

TESI DOCTORAL

**EFFECTES COMPENSATORIS ENTRE ARRELS D'UNA MATEIXA
PLANTA DE GIRA-SOL SOTMESA A ESTRÈS**

Josep Ignasi Benet i Pifarré

Barcelona, setembre de 2006



Universitat de Barcelona
Facultat de Biologia
Departament de Biologia Vegetal
Unitat de Fisiologia Vegetal

Títol: Efectes compensatoris entre arrels d'una mateixa planta de gira-sol sotmesa a estrès

Programa de Doctorat: La fisiologia de les plantes i l'ambient,
(bienni 1991-93)

Memòria presentada per: Josep Ignasi Benet i Pifarré,
per optar al Grau de Doctor per la Universitat de Barcelona

Vist-i-plau dels directors: Dr. Luis Tapia Fernández

Dr. Salvador Nogués Mestre

Dr. Jaume Casadesús Brugués

Barcelona, setembre de 2006

AGRAÏMENTS

En primer lloc vull agrair l'oportunitat que el *Dr. Luis Tapia* de la Universitat de Barcelona em va donar per dur a terme aquesta Tesi Doctoral, així com la formació i experiència adquirida durant el desenvolupament de la mateixa, tant a nivell professional com en el personal. També, les més sinceres gràcies a la *Dra. Dolors Sant* per la seva permanent disposició a ajudar-me.

Als companys de tesi, en *Francisco García* i molt especialment a en *Jaume Casadesús* pel seu constant suport, la seva amistat i el seu ajut en tot moment que ha fet que codirigís la present memòria i sense el qual no hagués estat possible finalitzar-la amb èxit. També a en *Salvador Nogués*, company de Departament, que s'ha integrat en la part final de la tesi com a codirector i sense el qual tampoc hagués estat possible concloure amb èxit. Gràcies de veritat a tots dos.

A l'amic *Jordi Farré* per la correcció ortogràfica de la present memòria. Als companys del Departament de Biologia Vegetal, Unitat de Fisiologia, per la seva paciència i amistat, especialment a *Teo Amaro*, *Xavi Aranda* i *Jordi Bort*.

En el desenvolupament experimental han estat indispensables: el *Servei de Camps Experimentals* i els *Serveis Científico-Tècnics* de la UB de Barcelona. El primer pel que fa a l'aportació de les cambres de cultiu en condicions controlades, així com en el suport, en especial del seu director i amic, en *Ricardo Simonneau* i del tècnic *Josep Matas*. Del segon pel que fa a les diferents tècniques analítiques emprades, d'entre les quals cal agrair al Servei de Cromatografia, encapçalat per *Isidre Casals*, així com a la resta de components pel gran nombre de mostres analitzades, la *Pilar*, *Rosa M. Marimon* i *Eva Aracil*. També vull esmentar el Servei d'ICP i concretament a *Elionor Pelfort* i *Eva Pelegrí*. I finalment l'agraïment al Servei d'IMAT i a l'ajuda d'*Alex del Giorgio*.

La dedicació plena durant el desenvolupament de la part experimental de la present memòria ha estat possible gràcies al suport econòmic de la *'Dirección General de Investigación Científica y Enseñanza Superior'* dins del marc del

Programa Nacional de Formació de Personal Investigador del Pla Nacional d'Investigació Científica i Desenvolupament Tecnològic. Així mateix una part del treball experimental ha estat possible gràcies a un ajut a projectes d'iniciació a la recerca finançat per la *CIRIT de la Generalitat de Catalunya*.

Les llavors de les diferents varietats de plantes de gira-sol van ser subministrades per Borges d'Indústries Pont (Tàrrrega, Lleida).

I finalment, als meus pares (*M. Carme i Joan U*), germans (*Núria i Francesc Xavier*) i de manera molt especial a la meva dona, *M. Carme Pons*, sense la qual res de tota aquesta memòria hagués estat possible.

El present treball està dedicat a Luis, als meus pares i germans i en especial a la meva dona.

A tots vosaltres, gràcies.

TAULA DE CONTINGUTS

INTRODUCCIÓ	1
1. Interacció entre el sistema radical i la part aèria	3
1.1. L'arrel, un òrgan complex	3
1.2. Absorció i transport d'aigua i ions en les arrels	3
1.3. Càrrega xilemàtica	5
1.4. Flux de soluts via floema cap a l'arrel.....	7
1.5. Respiració radical	9
1.6. Modulació de l'activitat de l'arrel	11
2. Respostes de les plantes enfront a estrès radical	13
2.1. L'estrès a les plantes	13
2.2. Respostes generals de les plantes a situacions d'estrès radical	13
2.3. Respostes a l'estrès hídric.....	14
2.4. Respostes al fred radical	16
2.5. Respostes al dèficit de NO_3^-	17
2.6. Respostes al dèficit iònic	19
2.7. Heterogeneïtat del medi radical.....	21
3. Objectius	23
MATERIAL I MÈTODES	25
1. Material vegetal.....	27
2. Descripció general dels experiments	29
3. Condicions de cultiu	30
3.1. La tècnica de l'“split-root”	30
3.2. Condicions de cultiu	31
3.2.1. Condicions de cultiu de tres varietats de gira-sol en hidropònic	31
3.2.2. Condicions de cultiu del cv. Solmax en hidropònic líquid	32
3.2.3. Condicions de cultiu del cv. Solmax en hidropònic en sorra de quars	33
4. Cambres de mesura del bescanvi de gasos a nivell de planta sencera.....	34
5. Condicions particulars de cada experiment	39
5.1. Condicions experimentals en hidropònic líquid	39

5.2. Condicions experimentals en hidropònic en sorra de quars	41
6. Mètodes de mesura.....	42
6.1. Absorció iònica en hidropònic líquid	42
6.2. Absorció iònica en hidropònic en sorra de quars	42
6.3. Secreció iònica al xilema	43
6.4. Anàlisi química de l'exudat.....	43
6.5. Mesura del potencial hídric (Ψ)	44
6.6. Àrea foliar, pes i àrea específics foliars	44
6.7. Estadística.....	45
RESULTATS	47
1. Respostes a l'estrès hídric en tres varietats de gira-sol.....	49
1.1. Paràmetres de creixement	49
1.2. Intercanvi de gasos.....	49
1.3. Respiració radical.....	53
1.4. Efecte de la disponibilitat de nutrients sobre la respiració radical.....	55
2. Respostes a l'estrès hídric, fred radical, dèficit de NO_3^- i d'ions en cv. Solmax.....	57
EXPERIMENT 1: respostes a l'estrès hídric i fred radical	57
2.1. Intercanvi de gasos.....	57
2.2. Respiració radical.....	59
2.3. Absorció d'aigua i d'ions	61
EXPERIMENT 2: respostes a l'estrès hídric, dèficit de NO_3^- i d'ions.....	69
2.4. Intercanvi de gasos.....	69
2.5. Respiració radical.....	70
2.6. Absorció d'aigua i d'ions	73
2.7. Potencial hídric foliar (Ψ_L).....	82
2.8. Secreció iònica al xilema	83
3. Respostes a l'estrès hídric, dèficit de NO_3^- i d'ions en cv. Solmax en quars.....	89
3.1. Intercanvi de gasos.....	89
3.2. Respiració radical.....	90
3.3. Absorció d'aigua	92
3.4. Potencial hídric foliar (Ψ_L).....	93

DISCUSSIÓ	95
1. Bescanvi de gasos de la part aèria	98
1.1. Característiques del bescanvi de gasos foliar i com s'afecta pels estressos	98
1.2. Comunicació arrel-part aèria	101
2. Relacions hídriques	106
2.1. Estat hídric	106
2.2. Redistribució de l'absorció d'aigua	107
3. Activitat de l'arrel.....	112
3.1. Respiració radical	112
3.2. Absorció d'ions.....	118
3.3. Efecte compensatori en l'absorció de NO_3^- i K^+	119
3.4. Absorció de P.....	124
3.5. Absorció d'altres ions (Ca^{2+} , Mg^{2+} , SO_4^{2-}).....	126
3.6. Càrrega xilemàtica	128
CONCLUSIONS	131
BIBLIOGRAFIA	135

ÍNDIX DE GRÀFICS I TAULES

GRÀFICS I FIGURES

Figura 1. Morfologia dels estomes observada al MES	27
Figura 2. Morfologia dels vasos xilemàtics observada al MES	28
Figura 3. Detall de les tècniques de cultiu aplicades al cv. Solmax	31
Figura 4. Detall de l'interior de les cambres de mesura	34
Figura 5. Esquema complet de les cambres de mesura	36
Figura 6. Esquema de les mesures d'intercanvi de gasos en les cambres de mesura.....	37
Figura 7. Disseny experimental el dia de mesures	39
Figura 8. Tècnica de cultiu en sorra de quars	41
Figura 9. Recol·lecció de l'exudat de gira-sol directament en tubs eppendorf.....	43
Figura 10. Mesura del potencial hídric amb la cambra de pressió Scholander	44
Figura 11. Pn en resposta a estrès hídric (cv. Solmax)	50
Figura 12. Pn en resposta a estrès hídric (cv. Enano)	50
Figura 13. Pn en resposta a estrès hídric (cv. Tesoro)	51
Figura 14. E en resposta a estrès hídric (cv. Solmax).....	51
Figura 15. E en resposta a estrès hídric (cv. Enano).....	52
Figura 16. E en resposta a estrès hídric (cv. Tesoro)	52
Figura 17. Respiració radical en resposta a estrès hídric (cv Solmax)	53
Figura 18. Respiració radical en resposta a estrès hídric (cv Enano)	54
Figura 19. Respiració radical en resposta a estrès hídric (cv Tesoro).....	55
Figura 20. Efecte de l'esgotament de K^+ i NO_3^- en la respiració radical.....	56
Figura 21. Pn en resposta a estrès hídric i fred radical.....	57
Figura 22. E en resposta a estrès hídric i fred radical.....	58
Figura 23. Respiració radical en resposta a estrès hídric i fred radical	60

Figura 24. Absorció d'aigua en resposta a estrès hídric i fred radical	62
Figura 25. Absorció de K^+ en resposta a estrès hídric i fred radical.....	64
Figura 26. Absorció de NO_3^- en resposta a estrès hídric i fred radical	65
Figura 27. Correlació entre el % canvi d'absorció d'aigua i % d'arrel afectada	68
Figura 28. Pn en resposta a estrès hídric, dèficit de NO_3^- i ions	69
Figura 29. E en resposta a estrès hídric, dèficit de NO_3^- i ions	70
Figura 30. Respiració radical en resposta a estrès hídric, dèficit de NO_3^- i ions.....	71
Figura 31. Absorció d'aigua en resposta a estrès hídric, dèficit de NO_3^- i ions	73
Figura 32. Absorció de K^+ en resposta a estrès hídric, dèficit de NO_3^- i ions.....	75
Figura 33. Absorció de NO_3^- en resposta a estrès hídric, dèficit de NO_3^- i ions	77
Figura 34. Absorció de Ca^{2+} en resposta a estrès hídric, dèficit de NO_3^- i ions	78
Figura 35. Absorció de Mg^{2+} en resposta a estrès hídric, dèficit de NO_3^- i ions.....	79
Figura 36. Absorció de P en resposta a estrès hídric, dèficit de NO_3^- i ions	80
Figura 37. Absorció de SO_4^{2-} en resposta a estrès hídric, dèficit de NO_3^- i ions	81
Figura 38. Ψ_L en resposta a estrès hídric, dèficit de NO_3^- i ions.....	82
Figura 39. Exudació radical en resposta a estrès hídric, dèficit de NO_3^- i ions.....	83
Figura 40. Secreció d'ions al xilema en resposta a estrès hídric, dèficit de NO_3^- i ions	86
Figura 41. Pn en resposta a estrès hídric, dèficit de NO_3^- i ions (quars).....	89
Figura 42. E en resposta a estrès hídric, dèficit de NO_3^- i ions (quars).....	90
Figura 43. Respiració radical en resposta a estrès hídric, dèficit de NO_3^- i ions (quars).....	91
Figura 44. Absorció d'aigua en resposta a estrès hídric, dèficit de NO_3^- i ions (quars).....	92
Figura 45. Ψ en resposta a estrès hídric, dèficit de NO_3^- i ions (quars)	93
Figura 46. Relació entre absorció d'aigua i pes sec d'arrel.....	109
Figura 47. Relació entre respiració radical i pes sec d'arrel.....	113

TAULES

Taula 1. Paràmetres foliars de tres varietats de gira-sol.....	49
Taula 2. Efecte de l'estrès hídric i fred radical en la Pn de planta sencera	58
Taula 3. Efecte de l'estrès hídric i fred radical en la E de planta sencera	59
Taula 4. % de respiració radical respecte al valor anterior a l'aplicació de l'estrès	61
Taula 5. % d'absorció d'H ₂ O respecte el valor anterior a l'aplicació de l'estrès	63
Taula 6. % d'absorció de K ⁺ respecte el valor anterior a l'aplicació de l'estrès	64
Taula 7. % d'absorció de NO ₃ ⁻ respecte el valor anterior a l'aplicació de l'estrès.....	66
Taula 8. % de respiració radical respecte el valor anterior a l'aplicació de l'estrès	72
Taula 9. % d'absorció d'H ₂ O respecte el valor anterior a l'aplicació de l'estrès	74
Taula 10. % d'absorció de K ⁺ respecte el valor anterior a l'aplicació de l'estrès	76
Taula 11. % d'absorció de NO ₃ ⁻ respecte el valor anterior a l'aplicació de l'estrès.....	78
Taula 12. % d'absorció de P respecte el valor anterior a l'aplicació de l'estrès	80
Taula 13. Efecte dels diferents estressos en el potencial hídric del brot	82
Taula 14. Efecte dels diferents estressos en la taxa d'exudació radical	84
Taula 15. Efecte dels diferents estressos en la taxa de secreció d'ions al xilema	87
Taula 16. Efecte dels diferents estressos en el potencial hídric del brot (quars)	94

ABREVIACIONS EMPRADES

AA	= Aminoàcids
ABA	= Àcid abcísic
CKs	= Citocinines
DPPV	= Dèficit de pressió parcial de vapor
E	= Transpiració
Gs	= Conductància estomàtica
HPLC	= Cromatografia líquida d'alta pressió
HR	= Humitat relativa
ICP-AES	= Plasma d'inducció acoplada-emissió atòmica espectromètrica
MES	= Microscopia electrònica d'escàner
NAF	= Part radical (no afectada) complementària a l'afectada per l'estrès
NLPH	= Unitats de flux d'aire (litres per hora en condicions normals)
PAR	= Radiació fotosintèticament activa
Pn	= Fotosíntesi neta
PS	= Pes sec
Q ₁₀	= Canvi en la respiració per cada 10 °C d'augment en la temperatura
s.e.	= Error estàndard de la mitjana
SLA	= Àrea específica foliar
SLW	= Pes específic foliar
Ψ	= Potencial hídric
Ψ _L	= Potencial hídric foliar

INTRODUCCIÓ

1. Interacció entre el sistema radical i la part aèria

1.1. L'arrel, un òrgan complex

L'arrel és l'òrgan de les plantes encarregat de subjectar-les i de l'absorció d'aigua i nutrients minerals del sòl. Aquesta absorció es dona majoritàriament per sobre de les zones de divisió i d'elongació cel·lulars més apicals, normalment mitjançant els pèls radicals que incrementen considerablement la superfície d'absorció de l'arrel. També la presència de micorrices, associació de les arrels amb fongs, és un mecanisme per incrementar l'absorció d'aigua i els nutrients del sòl, especialment fosfats (McCully 1995).

Tret de l'assimilació del carboni (fotosíntesi) i parcialment de l'oxigen, la resta d'elements essencials són captats del sòl per la planta a través del seu sistema radical (absorció d'aigua i ions). Aquesta absorció, així com els mecanismes implicats en aquest fet, depèn de diversos elements: disponibilitats dels nutrients en el sòl i el seu caràcter selectiu de permeabilitat, característiques funcionals i de potencials de membrana, aportació energètica pels mecanismes d'absorció activa, entre altres.

1.2. Absorció i transport d'aigua i ions en les arrels

L'anatomia i fisiologia de l'arrel varia al llarg del seu eix longitudinal. En general l'absorció iònica i d'aigua disminueix conforme augmenta la distància des de l'àpex radical. L'absorció de K^+ és una mica inferior en la zona apical, tot i l'alta demanda d'aquest ió pel creixement d'aquesta zona (Huang i Van Steveninck 1989). Endemés el K^+ és aportat a aquesta zona apical via floema des de zones basals de l'arrel i des de la part aèria. En contrast al K^+ l'absorció de Mg^{2+} i Ca^{2+} és més elevada en la zona apical que la basal (Häussling i col. 1988) ja que es necessita no tan sols pel creixement de l'arrel en aquesta zona sinó endemés per ser transportat a la part aèria (Clarckson 1984). L'absorció de P també disminueix conforme s'allunya de la zona apical, probablement a causa de la disminució de la viabilitat de pèls radicals i per tant de la superfície d'absorció (Ernst i col. 1989). Les zones apicals de l'arrel tenen taxes respiratòries més elevades (Thomson i col. 1989) que cauen ràpidament quan

-4- Introducció

s'interromp l'aportació de carbohidrats des de la part aèria cap a l'arrel (Brouquisse i col. 1991). L'activitat de l'enzim nitrata redueix també és més elevada en les zones apicals de l'arrel (Granato i Raper 1989) així com l'absorció de K^+/Na^+ (Jeschke i Stelter 1976).

S'ha observat que la rizodermis i el còrtex cel·lular en les zones basals (més velles) col·lapsen i moren (Lascaris i Deacon 1991ab) i això aniria correlacionat amb el detriment en l'absorció d'aigua i nutrients en les zones radicals més velles. També s'ha observat en les zones basals la formació d'espais gasosos (aerènquima) quan hi ha dèficit de nitrogen i fòsfor (He i col. 1992). L'absorció d'aigua és major en les zones apicals disminuint cap a les zones basals on es formen capes de suberina en la rizodermis i endodermis, constituint-se en una barrera al flux d'aigua i soluts (Sanderson 1983, Häussling i col. 1988).

Hi ha diverses característiques físico-químiques que afecten a l'absorció i transport iònics a través de les membranes com ara el diàmetre i valència iònics i l'activitat metabòlica, entre d'altres. L'absorció de cations és menys afectada per la temperatura que les reaccions químiques on increments de 10 °C impliquen normalment un $Q_{10}=2$.

Les temperatures radicals baixes afecten l'absorció de nutrients de manera diferent. L'absorció de fòsfor a baixes temperatures radicals es veu molt afectada (Engels i Marschner 1992). L'absorció de nitrata es veu més afectada per les baixes temperatures que l'absorció d'amoní (Tachibana 1987, Glass 2003) i així es redueix la demanda de nitrogen. Comparat amb el calci i magnesi, l'absorció de potassi es veu més afectada per les baixes temperatures (Miyasaka i Grunes 1990). Una disminució forta de la temperatura radical disminueix el creixement radical i s'acumula N i K^+ en les arrels, reduint-se la circulació d'aquests ions (Engels i Kirkby 2001).

El transport d'aigua i ions a través de l'arrel des del còrtex fins l'estela té dos possibles camins: via apoplast (a través de les parets cel·lulars i els espais intercel·lulars) i via simplast (a través dels plasmodemes en els espais entre les

cèl·lules). No és possible generalitzar sobre la importància d'una via respecte l'altra en el transport d'aigua i ions en el còrtex radical. Aquesta dependria de:

- la concentració externa en comparació a la capacitat i afinitat dels sistemes de transport a través de la membrana plasmàtica per cada ió,
- la zona radical considerada que depèn del rati de creixement de l'arrel on es donarien cèl·lules de pas en la capa de l'exodermis (Perumalla i Peterson 1986, Storey i Walker 1987) i
- la conductivitat hidràulica de la zona radical considerada i la taxa de transpiració.

El transport de l'aigua per la via apoplàstica varia molt, de l'1% fins al 98% (Hanson i col. 1985, Zhu i Steudle 1991). Pels ions, en general la via apoplàstica seria més important en les zones basals per la penetració de les arrels laterals a través del còrtex fins l'estela, sobretot pel transport del Ca^{2+} i aigua (Häussling i col. 1988, Wang i col. 1991). Aquesta via de transport seria especialment rellevant per subministrar aigua a la part aèria en altes taxes de transpiració (Sanderson 1983). La via apoplàstica es veu limitada per la banda de Caspari, la suberització de la rizodermis i la formació d'exodermis que serien barreres efectives al transport d'aigua i ions.

Pel transport d'ions la via simplàstica representa un paper important. El transport radial a través del simplast de cèl·lula a cèl·lula a través dels ponts (plasmodesmes) representa un altre mecanisme de control intern dels fluxos iònics i de la comunicació entre cèl·lules (Pitman i col. 1981). La via simplàstica es veu limitada pel bloqueig dels plasmodesmes per una disminució de la conductivitat hidràulica que es dona en deficiència de fòsfor i nitrogen (Radin i Mathews 1989).

1.3. Càrrega xilemàtica

Després del transport radial d'ions fins l'estela, la majoria d'ions i soluts són transferits al xilema. Es postulen diferents explicacions per la càrrega xilemàtica. Una possibilitat seria per gradient electroquímic des del simplast al

-6- Introducció

xilema (Bowling 1981). Mitjançant bombes de protons depenents de la respiració, situades en la membrana plasmàtica de les cèl·lules del parènquima, que secretarien protons i per cotransport d'anions al xilema acidificant-lo, reabsorbint cations per antiport (DeBoer i col. 1983, Mizuno i col. 1985). Les vàlvules de malat exportarien l'excés de poder reductor NAD(P)H necessaris en la fotosíntesi, en les parts lumíniques de la planta, mentre que en les parts fosques subministrarien l'energia necessària per la respiració proveint els esquelets de carboni necessaris per la fixació de nitrogen (Schulze i col. 2002, Scheibe 2004).

Independentment dels diferents mecanismes que es postulen, el que sembla clar és que la càrrega iònica del xilema és un procés separat de l'absorció iònica en les cèl·lules corticals. Aquesta separació permet un control selectiu del transport a la part aèria en funció de la demanda de la mateixa. En aquest sentit té preferència la càrrega xilemàtica de nitrat en comparació a l'aminoàcid glutamina, regulant el repartiment de les formes de N entre arrel/part aèria (Schobert i Komor 1990). Inhibidors selectius de la síntesi proteica impedeixen la càrrega xilemàtica del potassi sense afectar-ne l'absorció i acumulació en les arrels (Läuchli i col. 1978, Morgan i col. 1985).

La permeabilitat de les membranes és més gran a l'aigua que als ions. L'alliberament iònic a l'apoplast disminueix el potencial osmòtic i el potencial hídric i per tant s'indueix un flux net d'aigua des del medi exterior. Aquest flux hídric augmenta la pressió hidrostàtica. Aquesta pressió radical i el flux d'exudació radical en el xilema són de vital importància en el transport iònic a llarga distància. Aquest flux d'exudació radical i la composició de l'exudat xilemàtic donen informació sobre els factors externs i interns que influencien en l'activitat metabòlica de l'arrel, l'absorció iònica, l'assimilació en les arrels, la càrrega xilemàtica i el cicle dels nutrients i soluts orgànics en la planta.

Incrementos en la temperatura radical tenen un major efecte en el volum d'exudat que en la concentració iònica del mateix. Augmentant la temperatura radical s'incrementa la concentració de potassi en l'exudat, disminueix la de

calci i es posa de manifest la importància de la via apoplàstica pel transport radial de calci i aigua (Engels i col. 1992).

El dèficit d'aigua en parts del sistema radical provoca una disminució en l'absorció de K^+ , en contrast a l'absorció de P que no es veu influenciada. Quan s'analitza la concentració d'ambdós ions en l'exudat xilemàtic s'observa que n'augmenta la concentració, especialment la de P (Liebersbach i col. 2004).

La taxa de concentració iònica en el xilema i els corresponents canvis en la pressió radical estan relacionats amb la respiració radical, el manteniment del balanç entre cations/anions en el xilema (Allen i col. 1988, Findenegg i col. 1989), els nivells de carbohidrats i diferents ions en la part aèria (Shane i col. 2003) i els efectes hormonals com per exemple l'ABA en els ritmes diaris (Fournier i col. 1987) entre altres.

1.4. Flux de soluts via floema cap a l'arrel

La composició del floema és especialment rica en sucrosa, aminoàcids, com glutamina i asparragina, mentre que és molt baixa en nitrats i amoni (Van Beusichem i col. 1988). Àcids orgànics en forma aniònica com el citrat i malat, vitamines, hormones, proteïnes i ATP també són abundants en els exudats floemàtics (Jeschke i col. 1986). Amb l'excepció del Ca^{2+} , la concentració de soluts com el K^+ , P, Mg^{2+} i S en l'exudat floemàtic és més gran que en l'exudat xilemàtic (Jeschke i col. 1986, Van Beusichem i col. 1988).

Es donen transferències de soluts orgànics i inorgànics com ara K^+ i AAs (Haeder i Beringer 1984 ab, Da Silva i Shelp 1990) del xilema cap al floema al llarg de tot l'eix arrel-part aèria, de manera important en la tija (McNeil 1980, Van Bel 1984) a través de cèl·lules de transferència (Kuo i col. 1980, Jeschke i Pate 1991). Aquesta transferència està influenciada per la taxa de transpiració de la part aèria (Van Bel 1984). El procés contrari de transferència del floema cap al xilema no és clar, però semblaria que es pot transportar P, Mg^{2+} i N, però no així K^+ (Martin 1982).

-8- Introducció

Pels nutrients minerals K^+ , P i N en forma amino es dóna una alta mobilitat floemàtica i xilemàtica cap als òrgans en creixement que requereixen amino-N (Greenway i Pitman 1965, Greenway i Gunn 1966).

Pel nutrient mineral Ca^{2+} es dóna una baixa mobilitat floemàtica que s'ha de suplir amb un alt flux xilemàtic que arribi a les zones en creixement, les quals demanden grans quantitats de calci. Aquest alt flux xilemàtic s'ha de mantenir amb altes taxes transpiratòries. En condicions de baixes taxes transpiratòries, el flux xilemàtic de les arrels cap a la part aèria és determinat per la pressió radical. La disponibilitat d'aigua en les arrels durant el període fosc és de vital importància pel transport de Ca^{2+} a les zones en creixement de la part aèria que en demanden (Mizrahi i Pasternak 1985, Berkel 1988).

La majoria de nutrients, a excepció del Ca^{2+} , són carregats via xilema per ser transportats a les zones en creixement de la part aèria i una part d'aquests són retranslocats via floema per tornar cap a les arrels. Així el nitrogen es transporta via xilema cap a les parts aèries (100%) i una part (79%) es retransloca en forma reduïda cap al floema per ser transportat a les zones de l'arrel en creixement incorporant-se a les cèl·lules radicals (21%) i la resta torna a recircular via floema cap a la part aèria (Simpson i col. 1982, Jeschke i Pate 1991).

El K^+ té un paper important en el transport del nitrat via xilema (Van Beusichem i col. 1988). Després de la reducció de nitrat en la part aèria s'ha d'augmentar la concentració d'àcids orgànics aniònics per mantenir el balanç de les càrregues, principalment de malat, essent el K^+ el catió que el retranslocaria via floema cap a les arrels. Aquí després de la descarboxilació dels àcids orgànics, el K^+ acompanyaria el nitrat via xilema per ser transportat a la part aèria (Touraine i col. 1990). Segons aquest model, la llum en la part aèria promouria l'alliberament de bicarbonat en les arrels i el K^+ -malat induiria l'increment de l'absorció de nitrat i el consum net de protons en les arrels (Schulze i col. 2002, Scheibe 2004).

1.5. Respiració radical

Una part molt important dels carbohidrats produïts diàriament per la fotosíntesi són exportats i respirats per les arrels, contribuint al creixement de les mateixes i a l'absorció iònica. En aquesta respiració en les arrels es dona un transport electrònic no fosforilant menys eficient en la producció d'ATP (Lambers 1995). Aquesta proporció de carbohidrats respirats en l'arrel augmenta quan els nutrients són deficitaris (Van der Werf i col. 1992) a causa del lent creixement de les arrels i a l'augment de la despesa energètica destinada a l'absorció iònica (Van der Werf i col. 1994). Aquesta proporció de carbohidrats respirats en l'arrel disminueix quan l'edat de la planta augmenta, a causa de que la via no fosforilant de producció d'ATP es dona menys en plantes madures (Steingröver 1981) i així és més eficient la respiració. Alternativament, també disminueix pel creixement de les arrels i l'absorció iònica i decreixen amb l'edat (Van der Werf i col. 1988).

La taxa de respiració radical disminueix segons augmenta la distància des de l'àpex (Goddard i Bonner 1960, Yemm 1965) probablement a causa del major requeriment energètic pels processos de biosíntesi proteica destinats a l'elongació cel·lular d'aquesta zona de l'arrel (àpex i zona annexa) i per l'absorció iònica.

El quocient respiratori (RQ) de les arrels, que és el quocient entre CO_2 produït i oxigen consumit, varia segons el potencial de creixement de les espècies i depèn de la font de nitrogen (NO_3^- , NH_4^+ o N_2). Si l'únic substrat per la respiració és la sucrosa el RQ esperat seria d'1. Si es respiren àcids orgànics com el malat, aquest RQ augmenta i si es respiren lípids el RQ disminueix (Ben Zioni i col. 1971, Nogués i col. 2004). En medis amb dèficit de nutrients, plantes de creixement lent i quan la font de nitrogen és NH_4^+ enlloc de NO_3^- , el RQ és menor d'1.

La respiració radical té fluctuacions diàries per l'aportació de carbohidrats des de les fulles per descarboxilació del malat acoplat a la reducció del nitrat i transportat a l'arrel via floema. També varia a causa de les diferents intensitats lumíniques (Huck i col. 1962, Ben Zioni i col. 1971, Farrar 1981) i

correlaciona amb l'absorció iònica (Huck i col. 1962, Hansen 1980, Casadesús i col. 1995). Bowling (1981) conclou que l'absorció iònica en *Helianthus annuus* L. està regulada per un "controlador d'absorció iònica" provinent de la part aèria. En aquest sentit àcids orgànics i AAs provinents de la part aèria via floema actuarien com a factors de control (Imsande i Touraine 1994). Per tant la variació diürna en la respiració radical és un reflex de la variació en la demanda energètica destinada al creixement (demanda d'ATP) i a l'absorció iònica (disponibilitat del substrat).

Els requeriments energètics que requereixen els processos en les arrels es poden dividir en tres components: (a) respiració per creixement, (b) respiració per absorció iònica i (c) respiració de manteniment de la biomassa radical (Poorter i col. 1991, Van der Werf i col. 1994). Els costos energètics de manteniment són petits comparats amb els de creixement i absorció iònica, però en dèficit de nitrats i quan la planta es fa vella les taxes de creixement i absorció iònica disminueixen. Aquests costos de manteniment augmenten (Van der Werf i col. 1988, Van der Werf i col. 1994), essent la renovació proteïca associada al manteniment de la biomassa el procés més important de la respiració (De Visser i col. 1992) juntament amb el manteniment dels gradients iònics a través de les membranes radicals també associat al procés de manteniment (Bouma i De Visser 1993).

L'absorció i assimilació del nitrogen en les arrels té efectes significatius en la respiració radical. El nitrat és el responsable de les altes taxes de respiració respecte de l'amoni (Lambers i col. 1980, De Visser i Lambers 1983), associant-se a la demanda energètica per l'absorció de nitrat. Quan es fan créixer les arrels en dèficit de nutrients, el rati de respiració radical és més baix que en presència dels mateixos (Kuiper 1983, Van der Werf i col. 1992). En deficiència de fosfat no s'observen efectes en la taxa de respiració (Rychter i Mikulska 1990).

La respiració radical augmenta en funció de la temperatura, on l'increment depèn del quocient de la temperatura de respiració (Q_{10}). L'aclimatació de la respiració a la temperatura de creixement es dona en unes espècies (Smakman i

Hofstra 1982, Zimmerman i col. 1989) mentre que en d'altres no (Sowell i Spomer 1986, Weger i Guy 1991). En aquest cas la respiració radical depèn totalment de la temperatura ambiental. Smakman i Hofstra (1982) en arrels de *Plantago lanceolata*, on es dona l'aclimatació a la temperatura, han observat que exposant les arrels a 13 °C durant 2 hores i tornant-les a 21 °C, es dona una disminució de la respiració a nivells molt baixos, i es recupera la taxa de respiració radical que hi havia a 21 °C en menys de 24 hores.

1.6. Modulació de l'activitat de l'arrel

L'activitat de l'arrel no ve determinada exclusivament per l'ambient on es troba, sinó que depèn també de la seva interacció amb la part aèria. Concretament, les taxes d'absorció d'ions per les arrels no depenen únicament de la seva concentració al medi sino també de la demanda nutricional pel conjunt de tota la planta. En general les arrels poden percebre l'estat nutricional de tota la planta a través del "pool" circulant de cada nutrient entre arrels i part aèria a través de xilema i floema (Touraine i col. 1994) i d'aquesta manera la regulació a la baixa per aquest "pool" circulant pot permetre adequar l'absorció a la demanda.

En el cas del N no pot ser únicament per la concentració d'aquest ió en l'arrel, ja que el NO_3^- no circula pel floema (Allen i Raven 1987), de manera que cal algun altre producte nitrogenat que "informi" de l'estat general del N a la planta. Els AAs i àcids orgànics produïts per l'assimilació del NO_3^- a les fulles sí que circulen pel floema (Richardson i col. 1982) i estan implicats en la regulació de l'absorció de NO_3^- en les arrels (Muller i Touraine 1992). Un altre producte provinent de la part aèria en la reducció dels nitrats i regulador de l'absorció de NO_3^- és el malat, el qual es transloca amb K^+ a les arrels via floema, on per descarboxilació es genera HCO_3^- que pot ser bescanviat per NO_3^- de la solució externa excretant equivalents OH^- (Ben Zioni i col. 1971, Touraine i col. 1988, 1990, 1992, Schulze i col. 2002, Scheibe 2004).

Pel que fa a factors ambientals de la part aèria que afecten l'activitat de l'arrel, és coneguda la influència de la intensitat lumínica en la part aèria en l'absorció d'ions per les arrels (Clement i col. 1978, Casadesús i col. 1995) i la respiració

radical (Frossard 1985, Lambers i col. 1991). La intensitat de llum estimula la reducció de NO_3^- en les fulles i per tant indirectament l'absorció de NO_3^- per la translocació de K-malat a l'arrel (Touraine i col. 1988).

Un altre factor ambiental aeri que podria tenir efectes sobre l'arrel és la demanda transpiratòria. Sembla que a baixes concentracions iòniques externes, el flux transpiratori no afecta l'absorció iònica per les arrels (Pitman 1988, Tanner i Beevers 1990). Però l'absorció de Ca^{2+} , quan aquest es troba en altes concentracions externes, sí que mostra una bona correlació amb la transpiració (Sanderson 1983, Clarkson 1984). Tot i això, el responsable de l'absorció iònica de Ca^{2+} no és únicament el flux transpiratori, ja que el transport d'aquesta ió al xilema és sensible a inhibidors metabòlics que podrien actuar sobre transportadors (Bengtsson 1984).

Diverses substàncies actuarien com a senyals que comuniquen la demanda de N de la part aèria a les arrels en un sistema regulat. Si la quantitat d'AAs transportats a les parts de la planta que requereixen N excedeixen la demanda, aminocompostos com les CKs, nitrats i nitrits són transportats a l'arrel via floema, els quals controlarien l'absorció de nitrats per part de l'arrel que actua en els seus transportadors (Geßler i col. 2004).

En altres variacions temporals d'activitat en l'arrel, com els ritmes d'exudació o les ones de conductància hidràulica, no intervé la part aèria (Ferrario i col. 1992 ab). De tota manera hi ha indicis que la conductància hidràulica de l'arrel *in vivo* s'adequa fins a cert punt a la transpiració. En aquest sentit, en plantes de gira-sol s'ha comprovat que el potencial hídric es manté constant davant de canvis en el flux transpiratori en arrels intactes, però en canvi si s'inactiven les arrels aleshores el potencial hídric varia linealment amb la transpiració (Stoker i Weatherley 1971, Black 1979a).

2. Respostes de les plantes enfront a estrès radical

2.1. L'estrès a les plantes

El terme d'estrès emprat en fisiologia vegetal té diferents definicions. Per la realització d'aquesta memòria, nosaltres ens quedarem amb la que defineix estrès com qualsevol factor ambiental biòtic o abiòtic que minva la taxa d'algun procés fisiològic de la planta per sota de la taxa màxima a la qual podria arribar (Lambers i col. 1998).

Estudiarem la resposta de la planta enfront a estressos abiòtics aplicats a part del sistema radical de tipus físic com el dèficit hídric, baixes temperatures i de tipus nutricional, com dèficit de nitrats i de tots els ions.

La metodologia de l'"split-root" (separació de l'aparell radical en dos o més parts que poden ser iguals) s'empra profusament per veure si les respostes promogudes per l'estrès són o no proporcionals a la massa d'arrel afectada i per veure la comunicació que existeix entre les diferents parts de l'arrel (Tan i col. 1981, Blackman i Davies 1985).

2.2. Respostes generals de les plantes a situacions d'estrès radical

Davant de situacions d'estrès, el bescanvi de gasos està subjecte a regulació mitjançant modificacions de la part aèria tant a llarg com a curt termini (Shulze 1986). Les respostes de la part aèria enfront estímuls com la llum, concentració de CO₂ i temperatura són àmpliament conegudes (Farquhar i von Caemmerer 1982, Zeiger 1983, Tapia 1987, Marí 1989).

L'activitat de l'arrel depèn de més factors que no el seu propi ambient. Pot haver-hi superposats processos propis de l'arrel com el seu ritme d'activitat diari, així com de la resta de la planta (Casadesús 1995). En experiments en "split-root" s'ha comprovat que l'absorció d'alguns ions com NO₃⁻ (Simpson i col. 1982, Burns 1991) o K⁺ (Drew i col. 1984) en una part del sistema radical s'estimula amb la manca d'aquest ió en l'altra part, suggerint que en els mecanismes que regulen l'absorció iònica intervé tota la planta.

Afectacions de tipus estressant a l'arrel, com la temperatura del sòl (Küppers i col. 1982) i l'anòxia radical (Kramer 1983, Osonobi i col. 1985, Everard i Drew 1987, 1989), interrelacionen amb el bescanvi de gasos (Martínez 1990). La deficiència mineral (Radin i Eidenbock 1984) i l'estrès hídric (Nobel i Sanderson 1984, Dirksen i Raats 1985, Richards i Caldwell 1987) afecten directament a la permeabilitat de les arrels a l'aigua (Passioura 1988). El fred radical comportaria una disminució en l'absorció iònica (Watts 1972 ab).

Situacions d'estrès radical, com el fred radical (Black 1979 a) o l'estrès hídric (Neales i col. 1989), afecten el bescanvi de gasos a curt termini, així com a la diferent permeabilitat de les arrels a l'aigua i a la composició xilemàtica.

Blackman i Davies (1985) i Davies i col. (1986) suggereixen l'existència d'un senyal hormonal (CKs) transportat des de les arrels a les fulles, la interrupció del qual restringiria l'obertura estomàtica. Així, l'ABA intervindria en el tancament estomàtic i les CKs en l'obertura. Suprimint part o la totalitat de les arrels es redueix el flux d'un senyal necessari per l'expansió foliar (Milligan i Dale 1988). Anteriorment Thomas i col. (1981) ja havien demostrat que una reducció en el subministrament de CKs des de l'arrel a la part aèria disminuiria l'extensibilitat de la paret cel·lular.

2.3. Respostes a l'estrès hídric

L'estrès hídric és potser l'estrès radical més estudiat pel que fa a les alteracions que produeix en la fisiologia general de les plantes, però es desconeix en gran part la resposta del transport radical al dèficit hídric del sòl. El dèficit hídric entès com una taxa de transpiració que supera l'absorció d'aigua és un component d'altres tipus d'estrès, ja que la falta d'aigua es pot observar en situacions de sequera, de salinitat i de baixes temperatures (Bray, 1997). Entre els factors abiòtics, l'estrès hídric és considerat el més important per les seves conseqüències ecològiques i agronòmiques (Nogués i Baker 2000, Araus i col. 2002, Nogués i Alegre 2002).

Les estratègies de les plantes davant l'estrès hídric són bàsicament tres:

- Escapament, ajustant la seva fenologia per dur a terme el seu cicle fora dels períodes de dèficit hídric (Slafer i col. 1994).
- Evitament, incrementant la superfície radical o disminuint la resistència hidràulica per tal d'augmentar la capacitat d'absorció d'aigua (Nilsen i Orcutt 1996) o amb l'estratègia inversa minimitzant la pèrdua d'aigua mitjançant tancament estomàtic i reducció transpiratòria.
- Tolerància, resistint de forma reversible la deshidratació de teixits (Munné-Bosch i Alegre 2000).

Un dels primers efectes del dèficit hídric és la inhibició de l'elongació cel·lular i per tant del creixement, afectant en major grau a la part aèria que a l'arrel i augmentant la relació part aèria/arrel (Mullet i Whittsitt 1996). Aplicant dèficit hídric a una part del sistema radical mitjançant la tècnica de l' "split-root", l'elongació de la part aèria i la biomassa es veuen poc afectades ja que la part del sistema radical no afectada és capaç de compensar l'absorció i transport de nitrats i l'afectada continua tenint capacitat d'absorció de nitrats si l'estrès no és molt sever (Buljovic i Engels 2001). També sembla que el dèficit hídric del sòl provocaria un augment de la resistència hidràulica, tant del sòl com de les arrels (Passioura 1988, Ni i Pallardy 1990).

Un altre efecte seria el tancament estomàtic i com a conseqüència una disminució de la taxa transpiratòria. Molts estudis apunten a l'ABA d'origen radical com a intermediari en la resposta a l'estrès hídric (Robertson i col. 1990 ab), essent el missatge que l'arrel enviaria a la part aèria. L'ABA seria l'hormona que exerciria la funció de missatger entre l'arrel i la part aèria en situacions d'estrès hídric ja que existeix una bona correlació entre el contingut d'ABA en el xilema de plantes estressades; d'una banda, l'estat hídric del sòl (Zhang i Davies 1989) i d'altra banda, la conductància gasosa foliar (Zhang i Davies 1990).

En estrès hídric, les arrels sintetitzarien àcid abcísic (ABA) (Lachno 1983, Cornish i Zeemart 1985, Robertson i col. 1985, Lachno i Baker 1986), transportant-se cap al brot pel corrent transpiratori i promovent la disminució de la conductància estomàtica (Zhang i Davies 1987). Alteracions en la síntesi

proteica (Bozarth i col. 1987, Vartanian i col. 1987, Mason i col. 1988) semblen estar associades a un increment en la síntesi d'ABA a nivell radical, essent probable que aquesta hormona fos la inductora dels mRNAs i polipèptids associats a estrès (Bensen i col. 1988). Aquesta hipòtesi ha estat recentment corroborada per Bray (1988) amb l'ús de mutants per la síntesi d'ABA.

Una altra de les respostes més rellevants és l'ajust osmòtic per acumulació d'osmolits en les cèl·lules; disminuint el potencial osmòtic i permetent així la turgència necessària per l'absorció d'aigua (Morgan 1980, Ike i Thurtell 1981, Babu i col. 1999, Serraj i Sinclair 2002).

2.4. Respostes al fred radical

Una baixada sobtada de la temperatura en el sistema radical es nota ràpidament en les relacions hídriques de tota la planta. S'observa que l'aplicació de fred al sistema radical del gira-sol es manifesta ràpidament en una disminució del potencial hídric foliar, mentre que l'aplicació de fred a la tija no repercuteix en el potencial hídric de la mateixa (Black 1979 ab).

Els efectes de les baixes temperatures inclouen canvis en la bioquímica i física de les membranes, canvis conformacionals i d'activitat dels enzims i com a conseqüència en la síntesi de proteïnes, en els metabolismes fotosintètics i respiratoris (Nilsen i Orcutt 1996) i en una disminució del creixement (Allen i Ort 2001, Zhou i col. 2004) entre altres.

L'efecte del fred radical que redueix el transport d'aigua a través de l'arrel s'ha relacionat amb canvis en la fluïdesa de la membrana plasmàtica (Drew 1987) per insaturació dels lípids de membrana (Nishida i Murata 1996), augmentant la resistència aparent de la mateixa, la qual cosa comportaria un tancament estomàtic (Aston i Lawlor 1979). El tancament estomàtic permet que la disminució del flux hídric a través de l'arrel no provoqui una disminució del potencial hídric foliar. També s'ha observat que el fred radical incideix negativament en l'absorció iònica per part de l'arrel afectada (Watts 1972 ab).

S'ha proposat l'ABA com a regulador que incrementaria la tolerància al fred (Xin i Li 1992). Aquesta hormona podria actuar indirectament a través de la millora de l'estat hídic o altres respostes com canvis a nivell de membranes (Janowiak i Dörffling 1996). En aquest sentit també s'està estudiant el paper de les poliamines (Lee i col. 1997) tot i que encara és poc conegut el mecanisme exacte de la seva actuació.

2.5. Respostes al dèficit de NO_3^-

Les plantes assimilen la majoria del nitrat absorbit per les arrels a compostos orgànics nitrogenats, convertint en el citosol de les cèl·lules radicals el nitrat (NO_3^-) a nitrit (NO_2^-) com a primer pas (Oaks 1994). L'enzim encarregat de catalitzar aquesta reacció que converteix el nitrat a nitrit és la nitrat reductasa que normalment requereix NADH com a donador d'electrons, tot i que en les arrels es dona una altra forma de l'enzim que pot utilitzar tant NADH com NADPH (Warner i Kleinhofs 1992). El nitrat, la llum i els carbohidrats influeixen en l'activitat de l'enzim nitrat reductasa a nivell de transcripció i translació (Sivasankar i Oaks 1996). En diferents plantes s'ha observat una ràpida resposta en els nivells de mRNA de l'enzim nitrat reductasa acumulats per estimulació a l'augmentar els nivells de nitrat. S'ha detectat un augment en els nivells de mRNA de nitrat reductasa als 40 minuts de l'addició de nitrats fins a uns nivells màxims a les 3 hores (Kleinhofs i col. 1989).

Després de la reducció de nitrats a nitrits en el citosol (per l'enzim nitrat reductasa), aquest és transportat del citosol per la seva toxicitat i reduït a amoni (NH_4^+) en els plàstids radicals o cloroplasts per l'activitat de l'enzim nitrit reductasa (Siegel i Wilkerson 1989). En aquests mateixos orgànuls, l'amoni és convertit a glutamina i glutamat a través d'una sèrie de reaccions dels enzims glutamina sintetasa (Lam i col. 1996) i de la glutamat sintetasa. Un cop el nitrogen està en aquestes formes ja es pot transferir a diversos compostos orgànics, principalment AAs, a través de diferents reaccions transaminatives, els quals són els precursors de la síntesi proteica. Els enzims que catalitzen aquestes reaccions són anomenats aminotransferases. Destaca l'enzim aspartat aminotransferassa que transfereix el grup amino del glutamat a l'aspartat, el

qual participa en la bomba malat-aspartat per transferir equivalents reduïts des de les mitocondries i cloroplasts al citosol (Schulze i col. 2002, Scheibe 2004).

L'assimilació de nutrients requereix molta energia per convertir els compostos inorgànics pobres energèticament en compostos orgànics altament energètics. De tota aquesta energia que requereix la planta tant en arrels com en la part aèria, un 25% se'n va en la reducció de nitrats a nitrits i després a amoni (Bloom 1997).

La deficiència en nitrogen afecta de forma notòria el creixement radical, la morfologia i la distribució del sistema radical en el substrat. Augmentant l'aportació de nitrogen s'estimula tant el creixement de l'arrel com de la part aèria, però molt més el creixement de la part aèria que el de l'arrel. La deficiència de nitrats i amoni incrementa el rati arrel/part aèria, incrementant-se l'àrea de la superfície radical (Marschner i col. 1986). Efectes hormonals deuen estar involucrats en la formació d'aerènquima en el còrtex radical quan les concentracions de nitrogen són baixes (Konings i Verschuren 1980). La renovació "turnover" de les arrels també es veu afectada en condicions de dèficit de nitrogen, essent molt més baixa la renovació d'arrels fines (50% a l'any en coníferes) en condicions de dèficit en nitrogen que en altes concentracions de nitrogen en sòl (200% a l'any, Aber i col. 1985).

Reduint la concentració de nitrat en la solució nutritiva o substituint-lo per altres formes de nitrogen reduïdes (amoni, urea), disminueix el contingut de nitrat en la planta (Gashaw i Mugwira 1981, van der Boon i col. 1990, Günes i col. 1996, Santamaria i Elia 1997, Cárdenas-Navarro i col. 1999). El senyal per la planta del contingut de nitrogen vindria determinat per un "pool" de compostos amino que circularien entre la part aèria i l'arrel de la planta (Cooper i Clarkson 1989, Muller i Touraine 1992, Muller i col. 1996, Kreuzwieser i col. 1997, Geßler i col. 1998 b, Geßler i col. 2004). Aquest "pool" junt amb la demanda de nitrogen dels llocs on s'emmagatzema, assimila i remobilitza (Collier i col. 2003) estarien involucrats en la regulació de l'absorció de nitrogen per les arrels (Geßler i col. 1998 ab, Stulen i col. 1998, Geßler i col. 2004).

El nitrogen inorgànic detectat per les arrels comportaria un augment en el nivell de les CKs o els productes derivats de l'assimilació del nitrogen regularien la biosíntesi i metabolisme de les CKs (Samuelson i Larsson 1993, Beck 1996, Takei i col. 2002). L'augment en el transport de CKs des de les arrels a la part aèria (Samuelson i Larsson 1993, Wagner i Beck 1993) semblarien induir la resposta dels gens involucrats en la transducció del senyal de nitrogen (Taniguchi i col. 1998, Mok i Mok 2001, Takei i col. 2001) i incrementarien l'expressió de la nitrats reductasa en les fulles (Samuelson i col. 1995). Aplicant CKs exògenes en plantes amb dèficit de nitrogen es reverteix els símptomes del seu dèficit (Horgan i Wareing 1980) i s'incrementa l'absorció de nitrats per les arrels (Simpson i col. 1982, Trcková i Kamineck 1999).

2.6. Respostes al dèficit iònic

El creixement radical és estimulat en les zones més riques en nutrients respecte les zones amb baixes concentracions iòniques. Aquest efecte d'estimulació del creixement radical ha estat demostrat en experiments amb "split-root" deixant zones del sistema radical amb dèficits iònics. El nitrogen és l'ió que més estimula el creixement de parts del sistema radical no afectades per l'estrès iònic, el fòsfor també estimularia aquest creixement, mentre que el potassi semblaria ser que no (Coutts i Philipson 1977).

El nitrats estimula la descàrrega de fotoassimilats via floema en les zones radicals on s'absorbeix el nitrats en només dos dies, i en quatre dies el rati de divisió cel·lular s'ha incrementat (Thoms i Sattelmacher 1990). La respiració també s'estimula en les zones radicals riques en nitrats respecte les que no ho són (Granato i Raper 1989). S'estimula la iniciació d'arrels laterals i la densitat de pèls radicals per unitat de longitud radical per altres mecanismes a part de la descàrrega de fotoassimilats floemàtica com ara la descàrrega d'àcid indolacètic (Thoms i Sattelmacher 1990).

L'efecte del fòsfor en l'estimulació del creixement de pèls radicals és similar al del nitrats. Així en plantes de colça i espinacs, a baixes concentracions de fòsfor s'estimula el creixement de llargs pèls radicals (Föhse i Jungk 1983). En panís

la baixa concentració de fòsfor no té efecte en la longitud dels pèls radicals però n'incrementa la densitat per unitat de longitud (Mackay i Barber 1985).

La deficiència en fòsfor a l'igual que la de nitrogen incrementa el quocient pes sec arrel/part aèria (Anghinoni i Barber 1980), la longitud de les arrels i fa que cada cop siguin més fines. En moltes espècies vegetals, la deficiència de fòsfor també estimula l'aparició d'agrupaments o "clusters" radicals (Lamont 1982, Vorster i Jooste 1986, Louis i col. 1990).

Una gran majoria d'enzims i coenzims contenen sofre en els llocs catalítics específics. La majoria del sofre de les plantes és absorbit per un simport H^+ SO_4^{2-} de la solució del sòl. El primer pas és reduir el sulfat a l'aminoàcid cisteïna (Leustek i col. 2000). Les fulles són més actives que les arrels en l'assimilació del sulfur, probablement per la ferredoxina reduïda produïda en la fotosíntesi i la serina produïda en la fotorespiració. Aquest sulfur assimilat en les fulles s'exportaria via floema a les zones de síntesi proteica de la part aèria i del sistema radical (Bergmann i Rennenberg 1993).

