

Efecto de la fertilización con nitrógeno, fósforo y potasio, sobre el contenido foliar de carbohidratos, proteínas y pigmentos fotosintéticos en plantas de *Berberidopsis corallina* Hook.f.

Effect of the fertilization with nitrogen, phosphorus and potassium, on the foliar content of carbohydrates, proteins and photosynthetic pigments in plants of *Berberidopsis corallina* Hook.f.

MIRTHA LATSAGUE^{*1}, PATRICIA SÁEZ² & MARIELA MORA¹

¹Escuela de Ciencias Ambientales, Facultad de Recursos Naturales, Universidad Católica de Temuco, Casilla 15-D, Temuco, Chile.

²Centro de Biotecnología, Facultad de Ciencias Forestales, Universidad de Concepción. Casilla 160-C, Concepción, Chile.

*mlatsagu@uct.cl

RESUMEN

Un número substancial de publicaciones se relacionan con aspectos de fertilización y nutrición de especies leñosas exóticas, principalmente en *Eucalyptus* spp. y *Pinus* spp., siendo escasa la información para especies nativas. *Berberidopsis corallina* (Berberidopsidaceae) es una especie endémica de Chile en peligro de conservación para la cual no existe antecedentes de fertilización. El objetivo de esta investigación es contribuir con nuevos antecedentes sobre el efecto estimulador de la fertilización con nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K) en el contenido bioquímico foliar en *B. corallina*, como información base para su conservación. Un experimento de invernadero en condiciones controladas de temperatura y riego fue conducido para evaluar el efecto de la aplicación de N, P, K sobre el contenido foliar de carbohidratos, proteínas y clorofila en plantas de *B. corallina* obtenidas por estacas. Los tratamientos correspondieron a la aplicación de fertilizante N, P y K en distintas combinaciones aplicado en dosis de 150 mg L⁻¹ de solución fertilizante, preparada a partir de sales hidrosolubles. Los más interesantes resultados se obtuvieron con la aplicación de solución completa (NPK). La clorofila fue el mejor indicador en este experimento del efecto de la fertilización NPK, con un promedio de 8,1 mg mL⁻¹ comparado con el control con un promedio de 2,8 mg mL⁻¹. En general el porcentaje de carbohidratos y proteínas solubles totales aumenta en 41 y 57%, respectivamente, en comparación al tratamiento control. Es destacable el efecto estimulador de la adición de N en las distintas dosis, favoreciendo la síntesis de carbohidratos y proteínas. El efecto estimulador de la fertilización con N, P y K sobre los parámetros bioquímicos de las hojas de *B. corallina* fue observado principalmente en el contenido de clorofila *a* y *b*, permitiendo que las hojas producidas sean fotosintéticamente competentes, aumentando el contenido de carbohidratos y proteínas solubles totales, lo que podría potenciar el crecimiento en condiciones de campo.

PALABRAS CLAVE: *Berberidopsis corallina*, macronutrientes, atributos bioquímicos, clorofila.

ABSTRACT

A substantial number of publications are relating to aspects of fertilization and nutrition of woody exotic species, principally in *Eucalyptus* spp. and *Pinus* spp., being little the information for native species. *Berberidopsis corallina* (Berberidopsidaceae) is endemic specie of Chile in danger of conservation for which there is no information about fertilization. The aim of this research is contribute with new antecedent and evaluated the effect stimulatory of nitrogen (N), phosphorus (P) and potassium (K), fertilizer in the biochemical leaf content in *B. corallina* as information base for his conservation. A greenhouse experiment in controlled conditions of temperature and irrigation was undertaken to evaluate the effect of NPK on the foliar content synthesis of carbohydrates, proteins, chlorophyll in *B. corallina* plants obtained by cutting. The treatments corresponded to the application of N, P and K in different combinations applied in dose of 150 mg L⁻¹ of solution fertilizer prepared from hydrosoluble salt. The more interesting results were obtained by the application of complete solution (NPK). The chlorophyll was the best indicator found in this experiment of the effect of NPK fertilization with average of 8.1 mg mL⁻¹ compared with treatment control with average of 2.8 mg mL⁻¹. In general the percentage of carbohydrates and soluble total proteins, increased in 41 and 57 % respectively, in compared with treatment control. Notably the stimulatory effect N addition in the different doses stimulated the synthesis of carbohydrates and proteins. The

stimulatory effect of fertilization with N, P and K on the biochemical parameters of the leaves of *B. corallina* was observed fundamentally in the content of chlorophyll *a* and *b*, allowing that the leaves produced should be photosynthetically competent, increasing the content of carbohydrates and soluble total proteins, which might promote the growth in field conditions.

