

# Estimación del área de las hojas en plantas de trigo bajo diferentes tipos de estrés abiótico

Cogliatti, D.H.; M.F. Cataldi y F. Iglesias

## RESUMEN

En trigo, es posible estimar el área de las hojas (AF) utilizando el producto del largo, el ancho de la lámina (LxA) y un coeficiente de proporcionalidad ( $b_m$ ). Sin embargo, no hay información sobre la posibilidad de usar el mismo valor del coeficiente para estimar el área en plantas que sufren estrés hídrico, lumínico o nutricional. Para estudiar este punto se realizaron dos experimentos en los cuales se aplicó sequía, sombreado y deficiencias de N y P a plantas de trigo. El coeficiente  $b_m$  se calculó a partir de la regresión lineal entre AF y LxA y fue similar entre las plantas control y aquellas que sufrieron sequía o deficiencias de N o P, pero fue distinto en plantas sombreadas. El mayor valor de  $b_m$  en las plantas sombreadas se debió a una mayor proporción del sector medio de la lámina, definido por su forma rectangular. La validación de la posibilidad de usar el  $b_m$  del control para estimar AF en plantas estresadas se realizó por regresión lineal entre el AF medida y calculada. Se concluye que puede usarse el mismo coeficiente  $b_m$  para estimar el AF en plantas no estresadas y en plantas que sufren sequía o deficiencias de N o P. El uso del mismo valor del coeficiente  $b_m$  en plantas sombreadas llevó a una subestimación del AF, la que fue más pronunciada a medida que aumentó el sombreado.

**Palabras clave:** Trigo, área foliar estimada, coeficiente de cálculo, largo y ancho de la lámina, estrés abiótico.

Cogliatti, D.H.; M.F. Cataldi and F. Iglesias, 2010. Leaf area estimation in wheat plants suffering several kinds of abiotic stress. *Agriscientia* XXVII: 43-53

## SUMMARY

In wheat, leaf area (LA) can be estimated as the product between length, maximum blade width (LxW) and a proportionality coefficient  $b_m$ . However, it is unknown whether this coefficient is the same in stressed and non stressed plants. In order to study this, two experiments in which drought, shading and N and P deficiencies were applied to wheat plants were performed. The  $b_m$

coefficient was calculated by linear regression between LA and LxW. The coefficient was similar in control plants as compared to those suffering wilting or N or P-deficiency, but different in shaded plants. The greater  $b_m$  in shaded plants was due to an increased proportion of the central section of the blade, defined by its rectangular form. Validation of the possibility of using  $b_m$  of the control to estimate LA in stressed plants was performed by linear regression between measured and calculated LA. It is concluded that the same  $b_m$  coefficient can be safely used to calculate LA from LxW in non-stressed plants and in those suffering drought or N or P-deficiency. The use of the same coefficient value in shaded plants produced an underestimation of LA, which was more pronounced as shading increases.

**Key words:** Wheat, estimated leaf area, calculation coefficient, blade length and width, abiotic stress.

*D. H. Cogliatti y M.F. Cataldi. Núcleo de Actividades Científico Tecnológicas CIISAS, Facultad de Agronomía de Azul, UNCP-BA. Av. República de Italia 780, 7300 Azul. F. Iglesias. Laboratorio de Biología Molecular de Plantas, Fundación Instituto Leloir, Av. Patricias Argentinas 435, Buenos Aires. Correspondencia a: dhc@faa.unicen.edu.ar*

## INTRODUCCIÓN

El análisis ecofisiológico del efecto de los factores del ambiente sobre el crecimiento implica, de manera directa o indirecta, evaluar la radiación fotosintéticamente activa interceptada por las plantas y su conversión en biomasa seca (Monteith, 1977). El efecto de un estrés ambiental (lumínico, hídrico o nutricional) sobre el crecimiento y el rendimiento puede ser interpretado a través de su efecto sobre las eficiencias de intercepción y utilización de la luz absorbida por las plantas (Fischer, 1985; Abbate *et al.*, 1995). En este contexto, la determinación del área foliar (AF) o del índice de área foliar (IAF) resulta importante para la interpretación de los resultados.

Para la determinación del área de las hojas han sido utilizados diversos métodos, tanto destructivos como no destructivos. Sin embargo, cuando se quiere medir el crecimiento del área foliar de una planta individual, los métodos no destructivos son imprescindibles.

Los medidores electrónicos portátiles, como el LI-3000C de LI-COR Biosciences, USA, o el CI-203 Laser Area Meter, de CID, Inc. USA, realizan mediciones directas del área de las hojas con precisiones del orden del  $\text{mm}^2$  y han sido utilizados para determinaciones no destructivas en plantas con hojas relativamente grandes como maíz y girasol. En plantas con hojas chicas, como trigo, la utilización de dicho instrumental es más dificultosa, especialmente cuando las plantas están en las primeras etapas de su desarrollo.

Existen, desde hace tiempo, métodos indirectos alternativos para estimar el área de hojas lanceoladas, basados en relaciones geométricas entre el área y algunas medidas del limbo foliar. El área de la hoja se puede estimar a partir de: 1) el largo (L), 2) el ancho máximo de la lámina (A) (Sastre *et al.*, 2002) y 3) el producto del largo y el ancho (LxA) (Rao *et al.*, 1967), con ecuaciones distintas en cada caso. En los casos 1 y 2, dichas ecuaciones se modifican para condiciones ambientales que cambien la relación largo:ancho de las hojas, pero en el caso 3, no se produce dicho inconveniente.

Rao *et al.* (1967) determinaron que el área de las hojas de trigos mejicanos se puede estimar, con mucha precisión, multiplicando el producto del largo y el ancho máximo (LxA) por un coeficiente de cálculo ( $b_m$ ) de 0,876. Luego, Miralles y Slafer (1991) obtuvieron un valor para el coeficiente de 0,835 en variedades de trigos argentinos cultivados con diferentes densidades y fechas de siembra.

Este coeficiente ( $b_m$ ) (Miralles y Slafer, 1991), puede obtenerse en una submuestra de las hojas: a) dividiendo el AF por el LxA, o b) a través de la regresión lineal entre el AF medida y LxA de cada hoja, forzando la ordenada al origen a 0. Por otro lado, Sestak *et al.* (1971) observaron variaciones entre 0,65 y 0,95 en el coeficiente  $b_m$ , obtenido por el procedimiento a) en distintas variedades y densidades de siembra de trigo.