Els cations com el potassi, magnesi i calci són absorbits per les plantes com a macronutrients formant complexos mitjançant vincles electrostàtics amb els compostos orgànics. Així, la majoria del K^+ és acumulat al citosol i en les vacuoles de les cèl·lules com a ió lliure de fer complexos amb àcids orgànics, per les seves funcions de regulació osmòtica i activació enzimàtica. Pel que fa als cations Mg^{2+} i Ca^{2+} són assimilats per la formació de complexos i vincles electrostàtics amb aminoàcids, fosfolípids i altres mol·lècules carregades negativament. Tant el K^+ com el Ca^{2+} afecten la concentració intracel·lular del Na^+ (Zhong i Läuchli 1994) i ajuden en la resposta d'aclimatació i adaptació a l'estrès per salinitat (Liu i Zhu 1997).

La importància del Ca^{2+} en el manteniment de la integritat de les membranes cel·lulars de les arrels és cabdal (Spiegel i col. 1987). En condicions de dèficit en Ca^{2+} , el Na^+ i el Mg^{2+} el desplaçarien per ocupar el seu lloc en les membranes plasmàtiques (Cramer i col. 1985, Lynch i Läuchli 1988, Yermiyahu i col. 1994) disminuint el creixement cel·lular quan es produeix aquesta substitució (Leigh i Wyn Jones 1984, Ben-Hayyim i col. 1987).

2.7. Heterogeneïtat del medi radical

El medi en què es troben naturalment les arrels és habitualment heterogeni en disponibilitat de recursos (aigua, nutrients, oxigen, etc.). Per tal de subministrar els nutrients i l'aigua que requereix la part aèria, el conjunt del sistema radical ha de ser capaç de gestionar la varietat de condicions locals en què es troben les seves diferents parts (Robinson 1994, Hodge 2004). Per això es pot esperar que les respostes de l'arrel siguin d'una banda locals, condicionades per la disponibilitat d'aigua o nutrients al medi més proper i d'altra banda global en resposta a l'estat hídric o nutricional general de tota la planta (Hutchings i John 2004).

L'estudi de l'adaptació de les arrels a medis heterogenis s'ha adreçat generalment a estudiar-ne el creixement, en què típicament s'observa un estímul del creixement a les parts que tenen una major disponibilitat de nutrients i una inhibició a la resta (Robinson 1994). Però la resposta a heterogeneïtats no tan sols implica canvis en el creixement, sinó també en la taxa d'absorció per unitat d'arrel, cosa que no ha estat estudiada tan extensament. Es creu que en un medi heterogeni unes arrels poden respondre de manera compensatòria de les limitacions que es troben les altres però no s'ha comprovat ni caracteritzat detalladament aquest fenomen.

Se sap que l'absorció d'ions com el NO_3^- (Simpson i col. 1982, Burns 1991), K^+ o H_2PO_4 (Drew i Saker 1984) en una part del sistema radical s'estimula per la manca d'aquests ions en altres parts del sistema radical, actuant doncs els mecanismes de regulació de l'absorció iònica a nivell de tota la planta.

Pel que fa a l'heterogeneïtat en les condicions hídriques que es troben les arrels, en els darrers anys s'han publicat diversos treballs en què a nivell agrícola es proposa controlar l'ús de l'aigua pel cultiu mitjançant la tècnica del Partial Root Drying (PRD). Aquesta tècnica consisteix en mantenir un aport d'aigua suficient a una part del sòl alhora que se'n deixa assecar una altra part. Aleshores, s'espera que els missatges arrel-part aèria emesos per les arrels que es troben en una zona d'assecament limitin la conductància estomàtica i d'aquesta manera ajudin a optimitzar l'ús d'aigua pels cultius. (Davies i col.

2000). Per exemple, s'ha citat l'ús de PRD per controlar l'ús de l'aigua i indirectament el creixement vegetatiu de la vinya (Dry i Loveys 1999).

3. Objectius

L'objectiu general d'aquest treball és contribuir a entendre els mecanismes de funcionament d'un sistema radical sotmès a unes condicions ambientals i de disponibilitat de recursos heterogenis.

Aquest objectiu es podria desglossar en diferents aspectes específics:

- Caracteritzar l'efecte d'alguns factors estressants (hídric, fred, dèficit nutricional) sobre la respiració i el transport d'aigua i ions per les arrels.
- Caracteritzar com arrels mantingudes en condicions constants (no limitants) modifiquen la seva activitat com a resposta a l'aparició de condicions estressants en altres parts del sistema radical.
- Determinar la sensibilitat de l'estat hídric i el bescanvi gasós de la capçada a la presència de condicions estressants en una part del sistema radical.
- Contribuir al coneixement dels mecanismes de regulació dels diferents processos que tenen lloc simultàniament en una arrel i com interaccionen entre ells.

MATERIAL I MÈTODES

1. Material vegetal

Es va seleccionar d'entre onze varietats de gira-sol (*Helianthus annuus* L.) i es va escollir en un primer pas tres varietats, cv. Solmax, cv. Tesoro i cv. Enano, per aspectes pràctics de cara a la realització dels assajos, com són el ràpid creixement i la quantitat d'exudat xilemàtic que es podia recollir d'aquestes varietats. Finalment es van continuar els estudis amb una sola varietat de gira-sol (*Helianthus annuus* L. cv. Solmax) per ser la que metodològicament facilitava més els nostres assajos.

El gira-sol és una planta que desenvolupa una arrel pivotant i la tallavem per tal d'induir la formació de nous eixos que després separavem en dues meitats per fer les proves d'"split-root". Després de tallar l'arrel principal es tornaven a posar les plàntules en perlita un o dos dies més. Quan les plàntules tenien set dies des de la sembra es separava el conjunt d'arrels en dues meitats aproximadament iguals i es posaven en les cubetes d'hidropònic, en què les dues meitats creixien separades durant tres setmanes més, com es descriu més endavant. El sistema radical en l'estat en què es feien les mesures està format per eixos secundaris dels quals surten arrels fines ($\varnothing > 0.4\text{mm}$) que ja no es tornen a ramificar ($\varnothing < 0.3\text{mm}$).

En la Figura 1 s'observa al MES la morfologia i disposició dels estomes, diferenciant-se dos grups diferents: uns grans i funcionals disposats en fileres (cv. Solmax) i un segon grup d'estomes molt més petits que semblen poc diferenciats i afuncionals (cv. Enano) i representen entre el 15 i 35 % del total.

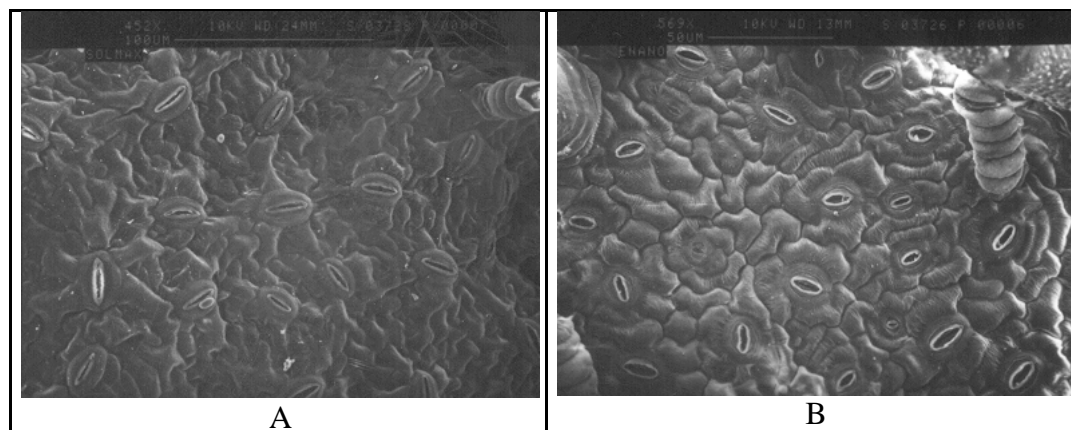


Figura 1. Morfologia dels estomes observada al MES
Varietat cv. Solmax (A). Varietat cv. Enano (B).

En la Figura 2 s'observa la disposició dels vasos de xilema que és general per totes les varietats. Aquests vasos són abundants i d'un gran diàmetre. Les seves parets estan formades per enrollaments en espiral de lignina i contenen un gran nombre de puntuacions.

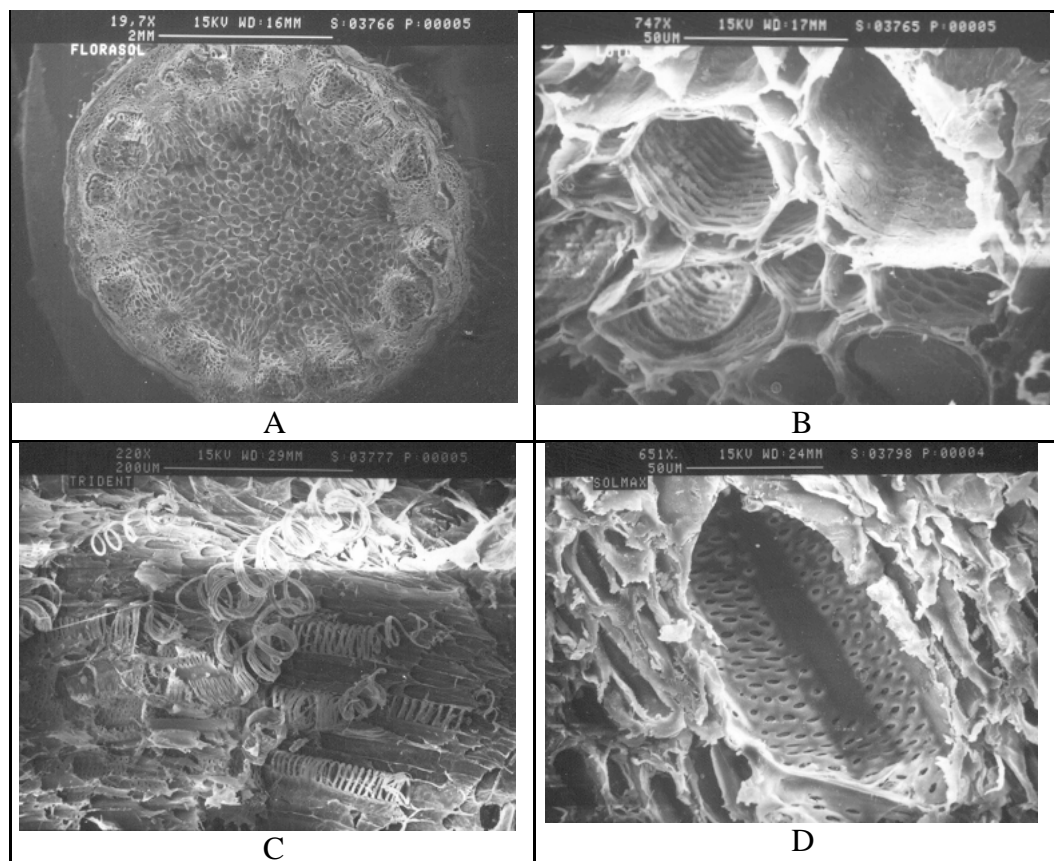


Figura 2. Morfologia dels vasos xilemàtics observada al MES
Tall transversal de la tija de gira-sol on s'aprecia la disposició dels vasos en cv. Florasol (A). Detall d'un grup de vasos de xilema en cv. Lotus (B). Parets dels vasos de xilema amb formacions espirals de lignina en cv. Trident (C). Detall d'un vas de xilema amb puntuacions en cv. Solmax (D).

2. Descripció general dels experiments

En els primers experiments s'han estudiat els efectes de l'estrès hídric a una part del sistema radical en tres varietats de gira-sol (cv. Solmax, cv. Enano i cv. Tesoro) sobre l'intercanvi de gasos de la capçada i la respiració radical i s'ha comprovat quin efecte tenia la supressió de determinats ions importants pel creixement (K^+ i NO_3^-) en la respiració radical en condicions de cultiu en hidropònic i "split-root".

En els següents experiments realitzats s'ha aprofundit en els efectes de l'estrès hídric, fred radical, dèficit de NO_3^- i d'ions en el bescanvi de gasos de la capçada, respiració radical, absorció iònica, potencial hídric foliar i exudació radical, centrant-nos en una sola varietat de gira-sol (cv. Solmax) en condicions de cultiu en hidropònic i "split-root".

Finalment, per tal de comprovar si els fenòmens estudiats són extrapolables a arrels creixent al sòl, s'han ampliat els mateixos assajos en el cv. Solmax que els anteriorment explicats sobre la mateixa varietat, però en condicions de cultiu en hidropònic amb sorra de quars i "split-root".

3. Condicions de cultiu

3.1. La tècnica de l'“split-root”

S'ha emprat la tècnica de separar el conjunt d'arrels en dues parts “split-root”, per poder afectar mitjançant l'estrès, només a una part del sistema radical i així poder estudiar la resposta a l'estrès de cada meitat per separat (resposta arrel-arrel). També es determina la resposta de la part aèria sencera a l'estrès radical (resposta arrel-part aèria-arrel).

Llavors de gira-sol (*Helianthus annuus* L. cv. Solmax) es van posar a germinar en perlita. Als set dies de la sembra es tallava l'arrel principal i es deixava únicament dues arrels disposades simètricament per preparar la planta per un "split-root" amb dues meitats radicals similars i separades. Les plàntules eren traspassades a un recipient de PVC en condicions de cultiu hidropònic i allí creixien durant una setmana. Seguidament eren traspassades a containers de PVC amb capacitat per sis plantes que permetien créixer per separat a les dues meitats radicals (Figura 3).

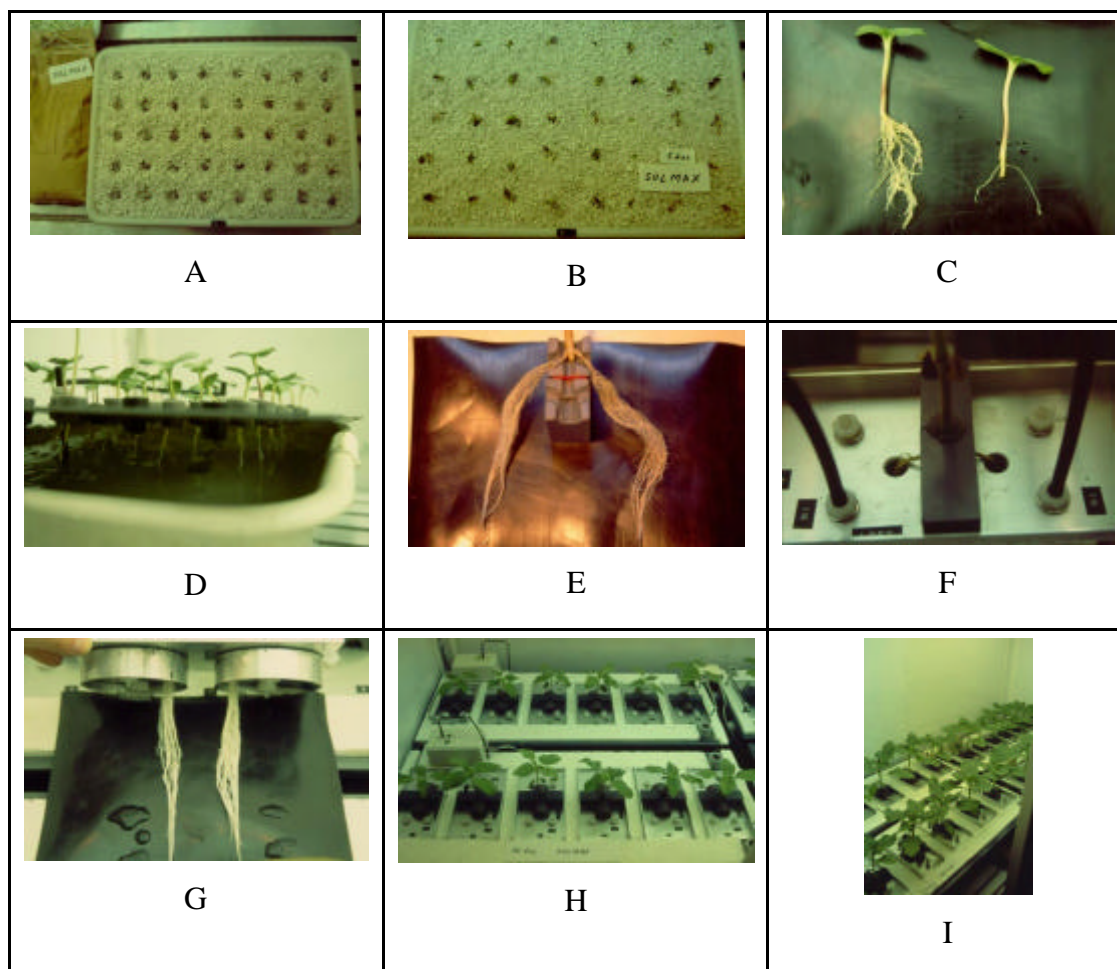


Figura 3. Detall de les tècniques de cultiu aplicades al cv. Solmax
 Germinació de llavors de gira-sol en perlita (A). Plàntules de gira-sol als 5 dies (B). Detall del procés inicial de separació del sistema radical en dies meitats als 7 dies (C). Creixement en hidropònic de les plàntules des dels 7 dies fins els 14 dies per permetre el creixement de les dues arrels (D). Separació en dues parts de l'aparell radical (E). Detall del suport de la planta en les cubetes i de la separació de l'aparell radical en dues meitats (F). Detall de les dues meitats radicals (G). Containers de PVC pel creixement de les plantes en hidropònic i "split-root" amb capacitat per 6 plantes (H, I).

3.2. Condicions de cultiu

3.2.1. Condicions de cultiu de tres varietats de gira-sol en hidropònic

Les plantes de tres varietats de gira-sol (cv. Solmax, cv. Enano, cv. Tesoro) proporcionades per Borges (Indústries Pont, Tàrraga, Lleida), es feien créixer de la manera indicada per l'"split-root" i se'ls aplicaven els tractaments corresponents el dia 32.

Per aquests assajos es condicions de cultiu eren de 500 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ PAR i un fotoperíode de 14/10 hores a 26/22 °C i 60% HR dia/nit. El dia de mesures les condicions ambientals eren:

DPPV (kPa) = 1.7 Temp arrel (°C) = 26.0
Temp aire (°C) = 27.5 Flux d'aire a cada part de l'arrel (NLPH) = 50.0
PAR a l'alçada de les fulles = 300 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$

La composició de la solució nutritiva era de: 0.60 mM Ca^{2+} , 0.99 mM K^{+} , 0.27 mM Mg^{2+} , 2.00 mM NO_3^{-} , 0.27 mM SO_4^{2-} , 0.19 mM HPO_4^{-} , 0.02 EDTA-FeNa i micronutrients. El dia de les mesures la solució era tamponada amb MES a 5 mM i el pH era ajustat a 5.8 amb $\text{Ca}(\text{OH})_2$. El tamponament era necessari per garantir que la solució nutritiva no actués com a font ni com a embornal de CO_2 .

3.2.2. Condicions de cultiu del cv. Solmax en hidropònic líquid

Les plantes de gira-sol de la varietat cv. Solmax es van fer créixer de la mateixa manera que les tres varietats de gira-sol del primer experiment fins una edat de vint-i-vuit dies, renovant-se periòdicament la solució nutritiva, la composició de la qual era la mateixa que la del dia de mesures a excepció del Ca^{2+} , ja que el dia de mesures es tamponava amb MES a concentració 5 mM i s'ajustava el pH a 5.8 ó 5.6 amb $\text{Ca}(\text{OH})_2$ amb la finalitat de poder mesurar la respiració radical.

Per aquests assajos es condicions de cultiu eren de 500 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ PAR i un fotoperíode de 14/10 hores a 26/22 °C i 60% HR dia/nit. El dia de mesures les condicions ambientals eren:

DPPV (kPa) = 1.4 Temp arrel (°C) = 24.0 (en fred radical 26.0 / 13.0)
Temp aire (°C) = 26.0 Flux d'aire a cada part de l'arrel (NLPH) = 50.0
PAR a l'alçada de les fulles = 500 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$

La composició de la solució nutritiva es va doblar respecte les proves inicials i durant el temps en què les plantes es mantenien a les cambres de mesura al llarg del dia de mesures. Cada 2 hores es reemplaçava completament la solució nutritiva que quedava per solució fresca en què la concentració dels principals

ions era: 1.21 mM Ca^{2+} , 1.97 mM K^+ , 0.54 mM Mg^{2+} , 4.00 mM NO_3^- , 0.54 mM SO_4^{2-} , 0.38 mM HPO_4^- , 0.02 EDTA-FeNa i micronutrients.

3.2.3. Condicions de cultiu del cv. Solmax en hidropònic en sorra de quars

Les plantes de gira-sol de la varietat cv. Solmax es van fer créixer de la mateixa manera que les tres varietats de gira-sol del primer i segon experiment fins a una edat de set dies en què es deixava dues arrels. Es traslladaven a una cubeta d'hidropònic durant set dies més per tal de permetre el creixement de les dues meitats radicals a partir de les dues arrels que es deixaven als set dies. A partir d'aquesta edat de dues setmanes es traslladaven individualment a dos recipients de vidre per créixer en hidropònic amb sorra de quars inert en "split-root".

Les condicions de cultiu eren de 500 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ PAR i un fotoperíode de 14/10 hores a 22 °C i 75% HR dia/nit. El dia de mesures les condicions ambientals eren:

DPPV (kPa) = 1.4 Temp arrel (°C) = 23.0
 Temp aire (°C) = 22.0 Flux d'aire a cada part de l' arrel (NLPH) = 50.0
 (20.0 per exudació)
 PAR a l'alçada de les fulles = 500 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$

La composició de la solució nutritiva es va diluir a la meitat per les plantes crescudes en hidropònic amb sorra de quars respecte a l'emprada en hidropònic líquid. Durant els catorze dies de creixement en Fitotron la solució nutritiva es canviava cada un o dos dies per solució fresca quan la conductivitat queia al 80% aproximadament del valor inicial per tal d'evitar que s'esgotessin els nutrients. La conductivitat de la solució fresca era de 205-210 μS .

La concentració dels principals ions era: 1.21 mM Ca^{2+} , 1.97 mM K^+ , 0.54 mM Mg^{2+} , 4.00 mM NO_3^- , 0.54 mM SO_4^{2-} , 0.38 mM HPO_4^- , 0.02 EDTA-FeNa i micronutrients, tot diluït 1/2. El dia de les mesures la solució era tamponada amb MES a 5 mM i el pH era ajustat a 5.6 amb $\text{Ca}(\text{OH})_2$.

4. Cambres de mesura del bescanvi de gasos a nivell de planta sencera

El major esforç es va concentrar en la preparació del sistema de mesura del bescanvi de gasos a nivell de planta sencera, tant de la part aèria com de les dues parts per separat de l'arrel.

Per aquesta finalitat es va disposar de dues cambres de metacrilat (0.5 x 0.5 x 0.5 m, volum 0.125 m³ cadascuna), amb un bany d'aigua refrigerat d'uns set cm de fondària cobrint tot el sostre. El control de temperatura (T) i humitat relativa (HR) es realitzava mitjançant un capçal sensor Vaisala (HMP 112Y) en cada cambra que donava la lectura a un ordinador, el qual s'encarregava de moure unes vàlvules progressives, dues per cada cambra, per regular respectivament la T i HR independentment en cada cambra i per separat la T de la HR. D'aquesta manera l'ordinador s'encarregava de mantenir constants la temperatura i el dèficit de pressió de vapor (DPV) a cada cambra. També es podia fixar el flux d'entrada d'aire a cada cambra que es mesurava amb un fluxímetre, així com modificar la turbulència de l'aire en l'interior de la cambra mitjançant un ventilador. Dins de llurs cambres es posava la part aèria d'una planta de la qual es mesurava la fotosíntesi i la transpiració mitjançant Licor-6262 (Li-Cor Inc, Lincoln, NE, USA) i la T foliar i de l'aire mitjançant una parella de termopars-termistors (Figura 4 A).

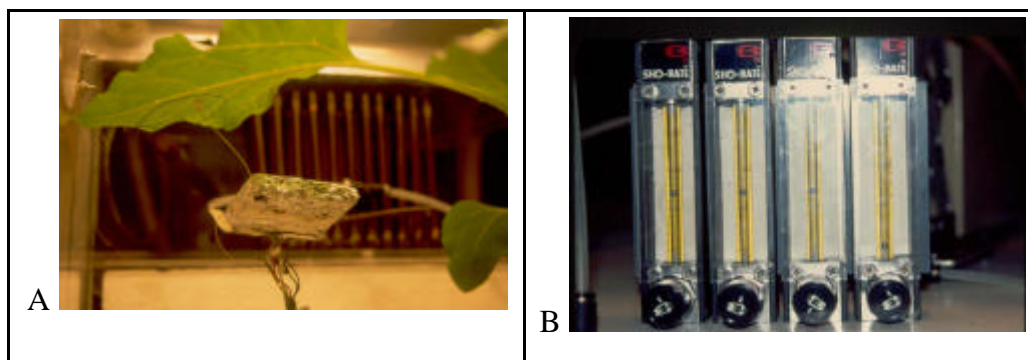


Figura 4. Detall de l'interior de les cambres de mesura
Mesura de la T foliar (A) i control del flux d'aire radical mitjançant rotàmetres (B) en el sistema de mesura del bescanvi de gasos a nivell de planta sencera.

El sistema radical de les plantes es separava aproximadament en dues meitats iguals a l'inici del cicle de creixement que era de quatre setmanes (tècnica de l'“split-root”). El dia de mesures, la part radical es posava en dos recipients, un per cada meitat d'arrel de cada planta, els quals es submergien en un bany, independent per cada part de l'arrel, per mantenir la T radical constant al llarg del dia. A cadascun dels recipients arribava un flux d'aire de 50 NLPH que prèviament es bombejava en la mateixa solució nutritiva tamponada per assegurar que estés pràcticament a saturació d'aigua, fixat igual per totes les meitats radicals mitjançant rotàmetres (Figura 4 B). De cada recipient sortia l'aire que anava a un decantador submergit en gel a 0 °C, per tal de condensar l'aigua i obtenir d'aquesta manera un contingut d'aigua constant i evitar el risc de condensació dins de l'analitzador, un Licor-6200, el qual mesurava la concentració de CO₂ a partir de la qual es calculava la producció de CO₂ pel sistema radical (Figura 5). De la sortida del bombollejador, abans d'entrar en les arrels, sortia un tub que es prenia com a referència de l'aire d'entrada a les cubetes de l'arrel.

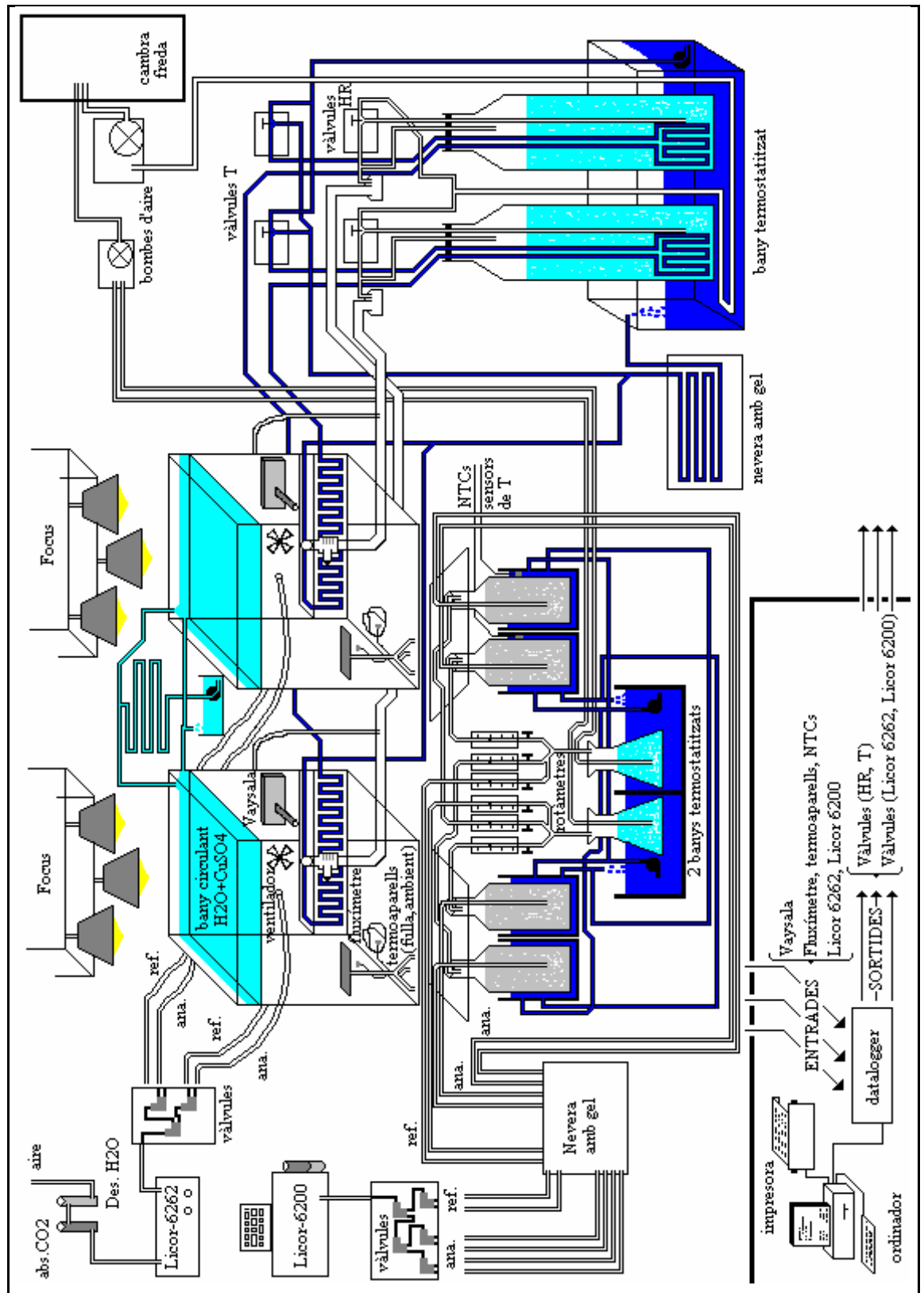


Figura 5. Esquema complet de les cambres de mesura
Sistema de mesura del bescanvi de gasos a nivell de planta sencera.

La Pn, E i Gs es mesurava en continu en les cambres ambientals dissenyades i construïdes per aquesta funció, en les quals les concentracions de CO₂ i H₂O a l'entrada i a la sortida de les cambres es mesurava amb un IRGA Licor-6262 (Li-Cor Inc, Lincoln, NE, USA) (Figura 6) i el flux d'aire que entrava a la cambra amb un fluxímetre màssic.

La respiració radical es mesurava per producció de CO₂ mitjançant IRGA Licor-6200. La temperatura de les arrels es mantenia constant mitjançant un bany termostatitzat a 23-26°C i addicionalment en el cas del tractament de fred un altre bany a 13°C.

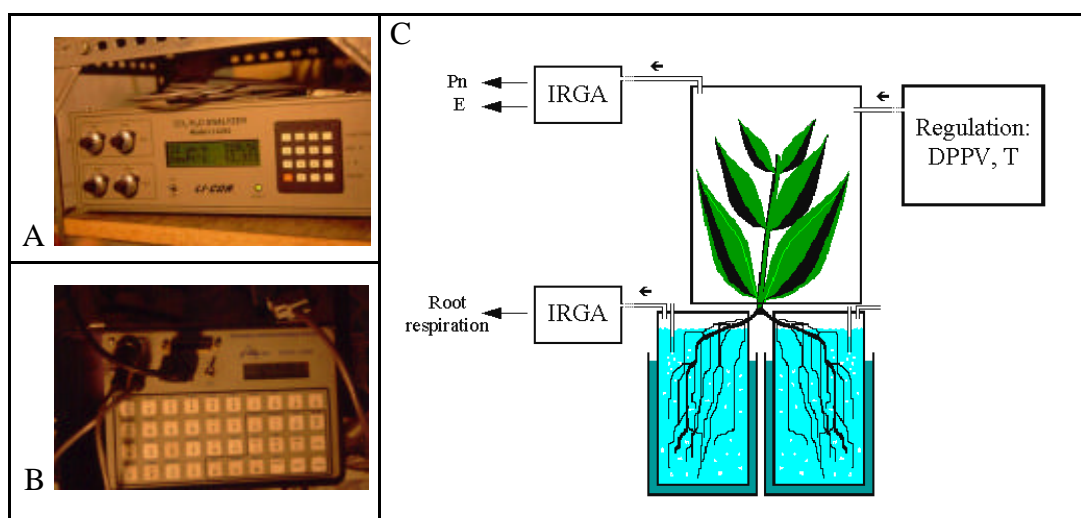


Figura 6. Esquema de les mesures d'intercanvi de gasos en les cambres de mesura Mesura del bescanvi de gasos mitjançant Licor-6262 (A) i de la producció de CO₂ radical mitjançant Licor-6200 (B). Esquema de la mesura de l'intercanvi de gasos en planta sencera (C).

Amb aquest muntatge (Figura 5), realitzat conjuntament amb el Dr. Jaume Casadesús (1995), era possible mesurar el bescanvi de gasos de la part aèria i de cada meitat d'arrel, en condicions de control i en condicions d'estrès aplicat a una part del sistema radical. A més a més, el sistema permetia l'extracció i anàlisi de mostres de la solució nutritiva, que s'extreïen periòdicament al llarg del dia de mesures, independentment per cada meitat radical.

Abans d'instal·lar les plantes a les cambres de mesura, aqueses es van fer créixer en condicions d' "split-root" en cultiu hidropònic dins de cambres d'ambient controlat. A les quatre setmanes es posaven les plantes de dues en

dues en les cambres de metacrilat disposades pel mesurament del bescanvi de gasos.

Les sessions de treball consistien en instal·lar les plantes a les cambres a les 8:00 hores del dia, es començava l'enregistrament de dades a les 9:00, s'aplicaven les condicions estressants a una meitat radical a les 11:00-12:00 i es mantenia l'enregistrament de dades fins a les 21:00 a raó d'una mesura cada 12 minuts. Al llarg d'aquest temps s'enregistrava de manera automàtica el bescanvi de gasos de la capçada i la respiració de cadascuna de les meitats del sistema radical. De manera manual es treia una mostra de la solució nutritiva de cada meitat radical, de la qual se'n determinava el volum i se'n guardava una mostra per analitzar la composició.

Les condicions estressants eren: estrès hídric per retirada completa de la solució nutritiva a una meitat radical, fred radical per substitució de la solució nutritiva per una altra d'igual composició però a 13 °C, dèficit de NO_3^- per substitució de la solució nutritiva per una altra en què tot el NO_3^- s'havia reemplaçat per SO_4^{2-} , i dèficit total d'ions per substitució de la solució nutritiva per una d'osmolaritat equivalent però només a base de CaCl_2 .

Paral·lelament, amb les altres plantes crescudes en les mateixes condicions es van obtenir cicles diaris d'exudació i d'absorció iònica en condicions de control i d'estrès radical. L'obtenció de l'exudat era destructiva, mitjançant el seccionament de la tija a nivell basal (per sota dels cotiledons) i la recollida a diferents temps de l'exudat xilemàtic que surt per pressió radical. De les mostres d'exudat se'n mesurava el volum i se'n analitzava la concentració dels ions K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , NO_3^- , P, HPO_4^{2-} i SO_4^{2-} , i a partir d'aquestes dades se'n calculava les taxes de secreció al llarg del temps.

5. Condicions particulars de cada experiment

5.1. Condicions experimentals en hidropònic líquid

El disseny experimental el dia de mesures (Figura 7) consistia en transferir dues plantes, amb una edat de quatre setmanes des de la seva sembra, a unes cambres d'ambient controlat i igual a les condicions de cultiu, i en posar les dues meitats radicals en uns recipients de 0.56 litres de volum amb la solució nutritiva tamponada, per poder mesurar la producció de CO_2 (respiració radical). La temperatura de les arrels també estava regulada i era igual a la de la part aèria (23-26 °C). Les mesures començaven al cap d'una hora de transferir les dues plantes a les cambres de mesura.

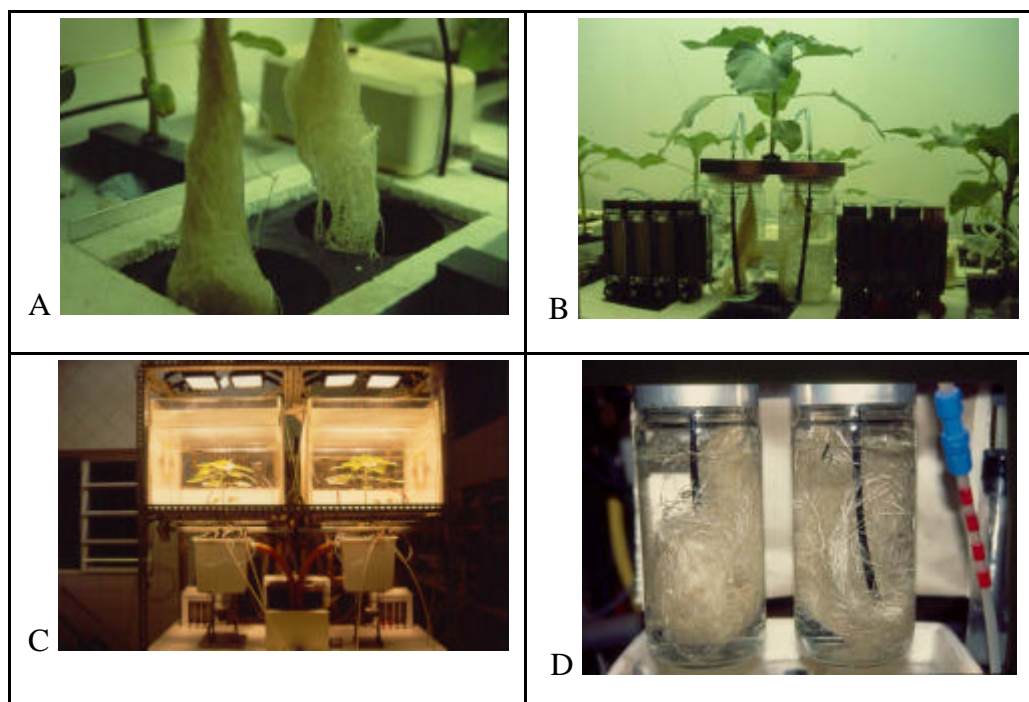


Figura 7. Disseny experimental el dia de mesures

Extracció de les plantes amb dues meitats radicals dels containers de creixement (A) i col·locació de cada meitat radical en una cubeta d'hidropònic independent (B). Cambres de mesura de l'intercanvi de gasos a nivell de planta sencera (C) i detall dels recipients en hidropònic i "split-root" (D).

Els tractaments consistien en estressar una meitat radical al cap de 4 hores de mesures (a les 12:00 h en el primer experiment amb tres varietats de gira-sol) i al cap de 1-2 hores (a les 11:00 h en el segon i tercer experiments amb el cv. Solmax) mitjançant: estrès hídric, fred radical (13 °C), dèficit de NO_3^- i dèficit

total iònic. Es comparaven els canvis produïts en la respiració i absorció d' H_2O , K^+ , NO_3^- i altres ions, de les dues meitats radicals en relació a plantes control. També es mesuraven la fotosíntesi (Pn), la transpiració (E) i la conductància estomàtica de la planta sencera (Gs).

El dia de mesures la solució era tamponada amb MES a 5 mM i el pH era ajustat a 5.8 amb $\text{Ca}(\text{OH})_2$ o 5.6 quan els estressos eren per dèficit de NO_3^- i d'ions. Durant els quatorze dies de creixement en fitotron la solució nutritiva es canviava cada un o dos dies per solució fresca quan la conductivitat queia al 80% aproximadament del valor inicial per tal d'evitar que s'esgotessin els nutrients. La conductivitat de la solució fresca era de 205-210 μS .

El tractament d'estrès hídric va consistir en retirar totalment l'aigua a partir de les 11:00 / 12:00 hores del migdia a una de les meitats radicals d'una planta.

En l'estrès per dèficit de NO_3^- s'afegia K_2SO_4 a la solució nutritiva enlloc de KNO_3 , de manera que quedava la concentració dels principals ions en: 0.51 mM Ca^{2+} , 1.75 mM K^+ , 0.27 mM Mg^{2+} , 1.09 mM SO_4^{2-} , 0.17 mM HPO_4^- , 0.02 EDTA-FeNa i micronutrients.

En la deficiència de tots els ions s'afegia $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ a la solució nutritiva per tal de mantenir-ne el potencial osmòtic, fent-la semblant a la completa. La concentració iònica de la solució nutritiva era: 2.02 mM CaCl_2 , 0.02 EDTA-FeNa i micronutrients.

En ambdós tipus d'estrès la solució també era tamponada amb MES a 5 mM i el pH ajustat a 5.6 amb $\text{Ca}(\text{OH})_2$.

5.2. Condicions experimentals en hidropònic en sorra de quars

Les plantes que es feien créixer pel cultiu de les arrels en sorra de quars estaven una setmana més en hidropònic per tal que tinguessin l'arrel més llarga i poder-la passar als pots de quars. Cada pot s'omplia amb 1000 g. de sorra de quars fi (inert), on el tamany de les partícules estava comprès entre 0.5 i 2 mm. (Figura 8). Als 35 dies (una setmana més que en hidropònic) es mesuraven les plantes per parelles. El dia de mesures els estressos s'aplicaven a les 11:00 hores.

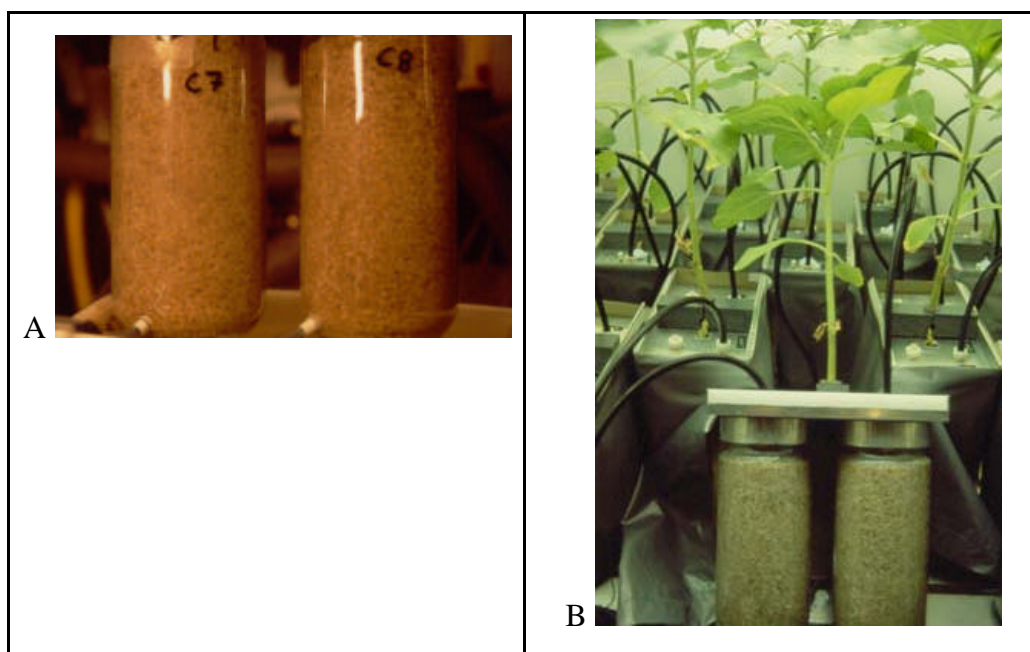


Figura 8. Tècnica de cultiu en sorra de quars
Recipients amb la sorra de quars i les arrels en “split-root” (A). Visió de conjunt de la planta sencera (B).

6. Mètodes de mesura

6.1. Absorció iònica en hidropònic líquid

L'absorció d'H₂O es mesurava per pesada del recipient que contenia la meitat radical i l'absorció iònica per disminució del contingut total de cada ió en la solució nutritiva. Les mostres que es prenen de K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, S i P total s'analitzaven per espectroscopia d'acoplament induït d'emissions atòmiques de plasma (ICP-AES) i les de NO₃⁻, PO₄³⁻ i SO₄²⁻ per cromatografia d'anions als serveis científico-tècnics de la UB. Així, l'absorció d'un ió es calcula segons:

Absorció (ió) = ([ió]₁ * V₁ - [ió]₂ * V₂) / (t₁-t₂), on

[ió]₁ = concentració inicial de l'ió

[ió]₂ = concentració final de l'ió

V₁ = volum inicial de solució en el recipient

V₂ = volum final de solució en el recipient

t₁ = temps inicial

t₂ = temps final

6.2. Absorció iònica en hidropònic en sorra de quars

Per mesurar l'absorció iònica, d'H₂O en especial, es coneixien els pesos dels dos pots de vidre on es cultivava l'arrel de la planta en situació d'"split-root", la sorra de quars de cada pot, l'arrel fresca i el volum d'H₂O que contenia el pot quan s'encerava fins un nivell determinat marcat en el pot.

Els passos que se seguien per determinar l'absorció d'H₂O eren omplir amb H₂O i solució nutritiva fresca el pot fins al nivell determinat. Extraure l'H₂O a pressió constant de 30 mbar. L'H₂O que quedava era a capacitat container (H₂O_{cc}). Mesurant l'H₂O que s'extreia se sabia l'H₂O que quedava al pot. Es deixava passar un temps (2.5 hores) i es tornava a omplir amb H₂O fins el nivell. Així sabíem l'H₂O que quedava al pot (H₂O + solució fresca). Es rentava el pot amb solució fresca i es tornava a començar des del principi. Així tenim que la fórmula pel càlcul d'absorció d'H₂O entre dos temps és:

$$\text{Abs. H}_2\text{O} = (\text{H}_2\text{O}_{(f)} - \text{H}_2\text{O}_{(i)}) / (t_{(f)} - t_{(i)})$$

6.3. Secreció iònica al xilema

Per l'obtenció de l'exudat de cada part radical es tallava per la base de les arrels i es posava un tub eppendorf, prèviament tarat, per recollir-ne la mostra que exudava dels vasos xilemàtics provinents de cada part d'arrel, durant els 15 minuts següents al seccionament (Figura 9).



Figura 9. Recol·lecció de l'exudat de gira-sol directament en tubs eppendorf

Les mostres recollides es guardaven en gel i en pocs minuts es traspassaven a un congelador a $-37\text{ }^{\circ}\text{C}$ fins el dia que es mesuraven. De totes les mostres es va mesurar la concentració osmòtica i la dels principals ions. A partir de les mesures del volum d'exudat recollit per unitat de temps i de la concentració d'aquest exudat es calculava el flux d'exudació dels soluts totals i de cadascun dels soluts analitzats assumint una densitat d' 1 g/cm^3 .

6.4. Anàlisi química de l'exudat

La concentració de soluts totals es va mesurar amb un osmòmetre VAPRO 5500 (Wescor, USA). Com que el rang habitual de mesura de l'aparell estava per sobre de les concentracions de les mostres, per tal d'obtenir més precisió en les mesures, es recalculaven els valors que donava l'aparell a partir de la lectura de patrons de concentració coneguda (25, 37.5, 50, 62.5, 75, 100 i 150 mmols/kg de NaCl) intercalats cada 25 mostres. Les concentracions dels soluts es recalculaven a partir dels 7 patrons anteriors, els 7 patrons posteriors i els patrons que s'intercalaven entre les mostres, amb una regressió de segon grau.

Les mostres que es prenen de K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , S i P total s'analitzaven per espectroscòpia d'acoplament induït d'emissions atòmiques de plasma (ICP-AES) i les de NO_3^- , PO_4^{3-} i SO_4^{2-} per cromatografia d'anions.

6.5. Mesura del potencial hídric (Y)

S'introduïa la part aèria sencera dins d'una bossa de plàstic que contenia un paper de filtre humit i immediatament se li seccionava la tija a mitja alçada de l'hipocotil i s'introduïa a la cambra de pressió (model ARIMAD-2, ARI Far Charuv-Water Supply Accessories, Ramat Hagolan, Israel). La goma de la cambra s'ajustava bé a l'hipocotil seccionat, que té una secció circular i no presenta gaire aerènquima. Les mesures es realitzaven amb l'ajut d'una lupa binocular de 40x (Figura 10).

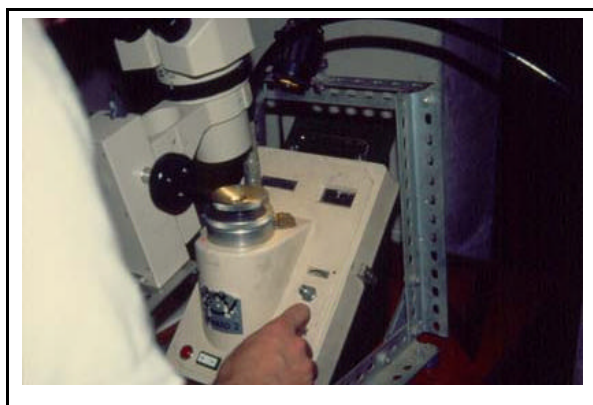


Figura 10. Mesura del potencial hídric amb la cambra de pressió Scholander

El valor de la tensió del xilema abans de tallar la planta es va assumir que corresponia a la pressió aplicada en la cambra en el moment d'aparèixer la primera gota en els vasos de xilema (Scholander i col. 1965, Koide i col. 1989).

6.6. Àrea foliar, pes i àrea específics foliars

Pel càlcul de l'àrea foliar es van fotocopiar totes les fulles de cada planta i es va procedir a l'anàlisi d'imatges a partir de la fotocòpia (els peciols van ser exclosos), mitjançant un escanner connectada a un ordinador. Les imatges capturades eren digitalitzades per un programa (MIP, desenvolupat pel laboratori d'anàlisi d'imatges dels SCT de la UB) que permetia calcular diferents paràmetres sobre els objectes digitalitzats, entre els quals hi ha l'àrea.

Les fulles eren posades a l'estufa durant uns 3-6 dies a 70-80 °C i després es mesurava el seu pes sec (també excloïen els peciols).

Els altres dos paràmetres foliars són fruit d'un càlcul entre el pes sec i l'àrea foliar:

- Pes específic foliar (SLW) = Pes sec/Àrea foliar en mg/cm²
- Àrea específica foliar (SLA) = Àrea foliar/Pes sec en cm²/mg

6.7. Estadística

Les anàlisis estadístiques es van realitzar amb el paquet informàtic “Enterprise Guide” (SAS Institute Inc., World Headquarters and SAS Americas SAS Campus Drive Cary, NC 27513 USA).

RESULTATS

1. Respostes a l'estrès hídric en tres varietats de gira-sol

1.1. Paràmetres de creixement

S'han observat algunes diferències de creixement entre les tres varietats escollides de gira-sol. La varietat Solmax és la que mostrava un creixement més ràpid i una major alçada del brot, les fulles també eren les que tenien una major superfície. La varietat Enano era la que tenia un creixement més lent i una menor alçada del brot, tot i que també tenia una gran àrea foliar, com en el cas de la varietat Solmax. Seguia en creixement la varietat Tesoro però les fulles es mostraven més espaiades.

	Solmax cv.	Enano cv.	Tesoro cv.
Pes sec arrels (g)	1.2	1.3	1.0
Pes sec brot (g)	8.8	8.1	6.5
Àrea foliar (cm ²)	3250	2225	2150
SLW (mg/cm ²)	2.8	3.8	3.0
SLA (cm ² /mg)	0.37	0.27	0.34
Estomes/mm ² anv.	340	727	223
Estomes/mm ² rev.	435	913	465

Taula 1. Paràmetres foliars de tres varietats de gira-sol

1.2. Intercanvi de gasos

Pel que fa a la fotosíntesi de planta sencera, el grup de plantes control de la varietat Solmax es mantenia constant durant el dia entorn als 7 $\mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2\cdot\text{s}$ a un PAR de 300 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$. La retirada de la solució nutritiva a parts del sistema radical que fins aleshores aportaven fins al 60% de l'absorció d'aigua no semblaven tenir un efecte significatiu en la fotosíntesi, si bé s'observava una disminució en el cas en què la part afectada corresponia al 80% de l'absorció total d'aigua per la planta (abans de l'estrés) fins arribar a 6 $\mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2\cdot\text{s}$. En els gràfics només es mostren les mitjanes de totes les plantes

estressades (Figura 11). Cal esmentar que les mesures de bescanvi de gasos eren en continu i l'àrea foliar es mesurava al final del dia de mesures.

