

4.3. RESULTADOS

La concentración foliar de los macronutrientes estudiados N_t , K^+ , P , S_t , Mg^{2+} y Ca^{2+} se muestran en la figura 4.1 para las tres clases de edad de las acículas (originadas en 1995, 1996 y 1997) del tratamiento de control (aire filtrado AF). Los valores de N_t , K^+ y P descendieron a lo largo de la experimentación en las tres clases de edad. Los valores de S_t , Mg^{2+} y Ca^{2+} aumentaron durante la experimentación en las acículas de 1996. En las acículas de 1995 la concentración de esos elementos aumentó hasta noviembre de 1996, disminuyendo en la segunda parte del experimento. Las acículas más jóvenes, de 1997, se comportaron de manera similar a las de 1996 en cuanto al Mg^{2+} . Su concentración de S_t se mantuvo constante, y la concentración de Ca^{2+} disminuyó ligeramente.

Las concentraciones foliares de K^+ , P y Ca^{2+} mostraron variaciones consistentes con la edad de las acículas, aumentando el Ca^{2+} y disminuyendo el K^+ y el P en las acículas más maduras. Los valores de K^+ y P fueron superiores en las acículas de 1997 e inferiores en las acículas de 1995, mostrando las de 1996 valores intermedios. Los valores de Ca^{2+} fueron máximos en las acículas de 1995, mínimos en las de 1997 e intermedios en las acículas de 1996.

En el resto de los elementos estudiados, el efecto de la edad de las acículas fue diferente en cada año de estudio. En 1996 la concentración de N_t , S_t y Mg^{2+} aumentó con la edad de las acículas mientras que en 1997 la tendencia de variación fue la opuesta, mostrando las acículas más maduras los valores mínimos de N_t . Las acículas más jóvenes mostraron valores similares a las de 1996 (caso del N_t y del Mg^{2+}) o similares a las de 1995 (caso del S_t).

Los valores promedio, máximos y mínimos de concentración foliar de nutrientes para cada clase de edad observados en el tratamiento de control se muestran en la tabla 4.1.

Tabla 4.1. Concentración media, máxima y mínima de macronutrientes a lo largo del experimento en el tratamiento de control (aire filtrado, AF) en las tres clases de edad de las acículas.

Edad de las acículas	Elemento (% peso seco)					
	N_t	K^+	P	S_t	Mg^{2+}	Ca^{2+}

1995	Media	1.37	0.48	0.08	0.24	0.19	0.89
	Máxima	2.19	1.02	0.16	0.27	0.24	1.04
	Mínima	0.83	0.30	0.04	0.22	0.15	0.76
99 6	Media	1.07	0.46	0.07	0.26	0.26	0.62
	Máxima	1.33	0.64	0.11	0.32	0.32	0.70
	Mínima	0.79	0.38	0.04	0.15	0.13	0.40
99 7	Media	0.85	0.62	0.06	0.25	0.31	0.42
	Máxima	0.93	0.75	0.08	0.25	0.35	0.47
	Mínima	0.74	0.40	0.05	0.25	0.26	0.39

Efectos del SO₂

Efectos sobre la concentración foliar de azufre y de cationes

El efecto del SO₂ sobre la concentración foliar de S_t y de los cationes K⁺, Ca²⁺ y Mg²⁺ se muestran en las figuras 4.2, 4.3 y 4.4 para las acículas nacidas en 1995, 1996 y 1997, respectivamente. En esas figuras se muestran, además, la concentración total de dichos cationes y la proporción de la concentración de S_t respecto a la de la suma de cationes (S/cationes).

La concentración foliar de azufre estuvo consistentemente afectada por los tratamientos con SO₂ a lo largo de la experimentación y en las tres clases de edad. El S_t aumentó significativamente por efecto del SO₂ en todos los muestreos en las acículas de 1996 y en casi todos los de las acículas de 1995 y 1997. En las acículas de 1995, este efecto se observó significativamente a partir del muestreo de noviembre de 1996. Para las acículas de 1996 la diferencia entre el SO₂ y el AF (aire filtrado) fue significativa desde el primer muestreo. Al final del experimento, las concentraciones de S_t en los individuos fumigados con sólo SO₂ fueron un 26% mayores que las observadas en el control (AF) para las acículas de 1996. Para las acículas de 1997 el aumento fue de un 24 % sobre el control. En el último muestreo de acículas de 1995 (julio de 1997) el aumento de la concentración de S_t fue de un 33 % respecto al control.

