

# RELACIONES HÍDRICAS Y POTENCIAL DE FORMACIÓN DE RAICES EN PLÁNTULAS DE *PINUS HALEPENSIS* MILL. SOMETIDAS A DIFERENTES NIVELES DE ENDURECIMIENTO POR ESTRÉS HÍDRICO

Pedro Villar Salvador, Luis Ocaña, Juan Peñuelas, Inmaculada Carrasco, Susana Domínguez, & Iván Renilla

Centro de Mejora Forestal "El Serranillo". Ctra. Fontanar Km. 2, Apdo. 249, 19004 GUADALAJARA

## RESUMEN

En este trabajo se analizó el efecto de diferentes niveles de endurecimiento por estrés hídrico en características relacionadas con la resistencia a estrés hídrico en plántulas de *Pinus halepensis*. Los caracteres examinados fueron el grado de ajuste osmótico y variación de la elasticidad de las paredes celulares, la transpiración cuticular y el potencial de formación de raíces. Los tratamientos de estrés hídrico fueron aplicados a base de someter a las plantas a ciclos de sequía, desde valores en saturación hasta unos niveles de desecación definidos por los potenciales hídrico base de las plantas. Los niveles o tratamientos de desecación fueron un testigo, que corresponde al nivel de riego aplicado en el Centro de Mejora Forestal durante la fase de endurecimiento, caracterizado por un potencial hídrico base medio de -0,78 MPa, un nivel A bajo de estrés hídrico bajo (-1,2MPa), un nivel B de estrés moderado (-1,8 MPa) y un nivel C de estrés fuerte (-2,2 MPa).

Los resultados obtenidos indican que no hubo diferencias significativas entre tratamientos en el potencial osmótico en satura-

ción ni en el módulo de elasticidad, lo que indica que ninguno de los tratamientos fue capaz de inducir de ajustes osmóticos ni modificaciones en la elasticidad de las paredes. Los tratamientos que mayor nivel de estrés hídrico recibieron desarrollaron una transpiración cuticular significativamente menor que los tratamientos testigo y A. El potencial de formación de raíces presentó valores semejantes en los tratamientos testigo, A y B, mientras que el tratamiento C, el de mayor estrés hídrico, mostró valores significativamente menores que los otros tres tratamientos.

## INTRODUCCIÓN

Durante la fase de establecimiento en campo las plántulas forestales pueden experimentar periodos de estrés hídrico (KAUSHAL & AUSSENAC, 1989) como resultado de su limitada capacidad de absorber agua, fenómeno que incluso puede ocurrir con el suelo bien hidratado. Ello puede ser debido a las bajas temperaturas del suelo durante el periodo invernal, que aumentan la rigidez de las membranas celulares y la viscosidad del agua

dificultando su absorción, a una fuerte descompensación de la parte aérea de la plántula con respecto a su sistema radical, a una elevada resistencia hidráulica de las raíces, o simplemente a la falta de una conexión íntima entre la matriz del suelo y el cepellón (BURDETT, 1990). Esto implica, que mientras la planta no sea capaz de desarrollar un nuevo sistema radicular y, por tanto, de recuperar un estado hídrico óptimo (BURDETT, 1987), las plántulas deben de ser capaces de resistir las situaciones de estrés hídrico que puedan presentarse. Esta capacidad va a depender, en gran medida, de que la plántulas presenten una serie de características morfológicas y un estado fisiológico concreto en el momento de la plantación, y que dicho estado perdure durante la fase de establecimiento. Estas características morfológicas y estado fisiológico pueden ser, en gran medida, determinados por las condiciones de cultivo en vivero (VAN DEN DRIESSCHE, 1992).

De las diferentes fases en las que tradicionalmente se divide el cultivo de la plántula forestal, la fase de endurecimiento tiene como objeto frenar su crecimiento apical y forzar la entrada de la planta en dormancia, activando y/o potenciando por tanto sus mecanismos de resistencia a condiciones de estrés. Esta fase del cultivo emula el proceso natural de endurecimiento que experimentan un gran número de plantas leñosas de latitudes medias y altas, estimuladas por el acortamiento del fotoperiodo y la disminución de la temperatura (KRAMER & KOZLOWSKI, 1979; GROSSNICKLE *et al.*, 1991) a medida que finaliza la estación de crecimiento. Dicho proceso natural de endurecimiento conlleva aparejadas una serie de modificaciones fisiológicas, que comprenden cambios en los patrones de alocaión de biomasa y el acúmulo de solutos en el interior de las células, los cuales son la base para la resistencia de la planta a las bajas temperaturas y al estrés hídrico (KRAMER & KOZLOWSKI, 1979). El estrés hídrico también puede fomentar la entrada de las plántulas en dormancia (LANDIS *et al.*, 1989) y fomentar sus mecanismos fisiológicos de resistencia tanto al estrés hídrico (ROOK, 1973; FANJUL & ROSHER, 1984; JOHNSON *et al.*, 1984;

PARKER & PALLARDY, 1985; JOLY & ZAERR, 1987; ABRAMS & KUBISKE, 1990; BLAKE *et al.*, 1991) como al impuesto por bajas temperaturas. Igualmente, algunos autores han observado que el preacondicionamiento de las plántulas por estrés hídrico en la última fase de cultivo también puede incrementar el potencial de formación de raíces (ROOK, 1973; ALI-ABOD & SANDI, 1983; AUSSENAC & EL NOUR, 1985; VAN DEN DRIESSCHE, 1992), factor que frecuentemente se ha relacionado con el desarrollo (supervivencia y crecimiento) de las plántulas en campo (RITCHIE & DUNLAP, 1980; BURDETT *et al.*, 1983; BURDETT, 1987; SIMPSON *et al.*, 1994).