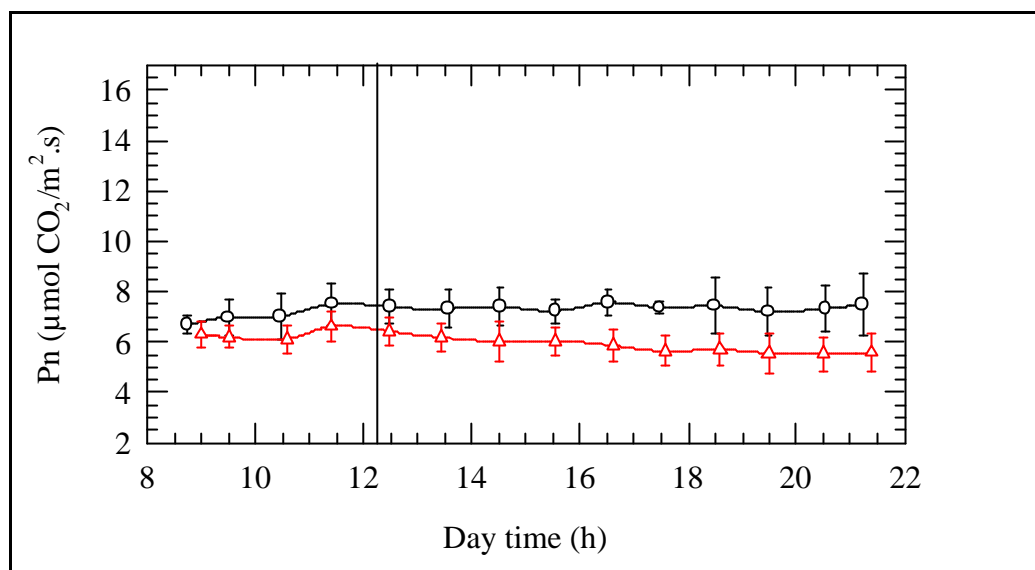


Figura 11. Pn en resposta a estrès hídric (cv. Solmax)
(n = 3 ± s.e., **■** control, **▲** estrès hídric aplicat a una part de l'arrel).
La línia vertical indica l'inici de l'aplicació de l'estrès en tots els gràfics.

En la varietat Enano, estressos que afectaven fins al 60% de la massa radical tampoc tenen efecte en la fotosíntesi, que estava entorn els 9 µmol CO₂/m².s com el grup de plantes control (Figura 12).

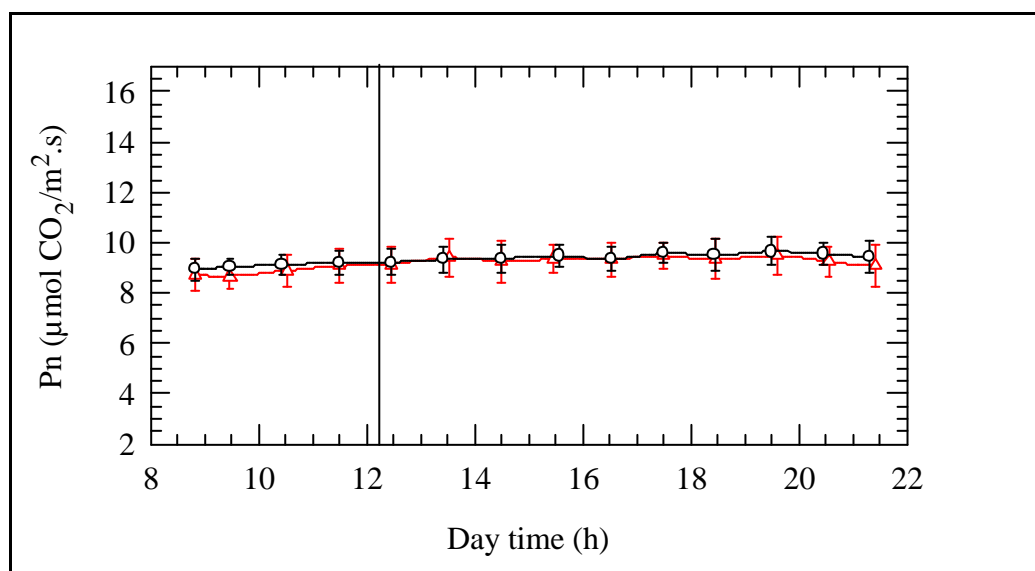


Figura 12. Pn en resposta a estrès hídric (cv. Enano)
(n = 3 ± s.e., **■** control, **▲** estrès hídric aplicat a una part de l'arrel).

En la varietat Tesoro la fotosíntesi també es mantenia entorn dels $9 \mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2\cdot\text{s}$ en les plantes control. Les plantes amb estrès hídric a una meitat del sistema radical no van mostrar diferències respecte el control, inclús quan la restricció hídrica afectava a una massa d'arrels que pràcticament aportava el 75% de l'absorció d'aigua (Figura 13).

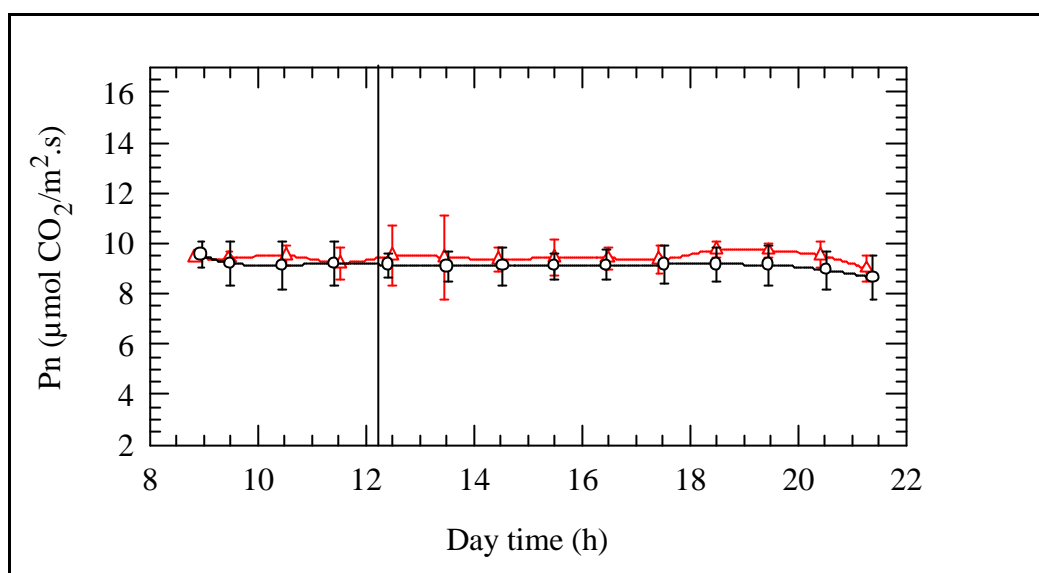


Figura 13. Pn en resposta a estrès hídric (cv. Tesoro)

($n = 3 \pm \text{s.e.}$, **■** control, **■** estrès hídric aplicat a una part de l'arrel).

La transpiració en la varietat Solmax es mantenia entorn els $2 \text{ mmol H}_2\text{O}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ (Figura 14). Només quan l'estrès hídric aplicat afectava al 80% de l'absorció d'aigua s'observava una forta disminució en la transpiració (no graficat).

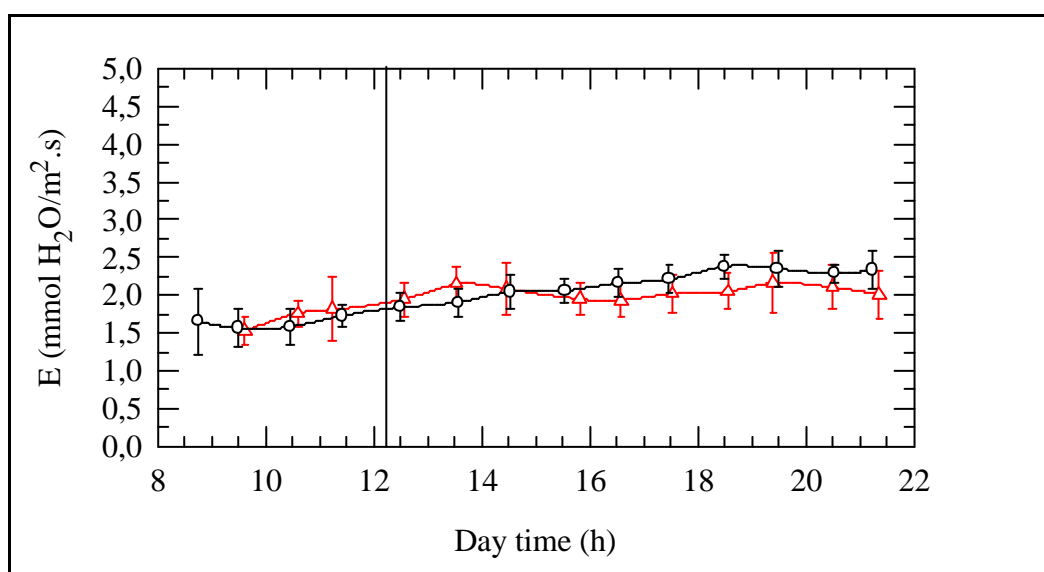


Figura 14. E en resposta a estrès hídric (cv. Solmax)

($n = 3 \pm \text{s.e.}$, **■** control, **■** estrès hídric aplicat a una part de l'arrel).

En la varietat Enano la transpiració no es veia modificada per estressos hídrics que afectaven entre el 50% i 60% de la massa radical mantenint-se entorn els 2-3 mmol H₂O/m².s a l'igual que les plantes control (Figura 15).

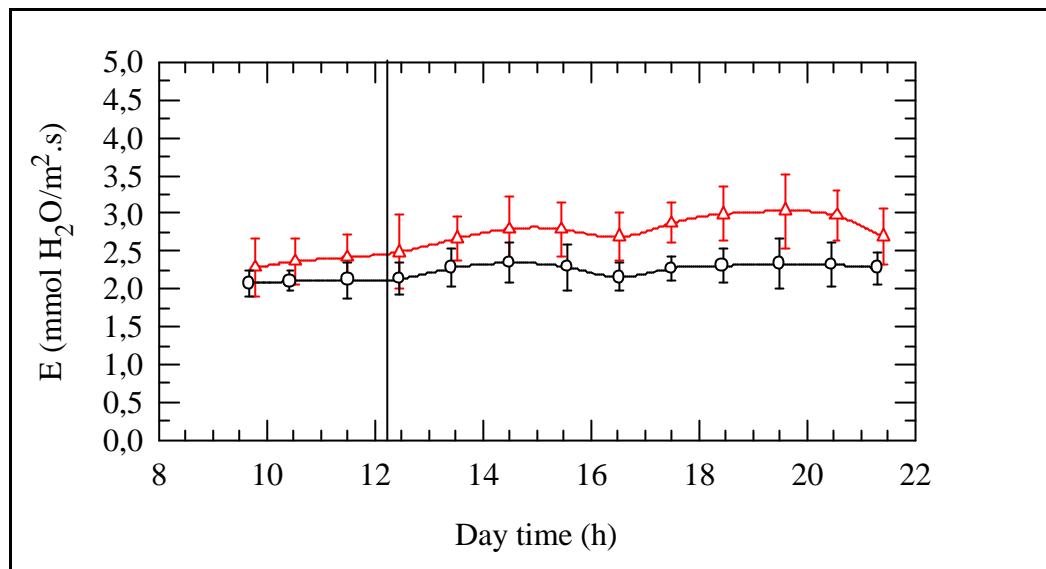


Figura 15. E en resposta a estrès hídric (cv. Enano)
(n = 3 ± s.e., **j** control, **r** estrès hídric aplicat a una part de l'arrel).

En la varietat Tesoro la transpiració de les plantes sotmeses a estrès hídric tampoc es veia alterada inclús afectant al 75% de l'absorció d'aigua. La taxa de transpiració se situava en un valor de 2.5 mmol H₂O/m².s, igual que en les plantes control (Figura 16).

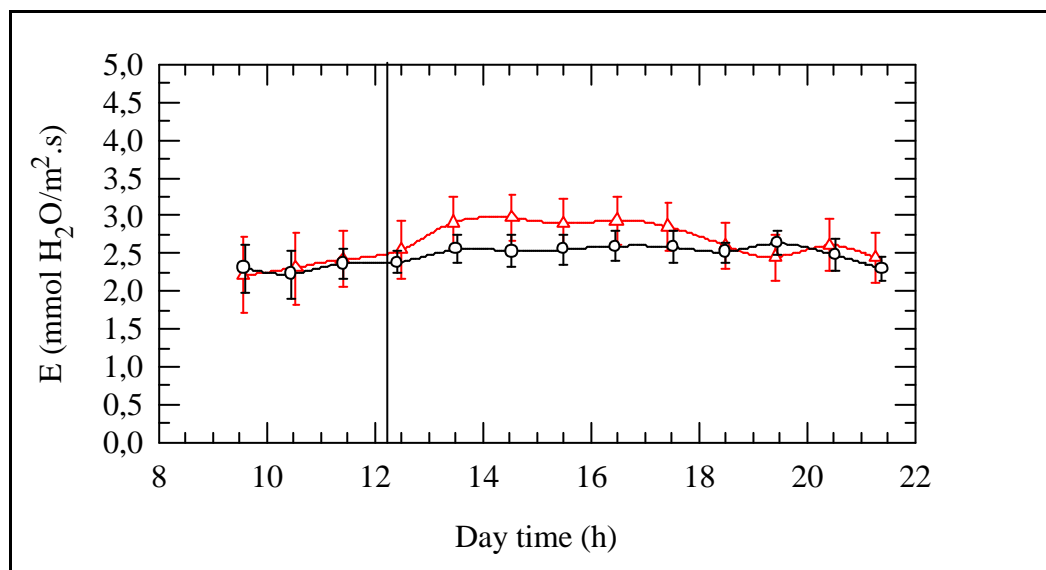


Figura 16. E en resposta a estrès hídric (cv. Tesoro)
(n = 3 ± s.e., **j** control, **r** estrès hídric aplicat a una part de l'arrel).

1.3. Respiració radical

En la varietat Solmax la respiració radical del grup de plantes control augmentava progressivament durant el dia de mesures. L'efecte de l'estrès hídric sobre la part radical afectada implicava una ràpida davallada de la taxa de respiració radical fins un valor basal igual per les tres varietats que se situava entorn als 0.02-0.04 $\mu\text{mol CO}_2/\text{g pes sec.s}$ (Figura 17). La part radical complementària a l'afectada si bé augmentava la seva taxa de respiració, no era capaç de compensar la seva pèrdua, probablement i com es discutirà més endavant, per la disminució de la concentració dels principals ions (K^+ i NO_3^-) en la solució nutritiva a causa de l'absorció per les mateixes arrels.

Cal recordar que les taxes de respiració radical es mesuraven en continu i el pes sec de les arrels, al qual s'han referit aquestes taxes, s'obtenien al final del dia de mesures.

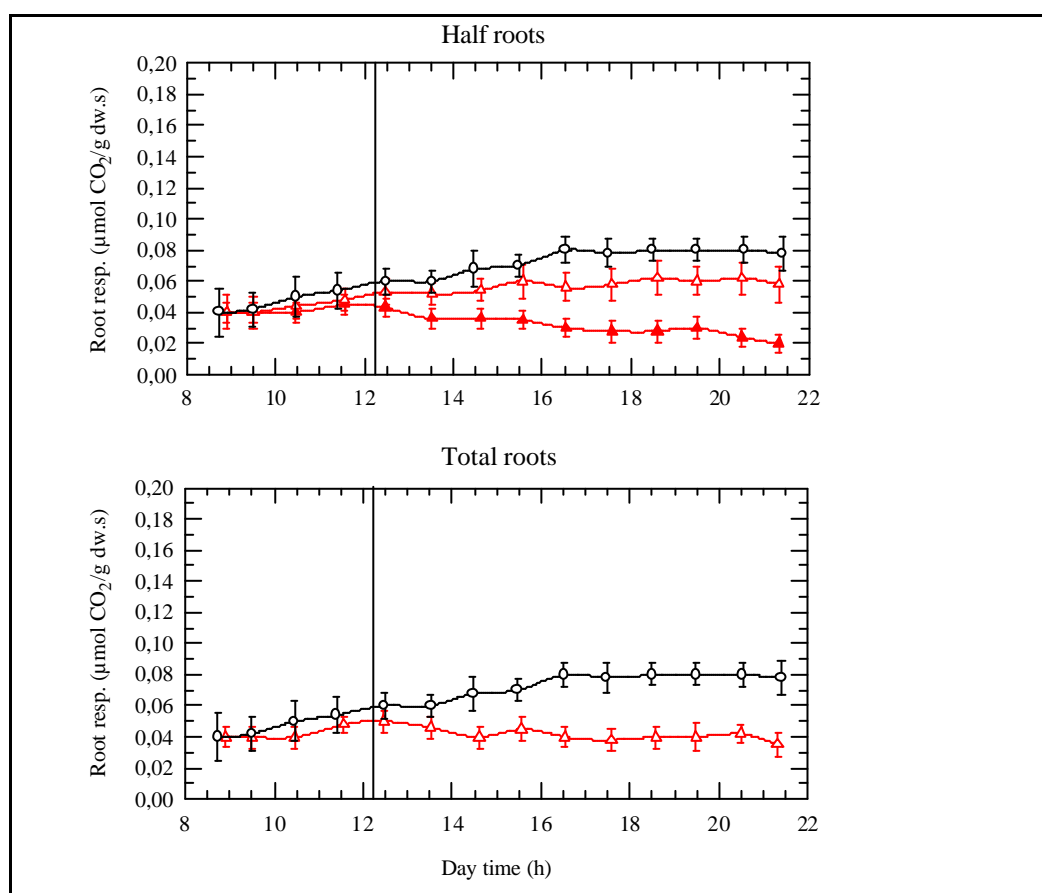


Figura 17. Respiració radical en resposta a estrès hídric (cv Solmax)

($n = 3 \pm \text{s.e.}$, **i** control, **r** estrès hídric-no afectades, **p** estrès hídric-afectades en gràfic superior, **i** control, **r** estrès hídric en gràfic inferior).

La respiració radical del grup de plantes control en la varietat Enano augmentava fins arribar a un valor de $0.09 \mu\text{mol CO}_2/\text{g pes sec.s}$ a les 14:00 hores i que es mantenia fins al final del dia de mesures. L'efecte de l'estrès hídric sobre la part radical afectada i la seva complementària era el mateix que el descrit anteriorment per la varietat Solmax (Figura 18).

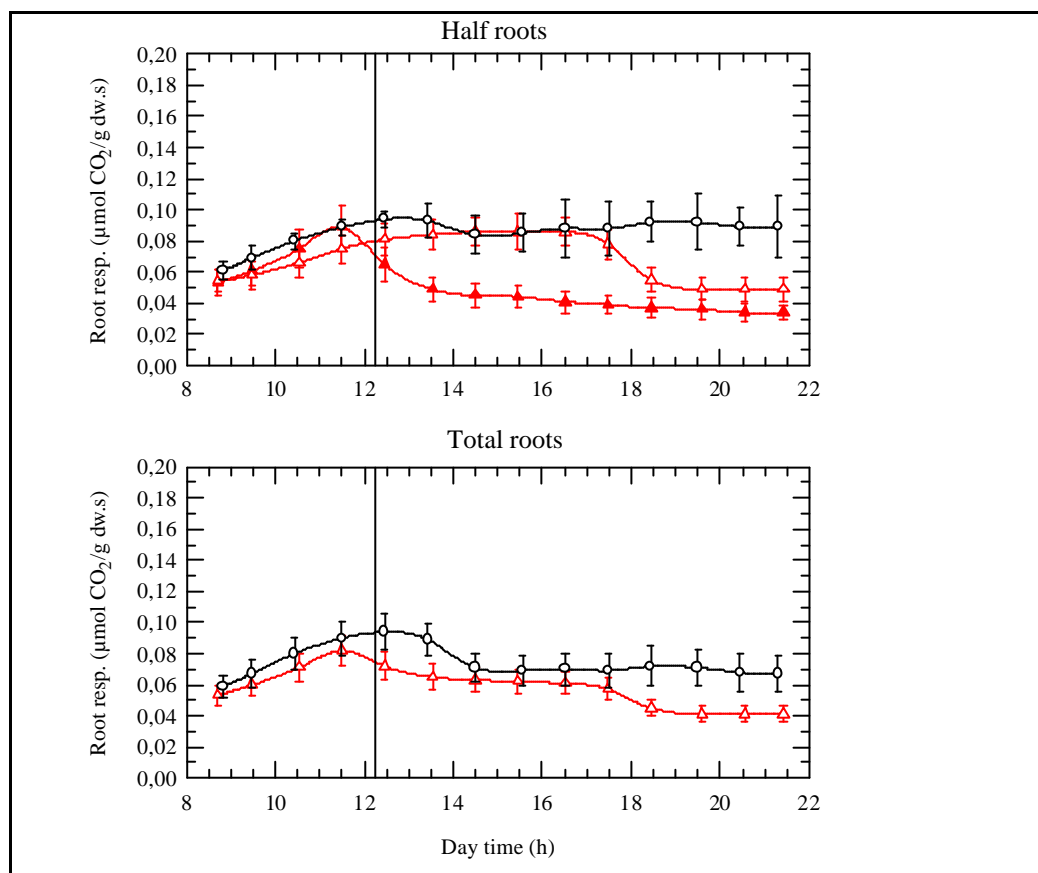


Figura 18. Respiració radical en resposta a estrès hídric (cv Enano)

($n = 3 \pm \text{s.e.}$, **i** control, **r** estrès hídric-no afectades, **p** estrès hídric-afectades en gràfic superior, **i** control, **r** estrès hídric en gràfic inferior).

Pel que respecta a la varietat Tesoro, la respiració del grup de plantes control no augmentava tant al llarg del dia com succeïa per les dues varietats anteriors, sinó que a partir de les 13:00 hores del dia de mesures es mantenia constant si bé amb certa tendència a la disminució. En finalitzar el dia de mesures quedava en un valor de $0.06 \mu\text{mol CO}_2/\text{g pes sec.s}$. Aquest fet era degut, com s'ha comentat anteriorment, a la disminució de la concentració iònica en la solució nutritiva que en aquest grup de plantes es va donar abans per una major taxa d'absorció de nutrients.

L'efecte de l'estrès hídric sobre les dues meitats radicals, l'afectada i la seva complementària, va ser semblant al descrit per les dues varietats anteriors: disminuint la respiració de la part radical afectada fins un valor basal de 0.02-0.04 $\mu\text{mol CO}_2/\text{g dw.s}$ al finalitzar el dia de mesures i augmentant en la part radical complementària a l'afectada per sobre dels valors de les plantes control. En aquest experiment al sumar la respiració de l'arrel afectada i la de la seva complementària s'obtenien uns valors semblants als del control, de manera que s'intuïa un efecte compensatori (Figura 19).

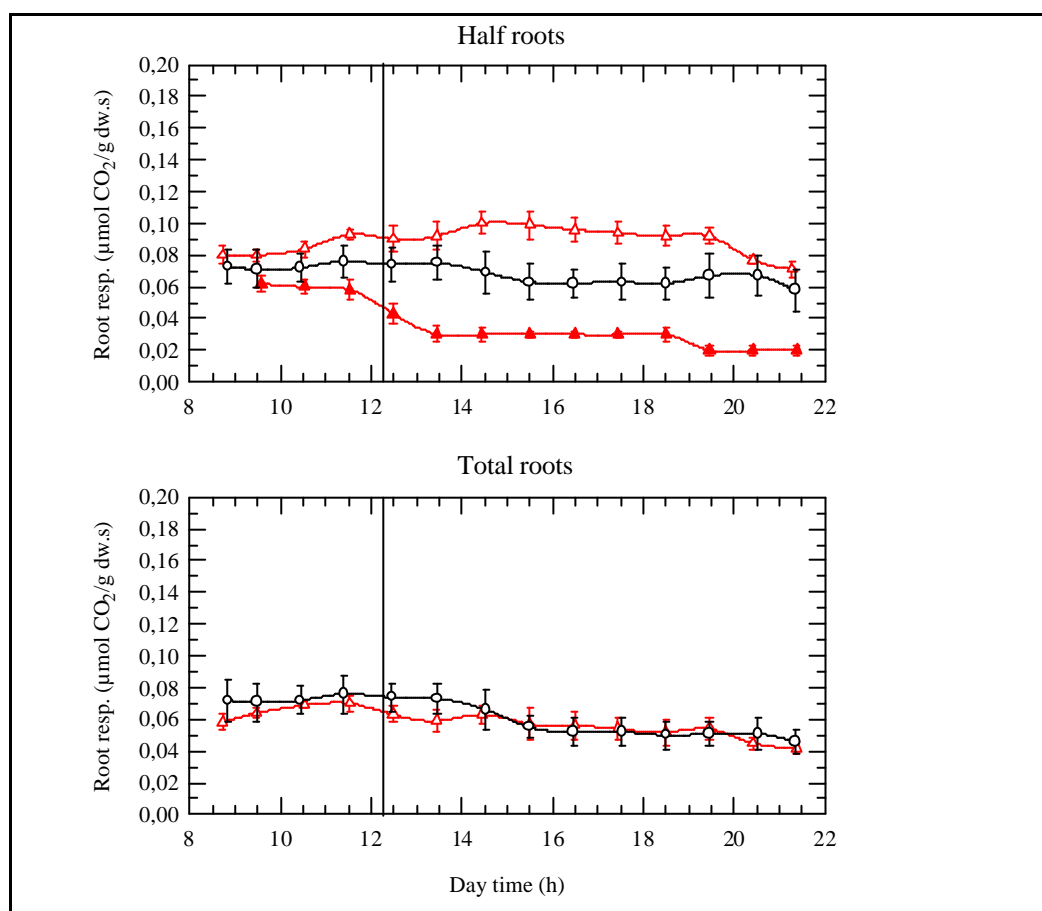


Figura 19. Respiració radical en resposta a estrès hídric (cv Tesoro)

($n = 3 \pm \text{s.e.}$, **j** control, **r** estrès hídric-no afectades, **p** estrès hídric-afectades en gràfic superior, **j** control, **r** estrès hídric en gràfic inferior).

1.4. Efecte de la disponibilitat de nutrients sobre la respiració radical

En la Figura 20 s'ha representat una planta individual i no les mitjanes per mostrar l'efecte que tenia l'estrès hídric i la supressió de K^+ i NO_3^- en la taxa de respiració radical. Observem que mentre la taxa de respiració de plantes control augmentava progressivament passant de valors inicials de 0.07 μmol

$\text{CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{ dw} \cdot \text{s}^{-1}$ al matí a valors de $0.014 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{ dw} \cdot \text{s}^{-1}$ al final del dia de mesures, les arrels afectades per estrès hídric (es retirava totalment la solució nutritiva d'una meitat radical) sofrien una davallada molt ràpida de la taxa de respiració des de l'aplicació de l'estrès (2 hores) fins un valor de $0.04 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{ dw} \cdot \text{s}^{-1}$. Per altra banda, plantes a les quals es deixava consumir completament els ions de la solució nutritiva, en el moment que s'esgotava el K^+ s'observava un cert canvi en el pendent de la taxa de respiració passant a un valor que es mantenia constant durant un temps. A l'esgotar-se posteriorment el NO_3^- es podia observar una ràpida disminució de la taxa de respiració fins arribar a un valor de $0.05 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{ dw} \cdot \text{s}^{-1}$, molt similar al que s'arribava per estrès hídric.

Teníem doncs que la resposta de la respiració radical a l'estrès hídric es podia explicar molt bé per l'eliminació de l'anió NO_3^- més que per la manca d'aigua, i que la manca del catió K^+ frenaria l'augment progressiu de la respiració que es donava en plantes amb solució nutritiva control.

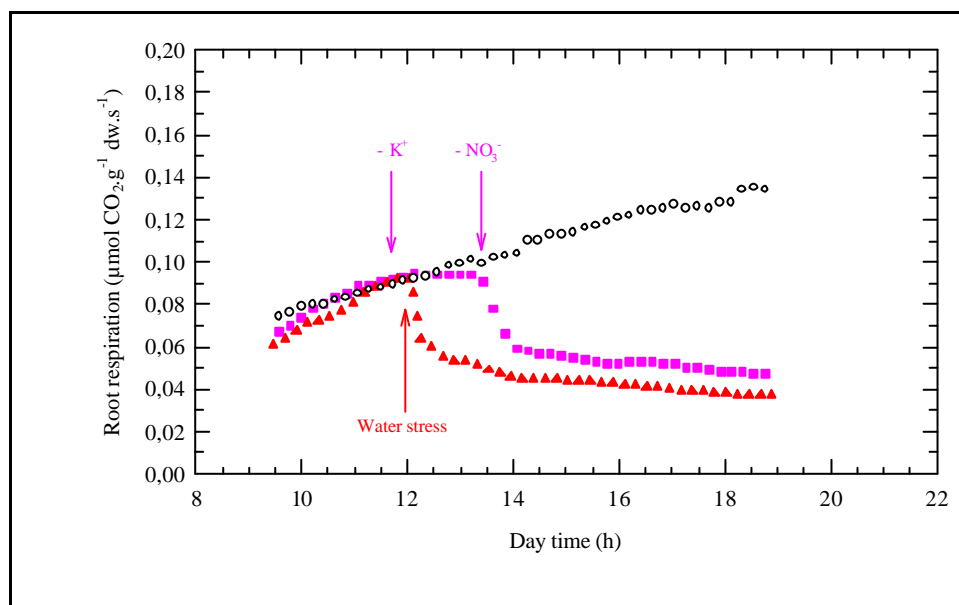


Figura 20. Efecte de l'esgotament de K^+ i NO_3^- en la respiració radical sobre diferents plantes de la varietat Solmax (○ control, ◻ control amb esgotament de K^+ i NO_3^- de la solució nutritiva, ▲ estrès hídric). Les fletxes indiquen el moment en què les concentracions de K^+ i NO_3^- a la solució nutritiva arribaven a zero pel propi consum de la planta.

2. Respostes a l'estrès hídric, fred radical, dèficit de NO_3^- i d'ions en cv. Solmax

EXPERIMENT 1: respostes a l'estrès hídric i fred radical

2.1. Intercanvi de gasos

La fotosíntesi de plantes control del cv. Solmax es mantenia constant al llarg del dia entorn a $18 \mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ a un PAR de $500 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$. L'estrès hídric aplicat a una meitat radical no provocava cap efecte sobre la fotosíntesi. El fred radical tampoc afectava la fotosíntesi de la planta, malgrat que a partir de les 5 hores des de l'aplicació de l'estrès a una meitat radical, s'insinuava una lleugera disminució fins a $16 \mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ (Figura 21).

Cal recordar que les mesures de bescanvi de gasos eren en continu i l'àrea foliar es mesurava al final del dia de mesures.

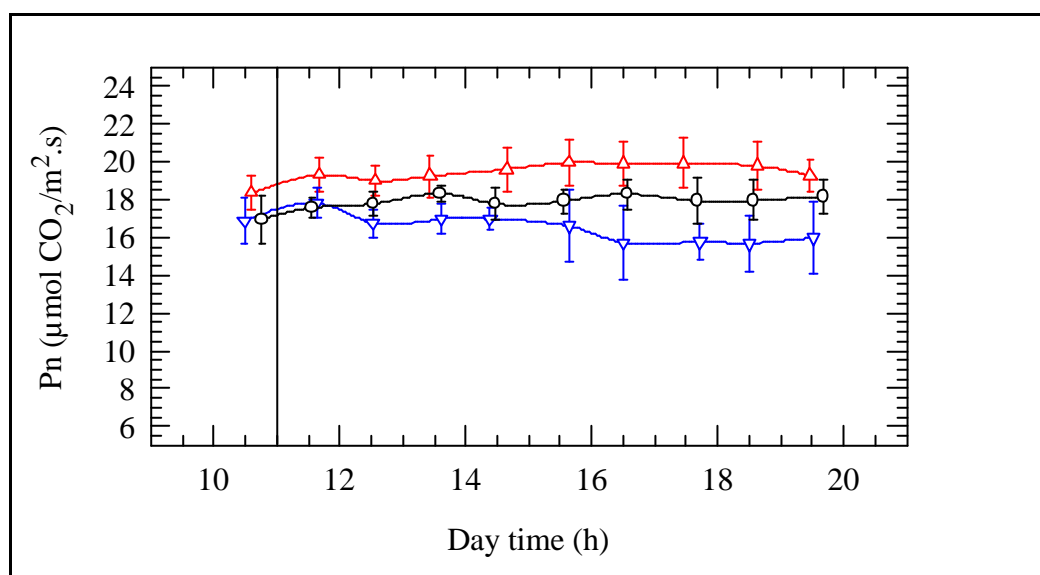


Figura 21. Pn en resposta a estrès hídric i fred radical

($n=4 \pm \text{s.e.}$, **■** control, **■** estrès hídric, **■** fred radical).

La línia vertical indica l'inici de l'aplicació de l'estrès en tots els gràfics.

La Pn a diferents hores del dia, expressada com a percentatge de la Pn de la mateixa planta abans d'iniciar el tractament, mostra una disminució a partir de les 5 hores des de l'aplicació de l'estrès, però que no arriba ser estadísticament significativa (Taula 2).

hora	Ctrl	hídric	fred
12:30	103,3 a	99,7 a	97,7 a
16:00	104,7 a	103 a	91,9 a
19:00	102,9 a	102,5 a	91,3 a

Taula 2. Efecte de l'estrès hídric i fred radical en la Pn de planta sencera

En arrels control, afectades o complementàries de les afectades per manca d'aigua i fred radical, a diferents temps des de l'inici de l'estrès, que es produeix a les 11:00. Les dades provenen de monitoritzar les diverses plantes al llarg d'aquest temps i els valors que es mostren corresponen al percentatge d'activitat de cada arrel respecte la mateixa arrel abans d'iniciar l'estrès.

Aquesta descripció s'utilitza en les taules posteriors d'aquest experiment (cv. Solmax en hidropònic). Es mostra les agrupacions segons un test multirang de Duncan, amb $\alpha = 0.05$ i $3 < n < 6$.

La transpiració de plantes control es mantenia força constant entre 3 i 3.5 mmol H₂O/m².s al llarg del dia de mesures (Figura 22). L'estrès hídric no mostrava cap efecte sobre el flux transpiratori (Taula 3). En canvi l'aplicació de fred radical a una meitat del sistema radical mostrava un comportament similar a l'obtingut per la fotosíntesi; una lleugera disminució a partir de les 2 hores de l'aplicació de l'estrès tot i que no arribés a ser significativa (Taula 3).

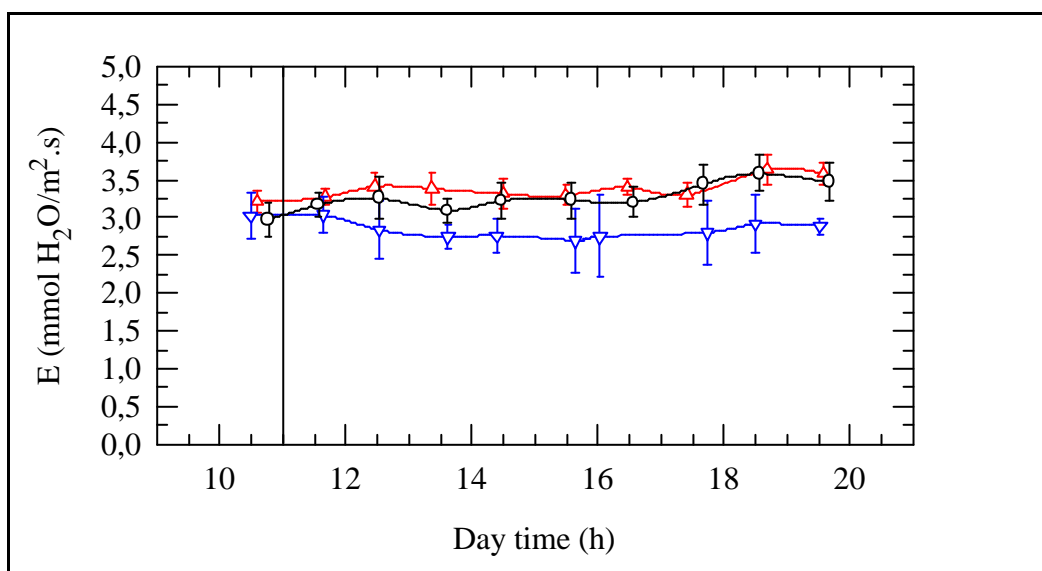


Figura 22. E en resposta a estrès hídric i fred radical

(n=4 ± s.e., **■** control, **▲** estrès hídric, **▼** fred radical).

hora	Ctrl	hídric	fred
12:30	104,7 a	103,9 a	107,3 a
16:00	109,8 a	108,5 a	105,3 a
19:00	114,3 a	116,7 a	110,2 a

Taula 3. Efecte de l'estrès hídric i fred radical en la E de planta sencera

Es mostra les agrupacions segons un test multirang de Duncan, amb $\alpha = 0.05$ i $3 < n < 6$.

Malgrat que no es mostra el gràfic, la conductància estomàtica seguia el mateix comportament pels tres grups de plantes (control, estrès hídric i fred radical) i es mantenia constant al llarg del dia de mesures en un valor de $300 \text{ mmol H}_2\text{O/m}^2\cdot\text{s}$ sense que l'estrès hídric i el fred radical provoquessin cap efecte sobre la Gs.

2.2. Respiració radical

La respiració radical es mesurava en continu i s'ha normalitzat referint la producció de CO_2 al PS d'arrel que es va obtenir al finalitzar el dia de mesures.

Les arrels de plantes control mostraven un lleuger augment en la taxa de respiració radical i passaven de $0.08 \text{ } \mu\text{mol CO}_2/\text{g dw}\cdot\text{s}$ a $0.10 \text{ } \mu\text{mol CO}_2/\text{g dw}\cdot\text{s}$ al finalitzar el dia de mesures. En les plantes afectades per estrès hídric, la taxa de respiració de la meitat radical afectada per l'estrès disminuïa fins situar-se al cap de 3 hores de l'aplicació del mateix en un valor de $0.04 \text{ } \mu\text{mol CO}_2/\text{g dw}\cdot\text{s}$ que es mantenia constant fins al final del dia de mesures. La meitat radical complementària a l'estrès hídric mostrava un augment de la taxa de respiració per sobre de les plantes control fins a situar-se al final del dia de mesures en un valor de $0.12 \text{ } \mu\text{mol CO}_2/\text{g dw}\cdot\text{s}$. L'efecte del fred radical sobre les dues meitats radicals, l'afectada i la complementària, era el mateix que l'obtingut per l'estrès hídric (Figura 23).

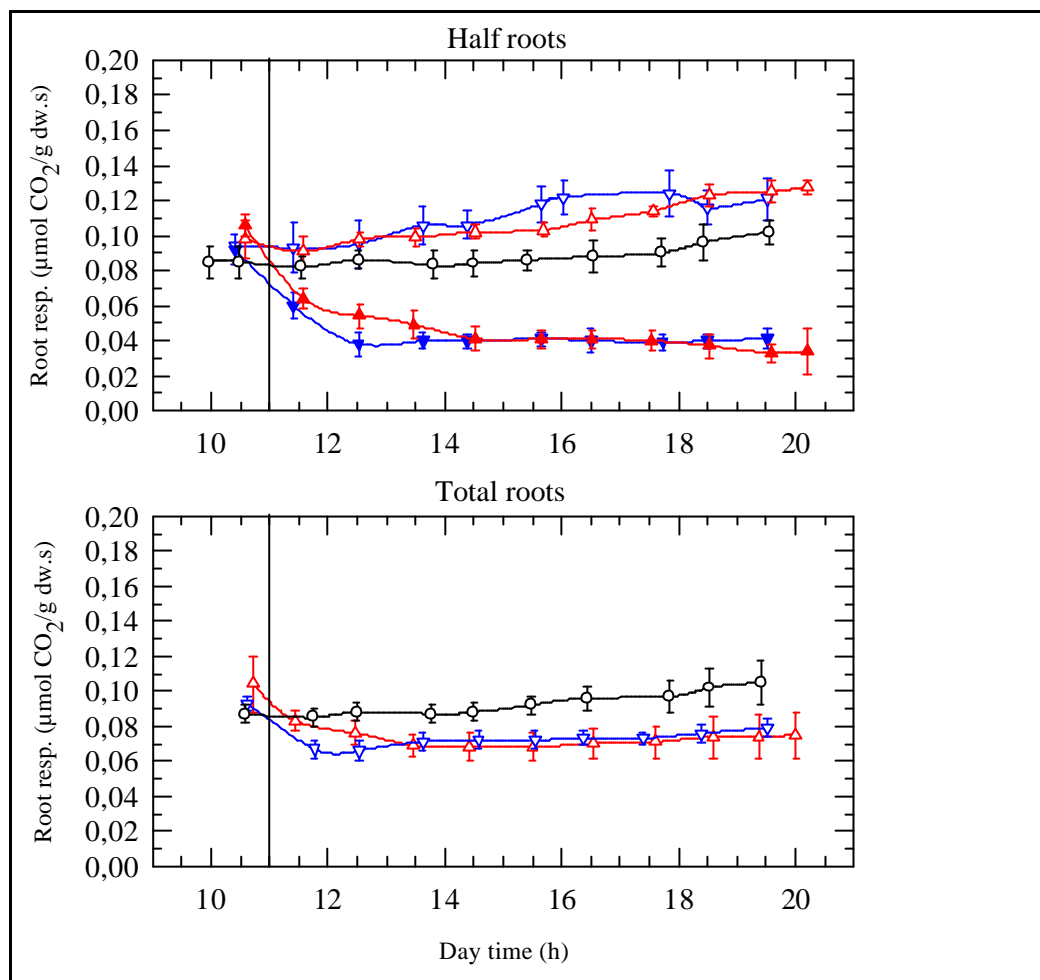


Figura 23. Respiració radical en resposta a estrès hídric i fred radical (n=4 ± s.e., **i** control, **r** estrès hídric-no afectades, **p** estrès hídric-afectades, **s** fred radical-no afectades, **q** fred radical-afectades en gràfic superior, **i** control, **r** estrès hídric, **s** fred radical en gràfic inferior).

Tant l'estrès hídric com el fred radical provocaven una disminució significativa de la taxa de respiració en la part radical afectada per l'estrès. La diferència és que aquesta disminució es produïa més ràpidament, a les 12:30 h (una hora i mitja després de l'aplicació de l'estrès), quan l'estrès aplicat era el fred. Només l'arrel no afectada per fred radical compensava a les 19:00 h i tenia una taxa de respiració radical superior al valor de les plantes control (Taula 4).

hora	Ctrl	hídric	fred	NAF hídric	NAF fred
12:30	102,7 a	79,4 a	42,1 b	95,2 a	101,4 a
16:00	102,6 a	47,2 b	46,1 b	100,8 a	115 a
19:00	106,5 b	41,4 c	46,5 c	113,2 ab	126,1 a

Taula 4. % de respiració radical respecte al valor anterior a l'aplicació de l'estrès
Es mostra les agrupacions segons un test multirang de Duncan, amb $\alpha = 0.05$
i $3 < n < 6$. NAF indica la meitat radical no afectada per l'estrès.

En aquestes mesures no es produïa esgotament de nutrients ja que es renovava la solució nutritiva cada 2 hores a l'analitzar l'absorció ònica, a diferència de les mesures de l'experiment anterior on s'esgotaven principalment els ions K^+/NO_3^- , d'aquí provenen les observacions dels canvis en les corbes de respiració radical. Això possibilitava que els nutrients no fossin el factor limitant per augmentar la taxa d'absorció d'ions.

2.3. Absorció d'aigua i d'ions

L'absorció d'aigua en plantes control augmentava progressivament al llarg del dia des de 1500 a 2200 mmol H_2O/h . g dw al final del dia de mesures (Figura 24).

L'estrès hídric mostrava un clar efecte en la part radical complementària a l'estrès, que augmentava de manera immediata l'absorció d'aigua des de l'aplicació de l'estrès, fins arribar al final del dia a valors de 4000 mmol H_2O/h . g dw, un 260% respecte l'absorció d'aigua a l'inici del dia de mesures (Taula 5). De la part radical afectada per aquest tipus d'estrès no es tenen dades, ja que el dèficit hídric es provocava retirant completament la solució nutritiva.

El fred radical provocava una disminució de l'absorció d'aigua en la part radical afectada de manera immediata a l'aplicació de l'estrès i se situava en valors entorn als 1000 mmol H_2O/h . g dw. L'arrel complementària responia amb l'augment d'absorció d'aigua fins arribar a valors de 4000 mmol H_2O/h . g dw al finalitzar el dia de mesures; de la mateixa manera que ho feien les arrels complementàries de l'estrès hídric i se suplia d'aquesta manera la manca d'activitat de les arrels afectades directament pels estressos (Taula 5).

El sistema radical complet de la planta mostrava una compensació del 100% en l'absorció d'aigua enfront a l'estrès induït per fred sobre una part del sistema radical. En canvi aquesta compensació no arribava a ser del 100% per l'estrès hídric, ja que es tractava d'un estrès més sever a l'anul·lar totalment l'absorció d'aigua en la part radical afectada.

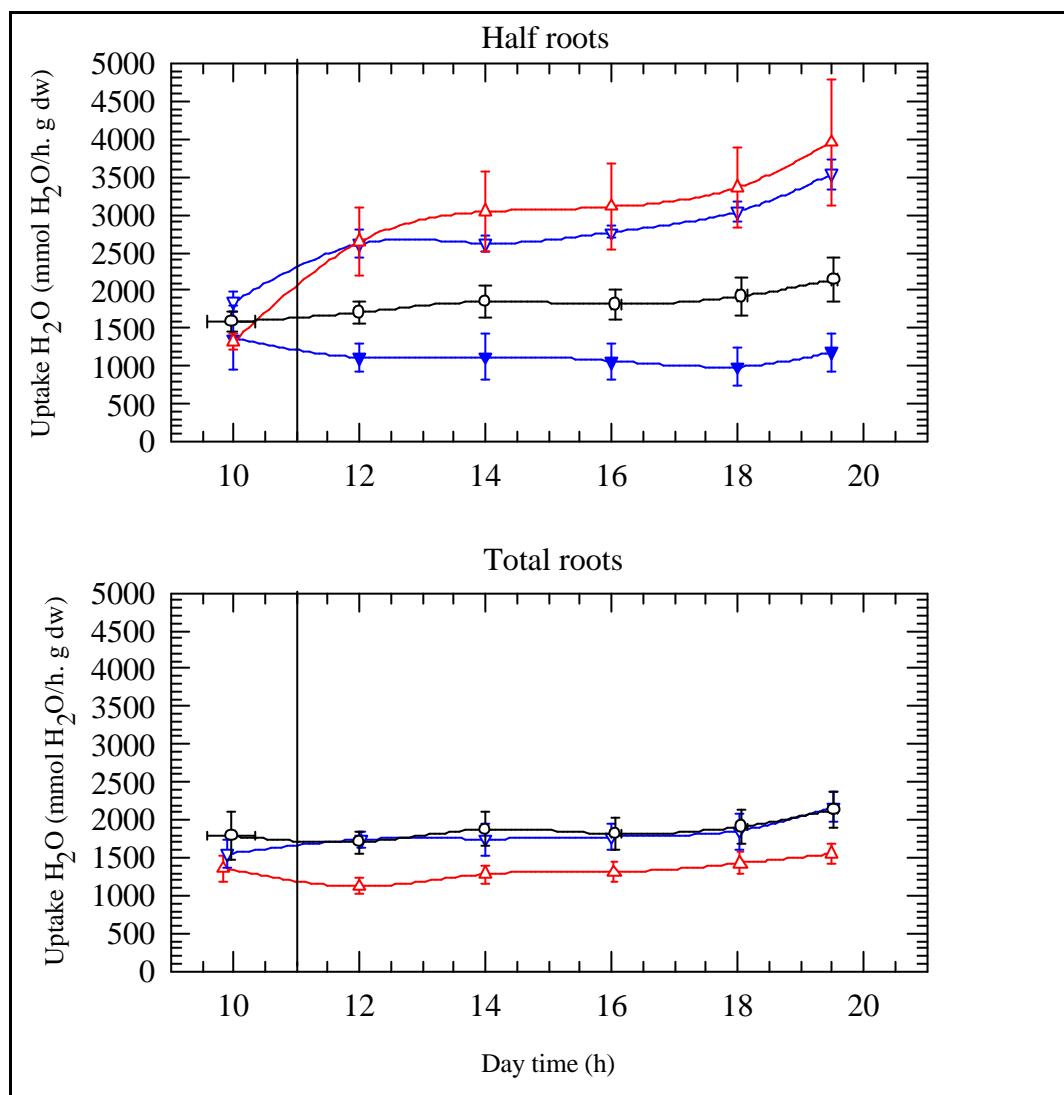


Figura 24. Absorció d'aigua en resposta a estrès hídric i fred radical (n=4 ± s.e., **i** control, **r** estrès hídric-no afectades, **s** fred radical-no afectades, **q** fred radical-afectades en gràfic superior, **i** control, **r** estrès hídric, **s** fred radical en gràfic inferior).

hora	Ctrl	hídric	fred	NAF hídric	NAF fred
12:30	107,7 b		82,5 c	211,7 a	171,8 a
16:00	110,2 b		78,9 c	230,1 a	183,1 a
19:00	130,2 b		80,8 c	258,1 a	201,8 a

Taula 5. % d'absorció d' H_2O respecte el valor anterior a l'aplicació de l'estrès
Es mostra les agrupacions segons un test multirang de Duncan, amb $\alpha = 0.05$
i $3 < n < 6$. NAF indica la meitat radical no afectada per l'estrès.

L'absorció de K^+ en plantes control es mantenia entre 110 i 150 $\mu\text{mol } K^+/\text{h. g dw}$ i mostrava unes oscil·lacions al llarg del dia de mesures. L'estrès hídric mostraven un efecte compensatori en l'arrel no afectada i augmentava l'absorció de K^+ des de 150 fins a 230 $\mu\text{mol } K^+/\text{h. g dw}$ al finalitzar el dia de mesures. De la mateixa manera el fred radical provocava un augment en l'absorció de K^+ en les arrels no afectades com en el cas de l'estrès hídric. La part radical afectada pel fred disminuïa de forma immediata l'absorció de K^+ fins situar-se en valors que oscil·laven entre 50 i 100 $\mu\text{mol } K^+/\text{h. g dw}$ (Figura 25).

La suma de les taxes d'absorció de K^+ per les dues parts de l'arrel era equivalent a les control de manera que el sistema radical complet de la planta mostrava una compensació pràcticament total en l'absorció de K^+ al finalitzar el dia de mesures tant pel que fa a l'estrès hídric com pel que fa al fred radical.

Pel que fa a les arrels complementàries, tant l'estrès hídric com el fred radical augmentaven la taxa d'absorció de K^+ , tot i que calia esperar 8 hores des de l'aplicació de l'estrès perquè aquest augment per damunt de les control fos significatiu (Taula 6).

