

**EVALUACIÓN DE LAS RESPUESTAS FISIOLÓGICAS AL ESTRÉS A EDAD TEMPRANA EN
EUCALYPTUS GLOBULUS LABILL.: TOLERANCIA AL DÉFICIT HÍDRICO Y TOLERANCIA
AL EXCESO DE AGUA EN EL SUELO.**

Pita Andreu, P.^{*1}, Pardos Carrión, J.A.

¹Unidad Docente de Anatomía, Fisiología y Genética. ETSI Montes. Universidad Politécnica de Madrid.
Ciudad Universitaria s/n. 28040 Madrid. España.

*Autor para la correspondencia: pilarpita06@yahoo.es

Boletín del CIDEU 3: 161-169 (2007)
ISSN 1885-5237

Resumen.

El trabajo presenta los resultados de dos ensayos realizados en invernadero, donde se estudian las diferencias entre clones de *Eucalyptus globulus* en parámetros fisiológicos que cuantifican la respuesta al estrés por falta o exceso de agua en el suelo. Los clones que presentaron menor vulnerabilidad a la cavitación en condiciones de déficit hídrico mantuvieron valores superiores de la tasa de transpiración al mediodía. Bajo exceso de agua edáfica se encontraron diferencias significativas entre clones en la producción de etileno en tallos. Se discute el valor adaptativo de estas diferencias.

Palabras clave: Estrés hídrico, cavitación, encharcamiento, etileno, intercambio gaseoso, *Eucalyptus globulus*.

Summary

Tolerance to water shortage and waterlogging of *Eucalyptus globulus* Labill. at early growth stages

Differences in tolerance to water shortage and waterlogging between *Eucalyptus globulus* clones under semi-controlled conditions were investigated. The plants exhibiting low vulnerability to cavitation reached higher transpiration rates at midday. Also, those subjected to high watering exhibited significant differences between clones as regards the amount of ethylene released by the basal stem. The adaptive value of the differences found is discussed.

Keywords: Water stress, cavitation, waterlogging, ethylene, gas exchange, *Eucalyptus globulus*

Introducción.

Se define estrés como cualquier factor ambiental que ejerce un efecto desfavorable sobre la planta y reduce su crecimiento respecto al máximo (Pereira, 1995). Según esta definición, el crecimiento de las especies forestales se realiza mayoritariamente bajo estrés, siendo el estrés hídrico el que en mayor medida condiciona la productividad en el campo forestal y agronómico (Flexas et al. 2002). El crecimiento es el resultado de una serie de procesos fisiológicos, que vienen condicionados por factores de tipo genético y ambiental. El estudio de las respuestas fisiológicas al estrés se revela así como una herramienta potencialmente valiosa para los programas de mejora genética orientados a incrementar el crecimiento en condiciones de estrés.

La Unidad Docente de Anatomía, Fisiología y Genética Forestal de la UPM colabora desde hace varios años con el Grupo Empresarial ENCE S.A. en la identificación de parámetros fisiológicos susceptibles de ser utilizados con éxito en el programa de mejora genética de la especie *Eucalyptus globulus* Labill., establecido por la Empresa. En concreto, se viene trabajando en la mejora de la producción bajo estrés hídrico, con importantes logros en la mejora de la productividad en el suroeste español y más recientemente en la mejora de la producción bajo exceso de agua edáfica, de especial interés para las plantaciones establecidas en Uruguay.

Entre los parámetros seleccionados para evaluar la respuesta fisiológica al déficit hídrico destacan aquellos relacionados con la conductividad hidráulica y el intercambio gaseoso. La conductividad hidráulica cuantifica la capacidad conductora del xilema en distintos órganos de la planta. En condiciones de déficit hídrico, parte de los

