

Efecto del criterio de selección sobre los atributos determinantes de la estrategia de uso de nitrógeno en dos especies perennes de *Physaria* (Brassicaceae)

Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires, Área Ciencias Agropecuarias

Alejandro Pastor Pastor

Lic. Biología - Universidad de Alicante - 2010

Lugar de trabajo: Museo Paleontológico Egidio Feruglio



FAUBA

Escuela para Graduados Ing. Agr. Alberto Soriano
Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires



COMITÉ CONSEJERO

Director de tesis

Alejandra Elena Vilela

Lic. en Ciencias Biológicas (FCEN, UBA)

Doctor de la Universidad de Buenos Aires

Co-director

Luciana González-Paleo

Lic. en Ciencias Biológicas. (Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco)

Doctor en Ciencias Agropecuarias. (FA-UBA)

JURADO DE TESIS

JURADO

Analía L. Carrera

Licenciada en Ciencias Biológicas (Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco)

Doctora en Biología (Universidad Nacional del Comahue)

JURADO

Mario J. Pastorino

Ingeniero Forestal (Universidad Nacional de La Plata)

Doctor en Ciencias Forestales (Universidad de Göttingen)

JURADO

Lucas Borrás

Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires)

Doctor en Ciencias Agropecuarias (Universidad de Buenos Aires)

Fecha de defensa de la tesis: 01 de AGOSTO de 2019

A mis familias: en la que nací, las que he ido encontrando en la vida y la que he forjado.

*Tornarem a encendre el foc
d'este poble endormiscat
o serem per sempre naufrags
sense l'illa on naufragar.
(La penúltima, Els jóvens)*

AGRADECIMIENTOS

Hay mucha gente a la que quisiera agradecer su presencia, apoyo y/o cariño a lo largo de este calvari... mmm... experiencia maravillosa que ha sido confeccionar esta tesis. Sin todos vosotros este camino no hubiera sido tan completo como fue. Gracias a La Argentina y a su gente por darme la oportunidad de estar acá. Gracias a Alejandra por confiar en que podía hacerlo y guiarme en el camino (costó, pero ya llegamos a la meta). Gracias muy especiales y grandes a Luciana, por su tesón, buen hacer y, más importante, por su amistad.

En estos 6 años que ha durado el camino de la tesis, han sido decenas los rostros y voces que han pasado por esta humilde existencia *mía*. Todos y cada uno de ellos han contribuido a que el momento actual sea como es y a todos ellos estaré eternamente agradecido. Mil gracias a la *Alianza* por sostenerme cuando pensé que me caía y por regalarme (regalarnos entre todos y unos a otros) todas esas sonrisas y momentos. Al *Russo* por ser un amigo en el sur y a su familia (¿nos hacemos un vinagre?). A todos los compañeros del Mef. Al equipo *San Lorenzo* de Trelew. A aquellos pibes que me llevaron un día de fiesta recién llegado yo a La Patagonia. A la señora del quiosco de enfrente del Banco Nación... A toda la gente que en algún momento me regaló una sonrisa en Trelew. Muchas gracias también a todos los compañeros de la EPG, a los *biolokos*, a los compañeros de máster de la UA y a los camaradas de Escocia. Mil gracias a todos los docentes que he tenido en mi vida.

Tengo que agradecer muy especialmente a mi madre, padre, hermana y hermano (*des del Maigmo* al fin del mundo) y a Bea por el apoyo incondicional. Y a mi suegro, suegra, cuñados, cuñadas, tías, tíos, primos, a los *ronyis* y a la familia de los colegas por existir. A Bea y Pau porque no hay nada más bello y luminoso en este mundo. Al Baresito y a los *maxicos* (pues no habré llorado yo lágrimas en La Patagonia leyéndoos y echándoos de menos). A todos los que en algún momento me habéis soportado a mí y a mi amargo penar entre ANOVAs y análisis de correlación.

En fin, ahí va... *Compañero, una pregunta...*:

DECLARACIÓN

“Declaro que el material incluido en esta tesis es, a mi mejor saber y entender, original, producto de mi propio trabajo (salvo en la medida en que se identifique explícitamente las contribuciones de otros), y que este material no lo he presentado, en forma parcial o total, como una tesis en esta u otra institución”

Alejandro Pastor Pastor

PUBLICACIONES DERIVADAS DE LA TESIS

- Pastor-Pastor, A., Vilela, A.E., González-Paleo, L., 2018. Tradeoffs between productivity and nitrogen conservation in wild and domesticated plants of the perennial crop *Physaria* (Brassicaceae). *Annals of Applied Biology*, 173: 121-133.
- Pastor-Pastor, A., Vilela, A.E., González-Paleo, L., 2019. The root of the problem of perennials domestication: is selection for yield changing key root system traits required for ecological sustainability? *Plant and Soil*, 435:161-174.

ÍNDICE	
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN GENERAL	1
1.1.- Alternativas agrícolas para sistemas áridos.	1
1.2.- Efectos de la selección por rendimiento en la estrategia de uso de recursos en <i>Physaria</i> .	3
1.3.- Estrategia de uso de nitrógeno.	4
1.4.- Objetivos	6
1.4.1- Objetivos específicos	6
2.- MATERIALES Y MÉTODOS GENERALES	7
2.1.- Especies y esquemas de selección de accesiones	7
2.2.- Sitio de estudio y diseño experimental	9
CAPÍTULO II: COMPROMISOS ENTRE PRODUCTIVIDAD Y CONSERVACIÓN DE NITRÓGENO EN PLANTAS SILVESTRES Y DOMESTICADAS DEL CULTIVO PERENNE <i>PHYSARIA</i> (BRASSICACEAE)	11
1.-INTRODUCCIÓN	11
2.- MATERIALES Y MÉTODOS	13
2.1.- Análisis químico, partición de N y caracteres de uso y conservación	13
2.2.- Análisis estadístico	14
3.-RESULTADOS	15
3.1.- Efecto de la selección en la partición, uso y conservación de N.	15
3.2.- Compromisos entre rendimiento y conservación de N	17
4.- DISCUSIÓN	20
4.1.- Efecto del esquema de selección por alto rendimiento	20
4.2.- Efecto del esquema de selección por estabilidad de rendimiento	21
4.3.- Compromisos entre MRT y rendimiento: implicaciones para la domesticación de cultivos	22
4.4.- Conclusiones	23
CAPÍTULO III: LA SELECCIÓN POR RENDIMIENTO PROVOCA CAMBIOS EN LOS ATRIBUTOS RADICALES RELACIONADOS CON LA PERENNIDAD: ¿ESTAMOS EN LA RAÍZ DEL PROBLEMA DE LA DOMESTICACIÓN DE CULTIVOS PERENNES?	24
1.-INTRODUCCIÓN	24
2.- MATERIALES Y MÉTODOS	25
2.1.- Medidas del Sistema radical y análisis químico	25
2.2.- Análisis estadístico	27
3.- RESULTADOS	28
3.1- Efecto de la selección en la morfología radical en antesis	28
3.2.- Efecto de la selección en la morfología radical en madurez	30
3.3.- Efecto de la selección sobre la adquisición y el almacenamiento	32
3.4.- Relación entre caracteres y modelo adquisición-almacenamiento	32
4.-DISCUSIÓN	34
4.1.- Diferencias entre accesiones	34
4.2.- Cambios en raíz y efecto en la adquisición y almacenamiento	36
4.3.- Implicaciones para la domesticación de perennes.	37
4.4.- Conclusiones	38

CAPÍTULO IV: CAMBIOS EN LA ESTRUCTURA FOLIAR DEBIDOS A LA SELECCION ¿QUÉ RELACIÓN TIENEN CON LA CONSERVACIÓN DE N?	39
1.- INTRODUCCIÓN	39
2.- MATERIALES Y MÉTODOS	40
2.1.- Medidas de la hoja y análisis químico	40
2.2.- Análisis estadístico	41
3.- RESULTADOS	42
3.1.- Efecto de la selección sobre caracteres foliares	42
3.2.- Relación de los caracteres foliares con la conservación de N	44
4.- DISCUSIÓN	46
4.1.- Conclusiones	47
CAPÍTULO V: DISCUSIONES GENERALES	48
SUBCAPÍTULO 5.1: RELACIONES FUNCIONALES	48
1.- Cambios en el rendimiento y el destino de N retraslocado	49
1.1.- Hojas	49
1.2.- Raíz	50
2.- Cambios en la raíz y consecuencias en la hoja	51
3.- Cambios en la hoja y consecuencias en la raíz	52
4.- Implicaciones para la domesticación de cultivos perennes	53
SUBCAPÍTULO 5.2: DISCUSIONES EN EL MARCO DE LA SUSTENTABILIDAD DE LOS CULTIVOS PERENNES	54
1.- Selección de perennes: rendimiento y servicios ecosistémicos	54
2.- Atributos para el cultivo de perennes	56
3.- Fortalezas y debilidades de este análisis, nuevas vías y conclusiones	58
REFERENCIAS	60
MATERIAL ANEXO	72

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 2.1: Definición y unidades de caracteres de partición y uso de N	14
Cuadro 2.2: Fuentes de variación de caracteres de partición y de uso de N	16
Cuadro 2.3: Comparación de medias entre accesiones de los caracteres de partición y uso de N	17
Cuadro 2.4: Análisis de correlación entre caracteres asociados a la conservación y asociados a la productividad	18
Cuadro 3.1: Definición y unidades de caracteres radicales	27
Cuadro 3.2: Fuentes de variación en los caracteres radicales	29
Cuadro 3.3: Comparación de medias entre accesiones de los caracteres radicales en anthesis	30
Cuadro 3.4: Comparación de medias entre accesiones de los caracteres radicales en madurez	31
Cuadro 3.5: Análisis de correlación entre caracteres asociados con adquisición y asociados con almacenamiento	33
Cuadro 4.1: Definición y unidades de caracteres foliares	41
Cuadro 4.2: Fuentes de variación en los caracteres foliares	42
Cuadro 4.3: Comparación de medias entre accesiones en los caracteres foliares	43
Cuadro 4.4: Parámetros de las regresiones entre los caracteres foliares y el tiempo medio de residencia foliar del N	44

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1: Distribución temporal del rendimiento total de las accesiones	6
Figura 1.2: Fotografías de las especies estudiadas	8
Figura 1.3: Datos meteorológicos de los años de experimento	10
Figura 2.1: Correlación entre tiempo medio de residencia y rendimiento	19
Figura 2.2: Compromiso entre rendimiento y caracteres asociados a la conservación	19
Figura 2.3: Compromiso entre tiempo medio de residencia y caracteres asociados con la productividad	20
Figura 3.1: Análisis de la tasa de adquisición de N, el pool de N y el pool de TNC	32
Figura 3.2: Análisis de vías mostrando la relación de los caracteres radicales con la tasa de adquisición y el almacenamiento de reservas	34
Figura 4.1: Regresiones entre los caracteres foliares y el tiempo medio de residencia foliar del N	45
Figura 5.1: Relación entre caracteres foliares y rendimiento	49
Figura 5.2: Relación entre rendimiento y reservas en raíz	50
Figura 5.3: Relación entre caracteres radicales y proficiencia foliar	51
Figura 5.4: Cambios en la raíz y en la hoja durante el segundo año	52
Figura 5.5: Relación entre caracteres foliares y reservas radicales	53
Figura 5.6: Diagrama comparativo entre las tres accesiones	55
Figura 5.7: Posición de las líneas en función de su rendimiento y capacidad de conservación de N	57
Figura 5.8: Diagrama comparativo entre las accesiones y un grupo de plantas intermedio	58

RESUMEN

La domesticación de especies perennes adaptadas a ecosistemas áridos ha sido propuesta como una alternativa para incrementar la intensidad de cultivo en ambientes con baja disponibilidad de agua y nutrientes. Sin embargo, la selección por alto rendimiento provoca cambios indirectos en el uso y conservación de los recursos de las plantas perennes. Estos cambios podrían alterar cómo el N es adquirido, usado y almacenado, afectando así a la longevidad de la planta y a la estabilidad interanual del rendimiento. Usando la hierba perenne *Physaria* como modelo, comparé accesiones seleccionadas por alto rendimiento (R) y por estabilidad de rendimiento (E) con sus parientes silvestres (accesión S) para los atributos relacionados con: i) partición y uso de N a nivel de planta entera, ii) adquisición y almacenamiento de N y C a nivel radical y iii) uso y conservación de N a nivel foliar. El cambio de estrategia provocado por la selección por alto rendimiento aumentó la partición de N a semillas y disminuyó la partición a hojas y raíces y la capacidad de conservación de N a nivel de hoja y de planta. Las accesiones estables también incrementaron la partición a semillas, aunque mantuvieron un patrón de uso y conservación de N semejante al de las silvestres. A nivel de raíz, las accesiones R mostraron mayor tasa de adquisición de N y menor cantidad de reservas en la raíz (contenido de TNC y N) que las accesiones E y S. Las diferencias estructurales entre sistemas radicales de diferentes accesiones son parcialmente responsables de las diferencias en adquisición y almacenamiento, ya que encontré una relación negativa entre los caracteres asociados a la adquisición y los asociados a la creación de reservas. Por último, a nivel de hoja, las accesiones R mostraron una mayor pérdida de N por senescencia y una menor reabsorción desde tejidos senescentes, lo que contribuyó a reducir la capacidad de conservación de N foliar. En general, el cambio de estrategia en el uso de N implicó un aumento en la pérdida de nutriente y una reducción de la eficiencia de uso de N, su conservación y la cantidad de reservas de la planta, lo que podría explicar la pérdida de longevidad y de estabilidad de rendimiento en plantas seleccionadas. Las accesiones E y S mostraron un conjunto de atributos más conservativo que promueven la conservación de N y la creación de reservas. Este conjunto de atributos podría ser clave y no debería perderse en el proceso de domesticación de cultivos perennes para medios áridos.

PALABRAS CLAVE: NUE, tiempo medio de residencia de N, *Physaria mendocina*, *Physaria pinetorum*, reservas de N, tasa de adquisición, longevidad foliar, reabsorción.

ABSTRACT

Domestication of desert-adapted perennials has been proposed as an alternative to increase cropping intensity in low input environments. However, selection for high yield in perennial crops provokes indirect changes in plant resource use. These changes might alter how nitrogen is acquired, allocated, used and stored, thus affecting plant longevity and yield stability. Using the perennial forb *Physaria* as a model, I compared the pattern of N allocation, use and conservation in high yield accessions (R), and stable yield accessions (E), with their wild counterpart (S). The shift of strategy provoked by high yield selection implies changes in N allocation and a decrease in nitrogen use efficiency and conservation capacity at plant- and leaf-level. E accessions also increased allocation to seeds, although they kept the N use and conservation traits of their wild counterparts, remaining in an intermediate position between the R and S accessions. At root level, high yield accessions showed higher N acquisition rate and lower amount of reserves in roots (TNC and N pools) than stable and wild accessions. Structural differences in root systems may be partially responsible for differences in acquisition rate and storage among accessions. Besides, we found a negative relationship between seed-yield and N conservation capacity and their associated traits. At leaf level, R accessions showed higher leaf senescence and higher N concentration in senescent tissue than E and S, thus increasing N loss and reducing N conservation capacity. The shift of strategy provoked by high yield selection implies a decrease in nitrogen use efficiency, conservation capacity and N and C storage and may be behind the reduction of longevity and yield in subsequent years. Wild and stable accessions were more conservative and showed traits that promote nitrogen conservation. These are key traits that should not be lost during the selection process if breeders want to achieve the adequate ideotype of perennial crop for arid systems.

KEY WORDS: NUE, mean residence time, *Physaria mendocina*, *Physaria pinetorum*, N storage, N acquisition rate, leaf life span, N resorption.

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN GENERAL

1.1.-Alternativas agrícolas para sistemas áridos

El aumento de población esperado para las próximas décadas, que alcanzará 9600 millones de personas en 2050 (ONU, 2013), provocará un importante incremento en la demanda de productos alimenticios e industriales de origen agrícola (OCDE/FAO, 2014). Recientes estimaciones indican que, para cumplir con la demanda global, la producción debe aumentar un 60 % para el año 2050 (FAO, 2012). La intensificación y expansión agrícola para cumplir con estas necesidades ocasionará un aumento de la presión sobre los recursos hídricos y del suelo y generará importantes externalidades negativas (Spierz, 2010; Foley *et al.*, 2011), entre ellas la pérdida de hábitats y biodiversidad, aumento en el consumo y contaminación de aguas y suelos y pérdida de fertilidad (Horrigan *et al.*, 2002). En este escenario, el suelo se convierte en un recurso escaso a escala global (Lambin y Meyfroidt, 2011), por lo que resulta necesaria una producción más eficiente y ecológicamente sostenible (Robertson *et al.*, 2008).

Las áreas marginales (definidas de acuerdo a tres criterios: 1) tierras no adecuadas para la producción agrícola de alimentos, 2) tierras con recursos edáficos e hídricos limitantes, o 3) tierras donde la producción no es rentable; Shortall, 2013) han recibido amplia atención en los últimos tiempos y se ha propuesto que su integración en sistemas productivos podría favorecer la aparición de nuevos nichos de mercado y políticas medioambientales que impulsarían el desarrollo socioeconómico de las regiones implicadas (Hecht, 2010). Sin embargo, las áreas marginales son ambientalmente frágiles y su uso es ecológicamente arriesgado (Wiegmann *et al.*, 2008). Por este motivo su explotación plantea serias amenazas a la biodiversidad y a la provisión de servicios ecosistémicos y requiere de una planificación cuidadosa (Tilman *et al.*, 2009; Sheppard *et al.*, 2011).

Entre las áreas marginales, se ha propuesto que las zonas áridas y semiáridas tendrían potencial para la producción sostenible de materias primas para la industria (Wiley, 1984). Los sistemas áridos se caracterizan principalmente por una precipitación baja y muy variable, altas tasas de evapotranspiración, baja fertilidad, corta época de crecimiento y, como consecuencia, bajo rendimiento, y están en general severamente amenazados por procesos de degradación ligados a la desertificación (Noy-Meir, 1973). La solución tradicional a la baja productividad intrínseca de estos ambientes es la suplementación de los recursos limitantes (Jacobsen *et al.*, 2012), principalmente agua y nitrógeno, que en muchos casos ha generado un aumento de la degradación (García-Orenes *et al.*, 2012). Por ejemplo, en la Patagonia extra-andina muchas áreas presentan un grado de degradación entre moderado y severo debido principalmente a la cría de ganado y a la agricultura tradicional (Villagra *et al.*, 2009), que, además, pueden interaccionar negativamente con un clima en muchos casos riguroso.

Como alternativa a las producciones tradicionales se ha propuesto la domesticación de especies nativas de ambientes áridos con potencial para la producción de materiales de utilidad para la industria, medicina u otros usos (por ejemplo, McLaughlin, 1985; Ravetta y Soriano, 1998; Vilela *et al.*, 2009). Se han definido así una serie de criterios para la elección de especies candidato para ser domesticadas como nuevo cultivo: 1) bajos requerimientos de agua, 2) tolerancia a las condiciones ambientales extremas, 3) producción de algún compuesto de alto valor, 4) imposibilidad para ser cultivadas en zonas mésicas (McLaughlin, 1985). Ravetta y Soriano (1998) propusieron, además, que la implantación de un cultivo en zonas como la Patagonia estaría favorecida si el rendimiento del producto fuera promovido por las condiciones ambientales limitantes características de estas zonas (estrés hídrico, temperaturas

extremas, etc.). Más recientemente, se han identificado algunos caracteres eco-fisiológicos prometedores para el desarrollo de nuevos cultivos para zonas áridas, aunque aún no se ha llegado a un consenso sobre el ideotipo de planta adecuado para estos sistemas productivos (González-Paleo y Ravetta, 2011a; Van Tassel *et al.*, 2017).

En este contexto, los cultivos perennes emergen como una posible alternativa para aumentar la intensidad de cultivo en medios áridos previniendo la degradación ambiental (Glover, 2003; Ploschuk *et al.*, 2005; González-Paleo y Ravetta, 2012; Pimentel *et al.*, 2012). Los cultivos perennes han sido asociados a un conjunto de atributos (por ejemplo, elevada asignación a raíces, elevada longevidad y conservación eficiente del agua y los nutrientes; Absjorsnen *et al.*, 2014) con potenciales beneficios ecológicos (e.g. ganancia de materia orgánica en el suelo, reducción de pérdida de nitrógeno y uso de fertilizantes) en contraposición al uso de cultivos anuales (Gomiero *et al.*, 2011). Además, se presentarían como una alternativa para mitigar los efectos del cambio climático, ya que presentarían una mayor capacidad de ajuste a condiciones ambientales cambiantes y aumentarían el secuestro de carbono en el suelo (Pimentel *et al.*, 2012; Asbjornsen *et al.*, 2014).

Sin embargo, se ha indicado que los atributos asociados a la perennidad determinan bajos rendimientos debido al compromiso existente entre la asignación de recursos a reproducción y los asignados a supervivencia (Glover, 2003; DeHaan y Van Tassel, 2014; González-Paleo *et al.*, 2016a). Esto se basa principalmente en la teoría de la historia de vida (Stearns, 1989; Roff, 1992; Jackson y Jackson, 1999; Cox *et al.*, 2002; DeHaan *et al.*, 2005; Denison, 2012). Se asume la existencia de una relación negativa entre la producción anual de semillas (inversión en reproducción) y la inversión en tejidos vegetativos para la persistencia (inversión en perennidad; Van Dijk, 2009). Una mayor asignación a raíces, por ejemplo, significaría una menor disponibilidad de recursos para semillas (Cox *et al.*, 2006). En este sentido, la selección de plantas perennes para producción de grano no ha sido hasta el momento especialmente exitosa (con rendimientos entre 10 y 70 % de sus parientes anuales; Scheinost *et al.*, 2001; Sacks *et al.*, 2003; Sacks *et al.*, 2006). Sin embargo, algunos progresos se están produciendo en el rendimiento de algunas especies, incluyendo arroz (*Oryza sativa* L.; Sacks *et al.*, 2003; Sacks *et al.*, 2006), girasol (*Helianthus annuus* L.; Kantar *et al.*, 2014), centeno (*Secale cereale* (L.) M. Bieb.; Jaikumar *et al.*, 2012) y agropiro (*Thinopyrum intermedium* (Host) Barkworth and D. R. Dewey; Cox *et al.*, 2010).

A pesar de las dudas existentes sobre las limitaciones de su rendimiento (Smaje, 2015), el menor costo en insumos y la mayor resistencia al estrés de las plantas perennes (Bell *et al.*, 2008) podrían hacerlas ideales para áreas marginales. No obstante, muchas de las mejoras que se producen en el rendimiento se logran sacrificando caracteres adaptativos (Denison, 2012). Por ejemplo, se ha observado que, al seleccionar plantas perennes por alto rendimiento de granos, se produce un cambio de estrategia de conservativa a adquisitiva en la biomasa aérea de la planta (García-Palacios *et al.*, 2013; Vilela y González-Paleo, 2015; Vico *et al.*, 2016). Este cambio de estrategia supone un aumento de los requerimientos y de la partición a órganos aéreos y podría limitar la capacidad de la raíz para adquirir el agua y nutrientes necesarios a lo largo de la ontogenia (Cox *et al.*, 1985; Foulkes *et al.*, 2009). En este sentido, la selección por rendimiento de granos podría ser causa de la pérdida de atributos de alto valor ecológico y/o de acortar la vida de la planta y reducir la estabilidad interanual del rendimiento (Pimm, 1997; Van Tassel *et al.*, 2010; González-Paleo *et al.*, 2016a).

Para satisfacer las necesidades futuras de producción de bienes y sostenibilidad ambiental, debemos definir nuevos criterios de selección que nos permitan generar cultivos perennes multifuncionales que aúnen un rendimiento rentable con la aptitud

ecológica para impedir la degradación de los sistemas productivos. Por lo tanto, resulta conveniente desarrollar un programa de domesticación de especies perennes en el cual los criterios de selección busquen incrementar el rendimiento conservando los caracteres silvestres de relevancia para la provisión de servicios ecosistémicos diversos (Ryan *et al.*, 2018).

Entre las especies perennes candidatas a la domesticación y puesta en cultivo, existen varias del género *Physaria* [(Nutt.) A. Gray] (syn. *Lesquerella*, Brassicaceae), elegidas por su composición en ácidos grasos hidroxi- en la semilla (Thompson y Dierig, 1994). Además, este género ha sido considerado un buen modelo para trabajos comparativos entre líneas silvestres y seleccionadas (González-Paleo y Ravetta, 2011a; 2011b; 2012; 2015; 2016), ya que, a diferencia de la mayoría de los cultivos de grano tradicionales, existen líneas en diferentes estadios del proceso de selección y se cuenta con las perennes silvestres originales para comparar. Algunos de estos trabajos se han centrado en el efecto de la selección sobre los atributos relacionados con la perennidad de la planta (Ploschuk *et al.*, 2005; González-Paleo y Ravetta, 2012). En general, estos trabajos se han centrado en el estudio de la economía del C comparando accesiones seleccionadas y no seleccionadas a nivel de hoja y biomasa aérea y son pocos los estudios realizados sobre caracteres radicales o economía del N.

1.2.- Efecto de la selección por rendimiento en la estrategia de uso de recursos en *Physaria*.

Se han estudiado varias especies de *Physaria* con diferente historia de vida, entre ellas las perennes *P. mendocina* [(Phil) Kurtz] y *P. pinetorum* (Wootton y Standley), y las anuales *P. gracilis* [(Hook.) Watson] y *P. angustifolia* (Nutt.). Se ha observado que estas especies se distribuyen en un gradiente de estrategias según los atributos asociados a la economía del C. En este continuo, un extremo estaría ocupado por plantas con perfiles conservativos que permitirían una menor pérdida de recursos, pero también menor captura, mientras que el otro extremo estaría ocupado por plantas con un perfil adquisitivo que permitiría una mayor captura de nutrientes, pero también una mayor pérdida. El extremo conservativo está ocupado por *P. mendocina* (con menor área foliar específica (SLA por sus siglas en inglés *specific leaf area*), hojas más longevas y mayor asignación a raíces) y el adquisitivo por *P. gracilis* (mayor SLA, hojas menos longevas y asignación preferencial a estructuras reproductivas), mientras que *P. pinetorum* y *P. angustifolia* ocupan lugares intermedios, siendo *P. pinetorum* ligeramente más adquisitiva que *P. angustifolia* (González-Paleo y Ravetta, 2012).

El conjunto de caracteres encontrado en líneas seleccionadas por alto rendimiento de granos se acerca al de especies adquisitivas y de rápido crecimiento, lo que podría indicar que la selección disminuiría la tolerancia a la baja disponibilidad de recursos (González-Paleo y Ravetta, 2011a). Entre los cambios provocados por la selección por rendimiento de granos en *Physaria*, se encuentra la disminución de reservas carbonadas en la raíz y un cambio en la jerarquía de asignación de carbono, priorizando destinos reproductivos (González-Paleo y Ravetta, 2011a; Vilela y González-Paleo, 2015; González-Paleo *et al.*, 2016a). También se ha observado un aumento de SLA y de asimilación de carbono en hojas de plantas seleccionadas (González-Paleo y Ravetta, 2011a). Estos cambios en la estructura foliar y en la partición de C podrían implicar variaciones en la estrategia de uso del N, ya que podrían modificar los patrones de asignación (por ejemplo, más N asignado a tejido fotosintético) y la longevidad de los tejidos (señalada como uno de los principales mecanismos de conservación de N; Pornon *et al.*, 2011).

Hasta el momento, se ha utilizado el sistema de especies anuales y perennes de *Physaria* para evaluar la estrategia de adquisición y uso del C (González-Paleo y Ravetta, 2011b, 2012; Vilela y González-Paleo, 2015). Sin embargo, el N es el principal nutriente limitante en zonas áridas (Schlesinger *et al.*, 1996) y los mecanismos y atributos implicados en su adquisición, uso y conservación son críticos para el crecimiento, competencia y supervivencia de la planta (Eckstein *et al.*, 1999). Es necesaria una mejor comprensión de la partición de N en especies perennes, de los mecanismos de conservación y de sus patrones de cambio con la selección, ya que es probable que exista un balance óptimo entre conservación y productividad en un punto intermedio entre la estrategia observada en sistemas naturales y la observada en sistemas agrícolas convencionales (Dawson *et al.*, 2008).

1.3.-Estrategia de uso de nitrógeno.

El patrón de asignación de N y el conjunto de atributos implicado en su adquisición, conservación y uso determinan la capacidad de la planta para sobrevivir y reproducirse (Eckstein *et al.*, 1999). Variaciones en estos atributos deberían poder ser detectados mediante la caracterización de la estrategia de uso de N y su relación con el rendimiento y la longevidad. Se han propuesto diversos índices para caracterizar los flujos de N planta-ambiente, cuantificar la adaptación/aclimatación a cambios en la disponibilidad de N, comparar la estrategia de uso de N de plantas con diferentes historias de vida, y para determinar las relaciones funcionales que existen entre diversos caracteres y el uso de N (Silla y Escudero, 2004; Iversen *et al.*, 2010; Hirose, 2011; Lü *et al.*, 2014). En general, estos índices están formados por componentes que hacen referencia a los distintos niveles de procesamiento de nitrógeno: adquisición, asimilación, conservación y utilización (McAllister *et al.*, 2012). Cada índice posee sus ventajas y desventajas y resulta necesario definir bien los objetivos de un estudio con el fin de seleccionar el índice que mejor se ajuste (Xu *et al.*, 2012). En agroecosistemas convencionales, generalmente, se evalúa la eficiencia en el uso del N teniendo en cuenta la eficiencia con la que el cultivo utiliza el N disponible en el suelo para producir biomasa o grano (Moll, 1982; Good *et al.*, 2004). Esto se debe a que en estos sistemas no resulta de interés la conservación interna de este recurso ya que no es limitante. En ambientes áridos, sin embargo, el N disponible es escaso y la estrategia de uso que mejor se ajusta es un reciclado y conservación eficiente.

En este contexto, la eficiencia de uso de N (NUE, por sus siglas en inglés *nitrogen use efficiency*) puede ser definida como el producto de la productividad de N (A_N) y el tiempo medio de residencia (MRT por sus siglas en inglés *mean residence time*; Berendse y Aerts, 1987). A_N es una medida de cuán eficientemente se utiliza el N para producir biomasa (i.e., biomasa producida por unidad de tiempo y de N adquirida). MRT es una medida de cuán eficientemente se conserva el N y se define como el periodo medio durante el cual el nitrógeno puede ser utilizado para la fijación de carbono. Otro componente importante incluido en otros índices propuestos es la adquisición de N (Bridgham *et al.*, 1995; Pastor y Bridgham, 1999) y la reabsorción desde tejidos senescentes (Killingbeck, 1996).

Por un lado, las perennes silvestres adaptadas a crecer en ambientes con baja disponibilidad de N minimizan las pérdidas a través de tejidos senescentes, aumentando la NUE mediante mayor tiempo medio de residencia del N en la planta (MRT; Berendse y Aerts, 1987; Aerts y van der Peijl, 1993; Yuan *et al.*, 2006). Las hojas más longevas, menos productivas y con mayor inversión a tejidos de protección o defensa de las especies perennes, se han asociado a un mayor tiempo de retención de los nutrientes (Escudero *et al.*, 1992; Aerts, 1995; Wright *et al.*, 2002). Por otro lado, las plantas

domesticadas se comportan como especies de crecimiento rápido, cercanas al extremo adquisitivo (García-Palacios *et al.*, 2013; Milla *et al.*, 2015). Estas plantas presentarían una elevada productividad de N (A_N) y un conjunto de caracteres como elevada SLA, baja longevidad foliar y baja asignación de recursos a estructuras de persistencia (Reich *et al.*, 1997) que determinarían una baja eficiencia en la conservación de N.

Si bien se observa que un incremento en la productividad de N ha contribuido a aumentar el rendimiento en ambientes no limitantes (Hirel *et al.*, 2007), en ambientes con baja disponibilidad de N, una mayor eficiencia en la adquisición y, particularmente, una adquisición sostenida tras la anthesis a menudo mejora la NUE y el rendimiento (Hirel *et al.*, 2007; Fageria, 2009; Bingham *et al.*, 2012; White *et al.*, 2013). Teniendo en cuenta estas relaciones, la selección por alto rendimiento generaría indirectamente una mayor adquisición a expensas de la pérdida de atributos de la raíz determinantes de la perennidad (por ejemplo, un mayor desarrollo de la raíz principal que permitiera un mayor almacenamiento de reservas; DeHaan y Van Tassel, 2014). Por otro lado, el aumento de rendimiento observado en líneas seleccionadas está sustentado por cambios ocurridos en la estructura y funcionamiento foliar (por ejemplo, aumento del SLA y la asimilación; González-Paleo y Ravetta, 2011a). Aumentos en el área foliar y en la fuerza de los destinos reproductivos (por ejemplo, cambios en el índice de cosecha) podrían, a su vez, alterar los patrones de reabsorción de N y de la longevidad y senescencia foliar (Pornon *et al.*, 2011).

De esta manera, los efectos de la selección sobre la estrategia de uso de N y su relación con el rendimiento y la longevidad de la planta, deben ser caracterizados a tres niveles: (1) uso y conservación a nivel de planta, (2) adquisición a nivel de sistema radical y (3) uso y conservación a nivel foliar.

Algunas de las preguntas que aún quedan por responder sobre el efecto de la selección en la estrategia de uso de N en plantas perennes a estos niveles son: (1) ¿Es posible mantener los patrones de uso y conservación de N de las plantas perennes al domesticarlas para cultivo? ¿La estrategia conservativa en el uso del N típica de perennes silvestres está relacionada con la estabilidad del rendimiento de granos? (2) ¿Qué cambios produce la selección en la estructura del sistema radical? ¿Están estos cambios relacionados con variaciones en la tasa de adquisición o la cantidad de reservas? (3) ¿Difieren las hojas entre accesiones? ¿Las diferencias en las hojas, si existen, afectan la capacidad de conservación de N?

Para contestar estas preguntas se cuenta con un sistema experimental con accesiones seleccionadas mediante dos criterios: selección por alto rendimiento de granos durante el primer año (accesiones R) y por estabilidad interanual de rendimiento (accesiones E), además de las accesiones silvestres (S). El término *accesión* es descrito como la progenie de plantas seleccionadas por un criterio específico. En este caso, el uso de estos criterios de selección es responsable de las diferencias en la distribución temporal del rendimiento de granos observado en las tres accesiones (Fig. 1.1). Las accesiones de alto rendimiento (R) concentran su rendimiento durante el primer año de vida y, debido al cambio producido en su estrategia de uso de recursos, su rendimiento es más vulnerable a la variabilidad ambiental (González-Paleo y Ravetta, 2011a). Las accesiones de rendimiento estable (E) presentan un rendimiento total igual al de las R, pero la distribución interanual de este rendimiento no está concentrada en el primer año, sino que sería estable durante la vida de la planta. Por último, las accesiones S presentan un bajo rendimiento que se compensa con una longevidad mayor de 4 años. Esta accesión, además, presentaría una baja dependencia de suministros externos y su rendimiento sería menor pero menos vulnerable a cambios ambientales gracias a su estrategia conservativa (González-Paleo, 2010).

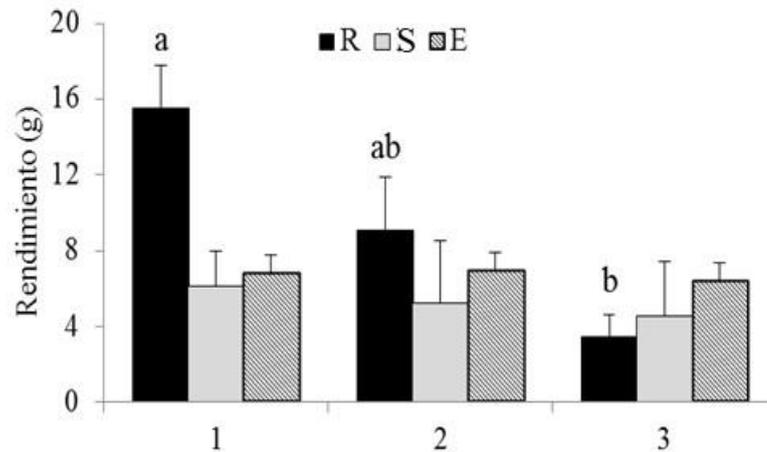


Figura 1.1: Distribución temporal del rendimiento de granos total de las accesiones seleccionadas por alto rendimiento (R), las accesiones silvestres (S), y las accesiones estables (E), durante los tres años de vida de la planta (1, 2, y 3). Diferentes letras muestran diferencias significativas ($P < 0,05$) entre años para una misma accesión. Extraída de González-Paleo (2010).

1.4.- OBJETIVOS

El objetivo general es determinar en especies perennes de *Physaria* (Brassicaceae) los cambios producidos por la selección en atributos estructurales y funcionales de la hoja y la raíz asociados a la estrategia de uso de N.