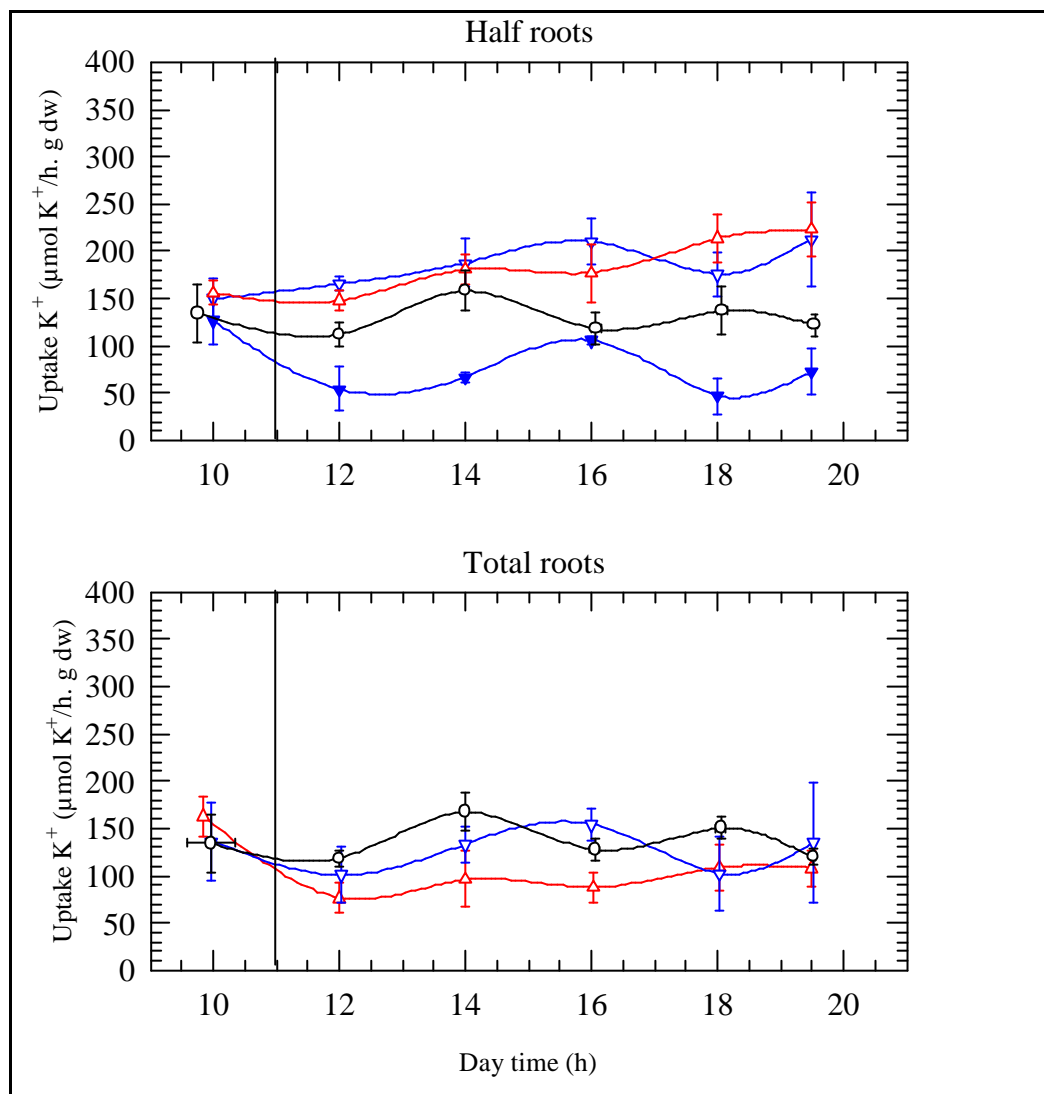


Figura 25. Absorció de K⁺ en resposta a estrès hídric i fred radical (n=4 ± s.e., **i** control, **r** estrès hídric-no afectades, **s** fred radical-no afectades, **q** fred radical-afectades en gràfic superior, **i** control, **r** estrès hídric, **s** fred radical en gràfic inferior).

hora	Ctrl	hídric	fred	NAF hídric	NAF fred
12:30	100,4 a		33,1 b	118,6 a	122 a
16:00	108,2 a		54,3 b	119,7 a	123,8 a
19:00	104 b		51,2 c	139,2 a	138,16 a

Taula 6. % d'absorció de K⁺ respecte el valor anterior a l'aplicació de l'estrès. Es mostra les agrupacions segons un test multirang de Duncan, amb α = 0.05 i 3<n<6. NAF indica la meitat radical no afectada per l'estrès.

L'absorció de NO_3^- seguia una tendència semblant que l'explicat anteriorment pel K^+ . Així tenim que el grup de plantes control mostrava unes oscil·lacions al llarg del dia en la taxa d'absorció de NO_3^- entre 200 i 350 $\mu\text{mol NO}_3^-/\text{h. g dw}$ (Figura 26).

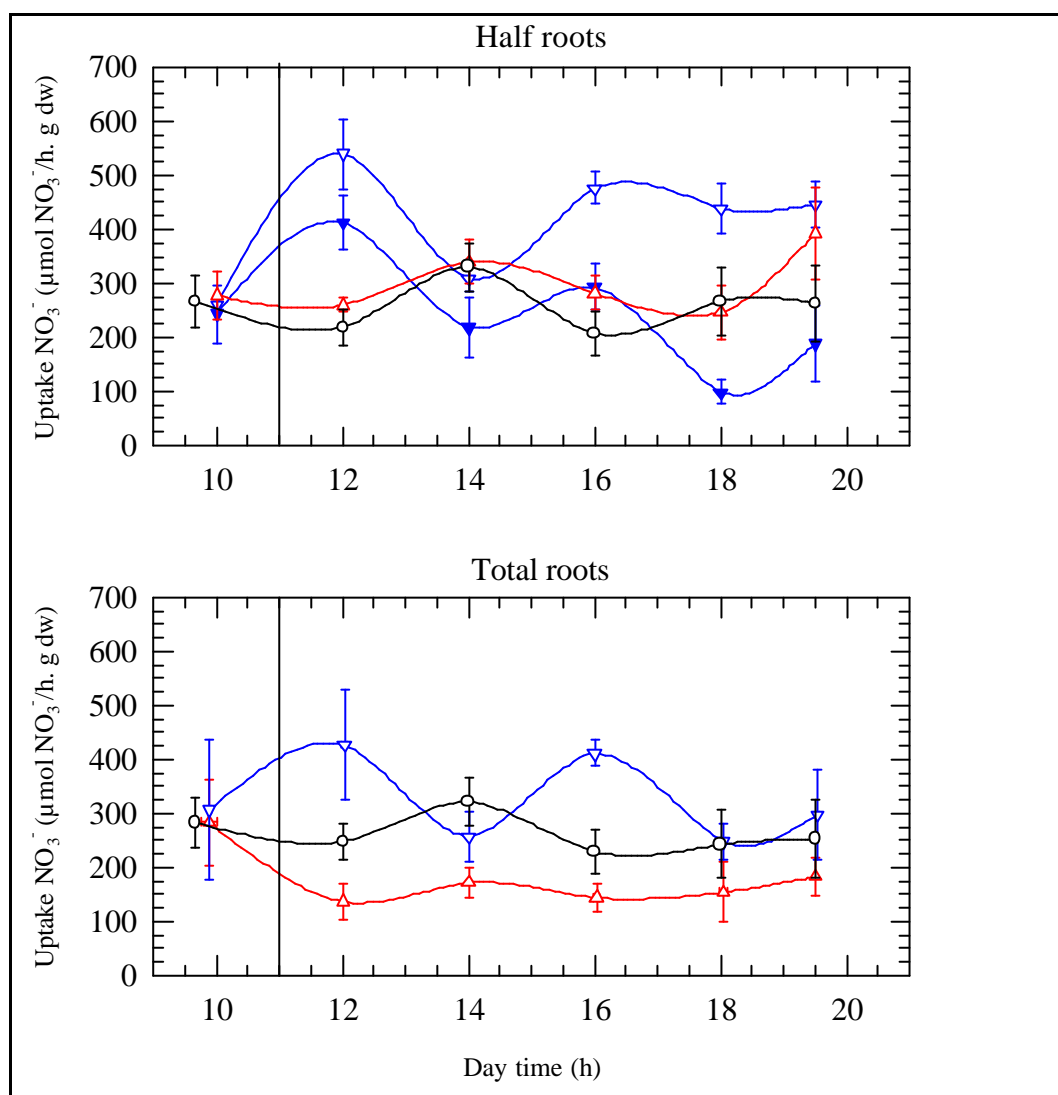


Figura 26. Absorció de NO_3^- en resposta a estrès hídric i fred radical ($n=4 \pm \text{s.e.}$, **i** control, **r** estrès hídric-no afectades, **s** fred radical-no afectades, **q** fred radical-afectades en gràfic superior, **i** control, **r** estrès hídric, **s** fred radical en gràfic inferior).

L'estrès hídric no semblava tenir cap efecte sobre l'absorció de NO_3^- de les arrels complementàries fins al final del dia de mesures a les 19:00 h en què s'observava un augment i s'arribava a valors de 400 $\mu\text{mol NO}_3^-/\text{h. g dw}$, tot i no ser significativament diferent a les plantes control (Taula 7). La part radical afectada per fred mostrava una tendència a la disminució de l'absorció de NO_3^-

tot i no arribar a diferenciar-se dels valors de les plantes control, mentre que la part radical complementària (no afectada) augmentava l'absorció fins a 550 $\mu\text{mol NO}_3^-/\text{h. g dw}$. Aquest augment de l'absorció de nitrats provocat en les arrels complementàries és superior als valors de les plantes control en les hores immediates a la seva aplicació, fins a les 16:00 h. A partir d'aquí ja no s'observaven diferències significatives amb les plantes control (Taula 7).

L'absorció de NO_3^- de la planta sencera (suma de la part afectada més la no afectada) mostrava una davallada produïda per l'estrès hídric en què s'intueix una tendència a la recuperació cap al final del dia de mesures. En el cas del fred radical s'observen valors per damunt del control en algunes parts del dia i finalitzava amb taxes semblants al control, amb valors situats entre 200 i 300 $\mu\text{mol NO}_3^-/\text{h. g dw}$, a l'igual que a l'iniciar el cicle de mesures.

hora	Ctrl	Ctrl	fred	NAF hídric	NAF fred
12:30	102,2 b		126,7 ab	115,6 ab	148,4 a
16:00	110,4 b		110,4 b	116,9 ab	139,7 a
19:00	121,7 ab		72,5 b	145,7 ab	180,1 a

Taula 7. % d'absorció de NO_3^- respecte el valor anterior a l'aplicació de l'estrès
Es mostra les agrupacions segons un test multirang de Duncan, amb $\alpha = 0.05$
i $3 < n < 6$. NAF indica la meitat radical no afectada per l'estrès.

Relacionant l'absorció d'aigua a diferents temps després de l'aplicació de l'estrès hídric o fred radical respecte el seu nivell d'absorció, moments abans de l'aplicació de l'estrès, s'obtenia que la part radical no afectada per l'estrès hídric augmentava de manera molt ràpida el percentatge d'absorció d' H_2O de manera proporcional al percentatge d'arrel afectada (tant pel que fa en pes sec com en percentatge funcional d'absorció moments abans de l'aplicació del mateix), de manera que gairebé es mantienien els valors totals d'absorció d' H_2O del sistema radical complet respecte el grup de plantes control. Quan l'estrès aplicat era fred radical, el qual no anul·lava totalment l'absorció d' H_2O per part del sistema radical afectat, la part afectada disminuïa l'absorció de manera immediata (no s'anul·lava); mentre que la part radical no afectada augmentava en la part proporcional el percentatge d'aigua deixada d'absorbir pel sistema radical afectat. Es tractava d'un estrès menys sever, en el qual la totalitat

d'aigua absorbida en percentatge respecte als instants previs a l'aplicació de l'estrès, era suplida per la part radical no afectada en la mateixa mesura que la part radical afectada en deixava d'absorbir i es mantenia en els mateixos nivells globals que les plantes control.

Pel que respecta a l'absorció de K^+ en situació d'estrès hídric la meitat radical complementària era capaç de suplir totalment la mancança d'absorció d'aquesta ió per part de la part radical privada del mateix al finalitzar el dia de mesures (8-9 hores des de l'aplicació de l'estrès).

Quan l'estrès radical era per fred s'observava la mateixa resposta de suplir la pèrdua d'absorció de K^+ per part del sistema radical no afectat que la descrita anteriorment per l'aigua. La part radical afectada disminuïa l'absorció però no s'anul·lava. Aquesta disminució era compensada per la part radical complementària i es mantenien d'aquesta manera els valors globals d'absorció de K^+ igual que en les plantes control.

La resposta en l'absorció de NO_3^- seguia el mateix comportament que el descrit anteriorment per l'absorció de K^+ . En situació d'estrès hídric, la part radical no afectada per l'estrès, era capaç de compensar totalment la manca d'absorció en percentatge de NO_3^- produïda en la part del sistema radical estressada, a les 8-9 hores des de l'aplicació de l'estrès. Aquesta resposta era proporcional tant al percentatge en massa d'arrel afectada, com al percentatge d'absorció en el moment anterior a l'aplicació de l'estrès a l'arrel afectada.

Quan l'estrès aplicat era fred radical, la resposta de l'arrel complementària era augmentar l'absorció de NO_3^- en la mesura que disminuïa en la part radical afectada per l'estrès, i es mantenien els valors globals d'absorció de NO_3^- una mica per sota del control.

Les respostes descrites de compensació en l'absorció d'aigua per part del sistema radical complementari, eren proporcionals i correlacionaven amb el percentatge d'arrel afectada (Figura 27). També s'obtenien resultats semblants si es relacionava l'absorció dels principals ions (K^+ i NO_3^-) amb el percentatge d'arrel afectada (no es mostren els gràfics).

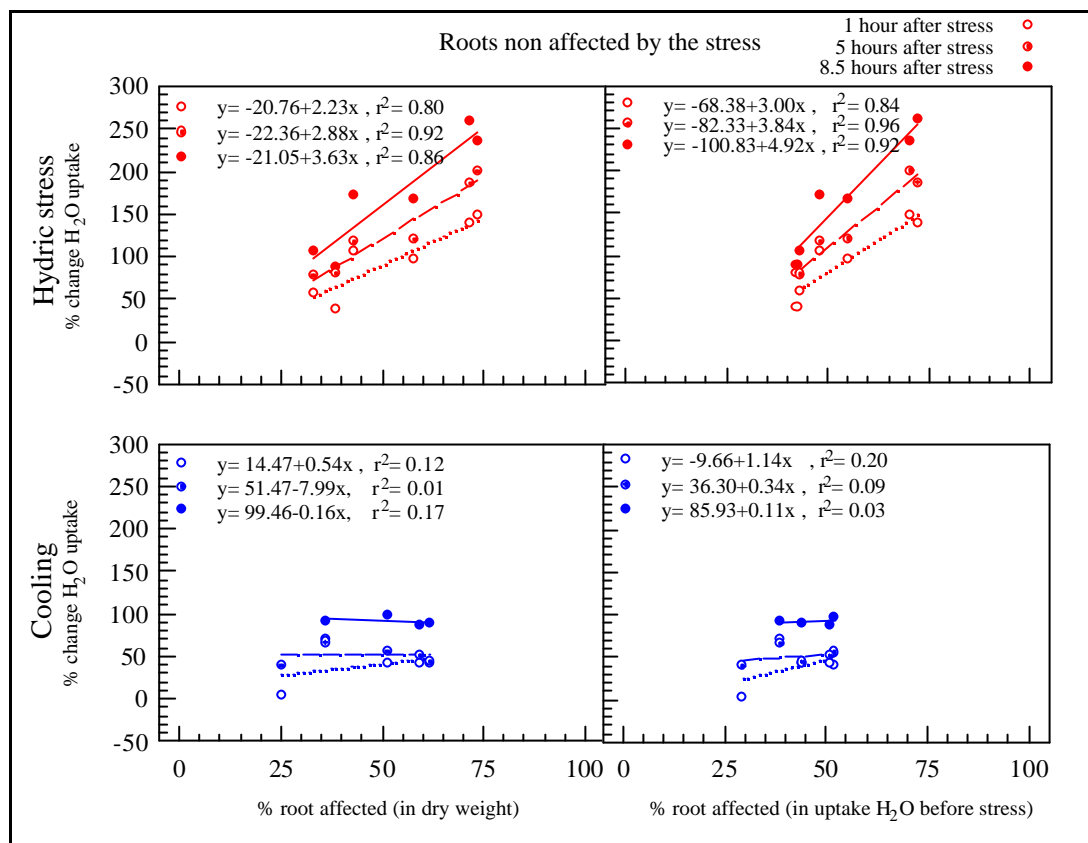


Figura 27. Correlació entre el % canvi d'absorció d'aigua i % d'arrel afectada
 El percentatge de canvi en l'absorció d'aigua està calculat segons la fórmula: $(\text{uptake at } x \text{ time} - \text{initial uptake}) / \text{initial uptake} * 100$.

La correlació que s'obtenia en estrès hídric era millor quan es relacionava la capacitat de canvi d'absorció d'H₂O en percentatge amb la quantitat d'activitat d'arrel afectada (relativa a l'absorció d'H₂O en percentatge moments abans de l'aplicació de l'estrès), que no amb la quantitat d'arrel afectada en massa (PS).

Aquesta correlació no s'obtenia quan l'estrès aplicat era fred radical. Aquest fet es podia produir perquè l'aplicació de fred a una part del sistema radical no anul·lava totalment la capacitat d'absorció d'H₂O i perquè el rang de percentatges d'arrel afectades en aquest estrès era molt semblant i proper entre les diferents plantes (des del 51% al 61%), a diferència de l'estrès hídric en què hi havia un ampli ventall de percentatges d'arrel afectades (des del 33% al 73%).

EXPERIMENT 2: respostes a l'estrès hídric, dèficit de NO_3^- i d'ions

2.4. Intercanvi de gasos

A un PAR de $500 \mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ la taxa de fotosíntesi del grup de plantes control era de $15 \mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2\cdot\text{s}$ amb un lleuger augment al finalitzar el dia de mesures fins a $16 \mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2\cdot\text{s}$. No s'observava cap efecte provocat pels diferents estressos radicals (hídric, NO_3^- i ions) sobre la fotosíntesi (Figura 28).

Cal recordar que les mesures de bescanvi de gasos eren en continu i l'àrea foliar es mesurava al final del dia de mesures. Cal tenir en compte que aquestes taxes es refereixen a l'àrea foliar al final del dia, de manera que l'increment podia ser degut al creixement de la planta al final del dia.

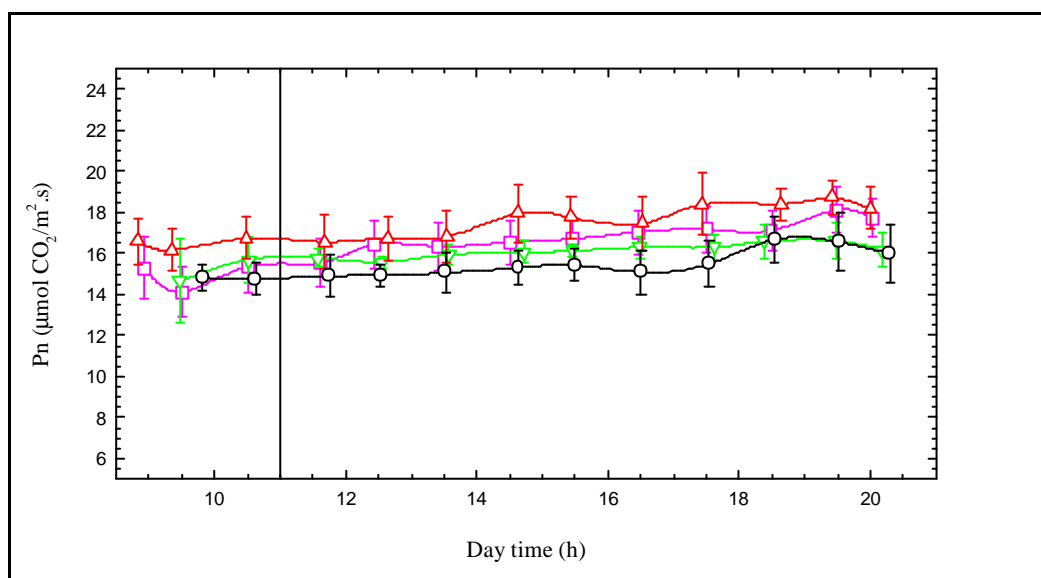


Figura 28. Pn en resposta a estrès hídric, dèficit de NO_3^- i ions ($n=3 \pm \text{s.e.}$, **i** control, **r** estrès hídric, **s** dèficit NO_3^- , **£** dèficit iònic). La línia vertical indica l'inici de l'aplicació de l'estrès en tots els gràfics.

La transpiració seguia la mateixa tendència que l'explicat per la fotosíntesi. Així doncs, aquesta augmentava lleugerament durant el cicle de mesures des de 2.2 fins a $3.0 \text{ mmol H}_2\text{O}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ i no es veia afectada pels diferents tipus d'estrès radical (Figura 29).

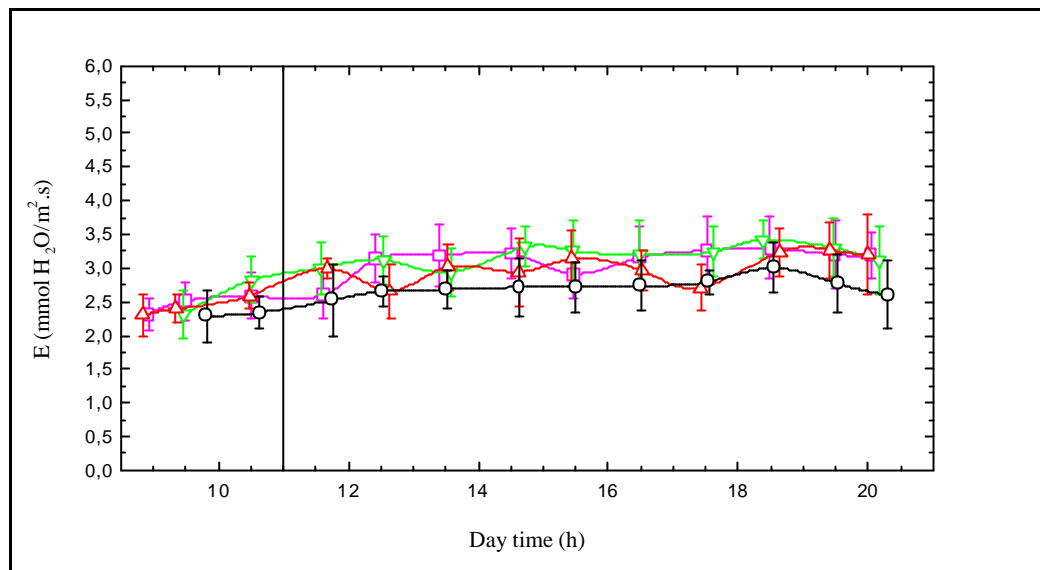


Figura 29. E en resposta a estrès hídric, dèficit de NO₃⁻ i ions (n=3 ± s.e., i control, r estrès hídric, s dèficit NO₃⁻, p dèficit iònic).

La conductància estomàtica seguia el mateix comportament que la fotosíntesi i la transpiració i es mantenia constant al llarg del dia entorn a 200 mmol H₂O/m².s, sense que els diferents estressos tinguessin cap efecte significatiu sobre la mateixa (no es mostra el gràfic).

Així doncs, diferents tipus d'estrès (hídric, dèficit de NO₃⁻ i d'ions) aplicats a diferents quantitats del sistema radical no semblaven tenir efecte en el bescanvi de gasos de la part aèria.

2.5. Respiració radical

Cal recordar que la respiració radical es mesurava en continu i s'ha normalitzat referint la producció de CO₂ al PS d'arrel que es va obtenir al finalitzar el dia de mesures.

Les arrels de plantes control mostraven un augment en la taxa de respiració radical i es passava de 0.08 μmol CO₂/g dw.s a 0.11 μmol CO₂/g dw.s al finalitzar el dia de mesures, a l'igual que s'observava en l'experiment anterior (experiment 1). En tots els estressos (hídric, dèficit de NO₃⁻ i dèficit de tots els ions) la taxa de respiració radical de les arrels afectades disminuïa fins situar-se al cap de 3 hores de la seva aplicació en un valor de 0.06 μmol CO₂/g dw.s i una mica inferior per l'estrès hídric de 0.04 μmol CO₂/g dw.s, el qual es

mantenia constant fins al final del dia de mesures. Les meitats radicals complementàries a tots els diferents tipus d'estrès mostraven un augment de la taxa de respiració per sobre de les plantes control fins a situar-se al final del dia de mesures en un valor de $0.14 \mu\text{mol CO}_2/\text{g dw.s}$ i una mica superior per l'estrès hídric $0.16 \mu\text{mol CO}_2/\text{g dw.s}$ (Figura 30).

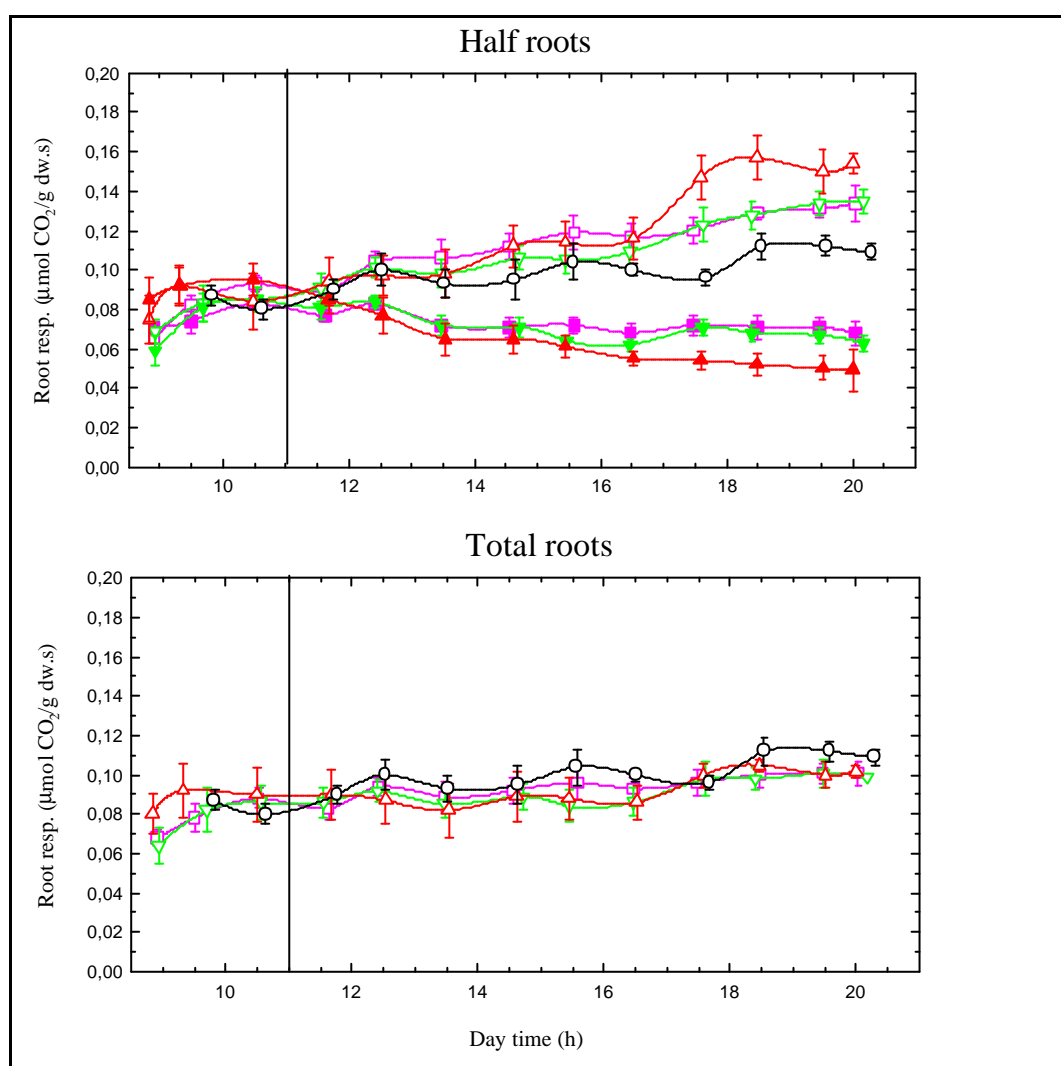


Figura 30. Respiració radical en resposta a estrès hídric, dèficit de NO_3^- i ions ($n=3 \pm \text{s.e.}$, **j** control, **r** estrès hídric no afectades, **p** estrès hídric-afectades, **s** dèficit NO_3^- -no afectades, **q** dèficit NO_3^- -afectades, **l** dèficit iònic-no afectades, **o** dèficit iònic-afectades en gràfic superior, **i** control, **r** estrès hídric, **s** dèficit NO_3^- , **l** dèficit iònic en gràfic inferior).

El resultat global obtingut era que les arrels complementàries a les estressades (hídric, dèficit de NO_3^- i dèficit de tots els ions) augmentaven la respiració i mantenen d'aquesta manera els mateixos valors de respiració per al conjunt de tot el sistema radical que el grup de plantes control.

Com que seguïem les mateixes plantes al llarg del temps, podíem calcular a cada moment posterior a l'aplicació de l'estrès el percentatge de respiració i absorció d'aigua i ions, respecte al moment abans de l'aplicació de l'estrès i d'aquesta manera podíem minimitzar l'efecte de la variabilitat de partida en les taxes absolutes entre plantes.

L'estrès hídric i el dèficit en nitrats no provocaven un augment significatiu de la respiració radical fins passades 5 hores (16:00) des de l'aplicació dels estressos. Pel que fa a l'estrès per manca d'ions no es va observar un augment significatiu de la taxa de respiració radical fins transcorregudes 8 hores (19:00). Les meitats radicals afectades per tots els estressos ja mostraven diferències significatives amb el grup de plantes control passades 5 hores des de la seva aplicació, excepte en el cas de dèficit hídric en què aquesta ja s'observava immediatament (Taula 8).

hora	Ctrl	hídric	- NO ₃ ⁻	- ions	NAF hídric	NAF - NO ₃ ⁻	NAF - ions
12:30	119,08 a	68,04 b	100,09 a	97,02 a	116,76 a	111,81 a	115,89 a
16:00	112,38 bc	46,29 d	89,41 c	83,49 c	159,94 a	152,16 a	134,83 ab
19:00	130,32 b	43,79 d	84,12 c	80,64 c	177,65 a	159,49 ab	144,23 ab

Taula 8. % de respiració radical respecte el valor anterior a l'aplicació de l'estrès

En arrels control, afectades o complementàries de les afectades per manca d'aigua, NO₃⁻ o tots els ions, a diferents temps des de l'inici de l'estrès, que es produeix a les 11:00. Les dades provenen de monitoritzar les diverses plantes al llarg d'aquest temps, on els valors que es mostren corresponen al percentatge d'activitat de cada arrel respecte la mateixa arrel abans d'iniciar l'estrès.

Aquesta descripció s'utilitza en les taules posteriors d'aquest experiment (cv. Solmax en hidropònic). Es mostra les agrupacions segons un test multirang de Duncan, amb $\alpha = 0.05$ i $3 < n < 6$. NAF indica la meitat radical no afectada per l'estrès.

2.6. Absorció d'aigua i d'ions

L'absorció d' H_2O en plantes control es mantenia constant al llarg del dia entorn a 1700 mmol $\text{H}_2\text{O}/\text{h. g dw}$, si bé amb un augment en les darreres hores del dia de mesures, arribant a 2300 mmol $\text{H}_2\text{O}/\text{h. g dw}$ (Figura 31).

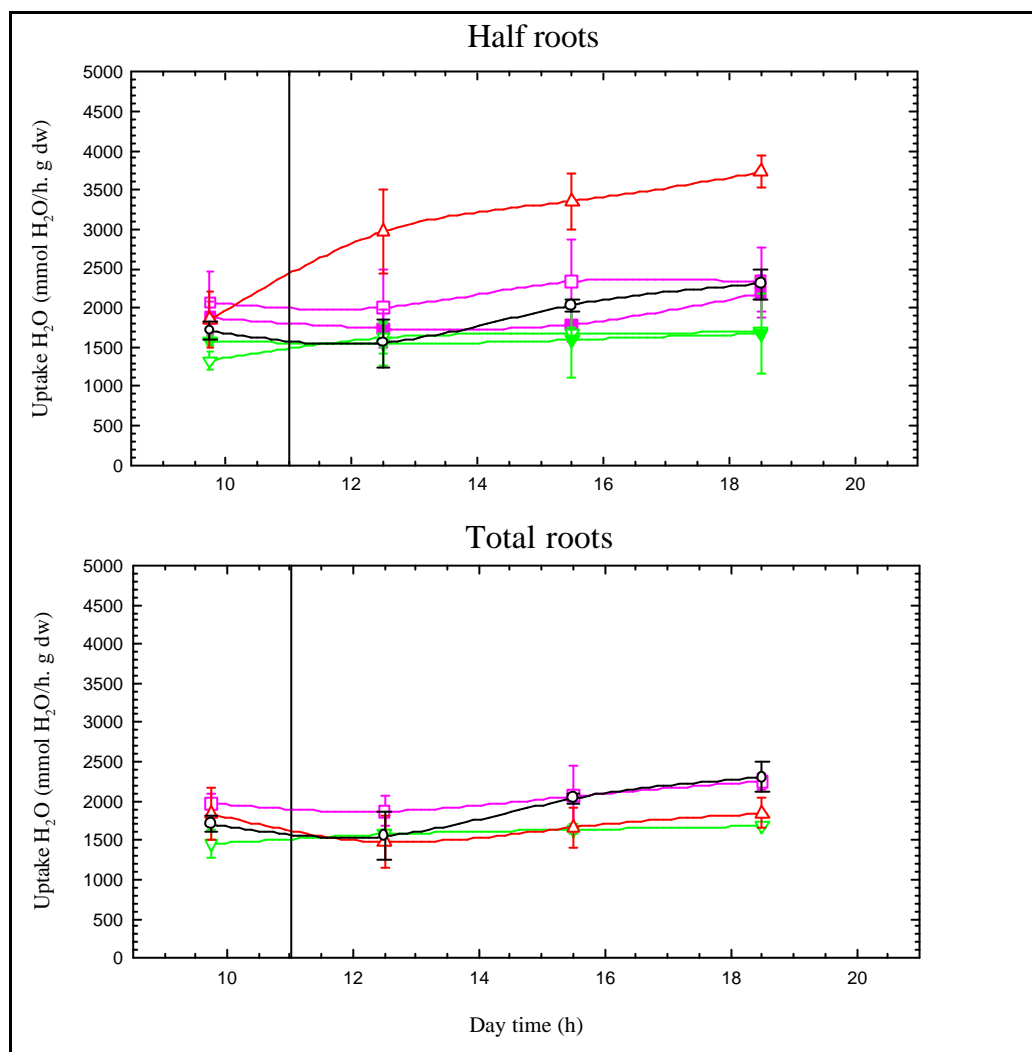


Figura 31. Absorció d'aigua en resposta a estrès hídric, dèficit de NO_3^- i ions ($n=3 \pm \text{s.e.}$, **j** control, **r** estrès hídric-no afectades, **s** dèficit NO_3^- -no afectades, **q** dèficit NO_3^- -afectades, **£** dèficit iònic-no afectades, **¢** dèficit iònic-afectades en gràfic superior, **j** control, **r** estrès hídric, **s** dèficit NO_3^- , **£** dèficit iònic en gràfic inferior).

L'estrès hídric augmentava de manera immediata l'absorció d'aigua en l'arrel complementària a l'estrès, arribava al final del dia a valors de 3600 mmol $\text{H}_2\text{O}/\text{h. g dw}$ i mostrava així un clar efecte compensatori. De la part radical afectada per aquest tipus d'estrès no es tenen dades ja que el dèficit hídric es provocava retirant completament la solució nutritiva.

El dèficit en nitrats no semblava tenir un clar efecte en l'absorció d'aigua de les dues meitats radicals, si bé a partir de les 15:00 hores del dia de mesures (4 hores des de l'aplicació de l'estrès), s'observava una disminució en ambdues parts del sistema radical, tot i que no arribava a ser significativa (Taula 9).

El dèficit provocat per la manca de tots els ions no tenia cap efecte significatiu en l'absorció d'aigua de les dues parts de l'aparell radical, tant l'afectada com la complementària.

El conjunt del sistema radical complet de la planta mostrava una bona capacitat de mantenir l'absorció d'aigua front als diferents tipus d'estrès induïts; hídric, fred radical, dèficit de nitrats i iònic sobre una part del sistema radical. Si ens fixem en el percentatge d'absorció respecte el valor anterior a l'aplicació de l'estrès, s'observa un increment en les arrels complementàries a l'estrès hídric, que és significatiu al cap de 8h, en què l'absorció és del 205% respecte el moment anterior a l'aplicació de l'estrès en la mateixa arrel. No s'observaven diferències significatives en les primeres hores després del tractament (Taula 9).

hora	Ctrl	hídric	- NO ₃ ⁻	- ions	NAF hídric	NAF - NO ₃ ⁻	NAF - ions
12:30	133,07 a		94,27 a	92,53 a	161,07 a	113,53 a	95,23 a
16:00	146,77 ab		98,92 b	95,26 b	183,39 a	116,84 ab	110,77 b
19:00	134,57 b		107,5 b	117,16 b	204,57 a	119,19 b	112,8 b

Taula 9. % d'absorció d'H₂O respecte el valor anterior a l'aplicació de l'estrès
Es mostra les agrupacions segons un test multirang de Duncan, amb $\alpha = 0.05$ i $3 < n < 6$. NAF indica la meitat radical no afectada per l'estrès.

L'absorció de K⁺ en plantes control passava de 140 $\mu\text{mol K}^+/\text{h. g dw}$. a 200 $\mu\text{mol K}^+/\text{h. g dw}$ al finalitzar el dia de mesures (Figura 32).

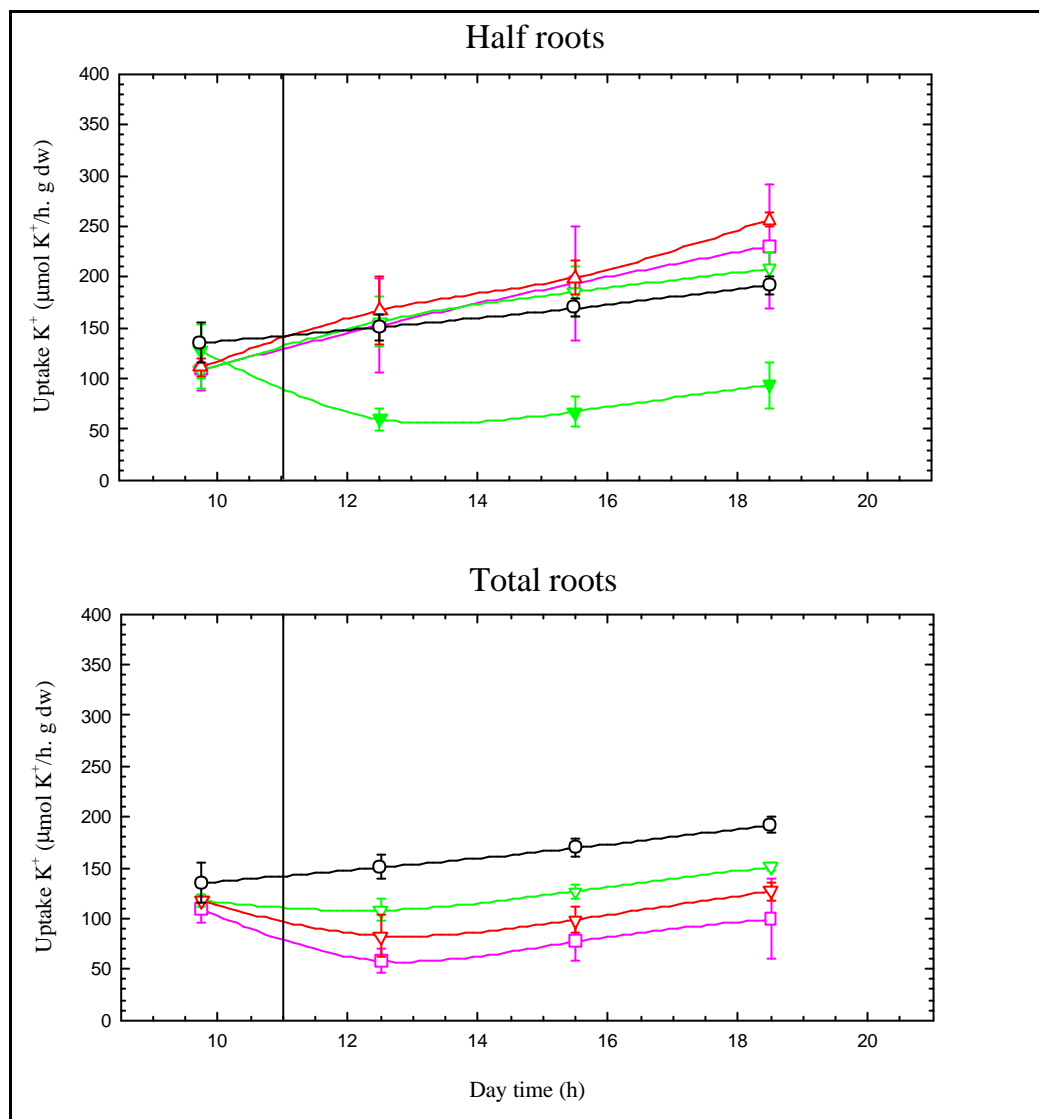


Figura 32. Absorció de K^+ en resposta a estrès hídric, dèficit de NO_3^- i ions ($n=3 \pm$ s.e., **i** control, **r** estrès hídric-no afectades, **s** dèficit NO_3^- -no afectades, **q** dèficit NO_3^- -afectades, **q** dèficit iònic-no afectades en gràfic superior, **i** control, **r** estrès hídric, **s** dèficit NO_3^- , **q** dèficit iònic en gràfic inferior).

En els diversos estressos que es van aplicar s'intuïa una estimulació en l'absorció de K^+ a l'arrel complementària a partir de les 15:00 h (4 hores des de l'aplicació de l'estrès), si bé aquest augment no arribava a ser significatiu (Taula 10).

En canvi, s'observava una ràpida disminució (al cap d'una hora de l'aplicació de l'estrès) de l'absorció de K^+ en l'arrel afectada per dèficit de nitrats i s'arribava a valors de $60 \mu\text{mol } K^+/\text{h. g dw}$. Referit en percentatge respecte abans de l'inici del tractament, veiem que la manca de NO_3^- inhibeix significativament l'absorció de K^+ en l'arrel afectada. S'intueix un increment en la seva complementària no afectada, però que no arriba a ser significativament diferent del control.

Així doncs, sovint l'increment d'absorció a la meitat complementària de l'estressada no arribava a compensar al 100% la pèrdua de l'absorció de K^+ al finalitzar el dia de mesures. Per tant, l'absorció global del conjunt de tot el sistema radical de les plantes control era major que el de les plantes amb algun tipus d'estrès.

hora	Ctrl	hídric - NO_3^- - ions	NAF hídric	NAF - NO_3^-	NAF - ions
12:30	172,13 a	48,79 a	149,83 a	144,94 a	131,74 a
16:00	154,79 a	52,86 b	179,57 a	174,21 a	170,08 a
19:00	167,23 a	72,98 b	231,4 a	200,02 a	207,15 a

Taula 10. % d'absorció de K^+ respecte el valor anterior a l'aplicació de l'estrès
Es mostra les agrupacions segons un test multirang de Duncan, amb $\alpha = 0.05$ i $3 < n < 6$. NAF indica la meitat radical no afectada per l'estrès.

L'absorció de NO_3^- del grup de plantes control partia de valors de $275 \mu\text{mol } \text{NO}_3^- / \text{h. g dw}$ i s'arribava a $375 \mu\text{mol } \text{NO}_3^- / \text{h. g dw}$ al finalitzar el dia de mesures (Figura 33).

Només s'obtenien dades d'absorció de NO_3^- de les arrels no afectades pels diferents tractaments d'estrès aplicats. En les arrels afectades no es podia mesurar perquè no n'hi havia. Així doncs no s'observava cap efecte significatiu per part de les arrels no afectades pels estressos i assolía en tots els tractaments els mateixos valors d'absorció de NO_3^- que el grup control.

Les arrels complementàries a les afectades pels diferents estressos van mostrar taxes d'absorció de NO_3^- semblants a les control (Figura 33). Ara bé, expressat en percentatge sí que s'intuïa un estímul progressiu de l'absorció de NO_3^- al

llarg del temps, però que només era significativament diferent al control en el cas d'estrès hídric a les 8 h del seu inici.

L'absorció total de NO_3^- pel conjunt del sistema radical en tots els diferents tipus d'estrès aplicats era significativament inferior al grup de plantes control i no s'arribava a compensar la pèrdua d'absorció de NO_3^- provocada pels mateixos.

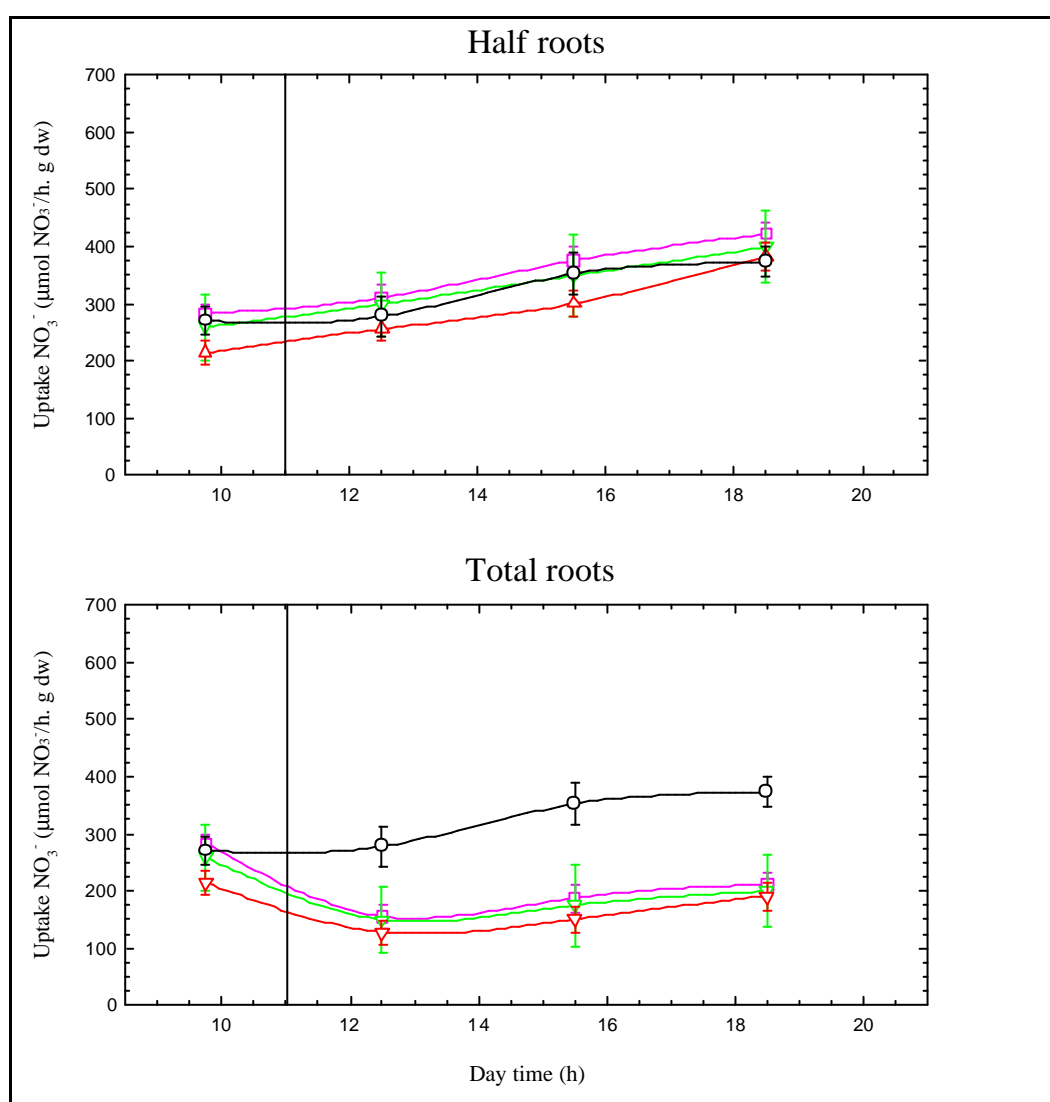


Figura 33. Absorció de NO_3^- en resposta a estrès hídric, dèficit de NO_3^- i ions ($n=3 \pm$ s.e., **i** control, **r** estrès hídric-no afectades, **s** dèficit NO_3^- -no afectades, **f** dèficit iònic-no afectades en gràfic superior, **i** control, **r** estrès hídric, **s** dèficit NO_3^- , **f** dèficit iònic en gràfic inferior).

En percentatge respecte a les hores anteriors a l'aplicació de l'estrès (abans de les 11:00 h), l'absorció de nitrat en la meitat radical no afectada per estrès

hídric augmenta progressivament però la diferència respecte al control es fa significativa només a les 19:00 hores (Taula 11).

hora	Ctrl	hídric	- NO ₃ ⁻	- ions	NAF hídric	NAF - NO ₃ ⁻	NAF - ions
12:30	110,02 a				118,98 a	118,2 a	106,84 a
16:00	129,09 a				141,03 a	136,49 a	128,97 a
19:00	127 b				180,45 a	159,41 ab	148,52 ab

Taula 11. % d'absorció de NO₃⁻ respecte el valor anterior a l'aplicació de l'estrès. Es mostra les agrupacions segons un test multirang de Duncan, amb $\alpha = 0.05$ i $3 < n < 6$. NAF indica la meitat radical no afectada per l'estrès.

L'absorció de Ca²⁺ es mantenia al llarg del dia de mesures en el grup de plantes control, entorn als 45 $\mu\text{mol Ca}^{2+} / \text{h. g dw}$ (Figura 34).

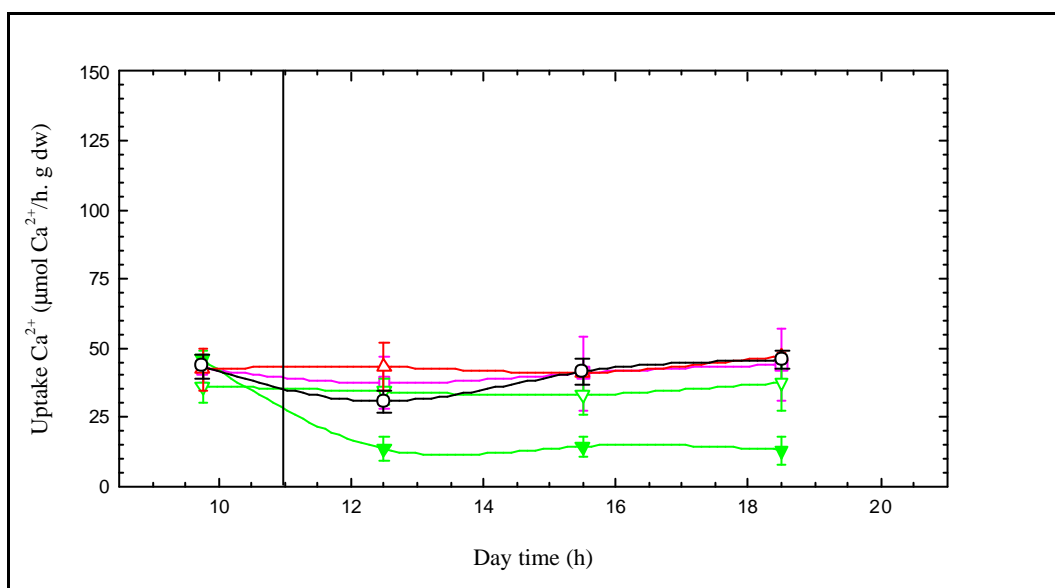


Figura 34. Absorció de Ca²⁺ en resposta a estrès hídric, dèficit de NO₃⁻ i ions (n=3 ± s.e., **j** control, **r** estrès hídric-no afectades, **s** dèficit NO₃⁻-no afectades, **q** dèficit NO₃⁻-afectades, **£** dèficit iònic-no afectades).

En cap dels estressos aplicats s'observava una estimulació en l'absorció de Ca²⁺ per part de les arrels no afectades i s'obtenien els mateixos resultats que el grup de plantes control. De les arrels estressades només es tenien dades del tractament de dèficit en NO₃⁻ i s'observava una ràpida disminució (al cap d'una hora de l'aplicació de l'estrès) de l'absorció de Ca²⁺ fins a 15 $\mu\text{mol Ca}^{2+} / \text{h. g dw}$.

L'absorció de Mg^{2+} del grup de plantes control augmentava des de 12 fins a 19 $\mu\text{mol } Mg^{2+} / \text{h. g dw}$ durant el dia de mesures. L'efecte dels diferents estressos aplicats era semblant al que s'observava pel Ca^{2+} anteriorment descrit, en què el dèficit de NO_3^- provocava una davallada de l'absorció de Mg^{2+} (Figura 35). Però a diferència del Ca^{2+} la baixada d'absorció de Mg^{2+} no era immediata sino que es produïa més de 3 hores després de l'aplicació del dèficit de NO_3^- .