acículas de 1995

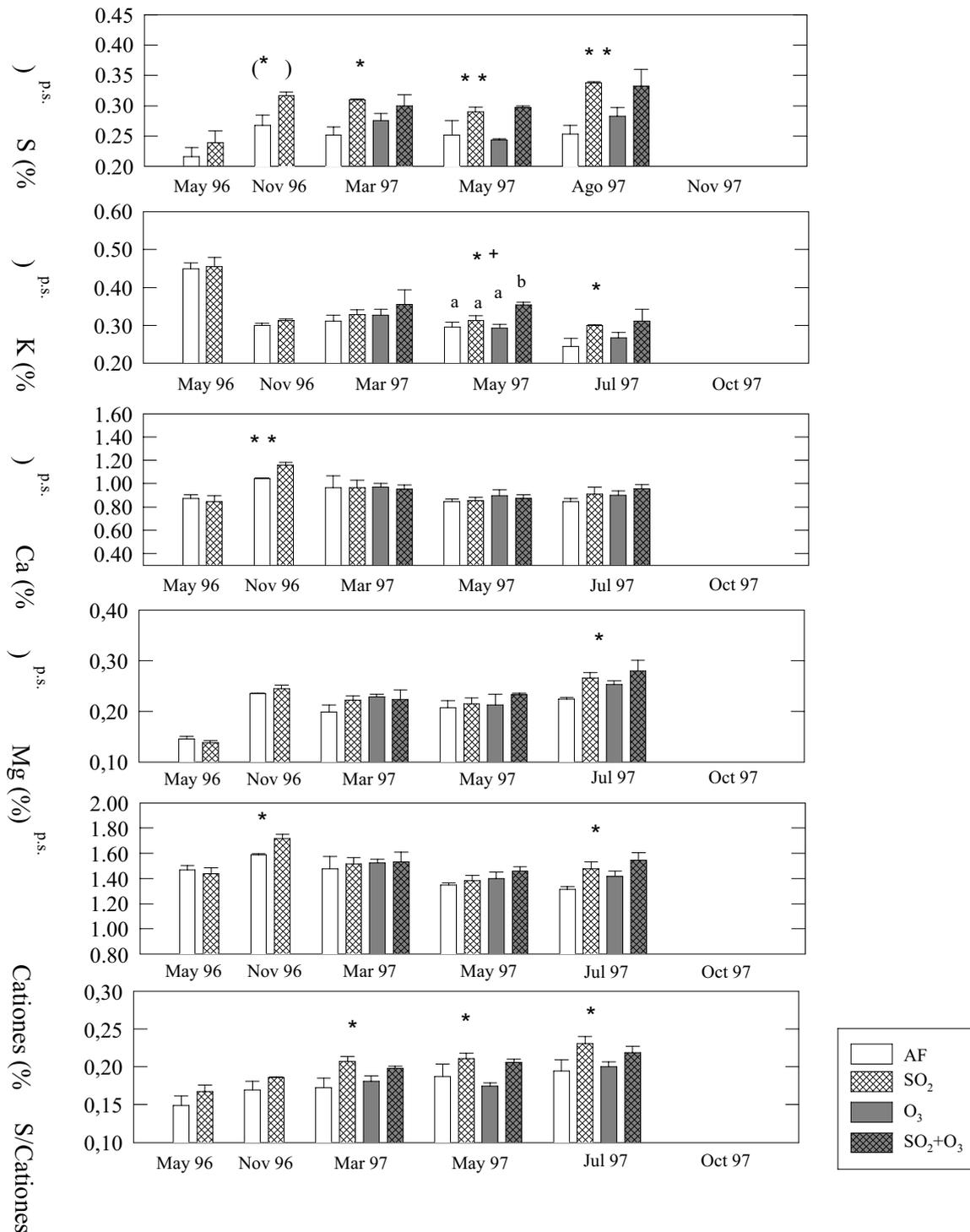


Figura 4.2. Efectos del SO₂, del O₃ y del SO₂+O₃ sobre la concentración foliar de S, K, Ca y Mg. Se muestran, además, la concentración total de cationes y la proporción de la concentración de S respecto a la de la suma de cationes (S/cationes). Se representan el promedio y el error estándar para plantas que reciben el mismo tratamiento. Los asteriscos * indican diferencias significativas debidas al SO₂ para (*) p<0.10, * (p<0.05) y ** (p<0.01). Los asteriscos * indican interacción significativa entre el SO₂ y el O₃ para * p<0.05.

acículas de 1996

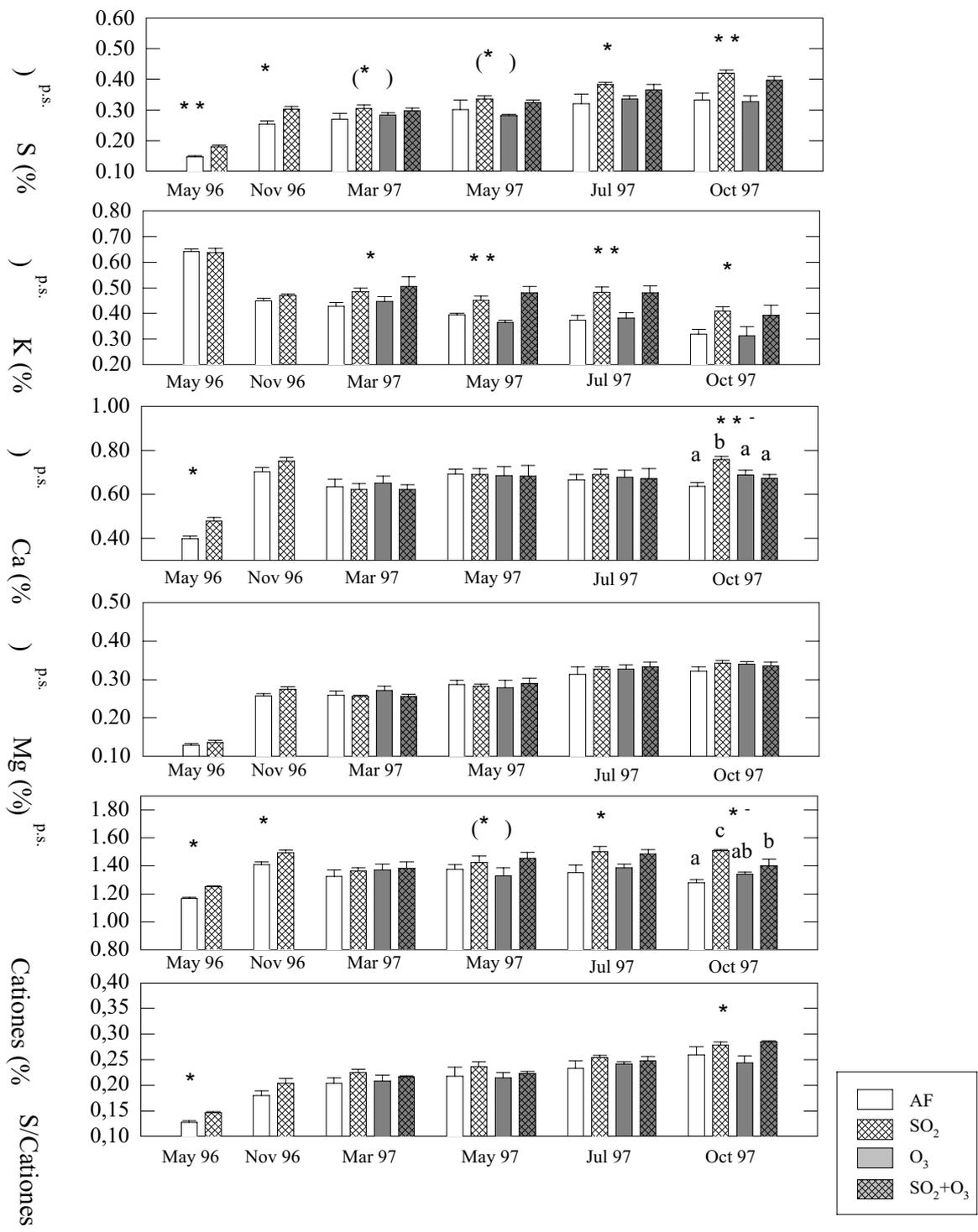


Figura 4.3. Efectos del SO₂, del O₃ y del SO₂+O₃ sobre la concentración foliar de S, K, Ca y Mg. Se muestran, además, la concentración total de cationes y la proporción de la concentración de S respecto a la de la suma de cationes (S/cationes). Se representan el promedio y el error estándar para plantas que reciben el mismo tratamiento. Los asteriscos * indican diferencias significativas debidas al SO₂ para (*) p<0.10, * (p<0.05) y ** (p<0.01). Los asteriscos * indican interacción significativa entre el SO₂ y el O₃ para * p<0.05.