1.4.1- Objetivos específicos por capítulo

Capítulo II:

Objetivo 1: Evaluar el efecto del esquema de selección (alto rendimiento o estabilidad del rendimiento) sobre el patrón de partición de N (asignación relativa de N a semilla, estructuras reproductivas, tallo, hojas y raíces y concentraciones de N en estos órganos).

Objetivo 2: Evaluar el efecto del esquema de selección sobre el patrón de uso y conservación de N (NUE, MRT y A_N a nivel foliar y de planta y otros atributos asociados como la cantidad de N perdido anualmente o la tasa de adquisición).

Objetivo 3: Evaluar la existencia de compromisos entre la productividad como rendimiento de semilla y la capacidad de conservación de N y sus caracteres asociados.

Capítulo III:

Objetivo 1: Evaluar el efecto de dos esquemas de selección sobre los caracteres radicales relacionados con la adquisición de N y la capacidad de almacenamiento.

Objetivo 2: Determinar los caracteres estructurales responsables de los cambios en la capacidad de adquisición y el almacenamiento de reservas durante la selección.

Capítulo IV:

Objetivo 1: Evaluar el efecto del esquema de selección sobre los caracteres foliares relacionados con el uso de N y su conservación.

Objetivo 2: Evaluar el efecto de los cambios en los caracteres foliares sobre la conservación de N a nivel foliar (medido como MRT_{Hoja}) y con el rendimiento.

2.- MATERIALES Y MÉTODOS GENERALES

2.1.- Especies y esquemas de selección de accesiones

El género *Physaria* ha sido propuesto como un potencial nuevo cultivo oleaginoso para los valles irrigados de la Patagonia (Argentina), debido a que contiene altos niveles de ácidos grasos hidróxidos similares a los del aceite de castor (ácidos lesquerólico, auricólico y densipólico; Dierig *et al.*, 1993); y porque exhibe caracteres morfológicos, fisiológicos y fenológicos que podrían contribuir a incrementar la sostenibilidad ecológica y económica en ambientes marginales (Ravetta y Soriano, 1998; Ploschuk *et al.*, 2001; González-Paleo y Ravetta, 2011a).

En este experimento usé tres accesiones de dos especies perennes, *Physaria mendocina* y *P. pinetorum*: silvestre (S), alto rendimiento (R) y estable (E). Ambas especies presentan una roseta basal que se ramifica y lignifica con el paso del tiempo (Fig. 1.2). *Physaria mendocina* es una planta erecta de entre 2,5 y 20 cm de altura en estado silvestre, presenta pelos estrellados densos. Mientras que *P. pinetorum* presenta una estructura más rastrera con tallos reproductivos que se erigen sobre la roseta basal. Las hojas basales de ambas especies son pecioladas, con lámina elíptica, margen entero o levemente dentado o sinuado-dentado, más dentadas en *P. mendocina* que en *P. pinetorum*; las hojas caulinares son similares a las basales, aunque más pequeñas que las basales. Presentan inflorescencias terminales, condensadas, que aparecen generalmente durante el mes de octubre en el hemisferio sur y se alargan durante la fructificación más prominentemente en *P. mendocina* formando lo que en esta tesis se ha denominado estructuras de soporte reproductivo. Pétalos amarillos de 7-10 mm de longitud. Silícula globosa, pubescente. Semillas subesféricas, más grandes en *P. mendocina* que en *P. pinetorum*. *Physaria mendocina* es una especie nativa de la Argentina y se encuentra en regiones áridas, montañosas y serranas desde el noroeste hasta la Patagonia, común en suelos calcáreos (Prina, 1995). *Physaria pinetorum* se distribuye por zonas áridas de los estados en Arizona y Nuevo México en Estados Unidos (www.eFloras.org). *Physaria mendocina* presenta una mayor longevidad y una estrategia más conservativa que *P. pinetorum*: crecimiento más lento, menor producción de biomasa y semilla y una elevada inversión en raíces y almacenamiento especialmente en el desarrollo de una raíz pivotante que puede llegar a superar los 50 centímetros en plantas de 3 años; también presenta hojas más longevas y de menor SLA. *Physaria pinetorum* presenta una estrategia intermedia entre la conservativa típica de especies perennes y la adquisitiva de un perfil anual. Estas diferencias en estrategia y longevidad permitirán, a su vez y como objetivo secundario de esta tesis, testear si la selección actúa diferencialmente en función de la longevidad y tipo de estrategia de la especie seleccionada. Las tres accesiones utilizadas en esta tesis fueron seleccionadas por diferentes criterios (González-Paleo, 2010):

1.- ACCESIONES SILVESTRES (S): Germoplasma obtenido de parcelas de mejoramiento que fueron establecidas a partir de semillas recolectadas de poblaciones silvestres de cada una de las especies (sin selección). Se obtuvieron semillas silvestres de poblaciones nativas de las dos especies estudiadas: *P. pinetorum* originaria de Arizona y *P. mendocina* originaria de Argentina. Estas semillas fueron cultivadas en el valle inferior del río Chubut y su descendencia seleccionada para generar las accesiones utilizadas en este estudio.

2.- ACCESIONES DE ALTO RENDIMIENTO (R): Germoplasma recolectado de poblaciones silvestres seleccionado por alto rendimiento de grano durante cuatro ciclos de cultivo. El criterio de selección fue rendimiento en peso seco de semillas por planta individual aplicado en plantaciones creciendo en un experimento de jardín común en el valle del río Chubut (160 plantas por especie). Las cuatro plantas más productivas

fueron seleccionadas y sus semillas usadas para producir las nuevas generaciones de la plantación.

3.- ACCESIONES DE RENDIMIENTO ESTABLE (E): Obtenidas a partir de plantas seleccionadas por su bajo coeficiente de variación en el rendimiento ($CV_{\text{rendimiento}}$) a lo largo del tiempo durante 3 años consecutivos ($CV_{\text{rendimiento}} < 0,5$). $CV_{\text{rendimiento}}$ en *P. mendocina* fue 0,43; mientras que en *P. pinetorum* fue 0,36; con un máximo de 1,25.



Figura 1.2: Imágenes de las dos especies estudiadas. En la zona superior izquierda, roseta basal de *Physaria mendocina*. En la zona superior derecha, *P. mendocina* en floración. En la zona inferior izquierda, *Physaria pinetorum* en estadio de roseta. En la zona inferior derecha, *P. pinetorum* en floración.

Las accesiones silvestres de ambas especies fueron la fuente de germoplasma para generar las accesiones seleccionadas (R y E) a través de selección de biomasa de semilla (González-Paleo, 2010). En los dos experimentos realizados en el marco de esta tesis, las accesiones R de ambas perennes presentaron mayor biomasa y rendimiento ($F=21,51$; $gl=2, 60$; $P<0,0001$; $32,3 \pm 2,5$ g de peso seco por planta; $F=27,09$; $gl=2, 60$; $P<0,0001$; $11,5 \pm 0,9$ g peso seco de semilla por planta) que las E ($15,1 \pm 1,6$ g de peso seco por planta, y $4,5 \pm 0,6$ g de semilla por planta) y las S ($19,7 \pm 3,4$ g peso seco por planta, y $4,5 \pm 0,5$ de semilla por planta). Las accesiones E y S no difirieron en biomasa ni rendimiento.

El ciclo de cultivo de las especies evaluadas en este trabajo comienza a fines de febrero, momento en que se realiza la siembra. Las plantas permanecen en estado vegetativo (roseta) durante el invierno, y florecen en septiembre-octubre. Las semillas pueden cosecharse en el estado de madurez fisiológica, aproximadamente desde mediados de diciembre a fines de enero. La siembra de primavera no es conveniente

debido a que una menor duración de la etapa vegetativa ejerce un efecto negativo sobre el rendimiento (Ploschuk *et al.*, 2003; González-Paleo *et al.*, 2016b). Las especies de *Physaria* presentan hábito reproductivo alógamo (Dierig *et al.*, 1993), y se ha reportado en algunas especies de este género (ejemplo *P. gordonii* A. Gray) que la polinización es cruzada (Roetheli *et al.*, 1991). La selección para desarrollar una línea comercial con hábito autógamo ha comenzado a realizarse en la especie comercial *P. fendleri* (Dierig *et al.*, 1993). El contenido de aceite de las poblaciones silvestres de las especies evaluadas en esta tesis es cercano al 20 % (18,9 % para *P. mendocina*, 20,9 - 21,8 % para *P. pinetorum*; González-Paleo, 2010).

2.2.- Sitio de estudio y diseño experimental

Llevé a cabo dos experimentos de campo totalmente aleatorizados en 2013/14 y 2015/16 en el valle inferior del río Chubut, próximo a la localidad de Trelew (Provincia de Chubut) (43° 18' 14'', 65° 19' 08''; a una altitud de 11 metros sobre el nivel del mar). Los experimentos fueron emplazados en un predio propiedad de la Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco (Sede Trelew). Ambos experimentos tuvieron 2 factores: Especies (dos niveles: *P. mendocina* y *P. pinetorum*) y esquema de selección o accesión (tres niveles: silvestre, o sin selección -S-; selección por alto rendimiento -R-, y selección por estabilidad del rendimiento -E-). La unidad experimental fue la parcela (seis parcelas por accesión, especie y año distribuidas en forma totalmente aleatorizada, para un total de 72 parcelas entre ambos experimentos). Cada parcela ocupó un área de un metro cuadrado.

Realicé las siembras a mediados de febrero (de 2013 y 2015, respectivamente) en bandejas de germinación llenas con suelo, turba y arena en igual proporción y se mantuvieron en invernadero recibiendo un 80 % de la luz exterior. y un rango de temperatura de 15 a 25 °C (medias de temperaturas diurna y nocturna). Las plántulas fueron trasplantadas al campo 45 días después de la siembra (a principio de abril). La densidad de la plantación fue de 16 plantas m⁻², ordenadas en filas separadas entre sí por 0,40 m y con un distanciamiento en la fila de 0,17 m. La densidad fue suficientemente baja como para evitar un efecto negativo por competición en la biomasa final, en la probabilidad de floración y en el rendimiento (Brahim *et al.*, 1998). Apliqué riego por manto a capacidad de campo cada 20-30 días desde septiembre hasta abril inclusive en función de las condiciones ambientales y las necesidades de las plantas, ya que el área presenta un balance hídrico negativo (Cabrera, 1994). Controlé manualmente las malezas. Apliqué Etilen bis ditiocarbamate-zinc (T.N. zineb, 2 g/L) y 2-metoxicarbamoil-bencimidazol (T.N. carbendazim, 0,5 cm³/L) mensualmente para evitar daño por infecciones fúngicas. No se aplicó fertilización.

El área de cultivo se caracteriza por un suelo de tipo arcilloso con un bajo grado de desarrollo y baja fertilidad (2,16 % de materia orgánica, 0,13 % de N total; 11,7 ppm de P extraíble). El clima es semidesértico con condiciones mediterráneas, con inviernos fríos y húmedos y veranos secos. En esta área la precipitación media anual es de 179 mm y la temperatura media de 13,4 °C para el periodo 1971-2015 (datos provistos por la estación meteorológica de la Estación Experimental Trelew del INTA). Las temperaturas extremas mínima y máxima absolutas históricas para el periodo 1971-2016 son -14,6 y 42,3 °C, respectivamente.

Para la caracterización climática correspondiente a los años durante los que se llevaron a cabo los ensayos se recurrió a los datos provistos por la estación meteorológica de la Estación Experimental Trelew del INTA (43° 16' 21'', 65° 21' 41''; situado a aproximadamente 4 kilómetros de distancia). La precipitación durante la temporada 2013/14 fue cercana a la media, mientras que en la temporada 2015/16 fue

menor (184,2 vs 107,5 mm). La temperatura media fue similar en ambas temporadas (13,6 °C vs 13,8 °C), aunque en octubre de 2015 la temperatura fue más baja que en octubre de 2013, coincidiendo con la floración. Las temperaturas extremas mínima y máxima durante los períodos en que los experimentos estuvieron en funcionamiento fueron de $-6,5$ y $-8,6$ °C (julio de 2013 y 2015, respectivamente) y $40,2$ y $37,6$ °C (enero de 2014 y marzo de 2015, respectivamente). En la temporada 2013-2014, la precipitación registrada estuvo dentro de la media normal, mientras que la temporada 2015-2016 fue más seca que la media histórica, principalmente debido a diferencias ocurridas al final del verano, otoño e invierno, periodos estos dos últimos en los que el riego no está disponible y las plantas se encuentran en estado vegetativo. Así, a pesar de la disponibilidad de riego durante primavera y verano, la temporada 2015-2016 reunió unas condiciones hídricas menos favorables que la temporada 2013-2014, ya que durante el crecimiento vegetativo el aporte de recursos hídricos fue mucho menor. Estas restricciones durante la etapa vegetativa y la escasez de agua en las primeras etapas de floración debido a un otoño e invierno secos podrían limitar el crecimiento o afectar al desempeño ecofisiológico de las plantas.

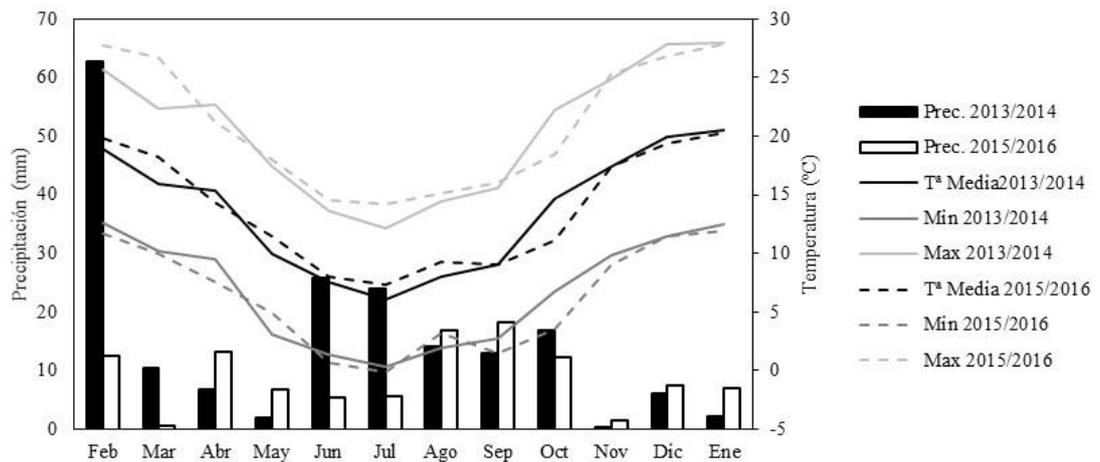


Figure 1.3: Patrón mensual de precipitación y temperaturas durante el periodo abarcado por ambos experimentos. Datos correspondientes a la estación meteorológica del INTA en Trelew.

Las mediciones, análisis químicos y análisis estadísticos específicos se describen en cada capítulo. La nomenclatura de las variables se ha mantenido en algunos casos con sus siglas en inglés de acuerdo con la literatura específica.

CAPÍTULO II: COMPROMISOS ENTRE PRODUCTIVIDAD Y CONSERVACIÓN DE NITRÓGENO EN PLANTAS SILVESTRES Y DOMESTICADAS DEL CULTIVO PERENNE *Physaria* (BRASSICACEAE)

1.- INTRODUCCIÓN

La domesticación de especies perennes y su desarrollo como cultivo se ha propuesto como una solución alternativa para incrementar la intensidad ecológica de cultivo en ambientes con baja disponibilidad de recursos (Van Tassel *et al.*, 2017). Esta opción podría reducir los requerimientos y pérdidas de N (Crews y Peoples, 2005; Asbjornsen *et al.*, 2014; Crews *et al.*, 2016) e incrementar la estabilidad del rendimiento (González-Paleo y Ravetta, 2011a), ya que las perennes exhiben un conjunto de caracteres (por ejemplo: baja tasa de crecimiento relativa –RGR de su nomenclatura en inglés *relative growth rate*–, hojas con bajo contenido en N, larga vida foliar, baja área foliar específica –SLA– y una efectiva reabsorción de nutrientes) que contribuirían a una baja dependencia de fuentes externas de N a través de una mejor conservación de este nutriente (Aerts, 1996; Aerts y Chapin, 2000; Wright *et al.*, 2002).

Sin embargo, las mejoras en rendimiento se han alcanzado frecuentemente sacrificando atributos de gran valor ecológico (Van Tassel *et al.*, 2010; Denison, 2012; Vilela y González-Paleo, 2015). Un cambio generalizado de estrategia desde conservativa a adquisitiva ha sido descrito como efecto indirecto de la selección por alto rendimiento de grano (González-Paleo y Ravetta, 2011a; Vilela y González-Paleo, 2015; Milla *et al.*, 2015), incluyendo aumentos en SLA y asimilación de carbono (Pujol *et al.*, 2008; González-Paleo y Ravetta, 2011a) y un descenso en la presencia y desarrollo de reservas carbonadas y estructuras de perpetuación (e.g. raíces, rizomas, rosetas; Piper y Kulakow, 1995; Vico *et al.*, 2016). Estos cambios podrían limitar la capacidad de las plantas perennes para adquirir y conservar N y agua en años subsecuentes (Cox *et al.*, 1985; Foulkes *et al.*, 2009), reduciendo la longevidad de la planta y comprometiendo el rendimiento en ambientes con baja disponibilidad (González-Paleo y Ravetta, 2012).

Se han desarrollado modelos de domesticación basados en la economía del C en especies del género *Physaria* comparando accesiones seleccionadas por alto rendimiento de grano con sus parientes silvestres (González-Paleo y Ravetta, 2011a, 2011b, 2012, 2015; Vilela y González-Paleo, 2015). Sin embargo, pese a que el N es el nutriente más limitante para el crecimiento en ambientes áridos, se le ha prestado poca atención a los caracteres relacionados con la eficiencia en su uso y conservación (Schlesinger *et al.*, 1996). El patrón de partición de N y el conjunto de caracteres implicados en su adquisición, conservación y uso determinan la capacidad de una planta para sobrevivir y reproducirse (Eckstein *et al.*, 1999). Por lo que la comprensión de los cambios ocurridos en la economía del N debidos a la selección por alto rendimiento y estabilidad del rendimiento es fundamental para definir un ideotipo de cultivo perenne y elegir nuevos criterios de selección que ayuden a incrementar el rendimiento y su estabilidad sin una provisión artificial masiva de recursos exógenos (González-Paleo y Ravetta, 2012).

El almacenamiento y redistribución de N son factores de máxima relevancia en la determinación del rendimiento y de su estabilidad (Volenec *et al.*, 1995; Hirel *et al.*, 2007; Gaju *et al.*, 2011). En plantas perennes, la retraslocación de N desde órganos subterráneos y hojas es un mecanismo clave para superar periodos de alta demanda (por ejemplo, el llenado de semillas), pero podría comprometer el rebrote y rendimiento del año siguiente (Crews *et al.*, 2016). Esta relación de compromiso entre reproducción y

almacenamiento de N podría ser una de las causas de los compromisos entre rendimiento, estabilidad del rendimiento y longevidad. Además, cambios en la partición de N podrían alterar la relación fuente-destino en la planta, que modula cómo el N es adquirido en la planta entera (Pornon y Lamaze, 2007; Wang *et al.*, 2016). En este sentido, la partición de N regularía la eficiencia de uso de N (NUE; Cuadro 2.1.), tanto a nivel foliar como a nivel de planta, y sus componentes: el tiempo medio de residencia (MRT; Cuadro 2.1.) y la productividad de N (A_N ; Berendse y Aerts, 1982). A_N es una medida de cuán eficientemente se utiliza el N para producir biomasa (i.e., biomasa producida por unidad de tiempo y de N adquirida). MRT es una medida de cuán eficientemente se conserva el N y se define como el periodo medio durante el cual el nitrógeno puede ser utilizado para la fijación de carbono.

En este capítulo, utilizando a las especies perennes de *Physaria* como modelo comparé el patrón de partición, uso y conservación de N entre accesiones de alto rendimiento (R), accesiones de rendimiento estable (E) y accesiones silvestres (S), con el objetivo de responder las siguientes preguntas:

¿Es posible mantener los patrones de uso y conservación de N de las plantas perennes al domesticarlas para cultivo? ¿La estrategia conservativa en el uso del N típica de perennes silvestres, está relacionada con la estabilidad del rendimiento?

Objetivo 1: Evaluar el efecto de dos criterios de selección (alto rendimiento de grano y estabilidad del rendimiento de grano) comparativamente con plantas no seleccionadas sobre el patrón de partición de N.

Hipótesis 1: Los cambios en partición de biomasa (mayor biomasa particionada a reproducción y menor a raíces en accesiones seleccionadas que en accesiones silvestres) se corresponderán con cambios análogos en la partición de N.

Predicción 1: Respecto a las accesiones silvestres (S), las accesiones de alto rendimiento (R) aumentarán la partición de N a semillas y la disminuirán a órganos vegetativos de almacenamiento (hojas y raíces), mientras que las accesiones estables (E) presentarán un patrón de partición de N semejante a S.

Objetivo 2: Evaluar el efecto de los criterios de selección sobre el patrón de adquisición, uso y conservación de N.

Hipótesis 2: El aumento de rendimiento provocado por la selección se corresponderá con cambios en la capacidad de adquisición de N y en los componentes de la eficiencia de uso de N.

Predicción 2: Las accesiones R presentarán mayor tasa de adquisición, productividad de nitrógeno (A_N) y pérdida de N que las S, mientras que el tiempo medio de residencia (MRT) será menor. Las accesiones E mantendrán las características conservativas (baja tasa de adquisición, baja A_N y pérdida de nitrógeno y elevado MRT) de las accesiones S.

Objetivo 3: Evaluar la existencia de compromisos entre la productividad como rendimiento de semilla y la capacidad de conservación de N y sus caracteres asociados.

Hipótesis 3: Los cambios en rendimiento de semilla estarán asociados a cambios en la capacidad de conservación de N.

Predicción 3: Los caracteres involucrados en aumentos de la productividad (tasa de adquisición, partición a semillas o A_N) estarán negativamente relacionados con aquellos que promueven la conservación de N (e.g. partición a órganos vegetativos y MRT).

2.- MATERIALES Y MÉTODOS

En la sección de materiales y métodos del capítulo I se encuentra toda la información referente a material vegetal, sitio y diseño experimental.

2.1.- Análisis químico, partición de N y caracteres de uso y conservación

Se cosechó una planta al azar por parcela, accesión, especie y año (seis plantas por tratamiento) en el estadio fenológico de madurez, aproximadamente 330 días después de la siembra en ambos experimentos. Con el fin de no perder biomasa radical, extraje seis cilindros de 0,30 m de diámetro utilizando una pala. La distancia desde el borde del cilindro hasta la base de la planta fue de 0,15 m. La profundidad de los cilindros de suelo fue de 0,40 m, suficiente para asegurar que en este estadio (primer año de cultivo) no se perdió raíz, ya que las raíces finas proliferan principalmente en los estratos superiores más ricos en nutrientes y las raíces primarias alcanzan un máximo de 20-25 cm durante este primer año. Las plantas fueron desecadas en estufa durante 72 horas a 50 °C. La biomasa fue dividida en raíces, tallo, hojas senescentes, hojas verdes, estructuras reproductivas de soporte (tallos reproductivos y frutos) y semillas y pesada seca con una precisión 0,0001 gramo. Estimé el rendimiento como el producto del número de frutos por el número de semillas y peso de una sola semilla. Conté el número de frutos de las plantas cosechadas y el número de semillas por fruto (20 frutos por planta). Con ello calculé el número promedio de semillas por fruto en cada planta cosechada. Estimé el peso de una semilla individual como el promedio del peso de 100 semillas, para ello pesé 100 semillas (precisión 0,0001 gramos) y dividí el peso entre 100. Estimé la concentración de N ([N], mgN/g de biomasa seca) en raíces ([N]raíces), tallo ([N]tallo), hojas ([N]hoja), estructuras reproductivas de soporte ([N]soporte) y semillas ([N]semilla) mediante el método de la digestión ácida estándar de Kjeldahl (Scales y Harrison, 1920) en las instalaciones de laboratorios del Museo Paleontológico Egidio Feruglio (Trelew). Con estos datos estimé la tasa de adquisición como el cociente entre el nitrógeno total adquirido por la planta (gramos de N) y el peso de la raíz (en gramos) y el tiempo transcurrido (en años). Se separaron los caracteres en dos grupos (ver Cuadro 2.1. para definiciones y unidades):

i) Caracteres de partición: Usando los datos de biomasa y concentración calculé: **N_{total}** como el contenido total de nitrógeno en la planta, **N_{rendimiento}** como el contenido de nitrógeno en la cosecha de semilla, y la partición proporcional de N a raíces (**RNR**; del inglés *Root N Ratio*), tallo (**SNR**; *Stem N Ratio*), hojas (**LNR**; *Leaves N Ratio*), estructuras reproductivas de soporte (**SupportNR**; *Support N Ratio*) y semillas (**NHI**; *Nitrogen Harvest Index*, o índice de cosecha del N). Los datos de [N] descritos arriba están también incluidos en este grupo.

ii) Caracteres de uso y conservación: Tiempo medio de residencia a nivel foliar y de planta (**MRT_{Hoja}** y **MRT_{Planta}**) y **N_{loss}** (N perdido por unidad de tiempo) como caracteres relacionados con la estrategia de conservación. La tasa de adquisición de N (**N_{adq}**), la eficiencia de utilización (**N_{utE}**; Good *et al.*, 2004), productividad de N (**A_N**), y la eficiencia en el uso (**NUE**; Berendse y Aerts, 1987; Hirose, 2012) fueron usados como caracteres relacionados con el uso del N. NUE y sus componentes fueron calculados tanto a nivel foliar (**A_{NHoja}**, **MRT_{Hoja}** y **NUE_{Hoja}**) como a nivel de planta (**A_{NPlanta}**, **MRT_{Planta}** y **NUE_{Planta}**) debido a que se ha propuesto que existe una fuerte relación entre ellos (Hirose, 2012), así, cambios a nivel foliar afectarían al uso y conservación a nivel de planta.

Cuadro 2.1: Definiciones y unidades de los caracteres usados para describir la partición de nitrógeno y el uso y conservación a nivel de hoja y de planta entera.

VARIABLE	DEFINICIÓN	UNIDADES
CARACTERES PARTICIÓN DE NITRÓGENO		
Ntotal	Contenido total de nitrógeno	mg N planta ⁻¹
Nrendimiento	Nitrógeno contenido en las semillas	mg N total semilla*planta ⁻¹
RNR	Ratio del nitrógeno de la raíz. Cociente entre el nitrógeno en la raíz y el total.	mgN raíz mgN planta ⁻¹
SNR	Ratio del nitrógeno del tallo. Cociente entre el nitrógeno en el tallo y el total.	mgN tallo mgN planta ⁻¹
LNR	Ratio del nitrógeno de las hojas. Cociente entre el nitrógeno en hojas y el total.	mgN hojas mgN planta ⁻¹
SoporteNR	Ratio del nitrógeno de las estructuras reproductivas de soporte. Cociente entre el nitrógeno en las estructuras reproductivas de soporte y el total.	mgN estructuras reproductiva de soporte mgN planta ⁻¹
NHI	Índice de cosecha del nitrógeno. Cociente entre Nrendimiento y Ntotal.	mgN semilla mgN planta ⁻¹
CARACTERES DE USO Y CONSERVACIÓN DE NITRÓGENO		
Nloss	Nitrógeno total perdido por senescencia foliar y de estructuras reproductivas y en semilla por planta individual al año.	mgN planta ⁻¹ año ⁻¹
NAdq	Nitrógeno adquirido por unidad de raíz y tiempo.	gN g raíz ⁻¹ año ⁻¹
NUtE	Eficiencia en la utilización de nitrógeno. Cosecha producida por gramo de nitrógeno adquirido.	g semilla gN ⁻¹
MRT _{Planta}	Tiempo medio de residencia. Periodo medio durante el que el nitrógeno puede ser almacenado en la planta.	Año
A _{NPlanta}	Productividad de nitrógeno. Tasa de producción de biomasa por unidad de nitrógeno adquirido.	g biomasa año ⁻¹ gN planta ⁻¹
NUE _{Planta}	Eficiencia en el uso de nitrógeno. Producción de biomasa por unidad de nitrógeno perdido.	g biomasa gNperdido ⁻¹
A _{NHoja}	Productividad de nitrógeno a nivel foliar. Tasa de producción de biomasa foliar por unidad de nitrógeno almacenada en las hojas.	g hoja gN hoja ⁻¹ año ⁻¹
MRT _{Hoja}	Tiempo medio de residencia foliar. Periodo medio durante el que el nitrógeno puede ser utilizado para fijar carbono.	Año
NUE _{Hoja}	Eficiencia de uso de nitrógeno foliar.	g hoja gNperdido por hoja sen ⁻¹

2.2.- Análisis estadístico

Realicé ANOVA de tres factores para identificar las fuentes de variación significativas en los caracteres de partición y de uso y conservación de N entre las accesiones, especies y años de cultivo, y para analizar sus interacciones (doble interacción: año*especie, accesión*especie, accesión*año; y triple interacción: año*especie*accesión). Calculé el error estándar de la diferencia (SED; de sus siglas en inglés *Standar Error of the Difference*) y la mínima diferencia significativa (LSD; *Least Significant Difference*) para un P valor de 0,05 con el fin de comparar entre accesiones. No realicé esta comparación entre especies o años ya que no era el objetivo de este trabajo, pese a que incluí los resultados del ANOVA con el fin de incluir toda la variabilidad existente en el sistema y probar que el término residual del ANOVA está basado en los grados de libertad correctos. La expresión simbólica del modelo de efectos fijos planteado es la siguiente:

$$y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + \gamma_k + (\tau\beta)_{ij} + (\tau\gamma)_{ik} + (\beta\gamma)_{jk} + (\tau\beta\gamma)_{ijk} + u_{ijk}, \quad i = 1,2,3; j = 1,2; k = 1,2$$

Donde: y_{ijk} : Representa la desviación de la variable objetivo para la accesión i de la especie j del año k . μ : Efecto constante, común a todos los niveles de los factores, denominado media global. τ_i : Efecto medio producido por la accesión i . β_j : Efecto medio producido por la especie j . γ_k : Efecto producido por el año k . $(\tau\beta)_{ij}$: Efecto medio producido por la interacción entre la accesión i y especie j . $(\tau\gamma)_{ik}$: Efecto producido por la interacción entre la accesión i y año k . $(\beta\gamma)_{jk}$: Efecto producido por la interacción entre la especie j y el año k . $(\tau\beta\gamma)_{ijk}$: Efecto producido por la interacción entre la accesión i , la especie j y el año k . u_{ijk} : error experimental con distribución NID(0, σ). Estos efectos son parámetros que estimar, con las condiciones $\sum_i \tau_i = \sum_j \beta_j = \sum_k \gamma_k = \sum_i (\tau\beta)_{ij} = \sum_j (\tau\beta)_{ij} = \dots = \sum_k (\beta\gamma)_{jk} = 0$.

Para evaluar el compromiso entre productividad y capacidad de conservación de N, analicé la correlación entre caracteres relacionados con la productividad (rendimiento, adquisición de N, NHI, Nloss, NUtE, $A_{N\text{Hoja}}$ y $A_{N\text{Planta}}$; Berendse y Aerts, 1982; Good *et al.*, 2004, Dawson *et al.*, 2008) y caracteres relacionados con conservación (RNR, LNR, MRT_{Hoja} , MRT_{Planta} ; Volenec *et al.*, 1995; Hirose, 2012, Crews *et al.*, 2016). Estimé correlaciones de Pearson entre las variables que cumplieran los supuestos de normalidad, mientras que estimé correlaciones de Spearman entre variables que no cumplieron el supuesto de normalidad y fue necesario aplicar una transformación por rango (MRT_{Plant}). Para comprobar el supuesto de normalidad y homocedasticidad realicé el test de Shapiro–Wilk y el test de Levene. Apliqué transformación con logaritmo decimal cuando fue necesario (para N_{total} , N_{cosecha} , RNR, LNR, rendimiento, biomasa, Nadq, Nloss, $A_{N\text{Planta}}$, NUE_{Planta} , $A_{N\text{Hoja}}$, MRT_{Hoja} y NUE_{Hoja}) o transformación por rangos en el caso de MRT_{Planta} con el fin de cumplir los supuestos. El uso de la transformación por rangos en ANOVA paramétrico fue propuesto por Conover e Iman (1981) y proporciona resultados fiables para los efectos principales; sin embargo, su uso no es aconsejable en las interacciones ya que aumenta el error de tipo I (significancia estadística cuando no la hay; Salter y Fawcett, 1993; Higgins y Tashtoush, 1994; Wobbrock *et al.*, 2011). Con el fin de evitar este problema realicé una transformación por rangos alineados (ART: *Aligned Rank Transform*; Wobbrock *et al.*, 2011) para MRT_{Planta} usando el software ARTool para asegurar que los resultados de las interacciones en el ANOVA paramétrico fueran fiables. El programa que usé para realizar los ANOVA y estimar las correlaciones fue el InfoStat versión 2009.

3.- RESULTADOS

3.1.- Efecto de la selección en la partición, uso y conservación de N

Las interacciones dobles (especies *accesión, año*accesión) y triple (especie*año*accesión) fueron no significativas para todas las variables consideradas, por lo que las diferencias entre accesiones fueron consistentes en ambos años y especies (Cuadro 2.2). Las accesiones R presentaron mayor N total y N rendimiento que S y E (Cuadro 2.3). La partición proporcional de N a semillas (NHI) fue mayor en R que en las otras accesiones, debido principalmente a una mayor producción de semillas (datos mostrados en Materiales y Métodos), ya que no hubo diferencias en la concentración de N en semillas (Cuadro 2.2). La partición a estructuras reproductivas de soporte fue mayor en la accesión S (SupportNR y [N] support; Cuadro 2.3). Las accesiones R mostraron menor partición a órganos vegetativos (RNR y LNR) y menor concentración en raíces y hojas ([N] raíz y [N] hoja) que las accesiones S y E (Cuadro 2.3). Las accesiones R tuvieron una mayor tasa de adquisición de N (Nadq) y fueron más eficientes en la utilización de N para producción de semilla (NUtE), pero también presentaron mayor pérdida de N (Nloss) y menor tiempo medio de residencia a nivel de

planta (MRT_{Planta}), resultando en una menor eficiencia de uso de N (NUE_{Planta}) que las accesiones S y E. No encontré diferencias en productividad de N ($A_{NPlanta}$) entre accesiones. Las accesiones estables (E), en las que la demanda de N por parte de los destinos reproductivos no aumentó en la misma proporción que lo hizo en las R, mantuvieron un patrón similar de partición y de uso y conservación que las S. Sin embargo, a nivel foliar, las accesiones R y E mostraron menor tiempo medio de residencia (MRT_{Hoja}) y eficiencia de uso (NUE_{Hoja}) que las S, mientras que no encontré diferencias significativas entre accesiones en la productividad de N (A_{NHoja} ; Cuadro 2.2).

Cuadro 2.2: Fuentes de variabilidad en los caracteres de partición y de uso y conservación de nitrógeno. Se muestran valores F y significancia (* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$; ns= no significativo) de los efectos principales y las interacciones del año de experimento (año), especie (sp) y esquema de selección (acces) del análisis ANOVA. GL= grados de libertad. CM_{error} = cuadrado medio del error. **Caracteres de partición:** N_{total} = N total en planta. $N_{rendimiento}$ = N en semilla. NHI = Índice de cosecha de N. RNR = Ratio N raíz. SNR = Ratio N tallo. LNR = Ratio N hoja. $SupportNR$ = Ratio N estructuras reproductivas. **Caracteres de uso y conservación:** N_{adq} = Tasa de adquisición. NUE = Eficiencia en la utilización. N_{loss} = tasa de pérdida de N. $A_{NPlanta}$ = Productividad de N. MRT_{Planta} = Tiempo medio de residencia. NUE_{Planta} = Eficiencia en el uso de N. A_{NHoja} = Productividad N foliar. MRT_{Hoja} = Tiempo medio de residencia foliar. NUE_{Hoja} = Eficiencia uso foliar.