elementos conductores se emboliza como consecuencia de la entrada de aire, y queda inutilizado para cumplir su función. Se calcula así la pérdida de conductividad hidráulica como el porcentaje de la conductividad máxima, midiendo esta última después de eliminar la embolia con agua a presión. En varios estudios se ha encontrado una correlación positiva entre la conductividad hidráulica del tallo y la tasa de crecimiento de distintas especies arbóreas (Tyree 2003). Por otro lado, la conductividad hidráulica máxima disminuye bajo déficit hídrico (Pita et al. 2003). Por todo ello se ha considerado interesante incluir los parámetros hidráulicos como herramienta de selección para incrementar la producción en condiciones de estrés hídrico. A su vez, la pérdida de conductividad hidráulica puede ocasionar el cierre de los estomas a través de lo que se han llamado señales hidráulicas, como complemento de las llamadas señales químicas, también capaces de inducir cierre estomático. El cierre de estomas bajo déficit hídrico limita la transpiración y la tasa de fotosíntesis y por tanto el crecimiento. Bajo exceso de agua edáfica también se puede producir cierre estomático. Entre las principales respuestas fisiológicas al encharcamiento destaca la producción de la hormona gaseosa etileno, que favorece la formación de aerénquima, tejido que facilita la difusión de oxígeno a las raíces. Por todo ello la medición de parámetros de intercambio gaseoso (transpiración, conductancia estomática, tasa de fotosíntesis) y la cuantificación de la producción de etileno se han seleccionado para evaluar la respuesta al exceso de agua en el suelo.

La utilización de parámetros fisiológicos en programas de mejora genética encuentra varias dificultades: En primer lugar, la

disponibilidad de técnicas de medición adecuadas. En segundo lugar, el carácter temporal de las respuestas fisiológicas, que se manifiestan con distinta intensidad a lo largo de escalas de tiempo más o menos amplias y dependen del historial de estrés de la planta. En el caso de especies forestales se añade la dificultad de medir este tipo de parámetros en árboles de gran tamaño o bien la necesidad de considerar la correlación juvenil-adulto si se realiza una selección precoz de genotipos. Pese a todas estas dificultades, estudios recientes abordan la utilización de este tipo de parámetros con fines de mejora en especies forestales (Wang et al. 2003, Wikberg and Ögren 2004).

En el presente trabajo se resumen los resultados obtenidos en dos ensayos, realizados en el marco de las líneas de investigación establecidas con el objetivo general de realizar una selección precoz de genotipos para mejorar la producción de la especie *E.globulus* bajo condiciones de déficit hídrico y bajo exceso de agua edáfica.

Material y Métodos.

Ensayo 1: Mejora de la producción bajo déficit hídrico.

Material vegetal: Se utilizaron plantas de *E. globulus* obtenidas a partir del enraizamiento de estaquillas de cuatro clones distintos. 10 plantas/clon.

Condiciones de cultivo: Envases de 3 l de capacidad, con mezcla de turba y arena en proporción volumétrica 3:1. El ensayo se realizó en invernadero, bajo luz natural, entre los meses de abril (trasplante) y mayo (mediciones). En el momento de trasplantar se marcó una hoja del tercer verticilo. Después de un periodo de cuatro semanas con riegos óptimos, las plantas se sometieron a ciclos de estrés moderado durante dos semanas, regando hasta peso

constante cuando se advertían los primeros síntomas de pérdida de turgencia en hojas.

Mediciones: Seis semanas después de trasplantar se midió la tasa de transpiración bajo luz natural ($PAR > 1100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) con un equipo IRGA LCA4 (Analytical Development Co, Hoddesdon UK). Desde este mismo día y durante una semana se midió la conductividad hidráulica inicial y máxima en tallos, según una modificación de la metodología de Sperry (Pita et al. 2003). Se calculó la pérdida de conductividad hidráulica (PCH), parámetro que cuantifica el porcentaje de conductividad hidráulica perdido (embolizado) en el momento de realizar la medición. Al mismo tiempo, se midió la humedad volumétrica del sustrato, se cosecharon las plantas y se midió superficie foliar y peso seco. Se estimó la superficie foliar inicial como la correspondiente a las hojas inferiores a aquella marcada al trasplantar. Se calculó el área foliar específica (SLA) como el cociente de la superficie foliar entre el peso seco foliar para las hojas de los seis verticilos superiores.

Ensayo 2: Mejora de la producción bajo exceso de agua edáfica.

Material vegetal: Se utilizaron plantas procedentes del enraizamiento de estaquillas de cinco clones de *E. globulus*. 16 plantas/clon.

Condiciones de cultivo: El mismo tipo de envase y sustrato que en el ensayo anterior. El ensayo se realizó en invernadero, entre los meses de octubre y diciembre. Después de un periodo de siete semanas con riegos óptimos se instaló un sistema de riego automático en la mitad de las plantas (ocho plantas por clon). A partir de este momento, estas plantas (tratamiento exceso de agua) se regaron dos veces al día abundantemente (hasta empapar completamente el sustrato). Las restantes (tratamiento control) se

regaron con periodicidad de dos-tres riegos semanales.