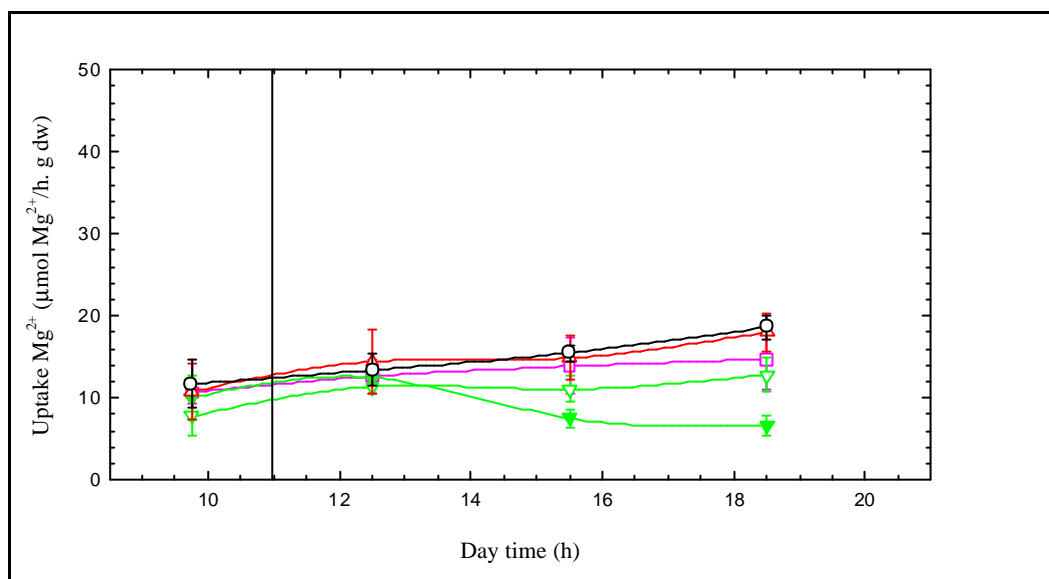


Figura 35. Absorció de Mg^{2+} en resposta a estrès hídric, dèficit de NO_3^- i ions ($n=3 \pm \text{s.e.}$, **i** control, **r** estrès hídric-no afectades, **s** dèficit NO_3^- -no afectades, **q** dèficit NO_3^- -afectades, **£** dèficit iònic-no afectades).

Pel que fa a l'absorció del P, en les plantes control es mantenia entorn als 14-20 $\mu\text{mol P/h. g dw}$ durant el dia de mesures (Figura 36).

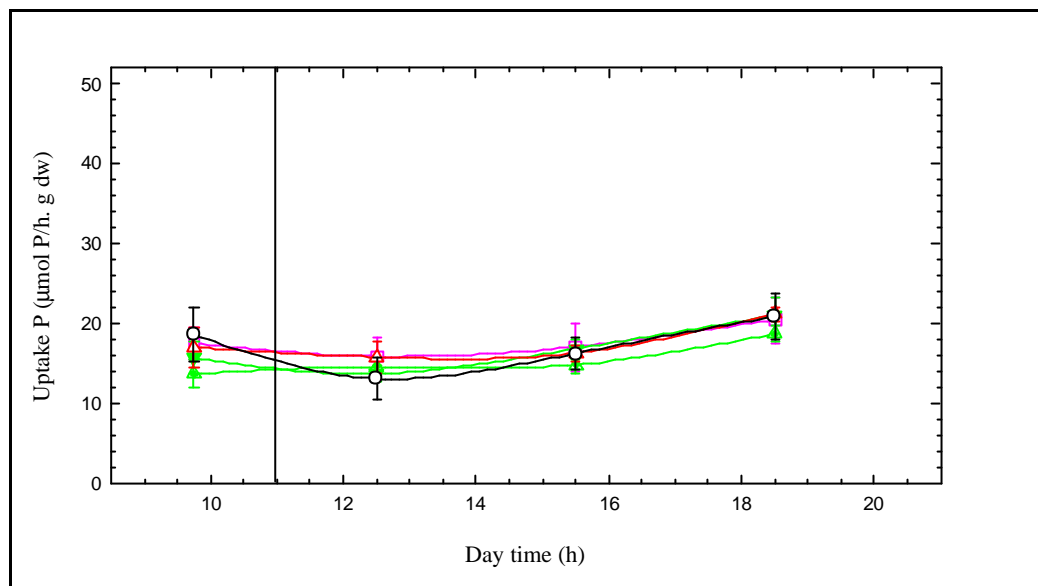


Figura 36. Absorció de P en resposta a estrès hídric, dèficit de NO_3^- i ions ($n=3 \pm \text{s.e.}$, **i** control, **r** estrès hídric-no afectades, **s** dèficit NO_3^- -no afectades, **£** dèficit NO_3^- -afectades, **£** dèficit iònic-no afectades).

Els diferents estressos aplicats no produïen cap efecte significatiu sobre l'absorció de P per part de l'arrel no afectada, ja que el comportament observat era el mateix que el grup de plantes control. Fins i tot, l'arrel afectada per dèficit de nitrats no disminuïa l'absorció de P i es registraven els mateixos valors d'absorció que l'arrel complementària i que les plantes control (Taula 12).

hora	Ctrl	hídric	- NO_3^-	- ions	NAF hídric	NAF - NO_3^-	NAF - ions
12:30	137,97 a		87,39 a		94,07 a	100,93 a	91,83 a
16:00	107,55 a		106,31 a		104,12 a	107,4 a	101,4 a
19:00	149,02 a		133,05 a		140,76 a	134,77 a	119,66 a

Taula 12. % d'absorció de P respecte el valor anterior a l'aplicació de l'estrès. Es mostra les agrupacions segons un test multirang de Duncan, amb $\alpha = 0.05$ i $3 < n < 6$. NAF indica la meitat radical no afectada per l'estrès.

L'absorció de SO_4^{2-} en el grup de plantes control al llarg del dia s'iniciava en $12 \mu\text{mol SO}_4^{2-}/\text{h} \cdot \text{g dw}$, anava seguit d'una disminució fins a $4 \mu\text{mol SO}_4^{2-}/\text{h} \cdot \text{g dw}$ a les 13:00 h, augmentava fins a $20 \mu\text{mol SO}_4^{2-}/\text{h} \cdot \text{g dw}$ a les 16:00 h per acabar el dia de mesures en $16 \mu\text{mol SO}_4^{2-}/\text{h} \cdot \text{g dw}$ (Figura 37).

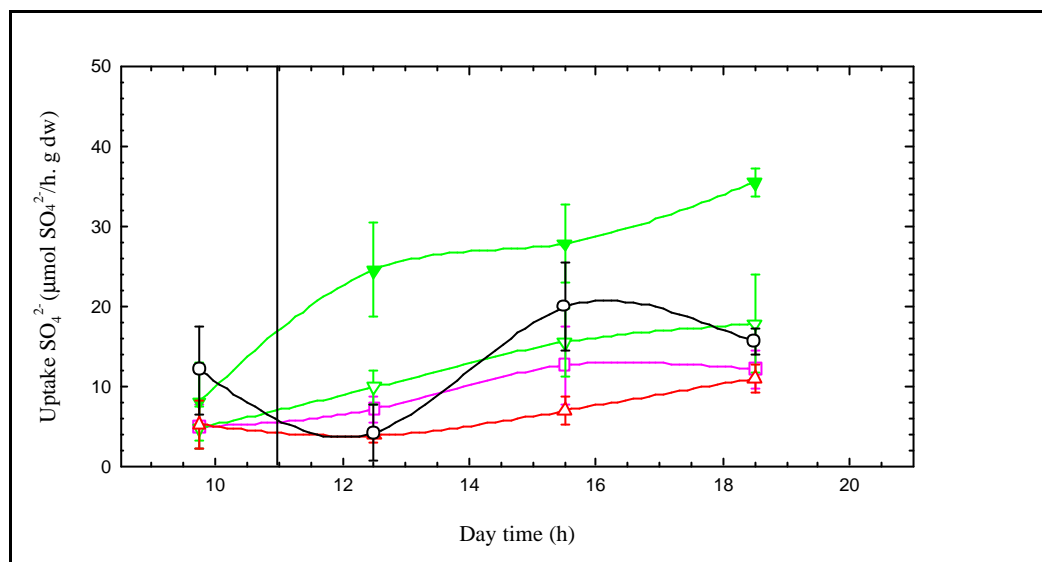


Figura 37. Absorció de SO_4^{2-} en resposta a estrès hídric, dèficit de NO_3^- i ions ($n=3 \pm \text{s.e.}$, **i** control, **r** estrès hídric-no afectades, **s** dèficit NO_3^- -no afectades, **q** dèficit NO_3^- -afectades, **£** dèficit iònic-no afectades).

Els diferents estressos no mostraven cap efecte significatiu en l'absorció de SO_4^{2-} per part del sistema radical no afectat directament per l'estrès. En canvi, en el tractament de dèficit de NO_3^- augmentava significativament l'absorció de SO_4^{2-} i de manera immediata (a les 2 hores de l'aplicació de l'estrès) en el sistema radical privat de nitrats. Aquest augment era superior al 400% respecte l'absorció moments abans de l'aplicació de l'estrès (passava de 8 a $35 \mu\text{mol SO}_4^{2-}/\text{h} \cdot \text{g dw}$). Cal recordar que l'estrès per manca de NO_3^- s'aplicava reemplaçant a la solució nutritiva l'ió NO_3^- per SO_4^{2-} .

2.7. Potencial hídic foliar (Ψ_L)

El potencial hídic foliar en el grup de plantes control seguia una leugera oscil·lació diària entre -0.20 MPa a l'inici del dia fins arribar a -0.35 MPa al finalitzar el dia abans d'entrar a la nit, per tornar a iniciar al matí següent en -0.20 MPa (Figura 38).

El dèficit en nitrats i ions no afectaven el potencial hídic foliar. Només l'estrès hídic l'afectava significativament (Taula 13); disminuïa el Ψ_L a les 3 hores de l'aplicació de l'estrès fins a -0.42 MPa i es recuperava al finalitzar el dia fins arribar al mateix nivell que les plantes control (-0.35 MPa).

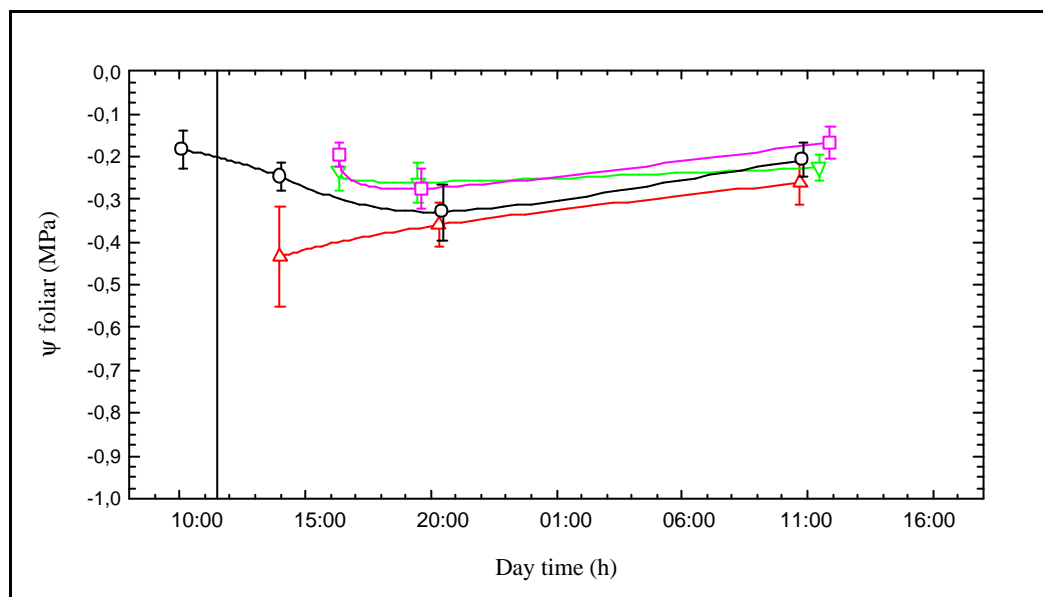


Figura 38. Ψ_L en resposta a estrès hídic, dèficit de NO_3^- i ions ($n = 3 \pm \text{s.e.}$, **■** control, **▲** estrès hídic, **■** dèficit de NO_3^- , **■** dèficit iònic).

hora	Ctrl	hídric	- NO_3^-	- ions
15:00	2,5 b	4,3 a	2,3 b	1,9 b
20:00	3 a	3,6 a	2,6 a	2,8 a
11:00	2,1 ab	2,6 a	2,25 ab	1,6 b

Taula 13. Efecte dels diferents estressos en el potencial hídic del brot En MPa a diferents temps des de l'inici de l'estrès, que es produeix a les 11:00. Es mostra les agrupacions segons un test multirang de Duncan, amb $\alpha = 0.05$ i $3 < n < 6$.

2.8. Secreció iònica al xilema

L'exudació radical de les plantes control (tallades a diferents hores del dia) seguia un cicle diari molt marcat, de 10 nmols/g dw.s a les 10:00 h, pujava fins a 52 nmols/g dw.s a les 14:00 h, baixava fins a un valor de 18 nmols/g dw.s a les 20:00 h abans d'entrar a la nit, per arribar a situar-se l'endemà al matí, en 44 nmols/g dw.s (Figura 39).

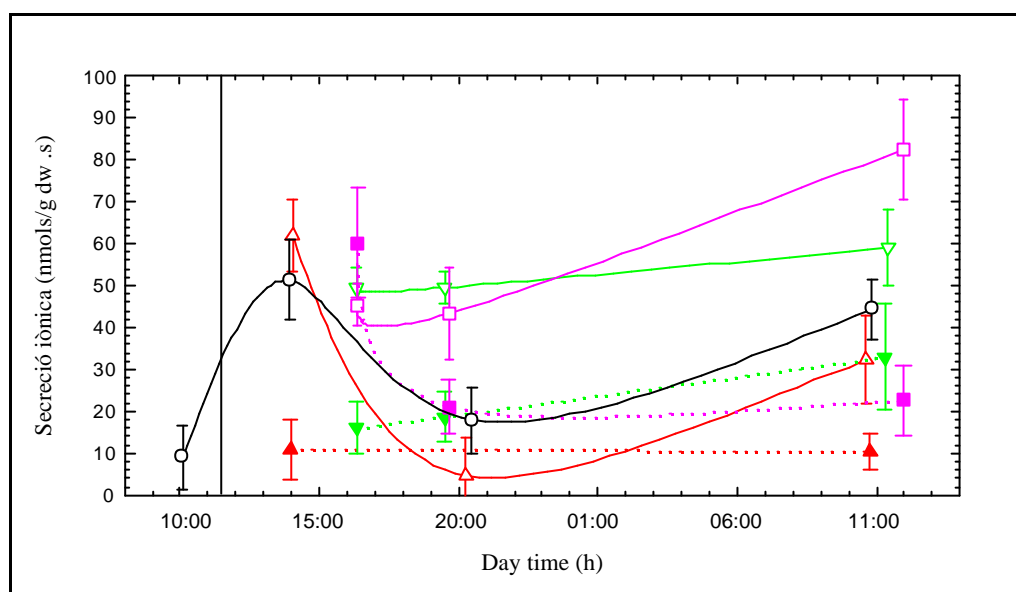


Figura 39. Exudació radical en resposta a estrès hídric, dèficit de NO₃⁻ i ions (n=3 ± s.e., **i** control, **r** estrès hídric-no afectada, **p** estrès hídric-afectada, **s** dèficit de NO₃⁻-no afectada, **q** dèficit de NO₃⁻-afectada, **f** dèficit iònic-no afectada, **c** dèficit iònic-afectada).

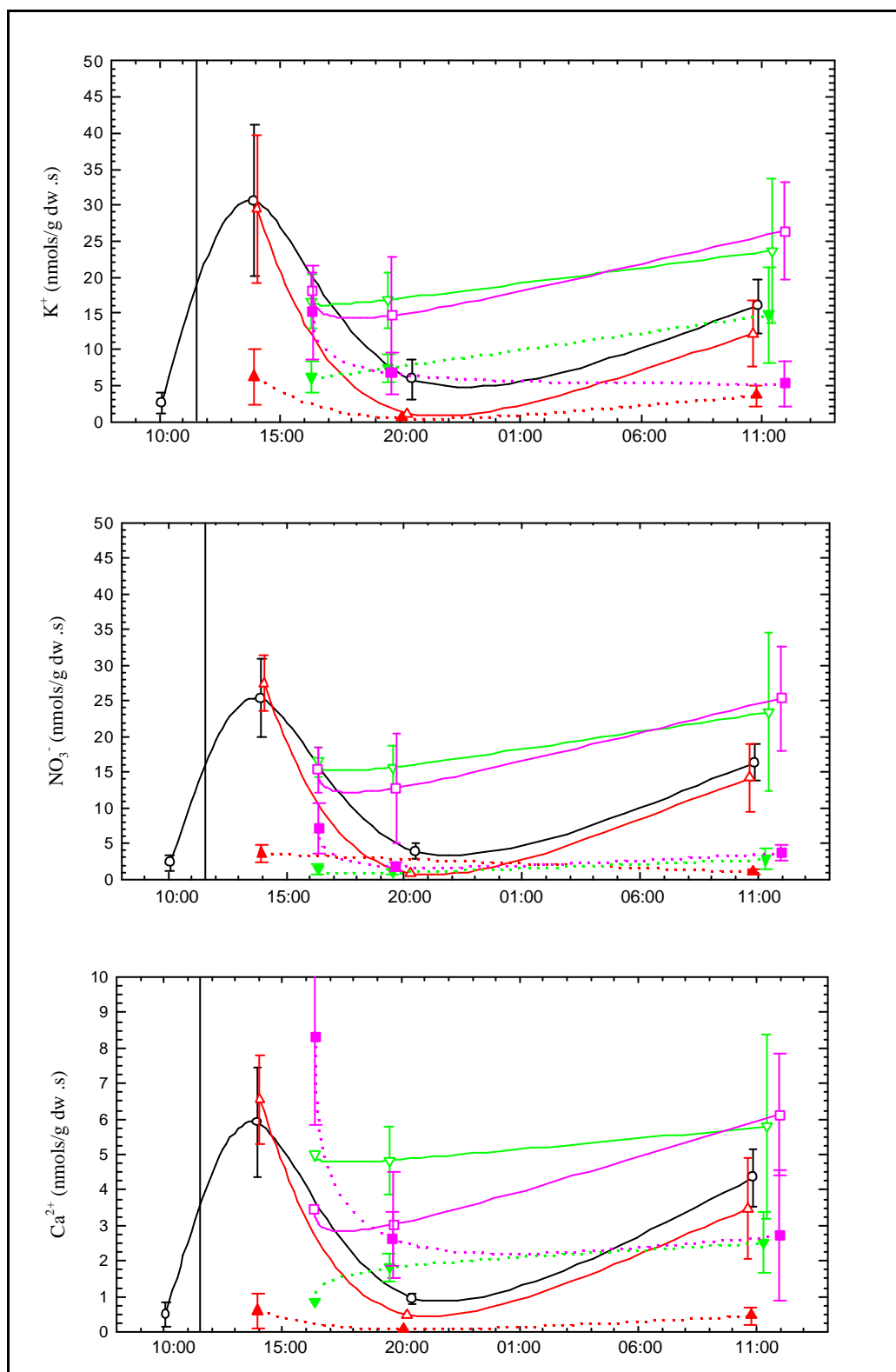
L'estrès hídric provocava una disminució significativa de la secreció iònica al xilema de l'arrel afectada al llarg de tot el cicle de mesures. S'observava una disminució de la secreció iònica de la part radical no afectada per l'estrès hídric, si bé aquesta no era significativa. No es va observar cap efecte significatiu per part de les dues meitats radicals en el dèficit de nitrats. El dèficit iònic provocava en les arrels no afectades un augment significatiu de la secreció iònica al xilema passades 24 hores des de l'aplicació de l'estrès, acompanyat d'una disminució en l'arrel afectada que no es feia significativa també fins passades 24 hores des de la retirada dels ions (Taula 14).

hora	Ctrl	hídric	- NO ₃ ⁻	- ions	NAF hídric	NAF - NO ₃ ⁻	NAF - ions
13:00	51,35 ab	10,78 c	16,11 c	60,25 ab	62,01 a	49,31 ab	45,43 b
19:00	35,6 ab		18,74 b	21,12 b		49,53 a	43,41 a
12:00	44,35 bc	10,52 e	32,89 cd	22,61 de	32,18 cd	59,01 b	82,47 a

Taula 14. Efecte dels diferents estressos en la taxa d'exudació radical

A diferents temps des de l'inici de l'estrès, que es produeix a les 11:00. Les dades provenen de mesures destructives realitzades en diferents plantes en cada moment de mostratge. Es mostra les agrupacions segons un test multirang de Duncan, amb $\alpha = 0.05$ i $3 < n < 6$. NAF indica la meitat radical no afectada per l'estrès.

En la Figura 40 es pot veure l'efecte que els diferents tipus d'estrès provocaven en la secreció de cada ió al xilema.



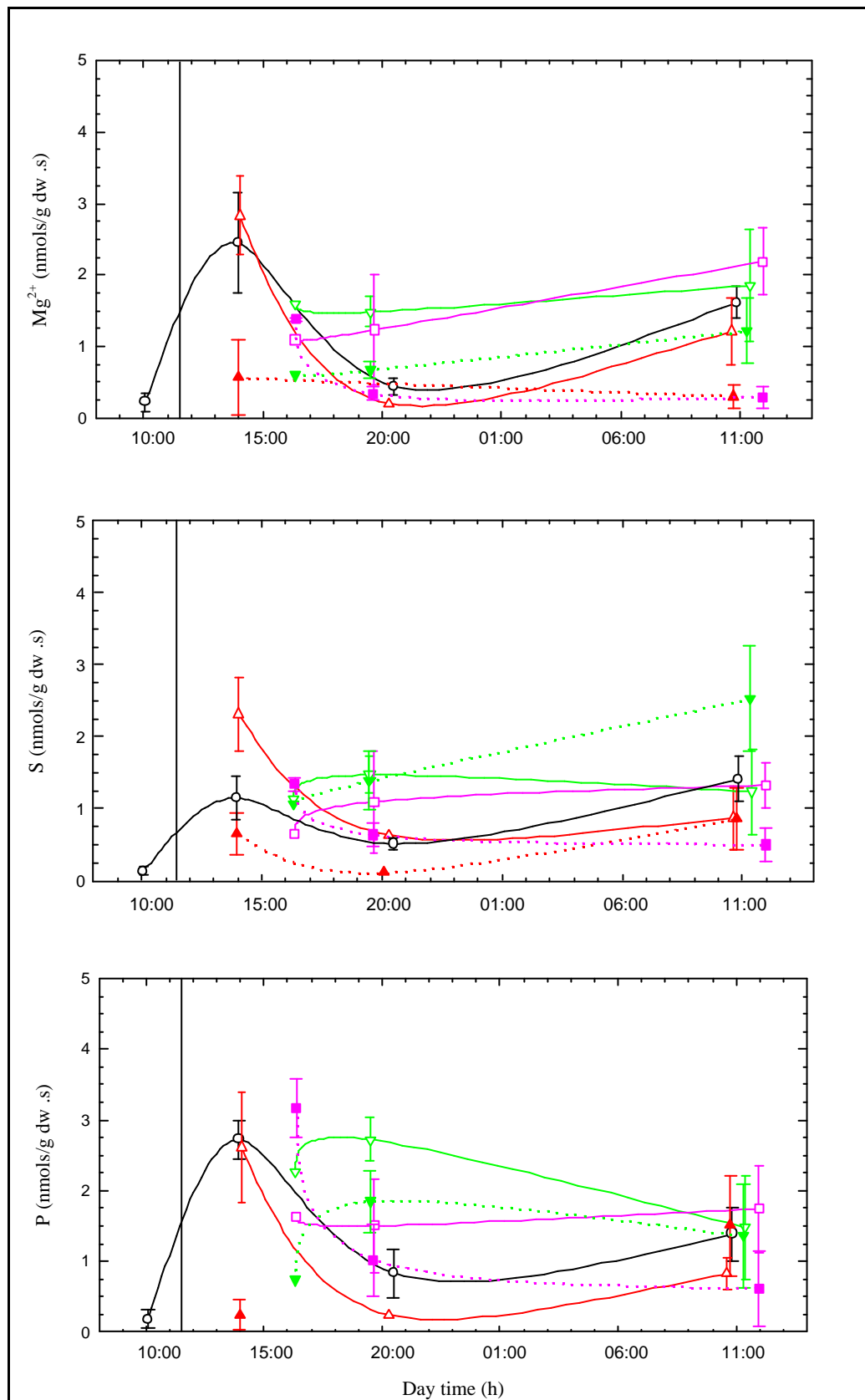


Figura 40. Secreció d'ions al xilema en resposta a estrès hídric, dèficit de NO₃⁻ i ions (n=3 ± s.e., **j** control, **r** estrès hídric-no afectada, **p** estrès hídric-afectada, **s** dèficit de NO₃⁻-no afectada, **q** dèficit de NO₃⁻-afectada, **£** dèficit iònic-no afectada, **¢** dèficit iònic-afectada).

Els valors de tots els components iònics analitzats en el xilema (K^+ , NO_3^- , Ca^{2+} , Mg^{2+} , S i P) segueien un patró semblant a l'explicat anteriorment pels valors globals de secreció iònica al xilema. Els efectes al llarg del temps dels diferents estressos aplicats sobre la taxa de secreció de cada ió analitzat al xilema estan resumits en la següent Taula 15.

variable:	hora	Ctrl	hídric	- NO_3^-	- ions	NAF hídric	NAF - NO_3^-	NAF - ions
JK	13:00	30,66 a	6,22 c	6,14 c	15,16 bc	29,43 a	16,7 bc	18,22 b
	19:00	11,62 ab	0,45 b	7,45 b	6,72 b	16,88 a		14,68 a
	12:00	16,01 bc	3,6 e	14,83 c	5,22 de	12,15 cd	23,68 ab	26,42 a
JNO3-	13:00	25,4 a	3,64 cd	1,44 d	7,13 c	27,48 a	16,54 b	15,42 b
	19:00	7,8 ab		0,99 b	1,81 b		15,76 a	12,8 a
	12:00	16,41 bc	1,04 d	2,85 d	3,66 d	14,21 c	23,44 ab	25,41 a
JCa	13:00	5,9 ab	0,59 c	0,85 c	8,3 a	6,56 ab	4,99 ab	3,48 bc
	19:00	1,9 ab	0,07 d	1,81 bc	1,82 bc		4,84 a	3,02 b
	12:00	4,34 ab	0,44 c	2,51 b	2,7 b	3,47 b	5,78 a	6,12 a
JMg	13:00	2,44 ab	0,56 c	0,61 c	1,38 abc	2,83 a	1,6 abc	1,09 bc
	19:00	0,88 ab		0,67 b	0,34 b		1,48 a	1,23 a
	12:00	1,61 ab	0,3 c	1,22 b	0,29 c	1,21 b	1,85 a	2,19 a
JSO4	13:00	1,15 a	0,65 a	1,06 a	1,34 a	2,31 a	1,14 a	0,65 a
	19:00	1,02 ab	0,11 c	1,39 a	0,64 bc		1,47 a	1,1 ab
	12:00	1,41 b	0,86 bc	2,53 a	0,5 c	0,87 bc	1,24 b	1,33 b
JP	13:00	2,72 ab	0,24 d	0,74 cd	3,17 a	2,61 ab	2,26 ab	1,62 bc
	19:00	1,66 ab		1,85 b	1,02 cd		2,72 a	1,5 bc
	12:00	1,39 abc	0,82 bc	1,36 abc	0,61 c	1,52 b	1,48 ab	1,74 a

Taula 15. Efecte dels diferents estressos en la taxa de secreció d'ions al xilema
A diferents temps des de l'inici de l'estrès, que es produeix a les 11:00. Les dades provenen de mesures destructives realitzades en diferents plantes en cada moment de mostratge. Es mostra les agrupacions segons un test multirang de Duncan, amb $\alpha = 0.05$ i $3 < n < 6$. NAF indica la meitat radical no afectada per l'estrès. J indica la secreció iònica al xilema per cada ió.

S'observa com a les 2 hores de l'aplicació dels estressos s'ha produït en general un descens en la secreció xilemàtica a les arrels directament afectades.

Això és sobretot significatiu pels estressos hídric i manca de NO_3^- , en la secreció total de soluts, de NO_3^- , K^+ , Ca^{2+} i Mg^{2+} . Les taxes de secreció d'aquests ions al xilema eren significativament menors que en les plantes control i que en les arrels no afectades de la mateixa planta. La manca de tots els ions també provocava una certa disminució de la secreció de NO_3^- però era menys marcada pels altres ions i fins i tot s'observava un increment en la secreció de Ca^{2+} en aquestes arrels, que semblava acompanyat per SO_4^{2-} . Cal recordar que en el tractament de manca de NO_3^- s'emprava SO_4^{2-} per reemplaçar el NO_3^- en la solució nutritiva. Pel que fa al P, s'observava una disminució de la seva secreció al xilema en les arrels afectades per estrès hídric i per manca de NO_3^- .

A les 8 hores, les taxes de secreció xilemàtica de les plantes control havien baixat respecte a les del mostratge anterior, la qual cosa es podia esperar pel patró diari de secreció. S'observava una baixada encara més forta en la secreció de NO_3^- , K^+ i soluts totals a les arrels afectades per manca de NO_3^- i d'ions alhora que les arrels complementàries a aquestes mostraven unes taxes significativament més altes i comparables a les del mostratge anterior.

A les 25h, les taxes de secreció de NO_3^- , K^+ , Ca^{2+} i soluts totals en les arrels estressades era significativament menor que en les seves complementàries. Aquestes darreres mostraven en general unes taxes majors que les control però les diferències només eren significatives en les complementàries a la manca d'ions. Pel que fa a la secreció de SO_4^{2-} , se n'observava un increment molt marcat en les arrels afectades per manca de NO_3^- .

3. Respostes a l'estrès hídric, dèficit de NO_3^- i d'ions en cv. Solmax en quars

3.1. Intercanvi de gasos

La taxa de fotosíntesi del grup de plantes control crescudes en hidropònic de sorra de quars es mantenia constant al llarg del dia entorn als $20 \mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2\cdot\text{s}$ a un PAR de $500 \mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$. No s'observava cap efecte provocat pels diferents estressos radicals (hídric, NO_3^- i ions) sobre la taxa fotosintètica (Figura 41).

Tal i com hem comentat anteriorment, les mesures de bescanvi de gasos eren en continu i l'àrea foliar es mesurava al final del dia de mesures.

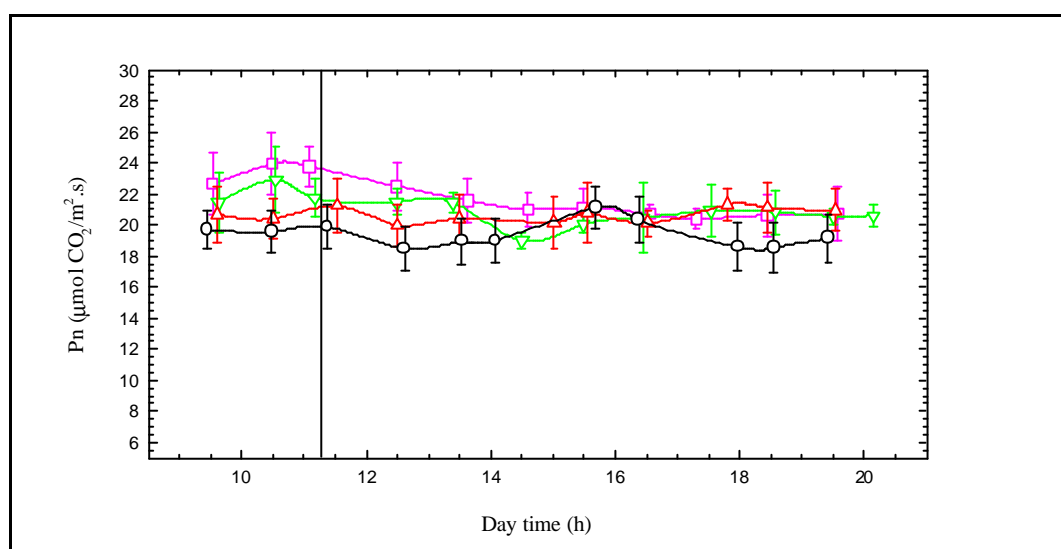


Figura 41. Pn en resposta a estrès hídric, dèficit de NO_3^- i ions (quars) ($n=3 \pm \text{s.e.}$, **j** control, **r** estrès hídric, **s** dèficit NO_3^- , **p** dèficit iònic). La línia vertical indica l'inici de l'aplicació de l'estrès en tots els gràfics.

La transpiració es mantenia al llarg del dia de mesures entre 2.5 i $4 \text{ mmol H}_2\text{O}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ amb un lleuger augment al finalitzar el dia de mesures, sense que cap dels estressos aplicats provoqués una baixada significativa sobre la mateixa (Figura 42).

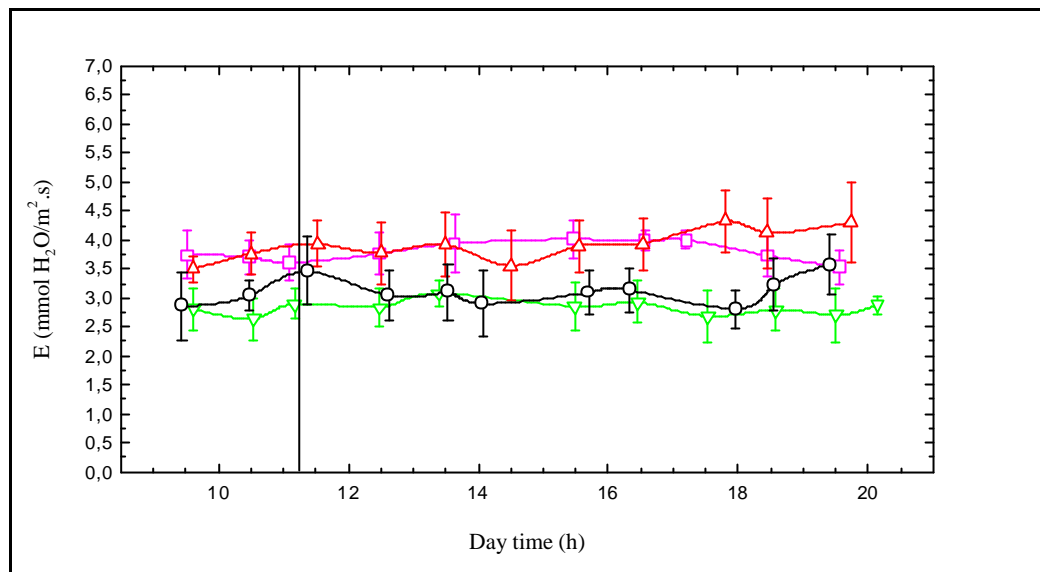


Figura 42. E en resposta a estrès hídric, dèficit de NO₃⁻ i ions (quars) (n=3 ± s.e., i control, r estrès hídric, s dèficit NO₃⁻, ϵ dèficit iònic).

La conductància estomàtica seguia un comportament similar a la transpiració, en un rang entre 200 i 300 mmol H₂O/m².s, sense que els diferents estressos tinguessin cap efecte significatiu sobre la mateixa (no es mostra el gràfic).

Així doncs, teníem que diferents graus d'estrès aplicats a diferents quantitats del sistema radical i diferents tipus d'estrès (hídric, dèficit de NO₃⁻ i d'ions) no semblaven limitar el bescanvi de gasos de la part aèria de plantes de la varietat cv. Solmax crescudes en hidropònic de sorra de quars.

3.2. Respiració radical

Tal i com s'ha comentat anteriorment, la taxa de respiració radical es va mesurar en continu i el PS de les arrels al que es van referir les lectures es va obtenir al finalitzar el dia de mesures.

La taxa de respiració radical en plantes control mostrava un augment progressiu durant el dia de mesures i passava de 0.05 fins a 0.09 μmol CO₂/g dw.s al finalitzar el dia. En tots els estressos aplicats (hídric, dèficit de nitrats i d'ions) la taxa de respiració de les arrels afectades disminuïa ràpidament per sota de la de les arrels control fins arribar a un valor de 0.04 μmol CO₂/g dw.s, de manera semblant per tots els tractaments. Les arrels complementàries a les estressades no augmentaven la seva taxa de respiració radical, en cap dels

estressos aplicats, per sobre dels valors de les plantes control, mantenint-se en taxes molt similars a les observades pel grup de plantes control (Figura 43).

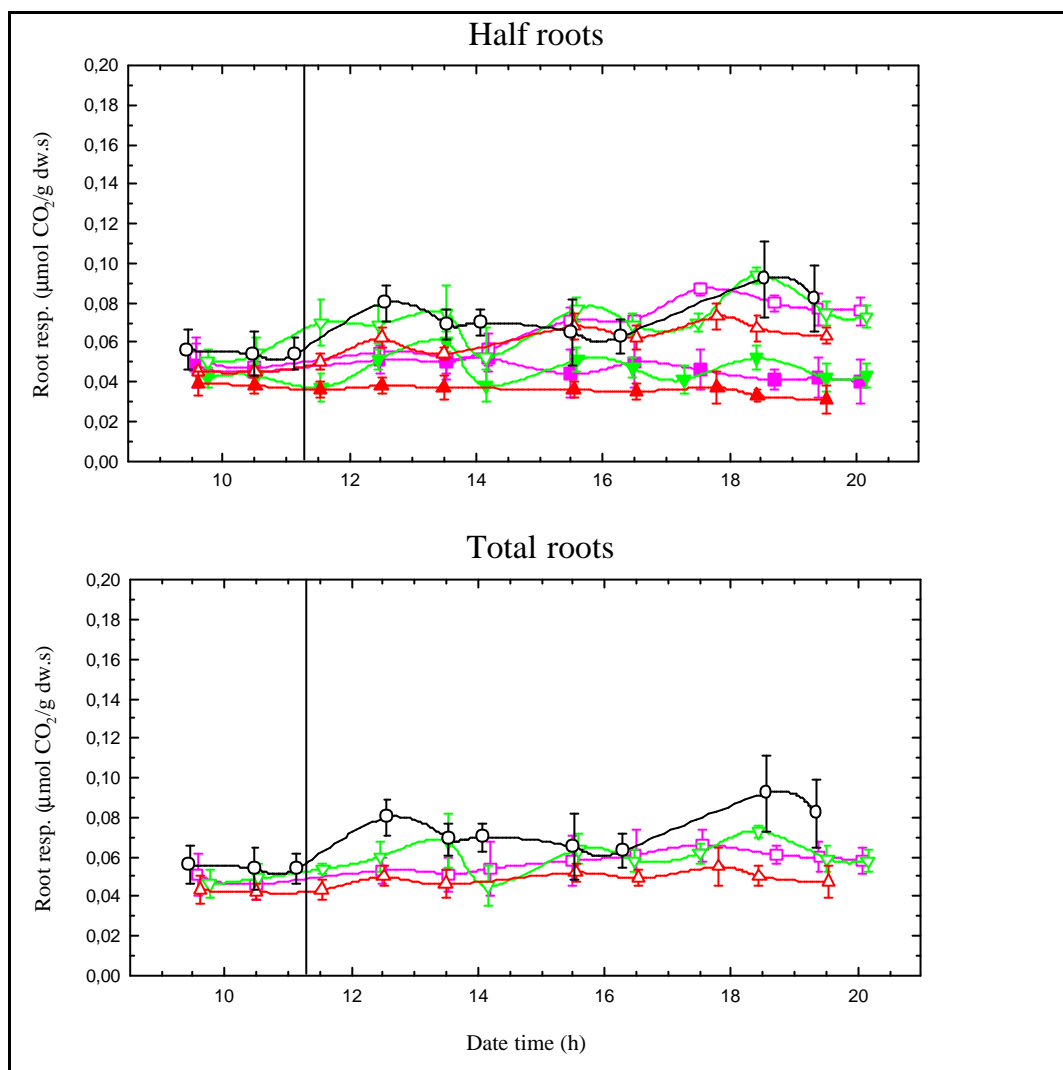


Figura 43. Respiració radical en resposta a estrès hídric, dèficit de NO_3^- i ions (quars) ($n=3 \pm \text{s.e.}$, **i** control, **r** estrès hídric-no afectades, **p** estrès hídric-afectades, **s** dèficit NO_3^- -no afectades, **q** dèficit NO_3^- -afectades, **ϵ** dèficit iònic-no afectades, **ϕ** dèficit iònic-afectades en gràfic superior, **i** control, **r** estrès hídric, **s** dèficit NO_3^- , **ϵ** dèficit iònic en gràfic inferior).

Així doncs, la taxa de respiració per al conjunt de tot el sistema radical obtinguda a partir de les dues meitats radicals de cada planta, l'estressada i la complementària, no arribava a sumar els valors obtinguts la de les plantes control.

3.3. Absorció d'aigua

L'absorció d'aigua en plantes control mostrava un augment des dels 400 mmol H₂O/h. g dw inicials fins arribar als 700 mmol H₂O/h. g dw al finalitzar el dia de mesures (Figura 44).

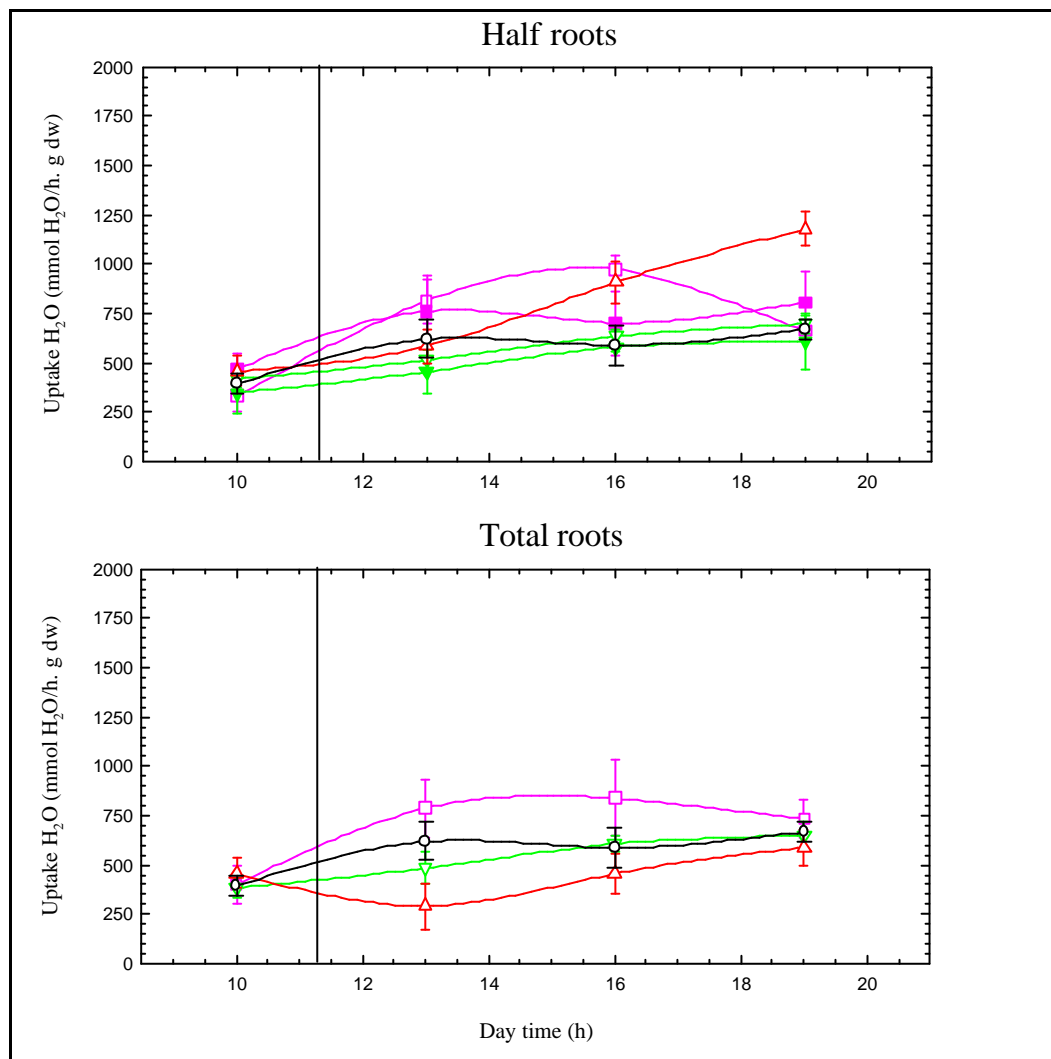


Figura 44. Absorció d'aigua en resposta a estrès hídric, dèficit de NO₃⁻ i ions (quars) (n=3 ± s.e., **j** control, **r** estrès hídric-no afectades, **s** dèficit NO₃⁻-no afectades, **q** dèficit NO₃⁻-afectades, **ϰ** dèficit iònic-no afectades, **ϣ** dèficit iònic-afectades en gràfic superior, **j** control, **r** estrès hídric, **s** dèficit NO₃⁻, **ϰ** dèficit iònic en gràfic inferior).

L'estrès hídric augmentava l'absorció d'aigua en les arrels complementàries a les que es va aplicar l'estrès a les 16:00 h (5 hores després de l'aplicació de l'estrès) de manera significativa i s'arribava al final del dia de mesures a 1200 mmol H₂O/h. g dw, un 170% més que moments abans de l'aplicació de l'estrès. A diferència de l'hidropònic líquid dels assajos anteriors, en aquest

assaig el tractament d'estrès hídric es produïa per assecament progressiu de la sorra, de manera que l'inici de l'estrès no era una hora concreta.

El dèficit de nitrats no provocava cap diferència significativa en l'absorció d'aigua respecte les plantes control en cap de les dues meitats radicals, l'estressada i la complementària.

El dèficit provocat per la manca d'ions no tenia efecte ni en l'absorció d'aigua de la meitat radical estressada, ni en la meitat radical complementària, tret d'un augment significatiu en l'absorció per part d'aquesta darrera a les 16:00 h.

Per tots els tipus d'estrès aplicats l'absorció d'aigua del sistema radical complet (arrel estressada + arrel complementària) mostrava uns valors semblants als del control a les 19:00 h (8 hores des de l'aplicació dels diferents estressos).

3.4. Potencial hídric foliar (Ψ_L)

El potencial hídric foliar en el grup de plantes control seguia una lleugera ona diària entre -0.20 MPa a l'inici del dia fins arribar a -0.35 MPa al finalitzar el dia abans d'entrar a la nit, per tornar a iniciar el matí següent en un valor una mica més negatiu que el dia anterior -0.30 MPa (Figura 45).

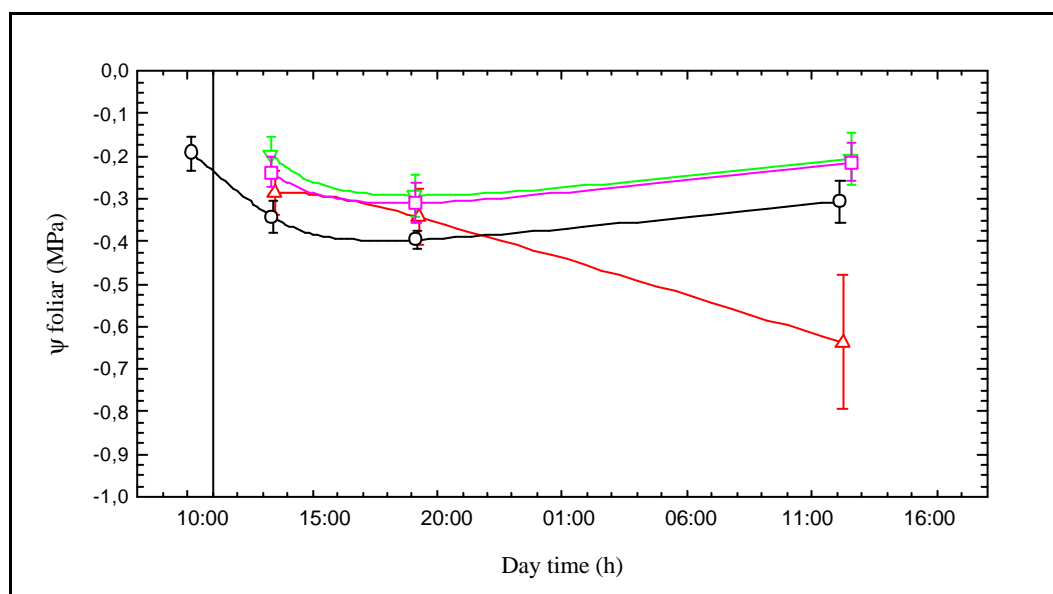


Figura 45. Ψ en resposta a estrès hídric, dèficit de NO_3^- i ions (quars) ($n=3 \pm \text{s.e.}$, **j** control, **r** estrès hídric, **s** dèficit de NO_3^- , **£** dèficit iònic).

El dèficit en nitrats i ions no afectaven el potencial hídric foliar a llarg termini, excepte a les 2 hores de l'aplicació de l'estrès que mostraven valors més alts. Només l'estrès hídric l'afectava significativament, disminuint el Ψ_L a les 24 hores de l'aplicació de l'estrès fins a -0.65 MPa.

L'estrès per nitrat i la manca d'ions provoca un augment significatiu del potencial hídric del brot al cap de 2 hores (13:00) del canvi de la solució nutritiva que al llarg del temps acaba sent similar al grup de plantes control. Pel que fa a l'estrès hídric no s'observen diferències significatives amb el grup control durant el primer dia, però sí passades 24 hores (Taula 16).

hora	Ctrl	hídric	- NO ₃ ⁻	- ions
13:00	- 0,34 a	- 0,31 a	- 0,19 b	- 0,23 b
19:00	- 0,39 a	- 0,34 ab	- 0,29 b	- 0,31 ab
12:00	- 0,31 b	- 0,63 a	- 0,21 b	- 0,21 b

Taula 16. Efecte dels diferents estressos en el potencial hídric del brot (quars) En MPa a diferents temps des de l'inici de l'estrès, que es produeix a les 11:00. Es mostra les agrupacions segons un test multirang de Duncan, amb $\alpha = 0.05$ i $3 < n < 6$.

DISCUSSION

En els tres experiments realitzats; el primer d'ells tenia tres varietats diferents de gira-sol (cv. Solmax, cv. Enano, cv. Tesoro) i en el segon i el tercer se centren en una varietat de gira-sol (cv. Solmax) amb diferents condicions de cultiu, hidropònic líquid en el primer i segon experiments i en sorra de quars en el tercer, hem obtingut patrons semblants en els efectes de diferents tipus d'estrès aplicats de manera severa però localitzada a una part de l'aparell radical. A grans trets hem observat que aquests estressos tenen poc o nul efecte en l'intercanvi de gasos de la planta sencera –fotosíntesi, flux transpiratori i conductància estomàtica-. En canvi, sí que tenen efecte en el funcionament de les arrels directament afectades així com en el d'altres arrels de la mateixa planta que no havien estat sotmeses a condicions estressants.

L'assaig en tres varietats ens va permetre obtenir una primera visió de quin era el patró de resposta a l'estrès radical localitzat. Així mateix vam poder copsar que el patró era coherent en diferents varietats de gira-sol. Per tal d'entrar en més detall vàrem haver de centrar-nos en una sola varietat ja que la metodologia emprada (cambres de mesura del bescanvi de gasos) limitaven a dos el nombre de plantes que s'havien de mesurar en cada sessió de treball i es va considerar més pertinent concentrar l'esforç en un material vegetal molt precís. En aquest sistema es va poder comparar l'activitat metabòlica i les taxes de transport d'aigua i dels principals ions en les arrels afectades pels estressos i per les seves complementàries no directament afectades. Finalment, en l'assaig en sorra de quars es contrastava si els patrons de resposta apuntats podien ser extrapolables al que passa en una planta arrelada al sòl. En aquest cas la capacitat de mesura era limitada ja que en aquest medi no era tècnicament possible mesurar les taxes d'absorció de nutrients i ens vam haver de fixar en les taxes de respiració de l'arrel.

1. Bescanvi de gasos de la part aèria

1.1. Característiques del bescanvi de gasos foliar i com s'afecta pels estressos

Tal com s'ha descrit a l'apartat de material i mètodes, les mesures de bescanvi de gasos foliar corresponen a la integració de tota la superfície foliar de la planta i no d'una petita porció de fulla com és el cas en la majoria d'aparells de mesura del bescanvi de gasos foliar. Això comporta algunes consideracions.

D'una banda, la integració de tota l'àrea foliar ens assegura que podem analitzar el balanç d'entrada i sortida d'aigua de tota la planta, sense haver d'extrapolat a partir de porcions de fulla que podrien no ser representatives del conjunt. A més a més, les mesures són en continu, durant tot el període en què s'ha estat modificant i estudiant l'activitat de l'arrel, de manera que tampoc és necessari extrapolat les mesures en el temps. Per altra banda, el bescanvi de gasos que s'enregistra en aquest sistema correspon a una superfície foliar molt més heterogènia que la que es mesura en la pinça d'un aparell de bescanvi gasós convencional, en termes de radiació incident, turbulència de l'aire, així com en característiques morfològiques i fisiològiques de les fulles (com ara edat, gruix, contingut de pigments, etc).

