamiento y, además, se observó que las hojas se volvieron quebradizas. Curiosamente el déficit hídrico y la deficiencia nutricional (A.S.D.18) y a temperatura de 18°C no presentó ningún efecto externo visible, este dato podría estar relacionado con el hábitat en el que crece, ya que esta especie es nativa de la Antártida, típicamente con suelos muy pobres y con escasa capacidad para retener un agua ya escasa en la zona. Con déficit hídrico y temperatura baja se observaron síntomas de marchitez y cambio de color en las hojas (A.S.N.4), por el contrario, las hojas que estuvieron regadas se presentaron fuertes, erectas y la gran mayoría aún eran verdes (A.W.N.18, A.W.D.18, A.W.N.4 y A.W.D.4) (ver figura 11).



**Figura 9:** Estado fenotípico de *Triticum aestivum* (Trigo) cultivada en combinación de los diferentes tratamientos con dos temperaturas diferentes (4 ° C y 18 ° C), disponibilidad de agua (W) y estrés hídrico (S) y nivel de nutrientes (nutriente completo (N) y deficiente en nutrientes (D)).



**Figura 10:** Estado fenotípico de *Poa pratensis* (Pp) cultivada en combinación de los diferentes tratamientos con dos temperaturas diferentes (4 ° C y 18 ° C), disponibilidad de agua (W) y estrés hídrico (S) y nivel de nutrientes (nutriente completo (N) y deficiente en nutrientes (D)).



**Figura 11:** Estado fenotípico de *Deschampsia antarctica* (Da) cultivada en combinación de los diferentes tratamientos con dos temperaturas diferentes (4 ° C y 18 ° C), disponibilidad de agua (W) y estrés hídrico (S) y nivel de nutrientes (nutriente completo (N) y deficiente en nutrientes (D)).

## Evaluación del parámetro fotosintético

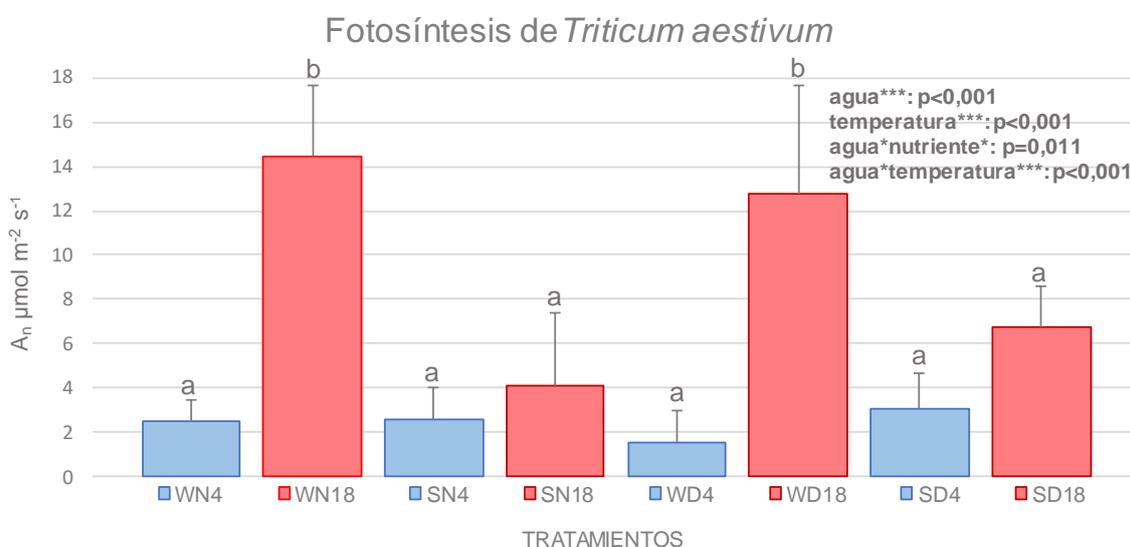
En una comparación general de las tres gramíneas, se observó que el trigo, concretamente, el tratamiento W.N.18, presentó la tasa fotosintética más alta con un valor de  $14,44 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , respecto a las gramíneas polares que presentaron un valor de  $9,85 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  y  $9,87 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  para *Pp* y *Da* respectivamente, (ver figura s 12, 13 y 14).

Se observó que al aplicar el tratamiento temperatura de  $4^\circ\text{C}$ , el trigo es el que más bajó el rendimiento fotosintético, éste representa hasta un 83% de la pérdida de la eficacia fotosintética, en cambio *Pp* presentó una pérdida de un 64% y *Da* fue la gramínea que menos pérdida presentó con un 42% de la eficacia fotosintética (ver figuras 12, 13 y 14).

