

Investigación

Escudero, A. y Mediavilla, S. 2003. Dinámica interna de los nutrientes. *Ecosistemas* 2003/1 (URL: www.aet.org/ecosistemas/031/investigacion7.htm)

Dinámica interna de los nutrientes.

Alfonso Escudero y Sonia Mediavilla

Área de Ecología, Facultad de Biología, Universidad de Salamanca, E-37071 Salamanca.

La dinámica de los nutrientes minerales es una de las funciones fundamentales del metabolismo vegetal y determina en gran medida la productividad y las respuestas de las plantas a los cambios en los factores ambientales. En este trabajo resumimos los conocimientos actuales sobre algunos de los puntos clave del procesamiento de los elementos químicos por las plantas, desde la adquisición radicular hasta el reciclado de los nutrientes de las hojas senescentes. Estudiamos también los factores que determinan la eficiencia en el uso de los nutrientes. Todos estos aspectos se ven condicionados hoy en día por el cambio global derivado del incremento de las concentraciones del dióxido de carbono atmosférico y, a su vez, determinan las respuestas de las plantas al cambio global.

Introducción

La escasez de nutrientes minerales limita la producción vegetal en la mayoría de los ambientes. En condiciones naturales la cantidad de nutrientes disponible es siempre limitada y las adiciones externas son escasas, por lo que las plantas necesitan reciclar, reducir las pérdidas y maximizar la eficiencia en el uso de los nutrientes para conseguir una máxima producción de biomasa con una cantidad dada de nutrientes. En los últimos tiempos, las adiciones antropogénicas han aumentado la disponibilidad de algunos elementos químicos en las zonas industrializadas, y esto provoca perturbaciones, porque altera los equilibrios entre las concentraciones de los diferentes nutrientes vegetales. En ambientes menos afectados por las adiciones antropogénicas, otros factores, tales como la temperatura, la disponibilidad de agua en el suelo o la concentración atmosférica de dióxido de carbono, limitan también la producción vegetal y reducen las necesidades de nutrientes; por lo tanto, las limitaciones por estos otros factores contribuyen a reducir la importancia de los nutrientes como factores limitantes. Pero si alguna de estas otras limitaciones se relajara a causa de la actividad humana, los nutrientes podrían adquirir un carácter más limitante. Oren *et al.* (2001), por ejemplo, han observado que el aumento de dióxido de carbono atmosférico provoca un incremento de biomasa en bosques asentados sobre suelos ricos, pero no en suelos pobres, lo que sugiere que en este caso los nutrientes se hacen especialmente limitantes cuando el CO₂ es abundante. Por tanto, el efecto limitante de los nutrientes resulta hoy especialmente relevante, ya que puede reducir la importancia de los bosques y otras formaciones vegetales como sumideros del exceso de dióxido de carbono. En consecuencia, para predecir la respuesta de la vegetación a los cambios antropogénicos es imprescindible entender cómo las plantas utilizan los nutrientes minerales.

En esta revisión describiremos los pasos más importantes en el proceso de utilización de los nutrientes por las plantas, centrándonos en los puntos que se pueden ver más alterados por la actividad humana y el cambio global. Prestaremos además especial atención a las adaptaciones de las plantas para incrementar la eficiencia en el uso de los nutrientes, ya que son especialmente importantes en nuestros

ambientes mediterráneos, donde hay una gran diversidad de estrategias foliares, y donde las relaciones de competencia entre las diferentes estrategias pueden verse alteradas por el cambio climático.

