

Efecto de la concentración de fósforo y calcio sobre atributos morfo-fisiológicos y potencial de crecimiento radical en plantas de *Aextoxicon punctatum* producidas a raíz cubierta en la etapa de endurecimiento

Effect of phosphorous and calcium concentration on morpho-physiological attributes and root growth potential of *Aextoxicon punctatum* plants produced by covered root during hardening stage

Marta González ^{ab*}, Darcy Ríos ^a, Karen Peña-Rojas ^c, Edison García ^b,
Manuel Acevedo ^b, Eduardo Cartes ^b, Manuel Sánchez-Olate ^a

^a Universidad de Concepción, Facultad de Ciencias Forestales, Centro de Biotecnología, Concepción, Chile.

*Autor de correspondencia: ^b Instituto Forestal, Sede Biobío, Camino a Coronel km 7,5, San Pedro de la Paz, Concepción, Chile, tel.: 56 41 2853260, mgonzale@infor.cl

^c Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Forestales y de la Conservación de la Naturaleza, Santiago, Chile.

SUMMARY

The success of restoration programs through the establishment of a vegetable cover on altered areas is directly related to morpho-physiological attributes of plants established on field conditions. These attributes have been mainly studied on many species at national and international level, while research on native species is still incipient. The objective of this research is to determine the effect of different concentrations of phosphorous and calcium during nursery hardening stage, on morphological attributes (stem length, stem diameter, leaf area), physiological (nutritional status) and root growth potential (number and length of new roots) in olivillo (*Aextoxicon punctatum*) plants produced by covered root. Nine fertilization schemes were designed with three different concentrations of phosphorous and calcium each (0, 150 and 300 mg L⁻¹). After 13 weeks, corresponding to the hardening period, no significant differences were observed among treatments for morphological variables. However, treatments with applications of 300 mg L⁻¹ of phosphorous induced higher nitrogen and lower calcium foliar concentrations. Higher calcium concentrations (300 mg L⁻¹) induced higher foliar concentrations of this element and higher number and length of new roots.

Key words: olivillo, autumn fertilization, nutritional status, roots development.

RESUMEN

El éxito de programas de restauración por medio del establecimiento de una cubierta vegetal en áreas que han sido alteradas, se relaciona directamente con atributos morfo-fisiológicos de las plantas que se establecen en condiciones de campo. Estos atributos han sido estudiados principalmente para diversas especies forestales a nivel nacional e internacional, no obstante, para especies nativas la investigación aun es incipiente. El objetivo de este estudio es determinar el efecto de diferentes concentraciones de fósforo y calcio en la etapa de endurecimiento en vivero, sobre atributos morfológicos (longitud de tallo, diámetro de cuello, área foliar), fisiológicos (estatus nutricional) y potencial de crecimiento radical (largo y número de raíces nuevas) de plantas de olivillo (*Aextoxicon punctatum*) producidas a raíz cubierta. Se definieron nueve esquemas nutricionales que variaron fósforo y calcio en tres concentraciones cada uno (0, 150 y 300 mg L⁻¹). Luego de 13 semanas, periodo de endurecimiento, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos para las variables morfológicas y de potencial de crecimiento raíces. Sin embargo, tratamientos con aplicaciones de 300 mg L⁻¹ de fósforo generaron las mayores concentraciones a nivel foliar de nitrógeno y las menores de calcio. Dosis de 300 mg L⁻¹ de calcio aplicadas en el medio determinaron una mayor concentración foliar del mismo elemento, y un mayor número de raíces y más largas.

Palabras clave: olivillo, fertilización otoñal, estatus nutricional, desarrollo radical.

INTRODUCCIÓN

El manejo de plantas a nivel de vivero considera habitualmente un acondicionamiento de ellas que incluye niveles de humedad más restrictivos y fertilización diferenciada

en su fase de endurecimiento, de manera que la planta sea capaz de soportar el estrés de plantación, así como el déficit hídrico que existe en los primeros meses post plantación.

Al respecto, la incidencia del contenido de nutrientes en la morfología de la planta, es uno de los aspectos que ha

sido mayormente estudiado. Un ejemplo de ello es el nitrógeno y fósforo, que contribuyen a mejorar los parámetros morfológicos de la planta, aumentar las concentraciones nutricionales internas de la planta y estimular el desarrollo del sistema radical (Razaq *et al.* 2017). Diversos autores confirman también, una relación positiva entre la concentración de fósforo y la producción de nuevas raíces (Valdecantos *et al.* 2006, Oliet *et al.* 2008), lo que sin duda tiene una importancia fundamental en la supervivencia de las plantas. Además, Dussan *et al.* (2016) señalan que uno de los principales efectos de la deficiencia de fósforo en las plantas se traduce en una reducción en el crecimiento de la hoja, así como en el número de hojas. Por otra parte, Sanz *et al.* (2001) concluyen que el calcio es esencial en la planta a nivel radical, pues incide en el número y longitud de los pelos radicales, fundamentales en la absorción de nutrientes.

En general, en la etapa de endurecimiento se reducen las prácticas culturales de fertilización y riego; sin embargo, Boivin *et al.* (2004) destacan que, en esta etapa se produce un crecimiento considerable de la raíz, y translocación de macro y microelementos, lo que provoca una dilución y un descenso de la concentración de nutrientes en los tejidos, por tanto, las labores debieran estar orientadas a aportar cantidades adicionales de algunos elementos, de manera de conservar o aumentar el nivel de reservas de la planta sin alterar significativamente su morfología (Monsalve *et al.* 2009, Villar-Salvador *et al.* 2012).

De esta forma, los atributos morfológicos y fisiológicos de las plantas producidas en vivero, se relacionan con el éxito de la restauración de cubiertas vegetales en áreas que han sido alteradas (Villar-Salvador 2003), por lo tanto, la manipulación de sus características morfo-funcionales durante el proceso de viverización, resultaría en gran medida en un incremento de la capacidad de las plantas para superar la fase de establecimiento, especialmente el primer año (Andivia-Muñoz *et al.* 2011).

En virtud de lo anterior, la hipótesis planteada dice relación con que, plantas de *Aextoxicon punctatum* Ruiz *et Pavon* (olivillo), fertilizadas con altas dosis de fósforo y calcio en la etapa de endurecimiento generarán respuestas morfo-fisiológicas y de potencial de crecimiento radical superiores que aquellas que no consideran fertilización con fósforo y calcio en la etapa de endurecimiento. En este sentido, el objetivo es determinar el efecto de concentraciones variables de fósforo y calcio en la etapa de endurecimiento en vivero, sobre atributos morfológicos, fisiológicos y potencial de crecimiento radical de plantas de *A. punctatum*, producidas a raíz cubierta.