KEYWORDS: *Berberidopsis corallina*, nutrients, biochemical attributes, chlorophyll.

INTRODUCCIÓN

Los nutrientes minerales tienen funciones esenciales y específicas en el metabolismo de las plantas, como activadores de reacciones enzimáticas, osmorreguladores y constituyentes de estructuras orgánicas (Schwambach *et al.* 2005, Bustos *et al.* 2008). Un número substancial de publicaciones se relacionan con aspectos de fertilización y nutrición de especies leñosas exóticas y su efecto sobre variables morfológicas como producción de brotes y crecimiento inicial, principalmente en *Eucalyptus* spp. (Sansigolo *et al.* 1983, Barros & Novais 1990, Guerra *et al.* 2007) y *Pinus* spp. (Reissmann & Wisniewski 2000, Domínguez *et al.* 2000, Munari *et al.* 2005, Rowe *et al.* 2002). Asimismo el efecto de la fertilización con N, P y K sobre el contenido bioquímico foliar en plantas introducidas ha sido ampliamente informado, Poole & Conover (1990), Zaghoul *et al.* (1996), Rowe *et al.* (2002), Kopsell *et al.* (2004) reportan que el contenido de clorofila *a*, clorofila *b* y carotenoides aumenta en plantas fertilizadas con N, P y K, contribuyendo a un incremento en la tasa fotosintética. Resultados obtenidos por Reyes *et al.* (2000) en hojas de *Citrus reticulata* Blanco y de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, Tranaviciene *et al.* (2007) en *Triticum aestivum* L., Abd El-Aziz (2007) en hojas de *Codiaeum variegatum* L., señalan que la aplicación de N, P y K influye en el contenido de carbohidratos solubles, lo que se relaciona directamente con la síntesis de pigmentos y proteínas que aumentan significativamente con la aplicación de los tratamientos fertilizantes.

Con relación a especies nativas, la investigación permanece incompleta (Resende *et al.* 2005), estándares nutricionales publicados en la literatura han sido desarrollados para especies producidas a través de semillas: *Nothofagus dombeyi* (Mirb.) Oerst., *Nothofagus alpina* (Poepp. & Endl.) Oerst. y *Eucryphia cordifolia* Cav., informando el efecto de la fertilización con Osmocote® (18-6-12 de N-P₂O₅-K₂O) sobre variables morfológicas tales como diámetro a la altura del cuello, altura total y biomasa aérea y radicular (Bustos *et al.* 2008). Sin embargo, no hay antecedentes en plantas nativas respecto a la influencia de la fertilización con N, P y K sobre las variables morfológicas como tampoco sobre el contenido bioquímico foliar como carbohidratos, proteínas y pigmentos fotosintéticos, y su relación con la calidad de las plantas y su crecimiento vegetativo.

Berberidopsis corallina Hook.f. es una especie de la familia Berberidopsidaceae, endémica de Chile. Debido a su carácter de especie endémica de un estrecho territorio de Chile y al escaso número de poblaciones conocidas, *B. corallina* se considera por diversos autores una trepadora en peligro de extinción. Aunque puede llegar a ser localmente abundante en ciertos puntos restringidos a la vertiente oceánica de Nahuelbuta, sus poblaciones requieren de esfuerzos adicionales para su conservación (Marticorena *et al.* 2010). En este sentido la propagación vegetativa de *B. corallina* ha sido estudiada y exitosamente desarrollada (Latsague *et al.* 2008, Uribe *et al.* 2011). En general, se han desarrollado diversos programas dirigidos a maximizar la calidad de las plantas producidas por estacas y a la producción de conocimiento científico en términos de los requerimientos nutricionales y respuesta al suministro de nutrientes de las plantas obtenidas, de manera de potenciar su desarrollo y crecimiento fenológico como asimismo optimizar el metabolismo de éstas en orden a garantizar un adecuado establecimiento inicial de las plantas bajo condiciones de campo. A pesar de ello, la información es escasa para especies nativas producidas por esta vía y a nuestro saber, inexistente para *Berberidopsis corallina*.