Mediciones: En el momento de diferenciar los dos regímenes de riego se midió el diámetro basal en todas las plantas. A lo largo de dos semanas, empezando tres días después de imponer los tratamientos, se realizaron mediciones de parámetros de intercambio gaseoso bajo lámpara ($\text{PAR} > 1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Veinte días después de imponer los tratamientos se cosecharon 40 plantas escogidas de forma aleatoria (seis plantas por clon del tratamiento exceso de agua y dos plantas por clon del tratamiento control). Se volvió a medir el diámetro basal. Se determinó el contenido de etileno mediante cromatografía de gases en una porción de la parte inferior del tallo incubada durante siete horas, en baño a 25°C y bajo lámpara incandescente de 60W. Se determinó la superficie foliar y el peso seco en las plantas cosechadas.

Resultados y Discusión.

Ensayo 1: Mejora de la producción bajo déficit hídrico

No se encontraron diferencias significativas entre clones ni en el valor de la superficie foliar al inicio o fin del estudio ni en la biomasa total al terminar el estudio. Sin embargo, si se encontraron diferencias significativas en los valores del área foliar

específica (SLA), parámetro morfológico relacionado con el crecimiento potencial de la planta. El mayor crecimiento en área foliar se midió en el clon W488 y el menor en el clon W568. Sin embargo, los valores máximo y mínimo de biomasa total se midieron en los clones W290 y W370 respectivamente (Tabla 1). Estos resultados muestran distintos patrones de crecimiento en los cuatro clones estudiados. Los clones W290 y W568, con menores valores de SLA (Tabla 1), tienden a acumular mayor cantidad de biomasa por unidad de superficie foliar que los clones W370 y W488. Los genotipos adaptados a condiciones de sequía suelen tener valores de SLA menores que aquellos adaptados a zonas más húmedas. Sin embargo, esta adaptación podría tener un coste en términos de productividad ya que el crecimiento depende en gran medida de la superficie total fotosintetizadora.

La Figura 1 muestra los datos de transpiración calculada de forma gravimétrica (agua transpirada por planta), una semana antes de iniciar la medición de parámetros hidráulicos y realizar la cosecha final. Como se puede ver, los menores valores de la transpiración se midieron en el clon W370, a pesar de ser las plantas de este clon algo mayores que las del clon W568 (Tabla 1).

Clon	S.fol. ($\text{cm}^2\text{planta}^{-1}$)	Crecimiento ($\text{cm}^2\text{planta}^{-1}$)	P.seco (g planta^{-1})	SLA ($\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$)
W370	638.9(49.7)	585.7(46.8)	4.9(0.4)	189.2(5.9)
W290	698.5(35.1)	647.2(31.4)	6.1(0.4)	170.3(5.9)
W488	719.8(40.6)	677.5(42.4)	5.6(0.3)	195.2(4.5)
W568	578.9(43.9)	532.9(43.5)	5.1(0.3)	168.0(5.9)

Tabla 1. Valores medios de la superficie foliar al terminar el estudio, crecimiento en superficie foliar desde el trasplante hasta el fin del estudio, peso seco total al finalizar el estudio y área foliar específica (SLA). Los valores entre paréntesis son errores típicos. Muestra: 7-9 datos por clon.

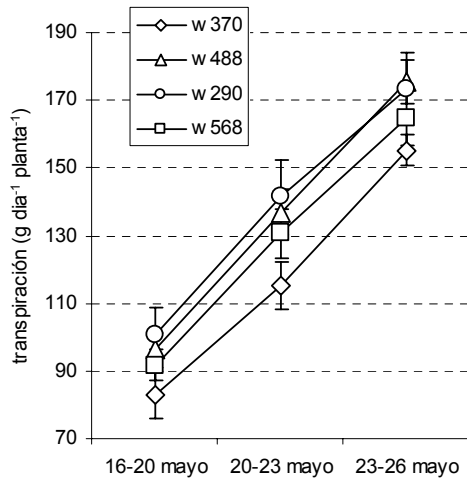


Figura 1. Valores medios de la transpiración calculada entre riegos sucesivos a peso constante. n=10 plantas/clon.