MÉTODOS

El ensayo se estableció en septiembre del año 2012, en el Centro Tecnológico de la Planta Forestal, del Instituto Forestal, ubicado en la comuna de San Pedro de la Paz, provincia de Concepción, región del Biobío (18 H 666583

E; 5920348 S). Las semillas fueron colectadas en abril del mismo año, desde ejemplares de *A. punctatum* que sobrevivieron al incendio ocurrido en el cerro Cayumanque, comuna de Quillón (18 H 720735,04 E; 5934792,84 S). Se emplearon almacigueras de poliestireno expandido de 84 cavidades con un volumen por cavidad de 130 mL, el sustrato utilizado fue corteza de pino compostada con una porosidad total de 49,3 %; porosidad de aireación 25,2 % y porosidad de retención 24,1 %.

El riego se aplicó siguiendo un criterio de riego evaluado mediante el monitoreo de la pérdida de peso de la bandeja, según etapa de desarrollo de la planta: en establecimiento, este se realizó a capacidad de campo; y pleno crecimiento, entre un 60 – 70 % de contenido hídrico del sustrato.

La fertilización se realizó durante las etapas de establecimiento (15 de octubre a 15 diciembre de 2012) y pleno crecimiento (15 diciembre a 15 de abril de 2013) de las plantas mediante fertirrigación, controlando la concentración de macroelementos en función de la etapa de desarrollo de las plantas (cuadro 1). Las soluciones nutritivas fueron preparadas según la metodología propuesta por Landis (2000) a partir de fertilizantes de la línea Ultrasol de Soquimich® (cuadro 1). Las labores de fertilización se realizaron en forma alternada a las de riego, y la aplicación se realizó mediante regadera.

En la etapa de endurecimiento (15 abril a 15 de julio de 2013), la frecuencia de fertilización se realizó de manera alternada a los riegos, todos realizados a saturación del sustrato. Considerando como criterio de riego, la pérdida del 50 % del peso de agua retenida por el sustrato. Se utilizaron soluciones nutritivas que fueron preparadas según la metodología propuesta por Landis (2000). Para evaluar el efecto de los nutrientes en esta etapa, se definieron nueve esquemas nutricionales que variaron en las concentraciones de fósforo y calcio, en tres concentraciones de 0, 150 y 300 mg L⁻¹ cada uno (cuadro 2). La generación de los tratamientos, se realizó mediante la utilización de las siguientes sales: MgSO₄; K₂CO₃; NaNO₃; KH₂PO₄; NH₄H₂PO₄; Ca(NO₃)₂; CaCO₃. Las concentraciones del resto de los macroelementos fueron manejadas en forma constante: nitrógeno, 100 mg L⁻¹; potasio, 100 mg L⁻¹; magnesio, 40 mg L⁻¹; azufre, 90 mg L⁻¹.

Evaluaciones morfológicas. Con una frecuencia quincenal, desde el inicio del endurecimiento, se realizaron evaluaciones de longitud de tallo (LT, cm) medidas desde el cuello hasta el ápice de la planta, con cinta métrica, hasta el término del proceso de producción de plantas. La variable diámetro a la altura del cuello (DAC, mm) se evaluó al inicio y término de la etapa de endurecimiento, con un pie de metro digital, a las mismas plantas evaluadas en longitud de tallo. Con estas variables, fue posible calcular los incrementos en longitud de tallo (INC_LT, cm) e incremento en diámetro a la altura del cuello (INC_DAC, mm). Las mediciones se realizaron sobre las 18 plantas centrales

Cuadro 1. Concentración de macroelementos (mg L⁻¹) aplicados en las etapas de establecimiento y pleno crecimiento a plantas de *Aextoxicon punctatum* producidas a raíz cubierta.

Macroelements concentration (mg L⁻¹) applied during establishment and rapid growth phases of *Aextoxicon punctatum* plants produced by covered root.

Etapa de crecimiento	Fertilizante*	Concentración (mg L ⁻¹)					
		Nitrógeno (N)	Fósforo (P)	Potasio (K)	Calcio (Ca)	Magnesio (Mg)	Azufre (S)
Establecimiento	Ultrasol Inicial	150	131,0	124,5	0,0	3,0	7,0
	Ultrasol Inicial	200	174,6	166,0	0,0	4,0	9,3
Pleno crecimiento	Ultrasol Crecimiento	250	43,7	83,0	0,0	3,0	8,0
	Ultrasol Crecimiento	300	52,4	99,6	0,0	3,6	9,6
	Ultrasol Desarrollo	200	29,1	166,0	0,0	6,7	66,7

* Producto comercial de la empresa Sociedad Química y Minera S.A. (Soquimich)

Cuadro 2. Concentración de macroelementos (mg L⁻¹) aplicados en la etapa de endurecimiento por tratamiento a plantas de *Aextoxicon punctatum* a raíz cubierta.

Macroelements concentration (mg L⁻¹) of each treatment applied to *Aextoxicon punctatum* plants during hardening phase, produced by covered root.

Tratamientos	Concentración (mg L ⁻¹)	
	Fósforo (P)	Calcio (Ca)
1	0	0
2	150	0
3	300	0
4	0	150
5	150	150
6	300	150
7	0	300
8	150	300
9	300	300

de cada almaciguera, monitoreando un total de 486 plantas (18 plantas x 3 repeticiones x 3 concentraciones de fósforo x 3 concentraciones de calcio).

La evaluación del área foliar (cm²), se realizó al final del período de endurecimiento, con un planímetro electrónico modelo LI-3000 (Licor Instruments Co USA), con precisión de 0,05 cm². Para esta evaluación se utilizaron 54 plantas en total a las cuales se les midió y pesó el follaje fresco y seco completo por planta, así como el número de hojas de cada planta (2 plantas x 3 repeticiones x 3 concentraciones de fósforo x 3 concentraciones de calcio). El follaje colectado se secó en un horno de ventilación forzada por 48 horas a 60 °C. La determinación del peso seco del follaje se realizó con balanza digital, con precisión de

± 0,0001 g. De esta forma fue posible calcular la esclerofilia en g dm⁻², cociente entre el peso seco del follaje y el área foliar. Cabe señalar, que este es un índice que mide el carácter escleromorfo de las hojas, es decir, el índice aumenta al acrecentarse los caracteres xeromórficos de la hoja frente a los mesomórficos.