Se sabe que tanto las deficiencias de nitrógeno (Kemp, 1980) y fósforo (Rodríguez *et al.*, 2000)

como el estrés hídrico (Eastham *et al.*, 1984) producen en las plantas de trigo una disminución del área de las hojas, mientras que la disminución de la radiación puede producir un aumento (Blackman, 1956; Rodríguez *et al.*, 2000). A pesar de lo expuesto, no se sabe si las plantas que sufren alguna de las situaciones de estrés antes mencionados presentan valores de  $b_m$  diferentes a los de las plantas no estresadas.

El objetivo del presente trabajo fue verificar si la estimación del área foliar en plantas con estrés hídrico, lumínico o deficiencias de N o P puede realizarse aplicando el mismo coeficiente  $b_m$  de plantas no estresadas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron dos tipos de experimentos, el primero en invernáculo y el segundo al aire libre. En ambos se utilizaron una serie de procedimientos comunes que se detallan a continuación.

El material experimental utilizado fueron plantas de trigo (*Triticum aestivum* L.) cv Buck Ombú en el período de emergencia-macollaje. Al finalizar los experimentos las plantas no habían alcanzado el estado 30 de la escala de Zadoks (Zadoks *et al.*, 1974).

Diez semillas germinadas fueron transplantadas en macetas plásticas de 750 ml llenas con un suelo Argidul típico (horizonte A) deficiente en fósforo con 5 mg P Kg<sup>-1</sup> suelo (Bray y Kurtz, 1945). Una semana más tarde se practicó un raleo, dejando cinco plántulas homogéneas en cada maceta.

En ambos experimentos todos los tratamientos contaron con cinco repeticiones por cosecha, y la maceta fue la unidad experimental.

Los tratamientos de fertilización que se detallan en cada experimento fueron realizados inmediatamente antes del transplante.

### Experimento I

Las plantas fueron cultivadas en condiciones de invernáculo por 6 semanas desde el transplante y durante los meses de marzo-abril. El experimento se repitió en los años 2002 y 2003.

Las irradiancias medias bajo la cubierta del invernáculo fueron de 4,7±1,9 y 4,5±1,6 MJ m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> de radiación fotosintéticamente activa, para los años 2002 y 2003 respectivamente. Los valores son promedios de cada experimento y están acompañados de sus desviaciones estándar.

Los tratamientos fueron los siguientes

**1) Control:** Las plantas fueron cultivadas en las condiciones lumínicas del invernáculo y las

macetas se regaron diariamente hasta capacidad de campo con agua desmineralizada. El suelo fue fertilizado con 200 mg P Kg<sup>-1</sup> suelo, aplicado como K PO<sub>4</sub>H<sub>2</sub>, y con 200 mg N Kg<sup>-1</sup> suelo, aplicado como KNO<sub>3</sub> y urea en partes iguales.

**2) Deficiencia de nitrógeno:** Las plantas fueron cultivadas en las condiciones lumínicas del invernáculo y las macetas se regaron diariamente hasta capacidad de campo con agua desmineralizada. El suelo fue fertilizado sólo con 200 mg P Kg<sup>-1</sup> suelo, aplicado como K PO<sub>4</sub>H<sub>2</sub>, y se adicionaron 50 ml de solución de sacarosa al 5% para inmovilizar el N en la flora microbiana.

**3) Deficiencia de fósforo:** Las plantas fueron cultivadas en las condiciones lumínicas del invernáculo y las macetas se regaron diariamente hasta capacidad de campo con agua desmineralizada. El suelo fue fertilizado sólo con 200 mg N Kg<sup>-1</sup> suelo, aplicado como K NO<sub>3</sub> y urea en partes iguales.

**4) Sequía:** Las plantas fueron cultivadas en las condiciones lumínicas del invernáculo. A partir de los 14 días del transplante se interrumpió el riego por una semana, momento en el que se observaron los primeros síntomas de marchitez en las hojas, y luego se regaron con 30 ml diarios de agua desmineralizada por maceta. El suelo fue fertilizado con 200 mg P Kg<sup>-1</sup> suelo, aplicado como K PO<sub>4</sub>H<sub>2</sub>, y con 200 mg N Kg<sup>-1</sup> suelo, aplicado como KNO<sub>3</sub> y urea en partes iguales.

**5) Sombreo:** Las macetas fueron sombreadas a partir de los 14 días del transplante con una red de sombreado de plástico negro que redujo el 56% de la radiación existente dentro del invernáculo. Las macetas se regaron diariamente hasta capacidad de campo con agua desmineralizada. El suelo fue fertilizado con 200 mg P Kg<sup>-1</sup> suelo, aplicado como K PO<sub>4</sub>H<sub>2</sub>, y con 200 mg N Kg<sup>-1</sup> suelo, aplicado como KNO<sub>3</sub> y urea en partes iguales.

### Experimento II

Este experimento se realizó al aire libre, en macetas del mismo tipo y con el mismo suelo que en el experimento I, desde el 28 de septiembre al 9 de noviembre del año 2002. La irradiancia media durante el experimento fue de 10,4±3,5 MJ m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> de radiación fotosintéticamente activa. El valor es el promedio y está acompañado por su desviación estándar.

El suelo fue fertilizado antes del transplante con 200 mg N Kg<sup>-1</sup> suelo, aplicado como KNO<sub>3</sub> y urea en partes iguales, y 200 mg P Kg<sup>-1</sup> suelo, aplicado como KPO<sub>4</sub>H<sub>2</sub>. Las macetas se regaron diariamente hasta capacidad de campo con agua desmineralizada.

Los tratamientos consistieron en sombreos que redujeron la densidad de flujo fotónico a nivel de las plantas un 0, 56 y 75% de la radiación solar incidente. Para ello se utilizaron, desde el momento del trasplante, redes de sombreo negras con distinta capacidad de intercepción de la radiación.

### Cálculos y mediciones

Para comprobar que las plantas habían sufrido efectivamente el efecto de cada uno de los diferentes tratamientos de estrés aplicados, se realizó una cosecha de cinco macetas de cada tratamiento a los 42 y 32 días desde el trasplante, para los experimentos I y II respectivamente. Las plantas cosechadas se separaron en vástagos y raíces. El área de las láminas (AF) se determinó con un medidor de área foliar láser CID-203 y las raíces se lavaron cuidadosamente. Luego, los vástagos y las raíces se secaron a 60 °C por una semana y se determinó su peso seco.