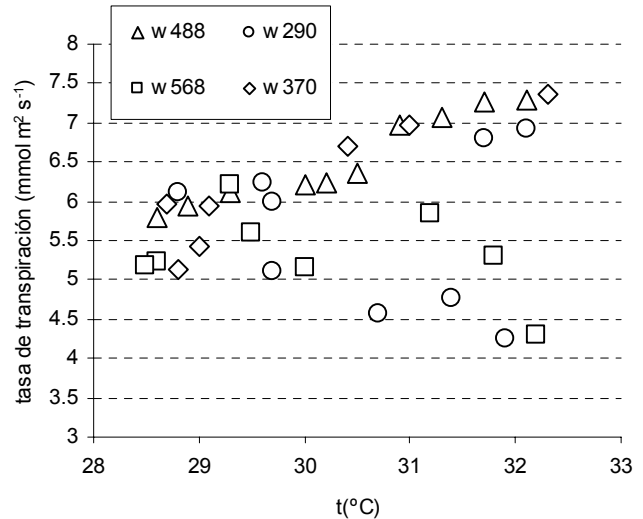


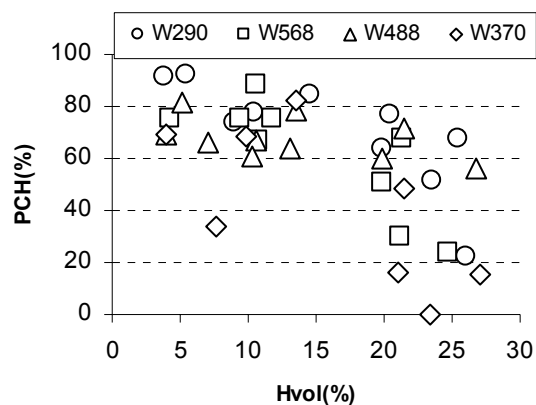
Figura 2. Valores de la tasa de transpiración. La temperatura corresponde a la de la cámara foliar utilizada para realizar la medición. 1 dato/planta

Al calcular los valores de la tasa de transpiración por unidad de superficie foliar (medición realizada el 26 de mayo), se observó que los clones W370 y W488 mantuvieron valores de transpiración crecientes a lo largo de la mañana, mientras que algunas plantas de los clones W290 y W568 mostraron cierre estomático y reducción de la tasa de transpiración (Figura 2). Este resultado es especialmente relevante para el clon W568, ya que las plantas de este clon habían transpirado menos agua desde el último riego y disponían de mayor cantidad de agua en el sustrato que las plantas de los clones W290 y W488 en el momento de medir la tasa de transpiración (Figura 1). Este resultado indica una peor adaptación a condiciones de

déficit hídrico en el clon W568 respecto a W290 y W488

En la Figura 3 se han representado los valores de la pérdida de conductividad hidráulica para distintos valores de humedad del sustrato. Como se puede ver, las plantas del clon W290 y en menor medida del clon W568 mostraron mayor vulnerabilidad a la cavitación, término que designa la facilidad con la que se emboliza el xilema. El clon W290 mostraría por tanto una estrategia agresiva, manteniendo una tendencia a aprovechar el máximo de agua disponible en el sustrato aún a costa de perder un importante porcentaje de la conductividad hidráulica del xilema. El clon W370 mostró una estrategia opuesta.

Figura 3. Relación entre la humedad volumétrica del sustrato (Hvol) y la pérdida de conductividad hidráulica (PCH) medida en la porción de tallo principal inferior al 6º verticilo.



Ensayo 2: Mejora de la producción bajo exceso de agua edáfica.

No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos de riego para el valor de la superficie foliar, pero sí para el diámetro basal, que fue significativamente mayor en las plantas sometidas a exceso de riego respecto a plantas control al finalizar el estudio. Se obtuvieron diferencias significativas entre clones en los valores del diámetro basal, tanto al imponer los tratamientos como al finalizar el estudio. Los mayores valores de superficie foliar y diámetro en plantas sometidas a exceso de agua se midieron en los clones H373 y H317 (Tabla 2). Estos clones han mostrado buena tolerancia a suelos compactos en la provincia de Huelva y se consideran potencialmente resistentes al encharcamiento. El mayor crecimiento en

diámetro en plantas sometidas a encharcamiento se produjo en el clon H373 (Tabla 2).

En las mediciones de parámetros de intercambio gaseoso se encontró una disminución progresiva de la tasa de fotosíntesis neta a lo largo de las dos semanas de mediciones. Se observó una disminución de la tasa de fotosíntesis al mediodía, más acusada en las últimas mediciones y paralela a un incremento en la tasa de transpiración (Figura 4). Estos resultados muestran que la reducción en la tasa de fotosíntesis no está causada por el cierre de los estomas y podría obedecer a un incremento en la tasa de respiración, presumiblemente ligada a la producción de etileno, que alcanzó valores próximos a los máximos documentados para la especie (Fig. 5).