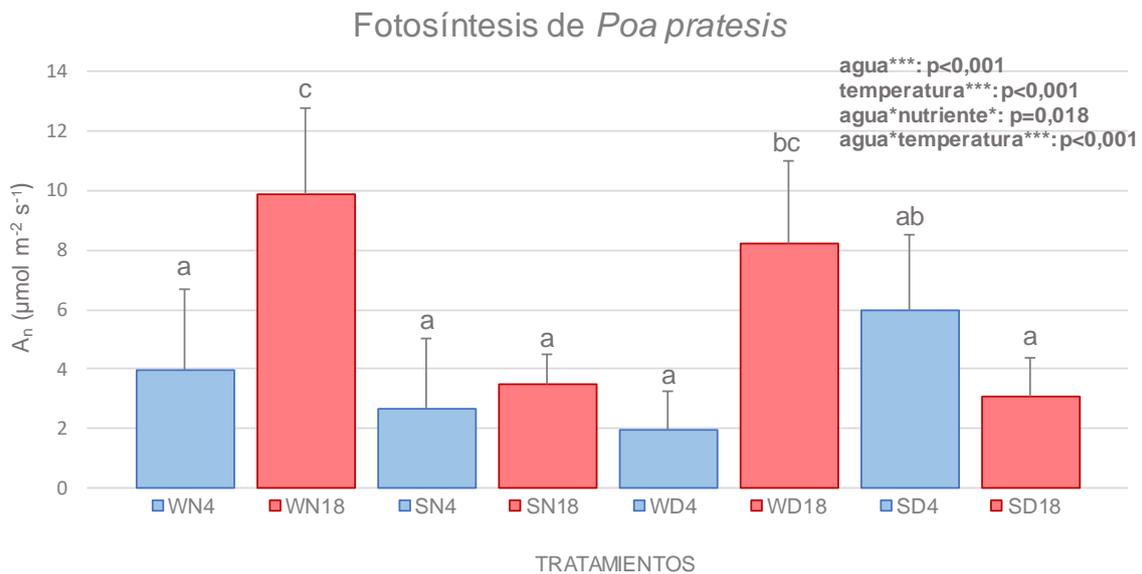
Además, se observó que los valores más bajos de la tasa fotosintética en trigo estaban determinados por el estrés de temperatura a  $4^\circ\text{C}$  (temperatura\*\*\*:  $p < 0,001$ ) y también por el déficit hídrico (agua\*\*\*:  $p < 0,001$ ), por ello, la combinación ambos estreses (agua\*temperatura\*\*\*:  $p < 0,001$ ) mostraron grandes pérdidas en la tasa fotosintética, también mostraron un valor bajo en el tratamiento W.D.4, debido a que el trigo es una gramínea que necesita nutrientes (ver figura 12).

Respecto a las gramíneas polares, en *Pp*, se observó que los valores más bajos la tasa fotosintética están determinados por el déficit hídrico (agua\*\*\*:  $p < 0,001$ ), la temperatura a  $4^\circ\text{C}$  (temperatura\*\*\*:  $p < 0,001$ ) y también por la combinación de ambos estreses (agua\*temperatura\*\*\*:  $p < 0,001$ ), aunque, el valor más bajo la presentó el tratamiento W.D.4 (ver figura 13).

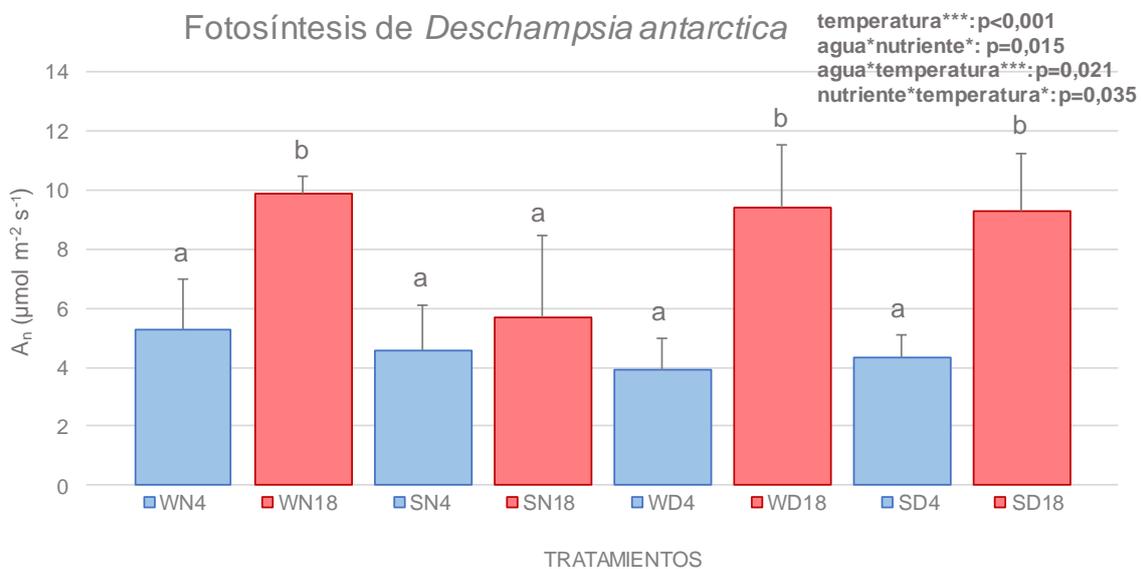
*Da*, al igual que el trigo, se observó que los valores más bajos de la tasa fotosintética están determinados por el tratamiento de temperatura a  $4^\circ\text{C}$  (temperatura\*\*\*:  $p < 0,001$ ), también por la interacción del tratamiento de temperatura a  $4^\circ\text{C}$  con el tratamiento de déficit hídrico (agua\*temperatura\*\*\*:  $p = 0,021$ ) y por la interacción del tratamiento de déficit de nutriente con el tratamiento de temperatura a  $4^\circ\text{C}$  (nutriente\*temperatura\*:  $p = 0,015$ ), por ello, la interacción de estos dos tratamientos presenta grandes pérdidas en la tasa fotosintética, ya que, el valor más bajo la presentó el tratamiento W.D.4 (ver figura 14).



**Figura 12:** Asimilación neta de  $\text{CO}_2$  ( $A_n$ ) respecto a los tratamientos para *Triticum aestivum*. Los factores significativos fueron analizados por ANOVA de tres factores. Las diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ).



**Figura 13:** Asimilación neta de CO<sub>2</sub> (A<sub>n</sub>) respecto a los tratamientos para *Poa pratensis*. Los factores significativos fueron analizados por ANOVA de tres factores. Las diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p<0,05).



