

Curso 2006/07
CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS/4
I.S.B.N.: 978-84-7756-738-7

VANESSA CRISTINA LUIS DÍAZ

**Calidad de planta de pino canario
para reforestación.
Métodos de cultivo y respuestas fisiológicas
a factores de estrés**

Directores

**DOMINGO MORALES MÉNDEZ
M.ª SOLEDAD JIMÉNEZ PARRONDO**



SOPORTES AUDIOVISUALES E INFORMÁTICOS
Serie Tesis Doctorales

Esta Tesis Doctoral se ha realizado gracias a la concesión de una Beca para la Realización de Tesis Doctorales de la Consejería de Educación Cultura y Deportes del Gobierno de Canarias y a dos proyectos-convenio de investigación financiados por el Exmo. Cabildo Insular de Tenerife en los cuales se enmarca:

* Caracterización de la calidad de planta de pino canario (*Pinus canariensis* Ch. Sm. ex D.C.) en contenedor antes de su traslado a campo.

* Evaluación y mejora de los factores que afectan a la reforestación con pino canario en Tenerife.

A mis padres y a todos los míos

Agradecimientos

*“Aquel que tiene un porqué para vivir se puede enfrentar a todos los
“cómo””
Friederich Nietzsche*

Han sido muchísimas las cosas aprendidas durante este periodo de mi vida, además de ciencia claro, pero este capítulo de la tesis no va dedicado a la ciencia sino a todas aquellas personas que por un motivo u otro se cruzaron en mi camino y me enseñaron lo maravilloso que es tener alguien a tu lado cuando más lo necesitas. Para todos ustedes:

Por supuesto tengo que empezar dándoles las gracias a mis padres, porque sin ellos nada de esto hubiera sido posible, por su constante apoyo y por aguantarme en los momentos no tan buenos...animándome incansablemente a continuar. A mi madre, **Marisa**, por haberme llevado a la facultad ya desde antes de nacer y por prestarme su herbario para que me entretuviera cuando era pequeña, a mi padre, **Félix**, por llevarme a coger margaritas siendo estos los comienzos de mi carrera como botánica, y, a los dos por tantas cosas..., por quererse tanto y así ser unos padres maravillosos.

A mis hermanos, por preocuparse siempre por mí, a "**Agua y Tazuzu**" por aguantar todo lo que me han aguantado cuando vivíamos juntos y más...que no ha sido poco!! y a **Sandruqui**, por salir un poco a mí, y a los tres porque aunque a veces estemos un poco lejos se que les tengo ahí para lo que sea.

A **Rober**, por compartir todos estos años, soportar mis continuas idas y venidas y enseñarme a no pensar tanto en el futuro disfrutando del presente, y como no, por acompañarme a medir prácticamente "de todo" y ser nuestro conductor oficial del 4x4.

A **Marisol** y a **Domingo** por abrirme la puerta del maravilloso mundo de la Ecofisiología Vegetal, por no haber sido los "típicos jefes", dándome la libertad de hacer esta tesis como he querido y dejarme viajar todo lo que he viajado, por las innumerables correcciones y sugerencias en este y los demás trabajos y por supuesto por adaptar perfectamente su fisiología a las condiciones de estrés impuesto en este último periodo de la tesis para poder superarlo.

Hay dos personitas sin las cuales probablemente hubiera abandonado o aún estaría dándole vueltas a qué demonios escribo!!!, que me han enseñado a diseñar un experimento, analizar datos, hacer gráficas en excell, a subirme a una torre, a llenarme de paciencia con el IRGA, a entender que significaba eso de fluorescencia, a ser perseverante, y que me han hecho creer que valgo para esto. Además da la casualidad de que son dos de las mejores personas que conozco y gracias a esta tesis ahora son MIS AMIGAS, a **July** y a **Águeda**: gracias por todo!!!

A **Edu**, porque con su llegada empezó una nueva etapa en el depar y por ser mi "compí" durante esta última fase de la tesis, tanto científica como personalmente,

por enseñarme "que eso es lo bonito". A **Irga, Debo** y **Maica** por compartir tantas horas en el sótano maldito y ayudarme a medir de todo.

Gracias a todos aquellos que cayeron en la trampa de "te voy a enseñar una vista de la isla preciosa desde donde tengo mis pinos" y me acompañaron a medir allá donde el demonio perdió los calzones...

Dicen que quien tiene un amigo tiene un tesoro, yo tengo muchos, pero tres de valor incalculable: **Cristy, Judit** y **Karin**. A ellas les tengo que agradecer tantas cosas que tendría que escribir varias tesis más... Gracias por tantos "sabor de amor..."

Al resto de mis tesoros, **Mariquilla, Ainoha, Ale, Aurora** y **Laura**.

A **Cris**, que ha estado a mi lado desde el día que entré en el instituto, por preocuparse por mi y preguntarme siempre por mi tesis y porque sé que está orgulloso de su bióloga.

A **Lucía**, por darme el placer de ser madrina y porque en los momentos malos su sonrisa me hizo olvidar todos los problemas, y a **César** por compartirlo conmigo.

A **Isra**, primero por ser la alegría de la huerta y tener siempre algo que decir que me hacía reír, por estar ahí y por animarme a cantar, por los todos "cortapeichs" y almuerzos que hemos compartido, así como a toda la precariedad, a **Desi** por tantos ratos estos años, a los cartógrafos que están, **Ricky**, y a los que nos abandonaron, **Mavi, Sara** y **Alfredo**, a la precariedad de la planta alta, Jairo, Ana y Tania y al resto de los precarios por luchar por un mundo menos "precario".

A toda la titularidad del depar que también ha estado ahí para resolver cualquier duda o simplemente tomar un café: Octavio, Macelino, Julio, Marta, Cheli, Chiqui, Pedro, Antonio, Katy, Ana, Roberto, Blanca, etc. y a Conchi por hacernos todo tipo de papeleos y ser también una amiga.

A la gente del laboratorio de análisis de la Escuela de Agrícolas, que nos dejaron apropiarnos del laboratorio para hacer los análisis de nutrientes.

A Matías Llabrés por descubrirme el lado oscuro del Excell y a Inmaculada Herranz y David Prieto por echarme una mano con el SPSS.

...Y aquí empieza la parte viajera, bastante difícil a veces, pero de las más gratificantes:

A los Chaves, mi "familia colombiana" porque gracias a ellos hay un antes y un después de Colombia y a mis compis de Intercampus, que lo vivieron conmigo.

Meinen besonderen Dank gilt Gerhard Wieser für die Hilfe, die er mir hat zukommen lassen. Tausend Dank für die herzliche Aufnahme im Kreise Deiner Familie während meines Aufenthalts in Innsbruck.

To Jura, I start to speak in English to work with you and I learnt a lot of things during this time, laughing a lot together.

To all the people from Innsbruck University, Gilbert, Juerguen, Johana and of course to Dunja, you were the best of Innsbruck !! Vielen Dank!!!

To the people of Czech Republic, to show me how to work into a team!!! Mirka, Otmar, Michael, Zuzana, Zdenka y a Manuel por ser nuestro traductor oficial !!

A José Climent, que ha sido el "culpable" de que yo me haya metido en este mundo forestal-fisiológico, por meterme en el cuerpo el gusanillo de la calidad de planta, repoblaciones y.....todo eso de lo que dicen va mi tesis. José, junto con Alberto y Jaime me han ayudado a darle forma a todo esto para que al final sea una tesis y han estado siempre ahí, a vuelta de correo para contestar todo aquello en lo que yo...ni pum y a Pedro Villar, por ir contra corriente creando escuela en la calidad de planta y darme una hipótesis de partida para la tesis.

A toda la gente del CEAM y de la Universitat d' Alacant, que me acogieron durante mis estancias allí como a una más y de donde he sacado muy buenos amigos. A Alberto, por no perder la ilusión por la investigación y porque ha sido un gustazo trabajar con él y a Marina y a Encarni por compartir entre otras muchas cosas esa limpieza de raíces!! A David y a Karen por cuidarme !!
Moltés Gràcies a Tots!!!

A mis Nicas, esa gente maravillosa que se nos metió para siempre en el corazón, Claudia, Rebe, M^a Inés, Rolando, Xochilt, Carola, Brenda, Reina, Andrea...y a las no nicas que aparecieron por León para acompañarnos con los miles de flor de caña...

A todos aquellos que durante los congresos se cruzaron en mi camino y pasaron a formar parte de él y como no, por los interminables debates científicos y no-científicos entre cervezas (Edu, Jaime, Alberto, Dani, Arancha, Ana, Monre, M^a Paz, Luis, Paco, Nacho, Amaia, Koldo, Cristina, Vicente, Usue...)

A "Don Cristo Mora" por ser la única persona de la DGUI que de verdad se preocupó por nosotros para que cobráramos de vez en cuando.

A todos aquellos autores anónimos que al enviarme sus papers me desearon mucha suerte con la tesis.

Agradecimientos

A la gente del Cabildo de Tenerife y del Vivero que siempre han estado dispuestos a ayudarme con mis pinos (José Alberto, Esther, Félix, Luis, Borja, etc...)

A toda la gente de Taichi, por ver la vida de otra forma y compartirla y a Belén por transmitir paz nada más entrar en el gimnasio.

A los "chicos del coro" por dejarme cantar con ellos !!! Ha sido genial !!!!

A todos aquellos que han tenido que ver en algo en mi vida durante estos...ufff...tantos años... y que seguro me he dejado atrás sin querer, ellos saben quiénes son.

Ahh, me olvidaba!, a todos aquellos organismos oficiales que me han concedido todas las subvenciones para realizar esta tesis y mis múltiples viajes, que no han sido pocas !!!.



*Y como no, al **PINO CANARIO**, por soportar estoicamente que lo quemara, lo congelara, lo podara, lo triturara y no se cuántas barbaridades más, le pido perdón, pero todo lo hice por él.....*

Índice

“Las ciencias tienen las raíces amargas, pero muy dulces los frutos”

Aristóteles

Friederich Nietzsche

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL

1. INTRODUCCIÓN.....	1
<u>1.1 El Pino Canario</u>	1
1.1.1. Descripción botánica.....	1
1.1.2. Ecología y Distribución.....	4
1.2. Usos tradicionales del pino canario.....	6
1.3. Reforestaciones con pino canario.....	6
1.4. Cultivo de pino canario para reforestación y calidad de planta.....	7
1.5. Estudios realizados.....	9
2. HIPÓTESIS EXPERIMENTAL, OBJETIVOS Y ESTRUCTURA DE LA TESIS.....	11

CAPÍTULO II. CULTIVO EN VIVERO

1. INTRODUCCIÓN.....	15
<u>1.1 Calidad de planta</u>	15
1.1.1. Contenedores.....	17
1.1.2. Sustratos.....	18
1.1.3. Fertilización.....	19
1.1.4. Riego.....	19
<u>1.2. Métodos de evaluación de la calidad de planta</u>	20
1.2.1. Atributos morfológicos.....	20
1.2.2. Atributos fisiológicos.....	21
1.2.3. Atributos de respuesta.....	22
<u>1.3. Objetivos</u>	22
2. MATERIAL Y MÉTODOS.....	23
<u>2.1. Diseño experimental</u>	23
2.1.1. Material vegetal.....	23
2.1.2. Contenedores empleado.....	24
2.1.3. Sustratos empleados.....	25
2.1.4. Fertilización empleada.....	28
2.1.5. Tratamientos.....	29
<u>2.2. Evaluación de la Calidad de Planta</u>	31
2.2.1. Atributos morfológicos.....	31
2.2.2. Atributos fisiológicos.....	32
2.2.3. Atributos de respuesta.....	34
<u>2.3. Análisis Estadísticos</u>	35
3. RESULTADOS.....	35
<u>3.1. Atributos morfológicos</u>	35
3.1.1. Primera Fase.....	35
3.1.2. Segunda Fase.....	38
<u>3.2. Atributos fisiológicos</u>	43
3.2.1. Primera Fase.....	43
3.2.2. Segunda Fase.....	45
<u>3.3. Atributos de respuesta</u>	46
3.3.1. Primera Fase.....	46
3.3.2. Segunda Fase.....	48
<u>3.4. Relación entre los atributos medidos</u>	49
3.4.1. Relación entre el desarrollo de la planta y la fertilización.....	49
3.4.2. Fertilización y crecimiento radical.....	50
4. DISCUSIÓN.....	51
<u>4.1. Atributos morfológicos</u>	51
<u>4.2. Atributos fisiológicos</u>	53