Los resultados se analizaron estadísticamente a través del ANOVA y las comparaciones entre medias se realizaron por el test de Scheffé.

Para determinar el coeficiente de proporcionalidad  $b_m$  entre el AF y el producto del largo por el ancho máximo de las láminas (LxA) se realizaron cosechas con un intervalo de una semana, a partir de los 14 días desde el trasplante, en el experimento I, y durante todo el experimento II. En cada cosecha se determinó el área de todas las láminas pertenecientes al vástago principal y macollos con un medidor de área foliar láser CID-203; además, manualmente se midió el largo (L) y ancho máximo (A) de cada una de ellas. Con los datos obtenidos se realizó un análisis de correlación y regresión entre las variables AF y LxA. El cálculo del coeficiente  $b_m$  de proporcionalidad entre el AF y el LxA se realizó a través del análisis de regresión lineal entre ambas variables, con la ordenada al origen forzada a 0 (Steel y Torrie, 1993). Para este tipo de análisis en el experimento I se reunieron los resultados de los años 2002 y 2003.

La posibilidad de usar el mismo coeficiente  $b_m$  para calcular el AF en plantas cultivadas con algún estrés abiótico y plantas no estresadas se puso a prueba a través del análisis de regresión lineal entre el AF medida en cada hoja y el AF calculada, usando para los tratamientos con estrés el  $b_m$  correspondiente al tratamiento control. En cada tratamiento se evaluó estadísticamente si el intercepto fue distinto de 0 y si la pendiente fue distinta de 1.

Con el objeto de realizar un análisis descriptivo de la relación entre la forma de la hoja y el coeficiente  $b_m$  se analizaron las hojas 2, 3 y 4

totalmente expandidas de los tratamientos control y sombreo 75% de intercepción del experimento II. En ellas se midió el ancho a intervalos de 1 cm desde la base de las láminas. Para facilitar este análisis estadístico descriptivo se normalizaron tanto los anchos como las distancias desde la base de las láminas, dividiéndolas por el largo total de la lámina.

Para el cálculo teórico del coeficiente  $b_m$  en la sección emergida de hojas en crecimiento se dividió la superficie emergida de la hoja por el producto entre el largo y ancho máximo de la sección emergida. La superficie y el LxA de la parte emergida de la hoja se estimaron a partir de las formas estandarizadas calculadas según el párrafo precedente. El cálculo de la superficie emergida se realizó integrando, a distintas distancias desde el ápice de las láminas, las ecuaciones polinómicas de grado 3 que relacionan el ancho estandarizado con la distancia estandarizada desde la base de la lámina.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tanto las restricciones en la disponibilidad de N y P como el estrés hídrico y la disminución de la radiación incidente redujeron el crecimiento de las plantas en ambos experimentos (Tabla 1). Disminuciones estadísticamente significativas ( $\alpha=0,05$ ) en la producción de biomasa y área foliar pueden observarse en todos los tipos de estrés abiótico aplicados en el experimento I del año 2002. Resultados similares fueron obtenidos en el año 2003 (datos no mostrados).

En el experimento II, si bien se observaron reducciones en la producción de biomasa proporcionales a la intensidad de sombreo, sólo se observó una reducción significativa del área foliar con el sombreo más intenso. La reducción del área foliar en este tratamiento se debió a la menor contribución de los macollos al área foliar total (datos no mostrados).

La relación peso seco del vástago y peso seco de la raíz mostró también los cambios típicos en la partición de biomasa característicos de cada uno de los tipos de estrés abiótico aplicado (Saab *et al.*, 1990; Manfreda *et al.*, 2000; Varga *et al.*, 2002); dicha relación fue mayor en las plantas sombreadas con respecto de las plantas control y se observó un cambio en el sentido opuesto en el resto de los tratamientos de estrés (Tabla 1).

En la Tabla 2 se puede observar que todos los tratamientos de estrés redujeron en forma estadísticamente significativa ( $\alpha=0,05$ ) el área de las hojas de las plantas del experimento I, en un número de hoja distinto según el tratamiento. Este

**Tabla 1:** Efecto de los distintos tipos de estrés sobre el crecimiento de plantas de trigo. Los resultados son promedios de cinco repeticiones. Dentro de cada columna los resultados que comparten una letra no tienen diferencias significativas ( $\alpha=0,05$ ). Los datos corresponden a los 42 y 32 días de la germinación en los experimentos I y II respectivamente. Los datos del experimento I corresponden al año 2002.

Tratamiento	Experimento I			Experimento II		
	Peso seco g/maceta	Área foliar cm <sup>2</sup> /maceta	Vástago/raíz	Peso seco g/maceta	Área foliar cm <sup>2</sup> /maceta	Vástago/raíz
Control	6,10 a	977 a	3,90 b	4,15 a	599 a	2,12 b
Deficiencia N	3,22 b	376 c	2,50 dc			
Deficiencia P	3,27 b	398 bc	1,87 d			
Sequía	3,29 b	365 c	2,87 c			
Sombreo 56%	2,33 b	537 b	5,10 a	2,59 b	609 a	2,75 ab
Sombreo 75%				1,26 c	415 b	5,80 a

**Tabla 2:** Efecto de los distintos tipos de estrés sobre el tamaño y la forma de hojas totalmente expandidas del vástago principal de trigo en el experimento I para el año 2002. Dentro de cada fila, los resultados que comparten una letra no tienen diferencias significativas ( $\alpha=0,05$ ). La numeración de las hojas indica su orden de aparición en el tiempo.

Parámetro	Nº de hoja	Tratamientos				
		Control	-N	-P	Sequía	Sombreo
Área foliar (cm <sup>2</sup> )	1	3,9 a	2,9 a	2,8 a	2,6 a	2,7 a
	2	5,4 a	5,5 a	5,3 a	3,8 b	4,9 a
	3	7,7 a	8,1 a	5,5 bc	5,4 c	6,5 b
	4	15,0 a	8,1 b	4,3 d	6,1 c	8,0 b
	5	15,4 a	5,9 b		5,6 b	
Largo (cm)	1	11,5 a	11,3 a	10,9 a	10,8 a	11,2 a
	2	16,1 b	16,4 b	16,3 b	13,8 c	18,6 a
	3	19,3 a	19,3 a	16,3 b	16,0 b	19,7 a
	4	23,6 a	17,1 c	10,7 d	13,9 e	19,8 b
	5	23,8 a	13,6 b		12,7 b	
Ancho (cm)	1	0,34 a	0,33 a	0,34 a	0,33 a	0,32 a
	2	0,45 a	0,45 a	0,43 a	0,36 b	0,35 b
	3	0,54 a	0,56 a	0,45 b	0,45 b	0,43 b
	4	0,85 a	0,63 b	0,52 c	0,58 b	0,53 bc
	5	0,86 a	0,58 b		0,58 b	
Largo/ancho	1	34,4 a	34,3 a	32,7 a	33,7 a	35,0 a
	2	36,4 b	36,8 b	37,8 b	38,5 b	53,8 a
	3	33,9 b	34,7 b	36,5 b	35,3 b	45,3 a
	4	35,8 a	27,1 b	20,5 c	24,1 b	37,5 a
	5	36,3 a	23,2 a		21,9 a	