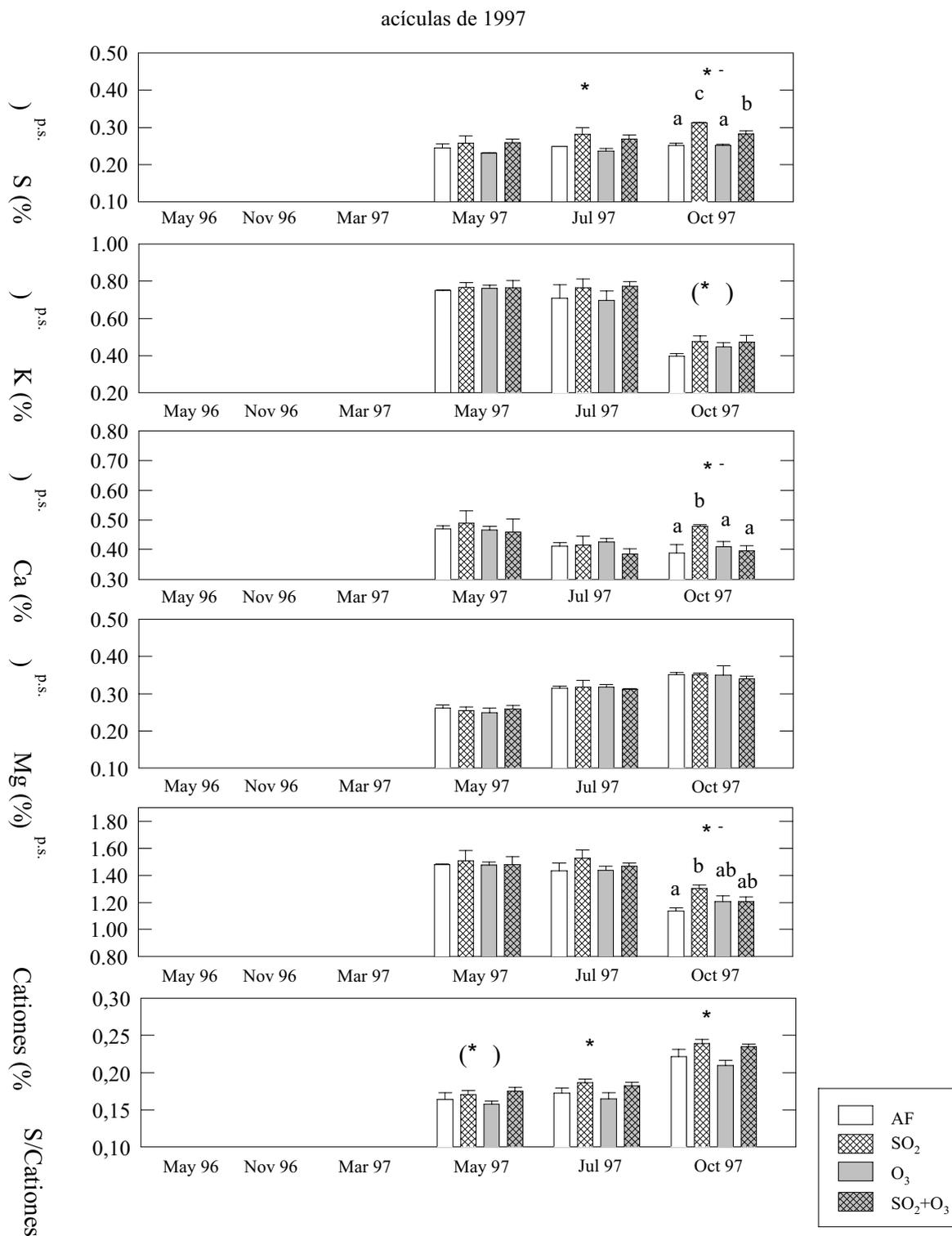


Figura 4.4. Efectos del SO₂, del O₃ y del SO₂+O₃ sobre la concentración foliar de S, K, Ca y Mg. Se muestran, además, la concentración total de cationes y la proporción de la concentración de S respecto a la de la suma de cationes (S/cationes). Se representan el promedio y el error estándar para plantas que reciben el mismo tratamiento. Los asteriscos * indican diferencias significativas debidas al SO₂ para (*) p<0.10, * (p<0.05) y ** (p<0.01). Los asteriscos * indican interacción significativa entre el SO₂ y el O₃ para * p<0.05.

La tasa de acumulación de S_t fue mayor en las acículas de 1996 que en las otras clases de edad para períodos comparables. Fue unas 1.8 veces superior en esa clase de edad que en las del año anterior para el período entre mayo de 1996 y julio de 1997 y aproximadamente 1.5 veces superior a la tasa de acumulación de las acículas de 1997 para el período entre mayo y noviembre de 1997.

Paralelamente al aumento de la concentración de S_t por efecto del SO_2 , se observó un aumento de la concentración de cationes en los tratamientos con el contaminante en las tres clases de edad y a lo largo del conjunto de la experimentación. La contribución del K^+ , el Ca^{2+} y el Mg^{2+} al aumento de la concentración total de cationes por efecto del SO_2 fue diferente según la clase de edad y el período de muestreo.

En el primer año de experimentación, el Ca^{2+} fue el catión predominantemente incrementado por el tratamiento con SO_2 para las dos clases de edad de las acículas, las formadas en 1995 y en 1996. Las concentraciones de K^+ y de Mg^{2+} también aumentaron por efecto del SO_2 en noviembre de 1996, pero el aumento no fue estadísticamente significativo. La suma de cationes equilibró el S_t acumulado (similar proporción S_t /cationes en los tratamientos de aire filtrado y de SO_2) en noviembre de 1996 en las dos clases de edad (figuras 4.2 y 4.3).

A lo largo del segundo año de tratamiento con SO_2 , el catión preferentemente acumulado por efecto del SO_2 en las acículas de 1996 fue el K^+ . El Ca^{2+} también se acumuló al final del experimento en esa clase de edad en el tratamiento de SO_2 respecto al AF, mientras que la concentración de Mg^{2+} no sufrió cambios debidos al SO_2 . Los cambios en el K^+ y el Ca^{2+} igualaron a los cambios en la concentración de S_t en el tratamiento de SO_2 respecto al AF, de manera que la relación S_t /cationes fue similar en ambos tratamientos durante la mayor parte del año (figura 4.3). En las acículas más maduras, de 1995, la relación S_t /cationes se mantuvo en el SO_2 por encima del AF, a pesar del incremento de la concentración de Mg^{2+} y de K^+ en ese tratamiento en agosto de 1997 (figura 4.2). En las acículas más jóvenes, de 1997, el incremento de cationes en respuesta a la acumulación de S_t en los tratamientos con SO_2 no fue efectivo hasta el final del experimento. El Ca^{2+} y el K^+ fueron los cationes implicados. Sin embargo, la relación S_t /cationes permaneció constante en el tratamiento de SO_2 respecto al AF en esa clase de edad (figura 4.4).

Efectos sobre la concentración foliar de nitrógeno

En la figura 4.5 se muestran los efectos de los tratamientos de SO_2 sobre la concentración foliar de N_t para las tres clases de edad a lo largo de la

experimentación. La concentración de N_t se ha expresado en % sobre el peso seco de la hoja (%_{p.s.}, figuras 4.5a, b y c) y en base al área foliar ($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$, figuras 4.5 a', b' y c').

A lo largo del experimento y excepto en mayo de 1997, la concentración foliar de N_t disminuyó en las acículas de 1995 por efecto del SO_2 . La disminución fue, en %_{p.s.}, de hasta un 18 % en noviembre de 1996 (figura 4.5a). En las acículas de 1996 solamente se observó esa tendencia en marzo de 1997 y sólo en %_{p.s.}, con una disminución del 6 % en el tratamiento con SO_2 respecto al control (figura 4.5b). En las acículas de 1997 no se observaron efectos en la concentración de N_t por efecto del SO_2 (figura 4.5c y c').