4.3. Atributos de respuesta.....	54
4.4. En busca del contenedor ideal.....	56
4.5. Considerando el sustrato más adecuado.....	56
4.6. Fertilizar, ¿Necesidad o Lujo?	57
5. CONCLUSIONES.....	58
<u>CAPÍTULO III. SEGUIMIENTO EN CAMPO</u>	
1. INTRODUCCIÓN.....	61
1.1 <u>Influencia de la calidad de planta en el éxito de la reforestación</u>	61
1.2. <u>Objetivos</u>	62
2. MATERIAL Y MÉTODOS.....	63
2.1. <u>Diseño experimental</u>	63
2.1.1. <i>Zonas de Estudio</i>	63
2.1.2. <i>Ensayo 2002</i>	64
2.1.3. <i>Ensayo 2003</i>	64
2.2. <u>Seguimiento de supervivencia, morfología y fenología de las plantaciones</u>	65
2.2.1. <i>Supervivencia</i>	65
2.2.2. <i>Morfología</i>	65
2.2.3. <i>Fenología</i>	65
2.3. <u>Seguimiento fisiológico de las plantas del Ensayo 2002 durante la sequía estival</u>	66
2.3.1. <i>Caracterización de las plantas</i>	66
2.3.2. <i>Potencial hídrico</i>	66
2.3.3. <i>Contenido hídrico relativo</i>	67
2.3.3. <i>Intercambio gaseoso</i>	67
2.3.5. <i>Fluorescencia de la clorofila</i>	68
2.3.6. <i>Levantamiento de las plantas</i>	70
2.4. <u>Análisis estadísticos</u>	70
3. RESULTADOS.....	71
3.1 <u>Supervivencia</u>	71
3.2. <u>Relación de los parámetros de vivero con la supervivencia en campo</u>	76
3.3. <u>Seguimiento morfológico de las plantaciones</u>	79
3.2.1. <i>Altura</i>	79
3.3.2. <i>La altura como carácter predictivo de la supervivencia</i>	81
3.2.1. <i>Diámetro</i>	82
3.4. <u>Estado fenológico</u>	83
3.5. <u>Seguimiento fisiológico del ensayo 2002 durante la sequía estival</u> ...84	
3.5.1. <i>Caracterización de las plantas</i>	84
3.5.2. <i>Condiciones climáticas de los días de medida</i>	84
3.5.3. <i>Estado Hídrico</i>	85
3.5.4. <i>Intercambio Gaseoso</i>	86
3.5.5. <i>Fluorescencia de la clorofila</i>	87
3.5.6. <i>Levantamiento de las plantas</i>	89
4. DISCUSIÓN.....	90
4.1. <u>Efecto del contenedor</u>	90
4.2. <u>Efecto del sustrato y la fertilización</u>	91
4.3. <u>Relación entre los parámetros de calidad de planta en vivero y el comportamiento en campo</u>	92
4.4. <u>Estado fisiológico de las plantas durante la sequía estival</u>	94

5. CONCLUSIONES.....	96
<u>CAPÍTULO IV. SEGUIMIENTO EN MACETA</u>	
1. INTRODUCCIÓN.....	99
<u>1.1. Objetivos</u>	101
2. MATERIAL Y MÉTODOS.....	102
<u>2.1. Diseño experimental</u>	102
<u>2.2. Seguimiento morfológico y fenológico</u>	102
<u>2.3. Experimento de estrés hídrico</u>	102
2.2.1. Condiciones climáticas.....	103
2.2.2. Atributos Morfológicos.....	103
2.2.3. Concentración de Osmolitos.....	103
2.2.4. Estado Hídrico.....	103
2.2.5. Flujo de savia.....	104
2.2.6. Intercambio Gaseoso.....	105
2.2.7. Fluorescencia de la clorofila.....	105
2.2.8. Resistencia a altas temperaturas.....	105
<u>2.4. Análisis estadísticos</u>	106
3. RESULTADOS.....	106
<u>3.1. Seguimiento morfológico y fenológico</u>	106
<u>3.2. Experimento de estrés hídrico</u>	107
3.2.1. Condiciones climáticas.....	107
3.2.2. Atributos Morfológicos.....	108
3.2.3. Concentración de Osmolitos.....	110
3.2.4. Estado Hídrico.....	111
3.2.5. Flujo de savia.....	112
3.2.6. Intercambio Gaseoso.....	116
3.2.7. Fluorescencia de la clorofila.....	117
3.2.8. Resistencia a altas temperaturas.....	119
4. DISCUSIÓN.....	120
<u>4.1. Seguimiento morfológico y fenológico</u>	120
<u>4.2. Experimento de estrés hídrico</u>	120
5. CONCLUSIONES.....	123
<u>CAPÍTULO V. MODIFICACIÓN DE LA ARQUITECTURA HIDRÁULICA MEDIANTE FERTILIZACIÓN Y SOMBREO</u>	
1. INTRODUCCIÓN.....	125
<u>1.1. Manipulación de las características morfofuncionales mediante técnicas de vivero</u>	125
<u>1.2. Arquitectura hidráulica de la planta</u>	125
<u>1.3. Conductancia hidráulica y respuesta en campo</u>	126
<u>1.4. Objetivos</u>	127
2. MATERIAL Y MÉTODOS.....	127
<u>2.1. Diseño experimental</u>	127
<u>2.2. Caracterización Morfológica</u>	128
<u>2.3. Conductancia Hidráulica</u>	128
<u>2.4. Intercambio gaseoso</u>	129
<u>2.5. Análisis Estadístico</u>	129

3. RESULTADOS.....	130
<u>3.1. Morfología</u>	130
<u>3.2. Conductancia Hidráulica</u>	132
<u>3.3. Intercambio gaseoso</u>	133
4. DISCUSIÓN.....	135
<u>4.1. Morfología</u>	135
<u>4.2. Conductancia hidráulica e intercambio gaseoso</u>	135
5. CONCLUSIONES.....	136
<u>CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES GENERALES</u>	139
<u>BIBLIOGRAFÍA</u>	143
<u>ANEXOS</u>	
Anexo IRGA.....	171
Anexo Fotográfico.....	177

ABREVIATURAS

A: Fotosíntesis

A_F: Área foliar

A_R: Superficie absorbente de la raíz

CHS: Carbohidratos Solubles

CIC: Capacidad de Intercambio Catiónico

CRA: Capacidad de retención de agua

DPV: Déficit de Presión de Vapor

E: Transpiración

ETR: Transporte electrónico

FEC: Facilidad de Extracción del Cepellón

F_v/F_m: Relación fluorescencia variable-fluorescencia máxima

g_s: Conductancia estomática

HR: Humedad Relativa

ICD: Índice de calidad de Dickson

IRGA: Infra Red Gas Analyzer

IE: Índice de Esbeltez

K_H: Conductancia Hidráulica

K_S: Conductancia Hidráulica específica

K_L: Conductancia Hidráulica específica foliar

K_R: Conductancia Hidráulica específica radical

L_{RN}: Longitud total de raíces nuevas producidas en el Test PRR

NPQ: Quenching no fotoquímico

N_{RN}: Número total de raíces nuevas producidas en el Test PRR

OSU: Test de Vigor (llamado así por estar desarrollado en Oregon State University)

PAR: Radiación Fotosintéticamente Activa

PRR: Test de Potencial de Regeneración Radical

Ps: Peso seco

Psa: Peso seco aéreo

Psr: Peso seco raíz

qP: Quenching Fotoquímico

rePPFD: Exceso de densidad de flujo fotónico fotosintético

RWC: Contenido Hídrico Relativo

T: Tempertura

WUE: Eficiencia en el uso del agua

Ψ: Potencial Hídrico

ΦPSII: Eficiencia cuántica del fotosistema II



Capítulo I. Introducción General

*“Lo importante es no dejar de hacerse preguntas”
Albert Einstein*

Friederich Nietzsche

1. INTRODUCCIÓN

1.1. El Pino canario

1.1.1. Descripción botánica

El Pino canario (*Pinus canariensis* C. Sm. ex DC. in Buch) es una especie endémica del Archipiélago canario que quedó relegado en las islas tras las glaciaciones del cuaternario. Sus ejemplares se identifican fácilmente atendiendo a la existencia de braquiblastos de tres acículas, presencia de brotes juveniles en el tronco, piñones con ala fija y piñas persistentes, características éstas que lo diferencian del resto de los pinos españoles.

Pinus canariensis, junto con *P. roxburghii* forman la sección Sula del subgénero Diploxilon, Pilguer (1926), o la sección Pinea, subsección Canarienses, si seguimos a Little y Crichtfield (1969), quedando así este último como la especie más próxima al pino canario con un gran número de similitudes morfológicas y un alto grado de hibridación entre ambos, aunque se encuentre en el Himalaya, a una distancia aproximada de 8.000 Kms. Estudios más recientes utilizando técnicas de ADN cloroplástico determinan que *P. pinea* es la especie mediterránea más próxima al pino canario (Strauss y Doerksen, 1990; Linston *et al.*, 1999).

Los ejemplares adultos de *Pinus canariensis* se encuentran entre los 15-30 m de altura, y 0,5-1 m de diámetro, alcanzando algunos ejemplares los 60 m de altura y 2,5 m de diámetro. Su tronco es llamativamente recto, y de corteza lisa en sus primeros años para después convertirse en una capa muy gruesa, profundamente

resquebrajada, que es la que le confiere su alta resistencia al fuego.

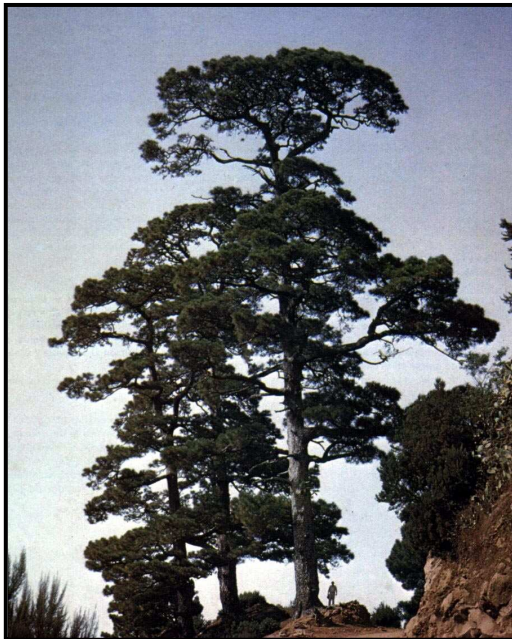


Foto I.1. Ejemplar adulto de *Pinus canariensis* que muestra el típico porte aparasolado.