El objetivo de este trabajo es evaluar el efecto de distintos niveles de estrés hídrico, aplicados durante la fase de endurecimiento, en una serie de parámetros fisiológicos de plántulas de *Pinus halepensis* relacionados con la capacidad de resistir estrés hídrico. Los parámetros examinados son la tasa de transpiración cuticular, grado de ajuste osmótico, cambios en la elasticidad de las paredes celulares y el potencial de formación de raíces. Los datos de este trabajo son los primeros resultados de una línea de experimentación cuyo objetivo es perfilar metodologías de endurecimiento en las especies de mayor interés forestal y que se enmarca dentro del objetivo del Centro de Mejora Forestal "El Serranillo" de incrementar la calidad de la plántula forestal a través de la mejora y definición de metodologías de cultivo adecuadas para cada especie.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Características de las plantas empleadas

Las plántulas de *P. halepensis* fueron cultivadas en el vivero de Tragsa-El Palomar, en San Fernando de Henares (Madrid) durante el año 1995. Las semillas utilizadas procedieron de un lote de Levante interior. La siembra se realizó a finales de Marzo en contenedores del tipo <sup>®</sup>Forest Pot-300, siendo el sustrato empleado una mezcla de turba y vermiculita (80-20%). A finales de Junio comenzó la aplicación de la fertili-

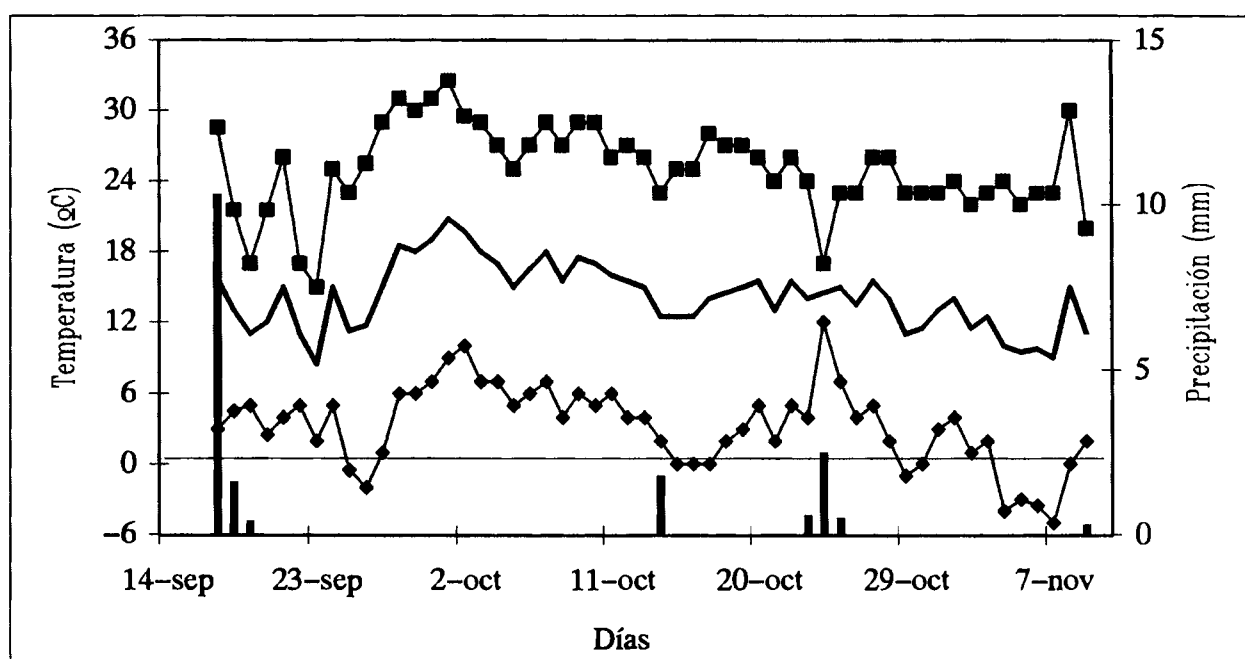


Figura 1. Temperatura máxima (■), temperatura media (—), temperatura mínima (◆) y precipitaciones (barras) registradas durante el ensayo en el Centro de Mejora Forestal "El Serranillo".

zación de arranque, consistente en 0,74 mg de N, 1,8 mg de P y 1,5 mg de K por planta, aplicada dos veces por semana. En la tercera semana de julio y con una periodicidad de dos veces por semana, se empezó a aplicar una fertilización de crecimiento de 2,26 mg de N, 0,76 mg de P y 2,15 mg de K por planta. La fertilización de endurecimiento comenzó a aplicarse en la segunda semana de agosto y consistió en 0,42 mg de N, 2,64 mg de P y 3,70 mg de K por planta, aplicada una vez por semana y que continuó hasta el comienzo del experimento (14 de septiembre). Hasta la segunda quincena de junio el riego fue diario, durante 20 minutos. Desde la segunda quincena de junio hasta el comienzo del ensayo de endurecimiento los riegos fueron diarios y de una duración de 40-45 minutos. La altura y diámetro medio de las plántulas antes de comenzar el ensayo fue  $16.6 \pm 0.28$  cm y  $2.54 \pm 0.06$  mm (media  $\pm$  un error estándar), respectivamente.

### Diseño experimental

Se eligieron al azar 1500 plantas que fueron repartidas en cuatro grupos, cada uno

representando un nivel de desecación diferente. Para aplicar los diferentes niveles de estrés hídrico se sometió a las plantas a ciclos repetidos de sequía, controlándose los niveles de desecación a través del potencial hídrico base medio de las plántulas. Los niveles de estrés hídrico establecidos fueron un testigo, un tratamiento A con un nivel bajo de estrés hídrico (-1.2 MPa), un tratamiento B con un nivel moderado de estrés (-1.8 MPa) y un tratamiento C con un nivel fuerte de estrés hídrico (-2.2 MPa). El tratamiento testigo consistió en el régimen de riego que tradicionalmente se aplica en el Centro de Mejora Forestal "El Serranillo" durante la fase de endurecimiento, y que consiste en que los momentos de riego son decididos por una verificación de *visu* del grado de humedad de los cepellones realizada por un mismo observador. Para caracterizar los potenciales hídricos base alcanzados por el tratamiento testigo se midió su potencial hídrico de las plántulas testigo la madrugada antes de que el observador decidiese regar, siendo -0.57, -0.75, -1.06, -0.83 y -0.67 MPa los valores obtenidos (hubo un ciclo en donde el potencial base no fue determinado). La media de