Por lo anterior, el objetivo de esta investigación es contribuir con nuevos antecedentes para identificar el efecto estimulador de la fertilización con N, P y K sobre el contenido bioquímico foliar en *B. corallina*, especie endémica de Chile, como información base para su conservación.

MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIAL VEGETAL Y TRATAMIENTOS

Las hojas para el análisis del contenido bioquímico en laboratorio se extrajeron de plantas de *B. corallina* de un año de edad, reproducidas por estacas (Latsague *et al.* 2008), el material para estaquillado se obtuvo de individuos de una población de *B. corallina* en un predio del sector La Cabaña comuna de Carahue, Región de La Araucanía (38° 29' 36" S-73° 14' 14" O).

Las plantas utilizadas en los tratamientos se mantuvieron durante cinco meses en vivero en bolsas de polietileno de 15 x 30 cm, con capacidad de 1.000 cm³, el sustrato utilizado fue compost de corteza de pino (*Pinus radiata* D.Don) con una granulometría de 12 mm, a temperatura constante de 18 °C y riego por aspersión. La frecuencia de

riego fue establecida considerando la pérdida del 20% de la capacidad de campo del sustrato del contenedor de cada planta, monitoreada diariamente a través de una balanza digital de precisión de ± 1 g.

La solución fertilizante de los distintos tratamientos se preparó con base en los elementos nitrógeno, fósforo y potasio en distintas combinaciones y dosis fijas de 150 mg L⁻¹ (Tabla I), se definió la concentración de 150 mg L⁻¹ en base a antecedentes existentes para especies introducidas, por no estar documentada para nativas. Las soluciones se prepararon a partir de sales hidrosolubles (Tabla II). Adicionalmente, cada uno de los tratamientos fue suplementado con una dosis fija de 40 mg L⁻¹ de magnesio (Mg), 60 mg L⁻¹ de azufre (S) y 80 mg L⁻¹ de calcio (Ca). La solución fertilizante se aplicó cada 15 días durante tres meses. De acuerdo a la capacidad de retención del sustrato se aplicaron 20 mL de la solución fertilizante, según tratamiento. La capacidad de retención se calculó según Aldana & Aguilera (2003) [1]:

$$CR = \text{Porosidad total (PT)} - \text{Porosidad de aire (PA)} [1]$$

donde CR es la capacidad de retención del sustrato; PT corresponde al volumen de poros del sustrato/volumen del contenedor *100; PA es el volumen de poros de aire/volumen del contenedor *100. Las variables que se evaluaron fueron contenido de clorofila *a* y clorofila *b*, proteínas solubles totales (PST), carbohidratos solubles totales (CST), principales indicadores del metabolismo de la planta cuya síntesis depende de la disponibilidad de nitrógeno, fósforo y potasio.

ANÁLISIS QUÍMICO

El contenido de pigmentos totales, clorofila *a* y clorofila *b* se determinó utilizando 50 mg de peso fresco de material vegetal, el que fue pulverizado con nitrógeno líquido y homogeneizado con acetona al 80 % v/v. El contenido de

pigmentos se determinó a través de espectrofotometría siguiendo la metodología de Lichtenthaler & Wellburn (1983). Para determinar el contenido de proteínas solubles totales (PST) se utilizó el método de Bradford (1976) y las modificaciones efectuadas por Latsague & Sáez (2006), con una solución patrón de albúmina sérica bovina (BSA) (Sigma) de 1 mg mL⁻¹, leyendo absorbancia a 595 nm. El contenido de carbohidratos solubles totales (CST) fue estimado mediante el método fenol sulfúrico (Steubing *et al.* 2002). Para la cuantificación se utilizó como patrón una solución de glucosa 1 mg mL⁻¹ y la absorbancia fue leída a una longitud de onda de 630 nm.

DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El estudio constó de cuatro tratamientos (Tabla I) distribuidos al azar. Cada tratamiento constituido por 10 réplicas. Cada réplica compuesta por una planta de *B. corallina* (unidad experimental). Los datos se sometieron a un análisis de varianza de una vía con un 95 % de confianza ($\alpha = 0,05$) utilizando los *software* XLstat y Statgraphics Plus Versión 5.1. La normalidad y homogeneidad de varianza de los datos se determinaron mediante la prueba de Shapiro-Wilk y la prueba de Bartlett, respectivamente ($\alpha = 0,05$). Para detectar diferencias significativas entre los tratamientos, se realizó la prueba de comparación múltiple de Tukey ($P < 0,05$).