resultado puede, en parte, atribuirse al hecho de que mientras los tratamientos de deficiencia de N y P comenzaron desde el transplante, los tratamientos de sequía y sombreado comenzaron 14 días más tarde. Por otro lado, el tratamiento de sombreado afecta inmediatamente el crecimiento de las plantas, mientras que el efecto de los tratamientos de deficiencia de N y P solamente empiezan a manifestarse una vez que las plantas agotan el N y P proveniente de la semilla. El efecto tratamiento de sequía, por su parte, no empieza inmediatamente después de la interrupción del riego sino más tarde, una vez que la evapotranspiración de plantas reduce el potencial agua del suelo en forma significativa.

En el experimento II (datos no mostrados), la aplicación de un sombreado similar al aplicado en el experimento I aumentó significativamente el área

de las hojas totalmente expandidas respecto del control no sombreado, a partir de la hoja número dos. Esta respuesta diferente del área de las hojas frente al mismo sombreado de 56% de interceptación, puede deberse a la menor intensidad efectiva recibida por las plantas con 56% de sombreado en el experimento I ( $2,1 \pm 0,8 \text{ MJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ) comparada con aquella correspondiente al experimento II realizado al aire libre ( $4,6 \pm 1,5 \text{ MJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ). Blackman (1956) informó que en distintas especies herbáceas, tanto mono como dicotiledóneas, la mayor área de cada hoja se obtiene con un 50% de la radiación solar. Es posible que la intensidad de la luz del control del experimento II fuese inhibitoria, mientras que la del control del experimento I y sombreado del experimento II estuviese cerca del óptimo para el crecimiento del área de las hojas.

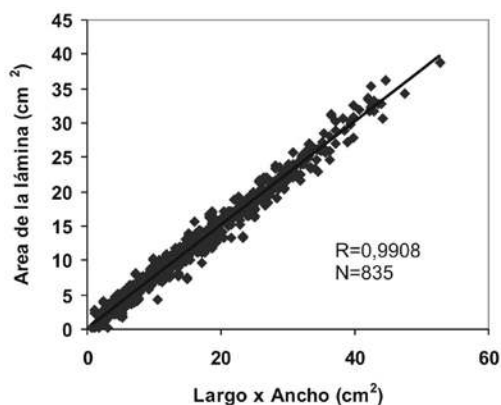
En todos los tipos de estrés aplicados en el ex-

perimento I, con la excepción del sombreado, la reducción del área foliar se debió a una reducción proporcional del largo y del ancho máximo de la lámina respecto de hojas similares en el tratamiento control, sin un cambio importante en la relación largo:ancho de las láminas. En el tratamiento de sombreado, la reducción del área de las hojas se produjo principalmente por una reducción en el ancho máximo, lo que llevó a un aumento estadísticamente significativo de la relación largo:ancho de las láminas.

A partir de los datos presentados en las Tablas 1 y 2 puede concluirse que las plantas sufrieron efectivamente las condiciones de estrés esperadas de los tratamientos aplicados.

Con respecto a la relación entre AF y las dimensiones lineares largo (L) y ancho (A) de la lámina, en cada uno de los tratamientos de los experimentos I y II se observó una correlación lineal estadísticamente significativa entre AF y el producto del largo y el ancho máximo (LxA) de las láminas (datos no mostrados). Esto concuerda con lo encontrado en trigo por otros autores (Rao *et al.*, 1967; Miralles y Slafer, 1991). En la Figura 1 se muestra, a modo de ejemplo, la correlación entre AF y LxA en el tratamiento control. Cuando se incluyeron todas las láminas de las hojas (independientemente de su grado de emergencia de entre las vainas de las hojas anteriores) del tallo principal y los macollos del experimento I de los años 2002 y 2003 se obtuvo un coeficiente de correlación de 0,9908 (N=835).

El análisis de regresión del AF medida en función de LxA, de cada uno de los tratamientos



**Figura 1:** Relación entre el área y el producto entre el largo y el ancho máximo de cada lámina en las plantas de trigo del tratamiento control. En el gráfico se han incluido todas las hojas del vástago principal y macollos del experimento I de los años 2002 y 2003, independientemente de su grado de su grado de desarrollo. R es el coeficiente de correlación.

del experimento I, para los datos conjuntos de ambos años (Tabla 3), mostró que la ordenada al origen (a) no fue diferente de 0 en ninguno de los tratamientos. Un resultado similar se encontró con los distintos niveles de sombreado del experimento II (Tabla 3).

A partir de estos resultados puede afirmarse que el coeficiente de proporcionalidad  $b_m$  para calcular el AF, puede obtenerse como la pendiente de la regresión lineal entre AF y LxA calculada con la ordenada al origen forzada a 0. En la Figura 2a puede observarse que, con la excepción del tratamiento con sombreado, todos los tratamientos mostraron valores similares de  $b_m$ .

Cuando el mismo análisis se realizó para el experimento II se observó un aumento del coeficiente  $b_m$  con el aumento de la intensidad del sombreado (Figura 2b).

Los resultados citados arriba sugieren la posibilidad de usar el coeficiente  $b_m$  correspondiente a las plantas control (0,759) para calcular el área de las hojas de plantas de trigo que sufren deficiencias de N o P o estrés hídrico.

Para probar dicha hipótesis se realizó el análisis de regresión entre las áreas medidas y las áreas calculadas de las hojas, usando la ecuación  $AF=0,759 LxA$  para los tratamientos del experimento I (Figura 3). Para aceptar la hipótesis las pendientes de tratamientos con estrés no deben diferir estadísticamente de 1, ni sus ordenadas al origen de 0. El análisis estadístico mostró que esto fue así tanto en los tratamientos con deficiencias de N y P como en el de sequía.