Adquisición de elementos químicos por las plantas

En el caso de algunos nutrientes la asimilación implica un cambio en el estado de oxidorreducción. Por tanto, la asimilación, además de la costosa inversión en raíces, implica un gasto energético directo, de modo que se pueden esperar mayores interacciones entre estos nutrientes y el carbono. Puede decirse, entonces, que las plantas tienen que utilizar los nutrientes para fijar más carbono y emplear luego el carbono para adquirir más nutrientes (Chapin *et al.*, 1987). El nitrógeno es uno de los elementos químicos cuya asimilación implica normalmente un gasto energético asociado a su reducción. Este elemento puede ser absorbido por las raíces en tres formas: como N orgánico, amonio o nitrato. Las plantas deben sintetizar proteínas de transporte diferentes para absorber cada una de estas formas de N, por lo que difieren en sus preferencias relativas, dependiendo de la abundancia de cada forma. La mineralización y la nitrificación en el suelo a veces son procesos lentos, por lo que suelen predominar las formas orgánicas y reducidas, disminuyendo la abundancia en el suelo en el sentido: N orgánico soluble > amonio > nitrato. Por tanto, la capacidad para absorber N orgánico puede ser muy importante para la nutrición de las plantas, y, efectivamente, en años recientes se observó que la absorción de N orgánico es más cuantiosa de lo que se pensaba (Aerts y Chapin, 2000). Evidentemente, la forma de absorción tiene una gran influencia en los costes de asimilación. El coste de la incorporación del nitrógeno a las moléculas orgánicas se reduce en el sentido N orgánico < amonio < nitrato. El coste de asimilación del nitrato es especialmente elevado, pudiendo representar hasta el 15% del presupuesto energético total de la planta (Chapin *et al.*, 1987). Sin embargo, cuando la luz no es limitante, puede utilizarse parte del exceso de poder reductor para reducir el nitrato en los cloroplastos, de modo que si la asimilación se lleva a cabo en los órganos fotosintéticos, el coste puede llegar a ser prácticamente despreciable (Poorter, 1994). En cambio, el amonio, por su carácter tóxico, debe asimilarse forzosamente en la raíz, por lo que no se puede aprovechar para su asimilación el exceso de poder reductor generado en las hojas. De todas formas, la reducción del nitrato parece que también se hace muy a menudo en la raíz, sobre todo en plantas leñosas (Gojon *et al.*, 1994), de modo que probablemente su asimilación es casi siempre costosa en términos energéticos. En suelos pobres en nitrógeno abundan las especies con capacidad para fijar nitrógeno atmosférico. El coste energético de este mecanismo es aún más elevado que el de la reducción del nitrato, pudiendo representar del orden del 25 al 40% del rendimiento energético de la fotosíntesis (Chapin *et al.*, 1987).

Los efectos del incremento de dióxido de carbono en la atmósfera sobre la adquisición de nutrientes por las raíces son aún tema de controversia. Inicialmente se podría esperar que la fertilización con CO₂ estimulara la absorción de nutrientes a causa del incremento de la demanda asociado a un crecimiento más intenso. Sin embargo, la evidencia experimental a este respecto no es concluyente. En algunas especies se observa un aumento de la capacidad de absorción radicular a elevado CO₂, pero no en otras (Luo *et al.*, 1999). Puede variar la adquisición relativa de N y P (Niinemets *et al.*, 1999) y conducir a mayor limitación por P, sobre todo en ecosistemas mediterráneos, que ya suelen mostrar carencias de P en las actuales concentraciones atmosféricas de dióxido de carbono. También varía la respuesta en términos del cociente raíz/parte aérea (Stulen *et al.*, 1994). Así, este cociente disminuye en cebada a alto CO₂ (Martín-Olmedo *et al.*, 2002), aunque no se observan efectos en *Q. suber* (Damesin *et al.*, 1996).

Eficiencia en el uso de los nutrientes (NUE)

Dado que el fin último de la utilización de los nutrientes es la producción de biomasa y la fijación de energía, una respuesta esperable de las plantas de zonas sometidas a stress nutricional sería la de incrementar la cantidad de biomasa producida o de energía fijada en la fotosíntesis por unidad de nutriente utilizado. A este índice se le da el nombre de eficiencia en el uso de los nutrientes (NUE) y ha recibido numerosas formulaciones e interpretaciones (Garnier y Aronson, 1998).

A nivel de la planta entera, normalmente se ha estimado el NUE de diferentes especies a partir de la cantidad de biomasa sintetizada por la planta, en la mayoría de los casos durante la fase juvenil de crecimiento rápido. En cambio, cuando se trabaja con plantas adultas, que ya no incrementan su biomasa, quizá es más relevante calcular el NUE en relación a la cantidad de energía que se fija durante la fotosíntesis (PNUE), lo que se hace normalmente a partir de mediciones de intercambios gaseosos en hojas individuales.