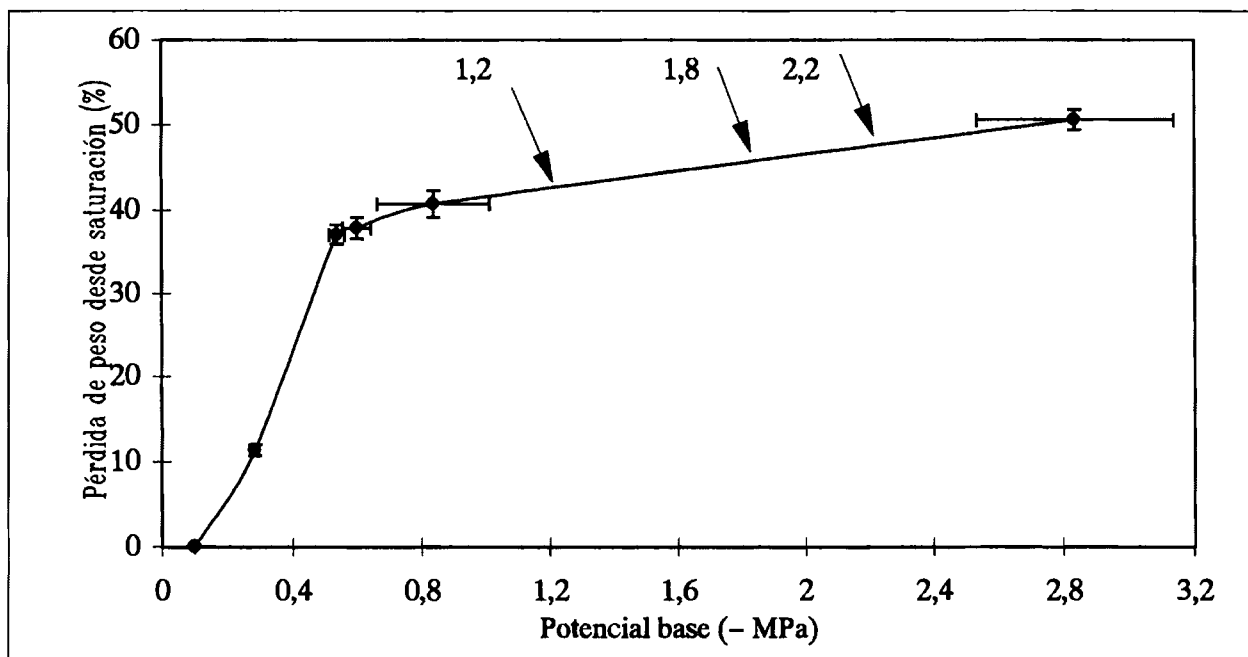


Figura 2. Relación entre el porcentaje de pérdida de peso del sistema contenedor + planta con respecto a saturación y el potencial hídrico base de las plantas. Las flechas indican los puntos de porcentaje de pérdida de peso de los niveles de desecación seleccionados en el estudio.

los potenciales hídricos base de los ciclos de sequía experimentados por el tratamiento testigo en el ensayo fue  $-0,78$  MPa.

El criterio elegido para fijar el nivel de mayor estrés hídrico fue establecido en base al potencial hídrico en el punto de pérdida de turgencia de las plantas que iban a ser utilizadas en el ensayo, punto que puede asumirse como el potencial hídrico de cierre completo de los estomas. Dicho punto fue determinado por medio de seis curvas presión-volumen (ROBICHAUX, 1984), oscilando su valor entre  $-1,9$  y  $-2,2$  MPa.

El ensayo comenzó el día 14 de septiembre y finalizó el 10 de Noviembre (57 días). El día de comienzo se regaron todas las bandejas hasta saturar los cepellones. Las plantas fueron dejadas al aire libre, tapándose con un plástico opaco o trasladadas a un invernadero solamente durante los breves episodios de lluvia que se registraron a lo largo del ensayo (Figura 1). La medida del potencial hídrico base en los diferentes tratamientos fue hecha con una cámara de Scholander, empleándose las ramas laterales de cinco plantas por tratamiento, seleccionadas al azar. Una vez que

cada tratamiento alcanzaba su potencial hídrico base correspondiente las plantas se regaban hasta empapar sus cepellones y de nuevo comenzaba un ciclo de sequía..

Con el fin de minimizar el impacto del muestreo de plantas del ensayo para determinar el potencial hídrico, se construyó unos días antes de comenzar el experimento una curva que relacionaba la pérdida de peso del sistema bandeja + planta desde saturación con el potencial hídrico base medio de las plantas (Figura 2). De este modo era posible predecir el potencial hídrico base de las plantas a través de pesadas periódicas de las bandejas. Solamente se muestreaban directamente las plantas de los diferentes tratamientos cuando el porcentaje de pérdida de peso del sistema bandeja+planta se aproximaba al potencial hídrico base límite correspondiente a cada tratamiento (Figura 2).

El número de ciclos de sequía que experimentaron los diferentes tratamientos fueron:

Testigo: 6 ciclos

Tratamiento A ( $-1,2$  MPa): 4 ciclos + 8 días

Tratamiento B (-1.8 MPa): 2 ciclos + 21 días

Tratamiento C (-2.2 MPa): 2 ciclos + 20 días

La fertilización empleada durante el ensayo fue la misma que la aplicada durante la fase de endurecimiento del cultivo, y ya mencionada previamente. Solamente se fertilizó una vez en cada tratamiento después de concluir su primer ciclo de sequía. Una vez completado los 57 días que duró el ensayo se volvió a aplicar a todos los tratamientos una fertilización de endurecimiento.

Durante el ensayo el tiempo fue en general seco y bastante más templado de lo normal. La precipitación total registrada durante el ensayo fue de menos de 18mm y el número de días con helada de 10 (Figura 1)

### Evaluación de los diferentes tratamientos

Con el fin de determinar el efecto de los diferentes tratamientos de sequía, se realizaron una serie de pruebas encaminadas a testar diferencias en parámetros que en plantas clásicamente han sido relacionados con resistencia al estrés hídrico de las plántulas. Dichos parámetros han sido: grado de ajuste osmótico y variación de la elasticidad de las paredes celulares, tasa de transpiración cuticular y potencial de formación de nuevas raíces.