Por el contrario, cuando se analizó la posibilidad de usar el coeficiente  $b_m$  de los respectivos controles para calcular el AF en los tratamientos con un sombreado de los experimentos I y II, se observó que, si bien las ordenadas al origen de la regresión entre el AF medida y el AF calculada no fueron diferentes estadísticamente de 0, las pendientes difirieron estadísticamente de 1 (Figura 3).

Los resultados mostrados hasta aquí indican que la utilización del coeficiente  $b_m$  del control para calcular el área de la lámina en plantas sombreadas resulta en una subestimación del 2,28 % en el experimento I y del 3,4% y 8,7% para los tratamientos de sombreado con 56% y 75% de intercepción de la luz del experimento II, respectivamente (Figuras 2a, 2b).

Otra forma de calcular el impacto de utilizar el valor del coeficiente  $b_m$  del control para calcular el área foliar de tratamientos con sombreado, en vez de usar su propio  $b_m$ , es comparar el incremento en el cuadrado medio de los desvíos entre los valores

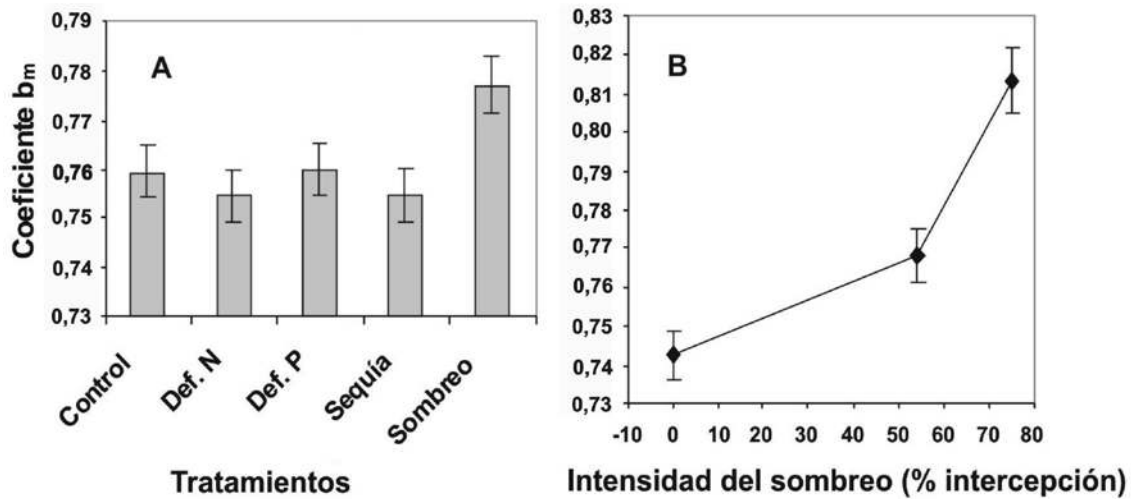


Figura 2: Coeficientes  $b_m$  de la regresión lineal, con  $a = 0$ , entre el producto del largo y el ancho máximo y el área de la lámina, para el experimento I (A) y para el experimento II (B). Las barras representan los límites de confianza para  $\alpha = 0,05$ .

Tabla 3: Análisis de la regresión entre el área medida y el producto del largo y el ancho máximo de cada una de las láminas de las hojas de las plantas de trigo de los experimentos I y II. Los valores de  $a$  y  $b$  están acompañados de sus intervalos de confianza para  $\alpha = 0,05$ . Para el experimento I de agruparon los datos de los años 2002 y 2003.

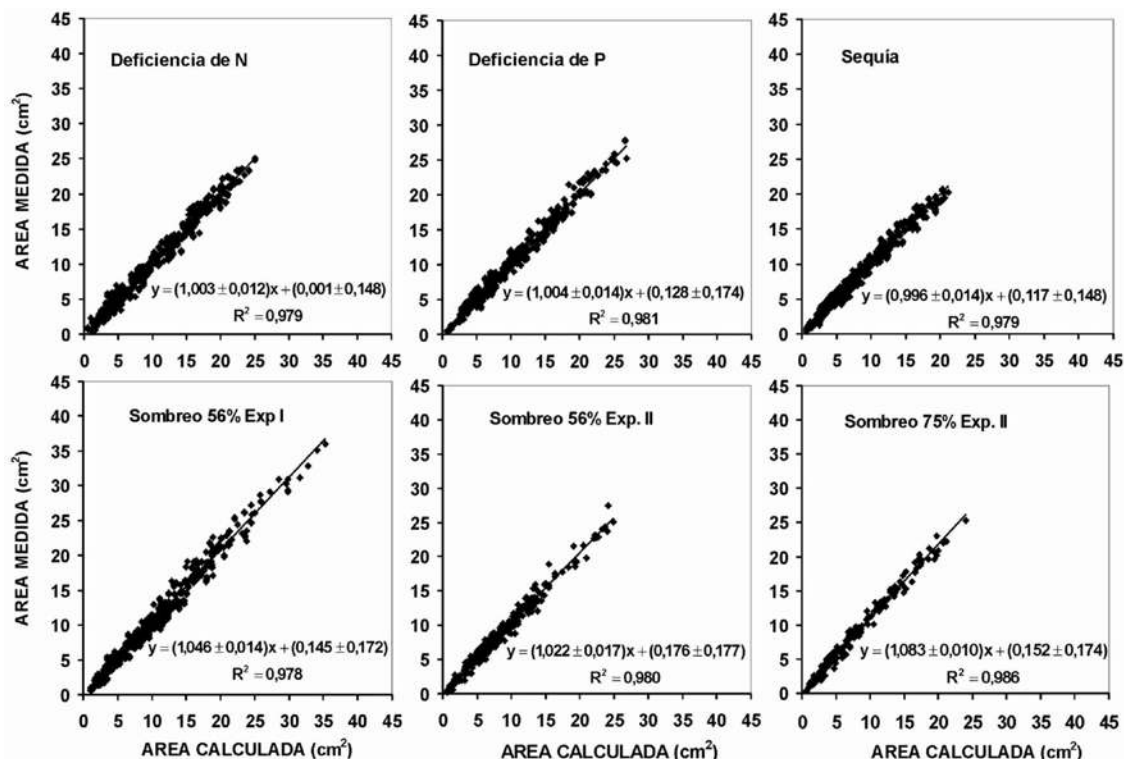
Grupo	Ordenada al origen (a)	Pendiente (b)	R <sup>2</sup>	N
General	0,026 ± 0,070	0,757 ± 0,004	0,981	2611
Exp. I				
Control	0,042 ± 0,139	0,753 ± 0,007	0,981	835
Defic. N	-0,001 ± 0,146	0,752 ± 0,009	0,981	509
Defic. P	0,128 ± 0,174	0,753 ± 0,011	0,981	379
Sequía	0,117 ± 0,148	0,747 ± 0,011	0,979	406
Sombreo	-0,145 ± 0,172	0,785 ± 0,011	0,978	333
Exp. II				
General	-0,046 ± 0,103	0,778 ± 0,008	0,979	700
Control	-0,114 ± 0,133	0,753 ± 0,013	0,979	258
Sombreo 56%	0,152 ± 0,174	0,758 ± 0,013	0,980	267
Sombreo 75%	0,150 ± 0,188	0,804 ± 0,014	0,986	175