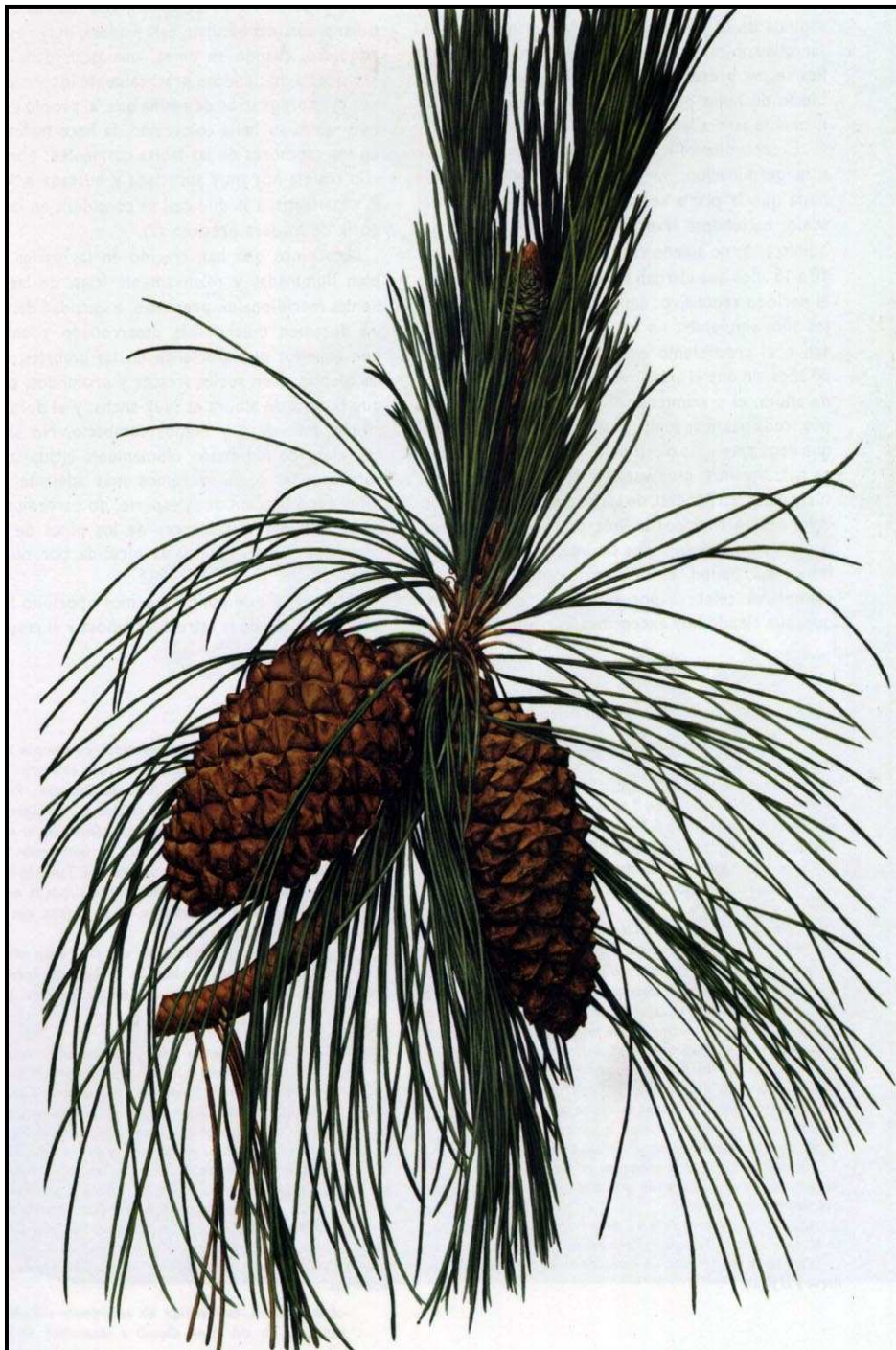


Lámina 1: *Pinus canariensis* DC.

(Acuarela de G. Torner). Fuente: Ceballos y Ortuño, 1976. pp: 165.

La edad varía entre 250 y 300 años, aunque se han citado casos que han llegado a alcanzar hasta los 600.

Sus copas, inicialmente cónicas en pinos jóvenes, adquieren forma aparasolada en ejemplares viejos al cesar el crecimiento en altura y desprenderse las ramas inferiores, mientras que las restantes siguen creciendo. La ramificación es abundante, con las ramas de longitud decreciente hacia la cima. La presencia de brotes adventicios, con acículas primarias, es uno de los más típicos caracteres del pino canario. Estas acículas primarias son de color gris-azulado, finísimamente aserradas y con una longitud de alrededor de 5 cm que se mantienen en la planta durante la fase juvenil, normalmente durante los dos primeros años, aunque pueden durar varios (Klaus, 1989; Climent *et al.*, 2006a), persistiendo simultáneamente con las acículas secundarias o verdaderas (Climent *et al.*, 2006a).

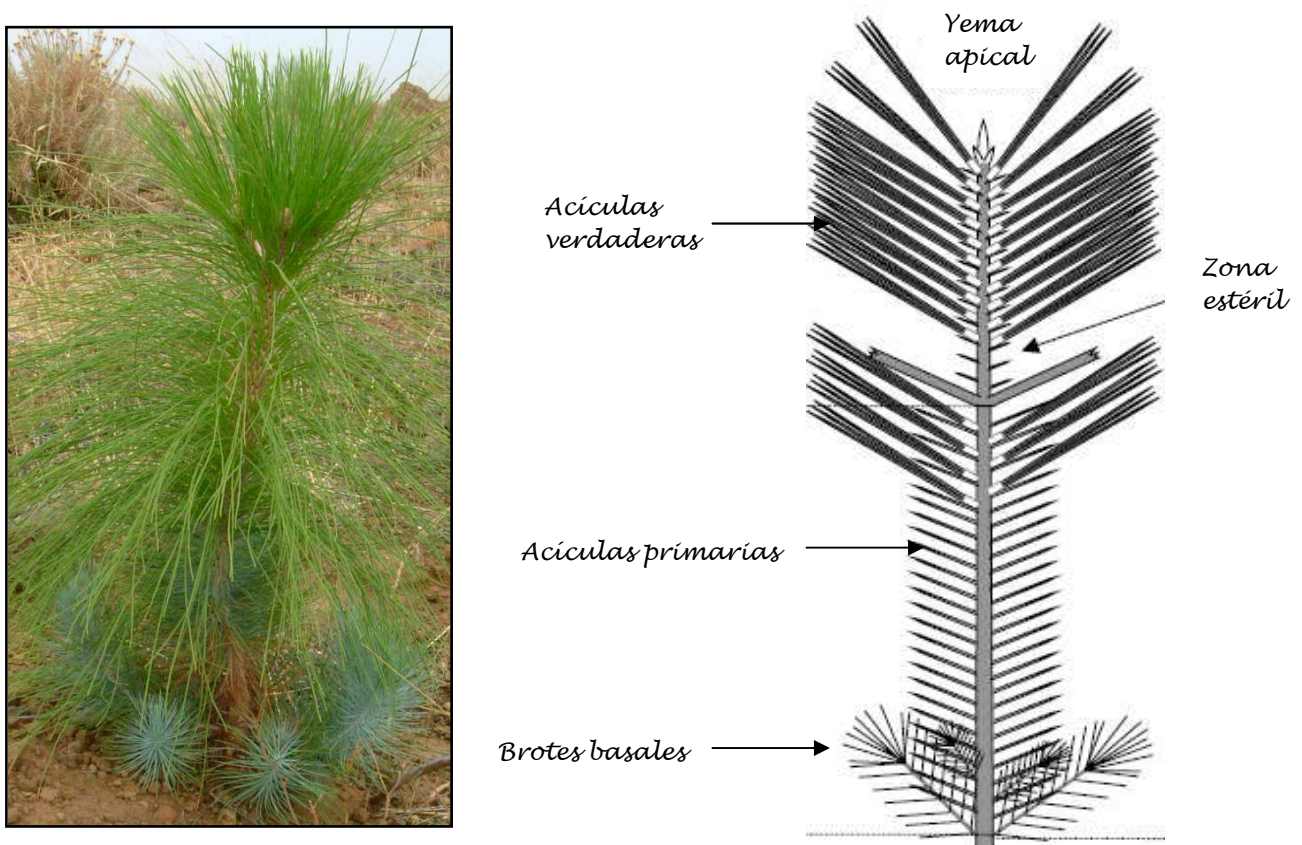


Foto I.2. Plántula de pino canario de 4 años de edad (izda) y esquema (Climent *et al.*, 2006a) (dcha).

Las acículas secundarias de 20-30 cms de largo por 1 mm de grosor se encuentran agrupadas de 3 en 3 y persisten de 2-3 años en el árbol. Al ser una especie monoica, podemos encontrar flores masculinas en las ramas más bajas siendo éstas ovado-oblongas, agrupadas en espigas cónicas, de 5-10 cm de largo que aparecen en los ramillos de un año, amarillo-verdosas en floración y rojizas al pasarse. Por el

contrario, las flores femeninas tienden a situarse en las zonas más altas evitando así los procesos de autofecundación, éstas se agrupan en conos solitarios, que se vuelven leñosos al fructificar formando piñas de diferentes morfologías dependiendo de la procedencia (Gil *et al.*, 2002) pero en general pardo-rojizas, lustrosas de 12-18 cm de largo y 5 cm de diámetro. Lo normal es que las piñas lleguen a su completo desarrollo en el otoño del año siguiente a la floración; sus semillas son piñones negruzcos y con un ala fija membranosa para favorecer la dispersión (Ceballos y Ortuño, 1976).

En los bosques naturales la regeneración por semilla, no perturbada y en buen suelo, es abundante y fácil. Tras la germinación, la raíz principal se desarrolla con rapidez y los cotiledones le sirven de aparato fotosintético por ser una planta de germinación epigea. Más tarde y dependiendo de las condiciones en las que se desarrolla la plántula, los cotiledones dan paso a un joven tallito, que antes de ramificarse presenta un color blanquecino y está recubierto de acículas primarias. Éstas van a dar paso a las acículas secundarias aproximadamente después del primer año de vida de la planta, aunque este periodo de tiempo es bastante variable dependiendo de las condiciones de crecimiento y procedencia de las plantas (Climent *et al.*, 2006a). Entre el primer y segundo año, dependiendo de las condiciones climáticas, la yema terminal entra en reposo (yema madura) y adquiere una morfología aovado-cilíndrica y apuntada, recubierta de escamas membranosas pardo-rojizas franqueadas en blanco con puntas libres y revueltas para dar paso al crecimiento lateral (Ceballos y Ortuño, 1976).

Los ejemplares adultos desarrollan un amplio sistema radicular que puede alcanzar en los 15 metros de largo, formado por una raíz principal penetrante y raíces secundarias, que aunque tienden también a ser penetrantes en terrenos pedregosos, pueden quedar bastante superficiales. Esto condiciona las distancias que quedan entre ejemplares, 4-5 m entre los distintos pies, dando lugar a una formación abierta, tipo sabana, en pinares naturales.

1.1.2. Ecología y distribución

En relación con su ecología el pino canario es una especie frugal, de montaña, sin marcadas exigencias respecto a la naturaleza del suelo (Ceballos y Ortuño, 1976), aunque con marcadas preferencias por sustratos sálicos (Del Arco *et al.*, 1992) y con notable amplitud de resistencia a las temperaturas (Peters *et al.*, 1999). Actualmente su distribución natural está relegada a las islas más occidentales, Gran Canaria, Tenerife, La Gomera, El Hierro y La Palma, y a una amplia variabilidad de ambientes. En las vertientes sur de las islas podemos encontrarlo desde los 550-2500 m de altitud y en las vertientes norte desde los 600 hasta los 2100 (Fernández-Palacios y de-Nicolás, 1995, Del Arco *et al.*, 2006) pudiendo llegar a cotas más bajas, incluso hasta nivel del mar en

determinadas zonas donde existen afloramientos sálicos (Del-Arco *et al.*, 1990, 2006). Podemos encontrar los pinares dentro de los termotipos Termomediterráneo y Mesomediterráneo, y dentro de distintos ombrotipos según la zona, pasando por el semiárido, seco, subhúmedo y húmedo (Del Arco *et al.*, 2006), aunque de manera general se distribuyen dentro del piso bioclimático mesomediterráneo pluviestacional seco (Rivas-Martínez, 1987), caracterizado por los contralisios.

Las formaciones del pinar están caracterizadas por la presencia del pino canario que domina en todas ellas como único elemento arbóreo, exceptuando en sus cotas más altas donde existen pinares mixtos con cedros (*Juniperus cedrus*) en Tenerife y La Palma.