Cuando se comparan especies de formas de vida distintas, que pueden mantener biomasa de diferentes duraciones, es importante distinguir entre la eficiencia en el uso de los nutrientes a corto y a largo término (Berendse y Aerts, 1987). El NUE a largo plazo se puede estimar como producto de dos factores: la productividad instantánea de los nutrientes (A) y el tiempo de residencia (MRT), es decir, el tiempo promedio que una unidad de nutriente pasa formando parte de la planta. Desde un principio se ha supuesto que entre A y MRT debe existir una relación de trueque, porque los rasgos de la planta que confieren una larga duración llevan aparejada aparentemente una menor productividad instantánea. Si la relación negativa entre productividad instantánea y tiempo de residencia fuera proporcional, el resultado sería una NUE similar para distintas especies y formas de crecimiento. Esta predicción se ha sometido a investigación en numerosas ocasiones con plantas jóvenes en crecimiento. En muchos casos se ha comprobado, efectivamente, que hay ciertos rasgos de las plantas que están claramente asociados a una alta productividad, pero que al mismo tiempo comportan una menor duración de la biomasa vegetal (Eckstein y Karlsson, 1997). Probablemente, el rasgo más decisivo a este respecto es la relación entre la superficie foliar y su masa (SLA). Las hojas con un alto SLA muestran normalmente una mayor productividad instantánea, a la vez que una menor duración, de modo que las variaciones en este rasgo foliar son de crucial importancia para determinar las variaciones en NUE. Sin embargo, lo cierto es que los análisis de crecimiento llevados a cabo con numerosas especies para tratar de comprobar la hipótesis de la relación negativa entre A y MRT a nivel de la planta entera no siempre han conducido a resultados concluyentes (Garnier y Aronson, 1998).

Las mediciones de la fotosíntesis han demostrado en numerosas ocasiones que existe una relación negativa entre la duración de las hojas y la eficiencia instantánea en el uso de los nutrientes (Reich *et al.*, 1999), y que de nuevo SLA se muestra como el rasgo foliar más decisivo a la hora de determinar la posición de las hojas de las diferentes especies en el espectro de valores de eficiencia y de longevidad. Una suposición común en muchos investigadores es que la mayor duración de las hojas perennifolias compensa sobradamente la disminución de la eficiencia instantánea, de modo que finalmente las hojas de larga vida resultarían más eficientes en el empleo de los nutrientes si la eficiencia se integrara a lo



Foto 1. La variedad de estrategias foliares es una característica notable de los ambientes mediterráneos, como el de la dehesa. Esta diversidad debe mantenerse en la medida de lo posible, porque las diferentes respuestas de las distintas especies al cambio climático pueden contribuir a amortiguar sus efectos.

largo de toda la vida de la hoja. Esta mayor eficiencia integrada de las especies de larga longevidad foliar permitiría explicar su mayor abundancia y su mejor adaptación a suelos pobres en nutrientes. Sin embargo, esto dista mucho de estar claro, ya que la mayoría de los estudios llevados a cabo con un gran número de especies se han limitado a medir la productividad fotosintética en hojas jóvenes. A primera vista, los resultados obtenidos exclusivamente con las hojas jóvenes apoyan la suposición de que a mayor longevidad, mayor NUE integrada, porque en la relación entre duración y productividad instantánea, la reducción de esta última es menor que el aumento de la duración de las hojas (Westoby *et al.*, 2000). De este modo, el producto productividad instantánea x longevidad de las hojas aumentaría con el incremento de la duración foliar. No obstante, también se sabe que la productividad de la fotosíntesis disminuye con la edad de las hojas (Kitajima *et al.*, 1997), por lo que un balance completo de los dos aspectos sólo sería posible tras una medición exhaustiva de las variaciones de la fotosíntesis a lo largo de toda la vida foliar.