Evaluaciones de potencial de crecimiento radical (PCR).

La evaluación del PCR, se realizó al final del período de endurecimiento. Las raíces de las plantas fueron lavadas, extrayendo las raíces nuevas no suberizadas. Estas plantas fueron instaladas en una cámara aeropónica, a temperatura de llovizna de 22 °C y 18 °C, manteniendo en ambas la misma frecuencia de riego cada 10 minutos, inyectando agua sin fertilizantes hacia el sistema radical durante seis segundos y fotoperíodo de 16 horas, proporcionado por tubos fluorescentes instalados sobre la cámara, los cuales produjeron un flujo fotónico promedio a nivel de follaje de 100 μmol m⁻² s⁻¹. Para ello se utilizaron 108 plantas en total (2 plantas x 3 repeticiones x 3 concentraciones de fósforo x 3 concentraciones de calcio x 2 temperaturas de llovizna). El ensayo se realizó en 60 días y las variables evaluadas fueron: número de raíces nuevas totales, y largo de raíces nuevas, en este caso se promediaron las tres raíces nuevas más largas, de longitud ≥ 0,5 cm.

Evaluaciones nutricionales.

La evaluación nutricional de los tejidos se realizó al final del período de endurecimiento. Esta consideró la extracción aleatoria de tres muestras compuestas de follaje de tres plantas por tratamiento. Para ello se utilizaron 81 plantas en total (3 plantas x 3 repeticiones x 3 concentraciones de fósforo x 3 concentraciones de calcio), a las cuales se les determinaron los niveles de nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K), calcio (Ca) y magnesio (Mg). Para la determinación de nitrógeno total se siguieron los métodos de digestión de Kjeldahl y determinación mediante método colorimétrico; para el fósfo-

ro mediante calcinación por vía seca, disolución en ácido clorhídrico 1N y determinación por método colorimétrico; en el caso del potasio mediante calcinación por vía seca, disolución con ácido clorhídrico 1N y determinación por espectrofotometría de emisión atómica; finalmente, para el calcio y el magnesio, mediante calcinación por vía seca, disolución en ácido clorhídrico 1N y determinación por espectrofotometría de absorción atómica.

Diseño experimental y análisis estadístico. El diseño experimental correspondió a un diseño factorial en bloques completamente aleatorizado, de dos factores (Little y Hills 1978), concentración de fósforo (tres niveles) y concentración de calcio (tres niveles), con tres réplicas (bloques), generando un total de 27 unidades experimentales. La unidad experimental estuvo conformada por una almaciguera de 42 plantas, con tres repeticiones. Los resultados fueron analizados estadísticamente mediante análisis de varianza (ANDEVA), comprobando su independencia, normalidad y homogeneidad de varianzas. Las diferencias entre medias fueron contrastadas con el método de comparación múltiple de Tukey (Montgomery 1991). Se utilizó el programa InfoStat versión 2012 (Di Rienzo *et al.* 2012) extensión R-proyect (V.2.15.0).

RESULTADOS

Respuestas morfológicas. Al finalizar el período de endurecimiento, los factores evaluados no generaron un efecto sobre los incrementos en longitud de tallo y diámetro de cuello ($P > 0,05$) (cuadro 3). Respecto a las variables foliares, no hubo efecto significativo de los factores evaluados para el número de hojas y área foliar. Mientras que, para la esclerofilia, el factor calcio generó un efecto significativo ($P = 0,0026$). Aquellas plantas que se fertilizaron con algu-

na concentración de calcio (150 y 300 mg L⁻¹), generaron los valores significativamente más bajos de esclerofilia, con 1,14 y 1,11 g dm⁻², respectivamente (figura 1).

Respuestas de potencial de crecimiento radical. Se observó un efecto de interacción significativa ($P = 0,0151$) para los factores concentración de calcio y temperatura de lluvia sobre la variable número de raíces nuevas producidas (cuadro 4). Para la longitud de las raíces nuevas producidas se obtuvo una respuesta de los efectos principa-

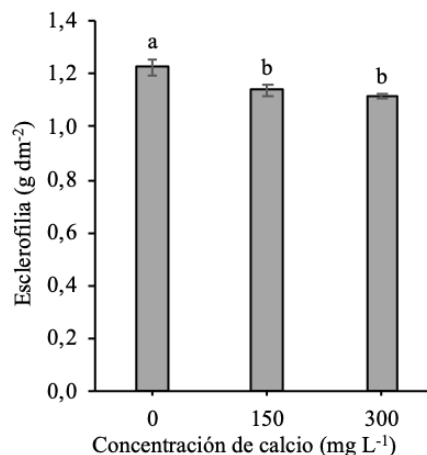


Figura 1. Esclerofilia (g dm⁻²) promedio (barras indican + desviación estándar) en plantas de *Aextoxicon punctatum* producidas a raíz cubierta, en respuesta a la concentración de calcio aplicada durante la etapa de endurecimiento. Diferentes letras, según Tukey, difieren significativamente, $P < 0,05$.

Mean sclerophyllia (g dm⁻²) (Bars + standard deviation) on *Aextoxicon punctatum* plants produced by covered root according to different calcium concentrations applied during the hardening stage. Different letters, according to Tukey, indicate significant differences, $P \leq 0.05$.

Cuadro 3. Valores medios \pm desviación estándar del incremento en longitud de tallo (INC_LT) e incremento en diámetro de cuello (INC_DAC) en plantas de *Aextoxicon punctatum* cultivadas a raíz cubierta y sometidas a diversas dosis de fósforo y calcio en la etapa de endurecimiento (n = 3).

Mean values (\pm standard deviation) of stem length increment (INC_LT) and stem diameter increment (INC_DAC) of *Aextoxicon punctatum* plants produced by covered root with different concentrations of phosphorous and calcium during the hardening stage (n = 3).

P (mg L ⁻¹)	Ca (mg L ⁻¹)	INC_LT (cm)	INC_DAC (mm)
0	0	7,75 \pm 0,42	1,84 \pm 0,15
0	150	9,76 \pm 0,41	2,43 \pm 0,11
0	300	8,24 \pm 1,09	1,61 \pm 0,23
150	0	9,37 \pm 0,95	2,07 \pm 0,16
150	150	9,01 \pm 1,47	2,02 \pm 0,28
150	300	10,23 \pm 0,82	2,08 \pm 0,36
300	0	9,02 \pm 1,36	1,64 \pm 0,25
300	150	9,36 \pm 1,03	1,93 \pm 0,29
300	300	11,24 \pm 1,54	1,74 \pm 0,30

les, altamente significativa para la temperatura de llovizna ($P = 0,0001$), y significativa para la concentración de calcio ($P = 0,0370$).