Entre las especies que forman el sotobosque del pinar en Tenerife caben destacar en los pinares más húmedos el brezo (*Erica arborea*) y la faya (*Myrica faya*), dejando paso a los codesos (*Adenocarpus foliolosus*) en las zonas más altas y en las zonas más xéricas puede darse la presencia de sabinas (*Juniperus turbinata* spp. *canariensis*). El matorral que acompaña al pino está dominado por el escobón (*Chamaecitissus proliferus*), el jaguarzo (*Cystus symphytifolius*), la jaguarzo (*Cystus monspeliensis*), poleo de monte (*Bistropogon origanifolius*), corazoncillos (*Lotus* spp.) y tomillos (*Micromeria* spp.) entre otros. También característicos de los pinares en zonas de transición en el norte, son la chahorra (*Sideritis dentro-chahorra*) y las serrajas (*Sonchus* spp.).

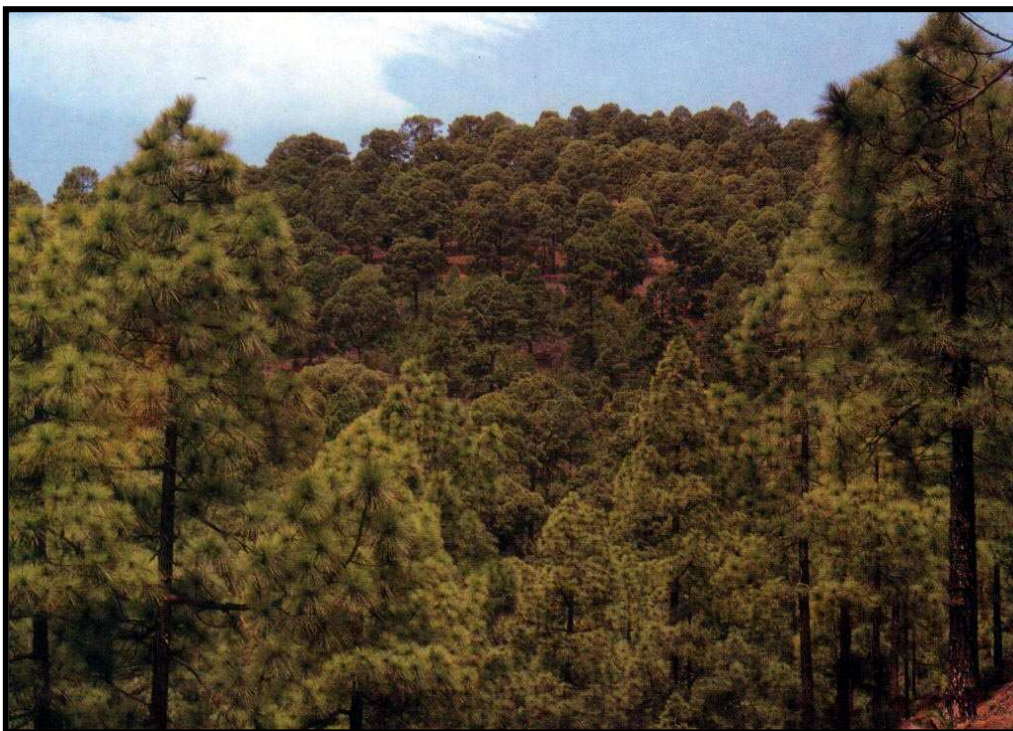


Foto I.3. Aspecto general de un bosque genuino de pino canario (Del Arco *et al.*, 1992).

1.2. Usos tradicionales del pino canario

Todo parece indicar que los guanches, antiguos pobladores de las islas, por su reducido número y su dependencia del medio natural casi no afectaron a las zonas potenciales de pinar. No obstante estos pobladores obtenían del pinar diversos objetos y materiales que eran fundamentales en su medio de vida, tales como armas y bastones, objetos domésticos, herramientas y algunos productos con fines alimenticios y medicinales (Del Arco *et al.*, 1992). Sin embargo la acción del hombre sobre el pinar ha sido intensa e importante tras la conquista de las islas influyendo decisivamente en el aspecto que toma actualmente esta formación vegetal. Dicha acción se ha basado en una serie de usos y aprovechamientos tanto directos como indirectos, entre los que cabe citar principalmente la obtención de madera, que debido a la alta concentración de resina que tiene en su parte central es altamente resistente al agua e imputrescible haciéndola muy adecuada para la construcción. Además de para la construcción, también se utilizaba la madera para leña, resina y pez. También de gran importancia en el pasado fue la utilización de la pinocha tanto para el embalaje de plátanos y tomates para la exportación, como para cama de ganado. Aunque esta retirada de la pinocha del suelo del pinar puede alterar el microclima en el que se van a desarrollar las plántulas en sus primeros estadios y el balance de nutrientes, su recogida evita la propagación del fuego durante los incendios forestales.

1.3. Reforestaciones con pino canario

La superficie que ocupaba esta formación en Tenerife en el pasado era aproximadamente un 25 % del territorio insular, formando un cinturón continuo alrededor de las cumbres de las islas más occidentales. El uso intensivo de los productos del pinar fue el causante de que esta masa forestal desapareciera de muchas zonas de la isla reduciéndose hasta un 12 % de su extensión original (Parsons, 1981; Peters, 2001).

Por ello a partir de los años 40 empieza una intensa campaña de reforestación por parte de las autoridades locales con el fin de recuperar el antiguo cinturón de pinar que existía en el pasado. Actualmente se han reforestado 17.500 ha con especies de pino, de las cuales un 86% corresponden a masas de pino canario, un 11% a zonas donde se ha introducido *Pinus radiata* y un 3% a otras coníferas introducidas.

Estas áreas reforestadas tienen una densidad mayor que los pinares naturales lo que deriva en un exceso de competencia (Arévalo *et al.*, 2005a), de manera que en los últimos años se ha empezado a realizar el manejo de las masas de pino canario para aclarar el bosque y favorecer su desarrollo, así como la eliminación de zonas de pino radiata.

Además de las plantaciones realizadas en las islas, el pino canario, dadas sus características de resistencia al fuego y su capacidad de rebrote, ha sido objeto de repoblaciones fuera de ellas, incluso fuera de España, y aunque a pequeña escala, ejemplo de éstas son las realizadas en áreas mediterráneas, África, India, Australia, Nueva Zelanda, California y Sur América (Chapman, 1948; FAO, 1952; Din, 1958; Castilla, 1999; Gravano, 2002; Nyoka, 2002).

1.4. Cultivo de Pino canario para reforestación y calidad de planta

Son muchos los estudios realizados con esta especie, sin embargo hasta el momento no se le ha dedicado la atención suficiente al proceso de producción de planta para reforestación y su posterior desarrollo en el campo.

Aunque las repoblaciones llevadas a cabo en la Isla de Tenerife han tenido, en general, bastante éxito tal y como se observa en la recuperación de esta masa (Figura I.1), existen sin embargo, determinadas zonas donde se han dado algunos problemas en las repoblaciones debido a que las condiciones de aridez son más pronunciadas (alrededor de 300 mm anuales), impidiendo así el cierre del cinturón de pinar en la zona sur. Es por ello que surge la necesidad de evaluar los factores que están afectando a la reforestación con pino canario en el sur de Tenerife, y entre estos factores la calidad de la planta como punto de partida para mejorar los porcentajes de supervivencia.

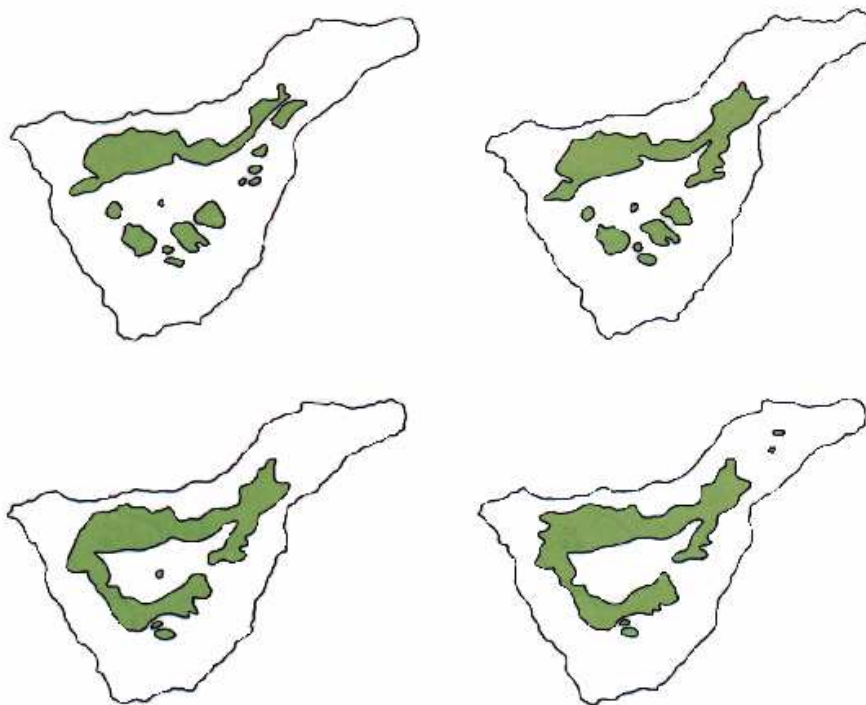


Figura I.1. Progresión de la superficie de pinar en Tenerife desde 1950. El mapa superior izquierdo corresponde a 1950, y el derecho a 1960. Los inferiores corresponden, de izquierda a derecha a 1970 y 1987. (Fuente: Del Arco *et al.*, 1992).

Aunque son muchos los factores que afectan al éxito de una plantación, la calidad de planta forestal es uno de los más importantes que la condicionan, sin embargo no ha sido siempre aceptado como tal. Aunque ya desde 1949 se había empezado el estudio de la misma, no fue hasta 1974 en una reunión del IUFRO (Unión Internacional de Organizaciones de Investigación Forestal) donde se reconoce la importancia de la calidad de planta.

La definición de calidad de planta más utilizada es la empleada por Duryea (1985) definiéndose como la capacidad que tiene una planta para alcanzar el éxito en una estación particular, refiriéndose al éxito como la supervivencia de la planta tras haber superado la fase de arraigo. Para alcanzar el éxito en términos de supervivencia, crecimiento y desarrollo de la planta intervienen múltiples factores como la morfología de la planta en el momento de la plantación, su estado fisiológico, las condiciones climáticas de la zona de repoblación, todas las variables relacionadas con la preparación del terreno, el transporte, manipulación de la planta, etc.

Existen muchos trabajos basados en cómo mejorar la calidad de planta en especies de coníferas europeas y americanas, pero hasta hace sólo algunos años no se habían empezado a llevar a cabo con el pino canario, precisamente cuando comenzaron las reforestaciones que se están realizando en las islas para recuperar el antiguo cinturón de bosque mencionado en el apartado anterior, que además es susceptible de ser ampliado debido a la nueva legislación de reforestación de tierras agrarias abandonadas y también como consecuencia de los problemas que se han dado en determinadas repoblaciones.

Haciendo un poco de historia, el comienzo del "cultivo moderno" de pino canario con fines de reforestación empezó en la década de los cuarenta utilizando canutos de caña a modo de contenedores (Ceballos y Ortuño, 1976). Posteriormente, a mitad de los años setenta cuando el uso de este contenedor se había extendido por todo el mundo fue reemplazado por las económicas bolsas de polietileno microperforadas, actualmente también en desuso como se explica en el capítulo siguiente. Los sustratos empleados tradicionalmente en las islas han sido tierras naturales de monte sin emplear fertilización, por entender que la tierra de monte le confería a la planta todos los nutrientes necesarios hasta llegar el momento de la plantación en campo. EL cultivo del pino canario en Tenerife se ha venido realizando de esta manera (en bolsa y con sustratos naturales sin fertilizar) desde los últimos 30 años. Actualmente, y como consecuencia de los resultados parciales obtenidos en un proyecto previo y en esta Tesis se ha modificado el método de cultivo pasando a emplear sustratos artificiales fertilizados y contenedores comerciales.