**Figura 14:** Asimilación neta de CO<sub>2</sub> (A<sub>n</sub>) respecto a los tratamientos para *Deschampsia antarctica*. Los factores significativos fueron analizados por ANOVA de tres factores. Las diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p<0,05).

El déficit hídrico y las temperaturas bajas son los principales factores que limitan la fotosíntesis y el rendimiento de las plantas, incluso en plantas bien adaptadas a condiciones áridas (Chaves 1991; Lawlor 1995; Cornic y Massacci 1996; Labate et al., 1990)

### Evaluación del parámetro LMA

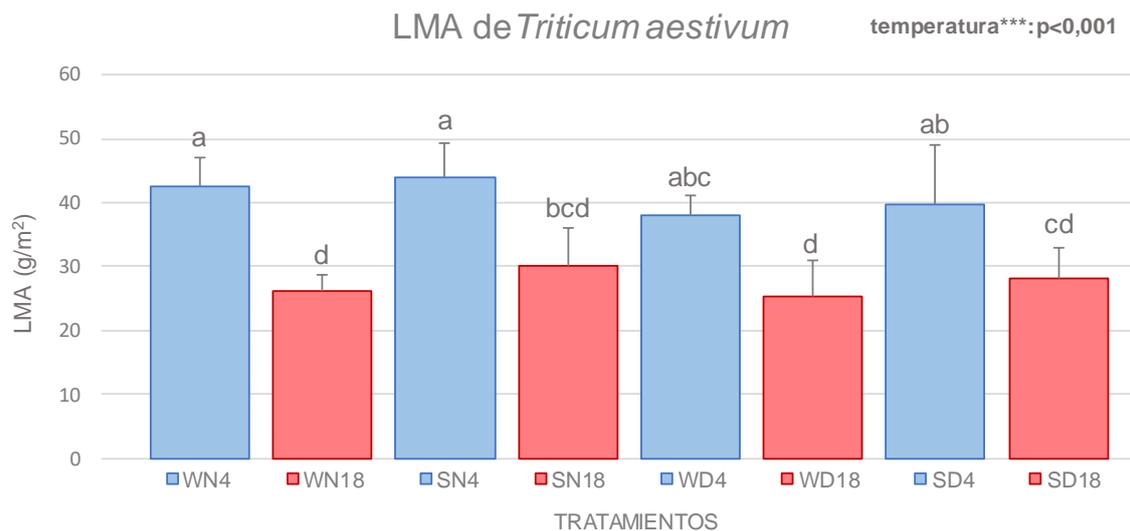
En la evaluación de la masa foliar por área se observó que en el trigo que el factor que alteró los valores del LMA, fue la temperatura (p<0,001) y éste mostró valores elevados del LMA en el tratamiento a 4°C, siendo el tratamiento S.N.4 el que presentó el valor más alto (44,09 g de peso seco m<sup>-2</sup>) (ver figura 15).

En *Pp*, se observó que para el valor del LMA no que hubo diferencias significativas (p>0,05) entre los tratamientos, pero se observó que el tratamiento S.N.4 presentó el

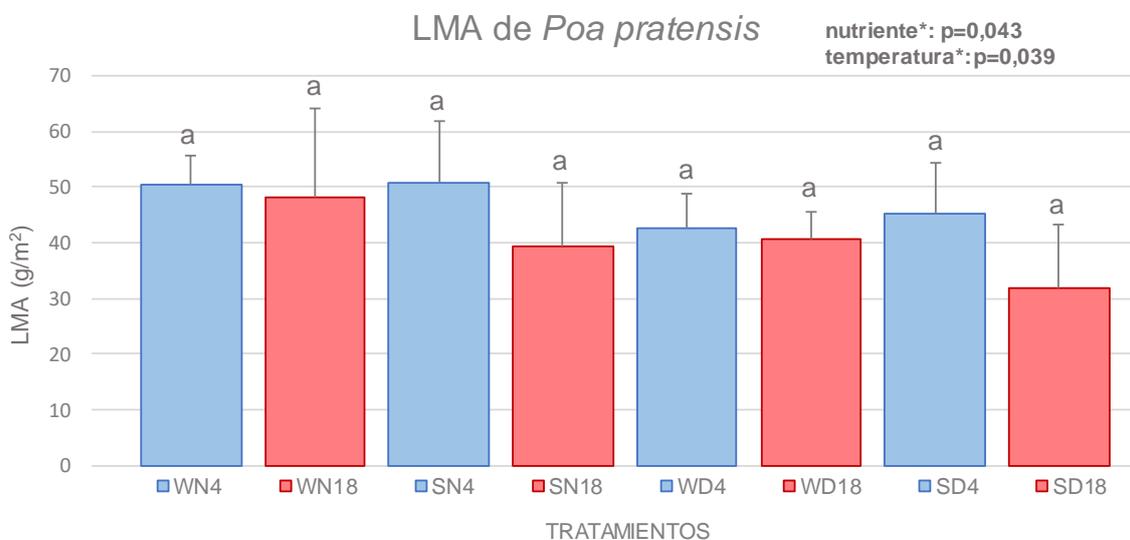
valor más alto de LMA (50,78 g de peso seco m<sup>-2</sup>), y el tratamiento S.D.18 mostró el valor mínimo de LMA (31,81 g de peso seco m<sup>-2</sup>) (ver figura16).

En *Da*, los valores de LMA son alterados por el factor hídrico, siendo este muy significativo ( $p < 0,001$ ), ya que, el estrés por éste influyó haciendo disminuir los valores LMA. El tratamiento WD4 mostró el valor de LMA más alto (48,1 g de peso seco m<sup>-2</sup>) (ver figura 17).