Con respecto a la interacción sobre el número de raíces nuevas, las plantas fertilizadas con 300 mg L^{-1} de calcio y dispuestas a una temperatura de llovizna de $22 \text{ }^\circ\text{C}$, generaron en promedio 41 nuevas raíces (figura 2); las demás interacciones de calcio o temperatura, generaron en promedio 12 nuevas raíces. Para la variable longitud de raíces nuevas, se observó que plantas fertilizadas con 300 mg L^{-1} de calcio generaron en promedio raíces nuevas de 2,6 cm (figura 3A), el resto de las concentraciones evaluadas indujo a que dichas plantas generaran en promedio raíces nuevas de 1,36 cm. Por otra parte, cuando el sistema radical de plantas de *A. punctatum* fue expuesto a temperatura de $22 \text{ }^\circ\text{C}$, se generaron en promedio raíces de 2,6 cm, mientras que, al exponerlas a temperatura de $18 \text{ }^\circ\text{C}$, el largo promedio de dichas raíces, disminuyó a 1,4 cm (figura 3B).

Cuadro 4. Significancia estadística del análisis de varianza (ANDEVA) para los valores medios de las variables de potencial de crecimiento radical de las plantas de *Aextoxicon punctatum*. *Efectos significativo ($P \leq 0,05$).

Statistical significance of the variance analysis (ANDEVA) for mean values of the root growth potential of *Aextoxicon punctatum* plants. Significant effects ($P \leq 0.05$) highlighted with bold font and underlined.

Factor	Número raíces	Largo raíces
Bloque	0,8265	0,5637
Temperatura (T)	0,0006*	0,0001*
Fósforo (P)	0,2627	0,4487
Calcio (Ca)	0,0018*	0,0370*
T x P	0,1218	0,0831
T x Ca	0,0151*	0,4328
P x Ca	0,1228	0,1315
T x P x Ca	0,7973	0,4259

Cuadro 5. Resumen de significancia estadística (valor $P > F$) para los efectos fijos bloque, fósforo y calcio sobre las concentraciones foliares de macronutrientes de plantas *Aextoxicon punctatum* cultivadas a raíz cubierta y sometidas a diversas concentraciones de fósforo y calcio. *Efectos significativo ($P \leq 0,05$).

Summary of statistical significance (P value $> F$) for fixed effects block, phosphorous and calcium on leaf macronutrient concentration of *Aextoxicon punctatum* plants, produced by covered root with different phosphorous and calcium concentrations. Significant effects ($P \leq 0.05$) highlighted with bold font and underlined.

Factor	Nitrógeno (N)	Fósforo (P)	Potasio (K)	Calcio (Ca)	Magnesio (Mg)
Bloque	0,0247*	0,1613	0,1858	0,1274	0,0946
Fósforo (P)	0,0055*	<0,0001*	0,2242	0,0057*	0,2357
Calcio (Ca)	0,0506	0,1305	0,0429*	<0,0001*	0,6773
P x Ca	0,5472	0,9016	0,1698	0,7504	0,1012

Respuestas nutricionales. Al evaluar la significancia estadística de los factores testeados, las aplicaciones de fósforo en el medio, generaron un efecto estadísticamente significativo en las concentraciones foliares de nitrógeno, fósforo y calcio en las plantas de *A. punctatum*. A su vez, las aplicaciones de calcio en el medio, generaron un efecto significativo en las concentraciones foliares de calcio y potasio. No se registraron interacciones significativas entre los factores fósforo y calcio (cuadro 5). Se obtuvo una mayor concentración foliar de nitrógeno y una menor concentración de calcio en aquellas plantas fertilizadas con 300 mg L^{-1} de fósforo (cuadro 6). Por su parte, el

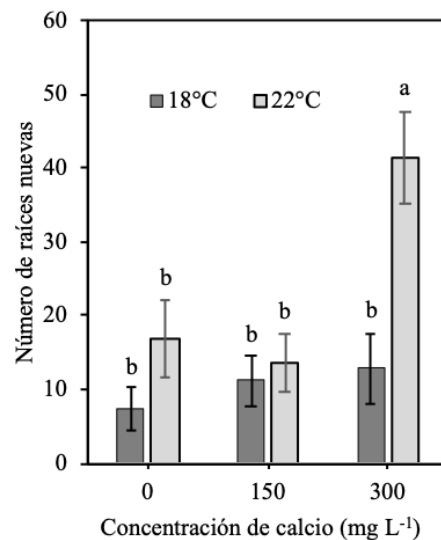


Figura 2. Efecto de la concentración de calcio y temperatura de llovizna de la cámara aeropónica sobre el número de raíces nuevas promedio (barras indican + desviación estándar) producidas por plantas de *Aextoxicon punctatum* cultivadas a raíz cubierta. Diferentes letras, según Tukey, difieren significativamente, $P \leq 0,05$.

Effect of calcium concentration and aeroponic chamber drizzle temperature on average number of new roots (bars + standard deviation) on *Aextoxicon punctatum* plants produced by covered roots. Different letters, according to Tukey, indicate significant differences, $P \leq 0.05$.

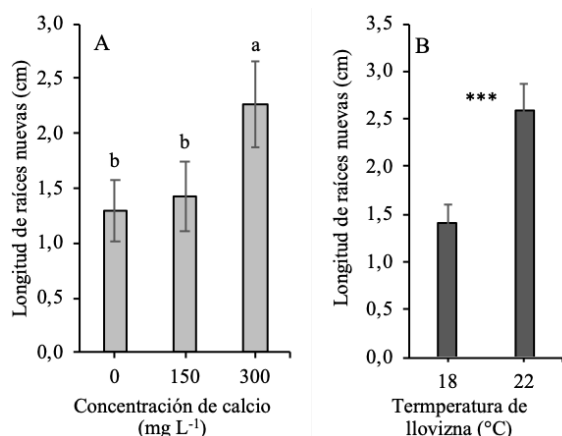


Figura 3. A) Longitud de raíces nuevas promedio (+ desviación estándar) en plantas de *Aextoxicon punctatum* en respuesta a distintas concentraciones de calcio suministradas durante la etapa de endurecimiento en vivero. B) Longitud de raíces nuevas promedio (+ desviación estándar) en plantas de *Aextoxicon punctatum* en respuesta a distintas temperaturas de llovizna de la cámara de potencial de crecimiento radical. Diferentes letras, según Tukey, difieren significativamente, $P \leq 0,05$. *** Significativo a $P \leq 0,001$.