En los últimos años se ha establecido un marco jurídico legal en torno a la producción de especies forestales para repoblación, que hace muy necesaria la

estandarización de los métodos de cultivo. Según la normativa del Sistema OCDE, de comercialización del material forestal de reproducción, al que actualmente España se encuentra adherida (Ministerio de Asuntos Exteriores, BOE nº 285, 29-XI-1994); la Directiva 1999/105/CE del Consejo de 22 de Diciembre de 1999 sobre la comercialización de materiales forestales de reproducción (Diario Oficial de las Comunidades Europeas de 15.1.2000); Resolución de 11 de Enero de 2001, de la Dirección General de Agricultura, por la que se publica el primer catálogo nacional de base de diversas especies forestales para la producción de materiales forestales de reproducción identificados en la que se incluye a *Pinus canariensis* (BOE n123, 26-I-2001), los valores permitidos actualmente para el cultivo de plantas de pino canario de una savia son una altura mínima y máxima de 10 y 25 cm respectivamente, y un diámetro mínimo de 2 mm en el cuello de la raíz, mientras que para los de dos savias son ligeramente superiores entre 15-35 cm de altura y hasta 3 mm de diámetro en el cuello de la raíz. En estas bases se establecen las directrices para la normalización de los contenedores, los sustratos utilizados y de la calidad de planta, tanto cuantitativa como cualitativamente. Aunque en países más avanzados en la investigación forestal (EEUU, Canda, Nueva Zelanda, etc.) se lleve mucho tiempo trabajando en calidad de planta, en nuestro país el establecimiento de programas integrados de mejora de calidad de planta forestal ha sido más lento, destacando sobre todo los avances en especies de pinos y en menor medida en frondosas (Del Campo, 2002), aún así, en las islas no se había empezado a estudiar la calidad de planta hasta hace pocos años.

En esta normativa no se establecen rangos para ningún parámetro de respuesta fisiológico, aunque el estado fisiológico de las plantas en el momento de llevarlas a campo es de vital importancia para obtener un buen arraigo. Ya en 2003 entra en vigor un real decreto (RD 289/2003) donde se hace referencia a la necesidad de tener en cuenta la calidad fisiológica de las plántulas. En los últimos años las técnicas ecofisiológicas han ido tomando importancia en los estudios de calidad de planta. Entre las variables ecofisiológicas más frecuentemente utilizadas se encuentra el intercambio gaseoso, potencial hídrico de suelo y planta, evaluación fotoquímica de la planta, arquitectura hidráulica, flujo de savia y recientemente se están incorporando técnicas de discriminación isotópica (Hawking y Binder, 1990; Vallejo *et al.*, 2003; Villar-Salvador, 2003; Vilagrosa *et al.*, 2005, Querejeta *et al.*, 2006).

1.5. Estudios realizados

Debido al interés que ha despertado esta especie, son muchos y muy diversos los estudios realizados en pino canario tanto dentro como fuera de las islas, empezando por el estudio de los fósiles (Saporta, 1865, 1868, 1873; Depape, 1922; Schmincke, 1967, 1968; Kasapligil, 1977, 1978; Gregor, 1980; Klaus, 1982, 1984; Alonso,

1989; Morla *et al.*, 2003), pasando por estudios taxonómicos y filogenéticos (Page, 1974; Klaus, 1989, Strauss y Doerksen, 1990; Krupkin *et al.*, 1996; Frankis, 1999; Liston *et al.*, 1999; Wang *et al.*, 1999; González –Andrés *et al.*, 1999; Geada *et al.*, 2002, Gernandt *et al.*, 2005), de genética de poblaciones (Schiller *et al.*, 1999; Korol *et al.*, 1999; Gómez *et al.*, 2003; Navascués, 2005; Vaxevanidou *et al.*, 2006), estudios de procedencias (Bellefontaine y Ragabbi, 1979; Climent *et al.*, 1996, 2001b, 2002b) y de cultivo *in-vitro* (Martínez *et al.*, 1990, 1992, 1994). Hay que destacar también varios trabajos donde se estudia esta especie desde un punto de vista general (Nogales, 1917; Del Arco *et al.*, 1990; Pérez de Paz *et al.*, 1994a, 1994b) y ecológicos (Blanco *et al.*, 1989; Nogales *et al.*, 1990; Arévalo *et al.*, 2001; Sruteck *et al.*, 2002; Jonsson *et al.*, 2002; Grotkopp *et al.*, 2002; Tapias *et al.*, 2004).

Aunque peculiar para esta especie es su alta resistencia al fuego, pocos autores se han dedicado a su estudio, aún así hay algunos trabajos sobre las modificaciones que ha desarrollado para adaptarse a él (Escudero *et al.*, 2000; Climent *et al.*, 2004) y la morfología de sus piñas (Franco, 1943; Climent *et al.*, 2001a; Gil *et al.*, 2002). Asimismo se han realizado estudios desde el punto de vista hidrológico (Aboal *et al.*, 2000a, 2002b; Tejedor *et al.*, 2004) y en su relación con el medio ambiente, es decir desde el punto de vista ecofisiológico, que quizás sea donde mayor interés ha despertado y donde más estudios se han realizado. Desde estudios a nivel de estructura y ultraestructura de las acículas (Jiménez *et al.*, 2000; Zelling *et al.*, 2002; Stabentheiner *et al.*, 2004; Grill *et al.*, 2004,) a variación fenotípica (Gasulla *et al.*, 2001), generales a nivel de bosque (Jiménez *et al.*, 1997, 2005; Jiménez y Morales 2001; Luis *et al.*, 2002, 2005a; Wieser *et al.*, 2002; Peters *et al.*, 2003; Gieger y Leuschner, 2004; Morales *et al.*, 2005; Wieser *et al.*, 2006a, 2006b), calidad ambiental (Barreno, 1996; Arhoun *et al.*, 2000), intercambio gaseoso (Morales *et al.*, 1999; Peters, 2001; Peters *et al.*, 2003; Fernández y Tapias, 2005), resistencia a altas temperaturas extremas (Peters *et al.*, 1999; Luis *et al.*, 2006b), antioxidantes y fotoprotección (Tausz *et al.*, 1997, 1998a, 1998b, 1999a, 1999b, 2000, 2001, 2003) y concentración de nutrientes y contaminantes (Tausz *et al.*, 2004, 2005).

También ha despertado interés dentro de la fitosociología (Esteve, 1969; Ceballos y Ortuño, 1976; Fernández-Pello, 1987; Del Arco, 1987; Rivas-Martínez, 1987; Rivas-Martínez *et al.*, 1993a, 1993b), desde la conservación (Farjon, 2003; Arévalo y Fernández-Palacios, 2005a, 2005b; Arévalo *et al.*, 2005) y de la regeneración natural (Luis, 2000; Luis *et al.*, 2001; Peters *et al.*, 2001).

Sus aceites esenciales también han sido objeto de estudio (Roussis *et al.*, 1995; Pfeifhofer, 2000), así como las características de su madera (Peraza y López de Roma, 1967; Coetzee, 1978; Climent *et al.*, 1993, 1998, 2002a, 2003b).

Existen pocos trabajos en relación con las repoblaciones forestales y la silvicultura (Delgado, 1986; Khatabi, 1991; Pita *et al.*, 1998; Spencer, 2000; Gravano, 2002) y desde hace muy poco se han empezado a desarrollar estudios sobre calidad de planta de pino canario para reforestación (Climent *et al.*, 2003a; Luis *et al.*, 2004a, 2004b) y la influencia sobre su respuesta en campo (Luis *et al.*, 2005b, 2005c; Luis *et al.*, enviado), así como el empleo de técnicas viverísticas para mejorar la calidad de planta (Luis *et al.*, 2006a).

2. HIPÓTESIS EXPERIMENTAL, OBJETIVOS Y ESTRUCTURA DE LA TESIS

Este trabajo parte de la hipótesis de que las plantas de alta calidad en vivero tendrán mayor supervivencia y desarrollo en el campo y mejor estado fisiológico, lo que les permitirá adaptarse mejor a las condiciones estresantes características de la sequía estival, principal causa de la muerte de las plantas en el campo. Por este motivo, el **objetivo** principal del presente estudio es obtener planta de calidad que aumente la supervivencia en campo de las plantaciones en zonas con problemas de reforestación, analizar las técnicas viverísticas que pueden producirla y estudiar su comportamiento fisiológico frente a condiciones de estrés.

Este objetivo general se ha desglosado en 7 objetivos parciales:

1. Comparar el cultivo del pino canario a base de sustratos naturales sin fertilizar (Cultivo Tradicional) con los cultivos a base de turbas fertilizadas (Cultivo Alternativo) y determinar qué tipo de contenedor, sustrato y dosis de fertilización aporta a la planta mayor calidad.

2. Establecer cuáles son los parámetros tanto morfológicos como fisiológicos y de respuesta más idóneos para evaluar la calidad de planta de *Pinus canariensis* de una savia.

3. Evaluar la supervivencia en campo de los dos tipos de cultivos, para comprobar si la cantidad de nutrientes minerales presentes en la tierra de monte (Cultivo Tradicional) confieren a la planta una calidad similar a la aportada con los nutrientes en la fertilización (Cultivo Alternativo).

4. Relacionar la supervivencia con la morfología y fisiología de las plantas en el campo y determinar qué parámetros de vivero son más efectivos a la hora de predecirla.

5. Evaluar la respuesta fisiológica de los dos tipos de cultivo durante un periodo de sequía estival en el campo y de un tratamiento de sequía impuesto artificialmente en plantas crecidas en maceta, determinando en estas últimas, si dicho tratamiento es capaz de conferir a las plantas de los diferentes tipos de cultivo, distinta resistencia a las altas temperaturas.

6. Comparar el desarrollo tanto morfológico como fenológico de plantas crecidas en el campo con el de las plantas crecidas en maceta de los dos cultivos.

7. Evaluar cómo la fertilización y el sombreado modifican la morfología de la planta y cómo estos cambios morfológicos afectan a la fisiología de la planta en términos de conductancia hidráulica y su influencia en la fotosíntesis y eficiencia en el uso del agua.

Para su consecución se han diseñado 4 experimentos:

Los objetivos 1 y 2 se desarrollan en el **Capítulo II. Cultivo en vivero**. Donde se analiza la influencia de las distintas técnicas de cultivo (tipo de envases, sustratos, fertilización, etc) en la calidad final de las plántulas de pino canario, comparándose el método tradicional de cultivo, usado hasta el momento en la producción de pino en Tenerife (con materiales naturales sin fertilizar), con cultivos alternativos compuestos de turbas fertilizadas.

Los objetivos 3, 4 y 5 se estudian en el **Capítulo III. Seguimiento en campo**. En él se analiza la respuesta en campo de las plantas de cada tratamiento, tanto en términos de supervivencia, como de crecimiento y desarrollo fenológico, incorporando además un seguimiento de la fisiología de los dos tipos principales de cultivo (tradicional y alternativo) durante el periodo estival del tercer año de plantación.

Los objetivos 5 y 6 son tratados en el **Capítulo IV. Seguimiento en maceta**. En él se estudian las respuestas morfológicas y fisiológicas de las plantas en maceta y se comparan con las encontradas en el campo. Para ello después de analizar los parámetros morfológicos durante un año, se establece un experimento de sequía en el que se analiza la respuesta fisiológica tanto a nivel de hoja (estado hídrico, intercambio gaseoso y fluorescencia de la clorofila) como a nivel de planta entera (flujo de savia) para las plantas de los dos tipos de cultivos, evaluando si aumenta la termotolerancia con la sequía.

El objetivo 7 se estudia en el **Capítulo V. Modificación de la arquitectura hidráulica mediante fertilización y sombreado**. Donde, además de los parámetros tratados en los capítulos anteriores, se estudia la conductancia hidráulica y su implicación en la fotosíntesis y eficiencia en el uso del agua debido a las modificaciones originadas con los tratamientos viverísticos de fertilización y sombreado.

Finalmente, las conclusiones generales se expondrán en el **Capítulo VI**.