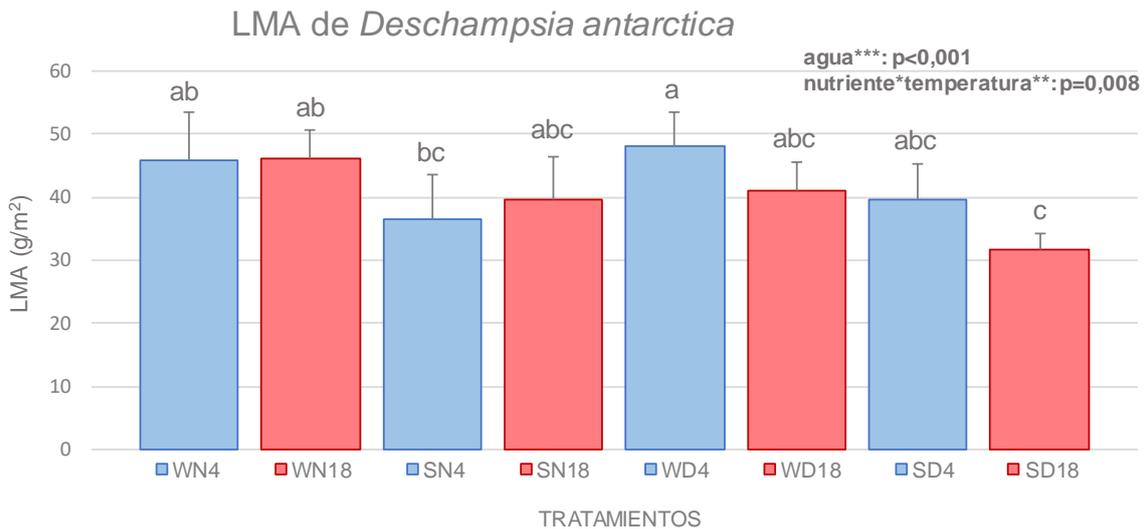
En general, las especies con alto LMA tienen a presentar una vida larga de sus hojas (LL), además presentan bajas concentraciones de nutrientes (Field y Mooney, 1986; Reich et al., 1992, 1997; Turner, 1994; Enriquez et al., 1996; Diemer, 1998; Niinemets, 1999).



**Figura 15:** Masa foliar por área (LMA) respecto a los tratamientos para *Triticum aestivum*. Los factores significativos fueron analizados por ANOVA de tres factores. Las diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ).



**Figura 16:** Masa foliar por área (LMA) respecto a los tratamientos para *Poa pratensis*. Los factores significativos fueron analizados por ANOVA de tres factores. Las diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ).



**Figura 17:** Masa foliar por área (LMA) respecto a los tratamientos para *Deschampsia antarctica*. Los factores significativos fueron analizados por ANOVA de tres factores. Las diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ).

### Evaluación Ionómica

En el trigo se observó que el nitrógeno disminuyó a temperatura de 18°C combinando los factores agua y nutrientes (agua\*nutriente\*:  $p=0,011$ ). Se observaron que los tratamientos W.N.18 y W.D.18 (3,86 y 2,57 g/100g peso seco respectivamente) la única diferencia entre ambos tratamientos fue la disponibilidad de nutrientes, por lo que en buenas condiciones (W.N.18) el contenido de nitrógeno fue mayor que si a este tratamiento se le somete a deficiencia de nutrientes. Respecto al contenido de potasio y fósforo, no se pudo observar diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) en el contenido de potasio, además se observó que el contenido de fósforo estaba influenciado por el factor nutriente, siendo la presencia de nutrientes el que aumentó la cantidad de fósforo en la hoja (ver tabla 2).

En *Pp*, los limitantes del nitrógeno fueron los factores agua ( $p=0,002$ ) y temperatura ( $p=0,006$ ). Se observó que en condiciones buenas y disponibilidad hídrica (W.N.18), el nitrógeno aumentó, también se observó que en condiciones adversas y de estrés hídrico (S.D.4) el nitrógeno disminuyó. Además, se observó que el determinante del contenido de potasio y fósforo fue el factor temperatura, cual fue significativo, ambos nutrientes aumentaron a temperatura de 18°C (ver tabla 3).

En *Da*, el factor temperatura ( $p=0,037$ ) y la combinación de los factores agua y temperatura (agua\*temperatura\*\*:  $p=0,008$ ) fueron los que afectaron la cantidad de nitrógeno en hoja, por lo que se pudo observar que en situación de estrés hídrico y a temperatura de 4°C, el nitrógeno aumentó, por otra parte, en situación de disponibilidad hídrica a temperatura de 4°C el nitrógeno disminuyó. Respecto al contenido de potasio, estaba influenciado por el factor temperatura ( $p > 0,001$ ), el cual fue muy significativo, y el factor agua, observándose que el mayor contenido de potasio se observó en situación de estrés hídrico a 18°C, además, no se observó diferencias significativas para el contenido en fósforo (ver tabla 4).

El tratamiento nutriente contribuyó en el aumento de la cantidad de nitrógeno en trigo ( $p=0,004$ ), en las gramíneas polares fueron los tratamientos agua ( $p=0,002$ ) y temperatura ( $p=0,006$ ) para *Pp* y temperatura ( $p=0,037$ ) en *Da*. Para los contenidos de potasio y fósforo no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, pero se observó que el tratamiento nutriente aumentó las cantidades de estos bioelementos respecto al tratamiento déficit de nutrientes.