Los cambios en el área específica de la hoja (SLA, capítulo 8) tuvieron repercusiones en el efecto del SO_2 sobre la concentración de N_t en base a área foliar ($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$) respecto a los cambios mencionados en %_{p.s.}. De manera que en las acículas de 1995 las disminuciones de la concentración de N_t por efecto del SO_2 fueron cuantitativamente más importantes en $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ (de hasta un 21 % en noviembre de 1996, figura 4.5a'). Sin embargo en las acículas de 1996 las ligeras disminuciones observadas por efecto del SO_2 desaparecieron e incluso se tradujeron en incrementos de la concentración de N_t al expresar las concentraciones en $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$, aumentando por efecto del tratamiento con contaminante hasta un 8 % en noviembre de 1996, aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas (figura 4.5b').

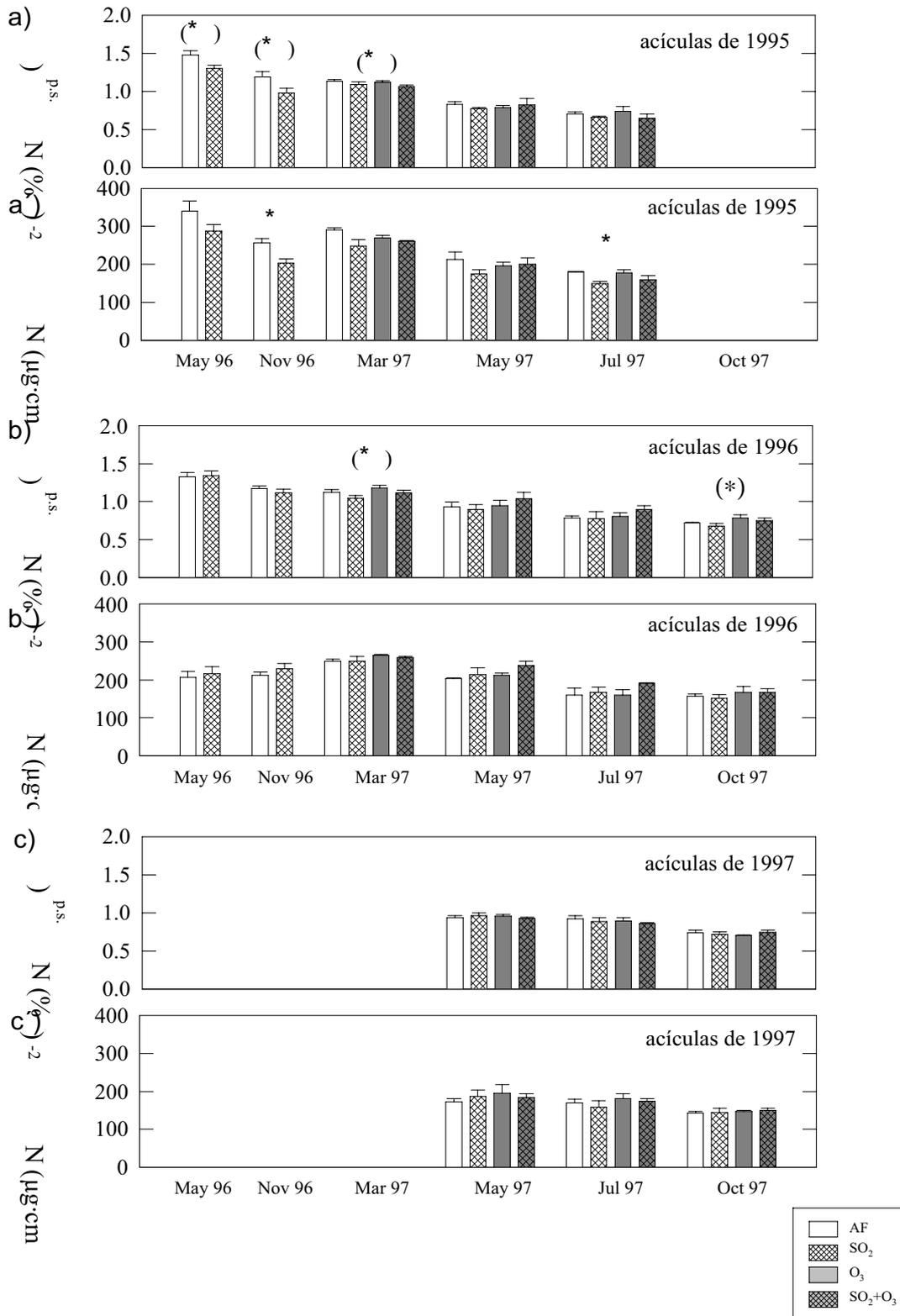


Figura 4.5. Efectos del SO₂, del O₃ y del SO₂+O₃ sobre la concentración foliar de N expresado en %_{peso seco} (a, b y c) y en µg·cm⁻² (a', b' y c') para cada clase de edad. Se representan el promedio y el error estándar para plantas que reciben el mismo tratamiento. Los asteriscos * indican diferencias significativas debidas al SO₂ para (*) p<0.10 y * (p<0.05). Los asteriscos * indican diferencias significativas debidas al O₃ para (*) p<0.10.

Efectos del O₃ y del SO₂+O₃

Los efectos debidos al tratamiento con O_3 y con la mezcla de SO_2+O_3 se muestran también en las figuras 4.2 a 4.5. No se apreciaron efectos notables del tratamiento con ozono en la concentración de azufre ni en la de cationes (figuras 4.2, 4.3 y 4.4) para ninguna de las clases de edad. Solamente se observó un ligero aumento de la concentración de N en las acículas de 1996 por efecto del O_3 al final del experimento (figura 4.5b).

En cuanto a la exposición simultánea a ambos contaminantes, en general las plantas expuestas a la mezcla de SO_2+O_3 mostraron un comportamiento similar al del SO_2 , indicando una ausencia de interacción entre ambos contaminantes. No obstante, se observaron ciertos efectos interactivos puntuales: el ozono tuvo una tendencia a reducir la concentración de S_t en el tratamiento de SO_2+O_3 con relación al tratamiento con solo SO_2 (interacción negativa) en las tres clases de edad pero tal efecto fue estadísticamente significativo solamente en las acículas del año en curso (1997), al final del experimento (figura 4.4). En paralelo a esos cambios, la concentración de Ca^{2+} también disminuyó en presencia de los dos contaminantes respecto al tratamiento de sólo SO_2 en ese muestreo y clase de edad. Las acículas de 1996, sin embargo, mostraron un efecto similar a las acículas de 1997 en cuanto a los efectos de interacción negativa sobre el Ca^{2+} , pero no se observaron efectos interactivos sobre el contenido de azufre, sugiriendo que el O_3 interfirió de alguna manera en la acumulación de calcio asociada al SO_2 (figura 4.3). Contrariamente, en las acículas de 1995 la concentración de K^+ fue aumentada en el tratamiento con SO_2+O_3 respecto al tratamiento con sólo SO_2 (interacción positiva) a pesar de no mostrar interacción alguna en lo que se refiere a la acumulación de S_t en mayo de 1997 (figura 4.2).