	AÑO	SP	ACCES	AÑO*SP	AÑO*ACCES	SP*ACCES	AÑO*SP*ACCES	CM_{error}
GL	1	1	2	1	2	2	2	60
CARACTERES DE PARTICIÓN								
N total (mg pl^{-1})	36,91***	0,84ns	22,49***	3,09ns	0,95ns	1,03ns	0,87ns	0,04
N rendimiento (mg)	3,39ns	13,89***	26,49***	0,57ns	0,14ns	0,66ns	0,75ns	0,06
NHI (g g^{-1})	34,67***	42,42***	15,76***	19,31***	0,24ns	0,48ns	0,24ns	0,01
RNR (g g^{-1})	9,52**	5,47*	34,10***	0,53ns	2,93ns	3,14ns	1,05ns	0,04
SNR (g g^{-1})	12,41***	13,29***	20,28***	0,14ns	0,17ns	0,28ns	1,39ns	0,01
LNR (g g^{-1})	14,46***	19,35***	11,82***	30,04***	1,51ns	2,03ns	0,54ns	0,04
SupportNR (g g^{-1})	8,43**	18,53***	5,62**	0,56ns	2,40ns	0,56ns	1,54ns	0,01
[N] semilla (mg g^{-1})	47,01***	25,06***	1,23ns	2,05ns	0,24ns	0,20ns	3,40ns	0,002
[N] raíz (mg g^{-1})	4,14*	13,95***	3,69*	0,40ns	0,69ns	1,40ns	0,10ns	0,01
[N] tallo (mg g^{-1})	5,00*	38,04***	3,15ns	2,72ns	0,49ns	0,32ns	0,84ns	23,64
[N] hoja (mg g^{-1})	4,17*	7,63**	2,63ns	22,49***	0,49ns	0,25ns	0,82ns	20,31
[N] support (mg g^{-1})	52,18***	23,17***	3,89*	18,71***	1,39ns	0,18ns	0,29ns	10,72
CARACTERES DE USO Y CONSERVACIÓN								
N_{adq} (g g^{-1} año $^{-1}$)	0,22ns	50,88***	20,53***	0,70ns	0,17ns	0,06ns	1,38ns	0,02
NUE (g g^{-1})	73,21***	16,94***	15,63***	12,14***	0,05ns	0,50ns	1,07ns	11,82
N_{loss} (mg año $^{-1}$)	16,76***	3,43ns	28,33***	0,21ns	0,96ns	1,08ns	1,18ns	0,04
$A_{NPlanta}$ (g g^{-1} año $^{-1}$)	86,53***	1,33ns	2,64ns	14,24***	3,38ns	0,94ns	1,93ns	0,003
MRT_{Planta} (año)	28,42***	1,73ns	18,39***	33,02***	1,23ns	2,07ns	0,53ns	185,46
NUE_{Planta} (g g^{-1})	12,46***	8,42**	4,56*	0,02ns	0,28ns	0,91ns	0,13ns	0,006
A_{NHoja} (g g^{-1} año $^{-1}$)	4,34*	10,26**	1,33ns	52,96***	1,81ns	2,45ns	0,30ns	0,01
MRT_{Hoja} (año)	6,72*	1,96ns	6,78**	15,27***	0,91ns	1,09ns	1,84ns	0,14
NUE_{Hoja} (g g^{-1})	5,38*	7,18**	7,39**	4,55*	0,74ns	1,65ns	2,22ns	0,10

Cuadro 2.3: Comparación de medias entre accesiones (esquema de selección, N= 24) para los caracteres de partición y de uso y conservación. Se muestra error estándar de la diferencia (SED; *Standard Error of the Difference*) y mínima diferencia significativa (LSD; *Least Significant Difference*). Se muestran las medias sin transformar y entre paréntesis valores transformados. **Caracteres de partición:** Ntotal= N total en planta. Nrendimiento= N en semilla. NHI= Índice de cosecha de N. RNR= Ratio N raíz. LNR= Ratio N hoja. SupportNR= Ratio N estructuras reproductivas. **Caracteres de uso y conservación:** NAdq= Tasa de adquisición. NUtE= Eficiencia en la utilización. Nloss= tasa de pérdida de N. MRT_{Planta}= Tiempo medio de residencia. NUE_{Planta}= Eficiencia en el uso de N. MRT_{Hoja}= Tiempo medio de residencia foliar. NUE_{Hoja}= Eficiencia uso foliar.

VARIABLES	ACCESIÓN/ESQUEMA DE SELECCIÓN			SED	LSD _{0.05, 60}
	RENDIMIENTO (R)	ESTABILIDAD (E)	SILVESTRE (S)		
CARACTERES DE PARTICIÓN					
N total (mg)	652,34 (2,77)	304,32 (2,42)	396,32 (2,52)	0,05	0,12
N rendimiento (mg)	393,71 (2,56)	158,76 (2,09)	160,65 (2,13)	0,07	0,14
NHI (g g ⁻¹)	0,63	0,52	0,45	0,03	0,06
RNR (g g ⁻¹)	0,016 (-1,83)	0,044 (-1,39)	0,032 (-1,52)	0,03	0,06
SNR (g g ⁻¹)	0,006	0,020	0,016	0,01	0,02
LNR (g g ⁻¹)	0,11 (-1,04)	0,19 (-0,81)	0,19 (-0,80)	0,06	0,12
SupportNR (g g ⁻¹)	0,24	0,22	0,31	0,03	0,06
[N] semilla (mg g ⁻¹)	34,10 (1,53)	34,04 (1,53)	35,41 (1,55)	0,01	0,02
[N] raíz (mg g ⁻¹)	15,94 (1,19)	18,87 (1,26)	18,05 (1,25)	0,03	0,06
[N] tallo (mg g ⁻¹)	17,36	20,77	19,81	1,41	2,82
[N] hoja (mg g ⁻¹)	21,91	24,38	24,60	1,30	2,60
[N] support (mg g ⁻¹)	10,12	10,40	12,52	0,95	1,89
CARACTERES DE USO Y CONSERVACIÓN					
Nadq (g g ⁻¹ año ⁻¹)	1,32 (0,08)	0,78 (-0,16)	0,73 (-0,17)	0,04	0,08
NUtE (g g ⁻¹)	18,58	15,28	13,06	0,99	1,99
Nloss (mg planta ⁻¹ año ⁻¹)	582,80 (-0,22)	259,25 (-0,66)	338,92 (-0,54)	0,06	0,12
A _{NPlanta} (g g ⁻¹ año ⁻¹)	58,60 (1,77)	56,02 (1,75)	59,90 (1,78)	0,02	0,04
MRT _{Planta} (año)	22,75 (0,97)	42,83 (1,17)	43,92 (1,13)	3,93	7,86
NUE _{planta} (g g ⁻¹)	56,55 (1,75)	62,22 (1,78)	66,08 (1,83)	0,02	0,05
A _{NHoja} (g g ⁻¹ año ⁻¹)	81,85 (1,91)	74,51 (1,87)	1,87 (74,46)	0,03	0,06
MRT _{Hoja} (año)	5,07 (0,54)	6,17 (0,66)	16,39 (0,97)	0,11	0,22
NUE _{Hoja} (g g ⁻¹)	402,32 (2,46)	384,45 (2,51)	977,14 (2,79)	0,09	0,18

3.2.- Compromisos entre rendimiento y conservación de N

Considerando todas las accesiones juntas, encontré una relación negativa entre los caracteres de productividad y los de conservación de N. Por ejemplo, esta relación negativa entre el rendimiento y el tiempo medio de residencia (Cuadro 2.4) puede verse en la Fig. 2.1, donde las accesiones R se situaron preponderantemente en la zona superior izquierda de la figura indicando un alto rendimiento y bajo MRT_{Planta}, mientras que las E y S mostraron una distribución heterogénea en la figura, evidenciando una mayor variabilidad en ambos caracteres, pero preponderantemente fuera del cuadrante superior izquierdo. Este patrón fue similar para todos los compromisos investigados

(Fig. 2.2 y 2.3). Específicamente, para el rendimiento encontré compromisos con el N almacenado en la raíz (Cuadro 2.4 y Fig. 2.2 A) y hojas (Cuadro 2.4 y Fig. 2.2 B) y con MRT_{Hoja} (Cuadro 2.4 y Fig. 2.2 C). Por otra parte, encontré compromisos entre la capacidad de conservación a nivel de planta (MRT_{Planta}) y la partición a semillas (NHI; Cuadro 2.4 y Fig. 2.3 A), el N perdido (N loss; Cuadro 2.4 y Fig. 2.3 B), la tasa de adquisición (Nadq; Cuadro 2.4 y Fig. 2.3 C), la eficiencia de utilización (NUtE; Cuadro 2.4 y Fig. 2.3 D) y la productividad de N a nivel foliar y de planta (A_{NHoja} y $A_{NPlanta}$; Cuadro 2.4 y Fig. 2.3 E y F).

Según estos análisis, los caracteres relacionados con la productividad están consistentemente relacionados en forma negativa con aquellos que promueven la conservación de nitrógeno en órganos vegetativos. Concretamente, el N particionado a raíces (RNR) está negativamente relacionado con la partición a semillas (NHI), la pérdida de N (Nloss), la tasa de adquisición (Nadq) y NUtE (Cuadro 2.4). Por su parte, el N particionado a hojas (LNR) está negativamente relacionado con el N particionado a semillas (NHI), la pérdida de N (Nloss) y el A_N (foliar $-A_{NHoja}$ - y de planta $-A_{NPlanta}$; Cuadro 2.4). Finalmente, la capacidad de conservación de N a nivel foliar (MRT_{Hoja}) estuvo relacionada negativamente con NHI, Nadq, NUtE, A_{NHoja} y $A_{NPlanta}$ (Cuadro 2.4).

Cuadro 2.4: Análisis de correlación de Pearson y Spearman entre caracteres asociados con la productividad y caracteres asociados con la conservación de nitrógeno para las tres accesiones de ambas especies y años (N= 72). Se muestran los coeficientes Pearson o Spearman y la significancia (* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$; ns: no significativo). **Caracteres relacionados con productividad:** NHI= Índice de cosecha de N. Nloss= tasa de perdida. Nadq= Tasa de adquisición. NUtE= Eficiencia en la utilización. A_{NHoja} = Productividad N foliar. $A_{NPlanta}$ = Productividad de N. **Caracteres relacionados con conservación:** RNR= Ratio N raíz. LNR= Ratio N hoja. MRT_{Planta} = Tiempo medio de residencia. MRT_{Hoja} = Tiempo medio de residencia foliar.

		CARACTERES PRODUCTIVIDAD						
		NHI ($g\ g^{-1}$)	Nloss ($g\ a^{-1}$)	Nadq ($g\ g^{-1}\ a^{-1}$)	NUtE ($g\ g^{-1}$)	A_{NHoja} ($g\ g^{-1}\ a^{-1}$)	$A_{NPlanta}$ ($g\ g^{-1}\ a^{-1}$)	Rendimiento (g)
CARACTERES CONSERVACIÓN	RNR ($g\ g^{-1}$)	-0,36**	-0,52***	-0,72***	-0,43***	-0,20ns	-0,19ns	-0,58***
	LNR ($g\ g^{-1}$)	-0,80***	-0,35**	-0,08ns	-0,73***	-0,81***	-0,34**	-0,54***
	MRT_{Hoja} (año)	-0,48***	-0,10ns	-0,31*	-0,52***	-0,60***	-0,34*	-0,29***
	MRT_{Planta} (año)	-0,75***	-0,30*	-0,31*	-0,76***	-0,75***	-0,46***	-0,51***

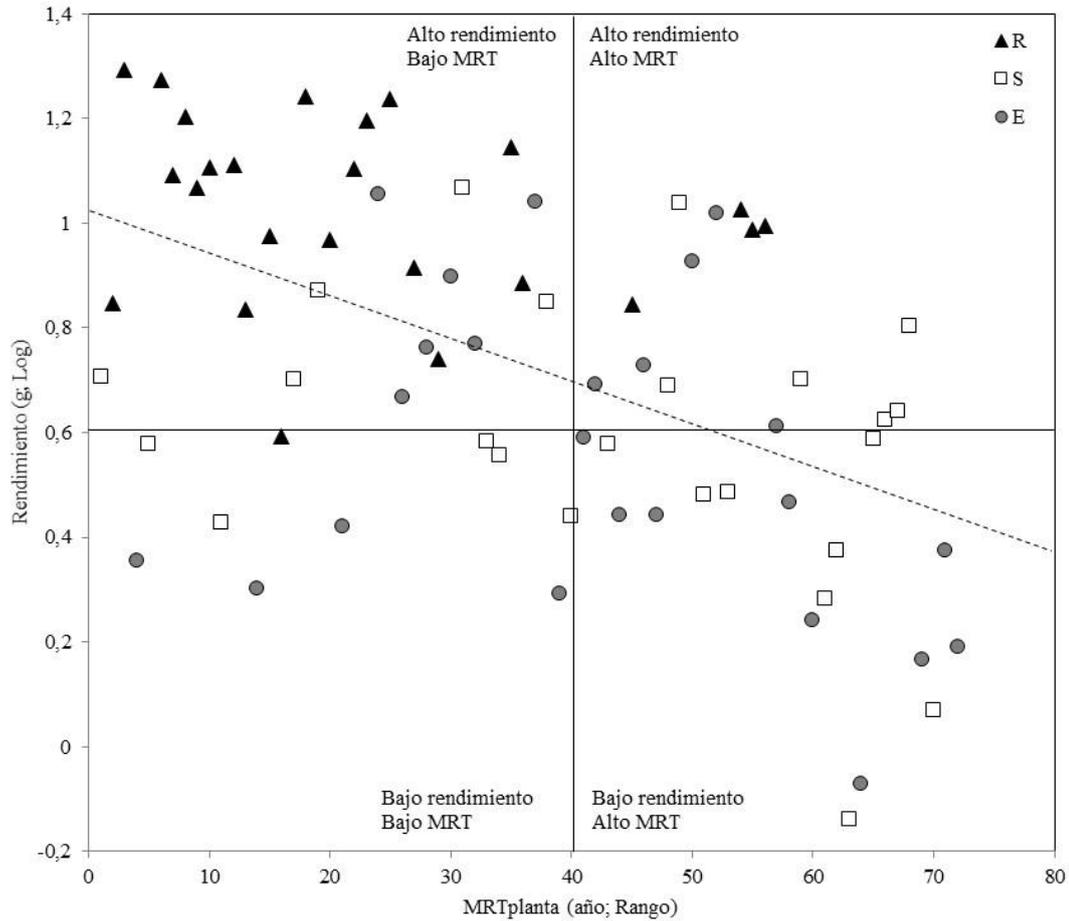


Figura 2.1: Correlación entre el tiempo medio de residencia de la planta (MRT_{planta}) y el rendimiento en semilla para las tres accesiones (Alto rendimiento: R; estabilidad del rendimiento: E; y silvestres: S). $N=72$; $P<0,0001$; Spearman $R^2= - 0,51$. El rendimiento y MRT se muestran transformados usando logaritmo y rango, respectivamente, con el fin de cumplir los supuestos de normalidad y homocedasticidad.

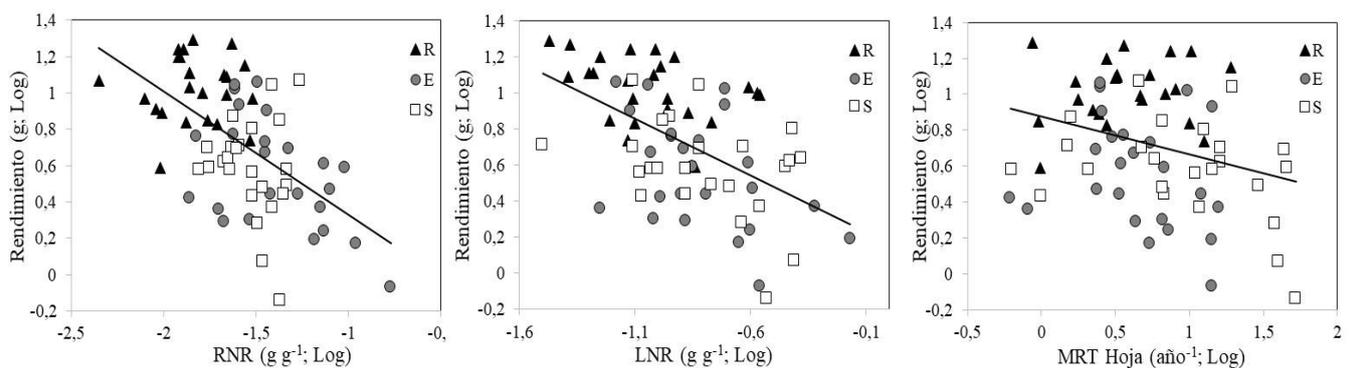


Figura 2.2: Compromisos del rendimiento con caracteres de partición y conservación: A) Rendimiento contra Ratio de N de la raíz (RNR). B) Rendimiento contra ratio de N de las hojas (LNR). C) Rendimiento contra tiempo medio de residencia (MRT_{Hoja}). R son las accesiones de alto rendimiento, E las accesiones de estabilidad de rendimiento y S las accesiones silvestres. La línea continua negra y ancha indica la correlación de todas las accesiones juntas (coeficiente y significancia se muestran en la Cuadro 4).

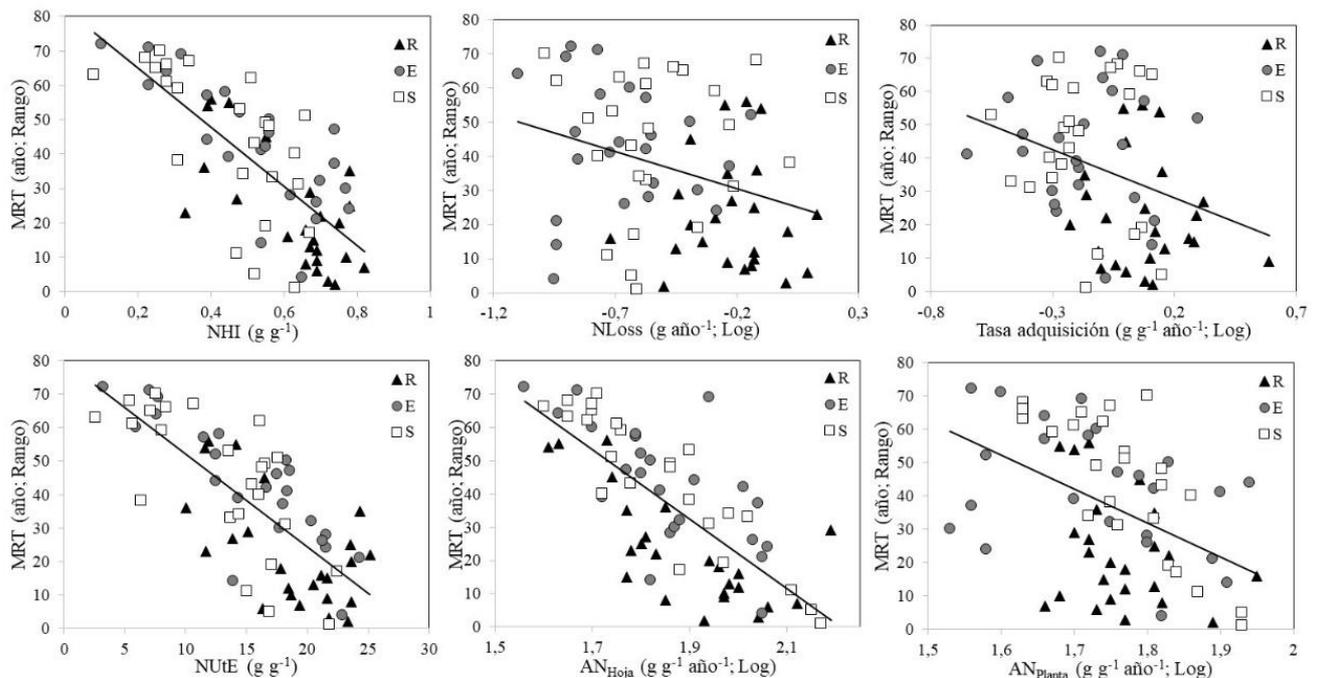


Figura 2.3: Compromisos de la capacidad de conservación de N (MRT_{planta}) con caracteres relacionados con la productividad: A) Índice de cosecha del N (NHI). B) Tasa de pérdida de N (N Loss). C) Tasa de adquisición. D) Eficiencia de utilización (NUtE). E) Productividad de N foliar (AN_{Hoja}). F) Productividad de N de planta (AN_{planta}). R son las accesiones de alto rendimiento, E las accesiones de estabilidad de rendimiento y S las accesiones silvestres. La línea continua negra y ancha indica la correlación de todas las accesiones juntas (coeficiente y significancia se muestran en el Cuadro 4).

4.- DISCUSIÓN

4.1.- Efecto del criterio de selección por alto rendimiento

Se ha demostrado que la selección tradicional provoca, junto con incrementos en el rendimiento de grano y la biomasa, cambios en la partición de carbono, por ejemplo, reducciones de las reservas carbonadas o de la partición a órganos de almacenamiento (Vilela y González-Paleo, 2015). En este estudio encontré cambios en la partición de N semejantes a los hallados en la partición de C en estudios previos con especies de *Physaria* (González-Paleo y Ravetta, 2011a; Vilela y González-Paleo, 2015) o a los hallados en otras especies perennes en estadio de domesticación tales como *Silphium integrifolium* Michx. (Vilela *et al.*, 2018). Las accesiones R incrementaron su biomasa y contenido en N total, así como su rendimiento de grano. Tal y como predije, las accesiones R aumentaron su partición de N a semilla (NHI) a expensas de órganos vegetativos y de almacenamiento. Dado que las concentraciones de N permanecieron estables en la semilla, el aumento en el N de la cosecha fue una consecuencia del aumento en la producción de semillas. La elevada concentración de N hallada en raíces y hojas de las accesiones S refuerzan la idea propuesta por Crews *et al.* (2016) de que los órganos vegetativos son destinos de alta jerarquía en plantas silvestres tanto para el N como para el C, mientras que en plantas domesticadas (similares a nuestras accesiones R) los destinos reproductivos se ven favorecidos. Estos cambios en la prioridad de los destinos para la partición de N podrían comprometer el rebrote en la temporada siguiente (Volenc *et al.*, 1995; Crews *et al.*, 2016), alterando la longevidad de la planta y la estabilidad interanual del rendimiento. El incremento en NHI hallado

en las accesiones R implica una reducción en la relación fuente-destino que implica ajustes en la adquisición, la reabsorción foliar y en la manera en la que las plantas usan el N para crecer o almacenar (Pornon y Lamaze 2007; Marty *et al.*, 2010; Pornon *et al.*, 2011; Gaju *et al.*, 2014).

Como predije, observé un aumento en la tasa de adquisición por unidad de masa de raíz en el primer año de cultivo. Incrementos de la adquisición de N con el rendimiento han sido hallados en otros estudios y sistemas experimentales, por ejemplo, en colza (*Brassica napus* L.) tanto en baja como elevada disponibilidad de N (Wang *et al.*, 2016) o en maíz (Emmet *et al.*, 2018). Este incremento podría estar vinculado a un aumento en la longitud específica de raíz (cociente entre la longitud y la masa de la raíz; Reich *et al.*, 1998), que ocasionaría una reducción en la longevidad (Eissenstat *et al.*, 2000) y un incremento en la pérdida de N por senescencia (Silla y Escudero, 2004), limitando la capacidad de almacenamiento de N para el rebrote de la siguiente temporada (Volenc *et al.*, 1995).

El incremento observado en NHI en las accesiones R estuvo asociado a una mayor pérdida de N, tanto por el N perdido en la cosecha de semilla como por una reducción de la conservación de N foliar y una reducción en la capacidad total de conservación (MRT_{planta} ; Hirose, 2012). La reducción en el valor de MRT foliar hallado en las accesiones R podría estar explicado por cambios en la fisiología de la hoja. Pornon *et al.* (2011) propusieron que aumentos en los requerimientos reproductivos podrían alterar los patrones de reabsorción de nutrientes y la longevidad foliar. Hay tres posibles mecanismos mediante los cuales cambios en la fisiología foliar pueden alterar la capacidad de conservación de la planta: i) incrementando la concentración de N en las hojas senescentes (por ejemplo, con una menor eficiencia de reabsorción; Garcia-Palacios *et al.*, 2014); ii) incrementando la tasa de senescencia (menor longevidad foliar; Berendse y Aerts, 1987); o iii) utilizando el N reabsorbido desde hojas y raíces principalmente en la producción de semillas a expensas de las reservas (Crews *et al.*, 2016). Todos estos mecanismos implicarían una mayor pérdida de N, menor MRT y NUE. La última explicación es la más consistente con nuestros resultados, ya que el incremento en N perdido estuvo relacionado con una menor capacidad de almacenamiento de reservas a través de la reducción de LNR y RNR.

Finalmente, las accesiones R fueron más eficientes en la utilización de N para la producción de semilla (NUE) que las S. Los incrementos en NUE implican una menor inversión en tejidos vegetativos o bien una mayor removilización desde tejidos vegetativos de reserva a producción de semilla, llevando a una menor inversión de N por unidad de semilla producida (Andrews y Lea, 2014). En efecto, el incremento en NUE en accesiones R estuvo negativamente relacionado con la partición de N a raíces y hojas y con MRT (a nivel foliar y de planta).

4.2.- Efecto del criterio de selección por estabilidad de rendimiento

La estabilidad del rendimiento podría ser una de las principales ventajas de la producción de cultivos perennes (Glover, 2003). De hecho, un cultivo perenne necesita mantener la producción al menos durante tres años después de su establecimiento para poder ser competitivo al compararlo con un cultivo anual análogo (Vico *et al.*, 2016). En consecuencia, resulta relevante comprobar que el incremento de rendimiento no afecte a la capacidad de conservar nutrientes, que mantendrían la longevidad y la producción en años subsecuentes. En este capítulo encontré evidencia de que el patrón de partición de las accesiones E es muy similar al de las accesiones silvestres, excepto por un leve incremento de su NHI a expensas de las estructuras reproductivas de soporte. Las accesiones E también mantuvieron los atributos de uso y conservación de

N de sus parientes silvestres: baja tasa de adquisición y alta dependencia del ciclado interno de N (baja pérdida de N y alto MRT y NUE a nivel de planta). Sin embargo, a nivel foliar los mecanismos de conservación de N difirieron de los de las silvestres, mostrando un MRT_{Hoja} y NUE_{Hoja} más bajo de lo esperado. Esto podría estar relacionado con el aumento de los requerimientos reproductivos en accesiones E (por ejemplo, un aumento de NHI; Pornon *et al.*, 2011). Pese a ello, estos cambios parecen no tener consecuencias en la capacidad de conservación de N de planta entera en las accesiones E: las raíces y las hojas se mantienen como un destino de mayor jerarquía que en las accesiones R. Estas últimas favorecen la producción de semilla aumentando la pérdida de N y reduciendo la capacidad total de conservación. Sin embargo, los cambios fisiológicos y morfológicos de la hoja parecen jugar un papel relevante en la conservación de N (Hirose, 2012) y serán tratados con mayor detalle en el capítulo IV de esta tesis.

4.3. Compromisos entre MRT y rendimiento: implicaciones para la domesticación de cultivos

Los cambios indirectos ocurridos durante las etapas iniciales de la domesticación de especies perennes de *Physaria* parecen estar en contra de los requeridos para el desarrollo de un cultivo perenne estable para ambientes mediterráneos semiáridos (González Paleo y Ravetta, 2011a). Estos resultados sostienen la existencia de compromisos entre el rendimiento y la conservación (medido como MRT a nivel de planta). Los compromisos entre la producción de semilla, la partición a reservas y el rebrote en años subsiguientes ha sido descrito como algo inherente a la perennidad (Vico *et al.*, 2016). Estos compromisos implican que las especies que habitan ambientes con baja disponibilidad (en este sistema experimental serían las S y E) son menos productivas que las de ambientes fértiles (accesiones de alto rendimiento) pero conservan más eficientemente los nutrientes, son menos dependientes de fuentes exógenas y son más resilientes a la variabilidad ambiental (Vázquez de Aldana y Berendse, 1997; Aerts y Chapin, 2000; Silla y Escudero, 2004).

El N perdido en semillas fue más del 60 % del total en las accesiones R (mientras que en S y E solo representó un 40 y 50 % respectivamente), esta pérdida significó una reducción del N almacenado en hojas y raíces. A la luz de estos resultados, la vía principal de pérdida de N en el periodo reproductivo parece que es la removilización desde tejidos vegetativos a la maquinaria reproductiva en las accesiones R. Además, un MRT_{Hoja} más bajo podría estar indicando una mayor pérdida por senescencia foliar. Estos mecanismos implican una reducción del N almacenado y de la conservación, lo que llevaría a una mayor dependencia de fuentes externas de nutriente y podría afectar al rebrote en la temporada siguiente, reduciendo la longevidad y la estabilidad del rendimiento (Jackson y Koch, 1997; Crews *et al.*, 2016). En ambientes con baja disponibilidad de N, las plantas con baja conservación de N, como las accesiones R, producirían más biomasa y rendimiento a corto plazo que las S y E, pero perderían rápidamente su potencial reproductivo en años siguientes en comparación con plantas adaptadas a ambientes con baja disponibilidad, que presentarían mayor MRT y menor tasa de pérdida de N (Aerts y van der Peijl, 1993).

Las accesiones E también incrementaron su pérdida proporcional de N por producción de semilla comparadas con las accesiones S, aunque mantuvieron patrones similares de conservación de N, manteniéndose en una posición intermedia entre las R y las S. Se ha propuesto que el ideotipo sostenible de cultivo para ambientes con baja disponibilidad estaría en un punto intermedio entre el perfil de las plantas silvestres y el de los cultivos convencionales anuales (Dawson *et al.*, 2008). Nuestros resultados

indican que la selección por estabilidad de rendimiento podría ser utilizada con el fin de conseguir un ideotipo sostenible de cultivo para ambientes con baja disponibilidad de recursos. Además, estos resultados podrían abrir la puerta al uso de otras opciones de selección que permitan incrementar la conservación de nitrógeno en cultivos perennes oleaginosos. Por ejemplo, seleccionar para altas cantidades de N en hoja a la vez que alto rendimiento de grano, podría servir para sostener la fotosíntesis más tiempo en un mismo ciclo creando así una mayor reserva de carbono. Adicionalmente, el N almacenado en las hojas podría ser removilizado si fuera necesario, proveyendo un mecanismo para mantener la productividad bajo condiciones ambientales variables o para crear una reserva en el sistema radical para el rebrote del año siguiente.

4.4. Conclusiones

El incremento de biomasa y rendimiento debido a la selección por alto rendimiento de grano estuvo acompañado por un aumento en la partición a semillas y una reducción de la partición a raíces en las accesiones R, apoyando la predicción 1. Sin embargo, las accesiones E mostraron un leve incremento de la partición a semillas que no habíamos predicho. Además, las accesiones R mostraron una reducción en el uso y conservación de N a nivel foliar y de planta (predicción 2) que podrían afectar a la provisión de servicios ecosistémicos. Por último, de acuerdo con la predicción 3, se observaron múltiples compromisos causados por la selección entre los caracteres relacionados con el rendimiento y los relacionados con la conservación de N.

Los cambios observados en partición, adquisición y en la economía del uso de N implican mayores pérdidas en las accesiones mejoradas para aumentar el rendimiento y podrían ser responsables de la reducción de la longevidad de la planta. El cambio de estrategia provocado por la selección por rendimiento de grano implica una reducción de la eficiencia de uso de N y de la capacidad de conservación que podría estar detrás de la pérdida de rendimiento en años subsiguientes. Las accesiones silvestres y estables fueron, en general, más conservativas y mostraron un conjunto de caracteres que promovieron la conservación de N. Estos caracteres podrían ser clave y deberían ser tenidos en cuenta en los programas de selección para alcanzar un ideotipo adecuado de cultivo para ambientes áridos y tierras marginales.

CAPÍTULO III: LA SELECCIÓN POR RENDIMIENTO PROVOCA CAMBIOS EN LOS ATRIBUTOS RADICALES RELACIONADOS CON LA PERENNIDAD: ¿ES ESTA LA RAÍZ DEL PROBLEMA DE LA DOMESTICACIÓN DE CULTIVOS PERENNES?

1.-INTRODUCCIÓN

Los cultivos anuales convencionales presentan un sistema radical pobremente desarrollado y dejan el suelo estacionalmente expuesto, generando altos niveles de erosión y escorrentía superficial (Cox *et al.*, 2010). Las plantas perennes, sin embargo, presentan sistemas radicales de mayor longevidad, profundidad y desarrollo, que podrían mitigar los problemas de erosión de suelo en agroecosistemas, facilitando la infiltración y mejorando la eficiencia en el uso de nutrientes y agua (Glover *et al.*, 2010). Además, las raíces gruesas de algunas especies perennes funcionan como estructuras de perpetuación, almacenando carbohidratos y nutrientes para el rebrote, manteniendo condiciones óptimas en la rizosfera (Comas *et al.*, 2013).

Pese a ello, como se ha señalado en el capítulo anterior, el aumento en la producción de biomasa y rendimiento de grano por selección está asociado a un aumento de la tasa de adquisición de nutrientes por unidad de biomasa de raíz, sugiriendo que podría haber cambios indirectos en la estructura de la raíz durante la domesticación. Al aumentar el rendimiento pueden ocurrir cambios a nivel radical, algunos de estos cambios son: un aumento en el número de ramificaciones radicales y de su longitud, y una reducción de la densidad del tejido radical y de la cantidad de reservas acumuladas (Weih *et al.*, 2011; Kaien *et al.*, 2012; Garnett *et al.*, 2009; Iversen *et al.*, 2010; Xu *et al.*, 2012; Comas *et al.*, 2013; Lynch y Brown, 2008; Burton *et al.*, 2013; White *et al.*, 2013; González-Paleo *et al.*, 2016b). En cultivos perennes, específicamente, se ha mostrado que el aumento de rendimiento por selección genera cambios en la partición de biomasa y N a las raíces (González-Paleo y Ravetta, 2011; Vilela y González-Paleo, 2015; Pastor-Pastor *et al.*, 2018; Capítulo II de esta tesis) y en la estrategia de uso de recursos tanto a nivel foliar como de planta entera, de conservativa a adquisitiva (Vilela y González-Paleo, 2015; Milla *et al.*, 2015; Vico *et al.*, 2016; Capítulo II de esta tesis). Si los cambios provocados por la selección en el sistema radical de las plantas perennes son consistentes con los cambios hallados en la parte aérea (es decir, un sistema radical más adquisitivo como resultado de la selección), podría afectar a la supervivencia de la planta y su longevidad mediante la pérdida de atributos radicales que provean mayor capacidad de almacenamiento de recursos. Estos cambios podrían resultar en la pérdida de atributos ecológicos que permitirían sostener los servicios ecosistémicos por los que fueron elegidas para la domesticación en primera instancia. En este sentido, el objetivo de la domesticación de cultivos perennes es alcanzar mejoras en la adquisición manteniendo un sistema radical longevo, profundo y con alta capacidad de almacenamiento que asegure la supervivencia de la planta y un rendimiento estable de un año a otro durante al menos tres años (De Haan *et al.*, 2005; Vico *et al.*, 2016).

La literatura en este campo sugiere que las plantas perennes mostrarían una estrategia más conservativa que las anuales con raíces más gruesas y densas asociadas a una mayor capacidad de almacenamiento y longevidad, reflejando su adaptación a sobrevivir en medios competitivos (Reich *et al.*, 1998; Roumet *et al.*, 2006; Freschet *et al.*, 2015; 2017). Por otro lado, las plantas anuales presentarían un sistema radical que tendería a maximizar la longitud, el crecimiento rápido y el tejido absorbente (por ejemplo, mayor longitud específica de raíz –SRL, del inglés *specific root length*-, contenido de N, y densidad específica de meristemas –STD, del inglés *specific tip*

density-), lo que permitiría una tasa de adquisición mayor (Graham y Syvertsen, 1985; Reich *et al.*, 1998; Paula y Pausas, 2011). Los sistemas radicales adquisitivos estarían, por lo tanto, relacionados con una explotación de recursos rápida, crucial para aumentar la tasa de crecimiento y completar el ciclo vital en un periodo corto.

A pesar de la enorme importancia del sistema radical, los programas tradicionales de selección se han focalizado principalmente en las partes aéreas de la planta y los esfuerzos de domesticación seleccionando atributos específicos de la raíz son limitados. Así, la caracterización de los cambios provocados por la selección en la morfología radical supondría un paso relevante para prevenir la pérdida de los atributos silvestres que contribuyen a la supervivencia y longevidad de la planta y de la provisión de servicios ecosistémicos particulares. En este capítulo comparamos la tasa de adquisición, la capacidad de almacenamiento y los atributos estructurales del sistema radical de accesiones de alto rendimiento (R) y accesiones de rendimiento estable (E), con sus parientes silvestres no seleccionados (S) en dos especies perennes que difieren en la economía del C y su longevidad: *P. pinetorum* y *P. mendocina*. El **objetivo** de este capítulo es responder a las preguntas: ¿Qué cambios produce la selección en la estructura del sistema radical? ¿Están estos cambios relacionados con variaciones en la tasa de adquisición o la cantidad de reservas?

Objetivo 1: Evaluar en dos especies de *Physaria* el efecto de criterios de selección por alto rendimiento de y por estabilidad del rendimiento sobre los caracteres radicales relacionados con la adquisición de N y la capacidad de almacenamiento.