En aquest sentit, considerem que tenim una mesura fiable dels fluxos de CO₂ i H₂O entre les fulles i l'atmosfera però ens apartem de la simplicitat del model de fulla plana i homogènia en la qual es basa el càlcul d'alguns paràmetres de bescanvi de gasos (von Caemmerer i Farquar 1981). A més, l'àrea foliar de cada planta es mesurava destructivament al final de cada assaig i cal tenir en compte que el creixement durant aquest temps podia ser significatiu (Casadesús 1995, Nogués i col. 2001). De fet, es pot observar un increment progressiu de la P_n, E i G_s al llarg del temps que es podria explicar per aquest increment d'àrea foliar durant el temps de mesura. De tota manera hem expressat les dades referides a àrea foliar per tal de facilitar la comparació entre plantes (i amb les dades d'altres autors). Pel que fa a la concentració de CO₂ intercel·lular, considerem que el seu càlcul seria incorrecte en el nostre cas en que ens apartem d'un model de fulla plana i homogènia i per tant, no l'hem

considerat. També ens trobem que només tenim l'àrea foliar al final del dia de mesures i sabem que el creixement de les plantes durant les aproximadament 10 hores de mesura no és negligible i es manifesta en una tendència a l'alça de les taxes de bescanvi de gasos per tota la planta al llarg del dia.

En les nostres condicions de cultiu (hidropònic) no s'observen els cicles diaris en el flux transpiratori que s'observarien en condicions de camp, ja que les condicions ambientals a les cambres de mesura són constants al llarg del dia. A més, en les nostres condicions de cultiu en hidropònic, totes les arrels són funcionals en l'absorció d'aigua i durant tot el dia, a diferència de les arrels en condicions de camp, que es troben en contacte amb un potencial hídric del sòl que varia al llarg del dia en el perfil i que endemés és diferent per tota la massa radical (Reid i Huck 1990).

Els nostres resultats donen uns valors de taxes fotosintètiques (des de 13 a 20 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ a un PPFD de 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, en hidropònic i ambient controlat) que concorden amb els observats per altres autors (Rawson i Constable 1980, Wise i col. 1990, Casadesús 1995). En els assajos amb 3 varietats aquestes taxes eren inferiors donat que per aquells primers assajos la PPFD a les cambres de mesura era inferior (300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$).

Pel que fa a l'efecte de suprimir la disponibilitat d'aigua en una part del sistema radical, en aquest estudi no s'observen canvis apreciables en el bescanvi de gasos foliar, tret de casos en què s'alterava més del 80% de l'arrel, almenys a curt termini, 10 hores des de l'aplicació de l'estrès. Concretament, no s'observen davallades en la fotosíntesi neta (Figura 11, Figura 12, Figura 13, Figura 21, Figura 28, Figura 41), ni en el flux transpiratori (Figura 14, Figura 15, Figura 16, Figura 22, Figura 29, Figura 42) ni en la conductància estomàtica. Com es discuteix en els apartats següents, el manteniment del bescanvi de gasos foliar malgrat la supressió de l'absorció d'aigua en una part de l'arrel pot ser a causa de la capacitat de compensació per part de l'altra arrel no afectada per l'estrès. Tot i que en el conjunt de plantes no s'observin efectes dels tractaments aplicats, de manera aïllada sí que hi ha algunes plantes que manifesten alguna alteració en el bescanvi de gasos foliar. Per exemple, en un

tractament d'estrès hídric que afectava una gran part del sistema radical, concretament al 71%, es va observar una disminució notable de la transpiració de la planta sencera. D'aquesta manera, pel manteniment del bescanvi de gasos foliar és necessari que es mantingui l'absorció d'aigua global per tot el conjunt de l'arrel, però sembla que no és important com es reparteix l'absorció o la disponibilitat d'aigua entre parts de l'arrel. Això pot tenir algunes implicacions en la comunicació entre arrel i part aèria, tal i com es discutirà en l'apartat següent.

Per la seva banda, amb l'aplicació de fred a l'arrel hem observat una lleugera davallada de les taxes de bescanvi de gasos de la part aèria, tot i que no arribava a ser significativa. Una possibilitat és que el fred a l'arrel dificulti la recirculació floemàtica i limiti per producte final la fotosíntesi. En el cas d'un estrès biòtic s'ha demostrat que certs patògens de l'arrel en plantes de tomaquera limiten l'activitat fotosintètica del brot per bloqueig del xilema en l'arrel (Nogués i col. 2002). En aquest sentit el fred escanyaria el xilema del coll de l'arrel produint un dèficit hídric en el brot que tanca estomes i baixa la fotosíntesi. Una altra possibilitat és que en aquests experiments l'estrès hídric no afecti el bescanvi de gasos foliar degut a la forma com s'ha aplicat, en què se suprimeix de manera sobtada l'absorció d'aigua per les arrels afectades i és possible que això impedeixi circular missatges cap al brot (no circula aigua), mentre que el fred radical no talla la circulació d'aigua i pot transportar missatgers (ABA) al no suprimir-se la circulació xilemàtica (Figura 21).

La capacitat fotosintètica de les fulles va associada a la inversió en N en aquestes (Björkman 1981, Field i Mooney 1986, Touraine i col. 1988, Lopes i col. 2004) de manera que caldria esperar que una davallada en l'absorció de NO_3^- a les arrels acabés repercutint en una davallada de la Pn. Això no s'ha detectat en aquest estudi, probablement perquè caldria esperar més temps per que la limitació de N es posés de manifest suposant que les arrels que encara tenen disponibilitat de NO_3^- no siguin capaces de compensar-ho.

1.2. Comunicació arrel-part aèria

Com s'ha comentat anteriorment, els diferents estressos aplicats a part del sistema radical no alteren de manera important el flux transpiratori, de manera que no es veu alterada la principal via de transport entre el conjunt del sistema radical i la part aèria tant pel que fa a nutrients com a potencials missatgers químics.

Se sap que el control de l'obertura estomàtica podria venir determinat per una combinació de missatgers químics i de l'estat hídric del brot (Lovisoló i col. 2002). En el nostre cas l'estat hídric del brot no es veu alterat mentre que la comunicació mitjançant un missatger químic seria possible però no s'ha detectat el seu efecte.

En situacions d'estrès les plantes redueixen el flux transpiratori disminuint la conductància hidràulica (Jones 1998, Steudle 2001) i sovint com a resposta al tancament estomàtic induït per senyals químics generats a l'arrel i transportats a la part aèria (Jackson 1997), dels quals l'ABA és el principal i més ben estudiat missatger (Hartung i col. 1999, Wilkinson i Davies 2002).

S'ha demostrat que l'estrès hídric (Neales i col. 1989) i el fred radical (Black 1979 a) afecten el bescanvi de gasos a curt termini mitjançant senyals hormonals; a) emesos des de l'arrel (com l'ABA), que afecten directament el tancament estomàtic, el flux d'aigua i, per tant, indirectament a la taxa fotosintètica (Lachno 1983, Cornish i Zeemart 1985, Robertson i col. 1985, Lachno i Baker 1986, Zhang i Davies 1987, Zhang i Davies 1989 b, 1990, 1991, Robertson i col. 1990 ab, Hartung i col. 1998, 2002); i b) altres no emesos des de l'arrel (com les CKs) en què la seva disminució afectaria restringint l'obertura estomàtica i disminuint l'extensibilitat de les parets cel·lulars, l'expansió foliar i, per tant, el creixement (Thomas i col. 1981, Blackman i Davies 1985, Davies i col. 1986, Milligan i Dale 1988).

Tot i la controvèrsia que hi ha respecte el paper de l'àcid abscísic (ABA) com l'únic antitranspirant que es troba en el xilema (Munns i King 1988, Trejo i Davies 1991), sembla que el major factor de control del tancament estomàtic

en el xilema de plantes de gira-sol estressades hídricament, és la concentració d'ABA (Hartung i col. 1998, 2002, Zhang i Davies 1989 b, 1990, 1991). En condicions de camp, s'ha observat la correlació entre les concentracions d'ABA en el xilema i la conductància estomàtica sense que hi hagués relació amb l'estat hídric del brot en diverses espècies vegetals (Wartinger i col. 1990, Tardieu i col. 1992). Tot i aquesta correlació, la sensibilitat del tancament estomàtic a l'augment en les concentracions de l'ABA xilemàtic no es manté constant, depenent de les condicions de creixement. Així, s'ha observat una menor sensibilitat de la conductància estomàtica a altes concentracions d'ABA (més de $1000 \mu\text{mol m}^{-3}$) quan es mantenen elevats ψ en cambres per pressurització radical (Schurr i Gollan 1990). En canvi, en condicions de camp augmenta molt la sensibilitat de la conductància estomàtica a baixes concentracions d'ABA en xilema, menys de $200 \mu\text{mol m}^{-3}$ (Wartinger i col. 1990, Tardieu i col. 1992).

Tardieu i Davies (1992) suggereixen que la concentració d'ABA i el potencial hídric del brot interactuen en els efectes sobre la regulació del tancament estomàtic. Aquesta interacció explicaria per què a nivells constants d'ABA durant un cicle diari, la conductància estomàtica de plantes estressades hídricament baixa al final del dia (baix ψ_L) però no pel matí (alt ψ_L), (Tardieu i col. 1992 b). A la vegada el potencial hídric del brot està en funció del potencial hídric del sòl. Hi ha observacions en què el control estomàtic depèn del flux hidràulic i no de les concentracions xilemàtiques d'ABA (Bunce 1999, Augé i col. 2000, Matzner i col. 2001, Yao i col. 2001, Cochard 2002). Existeix correlació entre la reserva d'aigua del sòl ψ_S i la concentració d'ABA en el xilema o en les arrels (Henson i col. 1989, Zhang i Davies 1989 b). Però hi ha almenys dos factors que afecten aquesta correlació: el flux d'aigua en l'arrel i la dilució del missatger.

L'ABA és sintetitzat en les parts de l'arrel deshidratades (Cornish i Zeevaart 1985, Hartung i Davies 1991), essent proporcional aquesta síntesi a l'estat hídric de l'arrel. Durant el dia, el potencial hídric del sòl decreix (Passioura 1988, Lafolie i col. 1991) i varia la resistència del flux d'aigua a través de l'eix de les arrels. Per tant, la síntesi d'ABA per les arrels, depèn de l'estat hídric de

les arrels, el qual està en funció del flux d'aigua des del sòl a la planta. En conseqüència tenim que, si el missatge que s'envia de les arrels a la part aèria és la concentració d'ABA en el xilema i no el flux d'aquest (Gowing 1991), el missatge depèn del flux d'aigua ja que contribueix a la seva dilució. Durant el dia augmenta la síntesi d'ABA en les arrels però no la seva concentració en el xilema (Tardieu i col. 1992 b) per dilució del mateix al baixar el potencial hídric de l'arrel.

En experiments realitzats per altres autors en condicions de laboratori s'observa que quan se sotmet una part del sistema radical a un baix potencial hídric pot augmentar la concentració d'ABA en el xilema fins a un ordre de magnitud malgrat que en condicions de camp no s'ha observat aquest increment en els nivells d'ABA en xilema (Tardieu i Katerji 1991). Les concentracions d'ABA en el xilema només augmenten de manera significativa quan les reserves del sòl estan pràcticament esgotades i el potencial hídric abans de la sortida del sol disminueix a valors molt baixos (Wartinger i col. 1990, Tardieu i col. 1992 b).

En el nostre cas, els tractaments d'estrès hídric i fred radical suposadament augmentarien la síntesi d'ABA en les arrels afectades per l'estrès. Però com que les altres arrels compensen la pèrdua d'absorció d'aigua es produiria una dilució del missatge químic de manera que la resposta de la part aèria seria inapreciable. En el cas d'estrès hídric, que hem aplicat retirant completament la solució nutritiva, és tan sobtat, sever i localitzat que podria ser que aquestes arrels no siguin capaces d'exportar cap missatge químic a la part aèria.

En canvi, en el cas de fred a l'arrel l'estrès no impedeix l'absorció d'aigua per aquestes arrels, tot i que els en provoca una davallada important. Aquest fet coincideix en què aquest tractament, tot i no ser tan dràstic en el transport d'aigua per les arrels en canvi deixa entreveure una limitació en la taxa fotosintètica d'aquestes plantes. Una possible explicació seria que en el cas del fred és possible fer arribar missatgers químics a la part aèria via xilema mentre que en el cas de supressió total de l'absorció d'aigua no és possible. Alternativament, podria ser un cas de limitació no estomàtica a la fotosíntesi.

El fred inhibeix la translocació d'assimilats (Giaquinta i Geiger 1973) i provoca una reducció general de la circulació floemàtica (McNeil 1980). L'aplicació de fred en el recorregut del floema indueix una davallada del transport floemàtic a llarga distància i, per tant, altera la translocació i partició de fotoassimilats (Pickard i col. 1993, Sowinski i col. 1998, Peuke i col. 2006). En aquest sentit, en tomaquera s'ha observat que el fred a l'arrel provoca acumulació de carbohidrats solubles a fulles (Ali i col. 1996), que com se sap poden tenir un efecte inhibidor de la fotosíntesi (Azcón-Bieto i Osmond 1983). A més, la recirculació d'altres productes també podria estar alterada pel fred, com és el cas del Pi, que també pot ser un limitant per la fotosíntesi (Kondracka i Rychter 1997).

Alguns autors que han estudiat l'efecte del fred a l'arrel en el bescanvi de gasos foliar han apuntat cap a l'ABA com a possible missatger però en algun cas han suggerit que la resposta la desencadena un canvi de pH del xilema, que és anterior al canvi en ABA (Wan i col. 2004). Fins i tot, alguns autors afirmen que el tancament estomàtic induït per fred a l'arrel no és mediat per ABA sinó per CKs (Veselova i col. 2005). En plantes de sèsam s'ha observat que el fred a tota o part de l'arrel disminueix el transport cap a la part aèria de nutrients (K^+ , NO_3^- , P) així com de CKs i giberelines (Ali i col. 2000). Els nostres resultats mostren com, tot i que algunes arrels es trobin en condicions estressants que segons la literatura haurien de produir l'emissió de missatgers hormonals dirigits al tancament estomàtic, aquesta resposta és poc o gens manifesta quan el conjunt de l'arrel és capaç de redistribuir l'activitat i mantenir el flux d'absorció d'aigua.

Altres autors emprant la tècnica de l'"split-root" amb gira-sol en sòl sí que observen un increment d'ABA a les arrels i xilema de les plantes amb estrès hídric a una part de l'"split-root" (Masia i col. 1994). De tota manera no hi ha consens en el paper de l'ABA. En algun cas en què es descriu tancament estomàtic induït per estrès hídric en "split-root" sembla que la resposta no és mediada ni per potencial hídric ni per ABA i proposen que és per etilè (Sobeih i col. 2004).

Respecte a l'eficàcia de la tècnica del Partial Root Drying (PRD) per millorar l'eficiència en l'ús de l'aigua pels cultius, la seva avaluació és controvertida. S'han publicat resultats positius, com ara que en vinya el PRD estimula una major producció de raïm i major concentració d'antocians que la mateixa quantitat d'aigua aportada uniformement a tot el sòl, coincidint amb uns majors nivells d'ABA al raïm (Antolin i col. 2006). Un dels efectes descrits del PRD és l'estímul del creixement de les arrels, el qual pot permetre una major capacitat d'explotar els recursos del sòl (Mingo i col. 2004). Però no sempre està clar que l'assecamment d'una petita fracció del sistema radical produeixi un efecte diferent que l'assecamment de tot el conjunt. També s'han publicat resultats que suggereixen que fa el mateix efecte tant si l'estrès hídric és heterogeni com si és homogeni i que el PRD no provoca cap missatge de tancament estomàtic diferent que els d'un assecament homogeni del sòl (Regulated Deficit Irrigation, RDI) (Wakrim i col. 2005).

2. Relacions hídriques

2.1. Estat hídric

Els valors de potencial hídric del brot (ψ_L) mesurats en el nostre estudi (entre -0,20 i -0.65 MPa, Figura 38 i Figura 45) coincideixen en rang amb les mesures d'altres autors descrites en plantes joves de gira-sol (Koide 1985, Casadesús 1995) i són menys negatius que les mesures fetes per alguns autors en plantes de gira-sol de més edat (Berengena i col. 1985, Wise i col. 1990), en què ψ_L es fa més negatiu amb el pas del temps, probablement per l'esgotament de l'aigua del sòl.

És coneguda l'elevada conductància hidràulica de les arrels del gira-sol, que li permeten extraure l'aigua en profunditat i poder mantenir un potencial hídric força constant tot i els elevats fluxos transpiratoris que mostra aquesta planta (Berengena i col. 1985). En els nostres experiments hem observat com la supressió de l'absorció d'aigua en una part del sistema radical només provoca una lleugera disminució del ψ_L a curt termini, 3 hores (Figura 38), que posteriorment es recupera. Per tant, la resta de l'arrel és capaç de compensar l'activitat d'absorció d'aigua suprimida pel tractament permetent de mantenir el flux transpiratori, tal i com es discuteix més endavant.

En les nostres condicions experimentals de cultiu en hidropònic, aquesta capacitat compensadora es troba facilitada perquè en la part no afectada l'aigua no és limitant sinó que està disponible permanentment. De tota manera, quan el tractament d'estrès hídric s'aplica en sorra de quars, més semblant a una condició de sòl natural, al cap de 25 hores sí que es produeix una davallada del ψ_L fins a -0.65 MPa, que podria ser explicada pel gradient creat en la disponibilitat de l'aigua per part del sistema radical no afectat per l'estrès. En el cas de l'assaig en sorra de quars hem observat que el tractament de dèficit en nitrats produïa un cert increment del potencial hídric del brot (es feia menys negatiu). En aquest sentit, alguns autors han citat alteracions en el control de la transpiració que porten a una pitjor eficiència hídrica, desencadenades per desajustos derivats de la manca d'alguns ions, sobretot de K^+ (Fournier i col.

2005). Entre altres, seria possible que les aquaporines estiguessin implicades en els reajustaments d'activitats com a resposta a canvis sobtats en la disponibilitat d'ions.

L'increment en la demanda d'absorció d'aigua per l'arrel, que en aquests experiments hem provocat amb la supressió de disponibilitat d'aigua a l'altra part radical, és en certa manera comparable amb les fluctuacions que de manera natural es produeixen per canvis en la taxa transpiratòria. En aquest sentit, en plantes de gira-sol a baixes taxes de transpiració (entre 0.6 i 3.7 mmol H₂O m⁻² s⁻¹) s'ha descrit que el potencial hídic de la fulla es manté constant davant de canvis en el flux transpiratori (Stoker i Weatherley 1971). En canvi, per taxes transpiratòries superiors el potencial hídic disminueix linealment amb la transpiració (Boyer 1974). Recentment s'ha descrit que l'activitat de transport d'ions pot tenir un efecte important en la conductivitat hidràulica del xilema (van Ieperen i col. 2000). En aquest sentit és probable que a baixes taxes transpiratòries aquests efectes iònics fossin més rellevants que a altes taxes de E, de manera que per valors baixos de E es mostraria una conductivitat variable amb E. En els nostres experiments les taxes transpiratòries són baixes en totes les plantes i tractaments (entre 1.5 i 3.5 mmol H₂O m⁻² s⁻¹), de manera que encaixa amb el rang en què altres autors han descrit que el potencial hídic és poc afectat per la transpiració.

2.2. Redistribució de l'absorció d'aigua

Hem observat que quan suprimim parcial o totalment l'absorció d'aigua, és a dir en els tractaments d'estrès hídic i fred radical, a la part aèria es manté inalterada la taxa transpiratòria i el potencial hídic del brot, tan sols pateix una petita davallada. Això ens permet constatar que les arrels no afectades per l'estrès compensen de forma immediata (minuts) i augmenten l'absorció d'aigua per mantenir el flux transpiratori i l'estat hídic general de la planta (Figura 24, Figura 31, Figura 44).

Segons alguns autors, l'aigua que fa falta per mantenir el flux transpiratori en les fases inicials de l'estrès podria venir de les reserves que hi ha en les arrels directament afectades per l'estrès (Simonneau i Habib 1994). En aquest sentit,

hem observat una pèrdua de pes fresc en les arrels afectades que podria explicar part del flux addicional necessari gastat en la transpiració, durant les fases inicials d'estrès, però no seria suficient per mantenir el subministrament d'aigua a la part aèria durant gaire estona. Nosaltres hem observat com la major part de l'aportació d'aigua necessari per suplir l'arrel estressada prové de l'absorció per part de la resta d'arrels de la mateixa planta, que sí que tenen l'aigua a l'abast. En aquest sentit, la mesura de l'absorció d'aigua per la part del sistema radical no afectada a les 6-8 hores des de l'aplicació de l'estrès, correspon a pràcticament la totalitat dels nivells d'absorció d'aigua inicials per tota la planta.

La capacitat per augmentar l'absorció d'aigua en les arrels no estressades compensant la disminució d'aquesta taxa en d'altres zones radicals, correlaciona millor quan es relaciona el percentatge de canvi d'absorció amb el percentatge d'arrel activa expressat per la seva taxa d'absorció d'aigua en el moment abans de l'aplicació de l'estrès, que quan es relaciona amb el percentatge de massa radical (Figura 27). Aquesta observació s'explica perquè no tota la massa radical és igualment activa per l'absorció de l'aigua. Existeixen gradients al llarg de l'eix radical i és més activa l'absorció d'aigua en la zona apical (Sanderson 1983, Häussling i col. 1988). Endemés, les zones basals, més velles i amb una major suberificació de la rizodermis i de l'exo-endodermis, es constitueixen com una barrera al pas d'aigua, mostrant taxes inferiors en l'absorció d'aigua (MacFall i col. 1991, Enstone i Peterson 1992).

Quan es relaciona la quantitat d'arrel expressada en pes sec amb la taxa d'absorció d'aigua, en plantes control també es dona una molt bona correlació ($r^2=0.91$) entre ambdós paràmetres (Figura 46). Quan s'aplica estrès hídric, s'observa que la part del sistema radical no afectada per l'estrès, s'aparta de manera proporcional de la correlació en funció del percentatge d'arrel afectada. Així tenim que quan major és el percentatge d'arrel afectada per estrès hídric més s'aparta i en sentit positiu de la correlació existent entre la quantitat d'arrel no afectada i la capacitat màxima d'absorció d'aigua (els valors se situen per sobre de la recta de regressió, encara més quan major és el percentatge d'arrel afectada). Això vol dir, que quan més quantitat d'arrel s'afecta per estrès

hídric, major és la resposta de la part radical no afectada, en el sentit de compensar la mancança en la capacitat d'absorció d'aigua.

Quan l'estrès aplicat és 'fred radical', si bé s'observa la mateixa tendència en el sentit d'augmentar la capacitat d'absorció per part del sistema radical no afectat per l'estrès quan major és el percentatge d'arrel afectada (augment de la distància a la recta de regressió en sentit positiu), aquesta no és tant clara com en l'estrès hídric. La part radical afectada pel fred s'aparta en sentit negatiu de la correlació amb la capacitat màxima d'absorció d'aigua (pels tractaments d'estrès hídric i fred s'indica el percentatge de pes sec que representa cada arrel en el sistema radical d'aquella planta (Figura 46).

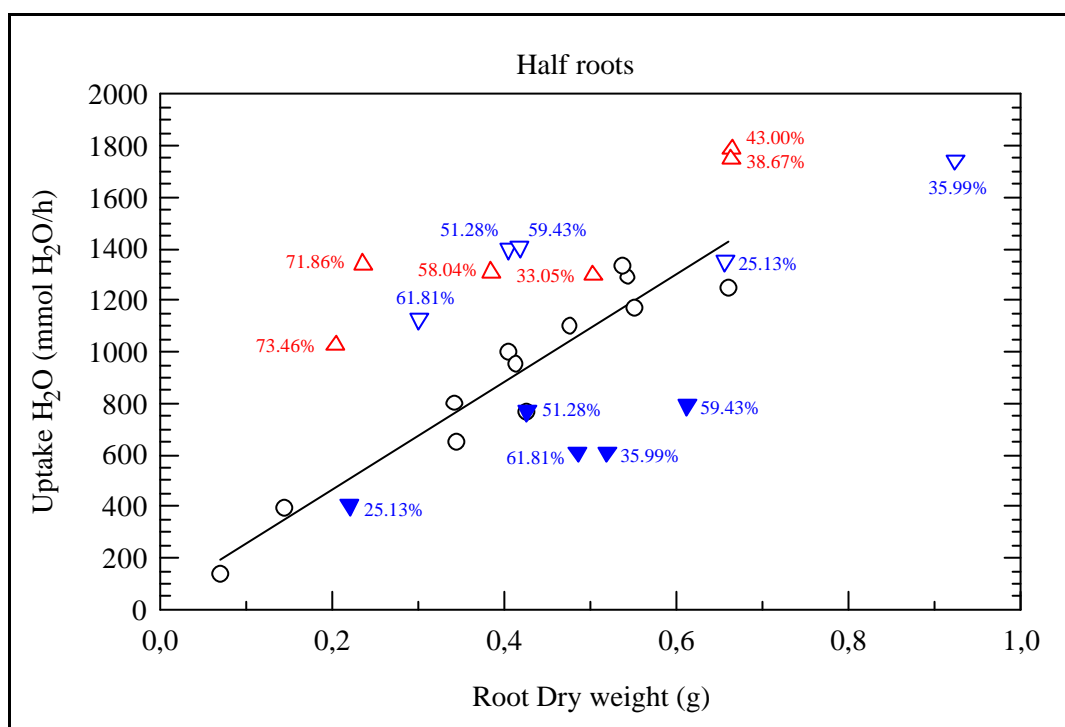


Figura 46. Relació entre absorció d'aigua i pes sec d'arrel
 $y = 48.7 + 2084.1x$, $r^2 = 0.91$ (i control, r estrès hídric-no afectada, s estrès fred-no afectada, q estrès fred-afectada).

Cal que destaquem que la resposta compensativa en l'absorció d'aigua d'una part del sistema radical en resposta a l'estrès hídric i fred aplicats a una altra part del sistema radical de la mateixa planta, es dona de forma molt ràpida i generalment compensa l'activitat suprimida en la part de l'arrel tractada.

Sobre el mecanisme que permet que la part de l'arrel no afectada sigui capaç de compensar tan ràpidament la part de l'arrel estressada, anteriorment hem comentat que a taxes transpiratòries relativament baixes, la resistència del sistema radical del gira-sol sembla que no és limitant i, dins d'un cert límit, el potencial hídric del brot és insensible a canvis en el flux transpiratori (Stoker i Weatherley 1971).

Alternativament, es pot plantejar la possibilitat de reajustaments actius en la conductància hidràulica de les arrels. Recentment s'ha observat l'important paper que tenen les aquaporines en la regulació de la conductància hidràulica de les membranes cel·lulars (Morillon i Chrispeels 2001, Lopez i col. 2003) i d'òrgans de la planta (Siefritz i col. 2002). Les aquaporines són unes proteïnes que fan de canal pel pas de l'aigua i que s'han descrit en les membranes de les cèl·lules de l'arrel. Faciliten la difusió d'aigua i de soluts neutres a través de les membranes de les cèl·lules vegetals (Maurel i Chrispeels 2001, Baiges i col. 2002, Javot i Maurel 2002, Chaumont i col. 2005) i s'han descrit com a possible mecanisme de regulació en el transport d'aigua des de les arrels al brot (Henzler i col. 1999, Johansson i col. 2000, Javot i Maurel 2002).

En condicions normals la via apoplàstica pel transport d'aigua és la que predomina i els canals d'aigua (aquaporines) són regulades en condicions d'estrès hídric per la disminució en la conductivitat hidràulica de l'arrel (Martre i col. 2001). En dèficit hídric les cèl·lules epidèrmiques de l'arrel varien la seva permeabilitat per deposició de substàncies hidrofòbiques en les parets i redueixen la conductivitat hidràulica de l'arrel (Watt i col. 1996), fet que s'interpreta per una regulació de tancament de les aquaporines (Zhang i Tyerman 1999). Les aquaporines doncs, són quelcom més que simples canals, es tracta de canals multifuncionals que tenen un ampli rang de transport selectiu (H_2O , CO_2 , glicerol, urea) i que són regulades en resposta a diversos factors, entre els quals destaca la conductivitat hidràulica de l'arrel (Maurel i col. 2002). Les aquaporines representen un camí selectiu i regulat, en diferents condicions fisiològiques, a través de les membranes cel·lulars del flux d'aigua que circula per la via simplàstica des de l'arrel al brot (Tyerman i col. 1999, 2002, Johansson i col. 2000, Javot i Maurel 2002).

Precisament s'ha descrit un cicle diari en la transcripció d'ARNm de gens d'aquaporines, que va unes 2-4 h. avançat al cicle de conductivitat hidràulica de l'arrel (Henzler i col. 1999, Clarkson i col. 2000), la qual cosa apunta a les aquaporines com a un possible punt de control del transport pel xilema.

En el cas de fred radical, s'ha descrit la implicació de les aquaporines en la reducció de la conductància hidràulica de l'arrel (Lee i Chung 2005). En relació amb estressos nutricionals, s'ha descrit que les deficiències en anions solen provocar una disminució de conductivitat hidràulica de l'arrel, que podria anar relacionada amb una disminució en l'activitat o en la densitat d'aquaporines a l'arrel (Clarkson i col. 2000).

S'ha descrit que l'ABA regula la codificació gènica de les aquaporines (Mariaux i col. 1998, Ramamjulu i Bartels 2002) i suggereix la participació de l'ABA en el control dels camins dels fluxos d'aigua en les plantes. D'aquesta manera l'ABA promou el transport d'aigua en les plantes via activació de les aquaporines (Hose i col. 2000).

L'increment en l'absorció d'aigua observat en els nostres assajos en la part no afectada per l'estrès podria tenir inicialment un component passiu, ja que s'observa un increment temporal del gradient de potencial hídric. Posteriorment però, desapareix aquest gradient gràcies a una reducció progressiva de la resistència hidràulica de l'arrel, la qual s'adequa al nou requeriment de flux d'aigua. La bibliografia apunta cap a un possible paper de les aquaporines.

Com es comenta més endavant, cal destacar que no tan sols s'observa una resposta compensatòria en l'absorció d'aigua sinó també en l'absorció de K^+ i NO_3^- , si bé la diferència és que en el cas d'aquests ions la resposta és més lenta (hores), cosa que podria indicar que els mecanismes són diferents als de l'absorció d'aigua.

3. Activitat de l'arrel

3.1. Respiració radical

En les plantes de gira-sol emprades s'ha observat en situació control que la respiració radical representa aproximadament un 10% del consum de CO₂ que és assimilat pel procés de fotosíntesi. Poorter i col. (1990) i Van der Werf i col. (1994) han observat que entre 1/4 i 2/3 de tots els fotoassimilats produïts al dia són respirats majoritàriament a les arrels pel manteniment-creixement de la planta i per l'absorció d'ions. Aquesta fracció tendeix a augmentar amb l'edat de la planta ja que disminueixen la translocació d'assimilats cap a les arrels i aquestes necessiten més energia de manteniment quan el seu creixement disminueix (Steingröver 1981, Poorter i Pothmann 1992). La fracció de carbohidrats emprats en la respiració radical depèn de factors ambientals biòtics i abiòtics. A baixa intensitat lumínica, la taxa de respiració radical és menor (Lambers i Posthumus 1980, Kuiper i Smid 1985). La respiració també sol augmentar en condicions de dèficit nutricional (Van der Werf i col. 1992). Per la seva banda, les respostes de les taxes respiratòries de diferents organismes a la temperatura típicament es modelen amb una Q₁₀ d'aproximadament 2.0, tot i que és més precís emprar una Q₁₀ depenent de la temperatura (Tjoelkeri col. 2001). Per això és esperable que la temperatura tingui un efecte directe en les taxes de respiració (Smakman i Hofstra 1982), de manera que disminuir la temperatura a la meitat (de 26 °C a 13 °C) implica disminuir la respiració aproximadament a la meitat.

Els costos energètics de l'absorció iònica per les arrels es poden xifrar en l'ordre d'un 38% de la respiració de l'arrel (Werf i col. 1988). El nitrat disponible en el medi correlaciona directament amb les taxes respiratòries de l'arrel, ja que gran part de la despesa energètica de l'arrel, mesurada com a respiració en els nostres experiments, és deguda a l'absorció de NO₃⁻ (Lambers i col. 1980, De Visser i Lambers 1983). De tota manera, quan es comparen espècies amb diferent potencial de creixement (Poorter i col. 1991) o plantes amb diferent aportació de nitrogen (Granatto i col. 1989, Van der Werf i col. 1992) la variabilitat en la fracció d'assimilació de CO₂ que es destina a

respiració radical és menor que la variabilitat en l'absorció iònica i el creixement.

En el nostre estudi, observem que es dona una bona correlació ($r^2=0.93$) entre la quantitat d'arrel, expressada en pes sec, i la taxa de respiració radical que té la planta (Figura 47). Aquesta correlació també es manté de forma clara en la part del sistema radical no afectada pels estressos (hídric i fred).

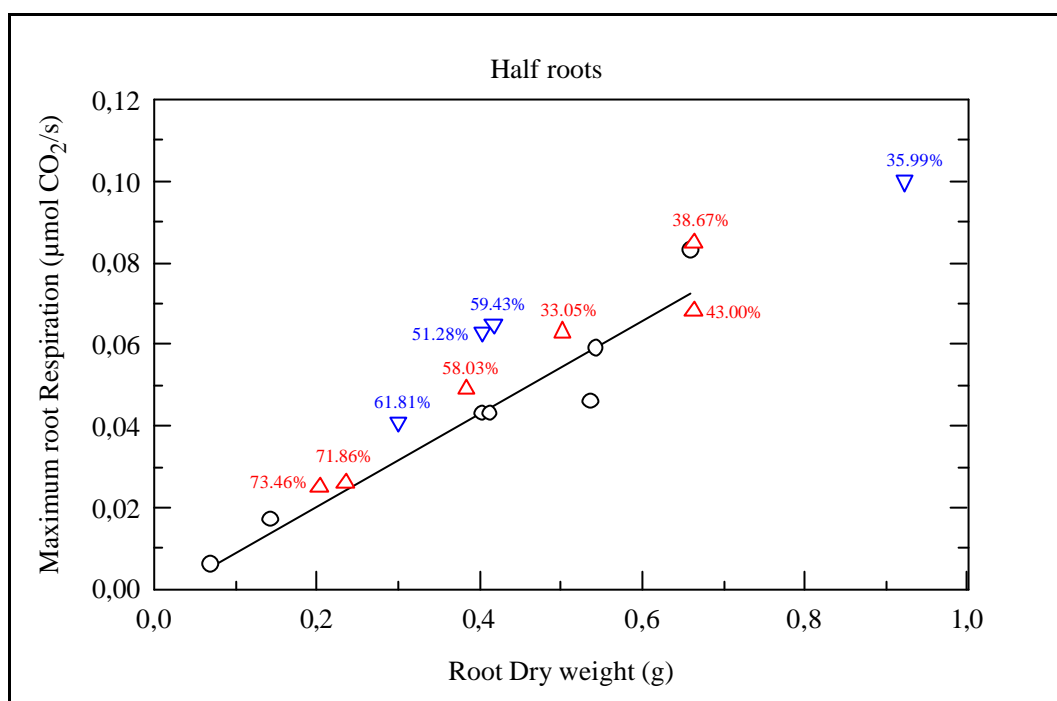


Figura 47. Relació entre respiració radical i pes sec d'arrel
 $y = -2.49 + 0.11x$, $r^2 = 0.93$ (i control, r estrès hídric-no afectada, s estrès fred-no afectada).

En els nostres experiments hem observat com la taxa respiratòria de les arrels respon ràpidament a canvis en la disponibilitat d'alguns ions. Concretament, la retirada de la solució nutritiva o l'eliminació dels ions NO_3^- o K^+ provoca una davallada molt ràpida (minuts) en la taxa respiratòria de l'arrel afectada (Figura 23, Figura 30, Figura 43). En els casos en què es va provocar l'esgotament total del K^+ i el NO_3^- de la solució (Figura 17, Figura 18, Figura 19) s'intueix com la respiració radical es pot desglossar en tres components que en funció del grau d'estrès es van perdent progressivament. El primer component de la respiració que es perd seria la respiració destinada a l'absorció iònica per manca d'alguna ió (en el nostre cas el K^+) i que s'observa per una caiguda en el pendent de la

respiració total. El segon component de la respiració que es perd seria la respiració relacionada amb l'absorció de NO_3^- i que es manifesta per una caiguda gradual en la corba de respiració radical fins arribar a un valor basal igual en totes les plantes i tractaments de $0.04 \text{ mol } \mu\text{molCO}_2 \text{ g dw}^{-1} \text{ s}^{-1}$. Aquest valor seria la respiració de manteniment, el tercer component de la respiració. Aquestes observacions estan simplificades en la Figura 20 i concorden amb els resultats obtinguts per altres autors (Poorter i col. 1991, Van der Werf i col. 1994). Els costos energètics associats a cadascun dels tres components o processos de la respiració radical varien entre les espècies (Poorter i col. 1991) i entre les condicions de creixement (Van der Werf i col. 1994). Hem observat com la disminució de la taxa respiratòria de les arrels afectades per l'estrès és diferent en funció de l'estrès aplicat. Així, en dèficit hídric i nutricional (per manca de NO_3^- i tots els ions) la disminució és gradual (al llarg de 3 hores) fins arribar a un valor basal de $0.04 \mu\text{mol CO}_2 \text{ g dw}^{-1} \text{ s}^{-1}$ on es manté constant per totes les plantes i tractaments. En canvi a l'aplicar fred radical aquesta disminució fins el valor basal és pràcticament immediata. Aquesta diferència podria explicar-se per l'efecte directe de la temperatura en la respiració radical (Q_{10}), ja que totes les reaccions metabòliques que depenen d'enzims i proteïnes es veuen afectades per la temperatura de manera semblant. Per tant l'absorció de nutrients en l'arrel afectada pel fred, i més concretament l'absorció de NO_3^- , així com el transport d'assimilats des de la part aèria a l'arrel estressada mitjançant transportadors específics (bomba de malat) es veurien afectats. En canvi en els altres tipus d'estrès (hídric i nutricional), aquesta disminució progressiva en la respiració radical vindria donada per una ralentització progressiva de l'activitat metabòlica de l'arrel, sigui directament per l'activitat associada a l'absorció de NO_3^- , o com a conseqüència d'algun canvi el patró de creixement o en l'aportació d'assimilats via floema.

Altres autors també han observat que quan la concentració de nutrients és baixa, la respiració radical també és menor que en situació d'una bona aportació de nutrients i semblaria ser degut principalment a la manca de nitrat (Van der Werf i col. 1992).

Pel que fa a l'observació en els nostres experiments d'una clara disminució de la respiració en les arrels afectades per estrès hídric, creiem que en bona part aquesta baixada podria ser conseqüència més de la manca d'ions, sobretot de NO_3^- , que no directament de la manca d'aigua. Els patrons d'evolució de la respiració de l'arrel quan es va esgotant el NO_3^- i K^+ de la solució (Figura 20) són prou ràpids com perquè el mateix efecte es produeixi quan es retira la solució nutritiva.

En els nostres experiments, l'ús de la tècnica de "split-root" a més de l'efecte de la disponibilitat dels nutrients sobre la mateixa arrel afectada, ens ha permès estudiar-ne també l'efecte sobre la resta d'arrels de la mateixa planta. Concretament hem pogut observar com les parts del sistema radical no afectades per l'estrès mostren un increment de la taxa respiratòria quan tenen la suficient disponibilitat de nutrients a la solució. Això suggereix que aquestes arrels estimulen la seva activitat metabòlica en general i concretament aquells processos relacionats amb l'absorció de nutrients, fins a compensar la funcionalitat perduda en les arrels afectades pels estressos.

Com es discutirà en l'apartat següent, hem observat com la manca d'alguns ions en una part de l'arrel n'estimula l'absorció en altres parts (Figura 25, Figura 26, Figura 32, Figura 33). Les altes taxes de respiració solen estar relacionades amb l'absorció i assimilació del NO_3^- en les arrels (Lambers i col. 1980, De Visser i Lambers 1983). Reich i col. (2006) han observat en més de 43 espècies vegetals que la respiració de la planta sencera té una escala isomètrica relacionada amb el % del N total en totes les plantes. Endemés aquesta escala isomètrica no es veu afectada per les condicions de creixement incloent canvis d'intensitat lumínica, disponibilitat de N, temperatura i concentracions atmosfèriques de CO_2 . En els nostres experiments hem observat que la manca de NO_3^- i altres ions provocaven una disminució en la respiració de l'arrel afectada. Sovint s'ha citat que els dèficits nutricionals estimulen el creixement de l'arrel i presumiblement també n'estimulen la respiració (del Amor i Marcelis 2004). Potser aquest estímul general de la respiració de l'arrel té sentit quan és la totalitat del conjunt d'arrels que es veu mancat d'ions, mentre que quan la limitació és heterogènia el patró de resposta consisteix en

redistribuir la respiració, reduint-la allà on falten els nutrients i incrementant-la allà on són més fàcilment disponibles.

És interessant observar que si sumem la respiració de les dues parts de l'arrel, l'efecte de l'estrès sobre la respiració del conjunt d'arrels és o bé imperceptible o com a màxim provoca una baixada menor del 25% en els casos d'estrès hídric i fred. Així doncs, sembla que l'efecte d'aquests estressos és un canvi en la distribució de l'activitat metabòlica en el conjunt del sistema radical, però que no canvia gaire l'activitat global del conjunt. Això es podria interpretar com que, en no haver-se alterat la Pn a la part aèria, el conjunt d'arrels segueix rebent la mateixa quantitat d'assimilats. Alternativament també es podria interpretar com que la demanda nutricional per la part aèria segueix sent la mateixa i tot i que es distribueixi de diferent manera l'absorció d'ions, el cost energètic segueix sent el mateix.

Sobre els mecanismes que produeixen aquesta redistribució de la respiració de l'arrel, se sap que la respiració radical depèn de factors interns (enzims i sistemes de transport d'electrons) que poden variar ràpidament i de factors externs (condicions de creixement) que varien més lentament. La redistribució de la respiració podria ser conseqüència o bé d'una redistribució dels fotoassimilats o bé d'una redistribució de l'activitat transportadora de l'arrel. En aquest segon cas, el procés aniria dirigit per mecanismes químics o hormonals més o menys complexos, que controlarien els nivells dels principals macroelements en la planta, com es discuteix en el següent apartat.

Alguns autors han descrit que la respiració radical pot ser regulada pels adenilats i/o pel nivell de substrats (sucres com la glucosa o sacarosa) estimulants-la a través de la glicòlisi i de la cadena de transport d'electrons (Saglio i Pradet 1980, Bryce i ap Reeps 1985, Brouquisse i col. 1991). A l'interior de les cèl·lules el malat pot entrar directament dins del cicle de Krebs de la mitocondria o bé ésser descarboxilat per l'enzim màlic i convertir-se en piruvat (Lance i Rustin 1984, Martinoia i Rentsch 1994). En ambdós casos es genera CO₂ que podria explicar l'augment de la respiració de la part radical no afectada per l'estrès que hem observat (Figura 23, Figura 30), a causa d'una

major aportació de malat via floema (Ben Zioni i col. 1971). Els àcids orgànics (com el piruvat) s'acumulen quan no són gastats, en els processos oxidatius de la mitocòndria, a la mateixa velocitat que es produeixen. Quan això passa tenen efectes al·lostèrics per promoure la via respiratòria alternativa que accepta electrons des de la ubiquinona, competint les dues vies respiratòries (Millar i col. 1993, Day i col. 1994).

Respecte a l'efecte d'un possible canvi en la redistribució de fotoassimilats sobre la respiració de l'arrel, s'ha comprovat que la capacitat de diferents arrels per actuar d'embornal dels fotoassimilats depèn més de quant baixa és la concentració de sucres solubles a les arrels, que no pas de la taxa metabòlica d'aquestes arrels (Farrar i Minchin 1991, Minchin i col. 1994). Així doncs, en aquest model la redistribució de la respiració entre diferents arrels no seria la conseqüència de canvis en la retranslocació si no que precisament en seria la causa; els canvis en les taxes de transport de nutrients a les diferents arrels comportarien canvis en les seves taxes de respiració i de consum de sucres solubles, que atraurien més o menys fotoassimilats cap a les diferents arrels.

Alguns experiments amb "split-root" en sòl mostren com la disponibilitat heterogènia de NO_3^- al medi condiciona una desigual translocació de fotoassimilats a diferents arrels. En aquest sentit, s'ha observat com aportos localitzats de NO_3^- incrementen la translocació de fotoassimilats cap a aquelles arrels, que no únicament repercuteix en un increment de la respiració sinó també en un increment en l'exudació de C orgànic al sòl (Paterson i col. 2006).

Els efectes de les hormones en la respiració radical estan poc estudiats encara. Sembla que l'ABA a nivell de les arrels estimularia la producció de CO_2 augmentant la respiració radical (Markhart 1982). Les CKs en medis amb deficiència de nutrients incrementarien la demanda energètica en les arrels per l'absorció iònica augmentant la taxa de respiració radical (Kuiper i Staal 1987).

Altres factors ambientals externs com el pH (Yan i col. 1992), salinitat (Blacquièrre i Lambers 1981), estrès hídric (Nicolas i col. 1985), temperatura (Körner i Larcher 1988), intensitat lumínica (Poorter 1991) i pressió parcial de

O₂/CO₂ (Konings i Lambers 1990), també influeixen en la regulació de la respiració radical.

3.2. Absorció d'ions

En els tractaments d'estrès hídric que s'han aplicat en els nostres experiments s'ha suprimit l'absorció d'ions per les arrels afectades per l'estrès ja que es retirava completament la solució nutritiva d'aquesta part del sistema radical. En condicions més naturals, altres autors també han observat que l'estrès hídric disminueix en general l'absorció d'ions en l'arrel (Mackay i Barber 1985) tot i que també hi ha observacions en què l'absorció de K⁺ no està influïda pel contingut hídric del sòl (Liebersbach i col. 2004).

Pel que fa als tractaments de fred radical, hem observat una disminució de l'absorció d'ions per part de l'arrel sotmesa al tractament que és pràcticament immediata en el cas del K⁺. Aquesta davallada de l'absorció iònica com a conseqüència de l'aplicació de fred concorda amb les observacions fetes per altres autors (Miyasaka i Grunes 1990, Engels i Kirkby 2001) en què una disminució de la temperatura radical de 24 a 12 °C disminueix el creixement radical i l'acumulació de K⁺ i de NO₃⁻ en les arrels. Podem explicar la reducció en l'absorció d'ions en les arrels afectades per fred per l'efecte que té el descens de temperatura (Q₁₀) en les ATPases de les membranes de l'arrel inhibint-se el transport de K⁺. També és conegut que el transport a través del floema resulta fortament inhibit pel fred, de manera que la recirculació de K⁺ entre arrel i part aèria es redueix dràsticament a baixes temperatures radiculars (Engels i Kirkby 2001).

També hem observat que l'arrel afectada pel dèficit de NO₃⁻ disminueix l'absorció de K⁺ en les 3 hores següents a l'aplicació de l'estrès (Figura 32). Es coneix que les taxes d'absorció i translocació de NO₃⁻ per les arrels no són independents de les de K⁺ (van de Geijn i Petit 1979, Casadesús i col. 1995). El NO₃⁻ absorbit per les arrels es carrega al xilema acompanyat per K⁺ (per tal de mantenir les càrregues) i una vegada a les fulles es redueix en els cloroplasts (van Beusichem i col. 1988, Touraine i col. 1990). En aquesta reducció es

genera l'àcid orgànic malat per l'enzim malat deshidrogenasa, que es transloca amb K^+ via floema cap a les arrels (bomba de malat- K^+).

En condicions de camp, el cicle del nitrogen (N) i del potassi (K) té diverses funcions entre les quals destaquen l'aport d'AAs assimilats a les fulles cap a les arrels i la translocació de l'excés de K^+ cap al brot per equilibrar la càrrega negativa del NO_3^- en el xilema. Està estimat que entre un 24-51% del K^+ i un 20-33% del N translocat des de les arrels al brot via xilema no procedeix directament de l'absorció iònica, sinó de la recirculació (Marschner i col. 1997). Precisament aquesta recirculació de nutrients pot tenir un paper important en la regulació de l'absorció en resposta a l'estat nutricional de tota la planta (Marschner i col. 1996). Per exemple, l'absorció de K^+ a l'arrel sembla ser inhibida pel K^+ recirculant des del brot, de manera que la recirculació de K^+ via floema permetria modular l'absorció de K^+ amb un "feed-back" negatiu de la concentració general de K^+ a la planta (White 1997). De manera semblant, en el cas del N sembla que la glutamina que arriba a l'arrel via translocació pel floema actua com un inhibidor de l'absorció de nitrat (Pal'ove-Balang i Mistrik 2002).

3.3. Efecte compensatori en l'absorció de NO_3^- i K^+

Els resultats obtinguts mostren com la manca de NO_3^- o K^+ a una part del sistema radical n'estimula l'absorció a l'altra part de l'arrel de la mateixa planta (Figura 25 i Figura 32 pel K^+ , Figura 26 i Figura 33 pel NO_3^-). D'aquesta manera la funcionalitat perduda en les arrels sotmeses a estrès és suplerta per una resposta compensatòria per part de les arrels no afectades. Això concorda amb les observacions d'altres autors que també havien obtingut un estímul en l'absorció de K^+ (Drew i col. 1984) i de NO_3^- (Simpson i col. 1982, Burns 1991) com a resposta a la manca en altres parts del sistema radical. En els darrers anys s'han fet molts avanços en el coneixement dels mecanismes de transport de K^+ i s'han identificat alguns dels gens que hi estan relacionats (Very i Sentenac 2003). S'ha comprovat que la transcripció del gen AtHAK5, que codifica un transportador de K^+ d'alta afinitat, s'estimula quan

hi ha manca de K^+ al medi i s'inhibeix pel restabliment de K^+ al medi (Ahn i col. 2004).

Aquesta resposta compensatòria no és immediata, recordem que sí que ho era per l'absorció d' H_2O , s'observava a partir d'unes 4 hores des de l'aplicació de l'estrès en el cas del K^+ (Figura 25) o 6 hores en el cas del NO_3^- (Figura 26) de manera que probablement l'efecte compensatori es produeixi per diferents mecanismes en un cas i en l'altre.

L'efecte compensatori en l'absorció d'ions s'ha d'emmarcar en el context de la demanda nutricional de la planta sencera. Aquesta integració ha d'estar regulada per mecanismes que modulin l'expressió i/o l'activitat dels transportadors iònics de l'arrel d'acord amb l'estat nutricional de la planta. En aquest sentit els propis ions i productes derivats del seu metabolisme participen en la regulació dels seus propis transportadors, autoregulació o "down-regulation" (Grignon 1990, Clarkson i Lüttge 1991, Chrispeels i col. 1999). No obstant, s'ha documentat un control sobre l'absorció iònica per coordinació dels transportadors iònics de l'arrel amb l'activitat fotosintètica del brot (Forde 2002). Moltes taxes d'absorció iònica fluctuen diàriament (Hatch i col. 1986, Le Bot i Kirkby 1992) i s'estimulen a major intensitat lumínica (Gastal i Saugier 1989).

Un possible mecanisme regulador de l'activitat de l'arrel podria basar-se en la disponibilitat de fotoassimilats provinents de la part aèria (Jackson 1997). En aquest model, seria factible que al no variar la taxa fotosintètica i disminuir el substrat per l'absorció iònica en unes arrels, disminueixi el consum energètic en aquesta arrel i això provoqui una major disponibilitat de fotoassimilats en l'arrel complementària, que acabaria estimulant l'absorció de nutrients. En aquest sentit s'ha citat que l'expressió d'alguns gens que codifiquen transportadors de NO_3^- , de K^+ i de P és induïble per sucres com sacarosa, glucosa i fructosa (Lejay i col. 2003).

A més del simple efecte energètic, la translocació des de la part aèria també pot modular l'activitat de l'arrel a través de la llançadera de malat (Ben Zioni i col. 1971, Touraine i col. 1990, 1992, Casadesús i col. 1995). S'ha suggerit que la

recirculació de K^+ i N estan involucrats en el senyal de creixement que des del brot es tradueix en una demanda de nutrients a l'arrel i finalment en la regulació de l'absorció d'aquests per part de les arrels (Armstrong i Kirkby 1979, Kirkby i Armstrong 1980, Drew i col. 1990, Touraine i col. 1994).