En la concentración de N_t no se observaron efectos interactivos del SO_2 y del O_3 importantes (figura 4.5) aunque en las acículas de 1996 se observó en mayo y julio de 1997 una ligera tendencia al aumento de la concentración de N_t en el tratamiento de mezcla respecto a los contaminantes por separado.

Efecto de cámara

El efecto de la cámara (comparación del tratamiento de aire no filtrado, ANF, con las parcelas sin cámara, AA) sobre la concentración foliar de nutrientes se muestra en la figura 4.6.

El efecto de cámara fue poco importante. Los individuos situados fuera de las cámaras mostraron en general menor concentración foliar de Mg^{2+} y Ca^{2+} y mayor concentración de P que los individuos ubicados en su interior. La concentración foliar de N no mostró un patrón generalizado, con aumento o disminución fuera de las cámaras respecto al interior en función de la época de muestreo. Bytnerowicz *et al.* (1990) encontraron resultados similares en lo que respecta a la concentración de P y Mg^{2+} .

La disminución de la concentración de Mg^{2+} y Ca^{2+} en el exterior de las cámaras podría estar relacionado, entre otros factores, con un mayor lavado de las copas, ya que la incidencia del agua de lluvia dentro de las cámaras es del orden de un 35 % menor que fuera de ellas (ver el capítulo 3).

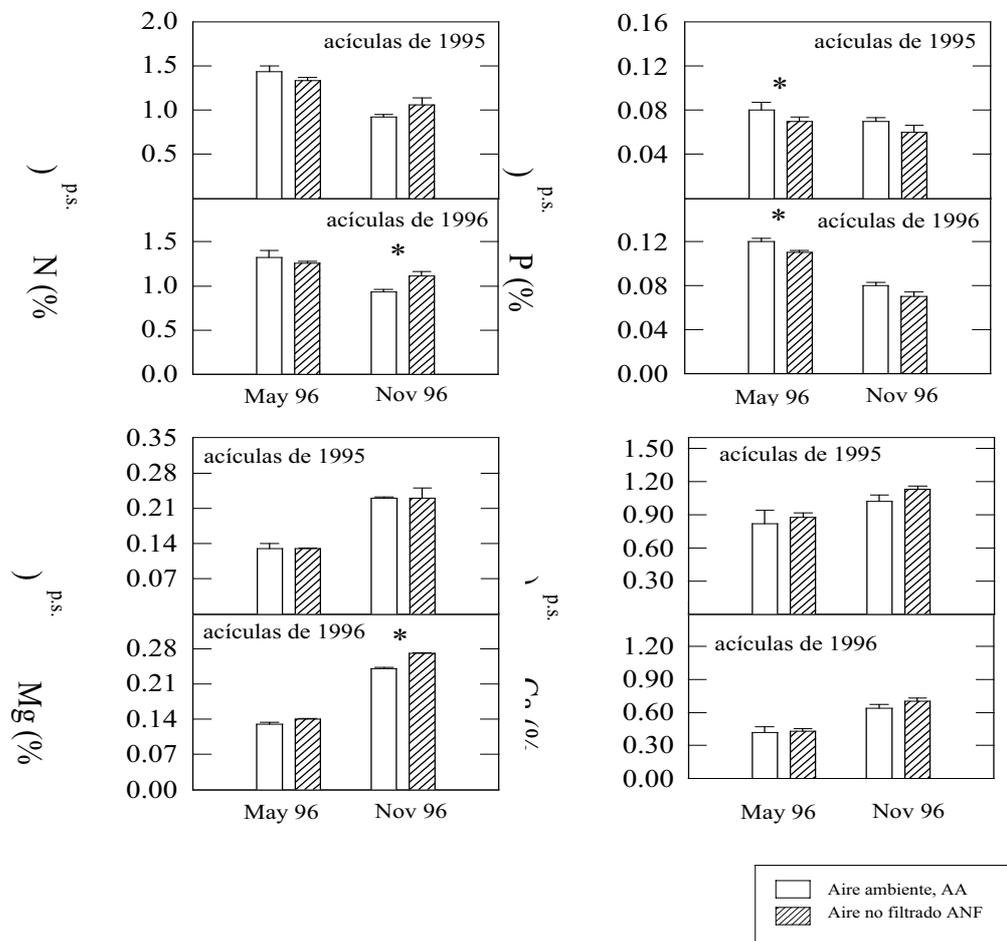


Figura 4.6. Efecto de cámara en la concentración foliar de N, P, Mg y Ca. Se representan el promedio y el error estándar para plantas que reciben el mismo tratamiento. Los asteriscos * indican diferencias significativas debidas a la cámara para * $p < 0.05$.

4.4. DISCUSIÓN

En general, como se muestra en la tabla 4.2, la concentración foliar de N_t , P, Mg^{2+} y Ca^{2+} registrados en nuestra experimentación en el tratamiento de control se encuentran dentro del rango de valores hallados por otros autores para *Pinus halepensis* en trabajos experimentales y en condiciones naturales (Serrano, datos no publicados; Velissariou *et al.*, 1992; Elvira *et al.*, 1995; Espelta, 1996). Los valores de concentración de K^+ y particularmente de S_t , sin embargo, resultaron elevados en relación con esas referencias.

Tabla 4.2. Concentración foliar de nutrientes (%_{peso seco}) del presente estudio en relación con las referencias de otros autores para *Pinus halepensis*.

Elemento		Presente estudio	Serrano (IEFC, no publicado) ¹	Velissariou <i>et al.</i> , 1992 ²	Elvira <i>et al.</i> , 1995 ³	Espelta, 1996 ³
N_t	Medio	1.10	1.24	-	-	-
	Máximo	2.19	1.75	1.10	2.30	1.43
	Mínimo	0.74	0.80	0.68	0.58	0.82
K⁺	Medio	0.52	0.36	-	-	-
	Máximo	1.02	0.70	-	-	0.54
	Mínimo	0.30	0.21	-	-	0.25
P	Medio	0.07	0.08	-	-	-
	Máximo	0.16	0.20	-	0.25	0.20
	Mínimo	0.04	0.03	-	0.10	0.07
S_t	Medio	0.25	0.13	-	-	-
	Máximo	0.32	0.22	0.19	-	-
	Mínimo	0.15	0.06	0.09	-	-
Mg²⁺	Medio	0.25	0.23	-	-	-
	Máximo	0.35	0.50	-	-	0.21
	Mínimo	0.13	0.09	-	-	0.18
Ca²⁺	Medio	0.64	0.84	-	-	-
	Máximo	1.04	1.99	-	0.48	0.92
	Mínimo	0.39	0.40	-	0.11	0.66

¹ *Inventari Ecològic i Forestal de Catalunya*. 168 individuos adultos en condiciones naturales.

² Attica, Grecia. Individuos adultos en condiciones naturales.

³ Plantones en condiciones experimentales, plantados en maceta.

La elevada concentración de S_t puede tener explicación en la entrada de aire ambiente en las cámaras, enriquecido durante algunos episodios de inmisión con SO_2 , bien por la parte superior de éstas (lo que puede producirse con unas

velocidades de viento específicas), bien por una filtración ineficiente del carbón activo.