Hay ciertas evidencias de que una prolongada exposición a concentraciones atmosféricas elevadas de CO₂ conduce a reducciones en las concentraciones foliares de nutrientes. Peñuelas y Matamala (1993), por ejemplo, han demostrado, a partir de análisis de muestras de plantas conservadas en herbarios, que las concentraciones de nitrógeno parecen haber disminuido a lo largo de los últimos 300 años. La reducción de la concentración de nutrientes a elevada concentración de CO₂ parece ser consecuencia de la dilución en una mayor masa de carbohidratos en las hojas a causa de desequilibrios entre fuente y sumideros en el reparto de los carbohidratos en la planta (Stulen *et al.*, 1994). Asimismo, una exposición prolongada a elevada concentración de dióxido de carbono puede modificar el reparto de N entre diferentes órganos de la planta. En concreto, puede incrementar la asignación de recursos a la raíz en detrimento de la parte aérea (Bazzaz, 1990). La reducción de la concentración de nutrientes en las hojas puede limitar la estimulación de la fotosíntesis por la fertilización con CO₂, porque una baja concentración de nitrógeno afecta negativamente a la fotosíntesis. En estas condiciones, la única forma en que las plantas podrían beneficiarse de un incremento en las concentraciones de CO₂ sería a través de un incremento de PNUE. Sin embargo, parece haber poca información sobre la respuesta de NUE a concentraciones elevadas de dióxido de carbono (Finzi *et al.*, 2002). En principio, PNUE podría aumentar si la concentración de CO₂ en los cloroplastos aumenta. Sin embargo, el descenso que la conductancia estomática tiende a experimentar al subir la concentración atmosférica de dióxido de carbono (Bazzaz, 1990) probablemente impediría que la concentración de CO₂ en los cloroplastos se incremente tanto como cabría esperar. Además, parece que cuando la concentración foliar de nitrógeno es baja, la proporción de N destinada al aparato fotosintético disminuye (Field y Mooney, 1986), lo que podría contribuir a disminuir PNUE. Por último, también se observa menor SLA a alta concentración de CO₂ (Bazzaz, 1990) y esto puede contribuir a reducir PNUE (Mediavilla *et al.*, 2001). Los efectos positivos de la fertilización con dióxido de carbono sobre la productividad vegetal pueden, entonces, desaparecer con la limitación por nutrientes (Bazzaz, 1990; Oren *et al.*, 2001). Esto es especialmente importante, porque contribuye a reducir la eficacia de uno de los mecanismos de regulación de las concentraciones de CO₂ en los que se depositan mayores esperanzas.

Reciclado interno

Evidentemente la necesidad de nutrientes para la producción vegetal convierte al reciclado interno en una adaptación de gran importancia. Contrariamente a los animales, las plantas tienen que poseer una maquinaria específica para obtener los nutrientes independientemente de la energía. En consecuencia, reciclar los nutrientes puede contribuir decisivamente a reducir los costes de absorción.

Un fenómeno de reciclado frecuente en la mayoría de las especies vegetales perennes es la resorción de los nutrientes limitantes desde las hojas senescentes. Las hojas, a pesar de su relativamente escasa biomasa, acumulan gran cantidad de nutrientes y además son órganos con una corta vida y, por tanto, con rápida renovación. Por ello, el reciclado eficiente de los nutrientes previamente incorporados en la hoja y que ya han llevado a cabo su contribución a la fotosíntesis puede tener un gran significado adaptativo. Por supuesto, los nutrientes pueden también reciclarse a través de la descomposición de la hojarasca en el suelo y de la reabsorción por las raíces, pero esta alternativa es evidentemente menos segura, porque, una vez en el suelo, los nutrientes pueden perderse por lixiviación, quedar inmovilizados en formas complejas o ser tomados por competidores.

Las cantidades de nutrientes resorbidos pueden variar, según las especies, entre aproximadamente el 28 y el 83 % de las máximas cantidades almacenadas en la copa para N y entre 25 y 98 % para P (Aerts, 1996). Probablemente, el mayor rango en los porcentajes observado para el fósforo refleja una mayor variabilidad en su carácter limitante. El fósforo puede ser aparentemente más limitante para el crecimiento que el nitrógeno en ciertos ambientes y poco o nada limitante en otros. El reciclado interno representa una parte considerable de las necesidades anuales de nutrientes para la construcción de la biomasa foliar. Sin embargo, a pesar del indudable valor de esta adaptación, lo cierto es que hay diferencias muy marcadas en la eficiencia de resorción de las diferentes especies, lo que sugiere que no todas tienden a maximizar la eficiencia del reciclado. Además, en contra de lo que cabría esperar, no siempre las especies de zonas más limitadas en nutrientes son las más eficaces. Por ejemplo, aunque es sabido que las perennifolias son propias de zonas más limitadas en nutrientes, no parece haber diferencias significativas entre caducifolias y perennifolias en la eficiencia de resorción (Aerts, 1996). Quizá, la falta de relación entre la limitación en nutrientes y la eficiencia de resorción se deba al efecto de otros factores limitantes, como el stress hídrico, que podrían interferir con los mecanismos que permiten incrementar la eficiencia de la resorción (Del Arco *et al.*, 1991).

Por otra parte, si el principal beneficio de una alta resorción estriba en el alargamiento del tiempo de uso de los nutrientes, parece que el incremento de la longevidad puede ser más eficaz a este respecto: para los rangos de eficiencia de resorción y de longevidad foliar observados, se ha demostrado que el alargamiento de la longevidad produce un mayor incremento del tiempo de residencia de los nutrientes en la biomasa foliar que el incremento de la resorción (Escudero *et al.*, 1992). Es posible también que no sea el porcentaje de resorción la variable más relevante, sino la concentración final de nutrientes que las distintas especies consigan en sus hojas al final de su vida, que ha sido denominada "proficiencia" de resorción (Killingbeck, 1996).