El grado de ajuste osmótico y de variación de la elasticidad de las paredes celulares fue determinado por medio de curvas presión-volumen, las cuales se construyeron según el procedimiento descrito por ROBICHAUX (1984) utilizándose para ello de 8-10 plántulas por cada tratamiento. Las plantas fueron previamente resaturadas a partir de los cepellones completamente empapados y dejadas toda la noche envueltas en plásticos. De cada curva se calculó el potencial osmótico de la planta en saturación ( $\Psi_{\pi s}$ ), el potencial osmótico en el punto de pérdida de turgencia ( $\Psi_{\pi t}$ ), el déficit de saturación hídrico de la planta en el punto de pérdida de turgencia ( $DSH_{pt}$ ) y el valor máximo del módulo de elasticidad de las paredes celulares

( $E_{max}$ ), que corresponde al módulo de elasticidad cerca del punto de máxima turgencia. Para la determinación de  $E_{max}$  no se utilizó la ecuación propuesta por ROBICHAUX (1984) sino a través de la expresión:

$$E_{max} = (\Psi_0 - \Psi_1) / (CRH_0 - CRH_1) (CRH_0)$$

(PALLARDY et al., 1991)

donde  $\Psi_0$  y  $\Psi_1$  corresponden, respectivamente, al potencial hídrico de la planta en saturación y al punto donde el contenido relativo de agua en la plántula es del 97% respecto al de saturación.  $CRH_0$  y  $CRH_1$  son respectivamente el contenido relativo de agua de la plántula cuando la planta está saturada de agua y en el punto donde el contenido de agua en la planta es el 97% respecto al de saturación. El CRH se determina como:

$$CRH = (P_x - P_s) / (P_0 - P_s) * 100,$$

siendo  $P_x$  el peso fresco de la planta,  $P_0$  el peso fresco de la planta en saturación y  $P_s$  el peso seco de la planta.

Para la determinación de la tasa de transpiración cuticular de cada tratamiento se regaron 10 plántulas por tratamiento, elegidas al azar, hasta empapar los cepellones y se dejaron resaturar toda la noche envueltas en una bolsa de plástico. Por la mañana las partes aéreas fueron cortadas y dejadas desecar a oscuras durante más de ocho horas en una habitación cuya temperatura y humedad relativa fue de  $16.6 \pm 0.07$  °C y  $51.8 \pm 0.57\%$  (media  $\pm$  un error estándar), respectivamente, medidas con los sensores de un porómetro Licor LI-1600. A intervalos regulares de aproximadamente 1 hora se procedió a pesar cada planta, hasta obtenerse una curva de pérdida de peso. La pendiente de la parte lineal de dicha curva se asume que es la tasa de pérdida de agua por las paredes exteriores. Dicha tasa fue dividida por el peso seco de la planta con el fin de relativizar los datos, expresándose la transpiración cuticular en moles de agua por unidad de tiempo y de peso seco.

El potencial de formación de raíces (PFR) de las plantas de los diferentes tratamientos fue evaluada como el número y la longitud total de nuevas raíces >10mm por planta que se forman durante un periodo determinado al trasplantar 15 plantas/tratamiento seleccionadas al azar en contenedores de 3 l rellenas de perlita. En el momento del trasplante ninguna de las plántulas presentaba puntas blancas en la parte externa de los cepellones y no se limpiaron éstos del sustrato antes del trasplante. Las plántulas fueron dejadas durante 40 días en un invernadero cuya temperatura media durante este periodo fue de 16.6 °C. Las plantas fueron regadas cada 2-3 días y fertilizadas con abono de liberación lenta. Con el fin de garantizar el crecimiento de las plantas y romper su posible dormancia, las plantas fueron iluminadas durante breves periodos (1 minuto cada 30 minutos) con luz de incandescencia (> 430 lux) en las horas nocturnas. Una vez transcurridos 40 días, las plantas fueron extraídas y se cortaron todas las raíces blancas superiores a 1cm que se proyectaban fuera del cepellón, siendo congeladas hasta su procesamiento. El número total de raíces por planta y su longitud fueron determinadas con un analizador de imágenes.

Tanto las curvas presión volumen como la transpiración cuticular y el montaje del test de PFR fueron realizados durante los diez días posteriores a la conclusión del periodo de endurecimiento.

### Análisis de datos

Los datos fueron analizados por medio de análisis de la varianza de una vía, siendo  $\alpha=0.05$  el nivel de significación. En cada análisis las varianzas presentaron homogeneidad, exceptuando la variable longitud de las raíces en cuyo caso se realizó una transformación del tipo  $X'=(X+3/8)^{1/2}$  (ZAR, 1984) con el fin de conseguir la deseada homocedasticidad. Las comparaciones entre las medias de los tratamientos se realizaron a través de la prueba de "la menor diferencia significativa de Fisher" (Fisher's LSD).

## RESULTADOS

### Potenciales osmóticos, déficit de saturación hídrica y módulo de elasticidad

La Tabla 1 recoge los resultados de los parámetros obtenidos de las curvas presión volumen en los diferentes tratamientos. Las plantas del tratamiento A presentaron para todas las variables examinadas valores más bajos que las de los restantes tratamientos, si bien las diferencias fueron muy pequeñas y estadísticamente no significativas. Si no se considera el testigo, se observa que entre los tratamientos A, B y C se produjo una tendencia de  $\Psi\pi_{pt}$  y  $\Psi\pi_s$  a disminuir y un incremento del  $DSH_{pt}$ , si bien las diferencias tampoco fueron significativas. En el caso de  $E_{max}$ , el tratamiento B mostró los valores más eleva-

**Tabla 1.** Potencial osmótico en el punto de pérdida de turgencia ( $\Psi\pi_{pt}$ ) y en el punto de saturación ( $\Psi\pi_s$ ), déficit de saturación hídrica en el punto de pérdida de turgencia ( $DSH_{pt}$ ) y el módulo de elasticidad cerca del punto de saturación ( $E_{max}$ ) en los diferentes tratamientos de endurecimiento. Valores en una columna con la misma letra indica que no presentan diferencias significativas ( $P>0.05$ )