Capítulo II. Cultivo en Vivero

*“La naturaleza nos ha dado las semillas del conocimiento, no el
conocimiento mismo”
Séneca*

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Calidad de planta

La calidad de planta forestal es un concepto muy amplio y depende de muchos y múltiples factores. Hoy en día se entiende que la calidad de planta es un concepto que debe aludir al conjunto de características morfológicas y fisiológicas que estén cuantitativamente relacionadas con una respuesta satisfactoria en el campo (Rose *et al.*, 1990), por lo que la definición más aceptada para la mayoría de los autores es "la capacidad para alcanzar unas expectativas de supervivencia y crecimiento en una estación particular" (Duryea, 1985; Thompson, 1985; Mexal y Landis, 1990; Grossnickle *et al.*, 1991; Oliet, 1995; Mattsson, 1997). Así, la calidad de planta es un aspecto de particular importancia que debe definirse de acuerdo a una morfología y fisiología que permitan a la planta una mejor respuesta frente a las condiciones de estrés del lugar de establecimiento (Oliet, 1995). Sin embargo la calidad de la planta al salir del vivero sólo está parcialmente relacionada con su respuesta en campo, ya que esta respuesta va a estar condicionada por muchos otros aspectos tales como el transporte, la manipulación, las técnicas de plantación y por supuesto las condiciones del lugar como el clima, el suelo o la competencia con otras especies (Duryea y McLain, 1984; McKay, 1997; South, 2000), pudiendo incluso eliminar todos los atributos de calidad mejorados en vivero y conducir a la muerte de la planta en el campo.

En los últimos años se ha reconocido que la calidad de planta es uno de los factores fundamentales para aumentar el éxito, en términos de supervivencia, en una plantación (South, 2000; Puértolas *et al.*, 2003, Villar-Salvador, 2003; Vilagrosa *et al.*, 2005). Por ello, para asegurar un buen arraigo de las plantas en el campo, es necesario entender cómo las prácticas en vivero pueden afectar a la calidad de planta, estando ésta determinada por un complejo sistema de condiciones tanto morfológicas como fisiológicas, siendo la calidad de planta la combinación de la calidad genética, sanitaria, morfológica y fisiológica (Villar-Salvador, 2003).

Durante los últimos 50 años, y principalmente durante las décadas de los 80 y 90, tanto investigadores como selvicultores y viveristas han estudiado la manera de mejorar la calidad de planta mediante las técnicas de cultivo en vivero (contenedores, sustratos, fertilización, etc) desarrollando diferentes métodos para evaluarla basados en parámetros morfológicos, análisis de nutrientes y carbohidratos, test de respuesta (Duryea, 1985; South, 2000; Mason, 2001) y aplicando distintas técnicas de endurecimiento, ya sea por frío, fertilización, riego, almacenamiento, etc. (Villar-Salvador *et al.*, 1999; Puértolas, 2003; Mena-Petite *et al.*, 2003, 2004, 2005, 2006; Puértolas *et al.*, 2005).

Los conocimientos adquiridos en los últimos años en la mejora de la calidad de planta, así como la mejora en la supervivencia obtenida, justifican la necesidad de

continuar investigando y no abandonar este tipo de estudios por considerarlos herramientas del pasado. Dados los altos presupuestos destinados a reforestación en nuestro país y los problemas existentes en algunas repoblaciones, es necesario que se sigan realizando estudios en calidad de planta y en la búsqueda de técnicas más adecuadas para ser aplicadas en el vivero y en el momento de la plantación.

Las plantas que salen de vivero deben cumplir una serie de requisitos, según RD 1356/1998 que se recogen en Peñuelas y Ocaña (2000). Las normas cualitativas actualmente en vigor para el cultivo del género *Pinus* en vivero exigen que:

1. Las partidas estén formadas por, al menos, un 95 % de plantas de calidad cabal y comercial.

2. La calidad cabal y comercial se determine de acuerdo con unos criterios relativos a la conformación y estado sanitario, en su caso, a criterios de edad y dimensiones.

3. Se excluyan de la denominación de la calidad cabal y comercial a:

Aquellas plantas con heridas no cicatrizadas, plantas total o parcialmente desecadas, tallo con una fuerte curvatura, tallo múltiple, tallo con muchas guías, tallo y ramas con parada invernal incompleta, tallo desprovisto de una yema terminal sana, ramificación insuficiente, acículas más recientes gravemente dañadas hasta el punto de comprometer la supervivencia de la planta, cuello dañado, raíces principales con problemas de reviramientos y remontes, raíces secundarias inexistentes o seriamente amputadas, plantas que presentan graves daños causados por organismos nocivos, plantas que presentan indicios de recalentamiento, fermentación o humedad debidos al almacenamiento en vivero.

Siguiendo a los mismos autores las principales premisas para la elaboración de técnicas de cultivo de plantas forestales, especialmente cuando éstas se destinan a repoblar regiones con déficit hídrico limitante del arraigo de las plantas, son las siguientes:

- El cultivo se debe realizar en contenedores adecuados, es decir, que no permitan el enrollamiento de las raíces y que tengan las dimensiones suficientes para permitir el desarrollo del sistema radical.
- Se deben usar sustratos apropiados, capaces de permitir una adecuada nutrición y un correcto empleo del agua, y con una estructura que permita la extensión del sistema radical.
- Se deben controlar los factores ambientales, el riego, la fertilización y la aplicación de fitosanitarios, de manera que se obtenga una buena germinación de las plantas, un crecimiento equilibrado de las mismas y se puedan llevar al campo suficientemente endurecidas y con niveles de nutrientes y capacidad fotosintética adecuados.

1.1.1. Contenedores

La utilización de contenedores para el cultivo de brinzales presenta grandes beneficios (Brisette *et al.*, 1991), respecto a la plantación a raíz desnuda, principalmente en las repoblaciones forestales donde las condiciones de aridez, como sucede en determinadas zonas de las Islas Canarias, son grandes. Su utilización proporciona una gran cantidad de ventajas, las dos principales son el aumento de la supervivencia y el alargamiento de la época de plantación (Alegría *et al.*, 1975). Como ya se mencionó anteriormente el cultivo del pino canario comenzó realizándose en canutos de caña, para luego dar paso a la bolsa de plástico. Entre las cualidades atribuidas al cultivo en bolsa cabe destacar: una buena protección frente a la desecación del sistema radical, la variabilidad existente de tamaños y volúmenes, su facilidad de almacenamiento y bajo coste. Sin embargo actualmente el cultivo de la bolsa ha caído en desuso. Al estar cerrada en la base no permite el autorrepicado de las raíces, produciéndose una elevada concentración de raíces en el fondo (Salem, 1971), así como un reducido desarrollo aéreo y de las raíces secundarias (Piotto, 1990). La supervivencia en campo de las plantas suele ser buena, siempre que el resto de factores asociados al proceso de plantación (transporte, preparación del terreno, etc.) se hayan efectuado correctamente, pero con el paso del tiempo las marras pueden aumentar, llegándose a perder plantaciones por problemas de reviramientos radicales (Tinus y Ownston, 1984). Se han dado casos en el que las malformaciones del sistema radical, han sido causa de una inestabilidad elevada de la planta frente al viento, llegando a ser abatidas (Marcelli, 1984). En ocasiones la baja calidad observada en pinos producidos en la bolsa, puede que no se debiese tanto al empleo de este envase en sí, sino a la combinación de su uso con una prolongación excesiva del tiempo de la planta en vivero (más de una savia) y a una baja eficacia del sustrato utilizado.

La aparición de contenedores cada vez más modernos y adaptados a las exigencias de las plantas durante su etapa de vivero, y el hecho de que en los últimos años se ha recomendado no utilizar el cultivo en bolsa (Montoya y Campos, 1996) ha llevado al abandono progresivo de este tipo de contenedor.

El empleo de planta en contenedor está actualmente generalizado para las plantaciones en clima seco que se realizan en nuestro país. Existen numerosísimos contenedores dentro del mercado y muchos trabajos que testan las diferentes características de ellos y cómo influyen en la calidad de planta de diferentes especies (Brisette *et al.*, 1991; Domínguez-Lerena *et al.*, 2000; Villar-Salvador *et al.*, 2001b; Aphalo y Rikala, 2003; Chirino *et al.*, 2005; South *et al.*, 2005; Trubat *et al.*, 2005; Iglesias y Serrada, 2005; Domínguez-Lerena *et al.*, 2006).

A la hora de seleccionar los contenedores hay que tener en cuenta, principalmente, cómo sus características de diseño inciden en el tamaño de las plantas, en la relación entre sus diferentes partes y en la forma de sus sistemas aéreos y radicales. Numerosos trabajos han reafirmado que para especies con una raíz principal fuertemente pivotante, como es el caso del pino canario, la dimensión más importante de los contenedores es la profundidad (Vilagrosa *et al.*, 1997; Chirino *et al.*, 2005). Es mejor un contenedor profundo aunque sea estrecho que permita a la raíz pivotante profundizar al máximo y concentrar sus puntos de crecimiento una vez puesta en campo, que un contenedor espacioso. Cuanto más hondo se sitúe el sistema radical, más posibilidades tendrá la planta de escapar de las frecuentes sequías a las que se verá sometida, ya que son las capas superficiales del suelo las que se secan antes (López *et al.*, 1998). Aún así, el volumen es también otro factor importante a tener en cuenta, ya que, en general, cuanto más grande es el envase mayor es la planta que se puede producir (Peñuelas y Ocaña, 2000).

1.1.2. Sustratos

Hasta hace no mucho en nuestro país se consideraba que el sustrato no ejercía efecto sobre la calidad de planta. Sin embargo, diversos proyectos de investigación llevados de forma conjunta por el INRA y el CEMAGREF de Francia, han puesto de manifiesto que una correcta nutrición mineral condiciona todo el desarrollo anterior y posterior del cultivo, y han confirmado que los sustratos son, hoy día, una de las mejores herramientas con las que cuenta el técnico viverista para conferir calidad a sus productos.

Las plantas cultivadas en envase tienen ciertos requerimientos que deben ser proporcionados por el sustrato: agua, aire, nutrientes y soporte físico. Así, la utilización de uno u otro tipo va a condicionar el cultivo de la planta.

Tradicionalmente se utilizaron sustratos a base de componentes naturales mezclados en diferentes proporciones. Sin embargo, pronto se descubrió que este tipo de medio producía algunos problemas culturales: permeabilidad, contaminación biológica, etc. Actualmente, la tendencia lleva a un dominio de los sustratos artificiales, aunque todavía no es un aspecto completamente resuelto y sobre el que hay que seguir investigando (Navarro y Pemán, 1997). En el caso del cultivo en Tenerife al comenzar el presente trabajo aún se seguían empleando elementos naturales, como la tierra de monte y el picón (material de origen volcánico).

Actualmente, en los viveros españoles, hay una mayor tendencia a realizar mezclas de materiales orgánicos e inorgánicos. En principio estas combinaciones son interesantes porque presentan propiedades físicas y químicas, en muchos casos opuestas y a veces complementarias. En general, los materiales orgánicos generan

gran cantidad de microporos y, por tanto, una elevada capacidad de retención de agua (CRA), siendo, además, suficientemente elásticos como para sufrir compactaciones. Tienen también una elevada capacidad de intercambio catiónico (CIC), pudiendo retener nutrientes tras el lixiviado (Peñuelas y Ocaña, 2000). Por otro lado, los materiales inorgánicos aportan al sustrato una estructura con macroporos, que mejoran la aireación y el drenaje, así como un carácter estéril al medio de crecimiento (Navarro y García, 1997). Destacan las turbas entre los materiales orgánicos, así como diferentes residuos tales como lodos, compost, orujos, astillas, dependiendo de la zona de producción. Entre los inorgánicos vermiculita y perlita son los más comunes, también arena de río o picón en el caso de Canarias.

1.1.3. Fertilización

En nuestro país, hasta hace muy poco tiempo, se había sostenido la idea generalizada de que la fertilización no era conveniente para las plantas salvo en casos de carencias nutricionales muy significativas. Todavía hoy se discute a menudo sobre la conveniencia de aplicar fertilizantes a las plantas forestales con el criterio de conseguir un crecimiento vigoroso y equilibrado de las mismas. Sin embargo, los numerosos ensayos que vienen realizándose para estudiar los efectos de la fertilización durante la etapa de vivero en la producción forestal, han ido demostrando que la nutrición afecta de manera determinante a la resistencia de las plantas al estrés y las enfermedades, así como a los procesos fisiológicos y a la morfología, lo cual determina el estado de las plantas antes de que éstas sean llevadas a la plantación (Sutton, 1979; Rook, 1991).