Investigación ecofisiológica: perspectivas ante el cambio global

Los ambientes mediterráneos probablemente figuran entre los más amenazados por un posible cambio climático. Una peculiaridad de estos ambientes es que, no siendo especialmente ricos en cuanto al número de especies leñosas presentes, sí lo son en variedad de estrategias foliares. Es frecuente encontrar mezcladas especies con diferentes duraciones de la vida foliar, distintas épocas de abscisión foliar y, asimismo, con tasas de intercambio gaseoso extremadamente diferentes. Sin duda, los cambios en la concentración de dióxido de carbono atmosférico y en la temperatura deben afectar de diferentes maneras a las distintas especies. La diversidad de estrategias debería contribuir a amortiguar los efectos del cambio climático, pero, por otra parte, el cambio en los equilibrios competitivos entre las diferentes especies puede tener efectos drásticos sobre la fisonomía de nuestros ecosistemas. El estudio de la ecofisiología de las especies leñosas mediterráneas y sobre todo del efecto de las diferentes estrategias

foliares sobre la eficiencia en el uso de los nutrientes es esencial para predecir las respuestas de nuestra vegetación a los cambios que se avecinan.

La repoblación forestal es una de las medidas que se proponen para controlar las concentraciones atmosféricas de dióxido de carbono. Ya hemos mencionado las dudas existentes actualmente acerca de la posibilidad de que bosques maduros puedan responder al incremento del CO₂ atmosférico con un aumento de su biomasa que secuestre parte del exceso de CO₂. En estas condiciones, sólo el incremento de la superficie forestal con ejemplares jóvenes en crecimiento podría tener efectos positivos. Sin embargo, es evidente que también las repoblaciones que se efectúen ahora se verán afectadas por el incremento gradual de concentración del CO₂ y que debemos conocer la ecofisiología de las especies empleadas en las repoblaciones para que éstas tengan el éxito esperado. Es muy posible que la respuesta al aumento de CO₂ difiera en árboles adultos y en juveniles, porque las estrategias del intercambio gaseoso suelen ser diferentes para los distintos estadios de crecimiento en una misma especie, y los individuos juveniles mantienen mayor PNUE que los adultos (Mediavilla y Escudero, en prensa). Es preciso tener en cuenta estas diferencias y analizar el comportamiento de las especies forestales en diferentes estadios, a medida que los ejemplares vayan creciendo. En definitiva, el cambio global plantea importantes retos a la investigación ecológica y es posible que en los próximos años obtengamos respuestas a muchas de las incógnitas actualmente existentes.



Foto 2. En los últimos años se ha realizado un considerable esfuerzo de repoblación forestal en muchas regiones españolas, que puede contribuir al intento de nuestro país por controlar la emisión de CO₂.

Referencias

Aerts, R. 1996. Nutrient resorption from senescing leaves of perennials: are there general patterns? *Journal of Ecology* 84: 597-608.

Aerts, R. y Chapin, F.S. 2000. The mineral nutrition of wild plants revisited: a re-evaluation of processes and patterns. *Advances in Ecological Research* 30: 1-67.

Bazzaz, F.A. 1990. The response of natural ecosystems to the rising global CO₂ levels. *Annual Review of Ecology and Systematics* 21: 167-196.

Berendse, F. y Aerts, R. 1987. Nitrogen-use-efficiency: a biologically meaningful definition? *Functional Ecology* 1: 293-296.

Chapin, F.S., Bloom, A.J., Field, C.B. y Waring, R.H. 1987. Plant responses to multiple environmental factors. *BioScience* 37: 49-57.

Damesin, C., Galera, C., Rambal, S. y Joffre, R. 1996. Effects of elevated carbon dioxide on leaf gas exchange and growth of cork-oak (*Quercus suber* L.) seedlings. *Annales de Sciences Forestieres* 53: 461-467.

Del Arco, J.M., Escudero, A. y Garrido, M.V. 1991. Effects of site characteristics on nitrogen retranslocation from senescing leaves. *Ecology* 72: 701-708.

Eckstein, R.L. y Karlsson, P.S. 1997. Above-ground growth and nutrient use by plants in a subarctic environment: effects of habitat, life-form and species. *Oikos* 79: 311-324.