Tratamiento	$\Psi\pi_{pt}$ (MPa)	$\Psi\pi_s$ (MPa)	$DSH_{pt}$ (%)	$E_{max}$ (MPa)
Testigo (-0.78 MPa)	-2.17 ± 0.091 <sup>a</sup>	-1.65 ± 0.080 <sup>a</sup>	17.4 ± 0.96 <sup>a</sup>	9.19 ± 1.084 <sup>a</sup>
A (-1.2 MPa)	-2.08 ± 0.087 <sup>a</sup>	-1.63 ± 0.080 <sup>a</sup>	14.5 ± 1.39 <sup>a</sup>	8.45 ± 1.488 <sup>a</sup>
B (-1.8 MPa)	-2.19 ± 0.056 <sup>a</sup>	-1.66 ± 0.067 <sup>a</sup>	15.9 ± 0.93 <sup>a</sup>	10.9 ± 1.429 <sup>a</sup>
C (-2.2 MPa)	-2.21 ± 0.091 <sup>a</sup>	-1.72 ± 0.060 <sup>a</sup>	16.3 ± 1.03 <sup>a</sup>	9.40 ± 0.835 <sup>a</sup>

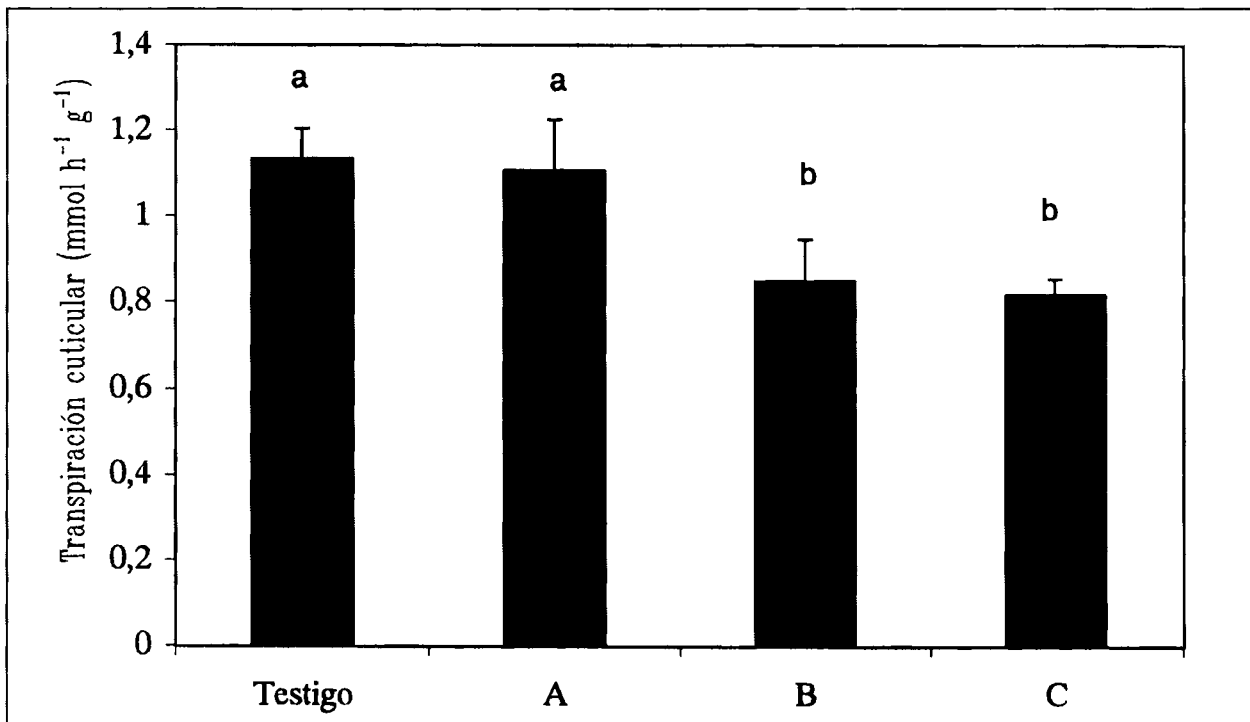


Figura 3. Transpiración cuticular de plántulas de *Pinus halepensis* sometidas a cuatro niveles de endurecimiento por estrés hídrico. Tratamientos con la misma letra indica que no presentan diferencias significativas ( $P \geq 0.05$ ). A=1,2MPa; B=1,8MPa; C=2,2MPa.

dos observándose una diferencia de 0.25 MPa con respecto al tratamiento A. Las plantas del tratamiento testigo mostraron de media valores superiores al tratamiento A y prácticamente iguales a las del tratamiento C.

### Transpiración cuticular

Los tratamientos testigo y A presentaron tasas de transpiración cuticular prácticamente iguales entre si, pero significativamente mayores que los tratamientos B y C (Figura 3), los cuales mostraron un 25 y un 28% respectivamente menos de pérdida de agua por las paredes externas de la epidermis que el testigo.

### Potencial de formación de raíces

Los datos obtenidos muestran que las plantas del tratamiento C desarrollaron significativamente menos raíces por planta que las plantas de los restantes tratamientos, no observándose diferencias entre los otros tres

tratamientos (Figura 4A). La longitud total media de raíces por planta siguió una tendencia similar, si bien las diferencias no fueron estadísticamente significativas (Figura 4B).