Aunque los niveles de nutrientes, en especial los de N_t , P y K^+ pudieran considerarse deficientes en relación con los de otras coníferas (Binns y Mayhead, 1980; Cape *et al.*, 1990; Pfirmann *et al.*, 1990; Tausz *et al.*, 1996) *Pinus halepensis* vive en general sobre suelos pobres y de escasa profundidad, y es una especie adaptada por tanto a entornos con limitada disponibilidad de nutrientes y con pocos requerimientos en lo que a ello se refiere. Por ejemplo, Velissariou *et al.* (1992) y Elvira *et al.* (1995) han registrado concentraciones foliares de N_t tan bajas como 0.68 % y 0.58 % respectivamente, sin mencionar síntomas relacionados con una deficiencia en N_t .

No obstante cabe mencionar, ante la tendencia a la disminución de la concentración foliar de N_t , P y K^+ a lo largo del tiempo, un posible efecto debido al agotamiento de esos recursos en el suelo de los contenedores hacia el final de la experimentación. Sin embargo, la concentración foliar de Ca^{2+} , Mg^{2+} y S_t mostró una tendencia al aumento a lo largo del tiempo, reflejando una buena disponibilidad de estos elementos.

Los elementos que, como el Ca^{2+} , tienen una baja tasa de removilización en la planta, tienden a acumularse a lo largo de la vida de las hojas, lo que explica el marcado aumento de su concentración en las acículas más maduras respecto a las más jóvenes. A la inversa, los elementos que como el K^+ y el P son muy retranslocables en la planta mostraron un descenso con la edad de las acículas.

La concentración de N_t , Mg^{2+} y S_t en relación con la edad de las acículas siguió pautas variables a lo largo del tiempo, lo que indica una adquisición y/o retranslocación cambiante en función del estadio de desarrollo de las acículas, requerimientos de cada clase de edad, y disponibilidad de esos elementos en el medio.

El aumento de la concentración de Ca^{2+} con la maduración de las hojas es un hecho generalizado, descrito por numerosos autores en una gran variedad de especies (p.e., Cape *et al.*, 1990; Lucas *et al.*, 1993; Pfanz y Beyschlag, 1993; Shaw y McLeod, 1995) y está ligado a su elevada inmovilización en la pared de las células.

La concentración de K^+ y de P suele disminuir con la edad de las hojas (Pfanz y Beyschlag, 1993; Shaw y McLeod, 1995), mientras que en relación con la concentración de N se han encontrado efectos muy diversos, observándose tanto

aumentos (Wedler *et al.*, 1995) como disminuciones (Pfanzen y Beyschlag, 1993; Shaw y McLeod, 1995) con la edad de las hojas o bien ausencia de efectos sistemáticos (Cape *et al.*, 1990; Velissariou *et al.*, 1992). La disminución gradual de la concentración de N_t (y de P) en las hojas se debe en condiciones normales fundamentalmente a una retranslocación de esos elementos desde los tejidos más viejos de la planta a los más nuevos (p.e., Pfanzen y Beyschlag, 1993). El S es un elemento relativamente poco translocable en la planta, de manera que se ha observado un aumento de su concentración con la edad de las hojas, sobretodo en áreas con concentraciones de fondo de SO₂ elevadas (Cape *et al.*, 1990; Velissariou *et al.*, 1992; Pfanzen y Beyschlag, 1993)

Efectos del SO₂

Efectos sobre la concentración foliar de azufre y de cationes

El azufre fue el elemento más consistentemente afectado por el tratamiento con SO₂. El aumento del azufre foliar en las acículas de coníferas es un hecho general bien conocido tanto en experimentos de fumigación como en zonas con altas concentraciones de SO₂ ambientales (p. e., Malcolm y Garforth, 1977; Landolt *et al.*, 1989; Schätzle *et al.*, 1990; Kropff, 1991; Wolfenden *et al.*, 1991). Los niveles de S_t en los tratamientos con SO₂ fueron comparables a los obtenidos en fumigaciones con similares concentraciones de este contaminante con otras especies (Shaw y McLeod, 1995; Wedler *et al.*, 1995). En áreas del Este de Europa se ha observado una clara relación entre el aumento de S foliar y los altos niveles de fondo de SO₂. En esas zonas se obtuvieron niveles de S en *Picea abies* entre 0.09 y 0.39 %_{peso seco} con niveles máximos extremadamente altos, de hasta 0.78 % (Pfanzen y Beyschlag, 1993).

El tratamiento con SO₂ condujo, en paralelo con la acumulación de S_t, a un incremento de las concentraciones foliares de cationes. Otros autores han descrito el mismo efecto (Kaiser *et al.* 1993; Pfanzen y Beyschlag, 1993; Shaw y McLeod, 1995; Slovik *et al.*, 1996a) y con concentraciones de 40 y 100 ppb de SO₂ en experimentaciones previas de invernadero (Barrantes *et al.*, 1993, 1994) encontramos similares resultados.

Tal efecto se ha interpretado como una consecuencia de los mecanismos de destoxificación del SO₂ en las células de las hojas. Cuando el SO₂ entra en las células del mesófilo, se disocia y sufre por una parte reducción, y por otra parte oxidación. Una proporción del S reducido se puede liberar a la atmósfera en forma de SH₂ (Hällgren *et al.*, 1982), aunque parece ser que la proporción de esta forma de destoxificación es muy pequeña, del orden del 1 % en algunas coníferas como *Picea abies* (Rennenberg *et al.*, 1990). Otra parte del S reducido se utiliza en la fabricación

de aminoácidos y otros compuestos orgánicos como cisteína y glutatión (De Kok y Stulen, 1993; Tausz *et al.*, 1996). El azufre orgánico por tanto se incorpora al crecimiento de la planta, siempre que exista un suministro suficiente de N. Sin embargo, la capacidad de destoxificar el SO₂ absorbido por la planta por esta vía se satura rápidamente, sobretodo en especies de crecimiento lento y/o suministro pobre en N. En *Picea abies* se ha calculado que sólo alrededor del 9 % del S absorbido por la entrada de SO₂ es orgánico (Slovik *et al.*, 1996a). El SO₂ que no es reducido se oxida a ácido sulfúrico y se disocia en sulfato y protones. En efecto, se han detectado acumulaciones de sulfato en plantas sometidas a tratamientos con SO₂ y en coníferas en áreas de concentraciones altas del contaminante (Legge *et al.*, 1988; Pfanz y Beyschlag, 1993; Polle *et al.*, 1994; Rennenberg *et al.*, 1996; Slovik *et al.*, 1996a, b; Tausz *et al.*, 1996).