Escudero, A., Del Arco, J.M., Sanz, I.C. y Ayala, J. 1992. Effects of leaf longevity and retranslocation efficiency on the retention time of nutrients in the leaf biomass of different woody species. *Oecologia* 90: 80-87.

Field, C. y Mooney, H.A. 1986. The photosynthesis - nitrogen relationship in wild plants. En *On the economy of plant form and function* (ed. Givnish, T.J.), pp. 25-55, Cambridge University Press, Cambridge.

Finzi, A.C., DeLucia, E.H., Hamilton, J.G., Richter, D.D. y Schlesinger, W.H. 2002. The nitrogen budget of a pine forest under free air CO₂ enrichment. *Oecologia* 132: 567-578.

Garnier, E. y Aronson, J. 1998. Nitrogen-use efficiency from leaf to stand level: clarifying the concept. En *Inherent variation in plant growth. Physiological mechanisms and ecological consequences* (eds. Lambers, H., Poorter, H. y Van Vuuren, M.M.I.), pp. 515-538, Backhuys Publishers, Leyden.

Gojon, A., Plassard, C. y Bussi, C. 1994. Root/shoot distribution of NO₃⁻ assimilation in herbaceous and woody species. En *A whole plant perspective on carbon-nitrogen interactions* (eds. Roy, J. y Garnier, E.), pp. 131-147, SPB Academic Publishing, The Hague.

Killingbeck, K.T. 1996. Nutrients in senesced leaves: keys to the search for potential resorption and resorption proficiency. *Ecology* 77:1716-1727.

Kitajima, K., Mulkey, S.S. y Wright, S.J. 1997. Decline of photosynthetic capacity with leaf age in relation to leaf longevities for five tropical canopy tree species. *American Journal of Botany* 84: 702-708.

Luo, Y., Reynolds, J., Wang, Y. y Wolfe, D. 1999. A search for predictive understanding of plant responses to elevated [CO₂]. *Global Change Biology* 5(2): 143-156.

Martín-Olmedo, P., Rees, R.M. y Grace, J. 2002. The influence of plants grown under elevated CO₂ and N fertilization on soil nitrogen dynamics. *Global Change Biology* 8 (7): 643-657.

Mediavilla, S. y Escudero, A. Mature trees *versus* seedlings: differences in leaf traits and gas exchange patterns in three co-occurring Mediterranean oaks. *Annals of Forest Science* (en prensa).

Mediavilla, S., Escudero, A. y Heilmeyer, H. 2001. Internal leaf anatomy and photosynthetic resource-use efficiency: interspecific and intraspecific comparisons. *Tree Physiology* 21: 251-259.

Niinemets, U., Tenhunen, J.D., Canta, N.R., Chaves, M.M., Faria, T., Pereira, J.S. y Reynolds, J.F. 1999. Interactive effects of nitrogen and phosphorus on the acclimation potential of foliage photosynthetic properties of cork oak, *Quercus suber*, to elevated atmospheric CO₂ concentrations. *Global Change Biology* 5 (4): 455-470.

Oren, R., Elisworth, D.S., Johnsen, K.H., Phillips, N., Ewers, B.E., Maier, C., Schater, K.V.R., McCarthy, H., Hendrey, G., McNutty, S.G. y Katul, G.G. 2001. Soil fertility limits carbon sequestration by forest ecosystems in a CO₂-enriched atmosphere. *Nature* 411: 469-471.

Peñuelas, J. y Matamala, R. 1993. Variations in the mineral composition of herbarium plant species collected during the last three centuries. *Journal of Experimental Botany* 44: 1523-1525.

Poorter H (1994) Construction costs and payback time of biomass: a whole plant perspective. En *A whole plant perspective on carbon-nitrogen interactions* (eds. Roy, J. y Garnier, E.), pp. 111-127, SPB Academic Publishing, The Hague.

Reich, P.B., Ellsworth, D.S., Walters, M.B., Vose, J.M., Gresham, C.H., Volin, J.C. y Bowman, W.D. 1999. Generality of leaf trait relationships: a test across six biomes. *Ecology* 80: 1955-1969.

Stulen, I., den Hertog, J., Drelon, F. y Roy, J. 1994. An integrated approach to the influence of CO₂ on plant growth using data for three herbaceous species. En *A whole plant perspective on carbon-nitrogen interactions* (eds. Roy, J. y Garnier, E.), pp. 229-245, SPB Academic Publishing, The Hague.

Westoby, M., Warton, D. y Reich, P. 2000. The time value of leaf area. *American Naturalist* 155: 649-656.