calculados y observados. En el experimento I el cuadrado medio de los desvíos aumentó un 8,5%, mientras que en el Experimento II los aumentos fueron 20,7 y 170,5% para los sombreados con 56 y 75% de intercepción respectivamente.

Por otro lado, es importante hacer notar la diferencia en  $b_m$  encontrada entre los tratamientos control de los experimentos I y II (Figura 2a y 2b). Esta diferencia podría atribuirse a las diferentes irradiancias registradas en ambos experimentos (4,7 y 4,5 MJ m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> para los años 2002 y 2003 en el experimento I y 10,4 MJ m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> para el experimento II). En apoyo a esta hipótesis puede observarse que el coeficiente  $b_m$  del tratamiento control del

Experimento I es muy parecido al tratamiento sombreado 56% de intercepción del tratamiento II, el que recibió una irradiancia similar (4,6 MJ m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>). Estos resultados indican claramente que el ambiente lumínico es importante en la determinación de  $b_m$  y pueden explicar en parte las diferencias entre los valores de  $b_m$  observados en este trabajo y los encontrados por otros autores (Rao *et al*, 1967; Miralles y Slafer, 1991).

Además, es interesante analizar en forma teórica qué cambios en la forma de las hojas determinan las variaciones observadas en el coeficiente  $b_m$  entre los tratamientos control y sombreado. Uno de los principales cambios observados en las hojas



**Figura 3:** Regresiones lineales entre las áreas medidas de diferentes tratamientos con estrés y los valores calculados del área de las láminas usando los  $b_m$  correspondientes al tratamiento control. En todos los casos las ordenadas al origen no difirieron estadísticamente de 0 ( $\alpha = 0,05$ ). Las pendientes de los tratamientos sequía y deficiencias de N o P, no fueron estadísticamente diferentes de 1 ( $\alpha = 0,05$ ) y sí lo fueron las correspondientes a los tres tratamientos con sombreado (56 y 75% de intercepción) de los experimentos I y II. Para los tratamientos con estrés del experimento I se utilizó la ecuación  $AF=0,759 Lx A$  y para el experimento II la ecuación  $AF=0,744 Lx A$ .

de plantas sombreadas es el aumento de la relación largo:ancho de las láminas con respecto del tratamiento control (Tabla 2, Figura 5).

Para analizar el efecto que tiene el cambio de la relación largo:ancho de las láminas sobre el coeficiente  $b_m$  se recurrió a una representación geométrica de la hoja de trigo. Se asimiló la forma de la hoja de trigo a la suma de tres formas geométricas: 1) la sección basal a un trapecio, 2) la parte central a un rectángulo y 3) la sección apical a un triángulo (Figura 4). En la Tabla 4 se pueden ver los cambios en la relación largo:ancho (L/A) y el  $b_m$  de las láminas, producidos por una hipotética reducción del ancho o del largo de las láminas. Resulta claro que los cambios en la relación L/A no están asociadas al coeficiente  $b_m$  de las hojas. Además, en la Tabla 4 se puede ver que un aumento del largo relativo de la sección central de forma rectangular aumenta el coeficiente  $b_m$ . Es decir que el coeficiente  $b_m$  será tanto más parecido a 1 cuanto mayor sea el largo de la sección rectangular central (Hr, Figura 4) respecto del largo total de la lámina.

Para verificar si el aumento de  $b_m$  en las hojas sombreadas se debió a un aumento del largo relativo de la sección central, se analizaron las formas estandarizadas de las hojas 2, 3 y 4 de los tratamientos control y sombreado con 75% de intercepción (Figura 5). Puede verse claramente que el sombreado aumentó el largo relativo de la sección rectangular de la lámina (corresponde a Hr en el diagrama de la Figura 4) respecto del largo total de la lámina.

Por otro lado, es interesante tener en cuenta la variabilidad de los valores de  $b_m$  entre las hojas de una misma planta, para valorar en su justa medida la subestimación del área de las hojas de plantas sombreadas cuando se las estima usando el  $b_m$  correspondiente al control. En la Tabla 5 se presentan los valores de  $b_m$  promedio de hojas individuales totalmente expandidas en el vástago principal de plantas correspondientes al tratamiento control del experimento I. Se puede ver que el coeficiente de variabilidad de  $b_m$  disminuye desde 16% en la hoja 1 hasta alrededor de 6% en las hojas 4, 5 y 6, concordando con lo observado



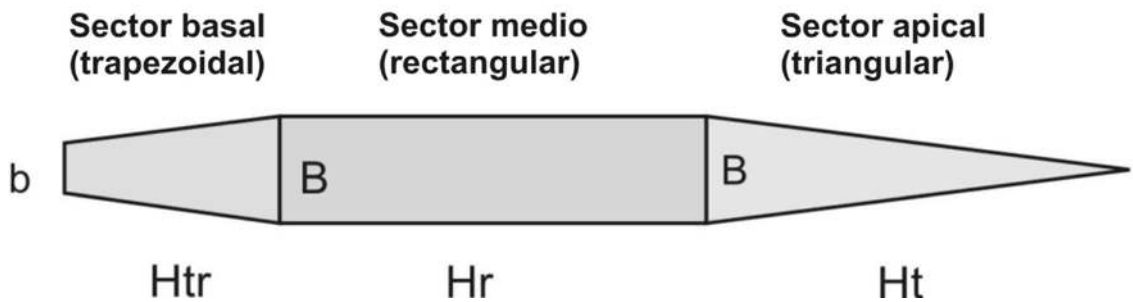
por otros autores (Sestak *et al.*, 1971; Miralles y Slafer, 1991). Por otro lado, la variabilidad entre los promedios de  $b_m$  de las distintas hojas es de 3,43%