Hipótesis 1: El incremento de rendimiento de grano y biomasa durante el primer año de cultivo estará asociado a un aumento en los atributos relacionados con la adquisición de recursos y una reducción de la capacidad de almacenamiento.

Predicción 1: Las accesiones R mostrarán un sistema radical adquisitivo (elevada tasa de adquisición, longitud radical, longitud específica de raíz –SRL-, densidad específica de meristemas –STD- y concentración de N) y una baja capacidad de almacenamiento (menor densidad del tejido radical –RTD, del inglés *root tissue density-*, partición de biomasa a raíces –RMR, del inglés *root mass ratio-*, diámetro de las raíces, peso seco, volumen de la raíz principal y contenido de carbohidratos no estructurales –TNC, del inglés *total non-structural carbohydrates-*) comparado con las accesiones S. Las E mantendrán un sistema radical conservativo semejante al de las S.

Objetivo 2: Determinar qué caracteres estructurales están involucrados en los cambios en la capacidad de adquisición y el almacenamiento de reservas durante la selección.

Hipótesis 2: Los caracteres de tipo conservativo (por ejemplo, raíces de mayor densidad y diámetro) determinarán la capacidad de almacenamiento, mientras que los caracteres de valor adquisitivo (SRL y STD) determinarán la capacidad de adquisición. Entre ellos habrá relaciones de compromiso.

Predicción 2: Una mayor densidad del tejido radical, partición de biomasa a raíces, diámetro de las raíces y volumen de la raíz principal determinarán una gran capacidad de almacenamiento y se darán principalmente en las accesiones S y E. Mayores valores de longitud, SRL, STD y concentración de N determinarán altas tasas de adquisición y se relacionarán negativamente con la capacidad de almacenamiento (medida como el contenido total de N y TNC en raíz).

2.- MATERIALES Y MÉTODOS

2.1.- Medidas del Sistema radical y análisis químico

En los mismos dos ensayos utilizados en el capítulo anterior y ya descriptos, coseché una planta al azar por parcela (6 repeticiones por especie, accesión y año, lo

que hizo un total de 72 muestras) durante el estadio de antesis (al inicio de la floración; ~230 días después de la siembra –DDS) y en el estadio fenológico de madurez (~330 DDS) (llevando el muestreo total de este Capítulo a 144 plantas). El criterio usado para decidir el momento en el que las plantas habían alcanzado antesis y madurez fue cuando el 50 % de las plantas de una parcela tuvieran al menos una flor o un fruto maduro, respectivamente (González-Paleo *et al.*, 2015). La cosecha se llevó a cabo en antesis porque durante la fase vegetativa es cuando se determinan los caracteres principales de sistema radical (González-Paleo *et al.*, 2016a) y en madurez porque es el estadio crítico en el que la capacidad de almacenamiento de la planta juega un papel relevante en el rebrote de la siguiente temporada (Crews *et al.*, 2016). La metodología de comparar caracteres basada en estadios fenológicos se considera apropiada para eliminar el efecto de la ontogenia en diferencias interespecíficas en caracteres relacionados con el crecimiento y la tasa relativa de crecimiento (Coleman *et al.*, 1994).

Cada planta se cosechó extrayendo un cilindro de suelo con un diámetro de 30 cm y una profundidad de 40 cm. Esta profundidad es suficiente para asegurar que no se perdió raíz, ya que las raíces finas proliferan principalmente en los estratos superiores más ricos en nutrientes y las raíces primarias alcanzan un máximo de 20-25 cm durante este primer año (dato comprobado por experiencia previa con estas plantas). Las plantas vecinas que pudieran verse afectadas por la cosecha no fueron cosechadas durante ese año, pero permanecieron en su lugar de plantación original. Las muestras se mantuvieron en frío hasta su llegada al laboratorio. En el laboratorio se lavaron las muestras sobre una malla de 1mm de apertura (Craine *et al.*, 2001). Cuando las raíces estuvieron totalmente libres de suelo y de fragmentos de materia orgánica, fueron suspendidas en una capa de 0,5 cm de agua sobre una bandeja negra de 30 x 25 cm y digitalizadas mediante una cámara fotográfica digital. Para ninguno de los análisis incluí raíces que estuvieran sueltas cuya procedencia pudiera ofrecer alguna duda o hubiera alguna posibilidad de que no fuera de la planta objetivo. Las imágenes fueron convertidas a una escala de grises a 8 bits y una resolución de 300 dpi. Todas las raíces mostraron un eje principal bien definido y un color y apariencia similares. El software GvSIG 1.11.0 fue usado para calcular el número total de raíces y el número total de meristemas del sistema radical, el diámetro de la raíz primaria y las secundarias y la longitud total del sistema radical en el volumen de la muestra extraída. Calculé el volumen de la raíz primaria hundiendo las raíces en agua y midiendo el volumen de agua desplazado al sumergirla (Harrington *et al.*, 1994). Para ello introduje la raíz primaria en el fondo de una probeta de 50 mL y con una pipeta de 10 mL enrasé hasta 10 mL, el volumen restante en la pipeta fue el volumen de la raíz con una precisión de 0,1 mL.

Después de la digitalización, sequé las plantas en estufa durante 72 horas a 50 °C y medí la biomasa total y la partición a raíces con una balanza electrónica con una precisión de 0,0001 gramos. Medí la concentración de N en raíces ([N]_{root}; mgN g⁻¹ de peso seco de raíz) mediante la digestión ácida estándar de Kjeldahl. Utilicé el método colorimétrico de la antrona (Yemm y Willis, 1983) para cuantificar la concentración en % de carbohidratos no estructurales (TNC) del sistema radical. Realicé estos análisis en los laboratorios del Museo Paleontológico Egidio Feruglio (Trelew). Con el fin de homogeneizar las muestras molí raíces de diferentes calibres en partes iguales de peso de cada sistema radical y lo homogeneicé pasando la muestra por un tamiz de 2 mm, por lo que se trata de valores promedios por planta que no discriminan por diámetro. Tanto para los TNC como para el N radical calculé la concentración en tejidos en % de TNC y mg g⁻¹ de N y los contenidos absolutos en el sistema radical en mg (a los que denominé TNC *pool* y N *pool*, por su nomenclatura en inglés). Basado en estas medidas calculé: la

tasa de adquisición de N por unidad de tiempo y raíz (Nadq, cociente entre la cantidad de N absorbido durante la vida de la planta en g y el peso de la raíz en gramos y el tiempo de vida de la planta en años), la partición a raíz (RMR, cociente entre la biomasa de la raíz y la biomasa total), longitud específica de raíz (SRL, cociente entre la longitud total del sistema radical y el peso), la densidad específica de meristemas (STD, cociente entre el número de meristemas total del sistema radical y el peso de la raíz) y la densidad del tejido radical (RTD cociente entre el peso y el volumen de la raíz). Separé los caracteres en dos tipos: los relacionados positivamente con la adquisición de recursos y los relacionados con la capacidad de almacenamiento de acuerdo a Fitter (1991), Roumet *et al.* (2006), Ryser (1998), Paula y Pausas (2011), Eissenstat *et al.* (2000), Dawson *et al.* (2004) y González-Paleo *et al.* (2016a). Para los caracteres relacionados con la función de almacenamiento, % TNC, TNC pool, Npool y volumen de la raíz primaria, sólo usé datos de madurez, ya que es el estadio crítico en el que la capacidad de almacenamiento juega un papel relevante en el rebrote de la siguiente temporada de cultivo (Crews *et al.*, 2016; ver Cuadro 3.1 para definiciones y unidades).

Cuadro 3.1: Definiciones y unidades de los caracteres usados para caracterizar las accesiones a nivel radical.

VARIABLE	DEFINICIÓN	UNIDADES
CARACTERES DE ADQUISICIÓN DE RECURSOS		
Nadq	N adquirido por unidad de raíz y tiempo.	gN raíz ⁻¹ año ⁻¹
[N] raíz	Concentración de N en la raíz.	mgN*g ⁻¹
Longitud	Longitud total del sistema radical en la muestra extraída contando todas las raíces.	cm
Meristemas	Número total de meristemas radicales	Número de meristemas
SRL	Longitud específica de raíz. Cociente entre longitud total y peso seco.	cm g ⁻¹
STD	Densidad específica de meristemas. Cociente entre el número de meristemas y el peso de la raíz.	Meristemas g ⁻¹
CARACTERES DE CONSERVACIÓN DE RECURSOS		
Peso seco	Peso seco de raíz.	g
RTD	Densidad del tejido radical. Cociente entre peso seco y volumen.	g cm ⁻³
RMR	Partición de biomasa a raíz. Cociente entre peso de la raíz y biomasa total.	g g ⁻¹
TNC	Carbohidratos no estructurales totales	% peso seco
Volumen Primaria	Volumen de la raíz primaria.	cm ³
Diámetro laterales	Diámetro medio de las raíces laterales.	cm
Npool	Contenido total de N de la raíz	mg
TNCpool	Contenido total de TNC de la raíz	mg

2.2.- Análisis estadístico

Realicé ANOVA de tres factores para identificar las fuentes de variación significativas en los caracteres del sistema radical entre las accesiones, especies y años de cultivo, y analizar sus interacciones (doble interacción: año*especie, accesión*especie, accesión*año; y triple interacción: año*especie*accesión). Cuando alguna de estas interacciones resultó significativa apliqué ANOVA de uno y dos factores para explorar las diferencias entre accesiones dentro de las especies y años. El error estándar de la diferencia (SED; de sus siglas en inglés *Standard Error of the Difference*) y la mínima diferencia significativa (LSD; *Least Significant Difference*)

fueron calculados para un P valor de 0,05 con el fin de comparar entre accesiones. No realicé esta comparación entre especies o años ya que no era el objetivo de este trabajo, pese a que incluimos los resultados del ANOVA con el fin de incluir toda la variabilidad existente en el sistema y probar que el término residual del ANOVA está basado en los grados de libertad correctos. La expresión simbólica del modelo de efectos fijos planteado es equivalente a la presentada en el capítulo anterior.

Realicé un análisis de correlación para determinar las relaciones entre caracteres relacionados con adquisición ([N]raíz, SRL, STD y Nadq) y aquellos relacionados con almacenamiento (RTD, RMR, volumen de raíz primaria, diámetro de raíces secundarias y pool de reservas de TNC y N). Con el fin de obtener un modelo funcional que explique la adquisición de N y el almacenamiento de reservas en este sistema, llevé a cabo un análisis de vías para los datos del año 1 (ya que son los que muestran un perfil meteorológico más cercano a la media de la zona) en el estadio de madurez (ya que es el que determina las condiciones para el rebrote del año siguiente) usando el paquete estadístico AMOS (Arbuckle y Wothke, 1999). El análisis de vías es una forma de regresión múltiple que permite considerar estructuras causales complejas con más de una variable dependiente (Mitchell, 1992), permitiendo así testear relaciones causales directas e indirectas entre variables. Para comprobar el supuesto de normalidad y homocedasticidad realicé tests de Shapiro–Wilk y tests de Levene, respectivamente. Apliqué transformaciones de logaritmo decimal en todas las variables para satisfacer los supuestos de ANOVA, análisis de correlación y regresión múltiple. El programa usado para realizar los análisis ANOVA y de correlación fue Infostat versión 2009.

3.- RESULTADOS

3.1- Efecto de la selección en la morfología radical en antesis

Las diferencias entre accesiones en [N] raíz, SRL, STD, peso seco de la raíz y RTD fueron analizadas por separado para cada año debido a la existencia de interacciones entre la accesión y el año (Cuadro 3.2). En el ensayo 1, las accesiones R tuvieron un conjunto de caracteres más adquisitivos, con mayor SRL y STD y menos peso de la raíz y densidad que las E y S (Cuadro 3.3). Estas diferencias no se repitieron en el ensayo 2 con plantas de la misma edad debido a que en el ensayo 1 las accesiones E y S presentaron mayor [N] raíz, SRL y STD y menor RTD y peso seco de raíz que en el ensayo del año 2 (Cuadro 3.3). Estos atributos, sin embargo, no presentaron diferencias entre ensayos en las accesiones R. No se registraron diferencias entre accesiones en ninguno de los dos ensayos en la tasa de adquisición, longitud, número de meristemas, partición o diámetro de raíces laterales (Cuadro 3.2). No hubo diferencias entre las accesiones E y S (Cuadro 3.3).

Cuadro 3.2: Fuentes de variabilidad en caracteres radicales relacionados con la adquisición y la conservación de N en los estadios fenológico de antesis y madurez. Se muestran valores F y significancia ($\cdot < 0,10$; $* P < 0,05$; $** P < 0,01$; $*** P < 0,001$; ns= no significativo) de los efectos principales y las interacciones del año de experimento (año), especie (sp) y criterio de selección (ac) del análisis ANOVA. GL= Grados de libertad. CM_{error} = Cuadrado medio del error. **Caracteres de adquisición:** Nadq= Tasa de adquisición. [N]raíz= concentración N raíz. Longitud= Longitud del sistema radical. Meristemas= Número de meristemas del sistema. SRL= Longitud de raíz específica. STD= Densidad específica de meristemas. **Caracteres de conservación:** TNC= Concentración carbohidratos no estructurales. Peso raíz= Peso seco del sistema radical. RTD= Densidad del tejido radical. RMR= Partición de biomasa a raíz. Volumen 1^a= Volumen de la raíz primaria. Φ Laterales= Diámetro de las raíces laterales.

VARIABLE/GL	AÑO 1	SP 1	AC 2	AÑO*SP 1	AÑO*AC 2	SP*AC 2	AÑO*SP*AC 2	CM_{error} 60
ANTESIS								
CARACTERES DE ADQUISICIÓN								
Nadq. (g g ⁻¹ a ⁻¹)	36,91***	27,83***	2,03ns	0,07ns	0,59ns	0,20ns	0,34ns	0,04
[N] raíz (mg g ⁻¹)	26,49***	17,98***	8,60***	11,92**	3,49*	1,38ns	2,52ns	0,06
Longitud (cm)	0,01ns	30,00***	0,42ns	5,79*	0,43ns	3,30ns	2,73ns	0,01
Meristemas (n°)	3,18ns	14,53***	0,46ns	0,14ns	0,87ns	2,08ns	1,01ns	0,04
SRL (cm g ⁻¹)	19,85***	18,39***	1,09ns	1,86ns	6,16**	1,28ns	2,59ns	0,11
STD (meris g ⁻¹)	33,36***	7,02*	0,34ns	9,24**	7,50**	2,34ns	1,05ns	0,04
CARACTERES DE CONSERVACIÓN								
Peso raíz (g)	47,33***	0,31ns	3,08*	27,59***	10,09***	4,10ns	0,14ns	0,02
RTD (g mL ⁻¹)	42,30***	0,11ns	4,19*	29,67***	12,41***	2,88ns	3,13ns	0,04
RMR (g g ⁻¹)	50,96***	39,85***	1,78ns	1,33ns	0,41ns	0,28ns	0,08ns	0,04
Lateral Φ	0,25ns	1,42ns	0,73ns	7,27**	0,12ns	1,98ns	1,14ns	0,1
MADUREZ								
CARACTERES DE ADQUISICIÓN								
Nadq. (g g ⁻¹ a ⁻¹)	0,22ns	50,88***	20,53***	0,70ns	0,17ns	0,06ns	1,38ns	0,02
[N] raíz (mg g ⁻¹)	4,14*	13,95**	3,69*	0,01ns	0,69ns	1,40ns	0,10ns	0,01
Longitud (cm)	16,31***	21,55***	8,29***	11,43***	2,19ns	0,32ns	0,57ns	0,06
Meristemas (n°)	11,47**	47,65***	9,11***	3,39ns	0,69ns	2,95ns	3,31ns	0,04
SRL (cm g ⁻¹)	1,70ns	144,74***	3,48*	10,76**	1,29ns	0,06ns	4,72*	0,04
STD (meris g ⁻¹)	5,63*	134,40***	1,90ns	0,74ns	0,58ns	0,69ns	5,35**	0,05
CARACTERES DE CONSERVACIÓN								
TNC (%)	0,30ns	0,02ns	120,89***	0,46ns	2,30ns	1,40ns	0,08ns	0,01
Peso raíz (g)	39,10***	41,89**	2,85ns	0,79ns	1,30ns	0,83ns	2,41ns	0,04
RTD (g mL ⁻¹)	12,74***	51,25***	3,41*	2,61ns	1,01ns	0,22ns	2,89·	0,02
RMR (g g ⁻¹)	6,99*	56,30***	19,29***	0,32ns	0,48ns	0,91ns	0,03ns	0,03
Volume 1 ^a (mL)	13,77***	39,09***	2,00ns	0,22ns	0,94ns	0,57ns	1,43ns	0,01
Φ Laterales (cm)	5,85*	29,10***	1,52ns	5,25*	3,15*	0,28ns	1,09ns	0,02
Npool (mg)	72,78***	9,55**	0,98ns	5,68*	2,75·	1,91ns	2,67·	0,04
TNCpool (mg)	39,88***	39,09***	17,69***	0,36ns	1,17ns	0,19ns	2,27ns	0,04

Cuadro 3.3: Comparación de medias entre accesiones para los caracteres que mostraron diferencias significativas en el ANOVA en anthesis (Cuadro 3.2). Para comparar entre medias, se muestra la mínima diferencia significativa (LSD; *Least Significant Difference*). Se muestran los valores sin transformar y entre paréntesis transformados por logaritmos. Se muestran valores F y significancia ($\cdot < 0,10$; * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$; ns = no significativo). **Caracteres de adquisición:** [N]raíz= concentración N raíz. SRL= Longitud de raíz específica. STD= Densidad específica de meristemas radicales. **Caracteres de conservación:** Peso raíz= Peso seco del sistema. RTD= Densidad del tejido radical.

VARIABLES	AÑO	ACCESIONES			F _{acces}	LSD
		Rendimiento (R)	Estabilidad (E)	Silvestre (S)		
[N] raíz (mg g ⁻¹)	1	23,54 (1,35)	16,27 (1,20)	16,19 (1,19)	7,70*	0,10
	2	25,41 (1,40)	22,05 (1,32)	24,75 (1,39)		1,22ns
	F _{año}	0,63ns	6,11*	19,48***		
SRL (cm g ⁻¹)	1	1248,77 (3,02)	582,09 (2,72)	815,22 (2,82)	3,47*	0,23
	2	1215,60 (53,0)	1416,11 (13,1)	1376,55 (3,1)		0,40ns
	F _{año}	0,01ns	21,93***	9,64***		
STD (meris g ⁻¹)	1	622,82 (2,71)	320,09 (2,44)	375,14 (2,47)	3,71*	0,24
	2	625,74 (2,73)	834,17 (2,90)	826,80 (2,88)		1,77ns
	F _{año}	0,004ns	35,51***	13,33***		
Peso raíz (g)	1	0,15 (-0,85)	0,27 (-0,6)	0,25 (-0,62)	6,32**	0,14
	2	0,14 (-0,87)	0,12 (-0,94)	0,13 (-0,94)		0,65ns
	F _{año}	0,20ns	16,81***	24,62***		
RTD (g mL ⁻¹)	1	0,07 (-1,15)	0,13 (-0,92)	0,12 (-0,97)	6,54**	0,13
	2	0,08 (-1,14)	0,07 (-1,20)	0,06 (-1,21)		0,91ns
	F _{año}	0,10ns	21,30*	11,06***		

3.2.- Efecto de la selección en la morfología radical en madurez

Para los caracteres estructurales radicales las diferencias entre accesiones fueron consistentes en la mayoría de los caracteres entre años y especies (Cuadro 3.2), con las excepciones de SRL, STD y RTD que fueron dependientes de la especie y del año (triple interacción, Cuadro 3.2). Las accesiones R mostraron menor [N] raíz, [TNC] y partición a raíz (RMR) que las accesiones S y E (Cuadro 3.4). Las accesiones S y E no difirieron en la tasa de adquisición, pero E mostró valores más bajos de longitud y número de meristemas que S (Cuadro 3.4). Respecto al diámetro de las raíces laterales encontramos una interacción significativa de la accesión con el año (Cuadro 3.2): las accesiones R mostraron diámetros menores en el ensayo del año 1, mientras que no hubo diferencias en el año 2 debido a una reducción significativa en las accesiones S en el año 2 (Cuadro 3.4). Por último, encontramos una triple interacción (accesión*año*sp) para SRL, STD y RTD (Cuadro 3.2). En *P. mendocina* en el año 1, las accesiones R mostraron mayor SRL y STD (Cuadro 3.4). Estas diferencias fueron consistentes con incrementos significativos en SRL y STD en S y E en el año 2 (Cuadro 3.4). En el año 2, las accesiones E y S de *P. mendocina* mostraron una reducción en RTD respecto al año 1, lo que provocó las diferencias entre accesiones siendo las R las que mostraron una mayor densidad (Cuadro 3.4). No hubo diferencias en *P. pinetorum* para estos caracteres (Cuadro 3.4).

Cuadro 3.4: Comparación de medias entre accesiones para los caracteres que mostraron diferencias significativas en el ANOVA (Cuadro 3.2). Para comparar entre medias de las accesiones cuando no hubo interacción significativa se muestra la mínima diferencia significativa (LSD; Least Significant Difference). Se muestran los valores sin transformar y entre paréntesis transformados por logaritmos. Se muestran valores F y significancia ($\cdot < 0,10$; $* P < 0,05$; $** P < 0,01$; $*** P < 0,001$; ns = no significativo). Nadq= Tasa de adquisición. [N]raíz= concentración N raíz. Longitud= longitud del sistema radical. Meristemas= Número de meristemas del sistema. SRL= Longitud de raíz específica. STD= Densidad específica de meristemas radicales. TNC= Concentración carbohidratos no estructurales. RTD= Densidad del tejido radical. RMR= Partición de biomasa a raíz. Φ Laterales= Diámetro de las raíces laterales.

VARIABLES	SP	AÑO	ACCESIÓN			F _{acces}	LSD
			Rendimiento (R)	Estabilidad (E)	Silvestre (S)		
INTERACCIÓN NO SIGNIFICATIVA							
Nadq. (g g ⁻¹ a ⁻¹)			1,32 (0,08)	0,78 (-0,16)	0,73 (-0,17)		0,08
[N] raíz (mg g ⁻¹)			15,94 (1,19)	18,87 (1,26)	18,05 (1,25)		0,05
Longitud (cm)			282,08 (2,36)	156,25 (2,11)	292,96 (2,34)		0,14
Meristemas (n°)			101,92 (1,96)	61,92 (1,72)	101,50 (1,88)		0,11
TNC (%)			13,71 (1,13)	24,26 (1,38)	29,53 (1,47)		0,05
RMR (g g ⁻¹)			0,02 (-1,72)	0,04 (-1,49)	0,04 (-1,49)		0,09
INTERACCIÓN ACCESIÓN * AÑO SIGNIFICATIVA							
Φ Lateral(cm)		1	0,15 (-0,87)	0,13 (-0,92)	0,19 (-0,75)	3,29*	0,11
		2	0,13 (-0,93)	0,14 (-0,90)	0,12 (-0,93)	0,12ns	0,14
		F_{año}	1,72ns	0,12ns	8,05***		
INTERACCIÓN ACCESIÓN * SP * AÑO SIGNIFICATIVA							
RTD (g mL ⁻¹)	<i>P. mendocina</i>	1	0,19 (-0,75)	0,19 (-0,73)	0,18 (-0,75)	0,07ns	0,14
		2	0,18 (-0,75)	0,10 (-0,99)	0,11 (-0,97)	8,59**	0,14
		F_{año}	0,003ns	20,60**	19,31**		
STD (meris g ⁻¹)	<i>P. mendocina</i>	1	101,31 (1,97)	59,95 (1,74)	39,74 (1,54)	6,10*	0,25
		2	86,82 (1,91)	74,90 (1,84)	115,40 (2,02)	1,34ns	0,23
		F_{año}	0,37ns	0,71ns	13,20**		
SRL (cm g ⁻¹)	<i>P. mendocina</i>	1	245,41 (2,37)	121,23 (2,04)	147,32 (2,13)	4,75*	0,22
		2	222,24 (2,31)	226,30 (2,34)	363,15 (2,51)	1,70ns	0,23
		F_{año}	0,28ns	9,09*	8,26*		
RTD (g mL ⁻¹)	<i>P. pinetorum</i>	1	0,12 (-0,95)	0,09 (-1,04)	0,09 (-1,07)	1,79ns	0,14
		2	0,09 (-1,06)	0,09 (-1,11)	0,09 (-1,06)	0,12ns	0,22
		F_{año}	3,19*	0,36ns	0,002ns		
STD (meris g ⁻¹)	<i>P. pinetorum</i>	1	269,62 (2,40)	252,21 (2,31)	379,30 (2,53)	1,01ns	0,31
		2	429,24 (2,57)	350,69 (2,48)	277,85 (2,43)	1,21ns	0,26
		F_{año}	2,10*	0,83ns	0,66ns		
SRL (cm g ⁻¹)	<i>P. pinetorum</i>	1	800,93 (2,89)	665,97 (2,77)	1053,44 (2,99)	1,93ns	0,23
		2	817,06 (2,89)	616,86 (2,76)	589,80 (2,73)	0,63ns	0,22
		F_{año}	0,00ns	0,03ns	4,74ns		

3.3.- Efecto de la selección sobre la adquisición y el almacenamiento

En estadio de madurez se determinaron los caracteres radicales funcionales: Tasa de adquisición (N_{adq}) y almacenamiento (TNC_{pool} y N_{pool}), que serían dependientes de la estructura radical previamente analizada. Las accesiones R mostraron una mayor capacidad de adquisición y una menor capacidad de almacenamiento de TNC que las accesiones E y S en ambos años (Fig. 3.1 A y B). Se encontraron diferencias entre años que fueron iguales para todas las accesiones: en el ensayo 2 se produce una reducción de la capacidad de almacenamiento de TNC en todas las accesiones de *P. mendocina* y las accesiones R de *P. pinetorum*, mientras que la tasa de adquisición no presenta diferencias entre los dos ensayos (Cuadro 3.2; Fig. 3.1 A y B). El N_{pool}, por su parte, mostró un patrón variable que dependió de la especie y del año (triple interacción significativa; Cuadro 3.2). En el ensayo 1, las accesiones R mostraron en ambas especies menor N_{pool} que las E y S (Fig. 3.1 C). En el año 2 se registró una reducción generalizada de N_{pool} que, sin embargo, no afecta a la accesión R de *P. mendocina* (Fig. 3.1 C). Esta plasticidad diferencial en el almacenamiento de N entre especies y accesiones resultó en que, para *P. mendocina*, las accesiones R presenten un mayor pool de N que las E y S (Fig. 3.1 C).

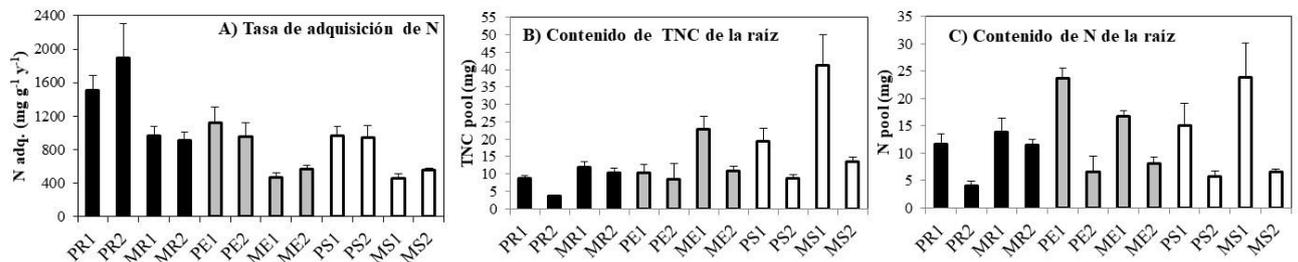


Figura 3.1: Análisis de la tasa de adquisición de N (A), TNC_{pool} (B) y N_{pool} (C). En negro se muestran las accesiones R, en gris las E y en blanco las S. PR1= *P. pinetorum*, accesión R, año 1. PR2= *P. pinetorum*, accesión R, año 2. MR1= *P. mendocina*, accesión R, año 1. MR2= *P. mendocina*, accesión R, año 2. Y así sucesivamente. N_{adq}= Tasa de adquisición de N. N_{pool}= N contenido en la raíz. TNC_{pool}= TNC contenido en la raíz. Se muestra medias sin transformar y error estándar.

3.4.- Relación entre caracteres y modelo adquisición-almacenamiento

Considerando todas las accesiones, especies y años juntos encontramos una relación negativa entre los caracteres relacionados positivamente con la adquisición y los relacionados con el almacenamiento (Cuadro 3.5). Los caracteres estructurales relacionados con adquisición (SRL y STD), mostraron relaciones positivas y significativas con la tasa de adquisición N tanto en antesis como en madurez (Cuadro 3.5). Las relaciones halladas para la [N] raíz podrían estar reflejando su bifuncionalidad, ya que en antesis estuvo positivamente relacionado con la tasa de adquisición y en madurez con la capacidad de almacenamiento (TNC; Cuadro 3.5). Todos estos caracteres, excepto [N]raíz en madurez, estuvieron negativamente correlacionados con los caracteres de almacenamiento (RMR, volumen de la raíz primaria, diámetro de las raíces laterales y TNC; Cuadro 3.5). Por otro lado, los caracteres relacionados con la capacidad de almacenamiento se correlacionaron positivamente con TNC y N_{pool}, y negativamente con la tasa de adquisición (Cuadro 3.5).

Además del análisis de correlación, se realizó un análisis de vías con los datos del año 1 (ya que es el que presenta las condiciones climáticas normales de la zona objetivo) con el fin de identificar las bases estructurales de la variación en la tasa de adquisición y en la capacidad de almacenamiento. El análisis de vías resultó en un X^2 de 99,35 ($P > 0,05$), indicando que el modelo propuesto describía adecuadamente las relaciones funcionales subyacentes. La variación en la tasa de adquisición fue parcialmente explicada por diferencias en SRL y STD (Fig. 3.1), con SRL mostrando un mayor coeficiente. Las diferencias en SRL y STD se explican por una combinación de diferencias en el peso de la raíz, la densidad y en la morfología (específicamente variaciones en la raíz primaria y en el diámetro de las laterales). Así, las accesiones con raíces más largas y menos pesadas (mayor SRL) mostraron mayor tasa de adquisición, y menor cantidad de reservas (TNC).

Cuadro 3.5: Análisis de correlación de Pearson entre caracteres relacionados con la adquisición y caracteres relacionados con el almacenamiento en madurez y antesis para las tres accesiones de ambas especies y años ($N = 72$). Se muestran los coeficientes de correlación de Pearson y la significancia ($\cdot P < 0,1$; $* P < 0,05$; $** P < 0,01$; $*** P < 0,001$; ns: no significativo). A= Antesis. M= Madurez.
Caracteres de adquisición: Nadq= Tasa de adquisición. [N]raíz= Concentración N raíz. SRL= Longitud de raíz específica. STD= Densidad específica de meristemas radicales. **Caracteres de conservación:** TNC= Concentración carbohidratos no estructurales. RTD= Densidad del tejido radical. RMR= Partición de biomasa a raíz. Volumen 1^a= Volumen de la raíz primaria. Φ Laterales= Diámetro de las raíces laterales. Npool= Contenido de N de la raíz. TNCpool= Contenido de TNC de la raíz.

		ANTESIS				MADUREZ					
		[N] raíz (mg g ⁻¹)	SRL (cm g ⁻¹)	STD (mer g ⁻¹)	RTD (g mL ⁻¹)	[N] raíz (mg g ⁻¹)	SRL (cm g ⁻¹)	STD (mer g ⁻¹)	Nadq (mgg ⁻¹ a ⁻¹)	N (pool)	TNC (pool)
MADUREZ	A. [N] raíz (mg g ⁻¹)	-	0,37**	0,29*	-0,24*	-0,13ns	0,38***	0,40***	0,30**	-0,40***	-0,38**
	[N] raíz (mg g ⁻¹)	-0,13ns	0,08ns	0,02ns	0,14ns	-	0,14ns	0,18ns	0,15ns	0,40***	0,06ns
	RTD (g mL ⁻¹)	-0,19ns	-0,37**	-0,35**	0,29*	-0,14ns	-0,64***	-0,67***	-0,38**	0,57***	0,59***
	RMR (g g ⁻¹)	-0,39***	-0,38**	-0,28*	0,22	-0,10ns	-0,5***	-0,61***	-0,95***	0,47***	0,69***
	Vol. 1 ^a (ml)	-0,35**	-0,39***	-0,33*	0,17ns	-0,12ns	-0,54***	-0,66***	-0,46***	0,53***	0,72***
	Φ lateral (cm)	-0,29*	-0,22ns	-0,17ns	0,06ns	-0,03ns	-0,42***	-0,62***	-0,36**	0,58***	0,67***
	TNC (%)	-0,28*	-0,10ns	-0,09ns	0,24*	0,27*	-0,08ns	-0,10ns	-0,42***	0,07ns	0,43***
	N pool (mg)	-0,40***	-0,39***	-	0,44***	0,40***	-0,36**	-0,50***	-0,34**	-	0,74***
	TNC (pool)	-0,38**	-0,42**	-0,42**	0,38***	0,06ns	-0,52***	-0,66***	-0,62***	0,74***	-
	Nadq (mg g ⁻¹ a ⁻¹)	0,30*	0,35**	0,26*	-0,22	0,15ns	0,52***	0,59***	-	-0,34**	-0,62***

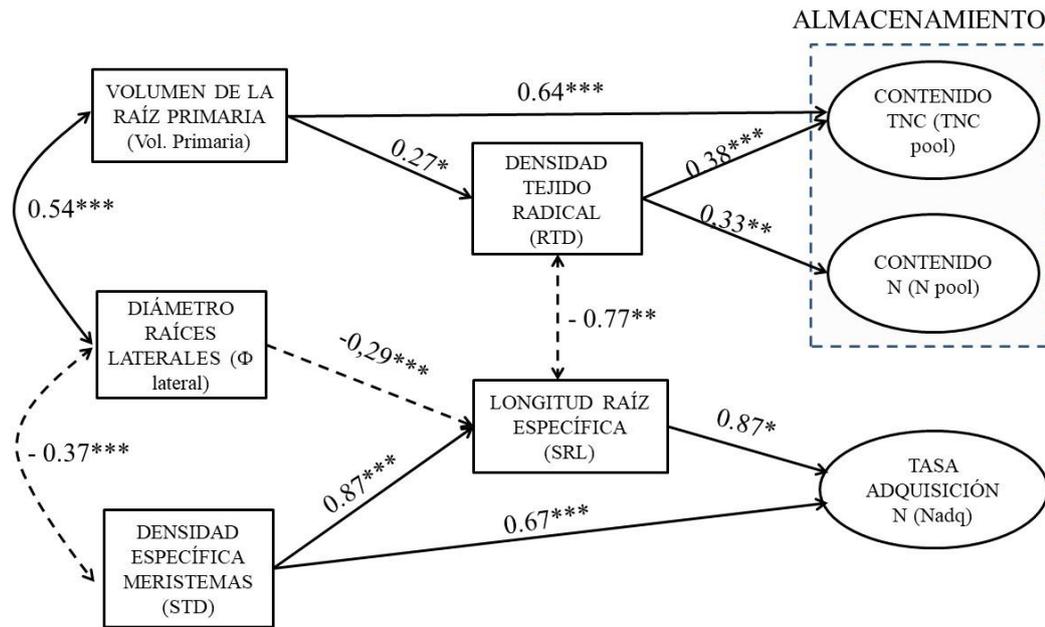


Figura 3.2: Diagrama de vías para el año 1 mostrando los efectos directos e indirectos de los atributos radicales sobre la tasa de adquisición de N y la capacidad de almacenamiento de reservas (medido como contenido de TNC y de N en raíz). Los números indican el coeficiente de relación entre atributos; los asteriscos la significancia del coeficiente (***P < 0,001; **P < 0,01; and *P < 0,05). Las líneas sólidas indican relaciones positivas, mientras que las punteadas indican relaciones negativas.