RESULTADOS

CONTENIDO DE PIGMENTOS

Los contenidos de clorofila *a*, *b* y total fueron influenciados por la aplicación de NPK ($P < 0,05$) en hojas de *B. corallina*. Un aumento significativo en el contenido de clorofila, respecto al control, se observó en la combinación fertilizante N₁₅₀P₁₅₀K₁₅₀ y N₁₅₀P₁₅₀K₀, con valores de 8,13 y 6,56 mg mL⁻¹, respectivamente. Entre estas mismas combinaciones

Tabla I. Tratamientos de fertilización aplicados en plantas de *Berberidopsis corallina* producidas a partir de estacas y fuente de macronutrientes utilizadas en la solución nutritiva.

Table I. Treatments of fertilization applied in *Berberidopsis corallina* plants produced from cuttings and source of macro elements used in the nutritive solution.

TRATAMIENTO	DOSIS			FUENTE
	N(mg L ⁻¹)	P(mg L ⁻¹)	K(mg L ⁻¹)	
T0 (N ₀ P ₀ K ₀)	0	0	0	MgSO ₄ , CaO, H ₂ SO ₄
T1 (N ₁₅₀ P ₁₅₀ K ₁₅₀)	150	150	150	KNO ₃ , H ₃ PO ₄ , NH ₄ H ₂ PO ₄ , Ca(NO ₃) ₂ , MgSO ₄ , (NH ₄) ₂ HPO ₄
T2 (N ₁₅₀ P ₁₅₀ K ₀)	150	150	0	H ₃ PO ₄ , NH ₄ H ₂ PO ₄ , Ca(NO ₃) ₂ , MgSO ₄ , (NH ₄) ₂ HPO ₄ , NaNO ₃
T3 (N ₁₅₀ P ₀ K ₁₅₀)	150	0	150	CO(NH ₂) ₂ , K ₂ SO ₄ , Ca(NO ₃) ₂ , MgSO ₄ , K ₂ CO ₃ , KNO ₃
T4 (N ₀ P ₁₅₀ K ₁₅₀)	0	150	150	H ₃ PO ₄ , MgSO ₄ , K ₂ HPO ₄ , CaO

Tabla II. Efecto del fertilizante NPK sobre el contenido de clorofila (Cl) (mg mL⁻¹), proteínas solubles totales (PST) (mg mL⁻¹) y carbohidratos solubles totales (CST) (mg mL⁻¹) en hojas de *Berberidopsis corallina* (media ± EE).

TABLE II. Effect of the fertilizer NPK on the chlorophyll content (Cl) (mg mL⁻¹), soluble total proteins (PST) (mg mL⁻¹) and soluble total carbohydrates (CST) (mg mL⁻¹) in leaves of *Berberidopsis corallina* (averages ± SE).

TRATAMIENTO	CONTENIDO DE CLOROFILA			PST	CST
	Cl a	Cl b	Cl (a+b)		
T0(N ₀ P ₀ K ₀)	2,03±0,2 a*	0,79±0,0 a	2,81±0,3 c*	0,08±0,0 c*	0,12±0,0 d*
T1(N ₁₅₀ P ₁₅₀ K ₁₅₀)	5,39±0,3 c	2,74±0,5 c	8,13±0,8 a	0,12±0,0 a	0,17±0,0 b
T2(N ₁₅₀ P ₁₅₀ K ₀)	4,42±0,6 bc	2,14±0,4 c	6,56±0,8 b	0,11±0,0 a	0,19±0,0 ab
T3(N ₁₅₀ P ₀ K ₁₅₀)	3,99±0,8 b	1,92±0,3 b	5,91±1,1 b	0,11±0,0 ab	0,20±0,0 a
T4(N ₀ P ₁₅₀ K ₁₅₀)	1,85±0,3 a	0,74±0,1 a	2,59±0,5 c	0,08±0,0 c	0,15±0,0 c

*Letras diferentes indican diferencias significativas (P < 0,05)./Different letters indicate significant differences (P < 0.05)

igualmente hay diferencias significativas, lo que podría indicar que el efecto conjunto de la fertilización N, P y K favorecen el contenido de clorofila. Por el contrario, la fertilización sólo con fósforo y potasio (N₀P₁₅₀K₁₅₀) no produjo incrementos respecto al control (Tabla II). Independiente del tratamiento aplicado el contenido de clorofila a fue en promedio dos veces mayor que el de clorofila b.