(A) Average length of new roots (+ standard deviation) on *Aextoxicon punctatum* plant according to different calcium concentrations applied during nursery hardening stage. (B) Average length of new root (+ standard deviation) on *Aextoxicon punctatum* plants according to the drizzle temperature of the root growth potential chamber. Different letters, according to Tukey, indicate significant differences, $P \leq 0,05$. *** significant at $P \leq 0,001$.

incremento de la concentración de calcio en el medio, generó un aumento significativo y en relación directa con los niveles de calcio foliares (cuadro 7). Todas las concentraciones de calcio suministradas, generaron una disminución significativa de los niveles foliares de fósforo (cuadro 7).

DISCUSIÓN

Diversos autores como Monsalve *et al.* 2009, Oliet *et al.* 2016 y Razaq *et al.* 2017 entre otros, reportan incrementos en la longitud de tallo, en plantas de leñosas exóticas, al realizar fertilizaciones nitrogenadas junto con otros elementos, como el fósforo y potasio. En cuanto a estudios con especies nativas, Bustos *et al.* (2008) reportaron que altas concentraciones de fertilizantes que incluyen nitrógeno, fósforo y potasio generan un aumento en todos los parámetros morfológicos evaluados tanto para coigüe (*Nothofagus dombeyi* (Mirb.) Oerst.), raulí (*Nothofagus nervosa* (Mirb.) Oerst.) y ulmo (*Eucryphia cordifolia* Cav.). Cabe señalar, que el manejo de la fertilización en este estudio con *A. punctatum* fue diferenciado solo en la etapa de endurecimiento, no en las etapas anteriores (pleno crecimiento y establecimiento), por lo que las diferencias en crecimiento señalada por estos autores se originan desde el inicio de la producción. Además, se debe considerar que la etapa de endurecimiento se realiza bajo condiciones

Cuadro 6. Valores promedios (%) ± desviación estándar de la concentración foliar de macroelementos en función de las concentraciones de fósforo aplicadas en el medio, en plantas de *Aextoxicon punctatum* cultivadas a raíz cubierta (n = 3). En una columna, diferentes letras, indican diferencias significativas, según Tukey, $P \leq 0,05$.

Mean values (%) ± standard deviation of macroelements leaf concentration according to different phosphorous concentrations, on *Aextoxicon punctatum* plants produced by covered root (n = 3). On the same column, different letters indicate significant differences, according to Tuckey, $P \leq 0,05$.

Concentración de fósforo (mg L ⁻¹)	Niveles foliares obtenidos para los tratamientos (%)				
	Nitrógeno (N)	Fósforo (P)	Potasio (K)	Calcio (Ca)	Magnesio (Mg)
0	1,32 ± 0,04 b	0,24 ± 0,01 b	1,37 ± 0,04 a	0,70 ± 0,06 a	0,32 ± 0,01 a
150	1,31 ± 0,04 b	0,35 ± 0,02 a	1,40 ± 0,05 a	0,68 ± 0,07 a	0,32 ± 0,01 a
300	1,48 ± 0,05 a	0,37 ± 0,02 a	1,32 ± 0,02 a	0,59 ± 0,06 b	0,30 ± 0,02 a

Cuadro 7. Valores promedios (%) ± desviación estándar de la concentración foliar de macroelementos en función de las concentraciones de calcio aplicadas en el medio, en plantas de *Aextoxicon punctatum* cultivadas a raíz cubierta (n = 3). En una columna, diferentes letras, indican diferencias significativas, según Tukey, $P \leq 0,05$.

Mean values (%) ± standard deviation of macroelements leaf concentration according to different calcium concentrations, on *Aextoxicon punctatum* plants produced by covered root (n = 3). On the same column, different letters indicate significant differences, according to Tuckey, $P \leq 0,05$.

Concentración de calcio (mg L ⁻¹)	Niveles foliares obtenidos para los tratamientos (%)				
	Nitrógeno (N)	Fósforo (P)	Potasio (K)	Calcio (Ca)	Magnesio (Mg)
0	1,37 ± 0,04 a	0,32 ± 0,02 a	1,44 ± 0,05 a	0,46 ± 0,02 c	0,31 ± 0,01 a
150	1,31 ± 0,05 a	0,30 ± 0,02 a	1,33 ± 0,02 b	0,65 ± 0,03 b	0,32 ± 0,01 a
300	1,44 ± 0,05 a	0,35 ± 0,02 a	1,32 ± 0,04 b	0,86 ± 0,03 a	0,31 ± 0,01 a

ambientales menos favorable para el crecimiento, como disminución del fotoperiodo y de la temperatura, por lo que no es probable que se produzcan cambios morfológicos durante esta etapa. Al respecto Chirino-Miranda *et al.* (2004), señalan que variaciones morfológicas son esperables cuando los periodos en los que se aplican los tratamientos abarcan un tiempo superior al de la etapa de endurecimiento. Resultados similares a los de este estudio, lo señalan Boivin *et al.* (2004), Rikala *et al.* (2004) y Oliet *et al.* (2008) en donde indican que la fertilización en el periodo otoñal no genera mayores incrementos en variables dasométricas de las plantas, pero sí en las concentraciones nutricionales en las plantas.

En este estudio con plantas de *A. punctatum*, si bien no se detectan diferencias significativas a nivel de área foliar, es posible apreciar que, a medida que la concentración de fósforo en el medio aumenta, la superficie foliar es mayor, con valores entre 166,8 y 196,4 cm² para dichas dosis, respecto a los 156 a 165 cm² por planta, para aquellas con omisión de fósforo. Al respecto, Dussan *et al.* (2016) señalan que, uno de los principales efectos de la deficiencia del fósforo y nitrógeno en plantas de *Psidium guajava* L. fue la reducción en el área foliar y número de hojas, similar a lo observado con *A. punctatum* para los tratamientos con omisión de fósforo, no obstante, estos mismos autores reportan aumentos en el número de hojas cuando la fertilización es realizada con concentraciones deficientes de calcio. En cuanto al número de hojas, si bien en este estudio con plantas de *A. punctatum*, estas no fueron influenciadas por las diversas dosis de fósforo y calcio aplicadas en el medio, Monsalve *et al.* (2009), en plantas de *Eucalyptus globulus* Labill. sometidas a concentraciones crecientes de nitrógeno reportaron un aumento del número de hojas de dichas plantas.