El exceso de sulfatos se secuestra en las vacuolas de las células donde se acumula, lo que sería la forma "más segura" de guardar el azufre en la planta (Marschner, 1988). Esta compartimentalización impide que el sulfato pueda actuar en los cloroplastos, donde se ha descrito que puede inhibir diversos procesos fotosintéticos afectando a enzimas clave del Ciclo de Calvin, que son muy sensibles a los cambios de pH (Adams *et al.*, 1989; Van Hove *et al.*, 1992; ver también el capítulo 7 de esta memoria) debido fundamentalmente a la acidificación que produce. El pH debe estar dentro de la célula en márgenes óptimos para que ocurra la mayor parte de las reacciones enzimáticas; por ejemplo, una disminución del pH de 7.7 a 6.5 es capaz de inhibir casi por completo la actividad de la nitrato reductasa (Marschner, 1988). Las células poseen la capacidad de tamponar cambios en el pH. Ahora bien, si la acumulación de sulfato excede la capacidad destoxificadora de la planta, la toma de SO₂ resulta en definitiva en una producción neta de protones (Kropff, 1991).

Los iones sulfato son por tanto transportados a las vacuolas para restablecer el balance iónico, neutralizando la sobrecarga de protones que resulta de la entrada de SO₂ (Kaiser *et al.*, 1989, 1993). Como consecuencia, el citoplasma queda empobrecido en cationes. Para impedir la acidificación citoplasmática, se transportan protones al sistema radicular y consecuentemente son liberados al suelo en intercambio catiónico (Ca²⁺, Mg²⁺ o K⁺), causando acidificación del suelo (Kaupenjohan *et al.*, 1988).

Kaiser *et al.* (1993) encontraron un enriquecimiento en K⁺, Mg²⁺ y Ca²⁺ dependiente del tratamiento con SO₂, concluyendo en sus trabajos que el K⁺ fue el catión principalmente acumulado por las acículas de *Picea abies* para equilibrar el incremento de sulfato. Zimmermann *et al.* (1999) también observaron un depósito de

K^+ y de Mg^{2+} en las vacuolas conjuntamente con el sulfato acumulado por efecto del SO_2 . El ion que está más involucrado en el balance anio-catiónico es el K^+ , facilitado por su gran movilidad a todos los niveles de la planta. En contraste con esos resultados, Pfanz y Beyschlag (1993) obtuvieron que el Ca^{2+} fue el ion predominantemente acumulado junto con el sulfato en acículas en proceso de maduración. Manninen *et al.* (1998) observaron un incremento de K^+ y de Ca^{2+} , pero no de Mg^{2+} . Slovik *et al.* (1996a) valoraron que el Ca^{2+} es el ion principal que neutraliza el sulfato producido por el SO_2 en las superficies de la copa de *Picea abies* y, tras un exceso en la fumigación con SO_2 , en el apoplasto de las acículas; pero en las vacuolas de las células es el K^+ el catión predominante para el equilibrio de cargas del sulfato. En áreas expuestas a SO_2 se han observado cristales de yeso en la superficie de las hojas, como presumible resultado de la reacción entre el Ca^{2+} lixiviado y el SO_2 (Rehfuess, 1983). Nuestros resultados apoyan al menos parcialmente la conclusión de Slovik *et al.* (1996a), puesto que el Ca^{2+} fue el primer catión acumulado en dependencia del tratamiento con SO_2 , seguido del K^+ . Además, en experimentos previos en invernadero observamos cristales de yeso en la superficie de las acículas de *Pinus halepensis* (Barrantes *et al.*, 1993). Pero el Ca^{2+} se acumuló también más adelante en las acículas del año en curso y de un año de edad, sugiriendo que la acumulación de cationes está relacionada también con la edad de las acículas, la estación del año y probablemente la disponibilidad de cationes en el medio. En conjunto, los cationes que contribuyeron más notablemente al incremento catiónico foliar fueron el K^+ en la segunda mitad de nuestro experimento (1997) y el Ca^{2+} , sobretodo en la primera parte del experimento y al final del mismo. El Mg^{2+} solamente estuvo implicado significativamente en el aumento de cationes en uno de los muestreos y clase de edad.

Al expresar el enriquecimiento en cationes en los tratamientos con SO_2 en términos de equivalentes (es decir, en moles de carga eléctrica; resultados no mostrados) en los muestreos en los que se registró un incremento significativo de más de un catión (julio de 1997 para las acículas de 1995, octubre de 1997 para las acículas de 1996 y 1997), los aumentos de Ca^{2+} y de Mg^{2+} fueron superiores a los de K^+ .

Como consecuencia de la acumulación de cationes en respuesta al tratamiento con SO_2 , en las acículas de 1996 la relación $S/cationes$ no fue significativamente distinta del control en la mayor parte del experimento. En las acículas de 1995 y 1997, sin embargo, la concentración de azufre no se vio equilibrada en la segunda mitad del experimento. Es decir, las acículas más viejas (formadas en 1995) y las jóvenes (formadas en 1997) pudieron sufrir más desequilibrios en el balance anio-catiónico que las de 1996.

Otros autores (Shaw y McLeod, 1995) relacionaron un aumento de la concentración foliar de Mg^{2+} observada en tres especies de coníferas tratadas con SO_2 con un aumento de la concentración de este catión en la solución del suelo debido a la acidificación producida por el SO_2 (Skeffington y Sutherland, 1995). No parece probable que este proceso dé cuenta de los incrementos de cationes observadas en nuestro caso, ya que no es previsible la acidificación de un suelo con una gran capacidad de tamponamiento de los cambios de pH.

La acumulación de cationes relacionada con la fumigación con SO_2 puede tener implicaciones ecológicas en condiciones naturales, puesto que la disminución o el agotamiento de la reserva de cationes intercambiables en el suelo podría conducir a largo plazo a deficiencias en las plantas (Shaw y McLeod, 1995; Slovik *et al.*, 1995), particularmente en suelos con carencia de estos elementos, alterados por la lluvia ácida o por daño mecánico (Pfanzen y Beyschlag, 1993). Por otra parte, la acumulación de cationes en las vacuolas de las células del mesófilo sustrae su disponibilidad para otras funciones como el metabolismo citoplasmático, la circulación xilemática y floemática y el crecimiento, por tanto el proceso puede considerarse como una pérdida neta de cationes en la planta (Slovik *et al.*, 1996a, 1996b). Según los autores mencionados, la competencia por los cationes, fundamentalmente por el K^+ (crecimiento y otras funciones *versus* detoxificación del sulfato) que se establece en las plantas ante exposiciones crónicas de SO_2 , sería un proceso clave en el proceso de declive de los bosques.

En los capítulos 5 y 7 se describe la incidencia del tratamiento con SO_2 sobre la concentración de clorofila y las tasas fotosintéticas, respectivamente. Los resultados del presente capítulo descartan una posible influencia del contaminante sobre tales aspectos a través de la disminución de la concentración de Mg^{2+} . Además, se registraron niveles de magnesio a lo largo de todo el experimento por encima de los considerados por otros autores como deficientes en otras coníferas (alrededor del 0.9 % en *Picea abies* (Pfirmann *et al.*, 1990)). Asimismo, son muy superiores a $300-350 \mu g \cdot g^{-1}$, umbral por debajo del cual causa despigmentación ("bleaching") de acículas en otras especies (Lange *et al.*, 1987c; Weikert *et al.*, 1989).