CONTENIDO DE PROTEÍNAS SOLUBLES TOTALES (PST)

La adición de nitrógeno a la solución fertilizante, tuvo un efecto significativo (P<0,05) sobre el contenido foliar de proteínas solubles totales respecto del tratamiento control (Tabla II). Sin embargo, el contenido de PST fue similar entre las soluciones fertilizantes que contienen N en su formulación (N₁₅₀P₁₅₀K₁₅₀, N₁₅₀P₁₅₀K₀, N₁₅₀P₀K₁₅₀), independiente de la adición de fósforo y potasio en la combinación de solución fertilizante.

CONTENIDO DE CARBOHIDRATOS SOLUBLES TOTALES (CST)

La solución fertilizante afecta el contenido de carbohidratos solubles totales en hojas de *B. corallina*. Así, se observó diferencias significativas entre el tratamiento control y los tratamientos fertilizantes (Tabla II). El contenido de carbohidratos soluble totales aumenta significativamente con la adición de nitrógeno a la solución fertilizante.

DISCUSIÓN

Los estudios sobre nutrición vegetal a menudo se enfocan sobre el efecto de la fertilización nitrogenada, puesto que éste es el nutriente requerido en mayor cantidad y el que probablemente más limita la ganancia de carbono (Chapin *et al.* 1987). En nuestro estudio la presencia de

nitrógeno en alguna de las combinaciones, independiente de la presencia de potasio o fósforo favorece la síntesis de clorofila total. El aumento en el contenido de clorofila, con la fertilización nitrogenada, ha sido informado por Warren *et al.* (2005) en hojas de *Pinus pinaster* Aiton, Seneweera *et al.* (2011) en hojas de arroz, Modh *et al.* (2011) en *Labisia pumila* Benth. & Hook.f., Boussadia *et al.* (2010) en *Olea europea* L., probablemente debido a que el nitrógeno favorece la absorción de Mg, lo que influencia la síntesis de clorofila (Gárate & Bonilla 2000). Así, uno de los factores importantes que indican la eficiencia de la fertilización nitrogenada es el contenido de pigmentos fotosintéticos en las hojas (Kopsell *et al.* 2004). La capacidad fotosintética de las hojas se relaciona con el contenido de nitrógeno principalmente porque las proteínas del ciclo de Calvin y de los tilacoides representan la mayor parte del nitrógeno foliar (Gibson 2005). En este estudio, el contenido de clorofila a fue en promedio dos veces mayor que el de clorofila b independiente del tratamiento aplicado. Tales proporciones se encontraron en otras especies en las cuales hay por lo general dos a cuatro veces más clorofila a que clorofila b (Carter & Spiering 2002, Politycka & Golcz 2004). La adición de K en la solución fertilizante igualmente influye, aumentando significativamente el contenido de clorofila. Estos resultados están de acuerdo con las conclusiones de Jackson & Volk (1968), Chapagain & Wiesman (2004), respecto a que el potasio es requerido para la síntesis de clorofila a y activador de enzimas involucradas en la síntesis de ésta.

Es evidente que el contenido de carbohidratos solubles aumenta significativamente en hojas de *B. corallina* fertilizadas con N, P y K comparada con las plantas control. Esto se relaciona directamente con la síntesis de pigmentos, los que aumentaron significativamente con la aplicación de los tratamientos fertilizantes. Las moléculas orgánicas

cuantificadas en este estudio (clorofila *a*, *b*, proteínas solubles totales) son utilizadas como estimadores de la fotosíntesis, por lo que su aumento estimula la tasa fotosintética aumentando el contenido de carbohidratos solubles (Reyes *et al.* 2000, Sanclemente & Peña 2008). El potasio, catión univalente más abundante en la célula vegetal, juega un rol significativo en la regulación de la función estomática. La forma por la cual la fertilización con potasio aumenta la fotosíntesis es aumentando la conductancia estomática (Barnes *et al.* 1995, Bednarz & Oosterhuis 1999, Houman *et al.* 1990). De este modo, Vijay *et al.* (2009) relacionaron el mayor rendimiento fotosintético de *Asparagus racemosus* Willd. con el aumento en el contenido de clorofila y aplicación de potasio.