La concentración de cada nutriente en la solución del medio es el aspecto más importante de la fertilización, ya que la planta debe recibir las concentraciones necesarias de nutrientes para su óptimo desarrollo. Landis (1989) define los rangos adecuados para los tres macronutrientes principales para plantas producidas en contenedor, siendo el rango adecuado para el nitrógeno entre 12-20 mg g⁻¹; entre 10-20 mg g⁻¹ para el fósforo y entre 30-80 mg g⁻¹ para el potasio. Aún así, cada especie tiene unos requerimientos particulares de nutrientes y además éstos varían en función del desarrollo de la planta (Timer y Armstrong, 1987).

1.1.4. Riego

El agua es un factor primordial para el desarrollo de las plantas y muy importante a la hora del establecimiento del cultivo. En este trabajo no va a ser objeto de estudio, debido al gran número de variables introducidas ya en el mismo, aunque será aportado de manera que no se produzcan ningún tipo de fenómenos asociados al estrés hídrico.

1.2. Métodos de evaluación de la calidad de planta

Los parámetros utilizados para estudiar la calidad de planta forestal en vivero son muchos y diversos y se distinguen en dos grandes grupos: Los atributos materiales, que engloban los atributos morfológicos y fisiológicos, y los atributos de respuesta (Chavesse, 1980; Duryea, 1895; Villar-Salvador, 2003).

La calidad morfológica de una planta hace referencia a un conjunto de caracteres, tanto de naturaleza cualitativa como cuantitativa, sobre la forma y estructura de la planta o de alguna de sus partes. Los atributos morfológicos que se usan para determinarla son muy diversos (Ritchie, 1984; Thompson, 1985; Mexal y Landis, 1990; Villar-Salvador, 2003). La calidad fisiológica hace referencia al estado nutricional, reservas de carbohidratos, capacidad de ajuste osmótico y un largo etcétera (Duryea y McLain, 1984; Puttonen, 1997; Grossnickle, 2000). Los atributos de respuesta se pueden considerar atributos de síntesis, ya que poseen la capacidad de resumir en pocos parámetros muchos caracteres morfofisiológicos (Burdett, 1990).

1.2.1. Atributos morfológicos

Altura (H). La altura es uno de los parámetros más usados a la hora de evaluar la calidad de planta y es el más frecuente por su facilidad de medición. Está correlacionada con la superficie foliar y la fotosíntesis. Actualmente existe una tendencia cada vez más generalizada a considerarla como buen predictivo de la supervivencia, por estar correlacionada positivamente con ella como lo demuestran numerosos trabajos realizados en especies mediterráneas (Cortina *et al.*, 1997; Olliet *et al.*, 1997; Villar-Salvador *et al.*, 2000,; 2001a, 2003, Puértolas *et al.*, 2003; Luis *et al.*, 2004a).

Diámetro en el cuello de la raíz (D). El diámetro en el cuello de la raíz está correlacionado con la sección transversal de xilema conductor y con el volumen de las raíces y es indicativo del vigor. Este parámetro es de gran valor individual (Wilkinson, 1969). Es un buen indicador del grado de lignificación de la planta y del desarrollo del sistema radical. Su valor predictivo aumenta notablemente si se relaciona con la altura (Chavesse, 1980).

Índice de esbeltez (IE). El índice de esbeltez es la relación entre la altura de la planta y el diámetro en el cuello de la raíz. Este parámetro es útil por estar relacionado con la resistencia al viento, a la sequía o al frío (Gil y Pardos, 1997).

Peso seco de la parte aérea y de la raíz (Psa y Psr). El peso seco de la parte aérea refleja la cantidad de biomasa, el desarrollo del tallo, las ramas y las hojas (frondosidad de la planta). Es uno de los atributos, junto con la altura, más afectados por las prácticas de cultivo, aunque su utilización de forma aislada no tiene valor predictivo. El peso seco de la raíz, por su simplicidad constituye un buen indicador de

la biomasa radical. De forma general se acepta que un sistema radical fibroso, con abundantes raíces secundarias y bien distribuidas, mejora considerablemente la supervivencia y el crecimiento.

Relación parte aérea-raíz (Psa/Psr). Esta relación parece ser un buen indicador de la supervivencia al reflejar relaciones de equilibrio entre fotosíntesis, transpiración y absorción de agua, aunque los resultados son todavía algo contradictorios. Para pinos, Gil y Pardos (1997) dan valores entre 1 y 2 como aceptables, de 2 a 3 resultan críticos y mayores de 3 inaceptables. Esta relación se calcula mediante los pesos obtenidos en el apartado anterior y hay varios trabajos en los que se describen buenas correlaciones entre esta relación y distintos parámetros fisiológicos.

Índice de Calidad de Dickson (ICD). Éste índice combina parámetros morfológicos de longitud y peso, siendo un buen indicador de la respuesta de la planta en terreno, siempre que las condiciones fisiológicas sean estables (Dickson *et al.*, 1960). El índice de Dickson (que integra a la esbeltez y al Psa/Psr) también se ha utilizado como atributo para estudiar la respuesta de las plantas después de su establecimiento (Thompson, 1985; Romero *et al.*, 1986; Brissette *et al.*, 1991; Dey y Parker, 1997; Villar-Salvador *et al.*, 2000; Del Campo, 2002).

Facilidad de extracción del cepellón (FEC). Proporciona importante información acerca del estado en el que queda el cepellón tras extraerlo del contenedor y puede darnos una idea de la posibilidad de supervivencia de la planta en campo.

Micorrización. La presencia de un sistema radical micorrizado es una estrategia nutricional que han desarrollado la mayoría de las plantas y algunos hongos desde sus propios orígenes, que les asegura un beneficio mutuo, básicamente de tipo nutricional. Las plantas reciben de los hongos los nutrientes que precisan para desarrollarse, los cuales son captados del suelo por aquellos; mientras que, a su vez, ceden a los hongos simbiotes parte de los azúcares que fabrican en la fotosíntesis, especialmente por exudación radical. La existencia de micorrizas en vivero puede influir en la calidad de la planta (Gil y Pardos, 1997).

1.2.2. Atributos fisiológicos

Estado nutricional. El estado nutricional es uno de los parámetros fisiológicos más importantes ya que puede afirmarse que un balance nutricional adecuado produce una planta de buena calidad. El contenido en nutrientes da una visión del vigor general de la planta. De todos los macronutrientes el nitrógeno es, probablemente, el más limitante y además el que más relacionado está con el desarrollo de las plantas en el campo.

Carbohidratos no estructurales. Los carbohidratos no estructurales (azúcares solubles y almidón) son producidos directamente por la fotosíntesis y constituyen el principal almacén energético de la planta. Cuando se reduce la actividad fotosintética, la actividad vital de la planta depende de sus reservas y es en esos momentos críticos cuando el contenido en carbohidratos desempeña un papel esencial. Así, estos son utilizados en los estudios de calidad como medida del vigor fisiológico de la planta (Fernández y Royo, 1998; Palacios *et al.*, 2001; Planelles *et al.*, 2001).

1.2.3. Atributos de respuesta

Los atributos morfológicos y fisiológicos nos dan una idea de la calidad de planta pero no de la potencialidad que pueda tener en un futuro en la plantación. Por ello se realizan una serie de tests previos que nos permiten hacernos una idea de la respuesta que puede tener la planta en el campo.

Test de vigor (test OSU). Este test simula artificialmente el estrés que puede sufrir la planta en el paso a campo, mediante la extracción de las plantas de los contenedores y aplicación de un choque térmico, y determina como puede ser la respuesta de la planta a estas condiciones durante el primer año (McCreary y Duryea, 1985). Se han encontrado buenas correlaciones entre los resultados del test y el comportamiento en campo, especialmente en el caso de lotes poco vigorosos (McCreary y Duryea, 1985) o en sitios cálidos (McTague y Tinus, 1996).

Test de regeneración radical. El potencial de regeneración de las raíces (PRR) es uno de los aspectos más importantes de la supervivencia y arraigo de la planta. Se define como una medida de la "capacidad de una planta en vivero para producir nuevas raíces cuando crece en unas condiciones ambientales ideales" (Ritchie, 1985).

En numerosas investigaciones ha quedado demostrado como mediante este test realizado en condiciones controladas puede reflejarse la variación del PRR bajo condiciones de campo y, por tanto, pronosticar la respuesta de la planta a condiciones particulares de estrés (Burdett, 1987; Larsen *et al.*, 1986; Oliet *et al.*, 1997).

1.3. Objetivos

Por todo lo expuesto anteriormente en este trabajo nos hemos propuesto dos objetivos concretos:

1. Comparar el cultivo del pino canario a base de sustratos naturales sin fertilizar (Cultivo Tradicional) con los cultivos a base de turbas fertilizadas (Cultivo Alternativo) y determinar qué tipo de contenedor, sustrato y dosis de fertilización aporta a la planta mayor calidad.

2. Establecer cuáles son los parámetros tanto morfológicos como fisiológicos y de respuesta más idóneos para evaluar la calidad de planta de *Pinus canariensis* de una savia.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Diseño Experimental

2.1.1. Material vegetal

En este capítulo se describen dos fases de cultivo de planta en vivero y su seguimiento. La primera fase consta de 12 tratamientos y se sembró en junio de 2001 manteniéndose en el vivero hasta febrero de 2002. La segunda fase se empezó en junio del año siguiente, estando ésta formada por 14 tratamientos y manteniéndose en vivero hasta febrero 2003.

Con el fin de estandarizar las condiciones de cultivo, el ensayo de las diferentes técnicas propuestas se realizó en las instalaciones del Vivero Insular de Flora Autóctona del Centro Ambiental "La Tahonilla" en La Laguna, perteneciente al Excmo. Cabildo Insular de Tenerife, el cual suministró el material necesario para la siembra y se encargó de mantener el cultivo (riego, eliminación de malas hierbas, etc.)

Para los ensayos se utilizaron semillas de *Pinus canariensis* **C. Sm. ex DC. in Buch** procedentes de los pinares de Vilaflor, (Procedencia FS-27/01/38/004) que fueron seleccionadas de acuerdo con los resultados obtenidos en los estudios de procedencia de semillas, fruto de convenios anteriores entre la Universidad Politécnica de Madrid (UPM) y el Cabildo de Tenerife.

Antes de proceder al semillado, los piñones se sumergieron en agua durante 24 horas. Esta operación favorece la germinación de las plántulas al tiempo que permite la separación de las semillas vanas por flotación.

Se colocó una sola semilla en cada envase y todo el ensayo quedó sembrado en un mismo día. Las bandejas de envases se dispusieron en el vivero formando un diseño aleatorio en el que fueron intercalando los distintos tratamientos. El diseño de la distribución de los tratamientos en el vivero se registró en un croquis para garantizar la identificación de cada uno de ellos. Cuando todas las plantas hubieron germinado y alcanzado una cierta altura se procedió a su identificación de forma individual. La duración del cultivo en ambos casos fue de 8 meses.

El riego estuvo suministrado y supervisado por el personal del vivero en todo momento, asegurándose que las plantas se mantuvieran bien regadas durante el periodo, y controlando que los cepellones no presentaran síntomas de sequedad evitando así cualquier fenómeno asociado al estrés hídrico. El sistema de riego fue un sistema fijo por aspersión y el volumen de agua suministrado varió en las diferentes fases del cultivo, siendo más abundante durante la fase de germinación. Tras la

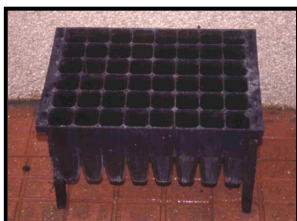
germinación de las plantas se regaron durante 15 minutos 3 veces al día mediante aspersores de 4 l/h de caudal.