<i>Triticum aestivum</i>			
Tratamientos	N total (g/100g peso seco)	K total (mg/kg peso seco)	P total (mg/kg peso seco)
WN4	3,265±0,211 ab	3,623±0,552 a	0,455±0,034 a
WN18	3,86±0,0424 a	3,43±0,283 a	0,555±0,077 a
SN4	3,676±0,24 a	3,722±0,502 a	0,502±0,061 a
SN18	3,29±0,582 ab	4,293±0,471 a	0,466±0,015 a
WD4	3,677±0,667 a	4,023±0,639 a	0,507±0,059 a
WD18	2,575±0,162 b	3,315±0,106 a	0,37±0,000 a
SD4	3,035±0,261 ab	2,9±0,764 a	0,43±0,141 a
SD18	2,687±0,298 b	3,49±0,517 a	0,363±0,116 a

**Tabla 2:** Composición en masa de nitrógeno (N), en masa de potasio (K) y en masa de fósforo (P) respecto a los tratamientos para *Triticum aestivum*. Los factores significativos fueron analizados por ANOVA de tres factores. Las diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ).

<i>Poa pratensis</i>			
Tratamientos	N total (g/100g peso seco)	K total (mg/kg peso seco)	P total (mg/kg peso seco)
WN4	2,4±0,00 ab	2,52±0,00 a	0,2±0,00 a
WN18	3,243±0,147 a	3,255±0,349 a	0,345±0,013 a
SN4	2,205±0,021 b	2,51±0,071 a	0,290±0,014 a
SN18	2,47±0,00 ab	2,86±0,00 a	0,32±0,00 a
WD4	2,51±0,00 ab	2,32±0,00 a	0,29±0,00 a
WD18	2,663±0,369 ab	2,923±0,273 a	0,280±0,026 a
SD4	1,97±0,00 b	2,22±0,00 a	0,25±0,00 a
SD18	2,525±0,12 ab	3,165±0,346 a	0,38±0,085 a

**Tabla 3:** Composición en masa de nitrógeno (N), en masa de potasio (K) y en masa de fósforo (P) respecto a los tratamientos para *Poa pratensis*. Los factores significativos fueron analizados por ANOVA de tres factores. Las diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ).

<i>Deschampsia antarctica</i>			
Tratamientos	N total (g/100g peso seco)	K total (mg/kg peso seco)	P total (mg/kg peso seco)
WN4	2,603±0,125 b	2,38±0,168 bc	0,395±0,057 a
WN18	3,086±0,128 a	2,844±0,179 ab	0,376±0,024 a
SN4	2,842±0,157 ab	2,204±0,212 c	0,348±0,036 a
SN18	2,805±0,345 ab	3,01±0,277 a	0,345±0,053 a
WD4	2,612±0,204 b	1,963±0,301 c	0,34±0,065 a
WD18	2,817±0,231 ab	2,845±0,307 ab	0,375±0,055 a
SD4	2,82±0,255 ab	2,355±0,272 bc	0,353±0,061 a
SD18	2,718±0,208 ab	2,855±0,142 ab	0,41±0,059 a

**Tabla 4:** Composición en masa de nitrógeno (N), en masa de potasio (K) y en masa de fósforo (P) respecto a los tratamientos para *Deschampsia antarctica*. Los factores significativos fueron analizados por ANOVA de tres factores. Las diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ).

## Correlación entre Fotosíntesis y LMA

La fotosíntesis y el LMA se correlacionaron negativamente en trigo y *Pp* ( $p < 0,001$ ), pero en *Da* la fotosíntesis y LMA no mostró una relación significativa (ver figura 18). Según la interpretación de Meziane y Shipley (2001), se supone que la masa de la hoja se asigna principalmente a la pared celular, con una menor asignación al citoplasma, por tanto, un mayor LMA debería desplazar el volumen del citoplasma y, por tanto, debería causar una menor tasa fotosintética. Además, Shipley et al. (2006) propusieron una hipótesis biológica que identificaba que la actividad metabólica (fotosíntesis, respiración) y el nitrógeno (clave para estas actividades metabólicas) deben estar en el citoplasma, ya que la masa seca de la hoja ocurre principalmente en las paredes celulares.

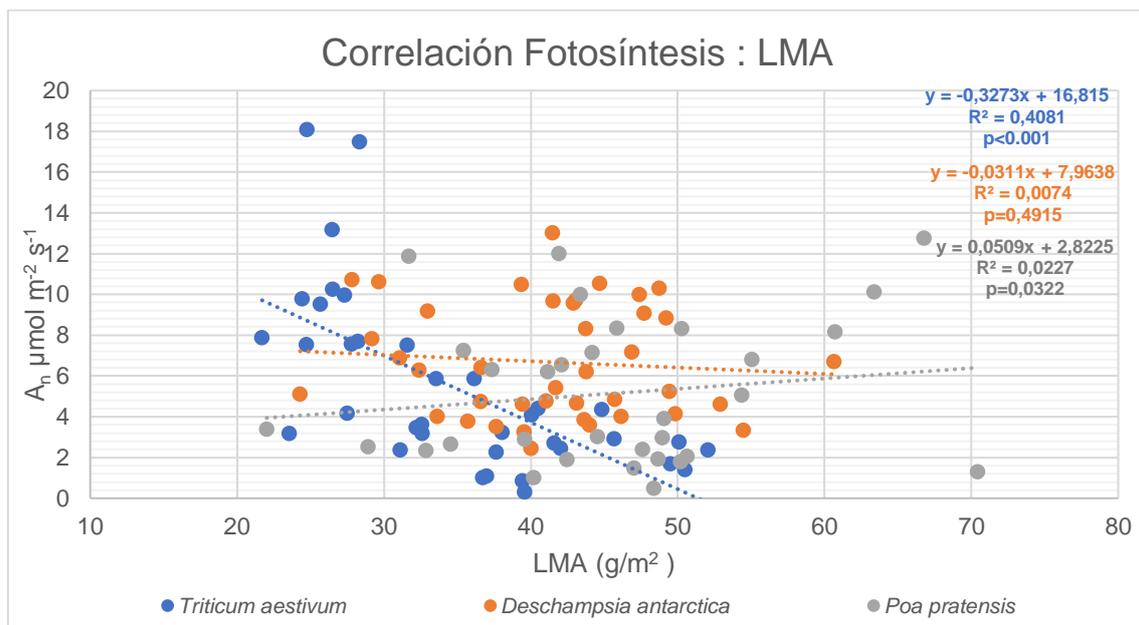


Figura 18: Correlaciones entre las tres gramíneas para Fotosíntesis ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) y LMA ( $\text{g/m}^2$ ).