En resumen, los resultados son coherentes con un incremento de la concentración de cationes (fundamentalmente de K^+ y Ca^{2+}) en las acículas como consecuencia de la acumulación de sulfato en las células del mesófilo en el tratamiento con SO_2 . Este efecto abre incógnitas sobre el mantenimiento del pH intracelular dentro de rangos óptimos para el buen funcionamiento de la planta, en condiciones de disminución de su disponibilidad en el suelo, bien sea por agotamiento de su reserva a

largo plazo, o bien por su carencia en sustratos naturalmente pobres en estos elementos, o alterados por acidificación u otros motivos.

Efectos sobre la concentración foliar de nitrógeno

El tratamiento con SO₂ disminuyó la concentración de N_t en las acículas más antiguas (de 1995) mientras que en las de 1996 prácticamente no se observó tal efecto e, incluso, el SO₂ mostró una tendencia a aumentar su concentración en base al área foliar. Es bien conocido el papel del nitrógeno en la fotosíntesis (Field y Mooney, 1986; Evans, 1989; Ellsworth y Reich, 1992), de manera que nuestros resultados, como se discute en el capítulo 7, pudieron estar relacionados con la disminución de las tasas fotosintéticas en las acículas de 1995 y con la atenuación de los efectos del SO₂ en las acículas de 1996.

La diferente naturaleza de los efectos en función de la edad de las hojas es un fenómeno observado por diversos autores en coníferas tratadas con contaminantes (Beyers *et al.*, 1992; Kellomäki y Wang, 1997) y se interpreta como una respuesta compensatoria al estrés provocado por éstos, mediante redistribución de recursos en la planta. Aunque la retranslocación del N pudo explicar, al menos en parte, la disminución de su concentración en las acículas más antiguas, el efecto puede ser también explicado por una influencia directa del SO₂ en el metabolismo del nitrógeno. Concretamente, Wellburn *et al.* (1981) han señalado la inhibición de la nitrato reductasa por el sulfito, que como se discute en el capítulo 5 se forma tras la entrada de SO₂ en las células del mesófilo. Los resultados obtenidos por otros autores (Wolfenden *et al.*, 1991; Van Hove *et al.*, 1992; Pandey y Agrawal, 1994) confirman las observaciones de Wellburn *et al.* (1981). Por otra parte, estudios realizados por Pérez-Soba *et al.* (1994) han indicado una inhibición parcial del metabolismo del N por efecto del SO₂, con descenso de la actividad de enzimas implicadas en la síntesis de proteínas e incremento en la de enzimas que tienen un papel catabólico en el metabolismo del N.

Efectos del O₃

No se apreciaron efectos importantes del tratamiento con ozono sobre la concentración de ninguno de los macronutrientes estudiados. Dicha ausencia de efectos coincide con los resultados obtenidos por un gran número de autores en coníferas como *Picea abies* (Pfirmann *et al.*, 1990, 1996; Schätzle *et al.*, 1990; Ogner, 1993; Shaw y McLeod, 1995; Wedler *et al.*, 1995), *Picea rubens* (Thornton *et al.*, 1990; Sayre y Fahey, 1999), *Pinus taeda* (Simmons y Kelly, 1989), *Abies alba* (Schätzle *et al.*, 1990), *Pinus sylvestris*, *Picea sitchensis* (Shaw y McLeod, 1995;

Skeffington y Sutherland, 1995) y en otras especies como trigo (Fangmeier *et al.*, 1997).

Otros autores, sin embargo, han observado disminución de la concentración de N y de P en *Pinus ponderosa* (Bytnerowicz *et al.*, 1990; Momen y Helms, 1996), en *Pinus halepensis* (Elvira *et al.*, 1995), de N en *Pinus sylvestris* (Kellomäki y Wang, 1997) y de N y S en *Picea rubens* (Peñuelas *et al.*, 1994)

Se ha demostrado que observaciones de diversos autores en el sentido de un aumento de la concentración foliar de ciertos nutrientes por efecto del O₃ (p.e., Keller y Matyssek, 1990) estuvieron relacionadas con la contaminación de N₂O₅ en el aire ozonizado (Brown y Roberts, 1988; Tjoelker y Luxmoore, 1991). Cuando se utiliza aire ambiente para la generación del ozono, el nitrógeno atmosférico forma, al pasar por el generador, pentóxido de dinitrógeno y vapor de ácido nítrico. Para impedir la formación de esos contaminantes, en nuestro caso se empleó O₂ puro para la alimentación del generador de ozono, de manera que no fueron esperables esos efectos.

Efectos del SO₂+O₃

En general no se observaron efectos interactivos notables del SO₂ y del O₃ sobre la concentración foliar de nutrientes, es decir, las plantas expuestas a la mezcla de SO₂+O₃ mostraron un comportamiento similar al del SO₂. Otros autores tampoco han encontrado interacciones importantes entre el SO₂ y el O₃ (Fangmeier, 1989; Schätzle *et al.*, 1990; Shaw y McLeod, 1995; Skeffington y Sutherland, 1995; Wedler *et al.*, 1995).

No obstante, se observó una tendencia a la reducción de la concentración de S_t en el tratamiento de SO₂+O₃ con relación al tratamiento con sólo SO₂. Similares resultados han sido observados por otros autores (Fangmeier, 1989; Schätzle *et al.*, 1990). La menor concentración de azufre foliar en el tratamiento con SO₂+O₃ respecto al SO₂ puede atribuirse a factores como disminución de la conductancia estomática en la mezcla, o bien deberse a reacciones de los dos contaminantes antes de entrar en la planta.

Por una parte, como la captación de SO₂ se realiza mayoritariamente a través de los estomas, es de esperar que cambios en la concentración de S estén relacionados con una mayor o menor apertura estomática. Los efectos de la mezcla del SO₂+O₃ han indicado en general un aumento del cierre estomático respecto a los efectos de los contaminantes por separado (Olszyk y Tibbits, 1981; Olszyk y Tingey, 1986; Darrall, 1989; Elstner y Obwald, 1991; Tripathi y Tripathi, 1992). Por tanto la conductancia (y

en consecuencia la captación de SO_2) sería menor en la mezcla. Sin embargo, tal y como se discute en el capítulo 7, según nuestros resultados no se observaron efectos interactivos del SO_2 y del O_3 en la conductancia estomática (aunque dichos resultados se obtuvieron después de que las plantas hubieran estado sometidas a los contaminantes, y no simultáneamente).

Por otra parte, el O_3 puede actuar como un oxidante del SO_2 en superficies naturales, lo que explicaría las observaciones de Skeffington y Sutherland (1995) en cuanto a un incremento de la deposición de SO_2 en la copa de los árboles y en el suelo debido a la co-acción del O_3 . Esta hipótesis puede también ayudar a interpretar nuestros resultados: el SO_2 se oxidaría por el O_3 y el sulfato formado se depositaría en las superficies antes de la entrada de éstos en las hojas, reduciéndose así el flujo de SO_2 al interior y disminuyendo la concentración de S en el tratamiento de mezcla respecto al SO_2 solo. Según Fangmeier (1989), si el ozono está presente, se puede además esperar una lixiviación del sulfato contenido en las hojas, y así un menor contenido de S_i en éstas.