Esta alta variabilidad entre las hojas de un

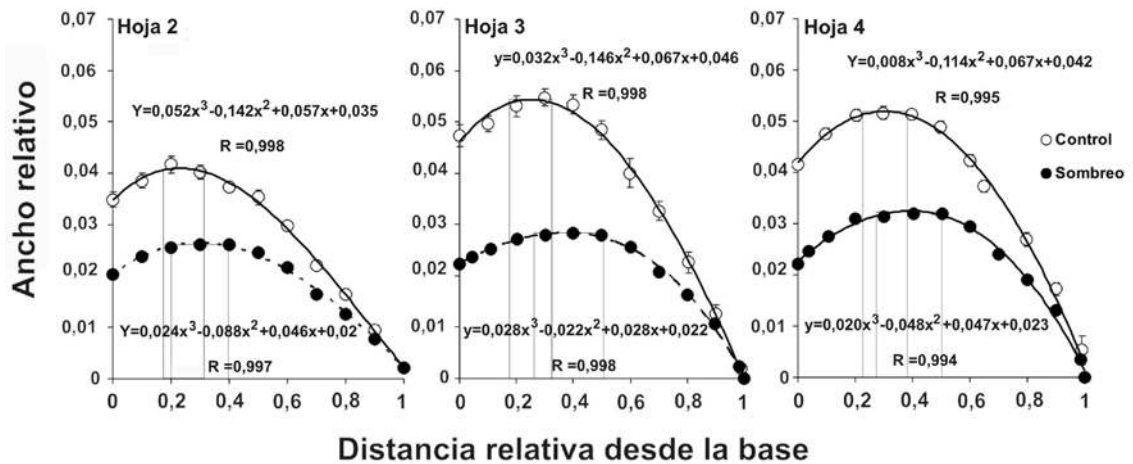
mismo tratamiento, debida probablemente a diferencias en la forma de las hojas y a errores en la determinación del L, A y AF, minimiza el error sistemático de usar el valor  $b_m$  del control para

**Tabla 4:** Dimensiones hipotéticas de los distintos sectores de la lámina de una hoja de trigo y su relación con parámetros de tamaño y forma de la lámina y con el coeficiente  $b_m$  para el cálculo del AF en función del LxA. En cada sector se ha incluido la fórmula para el cálculo del área.

Dimensiones (cm)					L/A	Áreas (cm <sup>2</sup> )			Total	LxA	Coeficiente $b_m$
b	B	Htr	Hr	ht		Sección basal S=(B+b)/2*Htr	Sección media S=B*Hr	Sección apical S=B*Ht/2			
0,5	1	3	4	3	10	2,25	4	1,5	7,75	10	0,775
1	2	3	4	3	5	4,5	8	3	15,5	20	0,775
0,5	1	1,5	2	1,5	5	1,125	2	0,75	3,875	5	0,775
0,5	1	1	8	1	10	0,75	8	0,5	9,25	10	0,925
0,5	1	4	2	4	10	3	2	2	7	10	0,7



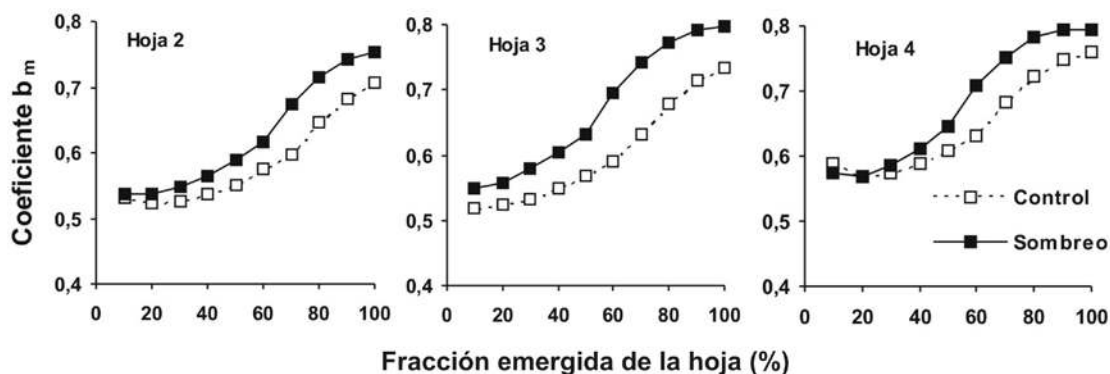
**Figura 4:** Esquema de la forma de una hoja de trigo. La sección basal ha sido asimilada a un trapecio, la central a un rectángulo y la apical a un triángulo. b y B son las bases menor y mayor del trapecio; B es también la base del rectángulo, del triángulo y el ancho máximo de la hoja. Htr, Hr y Ht son las alturas del trapecio, rectángulo y triángulo respectivamente.



**Figura 5:** Representación de la forma de las láminas de las hojas de las plantas del experimento II. Tanto la distancia desde la base como el ancho han sido estandarizados dividiendo por el largo de cada lámina. Los valores son promedios de 10 repeticiones para la hoja 2 y de 15 para la 3 y la 4. Las barras representan los errores estándar. El tratamiento control corresponde al 100% de la radiación solar incidente y el de sombreado al 75% de intercepción. Las ecuaciones en la parte superior de las figuras corresponden al tratamiento control.

**Tabla 5:** Variación del coeficiente  $b_m$  en distintas hojas de trigo totalmente expandidas, pertenecientes al vástago principal de plantas control del experimento I año 2002. Los valores de  $b_m$  son promedios y están acompañados de su coeficiente de variabilidad (CV) y el número de repeticiones. La numeración de las hojas indica su orden de aparición en el tiempo.

	Hoja número					
$b_m$	1	2	3	4	5	6
CV %	16,4	9,2	7,3	6,1	5,9	6,0
N	22	28	29	28	27	17



**Figura 6:** Cambios del coeficiente  $b_m$  para estimar el área de la lámina de la hoja de trigo durante la emergencia. El coeficiente  $b_m$  se calculó como el cociente entre el área y el LxA del sector emergido de la lámina. El área emergida de la lámina se calculó integrando a distintas distancias del ápice foliar las ecuaciones polinómicas de la Figura 5. Los datos para realizar los cálculos corresponden al experimento II. El tratamiento control corresponde al 100% de la radiación solar incidente y el de sombreado al 75% de intercepción.

calcular el área foliar en plantas sombreadas con una intercepción de 56% o menor.