## Correlación entre Fotosíntesis y ionómica

La fotosíntesis y el contenido de nitrógeno se relacionaron negativamente, tanto en *Pp* y en *Da*, esto se debe a que el nitrógeno se invierte en actividad metabólicas, por lo que una mayor cantidad de nitrógeno supondría una mayor tasa fotosintética (Ver figura 19A).

Respecto a la relación fotosíntesis y contenido de potasio, se mostró relaciones positivamente altas, ya que éste desempeña un papel importante en el crecimiento y controla la osmorregulación celular y el movimiento estomático de la fotosíntesis (Coskun et al. 2014). Por consiguiente, la tasa fotosintética y la conductancia estomática, tras una menor cantidad de K se reducirían (ver figura 19C). En la relación fotosíntesis y el contenido de fósforo se mostró correlaciones positivamente bajas (ver figura 19 E).

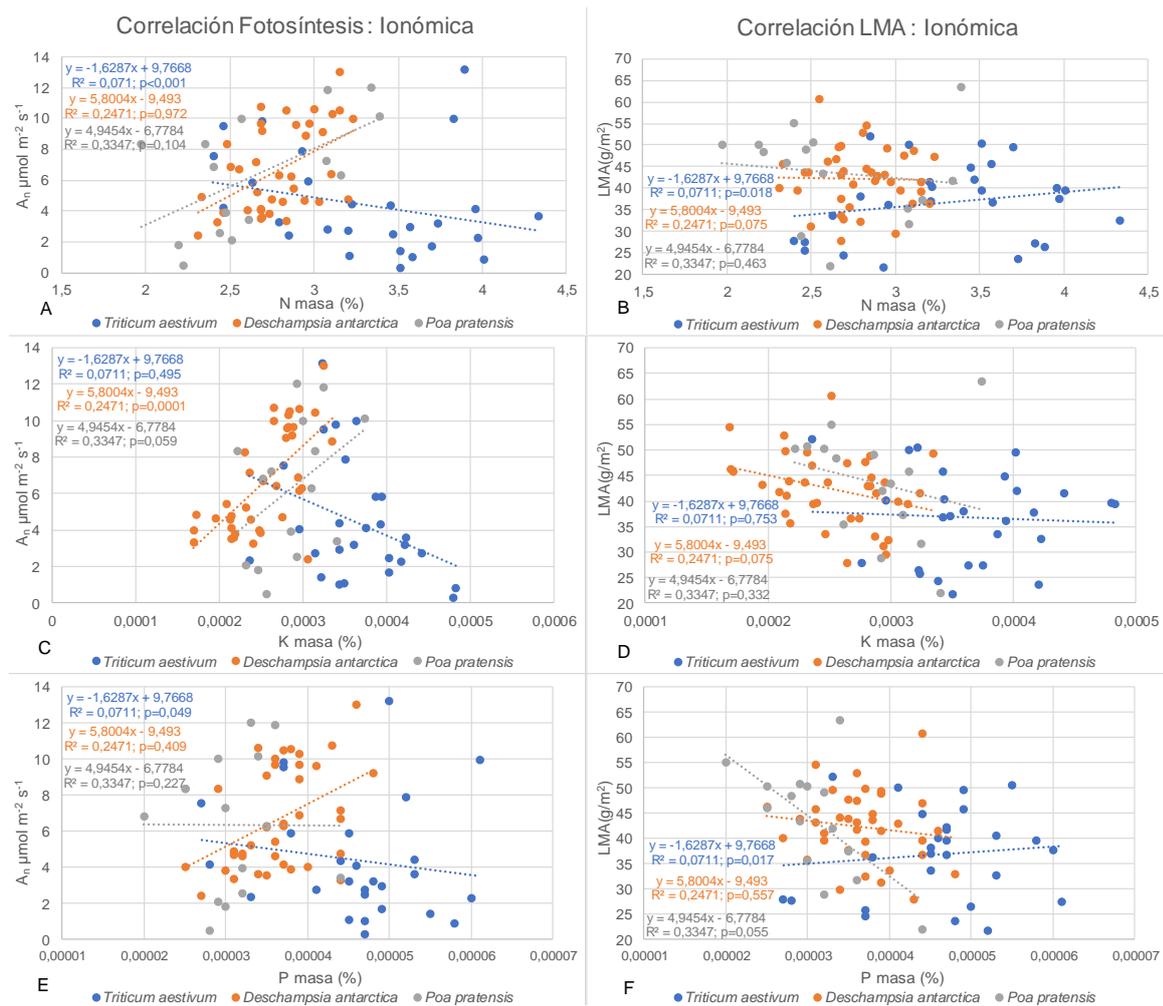
## Correlación entre LMA y ionómica

En relación al LMA y el contenido de nitrógeno, un valor alto de LMA causó una disminución del contenido de nitrógeno, ya que, en las paredes celulares hay más contenido de carbono que contenido de nitrógeno, por ello, la relación del LMA con el nitrógeno se mostró negativamente (ver figura 19B). El aumento del contenido de

nitrógeno causa un aumento en la tasa fotosintética, esto provoca un descenso de LMA, ya que el mayor contenido de nitrógeno se encuentra en el citoplasma (Meziane y Shipley 2001).