4.-DISCUSIÓN

4.1.- Diferencias entre accesiones

Predije que las accesiones R mostrarían un sistema radical más adquisitivo que las S, mientras que las E mantendrían el patrón más conservativo de las S. En antesis, la predicción se cumplió únicamente en el ensayo 1. Durante el ensayo 1, con condiciones ambientales dentro de la media normal de la zona de estudio, las accesiones R mostraron mayor valor de los caracteres relacionados con la adquisición de nutrientes, específicamente mayor concentración de N en raíz, SRL y STD. Las diferencias en SRL y STD pueden ser explicadas por el menor peso y densidad de los sistemas radicales de las accesiones R respecto a S y E, ya que no hubo diferencias en la longitud total del sistema radical o el número de meristemas. Los resultados en este sentido en otros sistemas experimentales son diversos, en trigo por ejemplo se ha encontrado un patrón semejante, con los cultivares más modernos presentando un incremento de la presencia de raíces finas (Roucou *et al.*, 2017), en otra gramínea *Microlaena stipoides* la somesticación parece incrementar la densidad y reducir SRL (Ryalls *et al.*, 2018), mientras que en otros experimentos con diversas especies se ha mostrado una cierta dispersión de los resultados respecto a SRL y RTD, aunque con tendencia a que la domesticación se relacione con estrategias más adquisitivas (Milla *et al.*, 2014). En cualquier caso, el incremento en SRL y STD podría indicar una menor inversión en tejido de sostén y almacenamiento y menor longevidad, pero estaría relacionado con mayor tasa de adquisición (Eissenstat *et al.*, 2000) en las accesiones R respecto a las S y E. Mientras que un mayor SRL aumenta la eficiencia en la exploración y explotación del suelo, también compromete la longevidad de la raíz (Eissenstat *et al.*, 2000; McCormack *et al.*, 2012). Igualmente, STD es una medida relativa de la inversión a

tejido absorbente o estructural y, en consecuencia, un mayor STD ha sido relacionado con mayores tasas de adquisición de nutrientes (Paula y Pausas, 2011). Además, las accesiones R mostraron mayores concentraciones de [N] en raíz durante el ensayo 1. Elevadas concentraciones de [N] radical estarían relacionadas, a su vez, con mayor tasa de adquisición (Bloom *et al.*, 1992) pero con una menor longevidad (Roumet *et al.*, 2005; Withington *et al.*, 2006; McCormack *et al.*, 2012). En contraste, la mayor densidad de tejido radical hallada en accesiones S y E ha sido relacionada con una mayor longevidad y podría proveer mayor resistencia a la herbivoría subterránea y a la sequía (Fitter, 1991; Ryser, 1996; Wahl y Ryser 2000; Tjoelker *et al.*, 2005).

Sin embargo, durante el ensayo 2 las accesiones S y E incrementaron SRL y STD a expensas de una reducción de su inversión a tejido estructural y de almacenamiento (menor densidad y peso del sistema radical). Además, se produjo un incremento en la [N] de la raíz, diluyéndose así las diferencias con R. Resulta difícil confirmar la predicción 1 de este capítulo teniendo en cuenta estos resultados contrastantes. Estas contradicciones podrían estar ligadas a una mayor capacidad homeostática en las plantas no domesticadas como ya han señalado otros autores (Vilela y González-Paleo, 2015; Matesanz y Milla, 2018; Alvarez-Flores *et al.*, 2018). Así, la plasticidad del sistema radical en las accesiones no seleccionadas podría estar asociada a un incremento de la capacidad de exploración del suelo en relación a un recurso limitante, por ejemplo, debido a unas condiciones ambientales menos favorables durante el ensayo 2. A pesar de la disponibilidad de riego entre octubre y abril, el crecimiento vegetal depende en gran medida del agua acumulada en el suelo en los meses de otoño e invierno que además coinciden con los meses de crecimiento vegetativo, por lo que las menores lluvias durante el otoño e invierno del ensayo 2 podrían haber limitado la disponibilidad de agua y nutrientes en las primeras etapas de crecimiento vegetativo. Así, una posible interpretación sería que en las accesiones S y E se producen cambios en el sistema radical hacia un perfil más adquisitivo para evitar la sequía (Balachowski *et al.*, 2016), que incluiría una elongación más rápida y la producción de raíces más largas con menor inversión en carbono (por ejemplo, mayor SRL), debido a una menor densidad (RTD o menor peso de la raíz; Comas y Eissenstat, 2004; Hernandez *et al.*, 2010; White y Snow, 2012; Pérez-Ramos *et al.*, 2013). En contraste, las accesiones R no mostraron ninguna variabilidad en los caracteres radicales entre años. Esto podría explicarse por restricciones genotípicas o por compromisos ecofisiológicos existentes en las plantas cortamente perennes, que mejoran la adquisición y la producción de semillas por encima de la función de almacenamiento de reservas. Sin embargo, para probar la plausibilidad de esta hipótesis sería necesario realizar otros ensayos complementarios.

En el estadio de madurez, E y S muestran claramente una mayor partición a raíces que R. Este patrón es el mismo que el hallado en el capítulo anterior para la partición de N y se ha encontrado en otros cultivares y sistemas experimentales tras la domesticación o selección, por ejemplo, en *Oenothera sp* (Vilela y González-Paleo, 2015) y cebada (*Hordeum vulgare*; Grossman y Rice, 2012). En relación con los caracteres estructurales del sistema radical, el patrón fue parecido al observado en anthesis, aunque las diferencias entre accesiones sólo se registraron en *P. mendocina*. Esto podría indicar que las accesiones R de *P. pinetorum* tienden a ser más conservativas cuando encaran la madurez, pese a que ello no se corresponde con un incremento en las reservas de C o N.

En resumen, en el ensayo 1, como predije, las accesiones S y E muestran un conjunto de caracteres más conservativo que las R. Sin embargo, durante el ensayo 2 estas diferencias desaparecen debido a que S y E sufren un incremento en sus atributos

relacionados con la adquisición, mientras que las R mantienen siempre un perfil adquisitivo.

4.2.- Cambios en raíz y efecto en la adquisición y almacenamiento

Las accesiones R mostraron mayor tasa de adquisición y menor almacenamiento de reservas que las accesiones S y E. Las diferencias en la adquisición pueden ser explicadas parcialmente por diferencias estructurales en el sistema radical entre las accesiones (por ejemplo, relaciones positivas de SRL y STD con la tasa de adquisición), especialmente durante el ensayo 1, en el que hubo claras diferencias estructurales. Sin embargo, en el ensayo 2, las diferencias en la tasa de adquisición de N se mantienen pese a que las diferencias estructurales desaparecen. Existen dos posibles explicaciones para este fenómeno. Por un lado, se ha visto que algunas variedades de trigo cultivadas en Australia entre 1958 y 2007 han incrementado su adquisición de N, sin cambios estructurales sino por cambios fisiológicos como una mayor eficiencia en la captura de los nutrientes (Aziz *et al.*, 2017). Sería necesario, pues, estudiar las bases fisiológicas de las diferencias en las tasas de adquisición de N con el fin de comprobar la plausibilidad de esta hipótesis en la domesticación de cultivos perennes. Por otro lado, las accesiones R presentaron una mayor biomasa con menor partición a raíces y un mayor rendimiento que las E y las S. En este sentido, una mayor actividad de la biomasa aérea podría cambiar la relación fuente-destino dentro de la planta (aumentando la fuerza de los destinos, como se vio en el capítulo II de esta tesis), controlando parcialmente la adquisición por parte de la raíz (Cox *et al.*, 1985).

Respecto a la capacidad de almacenamiento, E y S muestran mayores concentraciones de N (en madurez) y de TNC en ambos experimentos, acompañadas por una mayor partición a raíces, lo que indicaría una mayor fuerza del destino de almacenamiento en estas accesiones. Sin embargo, durante el año 2, pese a que se mantienen las diferencias en concentración y en partición, los contenidos totales de N y de TNC en las líneas S y E descienden súbitamente. Esto puede deberse a que, si bien el almacenamiento sigue siendo en estas líneas un destino prioritario (así lo indican las concentraciones superiores de ambos componentes), los cambios estructurales del sistema radical sufridos durante este segundo año limitan la capacidad de almacenamiento del sistema radical, disminuyendo así la cantidad de reservas. En las líneas R de *P. mendocina*, sin embargo, la diferencia entre años no es tan patente. Esto correlaciona bien con el hecho de que sean las únicas líneas que no presentan ningún tipo de modificación estructural entre años. Estos resultados coinciden con lo hallado previamente en *P. mendocina* (González-Paleo *et al.*, 2016a), con las accesiones R mostrando valores bajos en el contenido en TNC. En resumen: tras la selección por rendimiento la capacidad de almacenamiento se habría visto afectada por cambios en la estructura radical. Además, cambios en los patrones de partición de biomasa y N (como los señalados en este capítulo y en el anterior) afectarían a la capacidad de almacenar.

En este contexto, es necesario resaltar el papel ambiguo de la concentración de N en la raíz. Las accesiones S y E mostraron mayor concentración de N en raíces que las accesiones R en madurez, pese a que en antesis se encontró el patrón inverso. Este hallazgo coincide con la hipótesis de que el N pueda ser particionado a raíces u otros destinos diferencialmente dependiendo de la función prioritaria en cada estadio de desarrollo. Por ejemplo, durante la antesis el N sería particionado preferentemente a raíces finas con el objetivo de mantener tasas elevadas de actividad y facilitar la adquisición (accesiones R mostrando mayores concentraciones de N que E y S, y accesiones S y E aumentando la [N] bajo condiciones desfavorables en antesis);

mientras que, en madurez, el N será preferentemente particionado a raíces gruesas, como la raíz primaria, con el objetivo de crear una reserva para el rebrote.

4.3.- Implicancias para la domesticación de perennes.

La mejora en la producción de biomasa y semillas ha sido relacionada con un incremento de la adquisición de nitrógeno del suelo (Weih *et al.*, 2011; Kaien *et al.*, 2012; Capítulo II de esta tesis). El incremento en la adquisición, a su vez, está controlado por varios factores, entre ellos, la asignación a biomasa subterránea y las características estructurales del sistema radical, la velocidad máxima de adquisición de las raíces y la capacidad fisiológica de las plantas para responder a pulsos de disponibilidad de nutrientes (Garnett *et al.*, 2009; Iversen *et al.*, 2010; Xu *et al.*, 2012; Comas *et al.*, 2013; Aziz *et al.*, 2017). En este sistema experimental, la tasa de adquisición estuvo parcialmente controlada por las características del sistema radical, específicamente cambios en SRL y STD. En general, lo que se observó es que las accesiones R mantienen un sistema radical adquisitivo independientemente de las condiciones ambientales a las que se enfrenten, especialmente durante el periodo crítico de floración. Un conjunto de caracteres adquisitivo permitiría mantener tasas de adquisición elevadas con una menor inversión de C en la construcción y mantenimiento del sistema radical, pero implicaría la construcción de raíces más finas y menos densas con menor longevidad y capacidad de almacenamiento (Robinson, 1996; Reich *et al.*, 1998; Eissenstat *et al.*, 2000; Roumet *et al.*, 2006; Garnett *et al.*, 2009; Wissuwa *et al.*, 2009; Trubat *et al.*, 2012). El compromiso con el almacenamiento de reservas (Vico *et al.*, 2016), tanto nitrogenadas como carbonadas, que se observa en las líneas seleccionadas podría influir negativamente en su capacidad para sobrevivir a periodos de estrés y mantener la estabilidad del rendimiento de un año a otro. En este sentido, se ha señalado que la cantidad de carbohidratos no estructurales almacenados es un importante predictor del crecimiento y el rendimiento a largo plazo (García y Ehrlén, 2002; González-Paleo *et al.*, 2016a). Los carbohidratos almacenados en tejidos subterráneos jugarían un papel crucial en el rebrote y reconstrucción de la biomasa fotosintética después del invierno (Chapin, 1980). Además, la cantidad de recursos almacenados determina la habilidad competitiva y la tolerancia al estrés de las plantas (Smith y Silva, 1969; Bloom *et al.*, 1985; Chapin *et al.*, 1990; Chaparro *et al.*, 1996). Así, la cantidad total de reservas carbonadas proveería una estimación del éxito de las especies perennes a lo largo de varias temporadas de cultivo (Latzel *et al.*, 2013).

El proceso de domesticación de plantas perennes debería considerar estos compromisos. La búsqueda del ideotipo de sistema radical para cultivos perennes en zonas marginales debería situarse en un punto que permitiese mantener una elevada capacidad de almacenamiento (por ejemplo, inversión en raíz principal densa y profunda) y una elevada capacidad de adquisición (por ejemplo, la construcción de raíces laterales finas y menos densas que permita la exploración sin una elevada inversión en carbono). Partiendo de las líneas silvestres, debería de mantenerse la jerarquía de las raíces (elevadas concentraciones de N y TNC en madurez) sin descuidar la exploración lateral del suelo. Para ello se propone un ideotipo de raíz que combine atributos adquisitivos y conservativos. Este ideotipo sería cercano al propuesto por Lynch (2008; 2013) que destaca los siguientes atributos: 1) una raíz primaria gruesa y poco ramificada, 2) numerosas raíces secundarias delgadas, superficiales con proliferación de ramificación lateral y pelos radicales, 3) un verticilo superior de raíces superficiales poco ramificadas, 4) ramificación lateral que no responda a la disponibilidad local de N. Este autor sugirió que la selección de raíces más profundas, con sistemas radicales extensos, no es únicamente una estrategia para capturar agua y

nitratos, sino que podría también ser efectiva en la captura de otros minerales y evitar su pérdida por lixiviado (por ejemplo sulfatos; Eriksen, 2009), minimizar la erosión (Loades *et al.*, 2010), y facilitar el secuestro de carbono en el suelo (Kell, 2011; White *et al.*, 2013), que es justamente lo que se persigue con la domesticación de perennes.

4.4. Conclusiones

La predicción 1 se cumplió únicamente en el ensayo 1, en el que las accesiones R mostraron un sistema radical más adquisitivo que las accesiones E y S. Sin embargo, en general, el incremento de biomasa y rendimiento debido a la selección estuvo acompañado de un aumento en la capacidad de adquisición del sistema radical. Este aumento de la adquisición implicó una reducción de la capacidad de la raíz para almacenar sustancias de reserva, lo que podría generar problemas para el rebrote en la temporada de cultivo siguiente y, por lo tanto, una reducción en la longevidad de la planta en las accesiones R. La predicción 2 se cumplió totalmente, ya que las plantas que presentaron un sistema radical más adquisitivo presentaron mayores tasas de adquisición (generalmente las accesiones R) y las que presentaron un sistema radical más conservativo mostraron mayor almacenamiento de sustancias de reserva (en general las S). El ideotipo de cultivo perenne debería caracterizarse por poseer atributos en un punto intermedio entre el perfil adquisitivo de las accesiones R y el conservativo de las S.

CAPÍTULO IV: CAMBIOS EN LA ESTRUCTURA FOLIAR DEBIDOS A LA SELECCION ¿QUÉ RELACIÓN TIENEN CON LA CONSERVACIÓN DE N?

1.- INTRODUCCIÓN

La eficiencia en el uso del N (NUE) se puede separar en dos componentes: la productividad de N (materia seca producida por unidad de tiempo y unidad de N en hoja; A_N) y el tiempo medio de residencia (cociente entre el pool de N y el N perdido; MRT) que es una medida de cómo se conserva el N (Berendse y Aerts, 1987). El NUE y sus componentes (MRT y A_N) a nivel foliar son de especial interés debido a que la mayor proporción del N de la planta es particionado a las hojas donde está implicado en la actividad fotosintética (Evans 1989; Hirose, 2012). El patrón de uso y conservación de N foliar puede influir en el uso de N en la planta entera y consecuentemente en su crecimiento. Así, el análisis de los patrones de uso foliar, como por ejemplo la retraslocación y la proficiencia, podrían ayudar a entender la NUE al nivel de planta (Hirose, 2012; Capítulo II).

En el capítulo II de esta tesis se encontró que las accesiones seleccionadas por rendimiento presentaban un menor tiempo medio de residencia foliar que las silvestres y las de rendimiento estable. Se propusieron mecanismos relacionados con la variación fuente-destino resultante de incrementar la asignación de N a reproducción como determinantes de cambios en la hoja (Pornon y Lamaze 2007; Marty *et al.*, 2010; Pornon *et al.*, 2011; Hirose, 2012; Gaju *et al.*, 2014; Pastor-Pastor *et al.*, 2018; capítulo II). Aquí se profundiza en los cambios foliares que explican diferencias en la conservación de N.

A nivel foliar, la capacidad de conservación de N está mediada por varios caracteres, por ejemplo, la [N] en hoja, la eficiencia de reabsorción, longevidad foliar y la estructura foliar (por ejemplo, área foliar específica –SLA–; Hirose, 2012). Se ha propuesto que existe un compromiso entre los atributos relacionados con la productividad y los relacionados con la conservación (Berendse y Aerts, 1987; Aerts, 1995; Silla y Escudero, 2004; Yuan *et al.*, 2008; Iversen *et al.*, 2010; Pastor-Pastor *et al.*, 2018; capítulo II). Generalmente se acepta que las especies perennes que viven en sistemas áridos o con baja disponibilidad de N son menos productivas, pero más eficientes en la conservación (Vázquez de Aldana y Berendse, 1997; Aerts y Chapin, 2000; Silla y Escudero, 2004). Estas especies presentarían un conjunto de atributos foliares caracterizado por bajo contenido en N, elevada longevidad foliar, baja área foliar específica (SLA) y elevada eficiencia de reabsorción de nutrientes que contribuyen a una baja dependencia de fuentes externas y limitan la pérdida (Aerts, 1996; Aerts y Chapin, 2000; Wright *et al.*, 2002).

La selección por alto rendimiento de grano aplicada a especies perennes produce algunos cambios indirectos en la morfofisiología de las hojas, tales como, aumentos en el SLA y la asimilación de CO_2 (Pujol *et al.*, 2008; González-Paleo y Ravetta, 2011a) y un cambio general en la estrategia de la planta de conservativa a adquisitiva (González-Paleo y Ravetta, 2011a; Vilela y González-Paleo, 2015; Milla *et al.*, 2015). Estos cambios podrían influir negativamente en la longevidad de las hojas o en su estructura (por ejemplo, aumento en SLA; Reich *et al.*, 1999, Kikuzawa, 2004) e incrementar la pérdida de N por senescencia (por ejemplo, alterando los patrones de reabsorción; García-Palacios *et al.*, 2013). En conjunto, estos cambios limitarían la conservación de nutrientes y podrían reducir la longevidad de la planta, comprometiendo la producción de semilla en ambientes con baja disponibilidad (Pimm, 1997; González-Paleo y Ravetta, 2012; Pastor-Pastor *et al.*, 2018; capítulo II). Desde la perspectiva de la domesticación de perennes, estos cambios serían indeseables en un ideotipo para zonas con baja disponibilidad de nutrientes, ya que aumentarían la dependencia de la planta de fuentes externas. Es

necesario identificar estas variaciones y sus relaciones con la conservación de nutrientes con el fin de definir criterios de selección que permitan aunar las características adquisitivas y conservativas de cultivos de alto rendimiento y plantas silvestres. El objetivo de este capítulo es contestar a: ¿Qué caracteres de las hojas se diferencian entre accesiones? ¿Las diferencias en las hojas, si existen, afectan la capacidad de conservación de N?

Objetivo 1: Evaluar el efecto de la selección por rendimiento de grano y estabilidad del rendimiento sobre los caracteres foliares relacionados con el uso de N y su conservación.

Hipótesis 1: Los distintos criterios de selección producirán cambios en la estructura foliar que podrían afectar a la capacidad de conservación de N y el rendimiento.

Predicción 1: Las accesiones R presentarán mayor área foliar específica (SLA), tasa de senescencia y concentración de N en hoja verde y senescente y menor longevidad foliar, partición a hojas y eficiencia en la reabsorción de N (NRE, por sus siglas en inglés *N resorption efficiency*) que las S y E.

Objetivo 2: Evaluar el efecto de los cambios en los caracteres foliares sobre la conservación de N a nivel foliar (medido como MRT_{Hoja} ; tiempo medio de residencia de N en la hoja).

Hipótesis 2: Los cambios en la estructura foliar provocados por la selección por alto rendimiento de grano implicarán cambios en la conservación de N en la hoja.

Predicción 2: Los cambios producidos en SLA, tasa de senescencia, concentración de N en hojas verdes y senescentes y longevidad foliar, partición a hojas y reabsorción en las líneas de alto rendimiento (R) generarán una reducción del tiempo medio de residencia de N foliar (MRT_{Hoja}) en estas accesiones respecto a las silvestres (S) y estables (E), que mantendrán el MRT estable.

2.- MATERIALES Y MÉTODOS

Utilicé las plantas cosechadas en el estadio de madurez en los dos ensayos descritos en la sección de materiales y métodos del capítulo I para realizar las siguientes mediciones:

2.1- Medidas de la hoja y análisis químico

Longevidad foliar y senescencia: Determiné el inicio de la senescencia foliar monitoreando semanalmente 1 planta/parcela; 6 parcelas/tratamiento. Para el cálculo de la longevidad foliar marqué con un pequeño lazo amarillo una hoja de la roseta al azar por planta durante las últimas fases de la etapa vegetativa al final del invierno. Marqué hojas recientemente emergidas, pero ya totalmente expandidas (consideré que estaban expandidas cuando medían al menos 1 centímetro de longitud). La longevidad foliar se expresó en días desde que se marcó hasta su senescencia aparente. Consideré que una hoja estaba senescente cuando más del 50% de la lámina foliar estaba clorótica (color amarillo oscuro).

Medidas morfológicas y de asignación: A partir de las plantas cosechadas en el estadio fenológico de madurez de ambos ensayos (6 repeticiones por especie, accesión y año) digitalicé la superficie foliar verde utilizando un scanner y posteriormente sequé las muestras a 50 °C hasta peso constante. Determiné el área foliar total por planta utilizando UTHSCSA Image Tool for Windows, versión 2.02 con una precisión milimétrica. Dividí la biomasa en: raíces, hojas, tallos vegetativos, semillas y estructuras reproductivas anexas (tallo floral más cápsulas sin semillas; Craine *et al.*,

1999). Pesé la biomasa en una balanza electrónica con una precisión de 0,0001 gramos. Calculé la proporción de biomasa de hojas (LMR) y el área foliar específica (SLA).

Análisis químicos y cálculos: Determiné la concentración de N en hojas verdes ([N]verde) y senescentes ([N]sen, también llamado proficiencia), utilizando el método de Kjeldahl (Scales y Harrison, 1920). Realicé estos análisis en los laboratorios del Museo Paleontológico Egidio Feruglio. Con estos datos y los de partición de biomasa calculé: *Pool* de N en hoja verde (producto de la concentración de N en hoja verde – [N]verde– y la masa de hoja de verde –DMverde– en cada planta), *pool* de N en hojas senescentes (producto de la concentración de N en hoja senescente –[N]sen– y biomasa de hoja senescente –DMsenes–) y tasa de senescencia (cociente entre la cantidad total de N absorbido y el peso de la raíz y el tiempo transcurrido). Además, calculé la eficiencia en el uso de N foliar (NUE) y sus componentes: productividad (A_N ; g biomasa $g\ N^{-1}\ año^{-1}$) y tiempo medio de residencia (MRT; años; Berendse y Aerts, 1987); y la reabsorción de N desde hojas senescentes, cuantificado como: 1) Eficiencia de reabsorción (NRE, que es la proporción de N en hojas verdes que se reabsorbe durante la senescencia foliar; Vitousek, 1982) y/o 2) proficiencia (que es una medida de cuanto N se pierde en hojas senescentes: menor concentración de nitrógeno en hoja senescente implica mayor proficiencia; Killingbeck, 1996). En el Cuadro 4.1 se indican todas las variables analizadas, definición y unidades.

Cuadro 4.1: Definiciones y unidades de los caracteres foliares utilizados para caracterizar las accesiones.

VARIABLE	DEFINICIÓN	UNIDADES
LMR	Cociente entre el peso seco de las hojas y la biomasa total	$g\ g^{-1}$
DM Verde	Peso seco total de hojas verdes	g
DM senes	Peso seco total de hojas senescentes	g
Pool N Verde	Contenido total de N en hojas verdes	mg
Pool N Sen	Contenido total de N en hojas senescentes	mg
Tasa sen	Peso seco de hojas senescentes por unidad de tiempo	$g\ año^{-1}$
Área	Área foliar total	cm^2
[N] verde	Concentración de N en hoja verde	$mg\ g^{-1}$
[N] Sen	Concentración de N en hoja senescente	$mg\ g^{-1}$
NRE	Eficiencia en la reabsorción de N. Se calcula como: $([N]verde - [N]sen)/[N]verde * 100$	%
SLA	Cociente entre el área foliar verde y su peso	$cm^2\ g^{-1}$
LLS	Longevidad foliar	días

2.2.- Análisis estadístico

ANOVA de tres factores fueron realizados para identificar las fuentes de variación significativas en los caracteres foliares entre las accesiones, especies y años de cultivo y analizar sus interacciones (doble interacción: año*especie, accesión*especie, accesión*año; y triple interacción: año*especie*accesión). El modelo simbólico de este análisis se expresa en capítulo II. Cuando alguna de estas interacciones resultó significativa se aplicó ANOVA de uno y dos factores para explorar las diferencias entre accesiones dentro de las especies y años. La mínima diferencia significativa (LSD; *Least Significant Difference*) fue calculada para un P valor de 0,05 con el fin de comparar entre accesiones. Para comparar entre medias cuando no hubo interacción (LMR, DM senes, Pool senes, Tasa sen, [N]verde, [N] sen) se muestra LSD calculada

para 60 grados de libertad y N= 24. Para comparar entre accesiones y años o especies cuando una doble interacción fue significativa (NRE y LLS) se calculó LSD para 33 grados de libertad y N= 12. Cuando triple interacción fue significativa (SLA) se calculó para 15 grados de libertad y N= 6. No realicé esta comparación entre especies o años ya que no era el objetivo de este trabajo, pese a que incluimos los resultados del ANOVA con el fin de incluir toda la variabilidad existente en el sistema y probar que el término residual del ANOVA está basado en los grados de libertad correctos.

Para investigar las relaciones entre los caracteres foliares y la conservación de N se realizaron regresiones simples enfrentando el tiempo medio de residencia foliar del N (MRT_{Hoja}) a los diferentes caracteres. Para comprobar el supuesto de normalidad y homocedasticidad realicé tests de Shapiro–Wilk y de Levene. Se aplicó transformación logarítmica para satisfacer los supuestos de ANOVA y regresión en todas las variables. El programa usado para los análisis ANOVA y de correlación fue InfoStat versión 2009.

3.- RESULTADOS

3.1.- Efecto de la selección sobre los caracteres foliares

Se registraron diferencias entre accesiones consistentes entre años y especies para la partición de biomasa a hojas, la biomasa senescente (DMsen), el pool de N senescente, la tasa de senescencia (Tasa sen), la [N]verde y la [N] senescente (Cuadros 4.2 y 4.3): Las accesiones R presentaron mayor biomasa senescente, pool N senescente, tasa de senescencia y [N]senescente y una menor partición de biomasa a hojas y [N] verde que las S y E (Cuadro 4.3).

Cuadro 4.2: Fuentes de variabilidad en caracteres foliares. Se muestran F y significancia ($\cdot < 0,1$, * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$, ns = no significativo) de los efectos principales y las interacciones del año (año), especie (sp) y accesión (ac) del análisis ANOVA. gl= Grados de libertad. CM_{error} = Cuadrado medio del error. LMR= Partición a hoja. DM Verde= Peso hoja verde. DMsen= Peso hoja senescente. Pool Verde= Contenido de N en hoja verde. Pool Sen= Contenido N en hoja senescente. Tasa sen= Tasa de senescencia. Área= Área foliar total. [N] verde= Concentración N en hoja verde. [N]sen= Concentración N en hoja senescente. NRE= Eficiencia en la reabsorción de N. SLA= Área foliar específica. LLS= Longevidad foliar.

	AÑO	SP	AC	AÑO*SP	AÑO*AC	SP*AC	AÑO*SP*AC	CM_{error}
gl	1	1	2	1	2	2	2	60
LMR ($g\ g^{-1}$)	37,42***	21,71***	16,64***	8,63**	0,79ns	0,56ns	1,70ns	0,02
DM Verde (g)	68,12***	1,78ns	2,58ns	18,57***	1,92ns	0,11ns	0,31ns	0,07
DM senes (g)	8,40**	0,17ns	4,09*	1,85ns	0,37ns	1,19ns	1,85ns	0,07
Pool N Verde (g)	50,29***	5,14*	1,60ns	30,43***	1,94ns	0,27ns	0,03ns	0,08
Pool N Sen (g)	12,03**	14,51***	7,97***	0,06ns	0,69ns	2,72ns	2,31ns	0,09
Tasa sen ($g\ a^{-1}$)	7,24**	0,17ns	4,32*	1,85ns	0,30ns	1,19ns	1,85ns	0,04
Área (cm^2)	14,65***	2,81ns	0,75ns	16,25***	1,80ns	1,14ns	1,31ns	0,09
[N] verde ($mg\ g^{-1}$)	4,61*	10,07**	3,11*	20,70***	0,55ns	0,47ns	1,35ns	0,01
[N] Sen ($mg\ g^{-1}$)	2,81ns	38,00***	4,48*	6,54*	0,35ns	2,80ns	1,32ns	0,03
NRE (%)	7,87**	13,77***	10,44***	0,71ns	0,004ns	4,58*	2,02ns	0,01
SLA ($cm^2\ g^{-1}$)	188,12***	10,44**	2,97*	0,39ns	3,60*	5,47**	6,83*	0,01
LLS (días)	4,93*	0,39ns	7,03**	0,01ns	0,08ns	5,04**	0,03ns	0,01
MRT_{Hoja} (año)	6,72*	1,96ns	6,78**	15,27***	0,91ns	1,09ns	1,84ns	0,14

En el resto de los caracteres las diferencias entre accesiones dependieron de la especie (interacción significativa entre accesión y especie para NRE y LLS y una triple interacción para el SLA; Cuadro 4.2). En *P. pinetorum* la estructura y funcionamiento foliar sólo se vieron afectadas por el criterio de selección por rendimiento: las accesiones R mostraron menor eficiencia en la reabsorción (NRE) y una menor longevidad foliar, lo que resultó en un mayor pool de N perdido en el tejido senescente (Pool Ns) que las accesiones estables (E) y la silvestre (S; Cuadro 4.3). El criterio de selección por estabilidad del rendimiento no generó cambios asociados a nivel foliar. En *P. mendocina*, sólo se registraron diferencias entre accesiones en la longevidad foliar, pero las diferencias fueron provocadas tanto por el esquema de selección para incrementar el rendimiento como por el de rendimiento estable: las accesiones R y E una menor longevidad foliar que las S (Cuadro 4.3). El SLA, por su parte, fue mayor, en general, en el año 2 y sólo hubo diferencias entre accesiones en el año 1 de *P. mendocina* con las accesiones E mostrando el mayor valor (Cuadro 4.3).

Cuadro 4.3: Comparación de medias entre accesiones para los caracteres foliares. Para comparar se muestra la mínima diferencia significativa (LSD). Se muestran los valores sin transformar y entre paréntesis transformados por logaritmos. LMR= partición a hojas (Leaf Mass Ratio). DMsen= Peso hoja senescente. Pool Verde= Contenido de N en hoja verde. Pool Sen= Contenido N en hoja senescente. Tasa sen= Tasa de senescencia. [N] verde= Concentración N en hoja verde. [N]sen= Concentración N senescente. NRE= Eficiencia en reabsorción de N. SLA= Área foliar específica. LLS= Longevidad foliar.

VARIABLES	SP	AÑO	Rendimiento (R)	Estabilidad (E)	Silvestre (S)	F _{acces}	LSD
INTERACCIÓN NO SIGNIFICATIVA							
LMR (g g ⁻¹)			0,13 (-0,90)	0,22 (-0,70)	0,21 (-0,71)		0,08
DM senes (g)			1,64 (0,19)	1,31 (0,03)	1,25 (-0,02)		0,15
Pool Sen (mg)			13,13 (1,00)	8,02 (0,81)	7,21 (0,65)		0,18
Tasa sen (g a ⁻¹)			1,78 (0,25)	1,47 (0,08)	0,03 (1,41)		0,15
[N] verde (mg g ⁻¹)			21,91 (1,32)	24,38 (1,38)	24,6 (1,38)		0,05
[N] Sen (mg g ⁻¹)			7,73 (0,82)	6,53 (0,79)	5,39 (0,68)		0,10
INTERACCIÓN ACCESIÓN * SP SIGNIFICATIVA							
NRE (%)	<i>P. mendocina</i>		74 (-0,14)	74 (-0,14)	0,81 (-0,09)	1,19ns	0,07
	<i>P. pinetorum</i>		55 (-0,26)	71 (-0,15)	75 (-0,13)	17,77***	0,05
	F_{sp}		12,67**	0,27ns	2,80ns		
LLS (días)	<i>P. mendocina</i>		124,25 (2,09)	105,75 (2,00)	144,00 (2,15)	5,71**	0,09
	<i>P. pinetorum</i>		106,00 (2,02)	120,58 (2,08)	127,58 (2,10)	7,87**	0,04
	F_{sp}		5,94*	2,67ns	3,69ns		
INTERACCIÓN ACCESIÓN * SP * AÑO SIGNIFICATIVA							
SLA (cm ² g ⁻¹)	<i>P. mendocina</i>	1	1,65 (45,53)	1,90 (86,43)	1,68 (48,81)	8,16**	0,14
		2	1,97 (94,27)	1,99 (97,95)	2,06 (115,21)	3,12ns	0,08
	F_{año}		57,22***	1,30ns	81,64***		
SLA (cm ² g ⁻¹)	<i>P. pinetorum</i>	1	69,44 (1,83)	61,68 (1,78)	61,53 (1,79)	0,58ns	0,11
		2	121,76 (2,08)	124,24 (2,09)	116,72 (2,07)	0,72ns	0,05
	F_{año}		32,15***	40,51***	148,02***		
COMPARACIONES NO SIGNIFICATIVAS							
DM verde (g)			2,55 (0,41)	2,09 (0,32)	3,10 (0,49)		
Pool N verde (mg)			58,99 (1,77)	53,89 (1,73)	76,61 (1,88)		
Área foliar (cm ²)			189,48 (2,28)	159,12 (2,20)	207,78 (2,32)		

3.2.- Relación de los caracteres foliares con la conservación de N

Dadas las interacciones *especie/accesión* significativas existentes en muchos de los caracteres evaluados, las correlaciones de los caracteres estructurales y funcionales de la hoja con el tiempo medio de residencia (MRT) se analizaron para cada especie por separado (Cuadro 4.4, Fig. 4.1). En *P. mendocina*, el mecanismo de conservación de N a nivel foliar (MRT_{Hoja}) estuvo determinado fundamentalmente por cambios en los patrones de reabsorción de N antes de la senescencia (NRE y proficiencia $-[N]_{\text{sen}}$) y, en menor medida, por la tasa de senescencia y la partición a hoja verde al final de ciclo (LMR; Cuadro 4.4, Fig 4.1 A, B, E, F, I). En *P. pinetorum* el mecanismo de conservación de nitrógeno en la hoja fue diferente. La variación en MRT_{Hoja} fue, además de por cambios en la partición (en LMR y Pool N verde), principalmente resultado de cambios en la estructura foliar (SLA), en la longevidad (LLS) y la tasa de senescencia, pero también debida a variaciones en la asignación de N verde al final de ciclo (Cuadro 4.4, Fig. 4.1 A, B, C, D, G, H).

Cuadro 4.4: Parámetros de las regresiones simples entre los caracteres foliares y la capacidad de conservación foliar (MRT_{Hoja}) para cada especie (N= 36) con los dos años y las tres líneas juntas. Se muestran valores F y significancia (* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$; ns = no significativo).