Finalmente, teniendo en cuenta que las láminas de las hojas emergen progresivamente por dentro de las vainas de las hojas precedentes, se puede pensar que cuando se estima el área visible de hojas en crecimiento usando un  $b_m$  general, se comete un error derivado de la ausencia total o parcial de los sectores basales de la lámina, lo que determina que la forma de la parte emergida de la lámina no sea igual a la de la lámina entera.

Sobre la base de los ecuaciones de la Figura 5, e integrando la función polinómica correspondiente a cada hoja, se pueden calcular los coeficientes  $b_m$  de las porciones emergidas de las hojas en crecimiento como el cociente entre el AF y el LxA de porción emergida. En la Figura 6 se puede observar que el coeficiente  $b_m$  aumenta en función del porcentaje emergido de la lámina de la hoja. Además, cuando solamente la sección apical de forma triangular emergió entre las vainas, el uso de un coeficiente de 0,742 para las plantas control y 0,813 para las sombreadas sobrestima claramente el área de las hojas en crecimiento. A partir del comienzo de la emergencia del sector rectangular la sobreestimación va disminuyendo

progresivamente según avanza la extensión de la lámina foliar.

Si bien las estimaciones realizadas en el párrafo precedente se realizaron con ecuaciones obtenidas en hojas totalmente expandidas, éstas tienen validez debido a que los anchos en la parte emergida de las láminas en crecimiento no difieren estadísticamente de aquellos medidos, a distancias semejantes desde el ápice, en las mismas hojas totalmente expandidas (datos no mostrados). Esto último concuerda con lo reportado por Dale (1988).

## CONCLUSIONES

El coeficiente  $b_m$  de las plantas sin estrés abiótico puede usarse para estimar el área de las láminas (AF) de las hojas de trigo a partir del producto entre el largo y ancho máximo (LxA), tanto en plantas deficientes en N y P como en aquellas que sufren estrés hídrico.

El coeficiente  $b_m$  de plantas control usado para calcular el AF de plantas sombreadas produce una subestimación del área foliar y dicha subestimación aumenta con la intensidad del sombreado.

El incremento en el coeficiente  $b_m$  en plantas sombreadas se debe a un aumento del largo

relativo de la sección media de la lámina, de forma aproximadamente rectangular, respecto del largo total.

En un mismo tratamiento los errores en la determinación del área de las láminas a partir del producto  $L \times A$  se originan en: a) la variabilidad de  $b_m$  entre hojas de un mismo nudo b) la variabilidad de  $b_m$  entre hojas de distintos nudos y c) a la variabilidad de  $b_m$  en sección emergida de hojas en expansión.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abbate, P.E.; F.H. Andrade and J.P. Culot, 1995. The effects of radiation and nitrogen on number of grains in wheat. *J. Agric. Sci. Camb.* 124:351-360.
- Blackman, N.K., 1956. Influence on light and temperature on leaf growth. In: Milthorpe, F.L., ed. *The growth of leaves*. Butterworth's Scientific Publications, London, pp. 151-169.
- Bray, R.H. and L. Kurtz, 1945. Determination of total, organic and available phosphorus in soils. *Soil Sci.* 59:39-45.
- Dale, J.E., 1988. The control of leaf expansion. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 39:267-295
- Eastham, J.M.; D.M. Oosterhuis and S. Walker, 1984. Leaf water and turgor potential threshold values for leaf growth of wheat. *Agron. J.* 76:841-847.
- Fischer, R.A., 1985. Number of kernels in wheat crops and the influence of solar radiation and temperature. *J. Agric. Sci. Camb.* 105:447-461.
- Kemp, D.R., 1980. The growth rate of successive leaves of wheat plants in relation to sugar and protein concentrations in the extension zone. *J. Exp. Bot.* 31: 1399-1499
- Manfreda, V.T.; D.H. Cogliatti y J.A. Cardozo, 2000. Efectos de la deficiencia de P y sombreado sobre la localización de la biomasa y la absorción de aniones en plantas de trigo. XXIII Reunión Argentina de Fisiología Vegetal. Río Cuarto, Córdoba. 29 de nov. al 1 de dic. 2000, pp. 342-343
- Miralles, D.J. and G.A. Slafer, 1991. A simple model for non-destructive estimates of leaf area in wheat. *Cereal Res. Comm.* 19(4): 439-444.
- Monteith, J.L., 1977. Climate and the efficiency of crop production in Britain. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 281:277-294.
- Rao, Y.Y.; R.S. Rao; M.T.S. Reddy; M.K. Ahmed and K.R. Reddy, 1967. A constant for calculating leaf area of mexican dwarf wheats. *Indian J. Sci. & Indust.* 1(3):151-153.
- Rodríguez, D.; F.H. Andrade and J. Goudriaan, 2000. Does assimilate supply limit leaf expansion in wheat grown in the field under low phosphorus availability? *Field Crop Res.* 67(3):227-238
- Saab, I.N.; R.E. Sharp; J. Pritchard and G.S. Voetberg, 1990. Increased endogenous abscisic acid maintains primary root growth and inhibits shoot growth of maize seedlings at low water potentials. *Plant Physiol.* 93:1329-1336
- Sastre Vázquez, P.; G. Rey; C. Boubée y A. M. Piazza, 2002. Determinación del área foliar en plantas de trigo. Actas VII Reunión Nacional DOMEFA (Docentes de Matemática en Fac. de Agronomía, Forestales y Afines de la República Argentina). Catamarca, 18 al 20 de septiembre 2002. Trabajo completo en versión electrónica. (CD: ISBN N° 950-746-070-5).
- Sestak, Z.; J. Catsky and P.G. Jarvis, 1971. *Plant Photosynthetic Production*. Dr. W. Junk. N. V. Publishers, The Hague. 589 pp.
- Steel, R.G.D. y J.H. Torrie, 1993. Análisis de covarianza. In *Bioestadística: Principios y procedimientos*. 2da. Edición. Ed. Mc Grow-Hill/ Interamericana de México S.A., pp 392-427.
- Varga, P.; K. Sárdi and I. Béres, 2002. Effect of N imbalances on shoot and root growth of corn and veletleaf. *Acta Biologica Szegediensis* 465(3-4):213-214. <http://www.sci.u-sveged.hu/ABS>
- Zadoks J.C.; T.T. Chang and C.F. Konzak, 1974. A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Res.* 14:415-421.