La relación de LMA y contenido de potasio mostró relaciones negativas para todas las especies (ver figura 19D), ya que según Noblin et al., (2008) expuso que el aumento de la longitud de vena por unidad de área foliar (VLA) aumenta el contenido en potasio foliar, pero eso solo es posible si las hojas son más delgadas.

Respecto a la relación LMA y contenido de fósforo, se presentó una relación negativa (ver figura 19F), puesto a que el fosforo es un componente importante en los ácidos nucleicos debería encontrarse en el núcleo, en los lípidos, en las membranas, y en las paredes celular, por tanto, el fósforo está en mayor parte en el citoplasma que en las paredes que determinan el LMA, además el fosforo se utiliza para la formación de ATP, y la formación de RuBisCO, componente enzimático importante para la fotosíntesis (Marschner 1995; Taiz y Zeiger 2010).



**Figura 19:** Correlaciones entre las tres gramíneas para fotosíntesis: Ionómica y LMA: Ionómica. A: relación fotosíntesis:N: en masa, B: relación LMA:N en área, C: relación fotosíntesis:K en masa, D: relación LMA:K en área, E: relación fotosíntesis:P en masa y F: relación LMA:P en área.

## Conclusión

Este trabajo contribuye a aumentar el conocimiento de la ecofisiología de las gramíneas polares y a comprender los procesos claves relacionados con la tolerancia de estas gramíneas a la adversidad del clima que presenta el Ártico y la Antártida, ya que en este trabajo se estudió la respuesta de la fotosíntesis a un rango de temperatura a nivel estructural y de inversión de recursos comparando dos grandes especialistas de clima fríos (*Pp* y *Da*) con una gramínea cultivable (trigo).

Según el análisis fisiológico que se realizó, se encontró que el trigo presentó mayor contenido de nitrógeno, fósforo y potasio respecto a las gramíneas polares y que aplicándole estrés hídrico y deficiencia de nutrientes tuvo un efecto sobre la cantidad de estos bioelementos. Además, el trigo mostró un contenido más bajo de LMA que *Pp* y *Da* a temperaturas bajas, por lo que, la pared celular fue afectada por el frío (temperatura a 4°C) y por condiciones de déficit hídrico. Sorprendentemente, se sabe poco sobre los cambios en la pared celular, esto resulta muy interesante para mejorar la comprensión a la tolerancia de estrés abiótico.

## Referencias

Apel, K., y Hirt, H. 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Plant Biology*, 55: 373 – 99.

Bertin, N., Gary, C., 1998. Short and long term fluctuations of the leaf mass per area of tomato: implications for growth models. *Annals of Botany*, 82: 71–81.

Bruuselma, T.W., Heffer, P., Welch, M.R., Cakmak, I. and Moran, K. (2012) Fertilizing crops to improve. Human health: A scientific review. IPNI, IFA.

Castro-Díez, P., Puyravaud, J.P., Cornelissen, J.H.C., 2000. Leaf structure and anatomy as related to leaf mass per area variation in seedlings of a wide range of woody plant species and types. *Oecologia*, 124: 476–486.

CEPAL. 2010. Agricultura y cambio climático: instituciones, políticas e innovación

Chaves, M.M. 1991. Effect of water deficits on carbon assimilation. *Journal of Experimental Botany*, 42: 1 – 16.

Chaves, M.M., Flexas, J. and Pinheiro, C. (2009) Photosynthesis under Drought and Salt Stress: Regulation Mechanisms from Whole Plant to Cell. *Annals of Botany*, 103, 551-560.

Chaves, M.M., Oliveira, M.M. 2004. Mechanisms underlying plant resilience to water deficit: prospects for water-saving agriculture. *Journal of Environmental Botany*, 55: 2365 – 2384.

Convey, P. 1996. Reproduction of Antarctic flowering plants. *Antarctic Science*, 8(2), 127-134.

Cornic, G., Massacci, A. 1996. Leaf photosynthesis under drought stress. In 'Photosynthesis and the environment' (Ed. NR Baker) pp. 347 – 366.

Coskun, D., Britto, D. T., Kronzucker, H. J. 2014. The physiology of channel-mediated K<sup>+</sup> acquisition in roots of higher plants. *Physiologia Plantarum*, 151: 305 – 312.

Davi, H., Bouriaud, O., Dufrene, E., Soudani, S., Pontallier, J.Y., le Maire, G., Francois, C., Bréda, N., Granier, A., le Dantec, V., 2006. Effect of spatial parameters aggregation for modelling carbon and water fluxes in forest ecosystems. *Agricultural and Forest Meteorology*, 139: 269–287.

Diemer, M. 1998. Leaf lifespans of high-elevation, aseasonal Andean shrub species in relation to leaf traits and leaf habit. *Global Ecology and Biogeography Letters*, 7: 457 – 465.

Dufrene, E., Davi, H., Francois, C., le Maire, G., Le Dantec, V., Granier, A., 2005. Modelling carbon and water cycles in a Beech forest. Part I: Model description and uncertainty analysis on modelled NEE. *Ecological Modelling*, 185(2–4): 407 – 436.

Enriquez, S., Duarte, C.M., Sandjensen, K. y Nielsen, S.L. 1996. Broad-scale comparison of photosynthetic rates across phototrophic organisms. *Oecologia*, 108: 197 – 206.

Faggioli, V.S., Cazorla, C.R., Vigna, A. and Berti, M.F. 2003. Fertilizantes biológicos en maíz: ensayo de inoculación con cepas de *Azopirillum* y *Pseudonomas fluorescens*. Córdoba, Argentina: Instituto Nacional de Tecnologías Agropecuaria, 4.