El contenido de proteínas solubles totales aumenta significativamente en hojas tratadas con fertilizante N, P y K respecto del control, observando estas diferencias entre el tratamiento T0 (N₀P₀K₀) y aquellos que incluyen nitrógeno en su combinación. La fotosíntesis produce azúcares solubles a partir de CO₂ y H₂O, pero este proceso no puede realizarse sin la producción de proteínas, enzimas y moléculas de transferencia de electrones tales como clorofila, ADP y ATP, todas ellas moléculas orgánicas que tienen nitrógeno y fósforo como constituyente fundamental (Marques *et al.* 2002, Abd El-Aziz 2007). Una fuerte relación entre fósforo y la máxima capacidad fotosintética (A_{max}) ha sido observada en *Pinus radiata* (Sheriff *et al.* 1986), *P. pinaster* (Ben Brahim *et al.* 1996), la explicación parcial de estos resultados puede basarse en una relación positiva entre concentración de fósforo y cantidad de Rubisco.

El efecto estimulador de la fertilización con N, P y K sobre los parámetros bioquímicos de las hojas de *B. corallina* especie endémica de Chile fue observado principalmente en el contenido de clorofila *a* y *b*, permitiendo que las hojas producidas sean fotosintéticamente competentes, aumentando el contenido de carbohidratos y proteínas solubles totales, lo que podría potenciar el crecimiento en condiciones de campo. Los resultados obtenidos son un punto de partida respecto a la fertilización en *B. corallina*, es necesario a futuro probar nuevas dosis, incluso superiores a ésta.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al proyecto DGIPUCT 2009-03-04.

BIBLIOGRAFÍA

ABD EL-AZIZ, N. 2007. Stimulatory effect of NPK fertilizer and benzyladenine on growth and chemical constituents of *Codiaeum variegatum* L. American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences 2(6): 711-719.

ALDANA, R. & M. AGUILERA. 2003. Procedimientos y cálculos

básicos, útiles en la operación de viveros que producen en contenedor. Comisión Nacional Forestal. Guadalajara, Jalisco. 45 pp.

BARNES, J.D., T. PIPFIRMANN, K. STEINER, C. LUTZ, U. BUSCH, H. KUCHENHOFF & H.D. NPAYER. 1995. Effects of elevated CO₂, O₃ and potassium deficiency on Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst) seasonal changes in photosynthesis and non-structural carbohydrate content. Plant Cell Environmental 18: 1345-1357.

BARROS, N., & R. NOVAIS. 1990. Algumas relações solo-espécie de eucalipto em suas condições naturais. In: N.F. Barros & R.F. Novais (eds.), Relação solo-eucalipto. pp. 1-24. Editora Folha de Viçosa, Viçosa, Brazil.

BEDNARZ, C.W. & D. M. OOSTERHUIS. 1999. Physiological changes associated with K deficiency in cotton. Journal Plant Nutrition Soil 22: 303-313.

BEN BRAHIM, M., D. LOUSTAU, J. GAUDILLERE & E. SAUR. 1996. Effects of phosphate deficiency on photosynthesis and accumulation of starch and soluble sugars in 1-year-old seedlings of maritime pine (*Pinus pinaster*). Annual Sciences Forestry 53: 801-810.

BOUSSADIA, O., K. STEPPE, H. ZGALLAI, S. BEN EL HADJ, M. BRAHAM, R. LEMEUR & M.C. VAN LABEKE. 2010. Effects of nitrogen deficiency on leaf photosynthesis, carbohydrate status and biomass production in two olive cultivars "Meski" and "Koroneiki". Scientia Horticulture 123: 336-342.

BRADFORD, M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.

BUSTOS, F., M. GONZÁLEZ, P. DONOSO, V. GERDING, C. DONOSO & B. ESCOBAR. 2008. Efecto de distintas dosis de fertilización de liberación controlada (Osmocote®) en el desarrollo de plantas de coigüe, raulí y ulmo. Revista Bosque 29(2): 155-161.