### DISCUSIÓN

La capacidad de realizar de un modo activo ajustes osmóticos y el incremento en la elasticidad de las paredes (disminución del módulo de elasticidad) son mecanismos que tradicionalmente han sido relacionados con una mayor capacidad de las plantas de resistir situaciones de estrés hídrico. Por ambos mecanismos las plantas son capaces de mantener potenciales de turgencia, y por tanto de mantener capacidad de crecimiento y fotosíntesis, a potenciales hídricos más negativos y contenidos de agua más bajos. Los datos obtenidos en este trabajo señalan que no existieron variaciones significativas en dichos parámetros. En el caso del  $\Psi_{\pi}$  la diferencia más alta entre tratamientos fue de

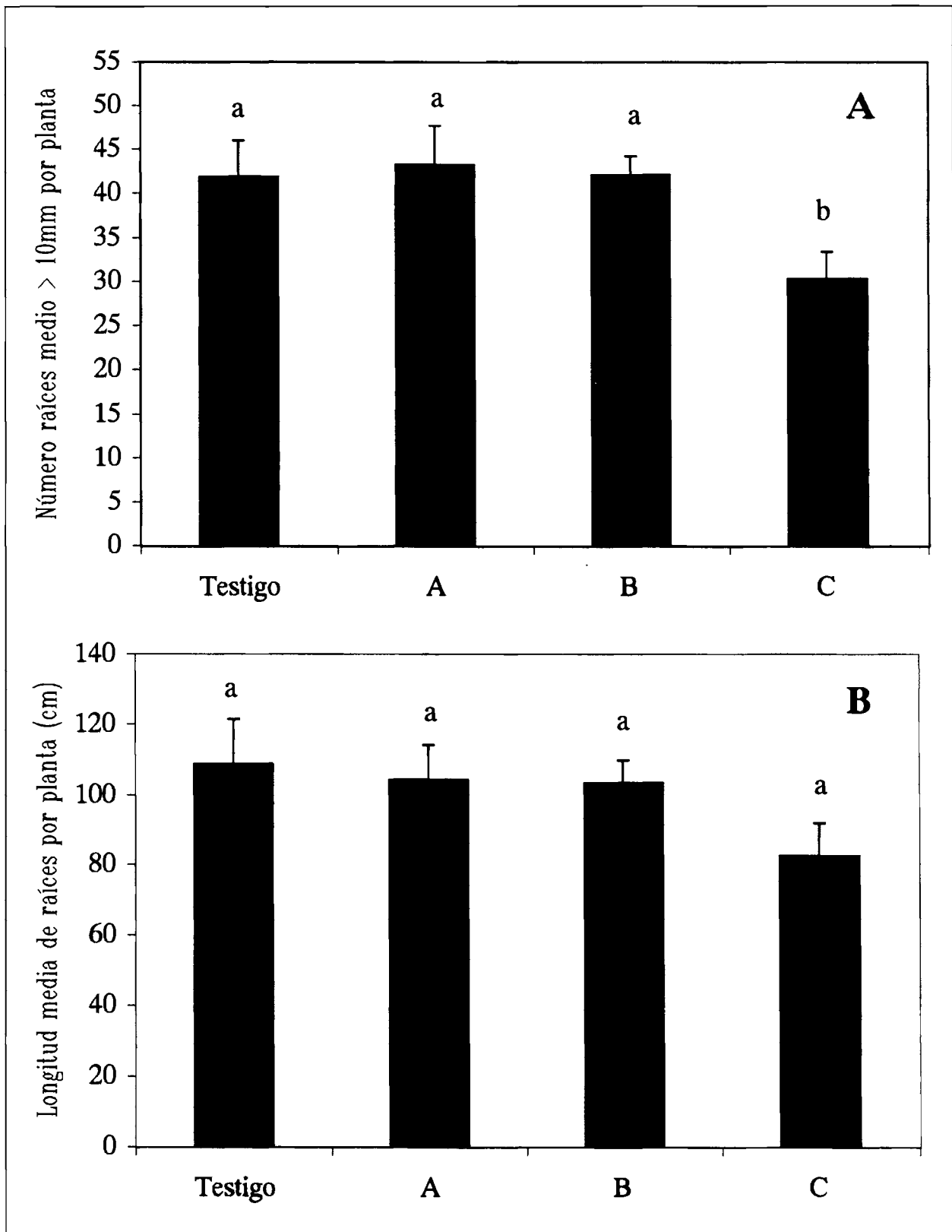


Figura 4. Potencial de formación de raíces expresado como número de raíces nuevas >10mm por planta (A) y la longitud media de raíces por planta (B) en plántulas de *Pinus halepensis* sometidas a cuatro niveles de endurecimiento por estrés hídrico. Tratamientos con la misma letra indica que no presentan diferencias significativas ( $P \geq 0.05$ ). A=1,2MPa; B=1,8MPa; C=2,2MPa.



sólo 0,09 MPa, concretamente entre el tratamiento A y el C. Dicha diferencia es muy pequeña si se compara con los datos significativos obtenidos por otros autores que normalmente observan ajustes superiores a -0,2 MPa, llegando algunos autores a medir diferencias de -0,4 a -0,6 MPa (HENNESSEY & DOUGHERTY 1984; JOLY & ZAERR, 1987; BLAKE et al., 1991, CHOI, 1992). Ello permite concluir, que en las condiciones en las que se realizó el ensayo y el nivel de muestreo efectuado, las plántulas de *Pinus halepensis* no realizaron ajuste osmótico. En el mismo sentido se comportó Emax, siendo la mayor diferencia entre el tratamiento A y B de 2,5 MPa. Los valores significativos registrados en la literatura suelen ser superiores a 3 MPa, oscilando normalmente entre 3 y 6 MPa (MELKONIAN et al., 1982; JOLY & ZAERR, 1987; BLAKE et al., 1991). En consonancia con la ausencia de ajuste osmótico apreciable y de cambios en la elasticidad de las paredes celulares, el déficit de saturación hídrica y el potencial osmótico en el punto de pérdida de turgencia tampoco presentaron diferencias significativas.

La razón de la ausencia de ajustes tanto osmóticos como en la elasticidad de las paredes puede deberse a varios factores. Uno de ellos ha podido ser que el tiempo de duración del ensayo no ha sido suficientemente largo para inducir cambios. En este sentido, en un experimento de precondicionamiento por estrés hídrico de *P. taeda*, HENNESSEY & DOUGHERTY (1984) observaron que la diferencia entre tratamientos empezaba a manifestarse al cabo de 75 días, pero no era significativa hasta transcurridos 135 días desde el comienzo del precondicionamiento. Otra causa que puede explicar la falta de respuesta podría ser la carencia de una nutrición adecuada durante el endurecimiento. En nuestro caso solamente se fertilizó una vez después de finalizar el primer ciclo de sequía de cada tratamiento por lo que quizás se pudo haber influido en la respuesta de las plántulas. Tampoco es de descartar la posibilidad de que *P. halepensis* sea incapaz de realizar estas modificaciones en respuesta a estrés hídrico, tal como ya han demostrado ciertos autores en otras especies (ARNOTT et

al. 1993; ABRAMS & KUBISKE, 1994), mientras que otros, registraron solamente variaciones en la elasticidad de las paredes, pero no ajustes osmóticos (STEWART & LIEFFERS, 1993).