Clon	Área foliar (m ² planta ⁻¹)		Diámetro final (mm)		Diámetro inicial (mm)
	Control	Exceso agua	Control	Exceso agua	
H354	0.21 (0.03)	0.17 (0.01)	5.55 (0.33)	5.46 (0.22)	4.31 (0.11)
H231	0.16 (0.03)	0.15 (0.01)	4.69 (0.44)	5.10 (0.24)	3.83 (0.09)
C14	0.13 (0.02)	0.14 (0.01)	4.41 (0.32)	4.93 (0.14)	3.91 (0.08)
H373	0.16 (0.03)	0.19 (0.01)	4.47 (0.43)	5.83 (0.23)	4.09 (0.1)
H317	0.18 (0.05)	0.21 (0.02)	5.28 (0.47)	5.55 (0.23)	4.29 (0.12)

Tabla 2. Valores medios de la superficie foliar al finalizar el estudio y el diámetro basal al imponer los tratamientos (diámetro inicial) y al finalizar el estudio (20 días después). n=16 para los valores iniciales. Para los valores finales, n=2 datos clon⁻¹ para controles y n=6 datos clon⁻¹ para exceso de agua. Datos (): errores.

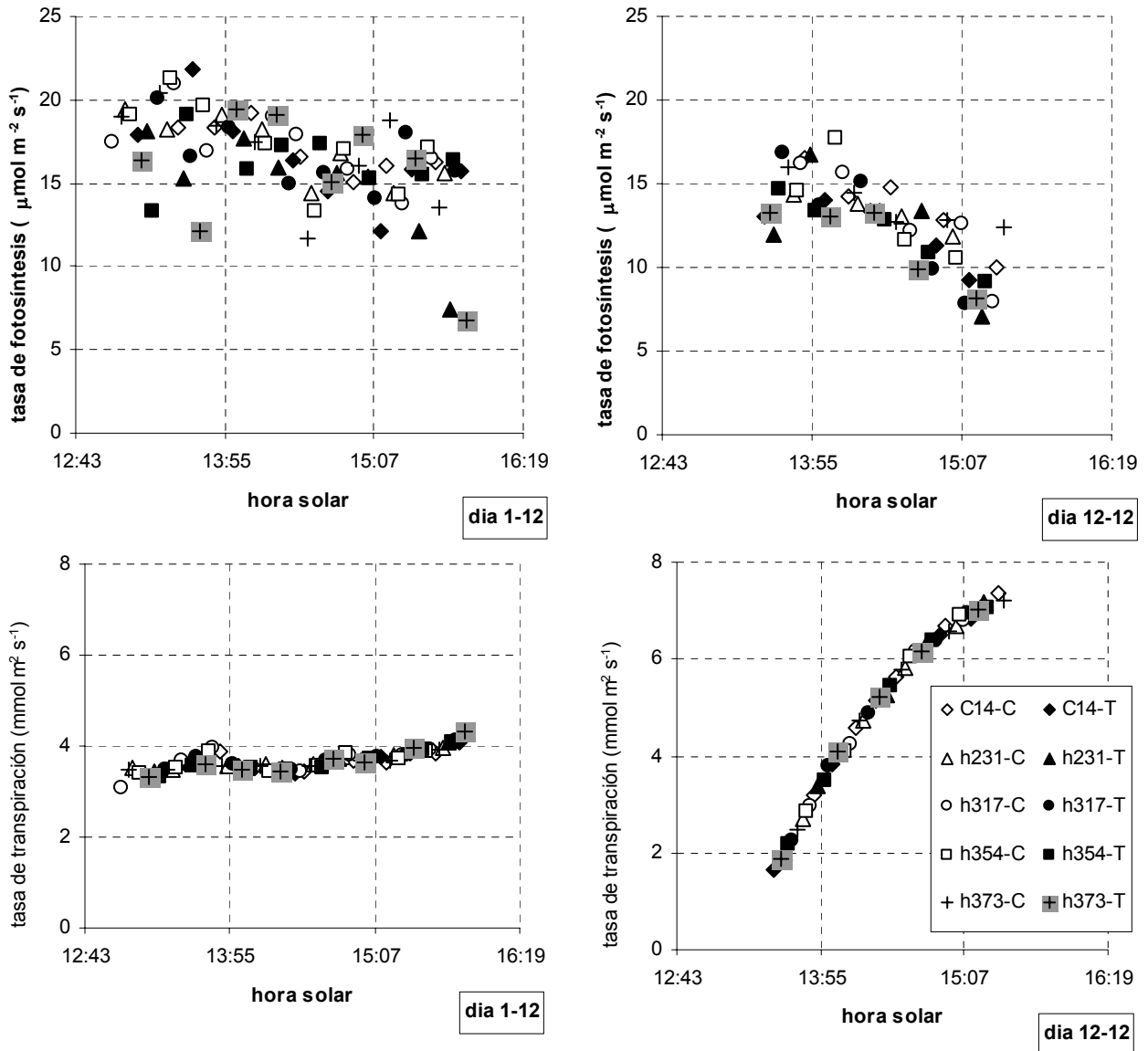


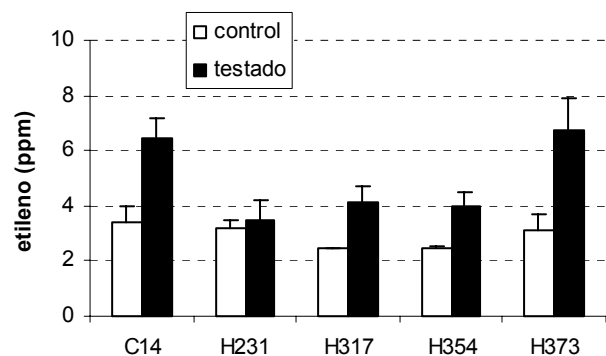
Figura 4. Valores de las tasas de transpiración y fotosíntesis medidas simultáneamente 3 y 13 días después de imponer los tratamientos: C: riegos óptimos, T: exceso de agua de riego. Cada punto corresponde a una planta.

Es interesante destacar que el aumento de la transpiración y el descenso paralelo en la tasa de fotosíntesis se produjo en todos los clones y en ambos tratamientos de riego. Este resultado obedece probablemente a la captación de etileno difundido a la atmósfera por plantas próximas (Munné-Bosch et al 2004), factor que se debe considerar en el diseño experimental de próximos ensayos.

El tratamiento de exceso de riego incrementó de forma significativa la producción de etileno. Se encontraron diferencias significativas entre clones en la producción de etileno, que fue máxima en los clones H373 y C14 (Figura 5). Estos resultados parecen indicar diferencias en la estrategia de los distintos genotipos para responder al estrés. En particular, es interesante destacar las diferencias tan marcadas encontradas entre los clones H373 y H317, ambos considerados potencialmente resistentes al