CARTER, G. & B. SPIERING. 2002. Optical properties of intact leaves for estimating chlorophyll concentration. Journal of Environmental Quality 31: 1424-1432.

CHAPAGAIN, B.P. & Z. WIESMAN. 2004. Effect of Nutri-Vant-PeaK foliar spray on plant development, yield, and fruit quality in greenhouse tomatoes. Scientia Horticulturae 102: 177-188.

CHAPIN, F.S. III, A.J. BLOOM, C.B. FIELD & R.H. WARING. 1987. Plant Responses to multiple environmental factors. BioSciences 37: 49-57.

DOMÍNGUEZ, S., J. OLIET, P. RUIZ, I. CARRASCO, J. PEÑUELAS & R. SERRADA. 2000. Influencia de la relación N-P-K en el desarrollo en vivero y en campo de planta de *Pinus pinea*. Actas del 1er Simposio del pino piñonero. Valladolid. Vol. 1: 195-202.

GÁRATE, A. & I. BONILLA. 2000. Nutrición mineral y producción vegetal. Capítulo 8. En: J. Azcon-Bieto & M. Talón, Fundamentos de Fisiología Vegetal, pp. 113-129. Barcelona: McGraw-Hill Interamericana.

GIBSON, S.I. 2005. Control of plant development and gene expression by sugar signaling. Plant Biology 8: 93-102.

GUERRA, E., M. HERRERA & F. DRAKE. 2007. Rentabilidad de la fertilización al establecimiento de plantaciones de *Eucalyptus globulus*. Revista Agrociencia 41: 797-804.

HOUMAN, F., D.L. GODBOLD, W. SHASHENG & A. HUTTERMANN.