Respecto a la evaluación de la esclerofilia, la fertilización con fósforo, no indujo diferencias significativas para este parámetro en las plantas de *A. punctatum*, no obstante, la aplicación de calcio, produjo una menor esclerofilia que aquellas plantas que no fueron fertilizadas con calcio. Squeo *et al.* (2004), evaluaron la esclerofilia en árboles de *A. punctatum* ubicados dentro de bosquetes y en situación de borde, en el Parque Nacional Fray Jorge en la Región de Coquimbo. Estos autores encontraron que aquellos árboles ubicados en bosquetes con menor captura de neblina y en situación de borde (condición más xérica), presentaron una mayor esclerofilia, en comparación a los bosquetes más húmedos y en las hojas bajo dosel. Estos autores concluyen, que el bosque remanente de *A. punctatum* que se desarrolla en sectores alterados presenta un mayor ángulo foliar, mayor esclerofilia y alta eficiencia en el uso del agua respecto a bosques no perturbados dentro del mismo Parque Nacional. Respecto a la relación con la disponibilidad de nutrientes en el suelo, Sereda *et al.* (2016) evaluó que plantas *Calophyllum brasiliense* Cambess aumentaron el índice de esclerofilia en suelos con menor disponibilidad de nitrógeno. Considerando los resultados obtenidos,

se observa que aplicaciones reducidas de calcio en plantas de *A. punctatum* inducirían una mayor esclerofilia, atributo importante para plantas que deben ser establecidas en campo en condiciones de mayor restricción hídrica.

En este estudio, al finalizar el periodo de endurecimiento, las plantas de *A. punctatum* que fueron fertilizadas con mayores concentraciones de calcio y fósforo, generaron una concentración foliar significativamente superior en nitrógeno, fósforo y calcio, por lo que esta carga nutricional, la cual se refleja en el resultado de PCR, debería generar un mejor desempeño de las plantas de *A. punctatum* en campo. Por otra parte, todos los tratamientos en que fueron aplicados fósforo y calcio, resultaron con una concentración foliar de nutrientes baja en potasio y mayor en nitrógeno respecto al tratamiento con omisión de dichos elementos. Cabe señalar que, para este estudio, los niveles nutricionales foliares de nitrógeno se encontraron bajo el rango recomendado como óptimo (1,7 a 3,0 %) de acuerdo a lo indicado por Escobar *et al.* (2002). Por tanto, estas plantas se encontrarían en un intervalo de deficiencia llamado “necesidad oculta” según lo propuesto por Landis (2000), debido a que no se observaron síntomas de deficiencia. Sin embargo, los tratamientos que consideraron la aplicación con las dosis más altas de nutrientes (300 mg L⁻¹ de fósforo y 300 mg L⁻¹ de calcio) presentaron las mayores concentraciones de nitrógeno foliar (cuadros 6 y 7). Esto indicaría una mejor capacidad fotosintética de las plantas sometidas a altas concentraciones de fósforo y calcio, respecto a las que fueron fertilizadas con bajas dosis de los mismos elementos, dado que existe una correlación positiva entre la capacidad fotosintética de las hojas y el contenido de nitrógeno foliar, esto porque las proteínas del ciclo de Calvin y de los tilacoides representan la mayor parte del nitrógeno foliar (Gibson 2005).

Para las concentraciones foliares de fósforo, en todos los tratamientos, excepto con omisión de fósforo, se obtuvo concentraciones foliares sobre el rango óptimo recomendado. Escobar *et al.* (2002), recomiendan un rango para el fósforo de 0,16 – 0,26 %. Al respecto, Sardans y Peñuelas (2005) reportaron que la fertilización con fósforo en condiciones controladas realizadas a plantas de *Quercus ilex* spp *rotundifolia* (Lam) O. Schwarz ex Tab. Mor. y *Pinus halepensis* Mill generó aumentos en las concentraciones foliares de fósforo, magnesio, calcio, potasio y azufre. Para el caso del potasio, todos los tratamientos presentaron valores dentro de los recomendados por Escobar *et al.* (2002), lo que refleja que las dosis no produjeron efectos sinérgicos ni antagónicos en su absorción, no obstante, al aumentar las concentraciones de calcio en el sustrato, las concentraciones foliares de potasio disminuyeron. Al respecto, se asocia el potasio a la capacidad de ajuste osmótico y apertura de estomas en las plantas, por lo que una mayor concentración de potasio en el follaje, favorecería su establecimiento en condiciones restrictivas de agua y altas temperaturas (Navarro-Sandoval 2013). En cuanto al calcio, el tratamiento con omisión de este elemento, pre-

sentó valores bajo lo recomendado como óptimo, mientras que las mayores concentraciones foliares se presentaron en el tratamiento fertilizado con 300 mg L⁻¹ de calcio, encontrándose dentro del rango óptimo. Las concentraciones foliares de magnesio en todos los tratamientos fueron similares estadísticamente y dentro de los niveles óptimos recomendados por Escobar *et al.* (2002).

Respecto al ensayo de potencial de crecimiento radical, se destaca la mayor respuesta tanto en el número de raíces como en el largo de ellas para temperaturas de llovizna de la cámara aeropónica de 22 °C. Esto indicaría que las raíces, en el caso de *A. punctatum*, promueven su formación cuando la temperatura del suelo se acerca a ese valor; es decir, durante los meses de primavera – verano, lo que concuerda con lo señalado por Santelices (2005) respecto del éxito de plantaciones de *E. globulus* establecidas en primavera.