Aprofundint en la llançadera de malat, una baixada en la disponibilitat de NO_3^- a les arrels produiria una limitació en la incorporació de NO_3^- al xilema que, al ser lligada a la secreció de K^+ , comportaria una disminució en la transferència de K^+ des del floema al xilema. Se sap que la càrrega i descàrrega de K^+ del floema és important de cara al flux en massa a través d'aquesta via (Engels i Kirkby 2001). Per aquest mecanisme, la manca de NO_3^- podria acabar produint una davallada en el transport floemàtic cap a l'arrel afectada. Aleshores, les arrels no afectades per la manca de NO_3^- podrien disposar d'una major aportació floemàtica que els permetria una major activitat metabòlica, necessària tant per l'absorció de K^+ com per la de NO_3^- .

L'absorció de K^+ és altament selectiva i acoblada a l'activitat metabòlica de l'arrel i té una gran mobilitat dins la planta entre cèl·lules i diferents parts de la planta, brot-arrel via xilema-floema, acompanyant anions (principalment NO_3^-) i contribuint al potencial osmòtic de cèl·lules i teixits. Per facilitar aquesta mobilitat, les membranes cel·lulars disposen de canals de K^+ (Tester i Blatt 1989). Aquests canals de K^+ obren i tanquen en resposta a senyals ambientals i canvis interns de potencial de membrana, permetent permeabilitats al K^+ majors que les que s'obtidrien per bombes i transportadors (Tester 1990). L'absorció de K^+ sovint es veu molt influïda per l'absorció de NO_3^- , ja que el K^+ té un important paper de compensar la càrrega elèctrica del NO_3^- en la seva absorció per l'arrel i també en la càrrega al xilema (Lu i col. 2005). Entre les moltes funcions del K^+ hi ha la de mantenir el balanç entre cations-anions especialment en la recirculació de NO_3^- com explicarem més endavant però també en el transport d'AAs i sucres en el xilema (Jeschke i col. 1985).

La regulació de l'absorció de NO_3^- s'ha relacionat amb la disponibilitat en les arrels de diferents metabòlits de C com sucres (Rufty i col. 1989, Delhon i col. 1996) i àcids carboxílics (Touraine i col. 1992). Endemés s'ha comprovat que

l'absorció de NO_3^- és pràcticament independent de les variacions en la transpiració (Casadesús 1995, Delhon i col. 1995). Les baixes temperatures tenen un efecte directe sobre els transportadors de NO_3^- sobretot per sota dels 10 °C en què tot tipus d'activitats metabòliques disminueixen molt amb el descens de T (Glass i col. 1992). Són diversos els estudis que evidencien la regulació per sucres-hexoquinosa en l'expressió gènica dels enzims que fixen el N en les arrels i que estimularien l'absorció de NO_3^- (Jang i col. 1997, Martin i col. 1997, Lejay i col. 2003). Com s'ha comentat anteriorment, el propi NO_3^- té regulació sobre el seu propi transportador en l'arrel (Stitt 1999, Wang i col. 2000). Estudis recents indiquen una altra ruta per comunicar la disponibilitat de N des de les arrels cap a les fulles, mitjançant les CKs (Simpson i col. 1982, Samuelson i Larsson 1993, Takei i col. 2001, 2002, Collier i col. 2003, Geßler i col. 2004). Aquestes CKs sintetitzades a l'arrel que correlacionen amb la disponibilitat de N en les arrels, serien translocades amb ions NO_3^- cap a les fulles on regularien l'expressió de gens relacionats amb la transducció del N incrementant l'expressió de l'enzim nitrat reductasa (Sakakibara i col. 1998, 2000, Taniguchi i col. 1998). Un "pool" d'AAs circulant entre l'arrel i la part aèria serien el sensor de nivell de N en la planta (Muller i Touraine 1992, Muller i col. 1996, Kreuzwieser i col. 1997, Geßler i col. 1998 b, 2004, Collier i col. 2003). Increments de N orgànic en les arrels provocarien un augment de la concentració d'AAs circulants que reprimirien l'absorció de NO_3^- i un augment de la concentració de CKs que estimularia l'expressió gènica involucrada en l'assimilació de N estimulants l'absorció de NO_3^- .

En els darrers anys s'han fet molts progressos en el coneixement dels mecanismes de control del nivell de nitrat en planta (Forde 2002). Entre altres, sembla que la glutamina que arriba a l'arrel via translocació pel floema actua com un inhibidor de l'absorció de nitrat (Pal'ove-Balang i Mistrík 2002). També s'ha proposat un possible paper a les CKs del xilema, que sembla que estan involucrades en regular el creixement segons l'estat nutricional de N (Dodd i Beveridge 2006).

Pel que fa al sistema de transport de NO_3^- consisteix en dues famílies de transportadors, uns de baixa afinitat codificats pels gens NRT1 que sembla que en bona part s'expressen constitutivament i, els altres d'alta afinitat, codificats pels gens NRT2 que són especialment induïbles pel balanç entre la disponibilitat de NO_3^- al medi i la demanda pel brot (Crawford i Glass 1998). S'ha comprovat que la High Affinity Transport System (HATS) és responsable de la resposta a limitacions de nitrat (Remans i col. 2006). S'ha identificat que els gens AtNrt2.1 i AtNrt2.2 estan involucrats en la regulació del transportador de NO_3^- d'alta afinitat, i que juguen un paper important en la resposta de la planta a canvis de disponibilitat de NO_3^- en el sòl i en el temps (Cerezo i col. 2001).

El NO_3^- es redueix en les fulles en un primer pas per efecte de l'activitat de l'enzim nitrat-reductasa que el converteix en NH_4^+ . Aquest enzim està regulat per llum, nitrat i carbohidrats. Per tant, un augment en els nivells de NO_3^- en el citosol de les cèl·lules radicals promouria l'activitat d'aquest enzim. Sivasankar i Oaks (1996) han demostrat que el NO_3^- augmenta la transcripció dels gens que codifiquen per aquest enzim. En plàntules d'ordi els nivells de l'RNA missatger de la nitrat reductasa es detecta l'augment després de només 40 minuts de l'addició de nitrat, amb nivells màxims al cap de 3 hores (Kleinhofs i col. 1989). Aquests terminis de resposta concorden amb l'increment d'absorció que s'observa en els nostres resultats (Figura 26) on podem observar un fort augment en l'absorció de NO_3^- a partir de 6 hores des de l'aplicació de l'estrès. L'activitat de la nitrat reductasa a nivell de transcripció gènica també està regulada pel nivell de sucres (Cheng i col. 1992, Lam i col. 1996).

La resposta compensatòria de l'absorció de NO_3^- que hem observat en arrels complementàries de les afectades per algun estrès encaixa perfectament amb els resultats d'altres autors que en experiments en "split-root" han demostrat que el gen AtNrt2.1, que codifica un transportador de nitrat d'alta afinitat, és controlat per senyals brot-arrel relacionats amb la demanda de N (Gansel i col. 2001). Concretament, aquests autors han observat que la manca de NO_3^- a una part del sistema radical estimula la transcripció d'aquest gen a parts del sistema radical que sí que tenen disponibilitat de NO_3^- .

En els experiments en sorra de quars, vam observar com la manca d'aigua o nutrients a una part del sistema radical en disminuïa la taxa respiratòria, cosa que concorda amb l'observat en solució nutritiva, però en canvi no vam observar un increment en la taxa respiratòria de l'altra meitat de l'arrel. En aquest assaig, per limitacions tècniques no es mesurava l'absorció d'ions, però creiem que es devia complir l'associació clara entre la taxa respiratòria i les taxes d'absorció de NO_3^- i K^+ observada en els altres assajos. En aquest sentit, la nostra interpretació de la manca d'efecte compensatori en la sorra de quars és que aquestes arrels es trobaven amb una limitada disponibilitat de nutrients amb la qual no era possible incrementar-ne la taxa d'absorció. Aquesta limitació vindria d'una banda del reduït volum de substrat en què s'havien cultivat i de l'altra, dels gradients de concentració que se sap que s'estableixen al sòl (o substrats) al voltant de les arrels. En condicions naturals un dels passos més limitants de l'absorció ònica per les arrels és la difusió dels ions des de la matriu del sòl fins a la superfície de les arrels (Barber 1984, Jungk i Claassen 1997) i el fet que a la rizosfera s'hi desenvolupen zones en què les concentracions poden ser molt inferiors que la mitjana de la solució del sòl (Barber 1984, Cushman 1984, Jungk i Claassen 1997). Precisament la modelització d'aquests gradients de concentració a la rizosfera és el punt més complex i determinant dels models matemàtics d'absorció de nutrients del sòl per les arrels (Baldwin i col. 1973, Barber i Cushman 1981, Barraclough i Tinker 1981, Cushman 1984). Se sap que depèn de factors com la densitat de longitud d'arrel, contingut d'aigua al sòl i paràmetres relacionats amb l'equilibri iònic entre fases del sòl. En el context de la resposta compensatòria de les arrels en condicions naturals, creiem que la capacitat fisiològica de les arrels per incrementar les taxes d'absorció d'ions seria més o menys efectiva en el sòl dependent de l'escenari concret determinat pels factors acabats d'esmentar.

3.4. Absorció de P

A diferència de K^+ i NO_3^- , no hem observat cap estímul en l'absorció de fòsfor per part de les arrels no afectades pels estressos. Aquesta manca de compensació per l'absorció de P que hem observat, faria pensar que l'activitat

d'absorció de P per unitat d'arrel és limitada, de manera que una arrel no pot incrementar aquesta activitat per tal de suplir una altra arrel. En aquest sentit, sí que hem vist que una meitat del sistema radical d'aquestes plantes era suficient per assumir tota l'absorció d'aigua, K^+ i NO_3^- , però que cal tot el sistema radical per mantenir l'absorció de P; aleshores sembla que el sistema radical de les plantes emprades en aquests experiments estaria dimensionat per la captació de P.

En condicions de camp l'aportació de PO_4^{3-} és una de les majors restriccions pel creixement de la planta (després del nitrogen) a causa de la baixa mobilitat i l'alta capacitat de retenció d'aquest anió en el sòl (Marschner 1995, Smith 2002, Smith i col. 2003). És coneguda la formació de proteoïds o agrupacions radicals en baixes concentracions de PO_4^{3-} (Gardner i col. 1983, Neumann i col. 1999) i que la formació d'aquestes masses radicals està regulada per la concentració interna de PO_4^{3-} (Gilbert i col. 1997). S'ha comprovat la mobilització de PO_4^{3-} per àcids orgànics aniònics (citrat, malat, oxalat) que via floema són transportats a l'arrel (Gerke i col. 2000); acidifiquen la rizosfera i faciliten l'absorció de PO_4^{3-} mitjançant un simport H^+/PO_4^{3-} (Tang i col. 2001, Smith 2002, Smith i col. 2003). En baixes concentracions de PO_4^{3-} el malat és excretat per les arrels al medi per facilitar l'absorció de PO_4^{3-} en les arrels proteoïds (Schulze i col. 2002).

El paper de la concentració en l'arrel d'àcids orgànics aniònics (com lactat, acetat, oxalat, succinat, fumarat, malat, citrat, isocitrat i aconitat) i la seva exudació al medi acidificant la rizosfera i estimulants l'absorció de nutrients, especialment de PO_4^{3-} , està àmpliament estudiat (Jones 1998, Ryan i col. 2001). El malat i citrat serien els primers components en ser exudats a baixes concentracions de PO_4^{3-} (Gardner i col. 1983, Grierson 1992). L'exudació d'àcids orgànics per facilitar l'absorció de PO_4^{3-} en requereix una producció mantinguda en les arrels, la qual és possible pel transport de sucres via floema, per tal de no esgotar en les arrels les concentracions d'aquests àcids orgànics (Johnson i col. 1994, 1996).

Tot i que en aquests experiments no s'ha detectat un efecte compensatori en l'absorció de P, no podem descartar que no es produeixi en un termini més llarg. En aquest sentit, s'ha demostrat que l'estat general de P de la planta de manera sistèmica i no pas la concentració local, intervé en la regulació de l'expressió de gens que codifiquen per transportadors de P a l'arrel (Smith 2002, Smith i col. 2003).

Per tant, hem vist que l'arrel de gira-sol no és capaç de compensar a curt termini la manca d'absorció de fòsfor que es dona quan part del sistema radical se sotmet a estrès hídric, nutricional o fred. L'observació que el P és el principal macronutrient pel qual unes arrels no poden suplir les altres, suggereix que el sistema radical d'aquestes plantes està dimensionat per les necessitats d'absorció de P.

3.5. Absorció d'altres ions (Ca^{2+} , Mg^{2+} , SO_4^{2-})

Els resultats obtinguts mostren com la manca de NO_3^- pot alterar l'absorció d'altres ions apart del K^+ , com Ca^{2+} , Mg^{2+} i SO_4^{2-} . Concretament, hem observat que les arrels afectades per manca de NO_3^- redueixen l'absorció de Ca^{2+} i Mg^{2+} i que semblen augmentar l'absorció de SO_4^{2-} (Figura 34, Figura 35, Figura 36, Figura 37).

És interessant remarcar que la disminució en l'absorció d'aquests dos cations es produeix tot i que es manté l'absorció d'aigua en aquestes arrels. Això contrasta amb la creença bastant extensa de que el mecanisme d'absorció de Ca^{2+} i Mg^{2+} és per arrossegament en corrent transpiratori i corrobora que, almenys en plantes joves i amb una elevada taxa de creixement com són aquestes plantes, una part important de l'absorció de Ca^{2+} i Mg^{2+} és activa i susceptible als sistemes de control de la nutrició mineral a nivell de planta sencera (del Amor i Marcelis 2003).

També és remarcable l'observació que la davallada en l'absorció de Mg^{2+} no és immediata, com en el cas de K^+ i Ca^{2+} sinó que es produeix una mica més tard (unes 4 hores). Això podria suggerir que es podrien produir per mecanismes diferents. En el cas del Ca^{2+} la baixada en l'absorció podria ser conseqüència

de la disminució de la càrrega de NO_3^- en el xilema, a la qual pot estar lligada per qüestions de càrrega elèctrica, de manera semblant al que hem comentat pel K^+ (Van de Geijn i Petit 1979). En el cas del Mg^{2+} , les taxes d'absorció que hem observat per aquest ió són de l'ordre d'una cinquena part les del Ca^{2+} i potser la mateixa massa d'arrel fa un cert tamponament entre l'absorció i la secreció al xilema, de manera que en un primer moment de la disminució de l'absorció de NO_3^- , el Mg^{2+} s'acumularia en l'arrel fins que aquest cúmul produís una inhibició dels transportadors involucrats.

A diferència del K^+ , no observem efecte compensatori en l'absorció de Ca^{2+} i Mg^{2+} . Els resultats obtinguts d'absorció pels ions Ca^{2+} , Mg^{2+} , P/PO_4^{3-} i SO_4^{2-} no mostren un efecte compensatori per part de les arrels no afectades pels estressos (Figura 34, Figura 35, Figura 36, Figura 37), com sí s'havia comprovat en els apartats anteriors de la discussió per l'absorció d' H_2O , K^+ i NO_3^- . Part de la manca d'efecte observat podria ser deguda a la menor precisió en la metodologia emprada en la mesura de l'absorció d'aquests ions. En efecte, tot i que la determinació de les concentracions d'aquests ions en la solució nutritiva s'hagi realitzat amb mètodes molt precisos, el consum d'aquests ions per les plantes és molt baix en relació a la seva concentració en la solució, de manera que el seu diferencial és molt reduït. A més, també és possible que la mateixa concentració a la planta esmorteïxi els canvis en el subministrament, de manera que les possibles respostes compensatòries siguin més lentes.

Per tant, sembla que l'absorció de Ca^{2+} i Mg^{2+} es produeix per mecanismes separats però ambdós s'inhibeixen per manca local de NO_3^- , són independents del flux d'aigua i no mostren efecte compensatori a curt termini. Tot plegat encaixaria amb l'existència de sengles mecanismes d'absorció actius, possiblement regulats a nivell de tota la planta, però que interaccionen amb el transport local de NO_3^- .

Pel que fa a l'increment d'absorció de SO_4^{2-} en les arrels sotmeses a manca de NO_3^- , d'una banda això pot ser degut a l'increment de concentració de SO_4^{2-} en la solució nutritiva d'aquest tractament. No obstant això un estímul de

l'absorció de SO_4^{2-} es podria esperar en cas de dèficit de NO_3^- ja que alguns transportadors de NO_3^- poden transportar també altres anions (Crawford i Glass 1998). L'absorció de SO_4^{2-} en les arrels té aspectes molt similars a l'absorció dels nitrats i es dona a molt baixes concentracions. Se sap que l'absorció de sulfat és mitjançant simports $\text{SO}_4^{2-}/\text{H}^+$ o $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{H}^+$ i que l'expressió dels gens que les codifiquen respon a l'estat nutricional de SO_4^{2-} de tota la planta (Smith 2001).

3.6. Càrrega xilemàtica

Hem observat un patró diari molt marcat en l'exudació radical, que concorda amb les observacions d'altres autors (Henzler i col. 1999). En gira-sol s'ha citat que l'exudació al xilema s'estimula amb ABA i sembla que depèn d'aquaporines (Quintero i col. 1999).

La variació observada en la secreció d'ions al xilema mostra a grans trets unes pautes semblants a l'observada per l'absorció d'ions, discutida en l'apartat anterior (Figura 32, Figura 33, Figura 34). No obstant això, es posa de manifest que no es transporta al xilema la mateixa quantitat d'ions que l'arrel està absorbint en un moment determinat. En aquests assajos la diferència entre absorció i secreció al xilema es posa de manifest si comparem per cada ió aquestes taxes a diferents hores del dia. La diferència sobretot consisteix en un cicle diari molt marcat en la secreció, mentre que l'absorció és més constant durant les hores de llum. En els nostres resultats s'observen taxes d'absorció al llarg del dia per aquests ions que estan per sobre dels valors obtinguts en l'exudat. Aquest fet està en línia amb observacions realitzades per altres autors que demostren que la càrrega iònica del xilema és un procés clarament diferenciat de l'absorció iònica tant pel K^+ (Engels i Marschner 1992 b) com pel NO_3^- (Touraine i Grignon 1982). Com que part de la secreció xilemàtica prové de retranslocació des del brot via floema, no seria sorprenent que l'efecte dels tractaments sobre l'absorció d'ions no coincidís amb l'efecte sobre la secreció xilemàtica. Per exemple, en blat de moro s'ha observat que el fred a l'arrel provoca una baixada de l'absorció de NO_3^- i K^+ a les arrels, però no de la recirculació de N i K^+ entre fulles i arrels, que sembla dependre més de

l'activitat de les fulles que no pas de les condicions de les arrels (Engels i Kirkby 2001).

De la comparació de les taxes d'absorció i exudació obtingudes al llarg del dia, es desprèn que una quantitat procedent de l'absorció d'aquests ions romandria en l'arrel. Aquests ions acumulats en l'arrel podrien destinar-se com a substrat precursor de l'augment metabòlic que s'observa, mesurat com augment de respiració, en les arrels que compensen el dèficit hídric i iònic. De tota manera també cal tenir en compte que la mesura de la secreció d'ions al xilema és destructiva ja que es basa en l'exudació obtinguda d'arrels tallades i que podria ser que subestimés la taxa de secreció in vivo. L'exudació cau ràpidament poc després de tallar la planta, de manera que seria possible que, fins i tot, la primera mesura obtinguda just després de tallar la planta fos ja una subestimació de les taxes de secreció que hi havia en la planta intacta.

La secreció a les arrels afectades per l'estrès és molt diferent a la de les seves complementàries no directament afectades. La taxa de secreció de K^+ i NO_3^- en les arrels afectades per estrès hídric, manca de NO_3^- i manca general d'ions cau molt per sota del control.

També hem observat que la manca de NO_3^- provoca diferències importants entre la secreció de les dues meitats del sistema radical pel que fa a NO_3^- , K^+ , Ca^{2+} i Mg^{2+} . En situació de dèficit de NO_3^- hem observat una disminució en la càrrega xilemàtica dels diferents ions estudiats. Com s'ha comentat, la manca de NO_3^- provoca una disminució de l'activitat metabòlica de l'arrel, que també podria explicar part d'aquesta reducció en la càrrega xilemàtica.

Per la seva banda, en les arrels complementàries de les afectades en algun cas s'observa un estímul de la secreció al xilema. Concretament, a les arrels complementàries a l'estrès hídric, a les 8 h. de l'inici de l'estrès, s'intueix un estímul de la secreció de K^+ i NO_3^- , que 16 hores més tard és ben significatiu.

Pel que fa als mecanismes de secreció al xilema, s'ha citat que la secreció de K^+ al xilema és per un "outward rectifying channel" (KORC) que respon a canvis en la concentració d'ABA (de Boer 1999). D'aquesta manera, la

secreció al xilema sembla ser un procés sensible als sistemes de control en què participa l'ABA.

També se sap que la recirculació via floema pot aportar una part important del K^+ que se secreta al xilema, de manera que és possible que es produeixin baixades en l'absorció de K^+ que no comportin una disminució de la seva càrrega al xilema (Lu i col. 2005).

En el cas del dèficit de NO_3^- , l'efecte sobre el K^+ i Ca^{2+} seria explicable per la necessitat de mantenir l'equilibri de càrregues iòniques en el xilema (Allen i col. 1988, Findenegg i col. 1989). És a dir, com a conseqüència d'una menor secreció de NO_3^- tampoc se secretaria K^+ , que és el principal catió encarregat de compensar la càrrega negativa de l'anió NO_3^- . A més, possiblement la secreció d'ions al xilema interaccioni amb el transport d'aigua. Així Quintero i col. (1998) han demostrat que el dèficit de K^+ en arrels de gira-sol augmenta els fluxos d'exudació i la conductivitat hidràulica, acumulant-se Na^+ en l'arrel.

Quan el dèficit inclou tots els ions, hem observat un pic en la secreció de Ca^{2+} al xilema. Una possible explicació podria ser que en aquest cas no hi ha prou K^+ per compensar la càrrega del NO_3^- i momentàniament aquest rol l'assumeix el Ca^{2+} .

Pel que fa a efecte compensatori en el carregament xilemàtic, hem observat que s'estimula la secreció de K^+ , NO_3^- i Ca^{2+} per part de les arrels complementàries a les que pateixen manca general d'ions o únicament de NO_3^- ; mentre que l'estrès hídric no provocava cap efecte en la secreció iònica al xilema per part de l'arrel no afectada.

Amb tot plegat veiem que, tot i que el procés d'absorció d'ions per l'arrel està fisiològicament separat del procés de càrrega al xilema, a mig termini un condiciona a l'altre.

CONCLUSIONS

1. La supressió de l'absorció d'aigua a una part del sistema radical de plantes de gira-sol crescudes en "split-root", no produeix una reducció apreciable a curt termini en el bescanvi de gasos de la part aèria (com fotosíntesi, flux transpiratori i conductància estomàtica).
2. L'activitat de la part aèria és poc o gens sensible a l'aparició de condicions estressants en parts del sistema radical, sempre que la integració de la funcionalitat de tot el sistema radical mantingui l'aportació d'aigua i nutrients a la part aèria.
3. Les arrels tenen la capacitat d'incrementar en poques hores les taxes d'absorció d'aigua i alguns ions (NO_3^- , K^+), de manera que compensen la pèrdua de funcionalitat en altres arrels de la mateixa planta que es troben afectades per algun tipus d'estrès.
4. La respiració de l'arrel respon de manera immediata i esglaonada a la disponibilitat de K^+ i NO_3^- en el medi radical, en forma d'una baixada brusca cada vegada que s'esgota un d'aquests nutrients.
5. Els estressos hídric, nutricional i fred quan afecten només a una part del sistema radical provoquen una redistribució de l'activitat metabòlica en el conjunt del sistema radical, en què disminueix la taxa respiratòria de la part afectada per l'estrès alhora que augmenta a la part no afectada, de manera que la integració en tot el sistema radical es manté bastant estable.
6. Les parts del sistema radical no afectades per estrès són capaces d'estimular progressivament l'absorció de K^+ i NO_3^- , fins a compensar l'absorció suprimida per l'estrès en altres arrels de la mateixa planta.
7. La disponibilitat local de NO_3^- al medi radical afecta ràpidament les taxes d'absorció locals de K^+ , Ca^{2+} i Mg^{2+} .
8. L'absorció de K^+ per les arrels es mostra associada amb l'absorció local de NO_3^- ; s'inhibeix en aquelles arrels que no tenen disponibilitat de NO_3^- al medi i s'estimula en aquelles que sí que en tenen i han de compensar-ho.

Les absorcions locals de Ca^{2+} i Mg^{2+} no estan lligades al flux d'aigua i sí que estan condicionades per l'absorció local de NO_3^- .

9. La sensibilitat de l'absorció de cations a la disponibilitat local de NO_3^- suggereix que aquestes funcionalitats es troben lligades entre si mateixes a causa de la necessitat de mantenir un equilibri de càrregues en el xilema, fet que condiciona una forta dependència entre les distribucions espaials d'aquestes activitats de transport iònic.
10. La tècnica d' "split-root" en hidropònic s'ha mostrat molt útil per estudiar com les diferents activitats que es donen simultàniament a les arrels s'integren en sistemes de control que comprenen tota la planta i com al mateix temps aquestes activitats poden estar lligades entre si mateixes a nivell local.

BIBLIOGRAFIA

- Aber, J.D., Melillo, J.M., Nadelhoffer, K.J., McClaugherty, C.A., Pastor, J., 1985.** Fine root turnover in forest ecosystems in relation to quantity and form of nitrogen availability: a comparison of two methods. *Oecologia*, (66): 317-321.
- Ahn, S.J., Shin, R., Schachtman, D.P., 2004.** Expression of KT/KUP genes in arabidopsis and the role of root hairs in K⁺ uptake. *Plant Physiology* 134: 1135-1145.
- Ali, I.A., Kafkafi, U., Yamaguchi, I., Sugimoto, Y., Inanaga, S., 1996.** Effects of low root temperature on sap flow rate, soluble carbohydrates, nitrate contents and on cytokinin and gibberellin levels in root xylem exudate of sand-grown tomato. *Journal of Plant Nutrition* 19: 619-634.
- Ali, I.A., Kafkafi, U., Yamaguchi, I., Sugimoto, Y., Inanaga, S., 2000.** Growth, transpiration, root-born cytokinins and gibberellins, and nutrient compositional changes in sesame exposed to low root-zone temperature under different ratios of nitrate: ammonium supply. *Journal of Plant Nutrition* 23: 123-140.
- Allen, D.J., Ort, D.R., 2001.** Impacts of chilling temperatures on photosynthesis in warm-climate plants. *Trends in Plant Science*, (6): 36-42.
- Allen, S., Raven, J.A., 1987.** Intracellular pH regulation in *Ricinus communis* grown with ammonium or nitrate as N source: the role of long distance transport. *J. Exp. Bot.*, (38): 580-596.
- Allen, S., Raven, J.A., Sprent, J.I., 1988.** The role of long-distance transport in intracellular pH regulation in *Phaseolus vulgaris* grown with ammonium or nitrate as nitrogen source, or nodulated. *J. Exp. Bot.*, (39): 513-528.
- Anghinoni, I., Barber, S.A., 1980.** Phosphorus influx and growth characteristics of corn roots as influenced by phosphorus supply. *Agron. J.*, (72): 685-688.

Antolin, M.C., Ayari, M., Sanchez-Diaz, M., 2006. Effects of partial root-zone drying on yield, ripening and berry ABA in potted Tempranillo grapevines with split roots. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 12: 13-20.

Araus, J.L., Casadesús, J., Asbati, A., Nachit, M.M., 2002. Basis of the relationship between ash content in the flag leaf and carbon isotope discrimination in kernels of durum wheat. *Photosynthetica*, (39): 591-596.

Armstrong, M.J., Kirkby, E.A., 1979. Estimation of potassium recirculation in tomato plants by comparison of the rates of potassium and calcium accumulation in the tops with their fluxes in the xylem sap. *Plant Physiol.*, (63): 1143-1148.

Aston, M.J., Lawlor, D.W., 1979. The relationship between transpiration, root water uptake and leaf water potential. *J. Exp. Bot.*, (30): 169-181.

Augé, R.M., Green, C.D., Stodola, A.J.W., Saxton, A.M., Olinick, J.B., Evans, R.M., 2000. Correlations of stomatal conductance with hydraulic and chemical factors in several deciduous tree species in a natural habitat. *The New Phytologist*, (145): 483-500.

Azcón-Bieto, J., Osmond, C.B., 1983. Relationship between Photosynthesis and Respiration -the Effect of Carbohydrate Status on the Rate of CO₂ Production by Respiration in Darkened and Illuminated Wheat Leaves. *Plant Physiology* 71: 574-581.

Babu, R.C., Pathan, M.S., Blum, A., Nguyen, H.T., 1999. Comparison of measurement methods of osmotic adjustment in rice cultivars. *Crop Science*, (39): 150-158.

Baiges, I., Schäffner, A.R., Affenzeller, M.J., Mas, A., 2002. Plant aquaporins. *Physiol. Plant.*, (115): 175-182.

Baldwin, J.P., Nye, P.H., Tinker, P.B., 1973. Uptake of solutes by multiple root systems from soil. III. –A model for calculating the solute uptake by a

randomly dispersed root system developing in a finite volume of soil. *Plant and Soil* 38: 621-635.

Barber, S.A., Cushman, J.H., 1981. Nitrogen uptake model for agronomic crops. In: IK Iskandar (Ed.), *Modelling waste-water renovation* (John Wiley & Sons, New York), pp. 382-409.

Barber, S.A., 1984. *Soil Nutrient Bioavailability*. John Willey & Sons, New York.

Barracough, P.B., Tinker, P.B., 1981. The determination of the ionic diffusion coefficients in field soils. 1. Diffusion coefficients in sieved soils in relation to water content and bulk density. *J. Soil Science* 32: 225-236.

Beck, E.H., 1996. Regulation of shoot/root ratio by cytokinins from roots in *Urtica dioica*: Opinion. *Plant and Soil*, (185): 3-12.

Ben Zioni, A., Vaadia, Y., Lips, S.H., 1971. Nitrate uptake by roots as regulated by nitrate reduction products of the shoot. *Physiol. Plant.*, (24): 288-290.

Ben-Hayyim, G., Kafkafi, U., Ganmore-Newman, R., 1987. The role of internal potassium in maintaining growth of cultured citrus cells on increasing NaCl and CaCl₂ concentration. *Plant Physiol.*, (85): 434-439.

Bengtsson, B., 1984. The effect of Ca⁺⁺ stress on fluxes of Ca⁺⁺ and K⁺ in wheat and cucumber. *Physiol. Plant.*, (56): 415-420.

Bensen, R.J., Boyer, J.S., Mullet, J.E., 1988. Water deficit-induced changes in abscisic acid, growth, polysomes, and translatable RNA in soybean hypocotyls. *Plant Physiol.*, (88): 289-294.

Berengena, J., Giménez, C., Alba, A., Fereres, E., 1985. The role of the root system in the drought resistance of sunflower. In "Les besoins en eau des cultures". Conference internationale, Paris, 11-14 sept. 1984. INRA, Paris.

Bergmann, L., Rennenberg, H., 1993. Glutathione metabolism in plants. In sulfur nutrition and assimilation in higher plants. Regulatory, Agricultural and Environmental Aspects, L.J. de Kok, I. Stulen, H. Rennenberg, C. Brunold and W.E. Rauser eds., SPB Acad. Pub., The Hague, Netherlands, pp. 109-123.

Berkel, N. van., 1988. Preventing tipburn in chinese cabbage by high relative humidity during the night. Neth. J. Agric. Sci., (36): 301-308.

Björkman, O., 1981. Responses to different quantum flux densities. In: Encyclopedia of Plant Physiology N.S. Vol. 12A: Physiological Plant Ecology I.O.L. Lange, P.S. Nobel, C.B. Osmond & H. Ziegler (eds.), Springer, Berlin, pp. 57-107.

Black, C.R., 1979a. The relationship between transpiration rate, water potential and resistances to water movement in sunflower (*Helianthus annuus* L.). J. Exp. Bot., (30): 235-243.

Black, C. R., 1979b. The relative magnitude of the partial resistances to transpirational water movement in sunflower (*Helianthus annuus* L.). J. Exp. Bot., (30): 245-253.

Blackman, P.G., Davies, W.J., 1985. Root to shoot communication in maize plants of the effects of soil drying. J. Exp. Bot., 36(162): 39-48.

Blacquièrè, T., Lambers, H., 1981. Growth, photosynthesis and respiration in *Plantago coronopus* as affected by salinity. Physiol. Plant, (51): 265-268.

Bloom, A.J., 1997. Nitrogen as limiting factor: Crop acquisition of ammonium and nitrate. In *Ecology in Agriculture*, L.E. Jackson, ed., Academic Press, San Diego, CA, pp. 145-172.

Bouma, T.J., De Visser, R., 1993. Energy requirements for maintenance of ion concentrations in roots. Physiol. Plant., (89): 133-142.

Bowling, D.J.F., 1981. Evidence for an ion uptake controller in *Helianthus annuus*. In Structure and Function of Plant Roots (R. Brouwer, O. Gasparikova,

J. Kolek, B.G. Loughman, eds.), Martinus Nijhoff, Dr. W. Junk Publishers, The Hague, pp. 179-186.

Boyer, J.S., 1974. Water transport in plants: mechanism of apparent changes in resistance during absorption. *Planta*, (117): 187-207.

Bozarth, C., Mullet, J.E., Boyer, J.S., 1987. Proteins in the cell walls of soybean stems grown at low water potential. *Plant Physiol.*, (85): 261-267.

Bray, E.A., 1988. Drought -and ABA- induced changes in polypeptide and mRNA accumulation in tomato leaves. *Plant Physiol.*, (88): 1210-1214.

Bray, E.A., 1997. Plants responses to water deficit. *Trends in Plant Science*, (2): 48-54.

Brouquisse, R., James, F., Raymond, P., Pradet, A., 1991. Study of glucose starvation in excised maize root tips. *Plant Physiol.*, (96): 619-626.

Bryce, J.H., ap Rees, T., 1985. Effects of sucrose on the rate of respiration of the roots of *Pisum sativum*. *J. Plant Physiol.*, (120): 363-367.

Buljovic, Z., Engels, C., 2001. Nitrate uptake ability by maize roots during and after drought stress. *Plant and Soil*, (229): 125-135.

Bunce, J.A., 1999. Leaf and root stomatal closure during drying in soybean. *Physiol. Plant.*, (106): 190-195.

Burns, I.G., 1991. Short and long-term effects of a change in the spatial distribution of nitrate in the root zone of N uptake, growth and root development of young lettuce plants. *Plant Cell and Environ.*, (14): 21-33.

Cárdenas-Navarro, R., Adamowicz, S., Robin, P., 1999. Nitrate accumulation in plants: a role for water. *J. of Exp. Bot.*, 50 (334): 613-624.

Casadesús, J., 1995. Estudi dels efectes a curt termini de la demanda hídrica i nutricional de la part aèria sobre els fluxos a través de l'arrel, en el context ecofisiològic del gira-sol. Tesi doctoral. Universitat de Barcelona.

Casadesús, J., Tapia, L., Lambers, H., 1995. Regulation of K⁺ and NO₃⁻ fluxes in roots of sunflower (*Helianthus annuus* L.) after changes in light intensity. *Physiol. Plant.*, (93): 279-285.

Cerezo, M., Tillard, P., Filleur, S., Munos, S., Daniel-Vedele, F., Gojon, A., 2001. Major alterations of the regulation of root NO₃⁻ uptake are associated with the mutation of Nrt2.1 and Nrt2.2 genes in arabidopsis. *Plant Physiology* 127: 262-271.

Chaumont, F., Moshelion, M., Daniels, M.J., 2005. Regulation of plant aquaporin activity. *Biol. Cell*, (97): 749-764.

Cheng, C.L., Acebedo, G.N., Christinsin, M., Conkling, M.A., 1992. Sucrose mimics the light induction of *Arabidopsis* nitrate reductase gene transcription. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (89): 1861-1864.

Chrispeels, M.J., Crawford, N.M., Schroeder, J.I., 1999. Proteins for transport of water and mineral nutrients across the membranes of plant cells. *Plant Cell*, (11): 661-675.

Clarckson, D.T., 1984. Calcium transport between tissues and its distribution in the plant. *Plant, Cell and Envir.*, (7): 449-456.

Clarckson, D.T., Lüttge, U., 1991. Inducible and repressible nutrient transport systems. *Prog. Bot.*, (52): 61-83.

Clarkson, D.T., Carvajal, M., Henzler, T., Waterhouse, R.N., Smyth, A.J., Cooke, D.T., Steudle, E., 2000. Root hydraulic conductance: diurnal aquaporin expression and the effects of nutrient stress. *Journal of Experimental Botany* 51: 61-70.

Clement, C.R., Hopper, M.J., Jones, L.H.P., Leafe, E.L., 1978. The uptake of nitrate by *Lolium perenne* from flowing nutrient solution. II. Effect of light, defoliation, and relationship to CO₂ flux. *J. Exp. Bot.*, (29): 1173-1183.

Cochard, H., 2002. Xylem embolism and drought-induced stomatal closure in maize. *Planta*, (215): 466-471.

Collier, M.D., Fotelli, M.N., Nahm, M., Kopriva, S., Rennenberg, H., Hanke, D.E., Gebler, A., 2003. Regulation of nitrogen uptake by *Fagus sylvatica* on a whole plant level –interactions between cytokinins and soluble N compounds. *Plant, Cell and Environment*, (26): 1549-1560.

Cooper, H.D., Clarkson, D.T., 1989. Cycling of amino nitrogen and other nutrients between shoot and roots in cereals as possible mechanism integrating shoot and root in the regulation of nutrient uptake. *Journal of Exp. Botany*, (40): 753-762.

Cornish, K., Zeevaart, J.A.D., 1985. Abscisic acid and accumulation by root of *Xanthium strumarium* L. and *Lycopersicon esculentum* Mill. in relation to water stress. *Plant Physiol.*, (79): 653-658.

Coutts, M.P., Philipson, J.J., 1977. The influence of mineral nutrition on the root development of trees. III. Plasticity of the root growth in response to changes in the nutrient environment. *J. Exp. Bot.*, (28): 1071-1075.

Cramer, G.R., Läuchli, A., Spolito, V.S., 1985. Displacement of Ca^{2+} by Na^{+} from the plasmalemma of root cells. A primary response to salt stress?. *Plant Physiol.*, (79): 207-211.

Crawford, N.M., Glass, A.D.M., 1998. Molecular and physiological aspects of nitrate uptake in plants. *Trends in Plant Science* 3: 389-395.

Cushman, J.H., 1984. Nutrient transport inside and outside the root rhizosphere: Generalised model. *Soil Science*, 138: 164-171.

Da Silva, M.C., Shelp, M.J., 1990. Xylem-to-phloem transfer of organic nitrogen in young soybean plants. *Plant Physiol.*, (92): 797-801.

Davies, W.J., Metcalfe, J., Lodge, T.A., Da Costa, A.R., 1986. Plant growth substances and the regulation of growth under drought. *Aust. J. Plant Physiol.*, (13): 105-125.

Davies, W.J., Bacon, M.A., Thompson, D.S., Sobeih, W., Rodriguez, L.G., 2000. Regulation of leaf and fruit growth in plants growing in drying soil:

exploitation of the plants chemical signalling system and hydraulic architecture to increase the efficiency of water use in agriculture. *Journal of Experimental Botany* 51: 1617-1626.

Day, D.A., Millar, A.H., Wiskich, J.T., Whelan, J., 1994. Regulation of alternative oxidase activity by pyruvate in soybean mitochondria. *Plant Physiol.*, (106): 1421-1427.

De Boer, A.H., Prins, H.B.A., Zanstra, P.E., 1983. Biphasic composition of transroot electrical potential in roots of *Plantago* species: involvement of spatially separated electrogenic pumps. *Planta*, (157): 259-266.

De Boer, A.H., 1999. Potassium translocation into the root xylem. *Plant Biology* 1: 36-45.

De Visser, R., Lambers, H., 1983. Growth and the efficiency of root respiration of *Pisum sativum* as dependent on the source of nitrogen. *Physiol. Plant.*, (58): 533-543.

De Visser, R., Spitters, C.T.J., Nouma, T.J., 1992. Energy costs of protein turnover: Theoretical and experimental estimation from regression of respiration on protein concentration of full-grown leaves. In *Molecular, Biochemical and Physiological Aspects of Plant Respiration* (H. Lambers & L.H.W. Van der Plas, eds.). SPB Academic Publishing, The Hague, pp. 493-508.

del Amor, F.M., Marcelis, L.F.M., 2003. Regulation of nutrient uptake, water uptake and growth under calcium starvation and recovery. *J. of Hort. Sci. & Biotechnology*, (78) 3: 343-349.

del Amor, F.M., Marcelis, L.F.M., 2004. Regulation of K⁺ uptake, water uptake, and growth of tomato during K⁺ starvation and recovery. *Scientia Horticulturae* 100: 83-101.

Delhon, P., Gojon, A., Tillard, P., Passama, L., 1995. Diurnal regulation of NO₃⁻ uptake in soybean plants. II Relationship with accumulation of NO₃⁻ and asparagine in the roots. *J. Exp. Bot.*, (46): 1595-1602.

Delhon, P., Gojon, A., Tillard, P., Passama, L., 1996. Diurnal regulation of NO₃⁻ uptake in soybean plants. IV Dependence on current photosynthesis and sugar availability to the roots. *J. Exp. Bot.*, (47): 893-900.

Dirksen, C., Raats, P.A.C., 1985. Water uptake and release by alfalfa roots. *Agron. J.*, (77): 621-626.

Dodd, I.C., Beveridge, C.A., 2006. Xylem-borne cytokinins: still in search of a role?. *Journal of Experimental Botany* 57: 1-4.

Drew, M.C., Saker, L.R., 1984. Uptake and long-distance transport of phosphate, potassium and chloride in relation to internal ion concentrations in barley: evidence of non-allosteric regulation. *Planta*, (160): 500-507.

Drew, M.C., Saker, L.R., Barber, S.A., Jenkins, W., 1984. Changes in the kinetics of phosphate and potassium absorption in nutrient-deficient barley roots measured by solution-depletion technique. *Planta*, (160): 490-499.

Drew, M.C., 1987. Function of root tissues in nutrient and water transport. In: *Root development and function*. Ed. Gregory, P.I., Lake, J.V., Rose, D.A.. Cambridge University Press. Seminar Series, (30): 71-102.

Drew, M.C., Webb, J., Saker, L.R., 1990. Regulation of K⁺ uptake and transport to the xylem in barley roots; K⁺ distribution determined by electron probe x-ray microanalysis of frozen-hydrated cells. *J. Exp. Bot.*, (41): 815-825.

Dry, P.R., Loveys, B.R., 1999. Grapevine shoot growth and stomatal conductance are reduced when part of the root system is dried. *Vitis* 38: 151-156.

Engels, C., Marschner, H., 1992. Root to shoot translocation of macronutrients in relation to shoot demand in maize (*Zea mays* L.) grown at different root zone temperatures. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.*, (155): 121-128.

Engels, C., Marschner, H., 1992b. Adaptation of Potassium Translocation into the Shoot of Maize (*Zea mays*) to Shoot Demand: Evidence for Xylem Loading as a Regulating Step. *Physiol. Plant.*, (86): 263-268.

Engels, C., Münkle, L., Marschner, H., 1992. Effect of root zone temperature and shoot demand on uptake and xylem transport of macronutrients in maize (*Zea mays* L.). *J. Exp. Bot.*, (43): 537-547.

Engels, C., Kirkby, E.A., 2001. Cycling of nitrogen and potassium between shoot and roots in maize as affected by shoot and root growth. *J. Plant Nutr. Soil Sci.*, (164): 183-191.

Enstone, D.E., Peterson, C.A., 1992. The apoplastic permeability of root apices. *Can. J. Bot.*, (70): 1502-1512.

Ernst, M., Römheld, V., Marschner, H., 1989. Estimation of phosphorus uptake capacity by different zones on the primary root of soil-grown maize (*Zea mays* L.). *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.*, (152): 21-25.

Everard, J.D., Drew, M.C., 1987. Mechanisms of inhibition of water movement in anaerobically treated roots of *Zea mays* L. *J. Exp. Bot.*, (38): 1154-1165.

Everard, J.D., Drew, M.C., 1989. Mechanisms controlling changes in water movement through the roots of *Helianthus annuus* L. during continuous exposure to oxygen deficiency. *J. Exp. Bot.*, (40): 95-104.

Farquhar, G.D., von Caemmerer, S., 1982. Modelling of photosynthetic response to environmental conditions. In: *Physiological Plant Ecology II*. Lange, O.L.; Nobel, P.S.; Osmond, C.B.; Ziegler, H., (eds.). *Enc. Plant Physiol. New Ser. Vol. 12B*. Springer-Verlag, Berlin. pp: 549-587.

Farrar, J.F., 1981. Respiration rate of barley roots: Its relation to growth, substrate supply and the illumination of the shoot. *Ann. Bot.*, (48): 53-63.

Farrar, J.F., Minchin, P.E.H., 1991. Carbon Partitioning in Split Root Systems of Barley - Relation to Metabolism. *Journal of Experimental Botany* 42: 1261-1269.

Ferrario, S., Agius, I., Morisot, A., 1992a. Daily variations of xylemic exudation rate in tomato. *Journal of Plant Nutrition*, (15): 69-83.

Ferrario, S., Agius, I., Morisot, A., 1992b. Daily variations the mineral composition of xylemic exudate in tomato. *Journal of Plant Nutrition*, (15): 85-98.

Field, C.B., Mooney, H.A., 1986. The photosynthesis-nitrogen relationship in wild plants. In: *On the Economy of Plant Form and Function*, T.J. Givnish (ed.), Cambridge University Press, Cambridge, pp. 25-55.

Findenegg, G.R., Nelemans, J.A., Arnozis, P.A., 1989. Effect of external pH and Cl on the accumulation of NH₄-ions in the leaves of sugar beet. *J. Plant Nutr.*, (12): 593-601.

Forde, B.G., 2002. Local and long-range signaling pathways regulating plant responses to nitrate. *Annu. Rev. Plant Biol.*, (53): 203-224.

Fournier, J.M., Benlloch, M., de la Guardia, M.D., 1987. Effect of abscisic acid on exudation of sunflower roots as affected by nutrient status, glucose level and aeration. *Physiol. Plant.*, (69): 675-679.

Fournier, J.M., Roldan, A.M., Sanchez, C., Alexandre, G., Benlloch, M., 2005. K⁺ starvation increases water uptake in whole sunflower plants. *Plant Science* 168: 823-829.

Föhse, D., Jungk, A., 1983. Influence of phosphate and nitrate supply on root hair formation of rape, spinach and tomato plants. *Plant and Soil*, (74): 359-368.

Frossard, J.S., 1985. L'éclaircissement du feuillage, facteur de régulation du rythme nycthémeral de la respiration des racines. *Physiol. Vég.*, (23): 163-173.

Gansel, X., Munos, S., Tillard, P., Gojon, A., 2001. Differential regulation of the NO_3^- and NH_4^+ transporter genes AtNrt2.1 and AtAmt1.1 in *Arabidopsis*: relation with long-distance and local controls by N status of the plant. *Plant Journal* 26: 143-155.

Gardner, W., Barber, D., Parbery, D., 1983. The acquisition of phosphorus by *Lupinus albus* L. III. The probable mechanism by which phosphorus movement in the soil/root interface is enhanced. *Plant and Soil*, (70): 107-124.

Gashaw, L., Mugwira, L.M., 1981. Ammonium-N and Nitrate-N effects on the growth and mineral compositions of triticale, wheat, and rye. *Agronomy Journal*, (73): 47-51.

Gastal, F., Saugier, B., 1989. Relationships between nitrogen uptake and carbon assimilation in whole plants of tall fescue. *Plant Cell Environ.*, (12): 407-418.

Gerke, J., Römer, W., Beßner, L., 2000. The quantitative effect of chemical phosphate mobilization by carboxylate anions on P uptake by a single root. II. The importance of soil and plant parameters for uptake of mobilized P. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, (163): 213-219.

Gebler, A., Schneider, S.V., Sengbusch, D., Weber, P., Hanemann, U., Huber, C., Rothe, A., Kretzer, K., Rennenberg, H., 1998a. Field and laboratory experiments on net uptake of nitrate and ammonium by the roots of spruce (*Picea abies*) and beech (*Fagus sylvatica*) trees. *New Phytologist*, (138): 275-285.

Gebler, A., Schultze, M., Schrempp, S., Rennenberg, H., 1998b. Interaction of phloem-translocated amino compounds with nitrate net uptake by the roots of beech (*Fagus sylvatica*) seedlings. *Journal of Exp. Botany*, (49): 1529-1537.

Gebler, A., Kopriva, S., Rennenberg, H., 2004. Regulation of nitrate uptake at the whole-tree level: interaction between nitrogen compounds, cytokinins and carbon metabolism. *Tree Physiology*, (24): 1313-1321.

Giaquinta, R., Geiger, D.R., 1973. Mechanism of Inhibition of Translocation by Localized Chilling. *Plant Physiology*, 51: 372-377.

Gilbert, G.A., Allan, D.A., Vance, C.P., 1997. Phosphorus deficiency in white lupin alters root development and metabolism. In *Radical Biology: Advances and Perspectives on the Function of Plant Roots* (eds. H.E. Flores, D. Lynch & D. Eissenstat). American Society of Plant Physiologists, Rockville, MD, USA. pp. 92-103

Glass, A.D.M., Shaff, J.E., Kochian, L.V., 1992. Studies of nitrate uptake in barley. IV Electrophysiology. *Plant Physiol.*, (99): 456-463.

Glass, A.D.M., 2003. Nitrogen use efficiency of crop plants: Physiological constraints upon nitrogen absorption. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 22 (5): 453-470.

Goddard, D.R., Bonner, W.D., 1960. Cellular Respiration. In *Plant Physiology, A. Treatise. Vol. IA* (F.C. Steward, ed.). Academic Press, New York, pp. 209-312.

Gowing, D.J.G., 1991. The sensing of drying soil by roots and the involvement of ABA as a signal. PhD thesis, University of Lancaster.

Granato, T.C., Raper jr, C.D., 1989. Proliferation of maize (*Zea mays* L.) roots in response to localized supply of nitrate. *J. Exp. Bot.*, (40): 263-275.

Granato, T.C., Raper jr, C.D., Wilkerson, G.G., 1989. Respiration rate in maize roots is related to concentration of reduced nitrogen and proliferation of lateral roots. *Physiol. Plant.*, (76): 419-424.

Greenway, H., Pitman, M.G., 1965. Potassium retranslocation in seedlings of *Hordeum vulgare*. *Aust. J. Biol. Sci.*, (18): 235-247.

Greenway, H., Gunn, A., 1966. Phosphorus retranslocation in *Hordeum vulgare* during early tillering. *Planta*, (71): 43-67.

Grierson, P.F., 1992. Organic-acids in the rizhosphere of *Banksia integrifolia* L. Plant Soil, (144): 259-265.

Grignon, C., 1990. Transport in roots. Symbiosis, (9): 3-17.

Günes, A., Inal, A., Aktas, M., 1996. Reducing nitrate content of NFT grown winter onion plants (*Allium cepa* L.) by partial replacement of NO₃ with amino acid in nutrient solution. Scientia Horticulturae, (65): 203-208.

Haeder, H.E., Beringer, H., 1984a. Long distance transport of potassium in cereals during grain filling in detached ears. Physiol. Plant., (62): 433-438.

Haeder, H.E., Beringer, H., 1984b. Long distance transport of potassium in cereals during grain filling in intact plants. Physiol. Plant., (62): 439-444.

Hansen, G.K., 1980. Diurnal variation of root respiration rates and nitrate uptake as influenced by nitrogen supply. Physiol. Plant., (48): 421-427.

Hanson, P.J., Sucoff, E.I., Markhardt III, A.H., 1985. Quantifying apoplastic flux through red pine root systems using trisodium, 3-hydroxy-5,8,10-pyrenetrisulfonate. Plant Physiol., (77): 21-24.

Hartung, W., Davies, W.J., 1991. Drought-induced changes in physiology and ABA. In "Abscisic acid, Physiology and Biochemistry" (eds. W.J. Davies & H.G. Jones). BIOS Scientific Publishers, Oxford, pp. 63-79.

Hartung, W., Wilkinson, S., Davies, W.J., 1998. Factors that regulate abscisic acid concentrations at the primary site of action at the guard cell. J. Exp. Bot., (49): 361-367.

Hartung, W., Peuke, A., Davies, W.J., 1999. Abscisic acid –a hormonal long-distance stress signal in plants under drought and salt stress. In "Handbook of crop stress" (ed. M Pessarakali), Marcel Dekker, New York, pp. 737-747.