De las variables examinadas en este trabajo, la transpiración cuticular es la que ha presentado los resultados más interesantes. Los dos tratamientos que recibieron mayor nivel de estrés, presentaron aproximadamente un 25 % menos de pérdida de agua por las paredes epidérmicas externas que el tratamiento testigo, un resultado que también se ha observado al someter a endurecimiento por estrés hídrico plántulas de *Pinus radiata* (ROOKS, 1973). Este resultado implica, que ante situaciones en donde la planta se ve obligada a un importante cierre estomático, como pueden suponer situaciones reales de campo, la difusión de agua por las paredes celulares exteriores es claramente menor en las plantas sometidas a mayor endurecimiento, y por lo tanto en condiciones de fuerte estrés hídrico estas plantas serían capaces de mantener durante más tiempo sus reservas de agua. La mejora en la resistencia cuticular por parte de los tratamiento más endurecidos podría deberse a un incremento del espesor de la cutícula propiamente dicha y la parte cutinizada de la pared celular externa (BAIG & TRANQUILLINI, 1976). Estos autores observaron en un gradiente altitudinal una relación entre la transpiración cuticular en *Picea abies* y *Pinus cembra* y el espesor de dichas capas de la pared celular externa.

El patrón de respuesta mostrada en el test de PFR después del proceso de endurecimiento no mostró diferencias entre tratamientos, excepto el tratamiento C, de mayor nivel de endurecimiento, que presentó menor número y longitud de raíces que los otros tratamientos. Este dato contrasta, sin embargo, con los registrados en otros trabajos en los que se observa que el sometimiento del cultivo a un cierto nivel de estrés hídrico al final del cultivo incrementa su PFR (ROOK, 1973; ALI-ABOD & SANDI, 1983; AUSSENAC & EL NOUR, 1985; VAN DEN DRIESSCHE, 1992). Un mayor PFR ha sido relacionado con una mayor capacidad de desarrollo de las plantas

en campo (RITCHIE & DUNLAP, 1980; BURDETT et al., 1983; BURDETT, 1987; SIMPSON et al., 1994). Para explicar esta relación se han propuesto tres hipótesis básicas (ver BURDETT, 1987). La primera hipótesis establece que un PFR elevado se correlaciona con una mayor capacidad de las plántulas de formar raíces en campo y consecuentemente por una mayor capacidad de las mismas de evitar situaciones de estrés hídrico. Una segunda hipótesis establece que la existencia de una relación entre un elevado PFR y una mayor capacidad de desarrollo en campo se debe a que un alto PFR indica que la planta está en un estado de máxima resistencia a condiciones de estrés. La tercera hipótesis establece que el test de PFR es simplemente una medida de la integridad funcional de la plántula; un buen potencial de formación de raíces indicaría, por tanto, que las raíces están vivas y son eficaces en la absorción de agua y la parte aérea se encontraría en un estado fisiológico óptimo.

Si relacionamos los datos de PFR obtenidos en este trabajo con las hipótesis esbozadas, se podría interpretar que tanto las plantas del tratamiento testigo como las de los tratamientos A y B podrían exhibir capacidades de desarrollo en campo y estados vitales semejantes entre sí pero superiores a las plantas del tratamiento C, el cual podría presentar un estado de menor vitalidad debido quizás a un excesivo nivel de endurecimiento. No obstante esta interpretación debe de tomarse con cautela ya que quizás la diferencia observada no sea suficientemente grande para tener implicaciones funcionales. De hecho, la correlación entre el PFR y el desarrollo de las plantas en campo solamente aparece clara cuando existe un rango muy amplio de valores de PFR (BURDETT, 1987; GROSSNICKLE et al., 1991). En este estudio, todos los tratamientos de endurecimiento desarrollaron de media más de 30 raíces, valor que en muchas especies se ha correlacionado con valores de supervivencia en campo superiores al 80% (BURDETT et al., 1983; SIMPSON, 1990).

Como conclusión, podemos afirmar que la transpiración cuticular ha sido la variable

que ha mostrado los resultados más claros observándose una significativa disminución en los dos tratamientos sometidos a mayor nivel de estrés hídrico. En las condiciones de este ensayo, las plántulas de *P. halepensis* no presentaron ajustes osmóticos ni variaciones significativas en el módulo de elasticidad de las paredes celulares. En cuanto al potencial de formación de raíces, el tratamiento que mayor nivel de endurecimiento recibió presentó un menor PFR que los otros tres tratamientos, los cuales no difirieron entre sí.

Los datos aportados en este estudio son los primeros resultados de un estudio más amplio que también intenta conocer el efecto del endurecimiento por estrés hídrico sobre el patrón de acúmulo de reservas de carbohidratos y nitrógeno en la planta, y otros mecanismos de resistencia al estrés hídrico en *P. halepensis*. Los resultados obtenidos también abren nuevos interrogantes sobre qué condiciones pueden mejorar el nivel de endurecimiento de las plántulas de *P. halepensis*, tales como la duración y momento de comienzo del periodo de endurecimiento, la utilidad de aplicar niveles más bajos de estrés hídrico o la influencia de las interacciones de los ciclos de sequía con diferentes niveles de fertilización. Por otro lado, es necesario hacer énfasis en la necesidad de continuar investigando sobre aspectos básicos del funcionamiento de *P. halepensis*, con el fin de crear una base de datos y un marco de conocimiento adecuado en el que podamos basar en el futuro los criterios de calidad de dicha especie y las estrategias adecuadas de cultivo en vivero.