Variable	Sp	F	R ²
LMR (g g ⁻¹)	<i>P. mendocina</i>	5,10*	0,13
	<i>P. pinetorum</i>	34,82***	0,51
Pool Verde (g)	<i>P. mendocina</i>	10,59**	0,24
	<i>P. pinetorum</i>	39,78***	0,54
[N] verde (mg g ⁻¹)	<i>P. mendocina</i>	0,94ns	0,03
	<i>P. pinetorum</i>	4,02*	0,11
Tasa sen (g a ⁻¹)	<i>P. mendocina</i>	8,51**	0,20
	<i>P. pinetorum</i>	6,94*	0,17
Pool Sen (g)	<i>P. mendocina</i>	69,72***	0,67
	<i>P. pinetorum</i>	4,06ns	0,11
[N] Sen (mg g ⁻¹)	<i>P. mendocina</i>	39,52***	0,54
	<i>P. pinetorum</i>	0,01ns	0,00
LLS (días)	<i>P. mendocina</i>	2,77ns	0,08
	<i>P. pinetorum</i>	7,74**	0,19
SLA (cm ² g ⁻¹)	<i>P. mendocina</i>	0,07ns	0,00
	<i>P. pinetorum</i>	18,86***	0,36
NRE (%)	<i>P. mendocina</i>	28,80***	0,46
	<i>P. pinetorum</i>	0,60ns	0,02

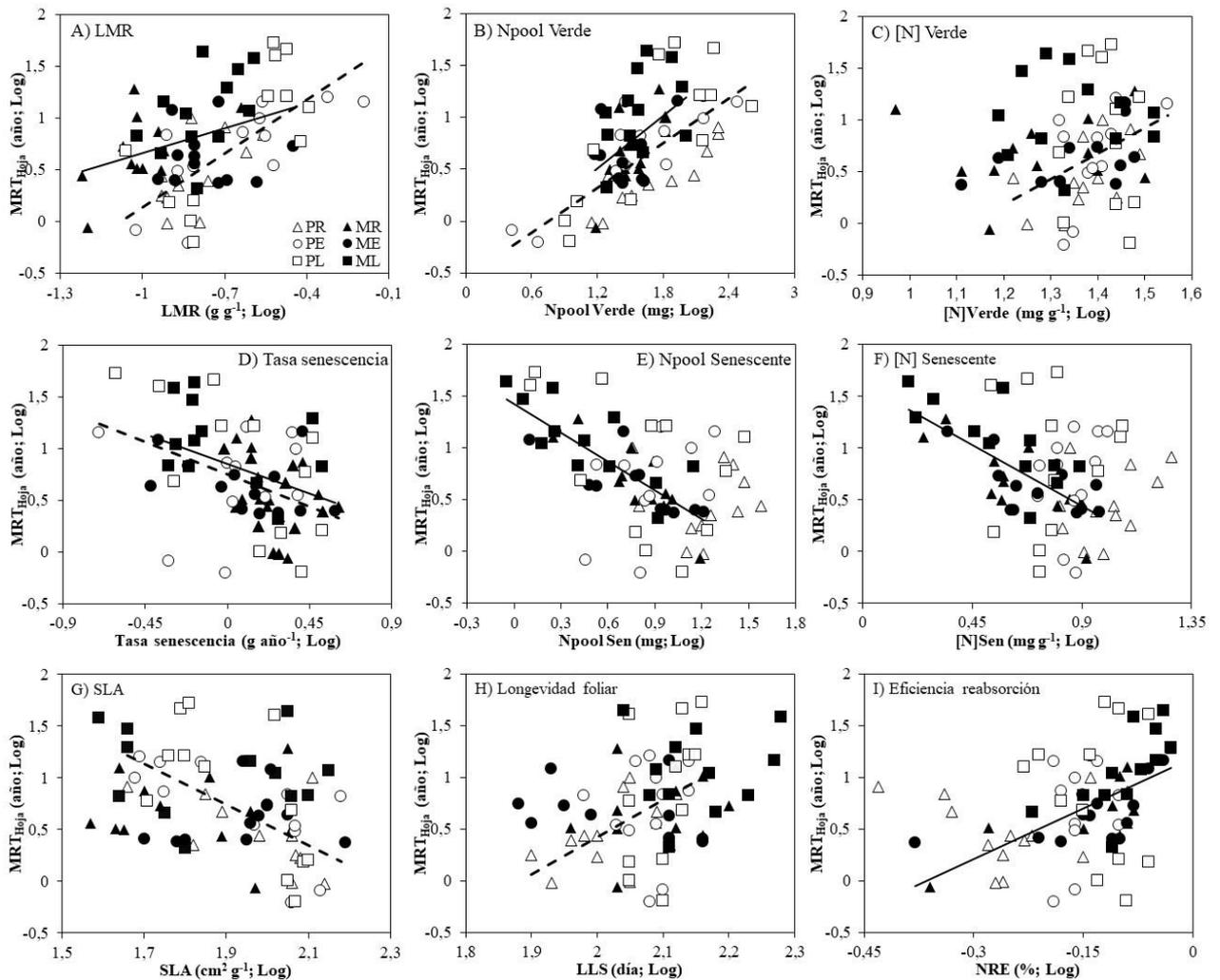


Figura 4.1: Análisis de las relaciones entre los caracteres foliares y la conservación de N foliar (medido como tiempo medio de residencia en la hoja – MRT_{Hoja} –). Los caracteres son: A) LMR (partición a hojas), B) Contenido de N en hojas verdes, C) Concentración de N en hojas verdes, D) Tasa de senescencia, E) Contenido de N en hojas senescentes o proficiencia, F) Concentración de N en hojas senescentes, G) área foliar específica, H) longevidad foliar e I) Eficiencia en la reabsorción. La línea sólida muestra la regresión significativa para *P. mendocina*, la línea de guiones la regresión significativa para *P. pinetorum*. PR=*P. pinetorum*, accesión R (alto rendimiento). PE=*P. pinetorum*, accesión E (rendimiento estable). PL=*P. pinetorum*, accesión silvestre. MR=*P. mendocina*, accesión R. ME=*P. mendocina*, accesión E. ML=*P. mendocina* accesión S (silvestre).

4.- DISCUSIÓN

En otros estudios se ha descrito que la selección por alto rendimiento de grano genera un aumento de SLA (Pujol *et al.*, 2008; González-Paleo y Ravetta, 2011a) y la concentración de N en tejido senescente (García-Palacios *et al.*, 2013) y una reducción de la capacidad de conservación de nutrientes (Vico *et al.*, 2016; Pastor-Pastor *et al.*, 2018; Pastor-Pastor *et al.*, 2019; capítulo II de esta tesis). Basado en ello, predije que las accesiones de alto rendimiento presentarían una mayor pérdida de N por senescencia y una menor longevidad foliar, y que serían esas diferencias las causantes de que las accesiones R presenten menor capacidad de conservación de N. En nuestro sistema experimental, se confirma que la selección por alto rendimiento lleva aparejadas variaciones indirectas a nivel foliar. Las plantas seleccionadas presentan una mayor

pérdida de N tanto por una elevada tasa de senescencia, como por una elevada concentración de N en el tejido senescente. Estos resultados son similares a los obtenidos por García-Palacios *et al.* (2013) que compara accesiones domesticadas y silvestres en una gama amplia de especies, y concluye que las primeras mostraban mayor concentración de N en tejidos senescentes que las segundas. La elevada tasa de senescencia podría deberse a un aumento de la fuerza de los destinos reproductivos, lo que favorecería la retraslocación de N a semilla. Varios estudios han confirmado que un incremento en la retraslocación debido a un aumento en la demanda reproductiva podría acelerar y aumentar la senescencia foliar (Guitman *et al.*, 1991; Nambiar y Fife, 1991; Hikosaka *et al.*, 1994; Ono *et al.*, 2001). Este hecho parece confirmarse al observar los patrones de partición de biomasa y N a hojas en madurez y la disminución de longevidad foliar observada en accesiones R, ya que estas accesiones presentan menor partición a hojas, posiblemente debido a la elevada senescencia sufrida y a la retraslocación de N y C hacia tejido reproductivo. Pese a ello no registre variaciones entre accesiones en SLA, lo que podría significar que una mayor longevidad se ha conseguido sin cambios significativos en inversión en tejidos foliares (Milla y Matesanz, 2017).

Por otro lado, las accesiones R muestran mayor cantidad de N perdido por unidad de hoja senescente, lo que estaría relacionado con cambios en las pautas de reabsorción de N. La reabsorción de N desde tejidos senescentes está controlada por muchos factores (Yuan y Chen, 2009), tales como la disponibilidad de N (Aerts, 1999), la edad de la planta (Yuan y Chen, 2010, Pastor-Pastor *et al.*, 2015), la demanda por parte de tejidos en crecimiento como hojas o maquinaria reproductiva (Mooney, 1983; Aerts, 1996; Vázquez de Aldana y Berendse, 1997; Killingbeck y Withford, 2001; Masclaux-Daubresse *et al.*, 2008) o el coste de adquisición de N (Wright y Westoby, 2003; Fisher *et al.*, 2010). Esta última podría explicar que las accesiones R presenten una menor proficiencia (mayor N en hojas senescentes): en estas plantas el coste de adquisición de N desde el suelo durante el primer año, debido a las características adquisitivas de sus raíces, podría ser menor que el de reabsorción por lo que resulta energéticamente más rentable adquirir N que reabsorberlo. El aumento de N en tejido senescente tendría efectos ambiguos. Por una parte, aumentaría la cantidad de N perdido por la planta, disminuyendo su capacidad de conservación de nutriente y por lo tanto haciéndola más dependiente de las condiciones ambientales. Por otra parte, se ha señalado que el tejido senescente con baja relación C:N facilitaría la mineralización de la materia orgánica y permitiría un reciclado de nutrientes más rápido en el suelo, manteniendo la fertilidad edáfica (García-Palacios *et al.*, 2013).

Estos cambios explicarían las diferencias halladas entre accesiones para la capacidad de conservación de N foliar (MRT_{Hoja}). Pese a que las diferencias entre accesiones son relativamente consistentes entre especies y años, se observa que las dos especies de este sistema experimental presentan diferentes estrategias de control de la conservación de N. En el caso de *P. pinetorum*, el principal factor que controló la conservación de N fue la partición de N a hojas y el mantenimiento de una elevada cantidad de hoja verde. El aumento de la fuerza de los destinos reproductivos por selección implicaría un aumento de la retraslocación de N a semillas desde hojas. Por un lado, el objetivo principal del N reabsorbido sería cubrir las necesidades reproductivas y no la producción de nuevo tejido foliar. Por este motivo se reduce la partición a hojas a final de ciclo y se reduce el MRT. Por otro lado, la retraslocación de N desde hojas a estructuras reproductivas generaría una reducción de la longevidad foliar aumentando la cantidad de N perdido por senescencia, contribuyendo así a que las accesiones R muestren menor capacidad de conservación de N a nivel foliar. En años poco

favorables, la reabsorción hacia tejido reproductivo y la pérdida de N por senescencia en accesiones R podría significar una disminución muy significativa de la longevidad de la planta, ya que después de la cosecha no quedarían hojas que pudieran mantener la asimilación de carbono, ni tampoco reservas que permitieran el rebrote, ya que la producción de semillas habría consumido todo.

En *P. mendocina*, las variaciones en el MRT dependen de variaciones en la tasa de senescencia y la cantidad de N perdido en tejido senescente y, en menor medida, en que el N retraslocado sea destinado a producción de nuevo tejido foliar. En este sentido, las accesiones R y E al aumentar la fuerza de los destinos reproductivos (vía un aumento de la partición a semillas; Pastor-Pastor *et al.*, 2018; capítulo II) aumentan la tasa de senescencia con el fin de aumentar la disponibilidad de N para semillas, el N de las hojas en estas accesiones pasa a las semillas y de ahí a ser perdido, reduciendo el MRT por dos vías: directamente mediante una mayor pérdida por senescencia e, indirectamente, reduciendo el N disponible para particionar a hojas a final de ciclo. Además, estas accesiones muestran ser menos eficientes en la reabsorción, por lo que pierden más N en sus tejidos senescentes, disminuyendo la capacidad de conservación de N.

4.1. Conclusiones

La predicción 1 se cumplió parcialmente: Las hojas de las accesiones R presentaron una mayor pérdida de N y menor longevidad foliar; sin embargo, no se registraron diferencias en SLA posiblemente debido a la elevada variabilidad interanual de esta variable. En general, la predicción 2 se cumplió, ya que los cambios registrados tras la selección en los atributos foliares repercutieron en una menor capacidad de conservación de N en las hojas. Estos cambios fueron diferenciales para cada especie, ya que implican mecanismos de conservación de nitrógeno distintos y podrían indicar que la domesticación actúa de forma diferencial según la especie domesticada.

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN GENERAL

SUBCAPÍTULO 5.1: RELACIONES FUNCIONALES

En los capítulos previos he demostrado en dos especies del género *Physaria* que la selección por rendimiento de grano causa cambios a nivel de planta en la partición de N y en su uso y conservación; a nivel de raíz en los atributos que determinan la capacidad de conservación y adquisición de N y en la formación de reservas carbonadas; y a nivel foliar en los atributos relacionados con la conservación de N. Estos cambios afectan al rendimiento de la planta, a su capacidad para conservar nutrientes y acumular reservas. Sin embargo, resta analizar el efecto de los cambios en un nivel sobre los otros niveles.

Se ha señalado que debería haber una relación entre los caracteres de diferentes niveles, por ejemplo, entre la raíz y la hoja. Si una planta presenta un tipo de sistema radical adquisitivo (por ejemplo, con un elevado SRL) se espera que presente un tipo de hoja adquisitiva (por ejemplo, un elevado SLA; Roumet *et al.*, 2006; Freschet *et al.*, 2015; 2017; Poorter y Ryser, 2015). Por un lado, la raíz, como órgano encargado de la adquisición de agua y nutrientes y, en muchos casos, de la cantidad de reservas, podría controlar la actividad de la parte aérea limitando la productividad a la capacidad de absorción de la planta o a la disponibilidad del recurso en el suelo (Lynch y Brown, 2008). Por ejemplo, cómo una planta reabsorbe nutrientes desde tejido senescente está controlado por el balance de coste energético existente entre reabsorberlo o adquirirlo del suelo (Fisher *et al.*, 2014). Cuando un nutriente es escaso o si el sistema radical está poco capacitado para adquirirlo, el gasto energético de su adquisición aumentaría. Si este gasto aumenta por encima del de reabsorción se favorece la senescencia de la biomasa aérea para reutilizar nutriente y, por lo tanto, se limita la capacidad fotosintética de la planta (Wright y Westoby, 2003; Hirose, 2012). Por su parte, otros autores han señalado el camino inverso: la estructura y función del sistema aéreo controlarían la actividad del sistema radical (Cox *et al.*, 1985; Pornon y Lamaze 2007; Marty *et al.*, 2010; Pornon *et al.*, 2011). Por ejemplo, un aumento de la producción de biomasa o semillas implicaría la necesidad de adquirir más nutrientes (Pornon *et al.*, 2011).

En cualquier caso, si la selección produce cambios en cómo se particionan y se usan los nutrientes a diferentes niveles de la planta, lo esperable sería que estos cambios estuvieran acoplados entre niveles y controlasen el éxito competitivo y/o reproductivo de la planta y su longevidad. En este capítulo evaluaré las relaciones funcionales entre diferentes niveles de partición de la planta: sistema radical, hojas y planta entera para tratar de explicar la pérdida de atributos relacionados con la perennidad en plantas seleccionadas. El objetivo general es determinar si los cambios producidos a diferentes niveles de partición de la planta (foliar, radical y de planta entera) están coordinadas entre sí.

1.- Cambios en el rendimiento y el destino de N retraslocado

1.1.- Hoja

En los capítulos II y III mostré que la selección había producido cambios indirectos en la capacidad de la planta para conservar N a nivel de planta entera y a nivel foliar. Esto podría deberse a que el aumento del rendimiento y partición a semilla alterarían la relación fuente-destino de la planta y cambiarían la jerarquía de los destinos, anteponiendo la removilización de N a semilla por encima de otros destinos vegetativos. Los datos de mi tesis apoyan esta hipótesis, ya que los aumentos de rendimiento en accesiones R se corresponden con aumentos de la tasa de senescencia a final de ciclo (Fig. 5.1 A). La senescencia en estos casos podría cumplir únicamente un papel de fuente de C y nutrientes (Masclaux-Daubresse *et al.*, 2008) de fácil movilización para la producción de semilla. Así parece indicarlo la relación existente entre el rendimiento y la concentración de N en hojas verdes a final de ciclo: las plantas que presentaron un mayor rendimiento y mayor partición a semillas (mayoritariamente accesiones R) presentaron también menor concentración de N en hoja (Fig. 5.1 B y C), indicando que podría haber una relación entre la fuerza del destino reproductivo y la jerarquía de partición a órganos vegetativos, en este caso hojas (Pornon *et al.*, 2011).

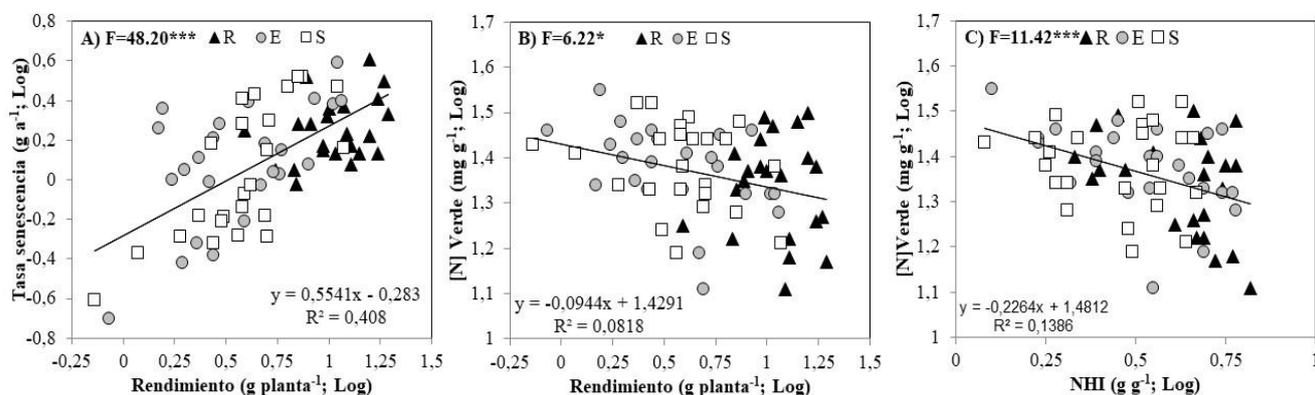


Figura 5.1: Relaciones del A) rendimiento con la tasa de senescencia, B) del rendimiento con la concentración de N en hojas verdes a final de ciclo y C) de la partición a semillas (NHI) con la concentración de N en hojas verdes a final de ciclo. Se muestran los valores F de las regresiones y su significancia (*P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001). R= Accesiones de alto rendimiento. E= Accesiones de rendimiento estable. S= Accesiones silvestres.

1.2.- Raíz

Similarmente a lo descrito para la hoja, en el capítulo III se mostró que las accesiones de alto rendimiento contenían menor concentración de reservas carbonadas y N en la raíz. Esto se explicó por una divergencia en la jerarquía de los destinos de C y N entre accesiones. Al aumentar el rendimiento, aumenta la fuerza del destino reproductivo, por lo que una mayor parte del N y C disponible tiende a ser dirigido hacia semilla. Esta hipótesis se confirma al relacionar las concentraciones de TNC y N en raíz con el rendimiento y la partición a semillas (NHI; Fig. 5.2). Las plantas que presentan un mayor rendimiento tienden a presentar menores concentraciones de N y TNC en raíz a fin de ciclo, posiblemente porque un aumento en la producción de semilla implique una mayor cantidad de N y C removilizado a destinos reproductivos.

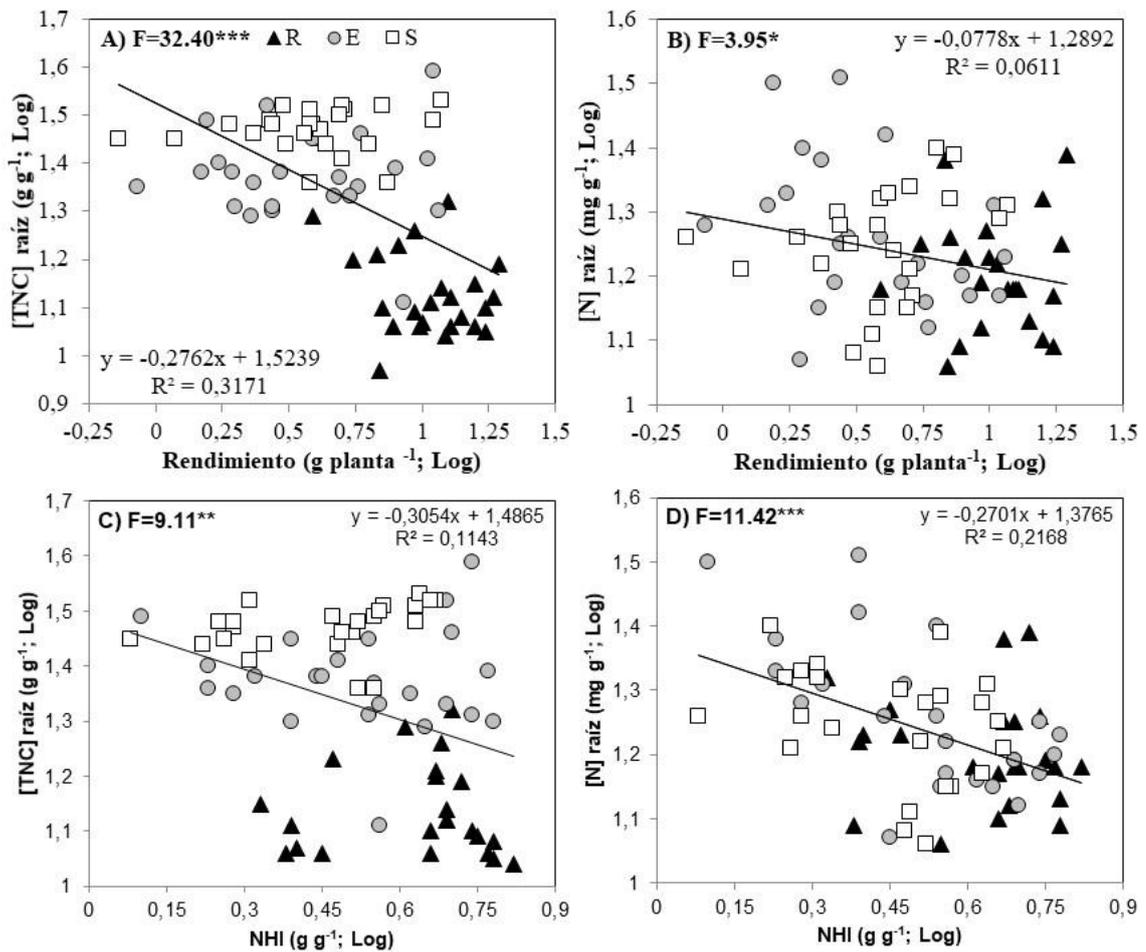


Figura 5.2: Relaciones entre A) el rendimiento y la concentración de reservas en la raíz (TNC), B) el rendimiento y la concentración de N en raíz a final de ciclo, C) la partición de N a semillas (NHI) y la concentración de reservas carbonadas en raíz (TNC) y D) NHI y la concentración de N en raíz a final de ciclo. Se muestran los valores F de las regresiones y su significancia (* $P < 0,05$, ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$). R= Accesiones de alto rendimiento. E= Accesiones de rendimiento estable. S= Accesiones silvestres.

2.- Cambios en la raíz y consecuencias en la hoja

En los capítulos II y IV se mostró que una de las causas de que las accesiones de alto rendimiento mostrasen una menor capacidad de conservación de N era la mayor pérdida por senescencia foliar. Las accesiones R son menos proficientes y menos eficientes en la reabsorción de N. Se ha propuesto que la reabsorción pudiera estar controlada por muchos factores, entre ellos la relación entre el coste de adquirir un nutriente y el coste de reabsorberlo (Wright y Westoby, 2003; Fisher *et al.*, 2014). En este sentido, cuando el nutriente está disponible y la raíz tiene capacidad para absorberlo su coste de adquisición sería pequeño en comparación al de reabsorberlo de otros tejidos. En este sistema experimental, las accesiones R presentan una mayor capacidad de adquisición y también una mayor pérdida de N por senescencia foliar. Ambos caracteres están acoplados: las plantas que presentan mayor capacidad de adquisición (mayor tasa de adquisición, SRL y STD) pierden más N por senescencia (Fig. 5.3 A, B y C), sugiriendo que efectivamente podría haber un balance entre el coste de adquirir un nutriente y el de reabsorberlo. Esto es especialmente notable en las accesiones R, cuya relación entre la capacidad de adquisición de la raíz y la proficiencia es más acusada que en el análisis para todo el conjunto de datos (Fig. 5.3 B y C), reforzando la hipótesis de un balance entre adquisición y reabsorción dependiente de las características de la raíz (estructura y capacidad de exploración y absorción, por ejemplo, SRL y STD).

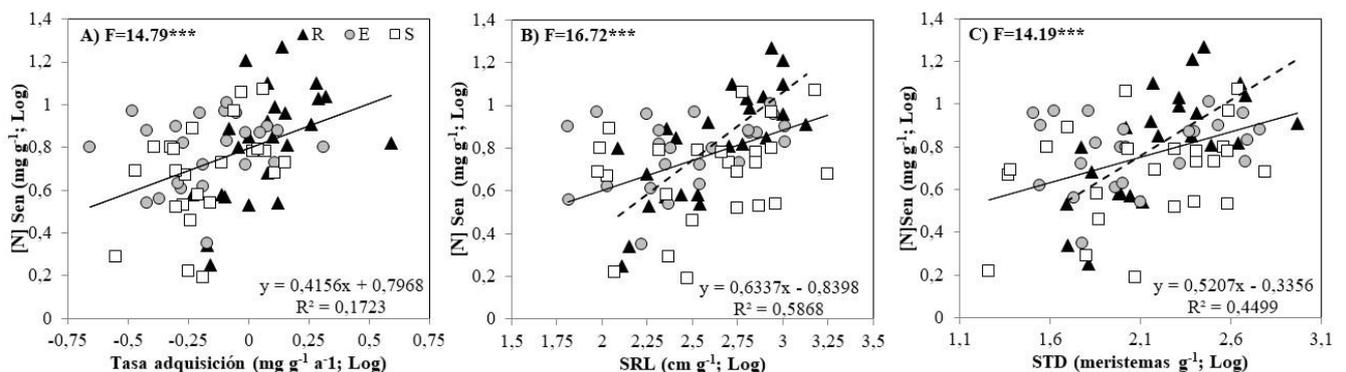


Figura 5.3: Relación entre: A) la tasa de adquisición de N y la proficiencia (concentración de N en hoja senescente; B) la longitud específica de raíz (SRL) y la proficiencia, y C) la densidad específica de meristemas y la proficiencia. Se muestran los valores F de las regresiones y su significancia (*P< 0,05; **P< 0,01; ***P< 0,001). R= Accesiones de alto rendimiento. E= Accesiones de rendimiento estable. S= Accesiones silvestres.

Esto podría tener consecuencias en años subsiguientes, ya que las raíces con caracteres más adquisitivos (por ejemplo, elevado SRL y reducida densidad) serían menos longevas (Wissuwa *et al.*, 2009; Trubat *et al.*, 2012) y podrían perder su capacidad de adquisición más rápidamente con la edad (Jagodziński y Kałucka, 2011). Así parecen sugerirlo algunos datos de plantas de segundo año, en los que *P. pinetorum*, de características más adquisitivas que *P. mendocina*, muestra una mayor reducción en su SRL entre años (Fig. 5.4 A). Estos cambios tendrían importantes repercusiones en la hoja: una reducción en SRL implicaría una menor cantidad de N en hoja verde y una mayor reabsorción (Fig. 5.4 B y C). Esta idea sugiere que, en ambientes con baja disponibilidad o en plantas con baja capacidad de adquisición, la principal función de la senescencia foliar sería proveer y reciclar N y que este N sería una fuente de gran relevancia para el crecimiento de nueva biomasa y la producción de semillas (Masclaux-Daubresse *et al.*, 2008). En casos extremos, cuando la adquisición esté muy limitada, la reabsorción desde tejidos vegetativos a reproducción podría llevar a la muerte de la

planta (Sinclair y de Wit, 1975; Thomas, 2013). Este mecanismo podría estar detrás de la menor longevidad de *P. pinetorum* frente a *P. mendocina* y explicaría por qué las seleccionadas por alto rendimiento pierden longevidad respecto a sus parientes no seleccionados.

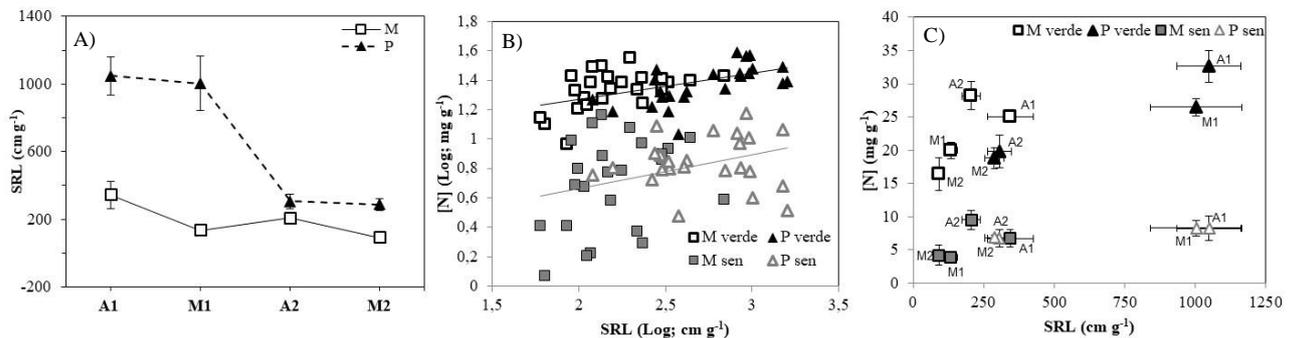


Figura 5.4: A) cambios en la longitud de raíz específica (SRL) durante la ontogenia y edad de *Physaria*. A1= Antesis de primer año de vida. M1= Madurez de primer año de vida. A2= Antesis de segundo año de vida. M2= Madurez de segundo año de vida. P= *P. pinetorum* y M= *P. mendocina*. Se muestran medias \pm EE (N= 6). B) Relación entre SRL y concentración de N en hoja verde y senescente de plantas de 1 y 2 años en antesis y madurez. La línea muestra relación significativa: negra= Verde, gris= Senescente. MVerde= *P. mendocina* hoja verde. M Sen= *P. mendocina* hoja senescente. P Verde= *P. pinetorum* hoja verde. P Sen= *P. pinetorum* hoja senescente. C) Datos sin transformar (media \pm EE, n=6) de SRL y concentración en hoja verde y senescente para cada estadio fenológico de cada año y especie.

3.- Cambios en la hoja y consecuencias en la raíz

Por último, igual que existe una relación de control de la raíz sobre las características de la hoja, se puede pensar también en una relación bidireccional. Así, he encontrado evidencia de que la concentración de reservas carbonadas en la raíz podría estar influida por el mantenimiento de la maquinaria fotosintética activa a final de ciclo. Es decir, las plantas que mantienen una partición elevada de biomasa a hoja verde a final de ciclo presentan mayor cantidad de reservas carbonadas (Fig. 5.5 B). A su vez, las plantas que presentan hojas más longevas también presentan mayor cantidad de reservas (Fig. 5.5 A). Estas relaciones podrían estar determinadas por la capacidad de las plantas con hojas más longevas y mayor partición a hojas de fotosintetizar a final de ciclo. Mientras las plantas más adquisitivas, con mayor rendimiento (véase las accesiones R), removilizarían nutrientes y N desde hoja y raíz hacia la maquinaria reproductiva reduciendo la asimilación y conservación de C, las plantas que mantienen una biomasa foliar activa podrían seguir asimilando C, lo que serviría para crear una reserva para el rebrote del año próximo. Además, el N particionado en hojas a final de ciclo podría luego ser utilizado para el rebrote o removilizado a la raíz para su almacenamiento.

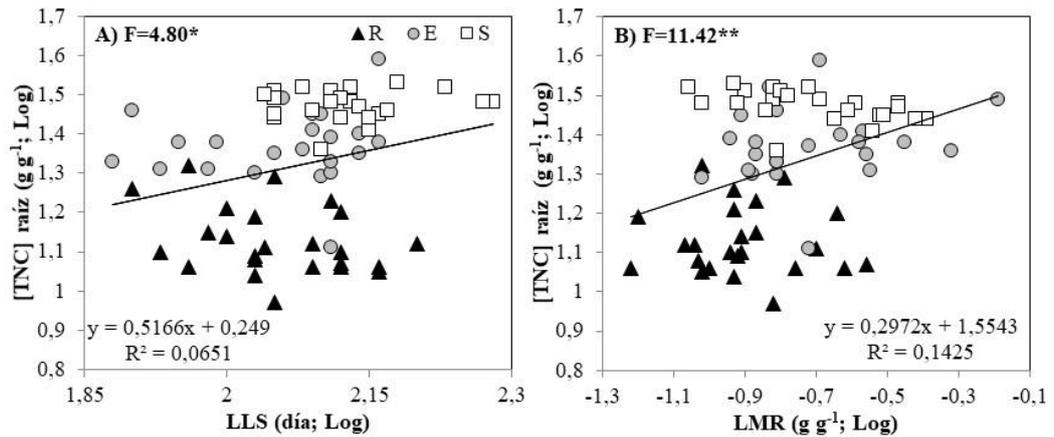


Figura 5.5: A) Relación entre la longevidad foliar (LLS) y la concentración de reservas carbonadas en raíz (TNC). B) Relación entre la partición a hojas y la concentración de TNC en raíz. Se muestran los valores F de las regresiones y su significancia (* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$). R= Accesiones de alto rendimiento. E= Accesiones de rendimiento estable. S= Accesiones silvestres.

4.- Implicancias para la domesticación de cultivos perennes

Las relaciones funcionales entre los distintos niveles indican la existencia de un fuerte compromiso entre los caracteres relacionados con la perennidad y los relacionados con el rendimiento. Los atributos ecofisiológicos de las accesiones R, que muestran un elevado rendimiento respecto a las S, estarían fuertemente influenciados por la elevada jerarquía de los destinos reproductivos. En plantas no seleccionadas, la fuerza del destino reproductivo sería menor que en las seleccionadas, permitiendo que el C y el N se destinen a raíz y hoja para generar una adecuada cantidad de reservas. En R, sin embargo, gran parte de los nutrientes de las plantas son destinados a la producción de semilla lo que provoca que: 1) Aumente la senescencia de hoja para retraslocar N a reproducción, limitando la fotosíntesis a final de ciclo. 2) La retranslocación de C a semilla afecta a la cantidad de reservas que almacena la raíz, lo que limitaría la capacidad de rebrote en el año siguiente y la longevidad. 3) La necesidad de nutrientes para sostener el incremento de biomasa y rendimiento genera un aumento de la capacidad de adquisición de la raíz, lo que provoca una mayor pérdida de N debido a una reabsorción menos eficiente. En años subsiguientes, este tipo de raíz menos longeva perdería su capacidad de adquisición y la planta debería reabsorber todos los nutrientes favoreciendo la senescencia total de la planta. En general, en este sistema experimental todas las evidencias indican que las plantas seleccionadas tienden a perder su perennidad por distintos mecanismos en pos de una mayor partición a reproducción.

SUBCAPÍTULO 5.2: DISCUSIONES EN EL MARCO DE LA SUSTENTABILIDAD DE LOS CULTIVOS PERENNES

1.- Selección de cultivos perennes: rendimiento y servicios ecosistémicos.

Los servicios ecosistémicos pueden definirse como: “Las condiciones y procesos a través de los cuales los ecosistemas y las especies que forman parte de ellos sostienen la vida humana” (Daily, 1997), “los beneficios que las poblaciones humanas reciben, directa o indirectamente, de las funciones del ecosistema” (Costanza y Folke, 1997) o “los beneficios que la gente obtiene de los ecosistemas” (Millenium Ecosystem Assessment, 2005). Se clasifican en cuatro tipos: servicios de soporte (incluyen por ejemplo la fertilidad del suelo y la calidad del agua), servicios de regulación (ej. regulación del ciclo hídrico, reciclado de nutrientes), servicios de provisión (ej. producción de alimentos, fibras, etc) y servicios culturales (ej. valor recreativo, espiritual, tradicional, etc.; Millenium Ecosystem Assessment, 2005).

En general, se acepta que un cultivo genera casi exclusivamente bienes de provisión y consume servicios de soporte y regulación, mientras que un ecosistema natural genera principalmente servicios de soporte y regulación (Foley *et al.*, 2011). Es decir, un cultivo convencional consume agua, nutrientes del suelo, requiere polinizadores, etc., mientras que lo único que aporta sería, por ejemplo, grano, o aceite, o el producto de interés por el que se cultiva. Además, la provisión de servicios ecosistémicos se encontraría en compromiso, es decir, si un tipo de sistema provee servicios de regulación difícilmente proveerá servicios de provisión y viceversa (Nelson *et al.*, 2009; Rey-Benayas y Bullock, 2012).

Los cultivos perennes, sin embargo, podrían actuar tanto como proveedores de servicios ecosistémicos de soporte y regulación como de provisión (González-Paleo *et al.*, 2015; Ryan *et al.*, 2018). Los atributos que determinan la perennidad asegurarían el mantenimiento de una cobertura vegetal durante todo el año, lo que permite el desarrollo de un suelo estructurado, con materia orgánica y una rizosfera activa, que evite el lixiviado de nutriente y la erosión de las capas superficiales. Desafortunadamente, como hemos comprobado a lo largo de esta tesis el aumento de rendimiento en plantas perennes está en compromiso con caracteres que determinan la perennidad y que poseen alto valor ecológico. El resultado es que las plantas seleccionadas por alto rendimiento de grano tienden a mostrar un perfil más adquisitivo y con atributos relacionados con la producción de semillas (servicio ecosistémico de provisión) en comparación con las plantas silvestres o las plantas seleccionadas por el criterio de estabilidad productiva (las accesiones E) que aportarían más servicios de regulación. La pérdida de atributos de alto valor ecológico en plantas de alto rendimiento tendría importantes repercusiones en la sostenibilidad de estos cultivos.