1990. Gas exchange in *Populus maxinowiczii* in relation to Potassium and phosphorus nutrition. *Journal of Plant Physiology* 135: 675-679.
- JACKSON, W.A. & R.J. VOLK. 1968. The Role of Potassium in Photosynthesis and Respiration. In: V.J. Kilmer, S.E. Younts & N.C. Brady (eds.), *The Role of Potassium in Agriculture*, pp: 109-145. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America.
- KOPSELL, D., E. KOPSELL, M. LEFSRUD, J. CURRAN CELENTANO & L. DUKACH. 2004. Variation in lutein, carotene, and chlorophyll concentrations among *Brassica oleracea* cultivars and seasons. *Horticultural Science* 39(2): 361-364.
- LATSAGUE, M. & P. SÁEZ. 2006. Fraccionamiento y recuperación de proteínas solubles libres de fenoles en estacas de lenga (*Nothofagus pumilio*). *Bosque* 27(3): 263-266.
- LATSAGUE, M., P. SÁEZ & E. HAUENSTEIN. 2008. Inducción de enraizamiento en estacas de *Berberidopsis corallina* con ácido indolbutírico. *Bosque* 29(3): 227-230.
- LICHTENTHALER, H. & A. WELLBURN. 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transaction* 603: 591-592.
- MARQUES, V., P. MAGALHAES, F. MACHADO, L. MOTA & A. CORSETTI. 2002. Metabolismo do nitrógeno associado à deficiência hídrica e sua recuperação em genótipos de milho. *Revista Ciencia Rural* 32: 13-17.
- MARTICORENA, A., D. ALARCÓN, L. ABELLO & C. ATALA. 2010. Plantas trepadoras, epífitas y parásitas nativas de Chile. *Guía de Campo*. Editorial Corporación Chilena de la Madera, Concepción, Chile. 290 pp.
- MODH, I., H. JAAFAR, A. RAHMAT & Z. RAHMAN. 2011. The Relationship between Phenolics and Flavonoids Production with Total Non Structural Carbohydrate and Photosynthetic Rate in *Labisia pumilia* Benth. under High CO₂ and Nitrogen Fertilization. *Molecules* 16: 162-174.
- MUNARI, H., M. VALDIR, L. STORCK & R. WITSCHORECK. 2005. Crecimiento inicial de *Pinus taeda* L. relacionado a doses de N, P, e K. *Ciência Florestal*, Santa Maria 15(2): 199-206.
- POLITYCKA, B. & A. GOLCZ. 2004. Content of chloroplast pigments and anthocyanins in the leaves of *Ocimum basilicum* L. depending on nitrogen doses. *Folia Horticulturae* 1: 23-29.
- POOLE, R. & C. CONOVER. 1990. Leach an electrical conductivity and pH for ten foliage plants. *Journal Environmental Horticulturae* 8: 166-172.
- REISSMANN, C. & C. WISNIEWSKI. 2000. Aspectos nutricionais de plantios de *Pinus*. In: M.Gonçalves & V. Benedetti. *Nutrição e fertilização florestal*. Piracicaba: IPEF. pp. 135-166.
- RESENDE, A., A. FURTINI & N. CURI. 2005. Mineral Nutrition and Fertilization of Native Tree Species in Brazil: Research Progress and Suggestions for Management. *Journal of Sustainable Forestry* 20(2): 45-81.
- REYES, M., A. VILLEGAS, M. COLINAS & G. CALDERÓN. 2000. Peso específico, contenido de proteína y clorofila en hojas de naranjo y tangerino. *Revista Agrociencia* 34: 49-55.
- ROWE, D., F. BLAZICH & C. RAPER. 2002. Nitrogen nutrition of hedged stock plants of loblolly pine I. Tissue nitrogen concentrations and carbohydrate status. *New Forest* 24: 39-51.
- SANCLEMENTE, M. & E. PEÑA. 2008. Crecimiento y la eficiencia fotosintética de *Ludwigia decurrens* Walter (Onagraceae) bajo diferentes concentraciones de nitrógeno. *Revista Acta Biológica Colombiana* 13(1): 175-186.
- SANSIGOLO, C.A., H.D. SILVA, R.S. PEREIRA & S.T. ALVES. 1983. Nutrição mineral de *Eucalyptus*. In: H.P. Haag (ed.), *Nutrição mineral de Eucalyptus, Pinus, Araucaria e Gmelina no Brasil*. pp. 1-68. Fundação Cargill, Campinas, Brazil.
- SCHWAMBACH, J., C. FADANELLI & A.G. FETT-NETO. 2005. Mineral nutrition and adventitious rooting in microcuttings of *Eucalyptus globulus*. *Tree Physiology* 25(4): 487-494.
- SENEWEERA, S.P., A. MAKINO, N. HIROTSU, R. NORTON & Y. SUZUKI. 2011. New insight into photosynthetic acclimation to elevated CO₂: The role of leaf nitrogen and ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase content in rice leaves. *Environment Experimental Botany* 71: 128-136.
- SHERIFF, D.W., E.K. NAMBIAR & D.N. FIFE. 1986. Relationships between nutrient status, carbon assimilation and water use efficiency in *Pinus radiata* needles. *Tree Physiology* 2: 73-88.
- STUEBING, L., R. GODOY & M. ALBERDI. 2002. *Métodos de Ecología Vegetal*. Editorial Universitaria. Santiago, Chile. 345 pp.
- TRANAVICIENE, T., J.SIKSNIANIENE, A. URBONAVICIUTE, G. SAMUOLIENE & A. SLIESARAVICIUS. 2007. Effects of nitrogen fertilizers on wheat photosynthetic pigment and carbohydrate contents. *Biologija* 53(4): 80-84.
- URIBE, M., R. DURÁN, G. BRAVO, F. MORA, P. CARTES & C. DELEVEAU. 2011. Propagación vegetativa de *Berberidopsis corallina* Hook.f., una especie en peligro de extinción, endémica de Chile. *Gayana Botanica* 68(2): 135-140.
- VIJAY, N., A. KUMAR & A. BHOITE. 2009. Influence of Nitrogen, Phosphorus and Potassium Fertilizer on Biochemical contents of *Asparagus racemosus* (Willd.) Root Tubers. *Research Journal of Environmental Sciences* 3(3): 285-291.
- WARREN, C.R., J.F. McGRATH & M.A. ADAMS. 2005. Differential effects of N, P and K on photosynthesis and partitioning of N in *Pinus pinaster* needles. *Annals of Forest Science* 62: 1-8.
- ZAGHLOUL, M., H. ATTA-ALLA & A. WALYS. KHATTAB. 1996. *In vitro* culture, establishment and effect of potting mixture and NPK fertilization on *ex vitro Philodendron domesticum* L. *Annals of Agricultural Science Moshtohor Journal* 34: 711-725.

Recibido: 22.03.13
 Aceptado: 16.10.13