En general, las plantas de *A. punctatum* de los tratamientos con omisión de los elementos testeados (fósforo y calcio) presentaron los menores valores en cuanto al número de raíces nuevas, así como el largo de ellas. Por su parte, los tratamientos con mayores concentraciones nutricionales, presentaron un potencial de regeneración de raíces mayor que las menos fertilizadas. Estos resultados coinciden con lo obtenido por Andivia-Muñoz *et al.* (2011) en plantas de *Quercus ilex spp. Ballota* (Desf.) Samp., quienes determinan que plantas fertilizadas con una mayor dosis de nitrógeno presentan un potencial de regeneración de raíces mayor que el de las plantas con fertilización baja. Por su parte, autores como Oliet *et al.* (2008) y Villar-Salvador *et al.* (2012) menciona que para diversas especies mediterráneas existe una correlación positiva entre el nivel de fertilización, la capacidad para generar nuevas raíces y su éxito en campo. No obstante, lo anterior, Navarro-Sandoval (2013) no encontró diferencias significativas en el número total de raíces nuevas al realizar la evaluación del potencial de crecimiento radical probando distintas dosis de nitrógeno, fósforo y potasio aplicadas en concentraciones desde un 50 % menor a un 100 % más de nutrientes, en plantas de *Abies religiosa* (HBK) Schlecht. *et Cham.* En este estudio, las plantas de *A. punctatum* fertilizadas con distintas dosis de fósforo establecidas en la cámara hidropónica a distintas temperaturas, no presentaron diferencias entre las diversas dosis de fósforo, no así en temperaturas. En este sentido, Bakker *et al.* (2009) determinaron que la fertilización realizada con fósforo, así como con una mezcla de nutrientes, redujo la densidad y el grosor de raíces finas en parcelas de *Pinus pinaster* Ait. Considerando lo obtenido en este estudio, en donde plantas de *A. punctatum* fertilizadas con mayores concentraciones de macroelementos presentaron un potencial de crecimiento radical superior que las menos fertilizadas, es esperable que, en campo la respuesta en términos de crecimiento y supervivencia de las plantas mejor nutridas sea mayor que las que fueron menos fertilizadas. Si bien es cierto, diversos autores señalan una relación positiva entre la concentración de fósforo y la producción de nuevas raíces (Valdecantos *et al.* 2006, Oliet *et al.* 2008),

en este estudio, no fue posible comprobar que aquellas plantas de *A. punctatum* fertilizadas con fósforo producían mayor cantidad de raíces, no obstante, las aplicaciones de calcio, generaron un mayor número de raíces y estas fueron más largas, lo que concuerda con una de las funciones del calcio en la planta, que dice relación con que este tiende a reducir la permeabilidad de las raíces jóvenes, provocando la elongación de ellas y la de pelos radicales, aumentando la exploración del suelo (Sanz *et al.* 2001).

Al igual que lo observado por Monsalve *et al.* (2009) y Acevedo *et al.* (2020), en plantas de *E. globulus* fertilizadas con dosis creciente de nitrógeno, obtuvieron un número de raíces por sobre las 20 para el ensayo de potencial de crecimiento radical. En este estudio, se obtuvieron más de 40 raíces totales solo para las fertilizaciones realizadas con 300 mg L⁻¹ de calcio. Esto denota un potencial de formación de raíces interesante para *A. punctatum*, a pesar de que la respuesta se manifiesta luego de un tiempo más prolongado comparado con *E. globulus*, ya que en esta última especie el potencial de crecimiento radical se ha evaluado al mes de establecerse el ensayo.

En general, en varias especies leñosas se pone de manifiesto que fertilizaciones con dosis crecientes de macronutrientes, generan valores superiores en términos de parámetros morfológicos, nutricionales y de potencial de crecimiento radical (Bustos *et al.* 2008, Monsalve *et al.* 2009, Oliet *et al.* 2016, Razaq *et al.* 2017), comportamiento observado de manera similar en el presente estudio. Además, fertilizaciones en la etapa de endurecimiento (otoñales) generan diversos atributos de calidad de planta relacionados principalmente con el aumento de reservas en las plantas que implican un desempeño en campo exitoso de las mismas (Boivin *et al.* 2004, Grossnickle y Macdonald 2017).

CONCLUSIONES

La fertilización con 300 mg L⁻¹ de fósforo y calcio en la etapa de endurecimiento de plantas de *A. punctatum* no genera incrementos diferenciales significativos de parámetros morfológicos, salvo para la esclerofilia, en donde bajos niveles de calcio inducirían una mayor esclerofilia, atributo importante para plantas que deben ser establecidas en condiciones de restricción hídrica.

Dosis alta de fósforo (300 mg L⁻¹) durante la etapa de endurecimiento de plantas de *A. punctatum* producen las mayores concentraciones nutricionales foliares de nitrógeno y las menores de calcio. En cambio, dosis alta de calcio (300 mg L⁻¹) en la etapa de endurecimiento provocan mayores concentraciones nutricionales foliares del mismo elemento y las menores de potasio; y generan un mayor número de raíces y estas son más largas.

De acuerdo a lo experimentado, 22 °C es la temperatura de la zona radical que genera el mayor número de raíces nuevas y de mayor longitud en plantas de *A. punctatum*.

Concentraciones entre 150 y 300 mg L⁻¹ de fósforo y calcio, complementadas con aportes de macronutrientes

como nitrógeno, potasio, magnesio y azufre, aplicadas a plantas de *A. punctatum* en la etapa de endurecimiento, generan plantas de un estado nutricional y vigor, superior que aquellas que omiten la aplicación de estos elementos en la etapa de endurecimiento.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Instituto Forestal, a la Dirección de Investigación de la Universidad de Concepción y a la Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo (ANID), Programa Formacin de Capital Humano Avanzado, Becas Magíster Chile/2013 - 221320432, por el apoyo técnico y financiamiento para la realización de este trabajo de investigación.