La utilización de caracteres funcionales permitiría predecir qué tipo de servicios ecosistémicos proveería un cultivo en función de los atributos ecofisiológicos que presente (de Bello *et al.*, 2010; Lavorel y Grigulis, 2012; Grigulis *et al.*, 2013). Por ejemplo, se podría predecir las consecuencias ecológicas de los cambios provocados por la selección por alto rendimiento en el conjunto de atributos que determinan la perennidad. En este sentido, los compromisos observados a nivel ecofisiológico de planta se transmitirían a la escala de cultivo. En la Fig. 5.6 se muestra las consecuencias que podría tener la selección sobre los beneficios ecológicos de las perennes desde una perspectiva basada en atributos. Para ello he calculado los promedios por accesiones de distintas variables tratadas en estas tesis, escogidas por su relevancia en el uso eficiente de recursos, relevancia ambiental o producción de rendimiento. La parte superior de la figura (en cursiva) está formada por atributos que están principalmente relacionados con

la provisión de servicios de provisión (en este caso semilla). Mientras que la parte de abajo están relacionados con la longevidad de los tejidos, el secuestro de carbono, el reciclado y uso eficiente de nutrientes, etc.; es decir, relacionados con servicios de soporte y regulación (de Bello *et al.*, 2010). Lo que la figura muestra es cómo la selección desplaza el conjunto de atributos de las perennes desde un conjunto relacionado con la provisión de regulación y soporte a un conjunto relacionado con los servicios de provisión. Este desplazamiento se debe principalmente a los compromisos aparecidos después de la selección y mostrados en el capítulo II (compromiso entre productividad y conservación de N), capítulo III (compromiso entre adquisición y almacenamiento en la raíz), capítulo IV (compromiso entre mantenimiento de la partición a hoja y la removilización a semilla), y discutidos en el subcapítulo 5.1 (compromisos entre almacenamiento de reservas y producción de semillas, o longevidad y reproducción).

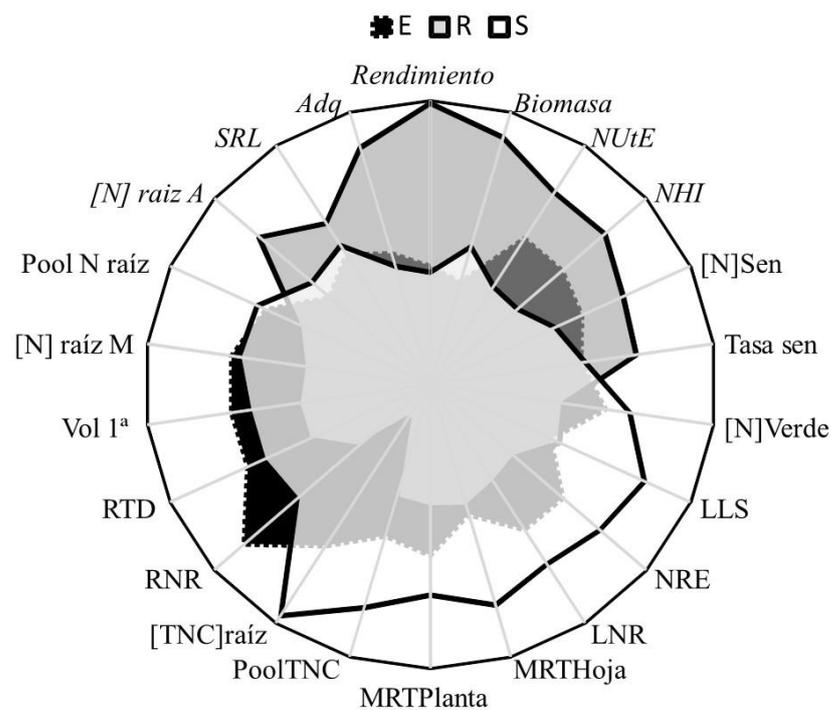


Figura 5.6: Diagrama comparativo entre las tres accesiones E= Accesión estable, R= Accesión alto rendimiento y S= Accesión silvestre de plantas perennes de *Physaria*. En la parte superior del diagrama, en cursiva, se muestran los caracteres relacionados con la adquisición de recursos y el rendimiento, es decir, los que estarían relacionados con servicios ecosistémicos de provisión. En la parte inferior se muestran los caracteres relacionados con la conservación de recursos y la perennidad y que estarían relacionados con la provisión de servicios ecosistémicos de regulación y soporte. [N]raízA= Concentración de N en la raíz en antesis. SRL= Longitud específica de raíz en antesis. Adq= Tasa de adquisición. NUtE= Eficiencia en la utilización de N. NHI= Índice de cosecha de N. [N]sen= Concentración de N en hojas senescentes o proficiencia. Tasa sen= Tasa senescencia. [N]Verde= Concentración de N en hoja verde. LLS= Longevidad foliar. NRE= Eficiencia en la reabsorción de N. LNR= Partición de N a hojas. MRTHoja= Tiempo medio de residencia del N en hoja. MRTPlanta= Capacidad de conservación de N en la planta. PoolTNC= Contenido de carbohidratos no estructurales de la raíz. [TNC] raíz= Concentración TNC en raíz. RNR= Partición de N a la raíz. RTD= Densidad de la raíz en antesis. Vol 1ª= Volumen de la raíz primaria. [N]raízM= Concentración de N en la raíz en madurez. Npoolraiz= Contenido de N de la raíz.

Para satisfacer las necesidades futuras de producción de bienes y sostenibilidad ecológica, es imprescindible definir nuevos criterios de selección (Araus *et al.*, 2008). En cultivos perennes es imprescindible que estos nuevos criterios se basen en atributos que permitan predecir el comportamiento del agrosistema y diseñar cultivos multifuncionales adaptados a las circunstancias requeridas.

2.- Atributos del cultivo perenne

Históricamente, las plantas han sido mejoradas para incrementar la cantidad y la calidad de los productos de interés, como son biomasa, frutos, fibras, azúcares, gomas, terpenos, cauchos, etc.; es decir para brindar servicios de provisión. Sin embargo, la integración de los objetivos de sostenibilidad y los de producción requeriría de la identificación de nuevos criterios ecofisiológicos que guíen la elección y el proceso de selección de las especies candidato. Se requiere definir un ideotipo de planta que combine atributos morfo-fisiológicas que brinden tanto: 1) Servicios de provisión de importancia para los fines productivos (ej. forraje, alimentos, fibras, aceites), como 2) servicios de regulación (ej. regulación del agua, secuestro de carbono...) y soporte (ej. reciclado de nutrientes y producción primaria) de importancia para los fines de rehabilitación o sostenibilidad ecológica.

Entre las plantas analizadas se identificó un grupo que combinaban un elevado rendimiento con una elevada capacidad de conservación de nutrientes (Fig. 5.7). De este grupo se analizó por separado su conjunto de atributos y se los comparó con el de las otras accesiones (Fig. 5.8). De este análisis se desprende que el ideotipo de cultivo para zonas áridas debería poseer un conjunto de atributos intermedio entre el de las accesiones R y el de las S. Estas plantas que llamaremos *Combinada* presentaban un rendimiento relativamente alto, pero con una capacidad de conservación de N igual al de las accesiones S (Fig. 5.7 y 5.8). Esto se debe principalmente a la reducción notable de la partición de N a semillas en el estadio de madurez (final de ciclo) conjugado con el mantenimiento de una elevada partición de N a hoja verde (Fig. 5.8). Esto implicaría que el destino del N reabsorbido desde hojas viejas se mantendría con preferencia a la hoja en crecimiento por encima de las semillas, permitiendo que se mantuviera la fotosíntesis a final de ciclo. La asimilación de C tras la madurez permitiría crear una adecuada cantidad de reservas y evitaría la reabsorción desde raíces.

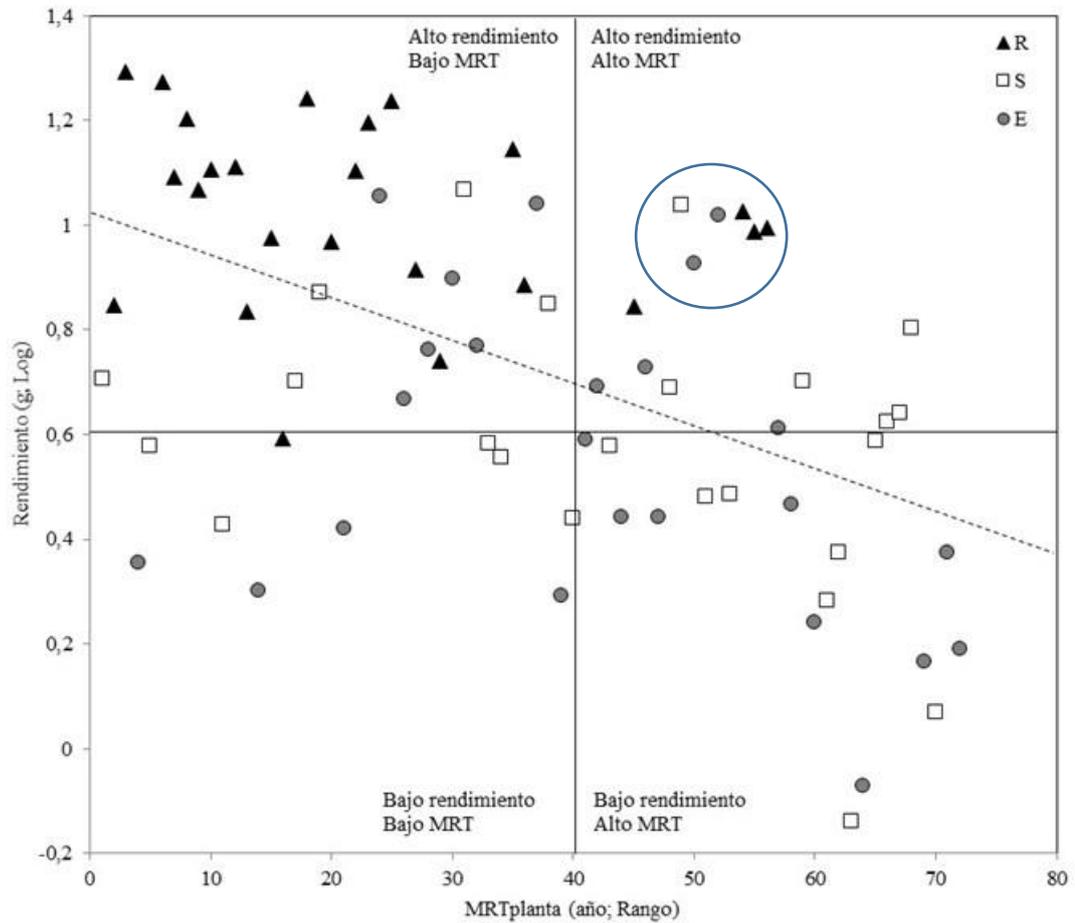


Figura 5.7: Figura extraída del capítulo II. Muestra la posición de las distintas líneas en función de su rendimiento y MRT. Las líneas perpendiculares marcan arbitrariamente cuadrículas en función de la posición de las plantas en la correlación entre MRT y rendimiento. La línea de puntos marca la correlación significativa entre MRT y rendimiento. Con un círculo se muestra el grupo de plantas que mostraron elevado MRT y rendimiento y que se analizaron por separado para este capítulo. Alto rendimiento: R; estabilidad del rendimiento: E; y silvestres: S. El rendimiento y MRT se muestran transformados usando logaritmo y rango, respectivamente, con el fin de cumplir los supuestos de normalidad y homocedasticidad.

Estas plantas intermedias, además, presentaron una raíz con elevada capacidad de adquisición a final de ciclo, lo que permitió retrasar la reabsorción de N desde hojas a semillas, retrasando la senescencia. De esta manera, estas plantas mostraron una baja reabsorción de nutrientes desde hoja senescente, resultando en una baja relación C:N de las hojas senescentes que facilita su mineralización (García-Palacios *et al.*, 2013). Además, el sistema radical presentó una capacidad de almacenamiento semejante a las accesiones S, con un elevado contenido en N y TNC y gran desarrollo de la raíz primaria (Fig. 5.8).

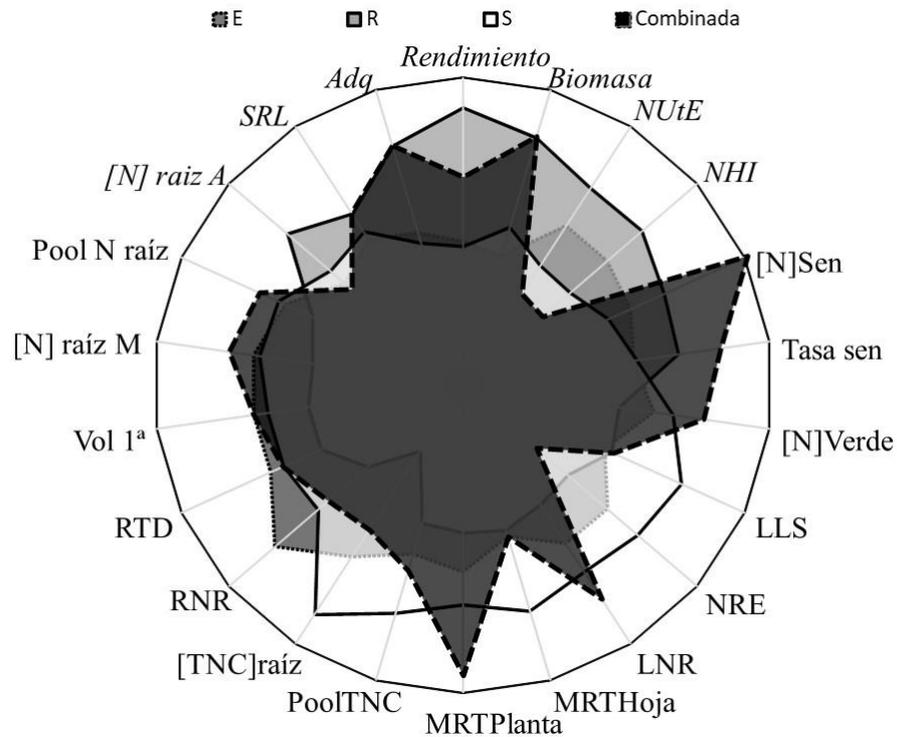


Figura 5.8: Diagrama comparativo entre las tres accesiones de *Physaria* (E= Accesión estable. R= Accesión alto rendimiento. S= Accesión silvestre) y un grupo de plantas señaladas por sus elevados valores de rendimiento y capacidad de conservación de N (Combinadas). En la parte superior del círculo en cursiva se muestran los caracteres relacionados con la adquisición de recursos y el rendimiento, relacionados con servicios ecosistémicos de provisión. En la parte inferior se muestran los caracteres relacionados con la conservación de recursos y la perennidad (servicios ecosistémicos de regulación y soporte). [N]raízA= Concentración de N en la raíz en antesis. SRL= Longitud específica de raíz en antesis. Adq= Tasa de adquisición. NUtE= Eficiencia en la utilización de N. NHI= Índice de cosecha de N. [N]sen= Concentración de N en hojas senescentes o proficiencia. Tasa sen= Tasa senescencia. [N]Verde= Concentración de N en hoja verde. LLS= Longevidad foliar. NRE= Eficiencia en la reabsorción de N. LNR= Partición de N a hojas. MRTHoja= Tiempo medio de residencia del N en hoja. MRTPlanta= Capacidad de conservación de N en la planta. PoolTNC= Contenido de carbohidratos no estructurales de la raíz. [TNC]raíz= Concentración TNC en raíz. RNR= Partición de N a la raíz. RTD= Densidad de la raíz en antesis. Vol 1ª= Volumen de la raíz primaria. [N]raízM= Concentración de N en la raíz en madurez. Npoolraiz= Contenido de N de la raíz.

3.- Fortalezas y debilidades de este análisis, nuevas vías y conclusiones

En este análisis he mostrado que los cambios indirectos provocados por la selección implican un compromiso entre la producción de rendimiento y la longevidad y aptitud ecológica del cultivo perenne. Las plantas seleccionadas presentarían atributos relacionados con una menor longevidad y capacidad de conservación de nutrientes, pero mayor provisión de producción de semilla durante el primer año. La búsqueda del ideotipo de cultivos perennes para zonas áridas se situaría en un punto intermedio de ambos perfiles. Presentando características mezcladas. Algunos de los atributos que se muestran como promisorios para lograr este ideotipo, y que se suman a los señalados por González-Paleo y Ravetta (2012), son el mantenimiento de una partición de C y N a hojas en la última fase del ciclo de cultivo (madurez), el mantenimiento de una cantidad adecuada de reservas (que dependería parcialmente de la partición a hoja a final de

ciclo), la reducción de la partición a semillas acoplada al mantenimiento de la partición a hojas y la existencia de un sistema radical que permita a la vez un almacenamiento de reservas y una adquisición de nutrientes óptima para mantener los aumentos de producción de biomasa y semilla. Así, la selección de cultivos perennes debería realizarse mediante la selección de dos o más caracteres, por ejemplo, rendimiento y longevidad foliar o partición a hojas al final de ciclo, que asegurasen un rendimiento rentable y un desempeño ecológico óptimo. La selección por atributos ya ha sido aplicada con éxito en el desarrollo de cultivos anuales, por lo que también podría ser aplicada en el desarrollo de cultivos perennes.

Estas conclusiones podrían representar aportaciones relevantes de cara a la selección de nuevos cultivos perennes que permitirían integrar las necesidades ecológicas y productivas. Sin embargo, este análisis se ha realizado únicamente en el género *Physaria*, lo que podría representar una debilidad, ya que se ha señalado que la domesticación podría actuar diferencialmente dependiendo de la especie seleccionada (Milla *et al.*, 2015; capítulo IV). En este sentido, es necesario expandir este tipo de análisis a otras especies potenciales con el fin de encontrar patrones generales de cambio con la selección que permitiesen definir un modelo general de selección de perennes. Algunos avances se están produciendo con diversas especies, por ejemplo, en *Silphium integrifolium*, que muestran patrones de cambio semejantes a los aquí hallados (Vilela *et al.*, 2018).

Por otra parte, una de las grandes fortalezas de este análisis es contar con un sistema experimental que ha sido ampliamente estudiado en este contexto y en la comparación de atributos perennes y anuales (por ejemplo, González-Paleo y Ravetta, 2015; González-Paleo *et al.*, 2019). En este sentido, los resultados obtenidos refuerzan los anteriormente hallados para la economía del C después de la selección, mostrando un desplazamiento de las accesiones seleccionadas hacia perfiles más adquisitivos (González-Paleo y Ravetta, 2011; Vilela y González-Paleo, 2015) y permitirían proponer nuevas vías de investigación para este género. Hasta ahora, se ha estudiado el efecto de la selección en los atributos de uso y conservación de recursos, por lo que queda abierto el interrogante de qué ocurre con el rendimiento y la longevidad al seleccionar por atributos específicos. Se trataría, pues, de realizar una selección mediante atributos específicos (por ejemplo, los anteriormente señalados como promisorios) y comprobar qué influencia ejercen sobre la producción de semillas y la cantidad de reservas almacenadas.

Por último, este análisis ha permitido caracterizar ampliamente y de manera rigurosa qué ocurre con la aptitud ecológica de las plantas perennes al ser seleccionados para productividad. Esta caracterización mediante atributos permite realizar una aproximación a qué tipo de servicios ecosistémicos pueden proveer estos cultivos, ya que se ha señalado ampliamente que los cultivos perennes serían más sustentables que los anuales en diferentes ámbitos (por ejemplo, Glover *et al.*, 2010; Gomiero *et al.*, 2011; Pimentel *et al.*, 2012). Sin embargo, son pocos todavía los análisis que hayan comprobado empíricamente la existencia de una relación real y cuantificable entre la implementación de cultivos perennes y la provisión de servicios ecosistémicos de regulación y soporte. En este contexto, existe un amplio margen para la investigación, especialmente, para el diseño de experimentos a largo plazo que puedan demostrar cuantitativamente la sostenibilidad ecológica y económica de los cultivos perennes frente a la agricultura convencional.

REFERENCIAS

- Aerts, R., y van der Peijl, M. J., 1993. A simple model to explain the dominance of low-productive perennials in nutrient-poor habitats. *Oikos*, 66:144–147.
- Aerts, R., 1995. The advantages of being evergreen. *Trends in Ecology and Evolution*, 10:402–406.
- Aerts, R., 1996. Nutrient resorption from senescing leaves of perennials: are there general patterns? *Journal of Ecology*, 84:597-608.
- Aerts, R., 1999. Interspecific competition in natural plant communities: mechanisms, trade-offs and plant-soil feedbacks. *Journal of Experimental Botany*, 50:29-37.
- Aerts, R., y Chapin, F. S., 2000. The mineral nutrition of wild plants revisited: A re-evaluation of processes and patterns. *Advances in Ecological research* 30:1-67
- Alvarez-Flores, R., Nguyen-Thi-Truc, A., Peredo-Parada, S., Joffre, R., y Winkel, T., 2018. Rooting plasticity in wild and cultivated Andean *Chenopodium* species under soil water deficit. *Plant and soil*, 524:1-14.
- Andrews, M., Lea, P. J., 2013. Our nitrogen ‘footprint’: the need for increased crop nitrogen use efficiency. *Annals of Applied Biology*, 163:165-169.
- Araus, J. L., Slafer, G. A., Royo, C., y Serret, M. D., 2008. Breeding for yield potential and stress adaptation in cereals. *Critical Reviews in Plant Science*, 27:377-412.
- Arbuckle, J. L., y Wothke, W., 1999. *AMOS 4.0 User’s Guide*. Chicago, Small Waters Corporation, USA.
- Asbjornsen, H., Hernandez-Santana, V., Liebman, M., Bayala, J., Chen, J., Helmers, M., Ong, C. K., y Schulte, L. A., 2014. Targeting perennial vegetation in agricultural landscapes for enhancing ecosystem services. *Renewable Agriculture and Food Systems*, 29:101-125.
- Aziz, M. M., Palta, J. A., Siddique, K. H., Sadras, V. O., 2017. Five decades of selection for yield reduced root length density and increased nitrogen uptake per unit root length in Australian wheat varieties. *Plant Soil*, 413:181-192.
- Balachowski, J. A., Bristiel, P. M., Voltaire, F. A., 2016. Summer dormancy, drought survival and functional resource acquisition strategies in California perennial grasses. *Annals of Botany*, 118:357-368.
- Bell, L. W., Byrne, F., Ewing, M. A., y Wade, L. J., 2008. A preliminary whole-farm economic analysis of perennial wheat in an Australian dryland farming system. *Agricultural Systems*, 96:166-174.
- Berendse, F., y Aerts, R., 1987. Nitrogen use efficiency: A biologically meaningful definition? *Functional Ecology*, 1:293–296.
- Bingham, I. J., Karley, A. J., White, P. J., Thomas, W. T. B., y Russell, J. R., 2012. Analysis of improvements in nitrogen use efficiency associated with 75 years of spring barley breeding. *European Journal of Agronomy*, 42:49-58.
- Bloom, A. J., Chapin, F. S. III, Mooney, H. A., 1985. Resource limitation in plants: an economic analogy. *Annual Review in Ecology and Systematics*, 16:363–392.
- Brahim, K., Ray, D. T., Dierig, D. A., 1998. Growth and yield characteristics of *Lesquerella fendleri* as a function of plant density. *Industrial Crops and Products*, 9:63-71.
- Bridgham, S. D., Pastor, J., McClaugherty, C. A., y Richardson, C. J., 1995. Nutrient-use efficiency: a litterfall index, a model, and a test along a nutrient-availability gradient in North Carolina peat-lands. *American Naturalist*, 145:1-21.
- Burton, A. L., Brown, K. M., y Lynch, J. P., 2013. Phenotypic Diversity of Root Anatomical and Architectural Traits in Species. *Crop Science*, 53:1042-1055.
- Cabrera, A., 1994. Regiones fitogeográficas Argentinas. *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería*, Tomo II, Fascículo 1, Pp. 85. Acme S.A.C.I.

- Chaparro, C. J., Sollenberger, L. E., y Quesenberry, K. H., 1996. Light interception, reserve status, and persistence of clipped Mott elephantgrass swards. *Crop science*, 36:649-655.
- Chapin, F.S., 1980. The mineral nutrition of wild plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 11:233–260.
- Chapin, F. S. III, Schulze, E. D., Mooney, H. A., 1990. The ecology and economics of storage in plants. *Annual Review in Ecology and Systematics*, 21:423-447
- Coleman, J. S., McConnaughay, K. D. M., y Ackerly, D. D., 1994. Interpreting phenotypic variation in plants. *Trends in Ecology and Evolution*, 9:187-191.
- Comas, L. H., Becker, S. R., Von Mark, V. C., Byrne, P. F., y Dierig, D. A., 2013. Root traits contributing to plant productivity under drought. *Frontiers in Plant Science*, 4:442.
- Conover, W. J., Iman, R. L., 1981. Rank transformations as a bridge between parametric and nonparametric statistics. *The American Statistician*, 35:124-129.
- Costanza, R., y Folke, C., 1997. Valuing ecosystem services with efficiency, fairness, and sustainability as goals. *Nature's services: societal dependence on natural ecosystems*. Island Press, Washington, DC, 49-70.
- Cox, M., Qualset, C.O., y Rains, D.W., 1985. Genetic variation for nitrogen assimilation and translocation in wheat II: Nitrogen assimilation in relation to grain yield and protein. *Crop Science*, 25:435–440.
- Cox, T.S., Bender, M., Picone, C., VanTassel, D.L., Holland, J.B., Brummer, E.C., Zoeller, B.E., Paterson, A.H. y Jackson, W., 2002. Breeding perennial grain crops. *Critical Reviews in Plant Science*, 21:59-91.
- Cox, T. S., Glover, J. D., Van Tassel, D. L., Cox, C. M., y DeHaan, L. R., 2006. Prospects for developing perennial grain crops. *Bioscience*, 56:649-659.
- Cox, T. S., Van Tassel, D. L., Cox, C. M., y DeHaan, L. R., 2010. Progress in breeding perennial grains. *Crop and Pasture Science*, 61:513-521.
- Craine, J. M., Berin, D. M., Reich, P. B., Tilman, D. G., y Knops, J. M. H., 1999. Measurement of leaf longevity of 14 species of grasses and forbs using a novel approach. *New Phytologist*, 142:475-481.
- Craine, J. M., Froehle, J., Tilman, D. G., Wedin, D. A., y Chapin, III, F. S., 2001. The relationships among root and leaf traits of 76 grassland species and relative abundance along fertility and disturbance gradients. *Oikos*, 93:274-285.
- Crews, T. E. y Peoples, M. B., 2005. Synchrony of nitrogen supply and demand in legume versus fertilizer-based agroecosystems and potential improvements with perennials. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 72:101–120.
- Crews, T. E., Blesh, J., Culman, S. W., Hayes, R. C., Jensen, E. S., Mack, M. C., Peoples, M. B., Schipanski, M. E., 2016. Going where no grains have gone before: From early to mid-succession. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 223:223-238.
- Daily, G., 1997. *Nature's services: societal dependence on natural ecosystems*. Island Press.
- Dawson, L. A., Thornton, B., Pratt, S. M., y Paterson, E., 2004. Morphological and topological responses of roots to defoliation and nitrogen supply in *Lolium perenne* and *Festuca ovina*. *New Phytologist*, 161:811-818.
- Dawson, J. C., Huggins, D. R., y Jones, S. S., 2008. Characterizing nitrogen use efficiency in natural and agricultural ecosystems to improve the performance of cereal crops in low-input and organic agricultural systems. *Field Crops Research*, 107:89-101.

- deBello, F., Lavorel, S., Díaz, S., Harrington, R., Cornelissen, J. H. C., Bardgett, R. D., Berg, M. P., Cipriotte, P., Feld, C.K., Hering, D., Da Silva, P. M., Potts, S. G., Sandin, L., Sousa, J., P., Storkey, J., Wardle y Harrison, P. A., 2010. Towards an assessment of multiple ecosystem processes and services via functional traits. *Biodiversity and Conservation*, 19:2873-2893.
- DeHaan, J. M., Van Tassel, D. L., y Cox, T. S., 2005. Perennial grain crops: A synthesis of ecology and plant breeding. *Renewable Agriculture and Food Systems*, 20:5-14.
- DeHaan, L. R., y Van Tassel, D. L., 2014. Useful insights from evolutionary biology for developing perennial grain crops. *American Journal of Botany*, 101, 1801-1819.
- Denison, R. F., 2012. Darwinian agriculture: How understanding evolution can improve agriculture. Princeton University Press. Princeton, New Jersey, USA.
- Dierig, D. A., Thompson, A. E., y Nakayama, F. S., 1993. Lesquerella commercialization efforts in the United States. *Industrial Crops and Products*, 1:289-293.
- Eckstein, R. L., y Karlsson, P. S., 1999. Recycling of nitrogen among segments of *Hylocomium splendens* as compared with *Polytrichum commune*: implications for clonal integration in an ectohydric bryophyte. *Oikos*, 86:87-96.
- Eissenstat, D. M., Wells, C. E., Yanai, R. D., y Withbeck, J. L., 2000. Building roots in changing environment: implications for root longevity. *New Phytologist*, 147:33-42.
- Emmett, B. D., Buckley, D. H., Smith, M. E., y Drinkwater, L. E., (2018). Eighty years of maize breeding alters plant nitrogen acquisition but not rhizosphere bacterial community composition. *Plant and Soil*, 431:53-69.
- Eriksen, J., 2009. Soil sulfur cycling in temperate agricultural systems. *Advances in Agronomy*, 102:55-89.
- Escudero, A., Del Arco, J. M., y Garrido, M. V., 1992. The efficiency of nitrogen retranslocation from leaf biomass in *Quercus ilex* ecosystems. *Vegetatio*, 99:225-237.
- Evans, J. R., 1989. Partitioning of nitrogen between and within leaves grown under different irradiances. *Functional Plant Biology*, 16:533-548.
- Fageria, N. K., 2009. *The Use of Nutrients in Crop Plants*. New York: CRC Press.
- FAO, 2012. FAOStat2012. <http://faostat.fao.org/site/291/default.aspx>.
- Fisher, J. B., Sitch, S., Malhi, Y., Fisher, R. A., Huntingford, C., y Tan, S. Y., 2010. Carbon cost of plant nitrogen acquisition: A mechanistic, globally applicable model of plant nitrogen uptake, retranslocation, and fixation. *Global Biogeochemical Cycles*, 24.
- Fitter, A. H., Stickland, T. R., Harvey, M. L., y Wilson, G. W., 1991. Architectural analysis of plant root systems I. Architectural correlates of exploitation efficiency. *New Phytologist*, 118:375-382.
- Foley, J. A., Ramankutty, N., Brauman, K. A., Cassidy, E. S., Gerber, J. S., Johnston, M., Mueller, N. D., O'Connell, C., Ray, D. K., West, P. C., Balzer, C., Bennett, E. M., Carpenter, S. R., Hill, J., Monfreda, C., Polasky, S., Rockström, J., Sheehan, J., siebert, S., Tilman, D., y Zaks, D. P., 2011. Solutions for a cultivated planet. *Nature*, 478:337-342.
- Foulkes, M. J., Hawkesford, M. J., Barraclough, P. B., Holdsworth, M. J., Kerr, S., Kightley, S., y Shewry, P. R., 2009. Identifying traits to improve the nitrogen economy of wheat: recent advances and future prospects. *Field Crops Research*, 114:329-342.

- Freschet, G. T., Swart, E. M., y Cornelissen, J. H., 2015. Integrated plant phenotypic responses to contrasting above-and below-ground resources: key roles of specific leaf area and root mass fraction. *New Phytologist*, 206:1247-1260.
- Freschet, G. T., Valverde-Barrantes, O. J., Tucker, C. M., Craine, J. M., McCormack, M. L., Violle, C., Fort, F., Blackwood, C. B., Urban-Mead, K. R., Iversen, C. M., Bonis, A., Comas, L. H., Cornelissen, J. H., Dong, M., Guo, D., Hobbie, S. E., Holdaway, R. J., Kembel, S. W., Makita, N., Onipchenko, V. G., Picon-Cochard, C., Reich, P. B., Riva, E. G., Smith, S. W., Soudzilovskaia, N. A., Tjoelker, M. G., Wardle, D. A., Roumet, C., y Cahill, J., 2017. Climate, soil and plant functional types as drivers of global fine-root trait variation. *Journal of Ecology*, 105:1182-1196.
- Gaju, O., Allard, V., Martre, P., Le Gouis, J., Moreau, D., Bogard, M., Hubbart, S., Foulkes, J., 2014. Nitrogen partitioning and remobilization in relation to leaf senescence, grain yield and grain nitrogen concentration in wheat cultivars. *Field Crops Research*, 155:213-223.
- García, M. B., Ehrlén, J., 2002. Reproductive effort and herbivory timing in a perennial herb: fitness components at the individual and population levels. *American Journal of Botany*, 89:1295-1302.
- García-Orenes, F., Roldán, A., Mataix-Solera, J., Cerdà, A., Campoy, M., Arcenegui, V., y Caravaca, F., 2012. Soil structural stability and erosion rates influenced by agricultural management practices in a semi-arid Mediterranean agro-ecosystem. *Soil Use and Management*, 28:571-579.
- García-Palacios, P., Milla, R., Delgado-Baquerizo, M., Martín-Robles, N., Álvaro-Sánchez, M., y Wall, D. H., 2013. Side-effects of plant domestication: ecosystem impacts of changes in litter quality. *New Phytologist*, 198:504-513.
- Garnett, T., Conn, V., y Kaiser, B. N., 2009. Root based approaches to improving nitrogen use efficiency in plants. *Plant, Cell & Environment*, 32:1272-1283.
- Glover, J., 2003. Characteristics and impacts of annual vs. perennial systems. In *Proc. of Sod-Based Cropping Systems Conf.*, Quincy, FL, 20-21.
- Glover, J. D., Reganold, J. P., Bell, L. W., Borevitz, J., Brummer, E. C., Buckler, E. S., y DeHaan, L. R., 2010. Increased food and ecosystem security via perennial grains. *Science*, 328:1638-1639.
- Gomiero, T., Pimentel, D., y Paoletti, M. G., 2011. Is there a need for a more sustainable agriculture? *Critical Reviews in Plant Sciences*, 30:6-23.
- González-Paleo, L., 2010. Cambios en atributos eco-fisiológicos asociados a la supervivencia, la perennidad y la estabilidad del rendimiento, resultantes del incremento del rendimiento por selección en especies anuales y perennes de *Lesquerella* (BRASSICACEA). Tesis doctoral. Universidad Buenos Aires-Facultad de Agronomía.
- González-Paleo, L., y Ravetta, D. A., 2011a. Indirect changes associated with a selection program for increased seed-yield in wild species of *Lesquerella* (Brassicaceae): Are we developing a phenotype opposite to the expected ideotype? *Industrial Crops and Products*, 34:1372-1380.
- González-Paleo, L., y Ravetta, D., 2011b. Relationships between reproductive output, morpho-physiological traits and life span in *Lesquerella* (Brassicaceae). *Industrial Crops and Products*, 34:1386-1392.
- González-Paleo, L., y Ravetta, D. A., 2012. Allocation patterns and phenology in wild and selected accessions of annual and perennial *Physaria* (Lesquerella, Brassicaceae). *Euphytica*, 186:289-302.