FAO. 2009. The State of Food Insecurity in the World 2009. Food and Agriculture of the United Nations.

Field, C. y Mooney, H. A. 1986. The photosynthesis–nitrogen relationship in wild plants. On the economy of plant form and function (ed. by T.J. Givnish), pp. 25–55. Cambridge University Press, Cambridge.

Flexas, J., Bota, J., Loreto, F., Cornic, G., Sharkey, T.D. 2004. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C<sub>3</sub> plants. *Plant Biology*, 6: 269 – 279.

Flexas, J., Díaz-Espejo, A., Berry, J.A., Cifre, J., Galmés, J., Kaldenhoff, R, 2007. Analysis of leakage in IRGA's leaf chambers of open gas exchange systems: quantification and its effects in photosynthesis parameterization. *Journal Experimental Botany*, 58: 1533–1543

Flexas, J., Diaz-Espejo, A., Galmés, J., Kaldenhoff, R., Medrano, H., Ribas-Carbo, M. 2007. Rapid variations of mesophyll conductance in response to changes in CO<sub>2</sub> concentration around leaves. *Plant, Cell & Environment*, 30: 1284 – 1298.

Florin, S., Gicu-Gabriel, A., Olimpia, L., Marius, B. 2015. Leaf area constant model in optimizing foliar area measurement in plants: A case study in apple tree. *Scientia Horticulturae*, 193: 218 – 224.

Frenot, Y., Chown, S., Whinam, J., Selkirk, P., Convey, P., Skotnicki, M., & Bergstrom, D. (2005). Biological invasions in the Antarctic: Extent, impacts and implications. *Biological Reviews*, 80(1): 45-72.

Fujita, M., Fujita, Y., Noutoshi, Y., Takahashi, F., Narusaka, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K. 2006. Crosstalk between abiotic and biotic stress responses: a current view from the points of convergence in the stress signaling networks. *Plant Biology*, 9: 436 – 442.

Gracia, C.A., Tello, E., Sabate, S., Bellot, J., 1999. GOTLWA: An integrated model of water dynamics and forest growth. In: Roda, F., Retana, J., Garcia, C.A., Bellot, J. (Eds.), *Impacts of Global Change on Tree Physiology and Forest Ecosystems*. Springer-Verlag, Berlin.

Green, D.S., Erickson, J.E., Kruger, E.L., 2003. Foliar morphology and canopy nitrogen as predictors light-use efficiency in terrestrial vegetation. *Agricultural and Forest Meteorology*, 115: 163–171.

Labate, C.A., Adcock, M.D., y Leegood, R.C. 1990. Effects of temperature on the regulation of photosynthetic carbon assimilation in leaves and barley. *Planta*, 181: 547 – 554.

Lawlor, D.W. 1995. The effects of water deficit on photosynthesis. In 'Environment and plant metabolism. Flexibility and acclimation.' (Ed. N Smirnoff) pp. 129–160. (BIOS Scientific Publisher: Oxford, UK)

Loneragan, J.F. 1997. Plant nutrition in the 20th and perspectives for the 21st century. *Plant and Soil*, 196: 163 – 174.

Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. Academic Press, London; San Diego.

Meziane D, Shipley B. 2001. Direct and indirect relationships between specific leaf area, leaf nitrogen and leaf gas exchange. Effects of irradiance and nutrient supply. *Annals of Botany*, 88:915 – 927.

Niinemets, U. 1999. Components of leaf dry mass per area — thickness and density — alter leaf photosynthetic capacity in reverse directions in woody plants. *New Phytologist*, 144: 35 – 47.

Noblin, X., Mahadevan, L., Coomaraswamy, I.A., Weitz, D.A., Holbrook, N.M., Zwieniecki, M.A. 2008. Optimal vein density in artificial and real leaves. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 105: 9140 – 9144.

Ort, D.R. 2001. When there is too much light. *Plant Physiology*, 125: 29 – 32.

Ortiz-Ospina, E., Roser, M. (2017) Financing Healthcare. Our World in Data. (<https://ourworldindata.org/financing-healthcare#empirical-view>)

Pertierra, L.R., Lara, F., Benayas, J. 2013. *Poa pratensis* L., current status of the longest-established non-native vascular plant in the Antarctic. *Polar Biology*, 36: 1473.

Rasband, W.S., 1997. ImageJ. U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, pp. 1997–2014. (<http://imagej.nih.gov/ij/>)

Reich, P.B., Walters, M.B. y Ellsworth, D.S. 1992. Leaf life-span in relation to leaf, plant, and stand characteristics among diverse ecosystems. *Ecological Monographs*, 62: 365 – 392.

Ruhland, C.T. and Krna, M.A. 2010. Effects of salinity and temperature on *Deschampsia antarctica*. *Polar Biology*, 33: 1007.

Salt, D. E., Baxter, I., and Lahner, B. 2008. Ionomics and the study of the plant ionome. *Annual Review Plant Biology*, 59: 709 – 733.

Shipley, B., Lechowicz, M.J., Wright, I., Reich, P.B. 2006. Fundamental trade-offs generating the worldwide leaf economics spectrum. *Ecology*, 87: 535 – 541.

Taiz, L., y Zeiger, E. 2010. *Plant physiology*. Sinauer Associates, Sunderland, Mass.

Turner, I.M. 1994. A quantitative analysis of leaf form in wood plants from the world's major broadleaved forest types. *Journal of Biogeography*, 21: 413 – 419.

Wirtz, K.W., 2000. Simulating the dynamics of leaf physiology and morphology with an extended optimality approach. *Annals of Botany*, 86(4): 753 – 764.

Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki K. 2006. Transcriptional regulatory networks in cellular responses and tolerance to dehydration and cold stresses. *Plant Biology*, 57: 781 – 803.