Hartung, W., Sauter, A., Hose, E., 2002. Abscisic acid in the xylem: where does it come from, where does it go?. J. Exp. Bot., (53): 27-32.

- Hatch, D.J., Hopper, M.J., Dhanoas, M.S., 1986.** Measurements of ammonium ions in flowing solution culture and diurnal variation in uptake by *Lolium perenne* L..J. Exp. Bot., (37): 589-596.
- Häussling, M., Jorns, C.A., Lehmbecker, G., Hecht-Buchholz, Ch., Marschner, H., 1988.** Ion and water uptake in relation to root development in Norway spruce (*Picea abies* L. Karst.). J. Plant Physiol., (133): 486-491.
- He, C.J., Morgan, P.W., Drew, M.C., 1992.** Enhanced sensitivity to ethylene in nitrogen or phosphate-starved roots of *Zea mays* L. during aerenchyma formation. Plant Physiol., (98): 137-142.
- Henson, I.E., Jensen, C.R., Turner, N.C., 1989.** Leaf gas exchange and water relations of lupin and wheat. III Abscisic acid and drought-induced stomatal closure. Aust. J. Plant Physiol., (16): 429-442.
- Henzler, T., Waterhouse, R.N., Smyth, A.J., Carvajal, M., Cooke, D.T., Schäffner, A.R., Steudle, E., Clarkson, D.T., 1999.** Diurnal variations in hydraulic conductivity and root pressure can be correlated with the expression of putative aquaporins in the roots of *Lotus japonicus*. Planta, (210): 50-60.
- Hodge, A., 2004.** The plastic plant: root responses to heterogeneous supplies of nutrients. New Phytologist 162: 9-24.
- Horgan, J.M., Wareing, P.F., 1980.** Cytokinins and the growth responses of seedlings of *Betula pendula* Roth. & *Acer pseudoplatanus* L. to nitrogen and phosphorous deficiency. Journal of Experimental Botany, (31): 525-532.
- Hose, E., Steudle, E., Hartung, W., 2000.** Abscisic acid and hydraulic conductivity of maize roots: a study using cell- and root-pressure probes. Planta, (211): 874-882.
- Huang, C.X., Van Steveninck, R.F.M., 1989.** Longitudinal and transverse profiles of K⁺ and Cl⁻ concentration in “low” and “high-salt” barley roots. New Phytol., (112): 475-480.

Huck, M.G., Hageman, R.H., Hanson, J.B., 1962. Diurnal variation in root respiration. *Plant Physiol.*, (37): 371-375.

Hutchings, M.J., John, E.A., 2004. The effects of environmental heterogeneity on root growth and root/shoot partitioning. *Annals of Botany* 94: 1-8.

Ike, I.F., Thurtell, G.W., 1981. Osmotic adjustment in indoor grown casava in response to water stress. *Physiol. Plant.*, (52): 257-262.

Imsande, J., Touraine, B., 1994. N demand and the regulation on nitrate uptake. *Plant Physiol.*, (105): 3-7.

Jackson, M., 1997. Hormones from roots as signals for the shoots of stressed plants. *Trends in Plant Science*, (2): 22-28.

Jang, J.C., Leon, P., Zhou, L., Sheen, J., 1997. Hexokinase as a sugar sensor in higher plants. *Plant Cell*, (9): 5-19.

Janowiak, F., Dörffling, K., 1996. Chilling of maize seedlings: changes in water status and abscisic acid content in ten genotypes differing in chilling tolerance. *J. Plant Physiol.*, (147): 582-588.

Javot, H., Maurel, C., 2002. The role of aquaporins in root water uptake. *Annals of Botany*, (90): 310-313.

Jeschke, W.D., Stelzer, W., 1976. Measurement of longitudinal ion profiles in single roots of *Hordeum* and *Atriplex* by use of flameless atomic absorption spectroscopy. *Planta*, (128): 107-112.

Jeschke, W.D., Atkins, C.A., Pate, J.S., 1985. Ion circulation via phloem and xylem between root and shoot of nodulated white lupin. *J. Plant Physiol.*, (117): 319-330.

Jeschke, W.D., Pate, J.S., Atkins, C.A., 1986. Effects of NaCl salinity on growth, development, ion transport and ion storage in white lupin (*Lupinus albus* L. vc. Ultra). *J. Plant Physiol.*, (124): 257-274.

Jeschke, W.D., Pate, J.S., 1991. Modelling of the partitioning, assimilation and storage of nitrate within root and shoot organs of castor bean (*Ricinus communis* L.). J. Exp. Bot., (42): 1091-1103.

Johansson, I., Karlsson, M., Johanson, U., Larsson, C., Kjellborn, P., 2000. The role of aquaporins in cellular and whole plant water balance. Biochem. Biophys. Acta (1465): 324-342.

Johnson, J.F., Allan, D.L., Vance, C.P., 1994. Phosphorus stress induced proteoid roots show altered metabolism in *Lupinus albus*. Plant Physiol., (104): 657-665.

Johnson, J.F., Allan, D.L., Vance, C.P., Weiblen, G., 1996. Root carbon dioxide fixation by phosphorus-deficient *Lupinus albus*: Contribution to organic-acid exudation by proteoid roots. Plant Physiol., (112): 19-30.

Jones, D.L., 1998. Organic acids in the rhizosphere –a critical review. Plant and Soil, (205): 25-44.

Jones, H.J., 1998. Stomatal control of photosynthesis and transpiration. J. Exp. Bot., (49): 387-398.

Jungk, A., Claassen, N., 1997. Ion diffusion in the soil-root system. Advances in Agronomy, 61: 53-110.

Kirkby, E.A., Armstrong, M.J., 1980. Nitrate uptake by roots as regulated by nitrate assimilation in the shoot of castor oil plants. Plant Physiol., (65): 286-290.

Kleinhofs, A., Warner, R.L., Lawrence, J.M., Melzer, J.M., Jeter, J.M., Kudrna, D.A. 1989. Molecular genetics of nitrate reductase in barley. In Molecular and Genetic Aspects of Nitrate Assimilation, J.L. Wray and J. R. Kinghorn, eds. Oxford Science, New York, pp. 197-211.

Koide, R.T., 1985. The nature and location of variable hydraulic resistance in *Helianthus annuus* L. (sunflower). J. Exp. Bot., (36): 1430-1440.

Koide, R.T., Robichaux, R.H., Morse, S.R., Smith, C.M., 1989. Plant water status, hydraulic resistance and capacitance. *Plant Physiol. Ecology* pp.: 161-184. Chapman & Hall, London.

Kondracka, A., Rychter, A.M., 1997. The role of P-i recycling processes during photosynthesis in phosphate-deficient bean plants. *Journal of Experimental Botany*, 48: 1461-1468.

Konings, H., Verschuren, G., 1980. Formation of aerenchyma in roots of *Zea mays* in aerated solutions and its relation to nutrient supply. *Physiol. Plant.*, (49): 265-270.

Konings, H., Lambers, H., 1990. Respiratory metabolism, oxygen transport and the induction of aerenchyma in roots. In *Plant Life Under Oxygen Deprivation* (M.B. Jackson, D.D. Davies, H. Lambers, eds.). SPB Academic Publishing, The Hague, pp. 247-265.

Körner, C., Larcher, W., 1988. Plant life in cold environments. In *Plant and Temperature*, Symp. Soc. Exp. Biol. Vol 42 (S.F. Long, F.I. Woodward, eds.). The Company of Biologists, Cambridge, UK., pp. 25-57.

Kramer, P.J., 1983. Water relations of plants. Academic Press. New York.

Kreuzwieser, J., Herschbach, C., Stulen, I., Wiersema, P., Vaalburg, W., Rennenberg, H., 1997. Interactions of NH_4^+ and L-glutamate with NH_3^- transport processes of non-mycorrhizal *Fagus sylvatica* roots. *Journal of Exp. Bot.*, (48): 1431-1438.

Kuiper, D., 1983. Genetic differentiation in *Plantago major*: Growth and root respiration and their role in phenotypic adaptation. *Physiol. Plant*, (57): 222-230.

Kuiper, D., Smid, A., 1985. Genetic differentiation and phenotypic plasticity in *Plantago major* ssp. major: I. The effect of differences in level of irradiance on growth, photosynthesis, respiration and chlorophyll content. *Physiol. Plant*: 520-528.

Kuiper, D., Staal, M., 1987. The effect of exogenously supplied plant growth substances on the physiological plasticity in *Plantago major* ssp major: Responses of growth, shoot to root ratio and respiration. *Physiol. Plant*, (69): 651-658.

Kuo, J., Pate, J.S., Rainbird, R.M., Atkins, C.A., 1980. Internodes of grain legumes –New location of xylem parenchyma transfer cells. *Protoplasma*, (104): 181-185.

Küppers, M., Hall, A.E., Schulze, E.D., 1982. Effects of day-to-day changes in root temperature on leaf conductance to water vapour and CO₂ assimilation rates of *Vigna unguiculata* L. Walp. *Oecologia*, (52): 116-120.

Lachno, D.R., 1983. ABA and IAA in maize roots subjected to water, salt and mechanical stress. In *Growth Regulators in root development*. Jackson, M.B.; Steat, A.D., (eds.). British Plant Growth Regulator Group Monograph, (10): 37-54.

Lachno, D.R., Baker, D.A., 1986. Stress induction of abscisic acid in maize roots. *Physiol. Plant.*, (68): 215-221.

Lafolie, F., Bruckler, L., Tardieu, F., 1991. Modelling the root water potential and soil-root water transport in two-dimensional case. 1 Model presentation. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, (55): 1203-1212.

Lam, H.M., Coschigano, K.T., Oliveira, I.C., Melo-Oliveira, R., Coruzzi, G.M., 1996. The molecular-genetics of nitrogen assimilation into amino acids in higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiology Plant Mol. Biol.*, (47): 569-593.

Lambers, H., Layzell, D.B., Pate, J.S., 1980. Efficiency and regulation of root respiration in a legume: Effects of the N-source. *Physiol. Plant.*, (50): 319-325.

Lambers, H., Posthumus, F., 1980. The effects of light intensity and relative humidity on growth rate and root respiration of *Plantago lanceolata* and *Zea mays*. *J. Exp. Bot.*, (31): 1621-1630.

Lambers, H., Van der Werf, Konings, H., 1991. Respiratory patterns of roots in relation to their functioning. In Waisel, Y., Eshel, A., Kafkafi, U. (eds.). *Plant Roots. The Hidden Half.* Marcel Dekker, Inc. New York, pp. 229-264.

Lambers, H., 1995. Oxidation of mitochondrial NADH and the synthesis of ATP. In D.T. Dennis et al. ed., *Plant metabolism.* Longman Publishers, Singapore. pp. 200–219.

Lambers, H., Stuart Chapin III, F., Pons, T.L., 1998. *Plant Physiological Ecology.* Springer Verlag, New York.

Lamont, B., 1982. Mechanisms for enhancing nutrient uptake in plants with particular reference to mediterranean South Africa and Western Australia. *Bot. Rev.*, (48): 597-689.

Lance, C. Rustin, P, 1984. The central role of malate in plant metabolism. *Physiol. Vég.*, (22): 625-641.

Lascaris, D., Deacon, J.W., 1991a. Comparison of methods to assess senescence of the cortex of wheat and tomato roots. *Soil Biol. Biochem.*, (23): 979-986.

Lascaris, D., Deacon, J.W., 1991b. Relationship between root cortical senescence and growth of wheat as influenced by mineral nutrition, *Idriella bolleyi* (Sprague) von Arx and pruning of leaves. *New Phytol.*, (118): 391-396.

Läuchli, A., Pitman, M.G., Kramer, D., Ball, E., 1978. Are developing xylem vessels the sites of ion exudation from root to shoot?. *Plant Cell Environ.*, (1): 217-222.

Le Bot, J., Kirkby, E.A., 1992. Diurnal uptake of nitrate and potassium during the vegetative growth of tomato plants. *J. Plant Nutr.*, (15): 247-264.

Lee, S.H., Chung, G.C., 2005. Sensitivity of root system to low temperature appears to be associated with the root hydraulic properties through aquaporin activity. *Scientia Horticulturae* 105: 1-11.

Lee, T.M., Lur, H.S., Chu, C., 1997. Role of abscisic acid in chilling tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. II. Modulation of free polyamine levels. *Plant Science*, (126): 1-10.

Leigh, R.A., Wyn Jones, R.G., 1984. A hypothesis relating critical potassium concentrations for growth to the distribution and functions of this ion in plant cell. *New Phytol.*, (97): 1-13.

Lejay, L., Gansel, X., Cerezo, M., Tillard, P., Müller, C., Krapp, A., von Wiren, N., Daniel-Vedele, F., Gojon, A., 2003. Regulation of Root Iron Transporters by Photosynthesis: Functional Importance and Relation with Hexokinase. *The Plant Cell*, (15): 2218-2232.

Leustek, T., Martin, M.N., Bick, J.A., Davies, J.P., 2000. Path-ways and regulation of sulfur metabolism revealed through molecular and genetics studies. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, (51): 141-165.

Liebersbach, H., Steingrobe, B., Claassen, N., 2004. Roots regulate ion transport in the rhizosphere to counteract reduced mobility in dry soil. *Plant and Soil*, (260): 79-88.

Liu, J.P., Zhu, J.K., 1997. An *Arabidopsis* mutant that requires increased calcium for potassium nutrition and salt tolerance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, (94): 14960-14964.

Lopes, M., Nogués S., Araus J.L., 2004. Nitrogen Source and Water Regime Effects on Barley Photosynthesis and Isotopic Signature. *Functional Plant Biology*, H31: 995-1003.

Lopez, F., Bousser, A., Sissoëff, I., Gaspar, M., Lachaise, B., Hoarau, J., Mahé, A., 2003. Diurnal regulation of water transport and Aquaporin gene expression in maize roots: contribution of PIP2 proteins. *Plant Cell Physiol.*, (44) 12: 1384-1395.

Louis, I., Racette, S., Torrey, J.G., 1990. Occurrence of cluster roots on *Myrica cerifera* L. (Myricaceae) in water culture in relation to phosphorus nutrition. *New Phytol.*, (115): 311-317.

Lovisol, C., Hartung, W., Schubert, A., 2002. Whole-plant hydraulic conductance and root-to-shoot flow of abscisic acid are independently affected by water stress in grapevines. *Func. Plant Biol.*, (29): 1349-1356.

Lu, Y.X., Li, C.J., Zhang, F.S., 2005. Transpiration, potassium uptake and flow in tobacco as affected by nitrogen forms and nutrient levels. *Annals of Botany* 95: 991-998.

Lynch, J., Läuchli, A., 1988. Salinity affects intracellular calcium in corn root protoplasts. *Plant Physiol.*, (87): 351-356.

MacFall, J.S., Johnson, G.A., Kramer, P.J., 1991. Comparative water uptake by roots of different ages in seedlings of loblolly pine (*Pinus tadea* L.), *New Phytol.*, (119): 551-560.

MacKay, A.D., Barber, S.A., 1985. Effect of soil moisture and phosphate level on root hair growth of corn roots. *Plant Soil*, (86): 321-331.

Mariaux, J.B., Bockel, C., Salamini, F., Bartels, D., 1998. Dessication- and abscisic acid-responsive genes encoding major intrinsic proteins (MIPs) from the resurrection plant *Craterostigma plantagineum*. *Plant Molecular Biology*, (38): 1089-1099.

Mari, J., 1989. Influencia de la dosificación de CO₂ en la respuesta fotosintética y su relación con la producción en plantas de distinta saturación lumínica. Tesis Doctoral. Facultad de Biología, Universidad de Barcelona.

Markhart, A.H. III, 1982. Penetration of soybean root systems by abscisic acid isomers. *Plant Physiol.*, (69): 1350-1352.

Marschner, H., Römheld, V., Horst, W.J., Martin, P., 1986. Root-induced changes in the rhizosphere: importance for the mineral nutrition of plants. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.*, (149): 441-456.

Marschner, H., 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. 2nd edition Academic Press, London, UK.

Marschner, H., Kirkby, E.A., Cakmak, I., 1996. Effect of mineral nutritional status on shoot-root partitioning of photoassimilates and cycling of mineral nutrients. *Journal of Experimental Botany* 47: 1255-1263.

Marschner, H., Kirkby, E.A., Engels, C., 1997. Importance of cycling and recycling of mineral nutrients within plants for growth and development. *Bot. Acta*, (110): 265-273.

Martin, P., 1982. Stem xylem as a possible pathway for mineral retranslocation from senescing leaves to the ear in wheat. *Aust. J. Plant Physiol.*, (9): 197-207.

Martin, T., Hellmann, H., Schmidt, R., Willmitzer, L., Frommer, W.B., 1997. Identification of mutants in metabolically regulated gene expression. *Plant J.*, (11): 53-62.

Martinoia, E., Rentsch, D., 1994. Malate compartmentation- responses to a complex metabolism. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, (45): 447-467.

Martínez, F.X., 1990. Interrelacions dels processos de bescanvi de gasos de les plantes i llur ambient radical: bescanvi de gasos sota diverses condicions d'stress radical de curta durada en *Dianthus caryophyllus* L. Tesis Doctoral. Facultad de Biología, Universidad de Barcelona.

Martre, P., North, G.B., Nobel, P.S., 2001. Hydraulic conductance and mercury-sensitive water transport for roots of *Opuntia acanthocarpa* in relation to soil drying and rewetting. *Plant Physiol.* pp. 352-362.

Masia, A., Pitacco, A., Braggio, L., Giulivo, C., 1994. Hormonal Responses to Partial Drying of the Root-System of *Helianthus-Annuus*. *Journal of Experimental Botany* 45: 69-76.

Mason, H.S., Mullet, J.E., Boyer, J.S., 1988. Polysomes, messenger RNA, and growth in soybean stems during development and water deficit. *Plant Physiol.*, (86): 725-733.

Matzner, S.L., Rice, K.J., Richards, J.H., 2001. Intra-specific variation in xylem cavitation in interior live oak (*Quercus wislizenii* A. D.C.). *J. Exp. Bot.*, (52): 783-789.

Maurel, C., Chrispeels, M.J., 2001. Aquaporins. A Molecular Entry into Plant Water Relations. *Plant Physiol.*, (125): 135-138.

Maurel, C., Javot, H., Lauvergeat, V., Gerbeau, P., Tournaire, C., Santoni, V., Heyes, J., 2002. Molecular physiology of aquaporins in plants. *International Review of Cytology*, (215): 105-148.

McCully, M., 1995. How do real roots work?. *Plant Physiol.*, (109): 1-6.

McNeil, D.L., 1980. The role of the stem in phloem loading of minerals in *Lupinus albus* L. cv. Ultra. *Ann. Bot.*, (45): 329-338.

Millar, A.H., Wiskich, J.T., Whelan, J., Day, D.A., 1993. Organic acid activation of the alternative oxidase of plant mitochondria. *FEBS Lett.*, (329): 259-262.

Milligan, S.P., Dale, J.E., 1988. The effects of root treatments on growth of the primary leaves of *Phaseolus vulgaris*, L.: biophysical analysis. *New Phytol.*, (109): 35-40.

Minchin, P.E.H., Farrar, J.F., Thorpe, M.R., 1994. Partitioning of Carbon in Split Root Systems of Barley - Effect of Temperature of the Root. *Journal of Experimental Botany*, 45: 1103-1109.

Mingo, D.M., Theobald, J.C., Bacon, M.A., Davies, W.J., Dodd, I.C., 2004. Biomass allocation in tomato (*Lycopersicon esculentum*) plants grown under partial rootzone drying: enhancement of root growth. *Functional Plant Biology* 31: 971-978.

Miyasaka, S.C., Grunes, D.L., 1990. Root temperature and calcium level effects in winter wheat forage: II. Nutrient composition and tetany potential. *Agron. J.*, (82): 242-249.

Mizrahi, Y., Pasternak, D., 1985. Effect of salinity on quality of various agricultural crops. *Plant Soil*, (89): 301-307.

Mizuno, A., Kojima, H., Katou, K., Okamoto, H., 1985. The electrogenic proton pumping from parenchyma symplast into xylem –direct demonstration by xylem perfusion. *Plant Cell and Environ.*, (8): 525-529.

Mok, D.W.S., Mok, M.C., 2001. Cytokinin metabolism and action. *Annual Review of Plant Physiol. and Plant Mol. Biol.*, (52): 89-118.

Morgan, J.M., 1980. Osmotic adjustment in the spikelets and leaves of wheat. *J. Exp. Bot.*, (31, 121): 655-665.

Morgan, M.A., Volk, R.J., Jackson, W.A., 1985. p-Fluorophenylalanine induced restriction of ion uptake and assimilation by maize roots. *Plant Physiol.*, (77): 718-721.

Morillon, R., Chrispeels, M.J., 2001. The role of ABA and the transpiration stream in the regulation of the osmotic water permeability of leaf cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* (98): 14138-14143.

Muller, B., Touraine, B., 1992. Inhibition of NO₃⁻ uptake by various phloem-translocated amino acids in soybean seedlings. *J. Exp. Bot.*, (43): 617-623.

Muller, B., Touraine, B., Rennenberg, H., 1996. Interaction between atmospheric and pedospheric nitrogen nutrition in spruce (*Picea abies* L. Karst) seedlings. *Plant, Cell and Environment*, (19): 345-355.

Mullet, J.E., Whitsitt, M.S., 1996. Plant cellular responses to water deficit. *Plant Growth Regulation*, (20): 41-46.

Munné-Bosch, S., Alegre, L., 2000. The xanthophyll cycle is induced by light irrespective of water status in field-grown lavender (*Lavandula stoechas*) plants. *Physiol. Plant.*, (108): 147-151.

Munns, R., King, R.W., 1988. Abscisic acid is not the only stomatal inhibitor in the transpiration stream of wheat plants. *Plant Physiol.*, (88): 703-708.

Neales, T.F., Masia, A., Zhang, J., Davies, W.J., 1989. The effects of partially drying part of the root system of *Helianthus annuus* on the abscisic acid content of the roots, xylem sap and leaves. *J. Exp. Bot.*, 40(219): 1113-1120.

Neumann, G., Massoneau, A., Martinoia, E., Römheld, V., 1999. Physiological adaptations to phosphorus deficiency during proteoid root development in white lupin. *Planta*, (208): 373-382.

Ni, B. R., Pallardy, S. G., 1990. Response of liquid flow resistance to soil drying in seedlings of four deciduous angiosperms. *Oecologia*, (84): 260-264.

Nicolas, M.E., Lambers, H., Simpson, R.J., Dalling, M.J., 1985. Effect of drought on metabolism and partitioning of carbon in two varieties of wheat differing in drought tolerance. *Ann. Bot.*, (55): 727-742.

Nilsen, E.T., Orcutt, D.M., 1996. *Physiology of plants under stress. Abiotic factors.* John Wiley & Sons, INC, New York.

Nishida, I., Murata, N., 1996. Chilling sensitivity in plants and cyanobacteria: the crucial contribution of membrane lipids. *Annual Review of Plant Physiol. and Plant Mol. Biol.*, (47): 541-568.

Nobel, P.S., Sanderson, J., 1984. Rectifier-like activities of roots of two desert succulents. *J. Exp. Bot.*, (35): 727-737.

Nogués, S., Baker, N.r., 2000. Effects of drought on photosynthesis in Mediterranean plants grown under enhanced UV-B radiation. *J. Exp. Bot.*, (51): 1309-1317.

Nogués, S., Munné-Bosch, S., Casadesús, J., López-Carbonell, M., Alegre, L., 2001. Daily Time Course of Whole-Shoot Gas-Exchange Rates in two Drought-Exposed Mediterranean Shrub. *Tree Physiology*, (21): 53-60.

Nogués, S., Alegre, L., 2002. An increase in water deficit has no impact on the photosynthetic capacity of field-grown Mediterranean plants. *Functional Plant Biology*, (29): 621-630.

Nogués, S., Cotxarrera, L., Alegre, L., Trillas, M.I., 2002. Limitations to photosynthesis in tomato leaves induced by *Fusarium* wilt. *New Phytologist*, (154): 461-470.

Nogués S., Tcherkez G., Cornic G., Ghashgaie J., 2004. Respiratory carbon metabolism following illumination in intact French bean leaves using $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotope labelling. *Plant Physiology*, (136): 3245-3254.

Oaks, A., 1994. Primary nitrogen assimilation in higher plants and its regulation. *Can. J. Bot.*, (72): 739-750.

Osonobi, O., Fasehun, F.E., Fasidi, I.O., 1985. The influence of soil drought and partial waterlogging on water relations of *Gmelina arborea* seedlings. *Oecologia*, (66): 126-131.

Pal'ove-Balang, P., Mistrik, I., 2002. Control of nitrate uptake by phloem-translocated glutamine in *Zea mays* L. seedlings. *Plant Biology* 4:440-445.

Passioura, J.B., 1988. Water transport in and to roots. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, (39): 245-265.

Paterson, E., Sim, A., Standing, D., Dorward, M., McDonald, A.J.S., 2006. Root exudation from *Hordeum vulgare* in response to localized nitrate supply. *Journal of Experimental Botany* 57: 2413-2420.

Perumalla, C.J., Peterson, C.A., 1986. Deposition of Casparian bands and suberin lamellae in the exodermis and endodermis of young corn and onion roots. *Can. J. Bot.*, (64): 1873-1878.

Peuke, A.D., Windt, C., van As, H., 2006. Effects of cold-girdling on flows in the transport phloem in *Ricinus communis*: is mass flow inhibited? *Plant Cell and Environment*, 29: 15-25.

Pickard, W.F., Minchin, P.E.H., Thorpe, M.R., 1993. Leaf Export and Partitioning Changes Induced by Short-Term Inhibition of Phloem Transport. *Journal of Experimental Botany*, 44: 1491-1496.

Pitman, M.G., Wellfare, D., Carter, C., 1981. Reduction of hydraulic conductivity during inhibition of exudation from excised maize and barley roots. *Plant Physiol.*, (61): 802-808.

Pitman, M.G., 1988. Whole plants. In Baker, D.A. & Hall, J.L. (eds.). *Solute Transport in Plant Cells and Tissues*. Longman, Harlow, pp. 346-391.

Poorter, H., Remkes, C., Lambers, H., 1990. Carbon and nitrogen economy of 24 wild species differing in relative growth rate. *Plant Physiol.*, (94): 621-627.

Poorter, H., 1991. Interspecific variation in the relative growth rate of plants: The underlying mechanisms. PhD dissertation, Utrecht University, Utrecht, The Netherlands.

Poorter, H., Van der Werf, A., Atkin, O.K., Lambers, H., 1991. Respiratory energy requirements of roots vary with the potential growth rate of a plant species. *Physiol. Plant.*, (83): 469-475.

Poorter, H., Pothmann, P., 1992. Growth and carbon economy of a fast-growing and slow-growing grass species as dependent on ontogeny. *New Phytol.*, (120): 159-166.

Quintero, J.M., Fournier, J.M., Ramos, J., Benlloch, M., 1998. K⁺ status and ABA affect both exudation rate and hydraulic conductivity in sunflower roots. *Physiol. Plant.*, (102): 279-284.

- Quintero, J.M., Fournier, J.M., Benlloch, M., 1999.** Water transport in sunflower root systems: effects of ABA, Ca²⁺ status and HgCl₂. *Journal of Experimental Botany* 50: 1607-1612.
- Radin, J.W., Eidenbock, M.P., 1984.** Hydraulic conductivity as a factor limiting leaf expansion of phosphorus deficient cotton plants. *Plant Physiol.*, (75): 372-377.
- Radin, J.W., Mathews, M.A., 1989.** Water transport properties of cortical cells in roots of nitrogen- and phosphorus-deficient cotton seedlings. *Plant Physiol.*, (89): 264-268.
- Ramanjulu, S., Bartels, D., 2002.** Drought and desiccation-induced modulation of gene expression in plants. *Plant Cell and Environ.*, (25): 141-151.
- Rawson, H.M., Constable, G.A., 1980.** Carbon production of sunflower cultivars in field and controlled environments. 1. Photosynthesis and transpiration of leaves, stems and heads. *Aust. J. Pl. Phys.*, (7): 555-573.
- Reich, P.B., Tjoelker, M.G., Machado, J.L., Oleksyn, J., 2006.** Universal scaling of respiratory metabolism, size and nitrogen in plants. *Nature*, (439, 26): 457-461.
- Reid, J.B., Huck, M.G., 1990.** Diurnal variation of crop hydraulic resistance: a new analysis. *Agron. Journal*, (82): 827-834.
- Remans, T., Nacry, P., Pervent, M., Girin, T., Tillard, P., Lepetit, M., Gojon, A., 2006.** A central role for the nitrate transporter NRT2.1 in the integrated morphological and physiological responses of the root system to nitrogen limitation in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 140: 909-921.
- Richards, J.H., Caldwell, M.M., 1987.** Hydraulic lift: substantial water transport between soil layers by *Artemisa tridentada* roots. *Oecologia*, (73): 486-489.

Richardson, P.T., Baker, D.A., Ho, L.C., 1982. The chemical composition of cucurbit vascular exudates. *J. Exp. Bot.*, (33): 1239-1247.

Robertson, J.M., Pharis, R.P., Huang, Y.Y., Reid, D.M., Yeung, E.C, 1985. Drought-induced increases in abscisic acid levels in the root of sunflower. *Plant Physiol.*, (79): 1086-1089.

Robertson, J.M., Hubick, K.T., Yeung, E.C., Reid, D., 1990a. Developmental responses to drought and Abscisic Acid in Sunflower roots. 1. Root growth, apical anatomy and osmotic adjustment. *J. Exp. Bot.*, (41): 325-337.

Robertson, J.M., Yeung, E.C., Reid, D., Hubick, K.T., 1990b. Developmental responses to drought and Abscisic Acid in Sunflower roots. 2. Mitotic activity. *J. Exp. Bot.*, (41): 339-350.

Robinson, D., 1994. The Responses of Plants to Nonuniform Supplies of Nutrients. *New Phytologist* 127: 635-674.

Rufty, T.W., MacKown Jr, C.T., Volk, R.J., 1989. Effects of altered carbohydrate availability on whole-plant assimilation of $^{15}\text{NO}_3^-$. *Plant Physiol.*, (89): 457-463.

Ryan, P.R., Delhaize, E., Jones, D.L., 2001. Function and mechanism of organic anion exudation from plant roots. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, (52): 527-560.

Rychter, A.M., Mikulska, M., 1990. The relationship between phosphate status and cyanide-resistant respiration in bean roots. *Physiol. Plant.*, (79): 663-667.

Saglio, P.H., Pradet, A., 1980. Soluble sugars, respiration, and energy charge during aging of excised maize root tips. *Plant Physiol.*, (66): 516-519.

Sakakibara, H., Suzuki, M., Takei, K., Deji, A., Taniguchi, M., Sugiyama, T., 1998. A response-regulator homologue possibly involved in nitrogen signal transduction mediated by cytokinin in maize. *The Plant Journal*, (14): 337-344.

Sakakibara, H., Taniguchi, M., Sugiyama, T., 2000. His-Asp phosphorelay signalling: a communication avenue between plants and their environment. *Plant Molecular Biology*, (42): 273-278.

Samuelson, M.E., Larsson, C.M., 1993. Nitrate regulation of zeatin riboside levels in barley roots: effects of inhibitors of N assimilation and comparison with ammonium. *Plant Science*, (93): 77-84.

Samuelson, M.E., Campbell, W.H., Larsson, C.M., 1995. The influence of cytokinins in nitrate regulation of nitrate reductase activity and expression in barley. *Physiol. Plantarum*, (93): 533-539.

Sanderson, J., 1983. Water uptake by different regions of barley root. Pathway of radial flow in relation to development of the endodermis. *J. Exp. Bot.*, (34): 240-253.

Santamaria, P., Elia, A., 1997. Producing nitrate-free endive heads: effect of nitrogen form on growth, yield, and ion composition of endive. *J. of the Amer. Soc. For Hort. Science*, (122): 140-145.

Scheibe, R., 2004. Malate valves to balance cellular energy supply. *Physiol. Plant.*, (120): 21-26.

Schobert, C., Komor, E., 1990. Transfer of amino acids and nitrate from the roots into the xylem of *Ricinus communis* seedlings. *Planta*, (181): 85-90.

Scholander, P.F., Bradstreet, E.D., Hemmingsen, E.A., 1965. Sap pressure in vascular plants. *Science* (148): 339-346.

Schulze, J., Tesfaye, M., Litjens, R.H.M.G., Bucciarelli, B., Trepp, G., Miller, S., Samac, D., Allan, D., Vance, C.P., 2002. Malate plays a central role in plant nutrition. *Plant and Soil*, (247): 133-139.

Schurr, U., Gollan, T., 1990. Composition of xylem sap of plants experiencing root water stress- a descriptive study. In "Importance of Root to Shoot Communication in the Response to Environmental Stress", (ed. W.J. Davies & B. Jeffcoat). BSPGR monograph 21, Bristol, pp. 201-214.

Serraj, R., Sinclair, T.R., 2002. Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions ?. *Plant Cell and Environ.*, (25): 333-341.

Shane, M.W., De Vos, M., De Roock, S., Lambers, H., 2003. Shoot P status regulates cluster-root growth and citrate exudation in *Lupinus albus* grown with a divided root system. *Plant, Cell and Environment*, (26): 265-273.

Shulze, E.D., 1986. Carbon dioxide and water carbon exchange in response to drought in the atmosphere and in the soil. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, (37): 247-274.

Siefritz, F., Tyree, M.T., Lovisolo, C., Schubert, A., Kaldenhoff, R., 2002. PIP1 plasma membrane aquaporins in tobacco: from cellular effects to function in plants. *The Plant Cell*, (14): 869-876.

Siegel, L.M., Wilkerson, J.Q., 1989. Structure and function of spinach ferredoxin-nitrite reductase. In *Molecular and Genetic Aspects of Nitrate Assimilation*, J.L. Wray and J.R. Kinghorn, eds., Oxford Science, Oxford, pp. 263-283.

Simonneau, T., Habib, R. 1994. Water uptake regulation in peach trees with split-root systems. *Plant, Cell and Envir.*, (17): 379-388.

Simpson, R.J., Lambers, H., Dalling, M.J., 1982. Kinetic application to roots and its effect on uptake, translocation and distribution of nitrogen in wheat (*Triticum aestivum*) grown with a split-root system. *Physiol. Plant.*, (56): 430-435.

Sitt, M., 1999. Nitrate regulation of metabolism and growth. *Current Opinion in Plant Biology*, (2): 178-186.

Sivasankar, S., Oaks, A., 1996. Nitrate assimilation in higher plants. The effect of metabolites and light. *Plant Physiol. Biochem.*, (34): 609-620.

- Slafer, G.A., Satorre, E.H., Andrade, F.H., 1994.** Increases in grain in bread wheat from breeding and associated physiological changes. In “Genetic improvement of field crops”, (Slafer, G.A., ed.), New York, pp. 1-68.
- Smakman, H., Hofstra, R., 1982.** Energy metabolism of *Pantago lanceolata* as affected by change in root temperature. *Physiol. Plant.*, (56): 33-37.
- Smith, F.W., 2001.** Sulphur and phosphorus transport systems in plants. *Plant and Soil*, (232): 109-118.
- Smith, F.W., 2002.** The phosphate uptake mechanism. *Plant and Soil*, (245): 105-114.
- Smith, F.W., Mudge, S.R., Rae, A.L., Glassop, D., 2003.** Phosphate transport in plants. *Plant and Soil*, (248): 71-83.
- Sobeih, W.Y., Dodd, I.C., Bacon, M.A., Grierson, D., Davies, W.J., 2004.** Long-distance signals regulating stomatal conductance and leaf growth in tomato (*Lycopersicon esculentum*) plants subjected to partial root-zone drying. *Journal of Experimental Botany* 55:2353-2363.
- Sowell, J.B., Spomer, G.G., 1986.** Ecotypic variation in root respiration rate among elevational populations of *Abies lasiocarpa* and *Picea engelmannii*. *Oecologia*, (68): 375-379.
- Sowinski, P., Richner, W., Soldati, A., Stamp, P., 1998.** Assimilate transport in maize (*Zea mays* L.) seedlings at vertical low temperature gradients in the root zone. *Journal of Experimental Botany*, 49: 747-752.
- Spiegel, Y., Nezer, D., Kafkari, U., 1987.** The role of Ca nutrition on *Fusarium* –Wilt syndrome in muskmelon. *J. Phytopathol.*, (118): 220-226.
- Steingröver, E., 1981.** The relationship between cyanide-resistant root respiration and the storage of sugars in the taproot in *Daucus carota* L.. *J. Exp. Bot.*, (32): 911-919.

Steudle, E., 2001. The cohesion-tension mechanism and the acquisition of water by plant roots. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, (52): 847-875.

Stoker, R., Weatherley, P.E., 1971. The influence of the root system on the relationship between the rate of transpiration and depression of leaf water potential. *New Phytol.*, (70): 547-554.

Storey, R., Walker, R.R., 1987. Some effects of root anatomy on K, Na and Cl loading of citrus roots and leaves. *J. Exp. Bot.*, (38): 1769-1780.

Stulen, I., Perez-Soba, N., De Kok, L.J., Van der Eerden, L., 1998. Impact of gaseous nitrogen deposition on plant functioning. *New Phytologist*, (139): 61-70.

Tachibana, S., 1987. Effect of root temperature on the rate of water and nutrient absorption in cucumber cultivars and figleafgourd. *J. Jpn. Soc. Hortic. Sci.*, (55): 461-467.

Takei, K., Sakakibara, H., Taniguchi, M., Sugiyama, T., 2001. Nitrogen-dependent accumulation of cytokinins in root and the translocation to leaf: Implication of cytokinin species that induces gene expression of maize response regulator. *Plant and Cell Physiol.*, (42): 85-93.

Takei, K., Takahashi, T., Sugiyama, T., Sugiyama, T., Sakakibara, H., 2002. Multiple routes communicating nitrogen availability from roots to shoots: a signal transduction pathway mediated by cytokinin. *J. of Exp. Bot.*, 53, (370): 971-977.

Tan, C.S., Cornelisse, A., Buttery, B.R., 1981. Transpiration, stomatal conductance, and photosynthesis of tomato plants with various proportions of root system supplied with water. *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, 106(2): 147-151.

Tang, C., Hinsinger, P., Drevon, J.J., Jaillard, B., 2001. Phosphorus deficiency impairs early nodule functioning and enhances proton release in roots of *Medicago truncatula* L. *Annals of Botany*, (88): 131-138.

Taniguchi, M., Kiba, T., Sakakibara, H., Ueguchi, C., Mizuno, T., Sugiyama, T., 1998. Expression of *Arabidopsis* response regulator homologs is induced by cytokinins and nitrate. *FEBS Letters*, (429): 259-262.

Tanner, W., Beevers, H., 1990. Does transpiration have an essential function in long-distance ion transport in plants?. *Plant Cell Environ.*, (13): 745-750.

Tapia, L., 1987. Estudio de la fotosíntesis potencial de plantas cultivadas bajo cubierta en relación a su saturación lumínica. Tesis Doctoral. Facultad de Biología, Universidad de Barcelona (ISBN 84-7528-312-5).

Tardieu, F., Katerji, N., 1991. Plant response to the soil water reserve: consequences of the root system environment. *Irrigation Sci.*, (12): 145-152.

Tardieu, F., Davies, W.J., 1992. Stomatal response to ABA is a function of current plant water status. *Plant Physiol.*, (98): 540-545.

Tardieu, F., Zhang, J., Katerji, N., Bethenod, O., Palmer, S., Davies, W.J., 1992. Xylem ABA controls the stomatal conductance of field-grown maize subjected to soil compaction or soil drying. *Plant Cell Environ.*, (15): 193-197.

Tardieu, F., Zhang, J., Davies, W.J., 1992b. What information is conveyed by an ABA signal from maize roots in drying field soil?. *Plant Cell Environ.*, (15): 185-191.

Tester, M., Blatt, M.R., 1989. Direct measurement of K⁺ channels in thylakoid membranes by incorporation of vesicles into planar lipid bilayers. *Plant Physiol.*, (91): 249-252.

Tester, M., 1990. Plant ion channels: whole-cell and single-channel studies. *New Phytol.*, (114): 305-340.

Thomas, J., Ross, C.V., Chastain, C.J., Koomanoff, N., Hendrick, J.W., Van Volkenburgh, E., 1981. Cytokinin induced wall extensibility in excised cotyledons of radish and cucumber. *Plant Physiol.*, (68): 107-110.

Thoms, K., Sattelmacher, B., 1990. Influence of nitrate placement on morphology and physiology of maize (*Zea mays*) root systems. In Plant nutrition-physiology and applications, M.L. van Beusichem, ed., Kluwer Academic, Dordrecht, The Netherlands, pp. 29-32.

Thomson, C.J., Atwell, B.J., Greenway, H., 1989. Response of wheat seedlings to low O₂ concentrations in nutrient solution. II. K⁺/Na⁺ selectivity of root tissues of different age. J. Exp. Bot., (40): 993-999.

Tjoelker, M.G., Oleksyn, J., Reich, P.B., 2001. Modelling respiration of vegetation: evidence for a general temperature-dependent Q(10). Global Change Biology, 7: 223-230.

Touraine, B., Grignon, C., 1982. Energetic coupling of nitrate secretion into the xylem of corn roots. *Physiol. Vég.*, (20): 33-39.

Touraine, B., Grignon, N., Grignon, C., 1988. Charge balance in NO₃⁻ fed soybean. Estimation of K⁺ and carboxylate recirculation. *Plant Physiol.*, (88): 605-612.

Touraine, B., Grignon, N., Grignon, C., 1990. Interaction between nitrate assimilation in shoots and nitrate uptake by roots of soybean (*Glycine max*) plants: Role of carboxylate. *Plant Soil*, (124): 169-174.

Touraine, B., Muller, B., Grignon, C., 1992. Effect of phloem-translocated malate on NO₃⁻ uptake by roots of intact soybean plants. *Plant Physiol.*, (99): 1118-1123.

Touraine, B., Clarkson, D.T., Muller, B., 1994. Regulation of nitrate uptake at the whole plant level. In J. Roy & E. Garnier (eds.) *A Whole Plant Perspective on Carbon-Nitrogen Interactions*, SPB Academic Publishers, The Hague, pp. 11-30.

Trcková, M., Kamínek, M., 1999. Effect of an exogenous cytokinin on nitrate uptake and nitrogen assimilation in wheat plants. *Biologia Plantarum* (42 suppl.), 86.

Trejo, C., Davies, W.J., 1991. Drought induced closure of *Phaseolus vulgaris* stomata precede leaf water deficit and any increase in xylem ABA concentration. *J. Exp. Bot.*, (42): 1507-1515.

Tyerman, S.D., Bohnert, H.J., Maurel, C., Steudle, E., Smith, J.A.C., 1999. Plant aquaporins: their molecular biology, biophysics and significance for plant water relations. *J. Exp. Bot.*, (50): 1055-1071.

Tyerman, S.D., Niemietz, C.M., Bramley, H., 2002. Plant aquaporins: multifunctional water and solute channels with expanding roles. *Plant Cell Environ.*, (25): 173-194.

van Bel, A.J.E., 1984. Quantification of the xylem-to-phloem transfer of amino acids by use of inulin (^{14}C) carboxylic acid as xylem transport marker. *Plant Sci. Lett.*, (35): 81-85.

van Beusichem, M.L., Kirkby, E.A., Baas, R., 1988. Influence of nitrate and ammonium nutrition and the uptake, assimilation, and distribution of nutrients in *Ricinus communis*. *Plant Physiol.*, (86): 914-921.

van de Geijn, S.C., Petit, C.M., 1979. Transport of divalent cations. Cation exchange capacity of intact xylem vessels. *Plant Physiol.*, (64): 954-958.

van der Boon, J., Steenhuizen, J.W., Steingröver, E.G., 1990. Growth and nitrate concentration of lettuce as affected by total nitrogen and chloride concentration. NH_4/NO_3 ratio and temperature of the recirculating nutrient solution. *Journal of Horticultural Science*, (65): 309-321.

van der Werf, A., Kooijman, A., Welschen, R., Lambers, H., 1988. Respiratory costs for the maintenance of biomass, for growth and for ion uptake in roots of *Carex diandra* and *Carex acutiformis*. *Physiol. Plant.*, (72): 483-491.

van der Werf, A., Welschen, R., Lambers, H., 1992. Respiratory losses increase with decreasing inherent growth rate of a species and with decreasing nitrate supply: a search for explanations for these observations. In *Molecular*,

Biochemical and Physiological Aspects of Plant Respiration (H. Lambers & L.H.W. Van der Plas, eds.). SPB Academic Publishing, The Hague. pp. 421-432.

van der Werf, A., Poorter, H., Lambers, H., 1994. Respiration as dependent on a species's inherent growth rate on the nitrogen supply to the plant. In A Whole-Plant Perspective of Carbon-Nitrogen Interactions (J. Roy & E. Garnier, eds.). SPB Academic Publishing, The Hague. pp. 61-77.

van Ieperen, W., van Meeteren, U., van Gelder, H., 2000. Fluid ionic composition influences hydraulic conductance of xylem conduits. *Journal of Experimental Botany* 51: 769-776.

Vartanian, N., Damerval, C., De Vienne, D., 1987. Drought-induced changes in protein patterns of *Brassica napus* var. *oleifera* roots. *Plant Physiol.*, (84): 989-992.

Very, A.A., Sentenac, H., 2003. Molecular mechanisms and regulation of K⁺ transport in higher plants. *Annual Review of Plant Biology* 54: 575-603.

Veselova, S.V., Farhutdinov, R.G., Veselov, S.Y., Kudoyarova, G.R., Veselov, D.S., Hartung, W., 2005. The effect of root cooling on hormone content, leaf conductance and root hydraulic conductivity of durum wheat seedlings (*Triticum durum* L.). *Journal of Plant Physiology* 162: 21-26.

von Caemmerer, S., Farquar, G.D., 1981. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta*, (153): 376-387.

Vorster, P.W., Jooste, J.H., 1986. Translocation of potassium and phosphate from ordinary and proteoid roots to shoots in the *Proteaceae*. *S. Afr. J. Bot.*, (52): 282-285.

Wagner, B.M., Beck, E.H., 1993. Cytokinins in the perennial herb *Urtica dioica* L. as influenced by its nitrogen status. *Planta*, (190): 511-518.

- Wakrim, R., Wahbi, S., Tahi, H., Aganchich, B., Serraj, R., 2005.** Comparative effects of partial root drying (PRD) and regulated deficit irrigation (RDI) on water relations and water use efficiency in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Agriculture Ecosystems & Environment* 106: 275-287.
- Wan, X.C., Landhausser, S.M., Zwiazek, J.J., Lieffers, V.J., 2004.** Stomatal conductance and xylem sap properties of aspen (*Populus tremuloides*) in response to low soil temperature. *Physiologia Plantarum* 122: 79-85.
- Wang, X.L., Canny, M.J., McCully, M.E., 1991.** The water status of the roots of soil-grown maize in relation to the maturity of their xylem. *Physiol. Plant.*, (82): 157-162.
- Wang, R., Guegler, K., LaBrie, S.T., Crawford, N.M., 2000.** Genomic analysis of a nutrient response in *Arabidopsis* reveals diverse expression patterns and novel metabolic and potential regulatory genes induced by nitrate. *The Plant Cell*, (12): 1491-1509.
- Warner, R.L., Kleinhofs, A., 1992.** Genetics and molecular biology of nitrate metabolism in higher plants. *Physiol. Plant.* (85): 245-252.
- Wartinger, A., Heilmeier, H., Hartung, W., Schultze, E.D., 1990.** Daily and seasonal courses of leaf conductance and abscisic acid in the xylem sap of almond trees (*Prunus dulcis* M.) under desert conditions. *New Phytol.*, (116): 581-587.
- Watt, M., van der Weele, C.M., McCully, M.E., Canny, M.J., 1996.** Effects of local variations in soil moisture on hydrophobic deposits and dye diffusion in corn roots. *Bot. Acta*, (109): 492-501.
- Watts, W.R., 1972a.** Leaf extension in *Zea mays* I. Leaf initiation and water potential in relation to root-zone and air temperature. *J. Exp. Bot.*, (23): 704-712.

Watts, W.R., 1972b. Leaf extension in *Zea mays* II. Leaf initiation in response to independent variation of the temperature of the apical meristem, of the air around the leaves, and of the root zone. *J. Exp. Bot.*, (23): 713-721.

Weger, H.G., Guy, R.D., 1991. Cytochrome and alternative pathway respiration in white spruce (*Picea glauca*) roots. Effects of growth and measurement temperature. *Physiol. Plant.*, (83): 675-681.

Werf, A. van der, Kooijman, A., Welschen, R., Lambers, H., 1988. Respiratory energy costs for the maintenance of biomass, for growth and for iron uptake in roots of *Carex diandra* and *Carex acutiformis*. *Physiol. Plant.*, (72): 483-491.

White, P.J., 1997. The regulation of K⁺ influx into roots of rye (*Secale cereale* L.) seedlings by negative feedback via the K⁺ flux from shoot to root in the phloem. *Journal of Experimental Botany*, 48: 2063-2073.

Wilkinson, S., Davies, W.J., 2002. ABA-based chemical signalling: the co-ordination of responses to stress in plants. *Plant Cell Environ.*, (25): 195-210.

Wise, R.R., Frederick, J.R., Alm, D.M., Kramer, D.M., Hesketh, J.D., Crofts, A.R., Ort, D.R., 1990. Investigation of the limitations to photosynthesis induced by leaf water deficit in field-grown sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Plant Cell and Environ.*, (13): 923-931.

Xin, Z., Li, P.H., 1992. Abscisic acid-induced chilling tolerance in maize suspension-cultured cells. *Plant Physiol.*, (99): 707-711.

Yan, F., Schubert, S., Mengel, K., 1992. Effect of low root medium pH on net proton release, root respiration, and root growth of corn (*Zea mays* L.) and broad bean (*Vicia faba* L.). *Plant Physiol.*, (99): 415-421.

Yao, C., Moreshet, S., Aloni, B., 2001. Water relations and hydraulic control of stomatal behaviour in bell pepper plants in partial soil drying. *Plant Cell Environ.*, (24): 227-235.

Yemm, E.W., 1965. The respiration of plants and their organs. In Plant Physiology, A. Treatise. Vol. IA (F.C. Steward, ed.). Academic Press, New York, pp. 231-310.

Yermiyahu, U., Nir, S., Ben-Hayyim, G., Kafkafi, U., 1994. Quantitative competition of calcium with sodium or magnesium for sorption sites on plasma membrane vesicles of melon (*Cucumis melo* L.) root cells. J. Membrane Biol., (138): 55-63.

Zeiger, E., 1983. The biology of stomatal guard cells. Ann. Rev. Plant Physiol., (34): 441-475.

Zhang, J., Davies, W.J., 1987. Increased synthesis of ABA in partially dehydrated root tips and ABA transport from roots to leaves. J. Exp. Bot., 38(197): 2015-2023.

Zhang, J., Davies, W.J., 1989. Abscisic acid produced in dehydrating roots may enable the plant to measure the water status of the soil. Plant, Cell and Env., (12): 73-81.

Zhang, J., Davies, W.J., 1989b. Sequential response of whole plant water relations to prolonged soil drying and the involvement of xylem sap ABA in the regulation of stomatal behaviour of sunflower plants. New Phytol., (113): 167-174.

Zhang, J., Davies, W.J., 1990. Changes in the concentration of ABA in xylem sap as a function of changing soil water status can account for changes in leaf conductance and growth. Plant, Cell and Env., (13): 277-285.

Zhang, J., Davies, W.J., 1991. Antitranspirant activity in xylem sap of maize plants. J. Exp. Bot., (42): 317-321.

Zhang, W.H., Tyerman, S.D., 1999. Inhibition of water channels by HgCl₂ in intact wheat root cells. Plant Physiol., (120): 849-857.

Zhong, H., Läuchli, A., 1994. Spatial distribution of solutes, K, Na, Ca and their deposition rates in the growth zone of primary cotton roots. Effects of NaCl and CaCl₂. *Planta*, (194): 34-41.

Zhou, Y.H., Yu J.Q., Huang L.F., Nogués, S., 2004. The relationship between CO₂ assimilation, photosynthetic electron transport and water-water cycle in chilled-exposed cucumber leaves under low light and subsequent recovery. *Plant, Cell and Env.*, (27): 1503-1514.

Zhu, G.L., Steudle, E., 1991. Water transport across maize roots. Simultaneous measurement of flows at the cell and root level by double pressure probe technique. *Plant Physiol.*, (95): 305-315.

Zimmerman, R.C., Smith, R.D., Alberte, R.S., 1989. Thermal acclimation and whole-plant carbon balance in *Zostera marina* L. (eelgrass). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, (130): 93-109.