- González-Paleo, L., y Ravetta, D. A., 2015. Carbon acquisition strategies uncoupled from predictions derived from species life-cycle. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 212:1-9.
- González-Paleo, L., Pastor-Pastor, A., Vilela, A.E., Ravetta, D.A., 2015. Utilización de cultivos perennes en rehabilitación: ¿Qué criterios eco-fisiológicos deben ser utilizados para guiar la selección? En: *Restauración Ecológica en la Diagonal Árida de la Argentina*. Pérez, D.R., Rovere, A.E., Araujo, R. (Eds). Vázquez Mazzini Editores.
- González-Paleo, L., Vilela, A. E., y Ravetta, D. A., 2016a. Back to perennials: Does selection enhance tradeoffs between yield and longevity? *Industrial Crops and Products*, 91:272-278.
- González-Paleo, L., Pastor-Pastor, A., Bär-Lamas, M., Vilela, A., Ravetta, D., 2016b. Patrones de reclutamiento en cuatro especies de *Physaria* (Brassicaceae): implicancias para el mantenimiento de la densidad en poblaciones silvestres y en cultivo. *Ecología Austral*, 26:311-322.
- Good, A. G., Shrawat, A. K., y Muench, D.G., 2004. Can less yield more? Is reducing nutrient input into the environment compatible with maintaining crop production? *Trends Plant Science*, 9:597–605.
- Grigulis, K., Lavorel, S., Krainer, U., Legay, N., Baxendale, C., Dumont, M. Kastl, E., Arnoldi, C., Bardgett, R. D., Poly, F., Pommier, T., Schloter, M., Tappeiner, U., Bahn, M., Clément, J., y Hutchings, M., 2013. Relative contributions of plant traits and soil microbial properties to mountain grassland ecosystem services. *Journal of Ecology*, 101:47-57.
- Grossman, J. D., y Rice, K. J., 2012. Evolution of root plasticity responses to variation in soil nutrient distribution and concentration. *Evolutionary Applications*, 5:850-857.
- Guitman, M. R., Arnozis, P. A., y Barneix, A. J., 1991. Effect of source-sink relations and nitrogen nutrition on senescence and nitrogen-remobilization in the flag leaf of wheat. *Physiology Plantarum*, 82:278–284.
- Harrington, J. T., Mexal, J. G., y Fisher, J. T., 1994. Volume displacement provides a quick and accurate way to quantify new root production. *Tree Planters Notes*, 45:121-124.
- Hecht, S., 2010. The new rurality: Globalization, peasants and the paradoxes of landscapes. *Land Use policy*, 27:161–169.
- Hernández, E. I., Vilagrosa, A., Pausas, J. G., Bellot, J., 2010. Morphological traits and water use strategies in seedlings of Mediterranean coexisting species. *Plant Ecology*, 207:233-244.
- Higgins, J. J., Tashtoush S., 1994. An aligned rank transform test for interaction. *Nonlinear World*, 1:201-211.
- Hikosaka, K., Terashima, I., y Katoh, S., 1994. Effects of leaf age, nitrogen nutrition and photon flux density on the distribution of nitrogen among leaves of a vine (*Ipomea tricolor* Cav.) grown horizontally to avoid mutual shading of leaves. *Oecologia*, 97:451–457.
- Hirel, B., Le Gouis, J., Ney, B., y Gallais, A., 2007. The challenge of improving nitrogen use efficiency in crop plants: towards a more central role for genetic variability and quantitative genetics within integrated approaches. *Journal of Experimental Botany*, 58:2369-2387.
- Hirose, T., 2011. Nitrogen use efficiency revisited. *Oecologia*, 166:863-867.
- Hirose, T., 2012. Leaf-level nitrogen use efficiency: definition and importance. *Oecologia*, 169:591-597.

- Horrigan, L., Lawrence, R. S., y Walker, P., 2002. How sustainable agriculture can address the environmental and human health harms of industrial agriculture. *Environmental Health Perspectives*, 110:445.
- Iversen, C. M., Bridgham, S. D., y Kellogg, L. E., 2010. Scaling plant nitrogen use and uptake efficiencies in response to nutrient addition in peatlands. *Ecology*, 91:693-707.
- Jackson, W., y Jackson, L.L., 1999. Developing high seed yielding perennial polycultures as a mimic of mid-grass prairie., En: R. LeFroy, et al., eds. *Agriculture as a Mimic of Natural Ecosystems* 1-37. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.
- Jackson L. E., y Koch G. W., 1997. The ecophysiology of crops and their wild relatives. In: *Ecology in Agriculture* 3–38. Academic Press.
- Jacobsen, S. E., Jensen, C. R., y Liu, F., 2012. Improving crop production in the arid Mediterranean climate. *Field Crops Research*, 128:34-47.
- Jagodzinski, A. M., y Kalucka, I., 2011. Fine root biomass and morphology in an age-sequence of post-agricultural *Pinus sylvestris* L. stands. *Dendrobiology*, 66:71-84.
- Jaikumar, N. S., Snapp, S. S., Murphy, K., y Jones, S. S., 2012. Agronomic assessment of perennial wheat and perennial rye as cereal crops. *Agronomy Journal*, 104:1716-1726.
- Kang, S., Post, W., Wang, D., Nichols, J., Bandaru, V., y West, T., 2013. Hierarchical marginal land assessment for land use planning. *Land Use Policy*, 30:106-113.
- Kaijen, R., Fumitaka, S., Jun, A., y Shigenori, M., 2012. Biomass yield and nitrogen use efficiency of cellulosic energy crops for ethanol production. *Biomass Bioenergy*. 37:330–334.
- Kantar, M. B., Betts, K., Michno, J. M., Luby, J. J., Morrell, P. L., Hulke, B. S., , R. M., y Wyse, D. L., 2014. Evaluating an interspecific *Helianthus annuus* × *Helianthus tuberosus* population for use in a perennial sunflower breeding program. *Field Crops Research*, 155:254-264.
- Kell, D.B., 2011. Breeding crop plants with deep roots: their role in sustainable carbon, nutrient and water sequestration. *Annals of Botany*, 108:407-418.
- Kikuzawa, K., 2004. Ecology of leaf senescence. En: *Plant Cell Death Processes*, 363:370.
- Killingbeck, K. T., 1996. Nutrients in senesced leaves: keys to the search for potential resorption and resorption proficiency. *Ecology*, 77:1716-1727.
- Killingbeck, K., y Whitford, W., 2001. Nutrient resorption in shrubs growing by design, and by default in Chihuahuan Desert arroyos. *Oecologia*, 128:351-359.
- Lambin, E. F., y Meyfroidt, P., 2011. Global land use change, economic globalization, and the looming land scarcity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108:3465-3472.
- Latzel, V., Janeček, Š., Doležal, J., Klimešová, J., y Bossdorf, O., 2014. Adaptive transgenerational plasticity in the perennial *Plantago lanceolata*. *Oikos*, 123:41-46.
- Lavorel, S., y Grigulis, K., 2012. How fundamental plant functional trait relationships scale-up to trade-offs and synergies in ecosystem services. *Journal of Ecology*, 100:128-140.
- Loades, K. W., Bengough, A. G., Bransby, M. F., y Hallett, P. D., 2010. Planting density influence on fibrous root reinforcement of soils. *Ecological Engineering*, 36:276–284.

- Lü, X. T., Dijkstra, F. A., Kong, D. L., Wang, Z. W., y Han, X. G., 2014. Plant nitrogen uptake drives responses of productivity to nitrogen and water addition in a grassland. *Scientific Reports*, 4.
- Lynch, J. P. 2007. Roots of the second green revolution. *Australian Journal of Botany*, 55:493-512.
- Lynch, J. P., y Brown, K. M., 2008. Root strategies for phosphorus acquisition. En: *The Ecophysiology of Plant-Phosphorus Interactions*, 83-116. Springer Netherlands.
- Lynch, J. P., 2013. Steep, cheap and deep: an ideotype to optimize water and N acquisition by maize root systems. *Annals of Botany*, 112:347-357.
- Marty, C., Lamaze, T., y Pornon, A., 2010. Leaf life span optimizes annual biomass production rather than plant photosynthetic capacity in an evergreen shrub. *New Phytologist*, 187:407–416.
- Masclaux-Daubresse, C., Reisdorf-Cren, M., y Orsel, M., 2008. Leaf nitrogen remobilisation for plant development and grain filling. *Plant Biology*, 10:23-36.
- Matesanz, S., y Milla, R., 2018. Differential plasticity to water and nutrients between crops and their wild progenitors. *Environmental and Experimental Botany*, 145:54-63.
- McAllister, C. H., Beatty, P. H., y Good, A. G., 2012. Engineering nitrogen use efficient crop plants: the current status. *Plant Biotechnology Journal*, 10:1011-1025.
- McCormack, M. L., Dickie, I. A., Eissenstat, D. M., Fahey, T. J., Fernandez, C. W., Guo, D., Helmisaari, H. S., Hobbie, E. A., Iversen, C. M., Jackson, R. B., Leppälammil-Kujansuu, J., Norby, R. J., Phillips, R. P., Pregitzer, K. S., Pritchard, S. G., Rewald, B., Zadworny, M., 2015. Redefining fine roots improves understanding of below-ground contributions to terrestrial biosphere processes. *New Phytologist*, 207:505-518.
- McLaughlin, S.P., 1985. Economic prospects for new crops in the southwestern United States. *Economic Botany*, 39:473-481.
- Milla, R., Morente-López, J., Alonso-Rodrigo, J. M., Martín-Robles, N., y Chapin, F. S. III., 2015. Shifts and disruptions in resource-use trait syndromes during the evolution of herbaceous crops. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 281:20141429.
- Milla, R., y Matesanz, S., 2017. Growing larger with domestication: a matter of physiology, morphology or allocation? *Plant Biology*, 19:475-483
- Millennium Ecosystem Assessment, 2005. Millennium Ecosystem Assessment. <http://www.millenniumassessment.org/>
- Mitchell, R. J., 1992. Testing evolutionary and ecological hypotheses using path analysis and structural equation modelling. *Functional Ecology*, 6:123-129.
- Moll, R. H., Kamprath, E. J., y Jackson, W. A., 1982. Analysis and interpretation of factors which contribute to efficiency of nitrogen utilization. *Agronomy Journal*, 74:562-564.
- Mooney, H. A., 1983. Carbon-gaining capacity and allocation patterns of mediterranean-climate plants. En: *Mediterranean-Type Ecosystems*, 103-119. Springer Berlin Heidelberg.
- Nambiar, E.K.S., y Fife, D.N., 1991. Nutrient retranslocation in temperate conifers. *Tree Physiology*, 9:185–207.
- Nelson, E., Mendoza, G., Regetz, J., Polasky, S., Tallis, H., Cameron, D., ... y Shaw, M., 2009. Modeling multiple ecosystem services, biodiversity conservation, commodity production, and tradeoffs at landscape scales. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 7:4-11.

- Noy Meir, I., 1973. Desert ecosystems: environment and producers. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 4:25-51.
- OCDE/FAO, 2014. Agricultural outlook 2014-2023. <http://www.oecd.org/site/oecd-faoagriculturaloutlook/>
- Ono, K., Nishi, Y., Watanabe, A., y Terashima, I., 2001. Possible mechanisms of adaptive leaf senescence. *Plant Biology*, 3:234-243.
- ONU, 2013. World Population Prospects. The 2012 Revision: Key Findings and Advance Tables. http://esa.un.org/wpp/documentation/pdf/WPP2012_%20KEY%20FINDINGS.pdf
- Pastor, J., y Bridgham, S. D., 1999. Nutrient efficiency along nutrient availability gradients. *Oecologia*, 118:50-58.
- Pastor-Pastor, A., González-Paleo, L., Vilela, A., y Ravetta, D. 2015. Age-related changes in nitrogen resorption and use efficiency in the perennial new crop *Physaria mendocina* (Brassicaceae). *Industrial Crops and Products*, 65:227-232.
- Pastor-Pastor, A., Vilela, A.E., González-Paleo, L., 2018. Tradeoffs between productivity and nitrogen conservation in wild and domesticated plants of the perennial crop *Physaria* (Brassicaceae). *Annals of Applied Biology*, 173:121-133.
- Pastor-Pastor, A., Vilela, A. E., y González-Paleo, L., 2019. The root of the problem of perennials domestication: is selection for yield changing key root system traits required for ecological sustainability? *Plant and Soil*, 435:161-174.
- Paula, S., y Pausas, J. G., 2011. Root traits explain different foraging strategies between resprouting life histories. *Oecologia*, 165:321-331.
- Pérez-Ramos, I. M., Volaire, F., Fattet, M., Blanchard, A., Roumet, C., 2013. Tradeoffs between functional strategies for resource-use and drought-survival in Mediterranean rangeland species. *Environmental and Experimental Botany*, 87:126-136
- Pimentel D., Cerasale D., Stanley R. C., Perlman R., Newman E. M., Brent L. C., Mullan A., Chang D. T., 2012. Annual vs. perennial grain production. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 161:1-9.
- Pimm, S. L., 1997. In search of perennial solutions. *Nature*, 389:126-127.
- Piper, J. K., y Kulakow, P. A., 1994. Seed yield and biomass allocation in *Sorghum bicolor* and F1 and backcross generations of *S. bicolor* x *S. halepense* hybrids. *Canadian Journal of Botany*, 72:468-474.
- Ploschuk E. L., Windauer L., Ravetta D. A., 2001. Potential value of traits associated with perennial habit in the development of new oil-seed crops for arid lands. A comparison of *Lesquerella fendleri* and *L. mendocina* subjected to water stress. *Journal of Arid Environments*, 47:373-386.
- Ploschuk, E. L., Cerdeiras, G., Windauer, L., Dierig, A., Ravetta, D. A., 2003. Development of alternative *Lesquerella* species in Patagonia (Argentina): potential of *Lesquerella angustifolia*. *Industrial Crops and Products*, 18:1-6.
- Ploschuk, E. L., Slafer, G. A., y Ravetta, D. A., 2005. Reproductive allocation of biomass and nitrogen in anual and perennial *Lesquerella* crops. *Annals of Botany*, 96:127-135.
- Poorter, H., y Ryser, P., 2015. The limits to leaf and root plasticity: what is so special about specific root length? *New Phytologist*, 206:1188-1190.
- Pornon, A., y Lamaze, T., 2007. Nitrogen resorption and photosynthetic activity over leaf life span in an evergreen shrub, *Rhododendron ferrugineum*, in a subalpine environment. *New Phytologist*, 175:301-310.

- Pornon, A., Marty, C., Winterton, P., y Lamaze, T., 2011. The intriguing paradox of leaf lifespan responses to nitrogen availability. *Functional Ecology*, 25:796-801.
- Prina, A. O., 1995. Flora del Valle de Lerma: Brassicaceae Burnet. *Aportes Botánicos de Salta Ser. Flora* 3: 1-56.
http://eprints.natura.unsa.edu.ar/312/1/BRASSICACEAE_.pdf
- Pujol, B., Salager, J.L., Beltrán, M., Buusquet, S., y McKey, D., 2008. Photosynthesis and leaf structure in domesticated *Cassava* (Euphorbiaceae) and a close wild relative. Have leaf photosynthetic parameters evolved under domestication? *Biotropica*, 40:305-312.
- Ravetta, D.A. y Soriano, A., 1998. Alternatives for the development of new industrial crops for Patagonia. *Ecologia Austral*, 8:297-307.
- Reich, P. B., Walters, M. B., y Ellsworth, D. S., 1997. From tropics to tundra: global convergence in plant functioning. *Proceedings of the National Academy of Science*, 94:13730-13734.
- Reich, P. B., Walters, M. B., Tjoelker, M. G., Vanderklein, D., y Buschena, C., 1998. Photosynthesis and respiration rates depend on leaf and root morphology and nitrogen concentration in nine boreal tree species differing in relative growth rate. *Functional Ecology*, 12:395-405.
- Reich, P. B., Ellsworth, D. S., Walters, M. B., Vose, J. M., Gresham, C., Volin, J. C., y Bowman, W.D., 1999. Generality of leaf trait relationships: A test across six biomes. *Ecology*, 80:1955-1969.
- Rey-Benayas, J. M., y Bullock, J. M., 2012. Restoration of biodiversity and ecosystem services on agricultural land. *Ecosystems*, 15:883-899
- Robertson, G. P., Allen, V. G., Boody, G., Boose, E. R., Creamer, N. G., Drinkwater, L. E., y Wall, D. H., 2008. Long-term agricultural research: A research, education, and extension imperative. *BioScience*, 58:640-645.
- Robinson, D., 1996. Resource capture by localized root proliferation: why do plants bother? *Annals of Botany*, 77:179-186.
- Roetheli, J. C., Carlson, K. D., Kleiman, R., Thompson, A. E., Dierig, D. A., Glaser, L. K., y Goodell, J., 1991. *Lesquerella* as a source of hydroxy fatty acids for industrial products. Office of agricultural Materials, Cooperative Research Service, USDA, Washington, DC.
- Roff, D. A., 1992. The evolution of life histories: theory and analysis. New York, USA: Chapman and Hall.
- Roucou, A., Violle, C., Fort, F., Roumet, P., Ecartot, M., y Vile, D., 2018. Shifts in plant functional strategies over the course of wheat domestication. *Journal of Applied Ecology*, 55:25-37.
- Roumet, C., Urcelay, C., y Díaz, S., 2006. Suites of root traits differ between annual and perennial species growing in the field. *New Phytologist*, 170:357-368.
- Ryalls, J. M., Moore, B. D., Johnson, S. N., Connor, M., Hiltbold, I., 2018. Root responses to domestication, precipitation and silicification: weeping meadow grass simplifies and alters toughness. *Plant and soil*, 427:291-304.
- Ryan, M. R., Crews, T. E., Culman, S. W., DeHaan, L. R., Hayes, R. C., Jungers, J. M., y Bakker, M. G., 2018. Managing for Multifunctionality in Perennial Grain Crops. *BioScience*, 68:294-304.
- Ryser, P. 1998. Intra- and interspecific variation in root length, root turnover and the underlying parameters. En: Lambers H, Poorter H, Van Vuuren MMI (eds) *Variation in plant growth*, 441-465. Backhuys Publishers. Leiden.
- Sacks, E. J., Roxas, J. P., y Cruz, M. T. S., 2003. Developing Perennial Upland Rice I. *Crop Science*, 43:120-128.

- Sacks, E. J., Dhanapala, M. P., Tao, D. Y., Cruz, M. S., y Sallan, R., 2006. Breeding for perennial growth and fertility in an *Oryza sativa/O. longistaminata* population. *Field Crops Research*, 95:39-48.
- Salter, K. C., y Fawcett, R. F., 1993. The art test of interaction: A robust and powerful rank test of interaction in factorial models. *Communications in Statistics: Simulation and Computation*, 22:137-153.
- Scales, F.M., y Harrison, A.P., 1920. Boric acid modification of the Kjeldahl method for crop and soil analysis. *Industrial & Engineering Chemistry*, 12:350-352.
- Scheinost, P. L., Lammer, D. L., Cai, X., Murray, T. D., y Jones, S. S., 2001. Perennial wheat: The development of a sustainable cropping system for the US Pacific Northwest. *American Journal of Alternative Agriculture*, 16:147-151.
- Schlesinger, W. H., Raikes, J. A., Hartley, A. E., y Cross, A. F., 1996. On the spatial pattern of soil nutrients in desert ecosystems. *Ecology*, 77:364-374.
- Sheppard, A. W., Gillespie, I., Hirsch, M., y Begley, C., 2011. Biosecurity and sustainability within the growing global bioeconomy. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 3:4-10.
- Silla, F., y Escudero, A., 2004. Nitrogen-use efficiency: trade-offs between N productivity and mean residence time at organ, plant and population levels. *Functional Ecology*, 18:511-521.
- Sinclair, T. R., y de Wit, C. T., 1975. Photosynthate and nitrogen requirements for seed production by various crops. *Science*, 189:565-567.
- Spiertz, J. H. J., 2010. Nitrogen, sustainable agriculture and food security. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 30:43-55.
- Shortall, O. K., 2013. "Marginal land" for energy crops: Exploring definitions and embedded assumptions. *Energy Policy*, 62:19-27.
- Smaje, C., 2015. The strong perennial vision: A critical review. *Agroecology and Sustainable Food Systems*, 39:471-499.
- Smith, D., Silva, J. P., 1969. Use of Carbohydrate and Nitrogen Root Reserves in the Regrowth of Alfalfa from Greenhouse Experiments under Light and Dark Conditions. *Crop Science*, 9:464-467.
- Stearns, S. C., 1989. Trade-offs in life-history evolution. *Functional Ecology*, 3:259-268.
- Thomas, H., 2013. Senescence, ageing and death of the whole plant. *New Phytologist*, 197:696-711.
- Thompson, A. E., y Dierig, D. A., 1994. Initial selection and breeding of *Lesquerella fendleri*, a new industrial oilseed. *Industrial Crops and Products*, 2:97-106.
- Tilman, D., Socolow, R., Foley, J. A., Hill, J., Larson, E., Lynd, L., Pacala, S., Reilly, J., Searchinger, T., Somerville, C., y Williams, R., 2009. Beneficial biofuels—the food, energy, and environment trilemma. *Science*, 325:270-271.
- Tjoelker, M. G., Craine, J. M., Wedin, D., Reich, P. B., Tilman, D., 2005. Linking leaf and root trait syndromes among 39 grassland and savannah species. *New Phytologist*, 167:493-508.
- Trubat, R., Cortina, J., y Vilagrosa, A., 2012. Root architecture and hydraulic conductance in nutrient deprived *Pistacia lentiscus* L. seedlings. *Oecologia*, 170:899-908.
- Van Dijk, H., 2009. Ageing affects in an iteroparous plant species with a variable life span. *Annals of Botany*, 104:115-124.
- Van Tassel, D. L., DeHaan, L. R., y Cox, T. S., 2010. Missing domesticated plant forms: can artificial selection fill the gap? *Evolutionary Applications*, 3:434-452.

- Van Tassel D. L., Albrecht K. A., Bevern J. D., Boec A. A., Brandvaind Y., Crews T. E., Gansbergere M., Gerstbergerf P., González-Paleo L., Hulkeh B. S., Kanei N. C., Johnson P. J., Pestsovam E. G., Picasso V. D., Prasifkah J. R., Ravetta D. A., Schlautmana B., Sheaffer C. C., Smith K. P., Speranzal P. R., Turnera M. K., Vilela A. E., von Gehrene P., Wevermet C., 2017. Accelerating domestication: An opportunity to develop new crop ideotypes and breeding strategies informed by multiple disciplines. *Crop Science*, 57:1–11.
- Vázquez de Aldana, B. R., y Berendse, F., 1997. Nitrogen-use efficiency in six perennial grasses from contrasting habitats. *Functional Ecology*, 11:619-626.
- Vico G., Manzoni S., Nkurunziza L., Murphy K., Weih M., 2016. Trade-offs between seed output and life span—a quantitative comparison of traits between annual and perennial congeneric species. *New Phytologist*, 209:104-114.
- Vilela, A., Bolkovic, M. L., Carmanchahi, P., Cony, M., De Lamo, D., y Wassner, D., 2009. Past, present and potential uses of native flora and wildlife of the Monte Desert. *Journal of Arid Environments*, 73:238-243.
- Vilela, A. E., y González-Paleo, L., 2015. Changes in resource-use strategy and phenotypic plasticity associated with selection for yield in wild species native to arid environments. *Journal of Arid Environments*, 113:51-58.
- Vilela, A., González-Paleo, L., Turner, K., Peterson, K., Ravetta, D., Crews, T., y Van Tassel, D., 2018. Progress and Bottlenecks in the Early Domestication of the Perennial Oilseed *Silphium integrifolium*, a Sunflower Substitute. *Sustainability*, 10:638.
- Villagra, P. E., Defossé, G. E., Del Valle, H. F., Tabeni, S., Rostagno, M., Cesca, E., y Abraham, E., 2009. Land use and disturbance effects on the dynamics of natural ecosystems of the Monte Desert: Implications for their management. *Journal of Arid Environments*, 73:202-211.
- Vitousek, P., 1982. Nutrient cycling and nutrient use efficiency. *American Naturalist*, 553-572.
- Volenec J. J., Ourry A., y Joern B. C., 1996. A role for nitrogen reserves in forage regrowth and stress tolerance. *Physiologia Plantarum*, 97:185-193.
- Wahl, S., y Ryser, P., 2000. Root tissue structure is linked to ecological strategies of grasses. *New Phytologist*, 148:459-471.
- Wang, L., Mühlhling, K. H., y Schulte auf'm Erley, G., 2016. Nitrogen efficiency and leaf nitrogen remobilisation of oilseed rape lines and hybrids. *Annals of Applied Biology*, 169:125-133.
- Weih, M., Asplund, L., y Bergkvist, G., 2011. Assessment of nutrient use in annual and perennial crops: a functional concept for analyzing nitrogen use efficiency. *Plant and Soil*, 339:513–520.
- White, T. A., Snow, V. O., 2012. A modelling analysis to identify plant traits for enhanced water-use efficiency of pasture. *Crop Pasture Science*, 63, 63-76.
- White, P. J., George, T. S., Gregory, P. J., Bengough, A. G., Hallett, P. D., y McKenzie, B. M., 2013. Matching roots to their environment. *Annals of Botany*, 112:207-222.
- Wiegmann, K., Hennenberg, K.J., Fritsche, U.R., 2008. Degraded land and sustainable bioenergy feedstock production, Oko-Institut, Darmstadt Office. En: Joint International Workshop on High Nature Value Criteria and Potential for Sustainable Use of Degraded Lands, Paris, France.
- Wiley, H. C., 1984. New crops for arid lands. *Science*, 225:1445-1448.

- Windauer, L., 2004. Puesta en cultivo de especies del género *Lesquerella*: Influencia de factores ambientales sobre el desarrollo. Magister Scientiae Tesis. Escuela para Graduados. Facultad de Agronomía (UBA).
- Wissuwa, M., Mazzola, M., y Picard, C., 2009. Novel approaches in plant breeding for rhizosphere-related traits. *Plant and Soil*, 321:409-430.
- Withington, J. M., Reich, P. B., Oleksyn, J., y Eissenstat, D. M., 2006. Comparisons of structure and life span in roots and leaves among temperate trees. *Ecological monographs*, 76:381-397
- Wobbrock, J. O., Findlater, L., Gergle, D., Higgins, J. J., 2011. The aligned rank transform for nonparametric factorial analyses using only anova procedures. En: *Proceedings of the SIGCHI conference on human factors in computing systems*, 143-146. Vancouver, British Columbia. New York: ACM Press.
<http://depts.washington.edu/madlab/proj/art/>
- Wright, I. J., Westoby, M., y Reich, P. B., 2002. Convergence towards higher leaf mass per area in dry and nutrient-poor habitats has different consequences for leaf life span. *Journal of Ecology*, 90:534-543.
- Wright, I. J., y Westoby, M. 2003. Nutrient concentration, resorption and lifespan: leaf traits of Australian sclerophyll species. *Functional Ecology*, 17:10-19.
- Xu, G., Fan, X., y Miller, A. J., 2012. Plant nitrogen assimilation and use efficiency. *Annual review of plant biology*, 63:153-182.
- Yemm, E. W., y Willis, A. J., 1954. Estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. *Biochemical Journal* 57:508-514.
- Yuan, Z. Y., Li, L. H., Han, X. G., Chen, S. P., Wang, Z. W., Chen, Q. S., y Bai, W. M., 2006. Nitrogen response efficiency increased monotonically with decreasing soil resource availability: a case study from a semiarid grassland in northern China. *Oecologia*, 148:564-572.
- Yuan, Z. Y., Chen, H. Y., y Li, L. H., 2008. Nitrogen use efficiency: does a trade-off exist between the N productivity and the mean residence time within species? *Australian Journal of Botany*, 56:272-277.
- Yuan, Z. Y., y Chen, H. Y., 2009. Global-scale patterns of nutrient resorption associated with latitude, temperature and precipitation. *Global Ecology and Biogeography*, 18:11-18.
- Yuan, Z. Y., y Chen, H. Y., 2010. Changes in nitrogen resorption of trembling aspen (*Populus tremuloides*) with stand development. *Plant and Soil*, 327:121-129.

MATERIAL ANEXO

Cuadro ANEXO a 2.2: Fuentes de variabilidad en los caracteres de partición y de uso y conservación de nitrógeno. Se muestran valores P de los efectos principales y las interacciones del año de experimento (año), especie (sp) y esquema de selección (aces) del análisis ANOVA. **Caracteres de partición:** Ntotal= N total en planta. Nrendimiento= N en semilla. NHI= Índice de cosecha de N. RNR= Ratio N raíz. SNR= Ratio N tallo. LNR= Ratio N hoja. SupportNR= Ratio N estructuras reproductivas. **Caracteres de uso y conservación:** NAdq= Tasa de adquisición. NUtE= Eficiencia en la utilización. Nloss= tasa de pérdida de N. AN_{Planta}= Productividad de N. MRT_{Planta}= Tiempo medio de residencia. NUE_{Planta}= Eficiencia en el uso de N. AN_{Hoja}= Productividad N foliar. MRT_{Hoja}= Tiempo medio de residencia foliar. NUE_{Hoja}= Eficiencia uso foliar.

	AÑO	SP	ACCES	AÑO*SP	AÑO*ACCES	SP*ACCES	AÑO*SP*ACCES
CARACTERES DE PARTICIÓN							
N total (mg pl ⁻¹)	<0,0001	0,3637	<0,0001	0,0837	0,3941	0,3641	0,4246
N rendimiento (mg)	0,0706	0,0004	<0,0001	0,4545	0,8707	0,5218	0,4757
NHI (g g ⁻¹)	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,7905	0,6240	0,7850
RNR (g g ⁻¹)	0,0031	0,0227	<0,0001	0,4697	0,0610	0,0550	0,4835
SNR (g g ⁻¹)	0,0008	0,0006	<0,0001	0,7115	0,8470	0,7551	0,2565
LNR (g g ⁻¹)	0,0003	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,2282	0,1403	0,5834
SupportNR (g g ⁻¹)	0,0052	0,0001	0,0058	0,5749	0,0996	0,4567	0,2236
[N] semilla (mg g ⁻¹)	<0,0001	<0,0001	0,2993	0,1576	0,7907	0,8187	0,0541
[N] raíz (mg g ⁻¹)	0,0463	0,0004	0,0309	0,5302	0,5062	0,2547	0,9063
[N] tallo (mg g ⁻¹)	0,0291	<0,0001	0,0520	0,1041	0,6163	0,7306	0,4350
[N] hoja (mg g ⁻¹)	0,0358	0,0024	0,0501	<0,0001	0,5794	0,6304	0,2666
[N] support (mg g ⁻¹)	<0,0001	<0,0001	0,0258	0,0001	0,2579	0,8369	0,7476
CARACTERES DE USO Y CONSERVACIÓN							
Nadq (g g ⁻¹ año ⁻¹)	0,6445	<0,0001	<0,0001	0,4049	0,8477	0,9416	0,2587
NUtE (g g ⁻¹)	<0,0001	0,0001	<0,0001	0,0009	0,9483	0,6108	0,3480
Nloss (mg año ⁻¹)	0,0001	0,0690	<0,0001	0,6463	0,3875	0,3447	0,3136
AN _{Planta} (g g ⁻¹ año ⁻¹)	<0,0001	0,2539	0,0799	0,0004	0,0540	0,3967	0,1543
MRT _{Planta} (año)	<0,0001	0,1934	<0,0001	<0,0001	0,2994	0,1349	0,5695
NUE _{Planta} (g g ⁻¹)	0,0008	0,0052	0,0143	0,9001	0,7582	0,4081	0,8740
AN _{Hoja} (g g ⁻¹ año ⁻¹)	0,0415	0,0022	0,2709	<0,0001	0,1723	0,0946	0,7440
MRT _{Hoja} (año)	0,0120	0,1664	0,0022	0,0002	0,4071	0,3424	0,1673
NUE _{Hoja} (g g ⁻¹)	0,0238	0,0095	0,0013	0,0370	0,4837	0,2015	0,1170

Cuadro ANEXO a 3.2: Fuentes de variabilidad en caracteres radicales relacionados con la adquisición y la conservación de N en los estadios fenológico de antesis y madurez. Se muestran valores P de los efectos principales y las interacciones del año de experimento (año), especie (sp) y criterio de selección (ac) del análisis ANOVA.

Caracteres de adquisición: Nadq= Tasa de adquisición. [N]raíz= concentración N raíz. Longitud= Longitud del sistema radical. Meristemas= Número de meristemas del sistema. SRL= Longitud de raíz específica. STD= Densidad específica de meristemas.

Caracteres de conservación: TNC= Concentración carbohidratos no estructurales. Peso raíz= Peso seco del sistema radical. RTD= Densidad del tejido radical. RMR= Partición de biomasa a raíz. Volumen 1ª= Volumen de la raíz primaria. Φ Laterales= Diámetro de las raíces laterales.

	AÑO	SP	AC	AÑO*SP	AÑO*AC	SP*AC	AÑO*SP*AC
ANTESIS							
CARACTERES DE ADQUISICIÓN							
Nadq. (g g ⁻¹ a ⁻¹)	0,0045	<0,0001	0,1397	0,7891	0,5568	0,8192	0,7153
[N] raíz (mg g ⁻¹)	<0,0001	<0,0001	0,0005	0,1952	0,0370	0,2582	0,0886
Longitud (cm)	0,9932	<0,0001	0,6596	0,0192	0,6557	0,0538	0,0731
Meristemas (nº)	0,0794	0,0003	0,6342	0,7010	0,4249	0,1342	0,3701
SRL (cm g ⁻¹)	<0,0001	0,0001	0,3439	0,1776	0,0037	0,2860	0,0835
STD (meris g ⁻¹)	<0,0001	0,0103	0,7140	0,0035	0,0012	0,1052	0,3578
CARACTERES DE CONSERVACIÓN							
Peso raíz (g)	<0,0001	0,5815	0,0435	<0,0001	0,0002	0,0541	0,8689
RTD (g mL ⁻¹)	<0,0001	0,7422	0,0198	<0,0001	<0,0001	0,0643	0,0812
RMR (g g ⁻¹)	<0,0001	<0,0001	0,1145	1,3672	0,6321	0,6361	0,9516
Lateral Φ	0,6165	0,2373	0,4851	0,0091	0,8892	0,1466	0,0514
MADUREZ							
CARACTERES DE ADQUISICIÓN							
Nadq. (g g ⁻¹ a ⁻¹)	0,6445	<0,0001	<0,0001	0,4049	0,8477	0,9416	0,2587
[N] raíz (mg g ⁻¹)	0,0463	0,0004	0,0309	0,5302	0,5062	0,2547	0,9063
Longitud (cm)	0,0002	<0,0001	0,0007	0,0013	0,1207	0,7275	0,5711
Meristemas (nº)	0,0013	<0,0001	0,0003	0,0704	0,5046	0,0600	0,0631
SRL (cm g ⁻¹)	0,1978	<0,0001	0,3070	0,0017	0,2821	0,9420	0,0125
STD (meris g ⁻¹)	0,0209	<0,0001	0,1583	0,3937	0,5634	0,5059	0,0073
CARACTERES DE CONSERVACIÓN							
TNC (%)	0,5884	0,8754	<0,0001	0,5004	0,1093	0,2553	0,9256
Peso raíz (g)	<0,0001	<0,0001	0,0656	0,0988	0,2989	0,4405	0,9888
RTD (g mL ⁻¹)	0,0007	<0,0001	0,0395	0,1111	0,3693	0,8071	0,0636
RMR (g g ⁻¹)	0,0115	<0,0001	<0,0001	0,9656	0,8159	0,4303	0,7432
Volumen 1ª (mL)	0,0005	<0,0001	0,1441	0,6393	0,3972	0,5699	0,2481
Φ Laterales (cm)	0,0186	<0,0001	0,2275	0,0255	0,0500	0,7584	0,3429
Npool (mg)	<0,0001	0,0030	0,3802	0,0203	0,0723	0,1566	0,0772
TNCpool (mg)	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,5527	0,3174	0,8246	0,1117

Cuadro ANEXO a 4.2: Fuentes de variabilidad en caracteres foliares. Se muestra valores P de los efectos principales y las interacciones del año (año), especie (sp) y accesión (ac) del análisis ANOVA. LMR= Partición a hoja. DM Verde= Peso hoja verde. DMsen= Peso hoja senescente. Pool Verde= Contenido de N en hoja verde. Pool Sen= Contenido N en hoja senescente. Tasa sen= Tasa de senescencia. Área= Área foliar total. [N] verde= Concentración N en hoja verde. [N]sen= Concentración N en hoja senescente. NRE= Eficiencia en la reabsorción de N. SLA= Área foliar específica. LLS= Longevidad foliar.

	AÑO	SP	AC	AÑO*SP	AÑO*AC	SP*AC	AÑO*SP*AC
LMR (g g ⁻¹)	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0047	0,4569	0,5723	0,1920
DM Verde (g)	<0,0001	0,1876	0,0840	0,0001	0,1552	0,8999	0,7347
DM senes (g)	0,0052	0,6816	0,0215	0,1788	0,6949	0,3112	0,1664
Pool N Verde (g)	<0,0001	0,0263	0,2111	0,0001	0,1530	0,7658	0,9708
Pool N Sen (g)	0,0010	0,0003	0,0008	0,8072	0,5051	0,0741	0,1082
Tasa sen (g a ⁻¹)	0,0092	0,6800	0,0177	0,1788	0,7421	0,3112	0,1664
Área (cm ²)	0,0003	0,0990	0,4765	0,0002	0,1738	0,3273	0,2776
[N] verde (mg g ⁻¹)	0,0358	0,0024	0,0501	<0,0001	0,5794	0,6304	0,2666
[N] Sen (mg g ⁻¹)	0,0988	<0,0001	0,0153	0,0153	0,7661	0,0688	0,2756
NRE (%)	0,0068	0,0005	0,0001	0,4027	0,9962	0,0141	0,1410
SLA (cm ² g ⁻¹)	<0,0001	0,0020	0,0489	0,5330	0,0330	0,0061	0,0211
LLS (días)	0,0301	0,5369	0,0018	0,9240	0,9256	0,0094	0,9721
MRT _{Hoja} (año)	0,0120	0,1664	0,0022	0,0002	0,4071	0,3424	0,1673