## BIBLIOGRAFÍA

- ABRAMS, MD. & KUBISCHE, ME.; 1994. Synchronous changes in tissue water parameters of mature foliage from well-watered and periodically droughted tree seedlings. *J. Exp. Bot.* 45:171-177.
- ABRAMS, MD. & KUBISCHE, ME.; 1990. Photosynthesis and water relations during drought in *Acer rubrum* L. genotypes from contrasting sites in central Pennsylvania. *Functional Ecology* 4:727-733.

- ALI ABOD, S. & SANDI, S.; (1983). Effect of restricted watering and its combination with root pruning on root growth capacity, water status and food reserves of *Pinus caribea* var. *hondurensis* seedlings. *Plant and Soil* 71:123-120.
- ARNOTT, JT; GROSSNICKLE, SC.; PUTTONEN, P.; MITCHELL, AK. & FOLK, RS.; (1993). Influence of nursery culture on growth, cold hardiness, and drought resistance of yellow cypress. *Can. J. For. Res.* 23:2537-2547.
- AUSSENAC, G. & EL NOUR, M.; (1985). Utilisation des contraintes hydriques pour le préconditionnement des plantes avant plantation; premières observations pour le cedre et le pin noir. *Biologie et Forêt* 37:371-376.
- BAIG & TRANQUILLINI (1976).; Studies on the upper timberline: morphology and anatomy of Norway spruce (*Picea abies*) and stone pine (*Pinus cembra*) needles from various habitat conditions. *Can J. Bot.* 54:1622-1632.
- BLAKE, T.J. & BEVILACQUA, E.; (1991). Effects of repeated stress on turgor pressure and cell elasticity changes in black spruce seedlings. *Can J. For. Res.* 21:1329-1333.
- BURDETT, A.N.; (1987). Understanding root growth capacity: theoretical considerations in assessing planting stock quality by means of root growth tests. *Can. J. For. Res.* 17: 768-775.
- BURDETT, A.N.; (1990). Physiological processes in plantatio establishment and the development of specifications for forest planting. *Can. J. For. Res.* 20: 415-427.
- BURDETT, AN.; SIMPSON, DG. & THOMPSON, CF. (1983). Root development and plantation establishment success. *Plant Soil* 71:103-110.
- CHOI, H.S.; (1992). Variation in water potential components among half-sib families of shortleaf pine (*Pinus echinata*) in response to soil drought. *Can. J. For. Res.* 22:111-116.
- FANJUL, L. & ROSHER, P.H. (1984). Effects of water stress on internal water relations of apple leaves. *Physiol. Plant.* 62:321-328.
- GROSSNICKLE, S.C.; ARNOTT, J.T.; MAJOR, J.E. & TSCHAPLINSKI, T.J.; 1991. Influence of dormancy induction treatments on western hemlock seedlings. I. Seedling development and stock quality assessment. *Can. J. For. Res.* 21: 164-174.
- JOHNSON, RC.; NGUYEN, HT. & CROY, LL.; 1984. Osmotic adjustment and solute accumulation in two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Science* 24:957-961
- JOLY, RJ. & ZAERR, JB.; (1987). Alteration of cell-wall water content and elasticity in Douglas-fir during periods of water deficit. *Plant Physiol.* 83:418-422.
- KAUSHAL, P. & AUSSENAC, G.; 1989. Transplanting shock in corsican pine and cedar of Atlas seedlings: Internal water deficits, growth and root regeneration. *For. Ecol. Manage.* 27:29-40.
- KRAMER, P.J. & KOZLOWSKI, T. T.; 1979. Physiology of woody plants. Academic Press Inc., San Diego, 811pp.
- LANDIS, T.D.; TINUS, R.W.; McDONALD, S.E. & BARNETT, J.P.; 1989. The Container Tree Nursery Manual. Vol. 4 *Seedling Nutrition and Irrigation*, Agriculture Handbook 674, USDA, Forest Service, Washington, 119 pp.
- MELKONIAN, JJ.; WOLFE, J. & STEPONKUS, PL.; 1982. Determination of the volumetric modulus of elasticity of wheat leaves by pressure-volume relations and the effect of drought conditioning. *Crop Science* 22:116-122.
- PALLARDY, SG.; PEREIRA, JS. & PARKER, W.C.; 1991. Measuring the state of water in tree systems. En: *Techniques and approaches in forest tree ecophysiology*, pp.27-75. Editado por JP. Lassoie and TM, Hinckley. CRC Press, Boca Ratón, USA.
- PARKER, WC. & PALLARDY, SG. 1985. Genotypic variation in tissue water relations of leaves and roots of black walnut (*Juglans nigra*) seedlings. *Physiol. Plant.* 64:105-110.
- RITCHIE, GA. & DUNLAP, J.R.; 1980. Root growth potential: its development and

- expression in forest tree seedlings. *N. Z. J. For. Sci.* 10:218-248.
- ROBICHAUX, RH.; 1984. Variation in the tissue water relations of two sympatric Hawaiian *Dubautia* species and their natural hybrid. *Oecologia* 65:75-81.
- ROOK, DA.; 1973. Conditioning radiata pine seedlings to transplanting by restricted watering. *N. Z. For. Sci.* 3:54-69
- SIMPSON, DG.; 1990. Frost hardiness, root growth capacity, and field performance relationships in interior spruce, lodgepole pine, Douglas-fir, and western hemlock seedlings. *Can. J. For. Res.* 20:566-572.
- SIMPSON, DG.; THOMPSON, CF. & SUTHERLAND, CG.; 1994. Field performance potential of interior spruce seedlings: effects of stress treatments and prediction by root growth potential and needle conductance. *Can. J. For. Res.* 24:576-586.
- STEWART, JD. & LIEFFERS, V.J.; 1993. Preconditioning effects of nitrogen relative addition rate and drought stress on container-grown lodgepole pine seedlings. *Can. J. For. Res.* 23:1663-1671.
- VAN DEN DRIESSCHE, R.; 1992. Changes in drought resistance and root growth capacity of container seedlings in response to nursery drought, nitrogen, and potassium treatments. *Can. J. For. Res.* 22:740-749.
- ZAR, YH.; 1984. *Biostatistical analysis*. 2nd Edition. Prentice Hall, Englewoods Cliffs, New Jersey, USA