REFERENCIAS

- Acevedo M, R Rubilar, RK Dumroese, J Ovalle, S Sandoval, R Chassin-Trubert. 2020. Nitrogen loading of *Eucalyptus globulus* seedlings: nutritional dynamics and influence on morphology and root growth potential. *New Forests* (2020). <https://doi.org/10.1007/s11056-020-09778-2>
- Andivia-Muñoz E, M Fernández Martínez, J Vázquez Piqué. 2011. Autumn fertilization of *Quercus ilex* ssp. ballota (Desf.) Samp. nursery seedlings: effects on morpho-physiology and field performance. *Annals of Forest Science* 68: 543-553. DOI: [10.1007/s13595-011-0048-4](https://doi.org/10.1007/s13595-011-0048-4)
- Bakker MR, E Jolicœur, P Trichet, L Augusto, C Plassard, J Guinbertau, D Loustau. 2009. Adaptation of fine roots to annual fertilization and irrigation in a 13-year-old *Pinus pinaster* stand. *Tree Physiology* 29: 229-238. DOI: [10.1093/treephys/tpn020](https://doi.org/10.1093/treephys/tpn020)
- Boivin JR, F Salifu, VR Timmer. 2004. Late-season fertilization of *Picea mariana* seedlings: intensive loading and outplanting response on greenhouse bioassays. *Annals of Forest Science* 61: 737-745.
- Bustos F, M González, P Donoso, V Gerding, C Donoso, B Escobar. 2008. Efectos de distintas dosis de fertilizante de liberación controlada (Osmocote®) en el desarrollo de plantas de coigüe, raulí y ulmo. *Bosque* 29(2): 155-161. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-92002008000200008>
- Chirino-Miranda E, A Vilagrosa Carmona, E Rubio Anorte. 2004. Efecto de la reducción del riego y la fertilización en las características morfológicas de *Quercus suber*. *Cuadernos de la Sociedad Española de Ciencias Forestales* 17: 51-56.
- Di Rienzo JA, F Casanoves, MG Balzarini, L Gonzalez, M Tablada, CW Robledo. 2012. InfoStat versión 2012. Grupo InfoStat, FCA. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Dussan SL, DA Villegas, D Miranda. 2016. Efecto de la deficiencia de N, P, K, Mg, Ca y B sobre la acumulación y distribución de la masa seca en plantas de guayaba (*Psidium guajava* L.) var. ICA Palmira II en fase de vivero. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas* 10(1): 40-52. DOI: doi.org/10.17584/rcch.2016v10i1.4277
- Escobar R, M Sánchez, G Pereira. 2002. Forest nursery management in Chile. In Dumroese RK, LE Riley, TD Landis eds. National Proceedings: Forest and conservation nursery Associations. USDA Forest Service, Rocky Mountain Research Station. p. 219-225.
- Gibson SI. 2005. Control of plant development and gene expression by sugar signaling. *Plant Biology* 8: 93-102. DOI: [10.1016/j.pbi.2004.11.003](https://doi.org/10.1016/j.pbi.2004.11.003)
- Grossnickle S, J Macdonald. 2017. Why seedlings grow: influence of plant attributes. *New Forests* 49: 1-34. DOI: [10.1007/s11056-017-9606-4](https://doi.org/10.1007/s11056-017-9606-4)
- Landis TD. 2000. Manual de viveros para la producción de especies forestales en contenedor. In Landis TD, RW Tinus, SE McDonald, JP Barnett eds. Manual Agrícola. Volumen N° 4. Washington, DC, USA. Department of Agriculture, Forest Service. 1-67 p.
- Little T, F Hills. 1978. Métodos Estadísticos para la Investigación en la Agricultura. México DF, México. Trillas. 271 p.
- Monsalve J, R Escobar, M Acevedo, M Sánchez, R Coopman. 2009. Efecto de la concentración de nitrógeno sobre atributos morfológicos, potencial de crecimiento radical y estado nutricional en plantas de *Eucalyptus globulus* producidas a raíz cubierta. *Bosque* 30(2): 88-94. DOI: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-92002009000200004
- Montgomery D. 1991. Diseño y Análisis de Experimentos. México DF, México. Grupo Editorial Iberoamérica. 590 p.
- Navarro-Sandoval J. 2013. Indicadores morfológicos y fisiológicos en *Abies religiosa* y su capacidad predictiva del desempeño en campo. Tesis presentada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias. Montecillo, México. Colegio de Postgraduados. Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas. 75 p.
- Oliet J, E Robredo, JM Salazar, R Villar. 2008. Fertilización otoñal de encina en vivero: efecto sobre la morfología, nutrientes, potencial de enraizamiento y respuesta post-transplante. *Cuadernos de la Sociedad Española de Ciencias Forestales* 28: 171-176.
- Oliet J, R Planelles, F Artero, J Domingo-Santos. 2016. Establishing *Acacia salicina* under dry Mediterranean conditions: The effects of nursery fertilization and tree shelters on a mid-term experiment with saline irrigation. *Ciencia e Investigación Agraria* 43(1): 69-84. DOI: doi.org/10.4067/S0718-16202016000100007
- Razaq M, P Zhang, H Shen H, Salahuddin. 2017. Influence of nitrogen and phosphorous on the growth and root morphology of *Acer mono*. *PLoS ONE* 12(2): e0171321. DOI: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28234921/>
- Rikala R, J Heiskanen, M Lahty. 2004. Autumn fertilization in the nursery affects growth of *Picea abies* container seedlings after transplanting. *Scandinavian Journal of Forest Research* 19(5): 409-414. DOI: doi.org/10.1080/02827580410030190
- Santelices R. 2005. Desarrollo de una plantación de *Eucalyptus globulus* establecida en primavera con diferentes tratamientos de riego. *Bosque* 26(3): 105-112. DOI: [http://dx.doi.org/10.4067/S0717-92002005000300012](https://dx.doi.org/10.4067/S0717-92002005000300012)
- Sanz MA, A Blanco, E Monge, J Val. 2001. Caracterización de la deficiencia de calcio en plantas de tomate utilizando parámetros fisiológicos. *ITEA* 97(1): 26-38.
- Sardans J, J Peñuelas. 2005. Disponibilidad y uso del fósforo en los ecosistemas terrestres mediterráneos: la inspiración de Margalef. *Ecosistemas* 14(1): 29-39.
- Sereda F, CB Reissmann, MR Boeger, R Marques. 2016. Teores foliares e esclerofilia de *Calophyllum brasiliense* Cambess. (Clusiaceae) e suas relações edáficas no litoral do Estado do

- Paraná, Brasil. *Hoehnea* 43(4): 583-590.
- Squeo F, J Pizarro-Araya, S Vega. 2004. Ecofisiología del bosque relicto de *Aextoxicon punctatum* (Olivillo) en el Parque Nacional Bosque Fray Jorge, Coquimbo, Chile. In Squeo FA, JR Gutiérrez, IR Hernández eds. Historia Natural del Parque Nacional Bosque Fray Jorge. La Serena, Chile. Ediciones Universidad de La Serena. p. 219-234.
- Valdecantos A, J Cortina, VR Vallejo. 2006. Nutrient status and field performance of tree seedlings planted in Mediterranean degraded areas. *Annals of Forest Science* 63: 249-256. DOI: [10.1051/forest:2006003](https://doi.org/10.1051/forest:2006003)
- Villar-Salvador P. 2003. Importancia de la calidad de la planta en los proyectos de revegetación. In Rey-Benayas JM, T Espigares Pinilla, JM Nicolau-Ibarra eds. Restauración de Ecosistemas Mediterráneos. Alcalá, España. Universidad de Alcalá/Asociación de Ecología Terrestre. p. 65-86.
- Villar-Salvador P, J Puértolas, B Cuesta, JL Peñuelas, M Uscola, N Heredia-Guerrero, JM Rey Benayas. 2012. Increase in size and nitrogen concentration enhances seedling survival in Mediterranean plantations. Insights from an ecophysiological conceptual model of plant survival. *New Forests* 43(5-6): 755-770. DOI:[10.1007/s11056-012-9328-6](https://doi.org/10.1007/s11056-012-9328-6).

Recibido: 02/04/20

Aceptado: 22/04/20