encharcamiento. Aunque la producción de etileno está ligada a la formación de aerénquima y se podría por tanto considerar positiva para tolerar el encharcamiento, una excesiva producción de esta hormona compromete el crecimiento al provocar un aumento en la respiración y puede también estar relacionada con la formación de fendas en el tronco que deprecian la madera. Es interesante también destacar el interés potencial del diseño de riegos aplicado: al someter a las plantas a riegos frecuentes se renueva el agua y se minimiza el efecto tóxico de las sustancias producidas por las raíces y microorganismos del suelo en condiciones de encharcamiento. Tal vez por ello se consigue una respuesta muy marcada de las plantas, que consiguen actuar como “bombas de agua”, alcanzando tasas de transpiración máximas para la especie.

Figura 5. Concentración media de etileno difundido por porciones de tallo de plantas de *E. globulus* cultivadas en condiciones óptimas de riego (controles) o bajo exceso de agua edáfica (testados). n= 6 datos clon⁻¹ (testados), n=2 datos clon⁻¹ (controles).



Referencias bibliográficas.

- Flexas J., Bota J., Escalona J.M., Sampol B., Medrano H. 2002. *Funct. Plant Biol.* 29, 461-471.
- Munné-Bosch, S., Peñuelas J., Asensio A., Llusà J. 2004. *Plant Physiol.* 136, 2937-2947
- Pereira J.S. 1995. Gas Exchange and Growth. In: *Ecophysiology of Photosynthesis* (Schulze E.D., Caldwell M.M., eds.). Springer Verlag, 147-181
- Pita P., Gascó A., Pardos J. A. 2003. *Funct. Plant Biol.* 30, 891-899.
- Wang T., Aitken S. N., Kavanagh K.L. 2003. *Trees.* 17: 269-277.
- Wikberg J., Ögren, E. 2004. *Trees* 18, 70-76.