2.1.2. Contenedores empleados

De entre la gran cantidad de envases existentes en el mercado, fueron seleccionados, basándonos en estudios previamente realizados, tres tipos de contenedores. Dos de ellos para la primera fase del cultivo de la planta, el Arnabat M32 y el Super Leach M30, y el Arnabat M32 y el ForesPot 400, de un volumen superior para la segunda fase. Las principales características se muestran en la Tabla II.1.



Super Leach M30 (SL). La inclusión de este envase esta justificada después de evaluar los buenos resultados que este contenedor ha proporcionado en la producción de la planta en otros ensayos llevados a cabo en años anteriores en las islas (Climent *et al.*, 2003a). Se trata de un envase en plástico semirígido de forma troncocónica, con resaltes u ondulaciones interiores longitudinales que impiden el enrollamiento o espiralización de las raíces. Al estar colocados de forma suspendida producen el autorrepicado del sistema radical. Están provistos de unas pestañas inferiores que impiden la caída del sustrato. Son fácilmente recuperables y presentan todas las ventajas de los de bandeja y de los alvéolos individuales: permite un tratamiento individualizado para cada alvéolo, también permite producir planta en densidades de cultivo diferentes pero con el mismo volumen del contenedor y, sin duda, la ventaja más favorable es que posibilita retardar el momento de la extracción del cepellón hasta el instante de la plantación, evitando desecaciones y protegiendo el sistema radical. Otra ventaja añadida es la facilidad de extracción de las plantas siendo una característica que suele diferir bastante entre los envases individuales y los que vienen en forma de bandeja forestal. En los individuales suele bastar con dar un golpe seco en la parte superior del contenedor para que el cepellón se desprenda sin problemas, mientras que en los alvéolos de las bandejas ésta operación puede resultar más complicada.



Arnabat M32 (AT). Se introduce para contrastarlo con las características del SL. Los envases de AT son de plástico rígido de color negro, de forma troncopiramidal de sección cuadrada. Se presentan en bandejas de plástico rígido termoconformado y no son extraíbles de manera individual. El

volumen es similar al de SL y también poseen un sistema de repicado aéreo al encontrarse las bandejas sobre unas patas que mantienen los contenedores suspendidos en el aire.



ForesPot 400 (FP). Las características de este contenedor son muy similares a las del AT, son también contenedores de sección cuadrada y forma troncopiramidal. También se presentan en bandejas de plástico negro y no son extraíbles individualmente. La diferencia con el AT es que el volumen es superior. FP presenta un volumen de 400 cm³ frente a los otros dos contenedores anteriores que presentaban un volumen de 300 cm³.

Los tres modelos cumplen los requisitos económicos buscados en el uso de contenedores, ya que son recuperables lo que abarata su coste al poder reutilizar los contenedores usados. Las características de cada uno se recogen en la siguiente tabla.

Envase	Boca Superior (mm)	Boca Inferior (mm)	Sección (cm ²)	Volumen (cm ³)	Profundidad (cm)	NºAlveolos / Bandeja	Densidad Plantas/m ²
SL- M30	5,6	4,8	24,6	305	17,5	35	262
AT- 48C	4,8 x 4,8	2,9 x 2,9	23	308	17,4	48	378
FP- 400	4,85 x 6	2,0	29,1	400	19	38	294

Tabla II.1. Características de los contenedores utilizados Super Leach M30 (SL-M30), Arnabat 48C (AT-48C) y ForesPot 400 (FP-400).

2.1.3. Sustratos empleados

Los sustratos empleados se van a clasificar en dos grupos principales: Los que denominaremos a lo largo de este trabajo como Tradicionales (por ser los de uso tradicional en el cultivo de pino canario en Tenerife) formados por elementos naturales sin fertilizar (tierra de monte y picón) y los que denominaremos Alternativos, formados por elementos artificiales fertilizados (turbas, vermiculita y perlita) llamados así por ser esta la alternativa que se propone en este trabajo para el cultivo de pino canario en Tenerife. Se emplearon mezclas de 4 sustratos diferentes, 4 en la primera fase del cultivo, 3 en la segunda (repetiendo uno de los sustratos de la primera fase en la segunda) y en distintas proporciones (Tablas II.2 y II.3).

Sustrato 1. Tierra de monte + Picón. En la proporción 2:1. Este es el sustrato que habitualmente se ha venido utilizando en el vivero de La Laguna, con resultados aceptables (Hernández *et al.*, 1999). Por este motivo es de vital importancia que este sustrato sea contrastado con los formados por elementos artificiales fertilizados. Al incluir esta composición junto a otras compuestas por sustratos reforzados nutricionalmente con fertilizantes artificiales, se pretende comparar si el beneficio que,

en principio, parecen proporcionar estos fertilizantes compensa su coste económico, frente a la opción de no emplearlos y depender únicamente del aporte que ofrece la tierra de monte, estudiando si éste es suficiente o si a largo plazo puede provocar carencias en las plantas.

El picón es un material de origen volcánico constituido, generalmente, por silicatos de aluminio, compuesto por fragmentos porosos de lava, redondeados o irregulares, de 2 a 50 mm, que se formaron al ser expelida la lava y enfriarse de golpe, constituyendo el manto piroclástico. Tiene alta capacidad de aireación y poca de retención de agua fácilmente disponible, la capacidad de intercambio catiónico es también baja. En este caso se utiliza como una enmienda física al material orgánico, proporcionando un aumento en la cantidad de macroporos (mayor drenaje y aireación).

La práctica en los viveros tradicionales de utilizar la propia tierra del monte para rellenar los envases donde producían la planta suponía, en muchos casos, una micorrización natural de la misma con las numerosas ventajas implícitas de esta simbiosis. Por el contrario, una planta cultivada en vivero, en sustrato artificial y bien suministrada de agua y nutrientes probablemente no se micorrizará, o lo hará con alguna especie de vivero de difícil supervivencia en campo. Sin embargo, es muy importante en esta cuestión seleccionar el origen del material usado en el sustrato, puesto que cada especie, cepa o ecotipo de hongo tiene unas limitaciones ecológicas. Si esto no se tiene en cuenta, es posible que el hongo inoculado en el vivero no persista en campo, al ser desplazado por otros hongos más adaptados al medio. Como inconvenientes, junto al suelo aportado se pueden introducir semillas de malas hierbas, patógenos, enfermedades, etc; por último, la repetibilidad de la inoculación es escasa debido a las distintas fuentes.

La posibilidad de que se produzca una micorrización espontánea en la utilización de este sustrato constituirá uno de los parámetros a evaluar en el estudio de calidad en la fase de vivero. Igualmente, permitirá comprobar si, como consecuencia de esta posibilidad, se producen diferencias en la evolución de las plantas puestas en campo.

Sustrato 2: Turba rubia + Vermiculita. En proporción 2:1. Esta mezcla se usó en las dos fases del cultivo de la planta. En la primera el fertilizante añadido fue un fertilizante de liberación lenta, Osmocote®. Se empleó previamente en el cultivo de las plantas para los ensayos de procedencias (realizados por la E.T.S de Ingenieros de Montes de la U.P.M) dando buenos resultados (Climent *et al.*, 2001b). En la segunda fase, además de repetir esta misma mezcla con la misma fertilización, se usó también un fertilizante líquido, como se detallará en el apartado siguiente.

La turba es un compuesto formado por la descomposición de restos orgánicos, vegetales principalmente, en condiciones anaerobias y de alta humedad. Existen

numerosos tipos pero la más usada es la de *Sphagnum*. El pH suele ser bastante bajo, oscilando entre 4 (turba naturales) y 6 (turba fertilizadas), recordemos que diversos estudios han demostrado que las coníferas crecen mejor con pH alrededor de 5.5 (Peñuelas y Ocaña, 2000), esto se acentúa en el caso del pino canario que tiene preferencia por los sustratos ácidos como son los materiales de origen volcánico. La turba se ha convertido en la fuente de materia orgánica más utilizada en los viveros españoles. Esto no quiere decir que sea imprescindible y, en países donde la turba es difícilmente alcanzable por razones económicas, la materia orgánica puede ser proporcionada por otros materiales alternativos. El serrín, las virutas de madera, o cualquier otro residuo leñoso pueden proporcionar una buena y barata fuente de materia orgánica, siempre y cuando se haya tomado la precaución de realizar un compostaje previo que elimine posibles fitotoxicidades. Existe un gran número de posibles fuentes de material orgánico: sarmientos de vides, orujos, desechos de las fábricas de corcho, lodos de depuradoras, etc, que merecen ser estudiados, pero que no se encuentran dentro de los objetivos de este estudio por no estar disponibles en la isla. La vermiculita aporta en este caso los beneficios propios del uso general de los materiales inorgánicos. Se trata de un silicato de aluminio expandido con una alta CRA, así como CIC (similar a la de materiales orgánicos como la turba). Es muy ligera y absorbe gran cantidad de nutrientes. El pH es neutro y es un material completamente estéril. El principal inconveniente a evitar es que se comprime con facilidad, tendiendo a colapsarse. Con este tipo de sustrato se van a ensayar distintas dosis de fertilización con un abono de liberación lenta.

Sustrato 3: Turba rubia + Picón. En proporción 2:1. En principio se buscó incluir un sustrato que redujese el porcentaje empleado de turba, combinándola con componentes obtenidos a partir de residuos madereros como la corteza de pino (material universalmente utilizado como sustrato de cultivo y que ha constituido durante los últimos 25 años el sustrato por excelencia en numerosos países con disponibilidad limitada de turba) o las astillas. Sin embargo, la escasez actual de este tipo de materiales condujo la propuesta al empleo de ingredientes sustitutos de la vermiculita que no fuese necesario importar. El picón volcánico aporta en este caso las propiedades típicas de los compuestos inorgánicos más las particulares descritas en el primer tratamiento.

Sustrato 4: Tierra de monte + Turba rubia + Picón. En la proporción 1:1:1. Esta cuarta propuesta de sustrato pretende combinar las propiedades de los dos primeros casos y ver si la sustitución de una parte de tierra por turba mejora la calidad de la planta. Se estudiará si el empleo de la tierra mantiene la posibilidad de micorrizar esta mezcla y es capaz de aportar los nutrientes necesarios para los pinos sin necesidad de

suministrar un abono extra. Además de contrastar los beneficios atribuidos a la utilización de la combinación turba – picón.

Sustrato 5: Tierra de monte + Turba + Perlita. En la proporción 1:1:1. Se empleó en la segunda fase del cultivo. Basándonos en los resultados obtenidos el primer año de cultivo, se decidió probar otro material en lugar del picón, que hiciera posible la estandarización de este método de cultivo en cualquier lugar. Así se sustituyó por perlita, material que proporciona también aireación al sustrato. Además la normativa de extracción de áridos en las islas está fomentando el abandono del uso del picón.

Sustratos 6 y 7: Turba + Perlita. En proporción 3:1 (sustrato 6) y 2:1 (sustrato 7) ambas en la segunda fase. La inclusión de la perlita se propuso, al igual que en la mezcla anterior, para sustituir el picón.

2.1.4. Fertilización empleada

En la primera fase se empleó un preparado de liberación lenta (Osmocote ®) con una proporción de los tres macronutrientes principales de 16-8-12 (16% N; 8% P₂O₅; 12% K₂O) y elementos esenciales (B, Cu, Fe, Mn, Mo, Zn). Este fertilizante está formado por pequeñas cápsulas con elementos nutritivos envueltos en una resina orgánica natural que controla su difusión. El agua penetra la envoltura e hidroliza los minerales que son altamente solubles. Los elementos nutritivos se difunden gradualmente a través de la cápsula, con una tasa de difusión que depende únicamente de la temperatura. La longevidad del modelo escogido, para una temperatura media de 21 °C es de 6 a 8 meses. El fertilizante se añadió durante el proceso de mezcla del sustrato. Se emplearon dos dosis de fertilizante, 4 gramos por litro de mezcla, siendo esta la cantidad que se empleó en la producción de los pinos para los ensayos de procedencias previas, y de 7 gramos por litro de mezcla (una cantidad superior que no llega a ser de lujo) basándose la elección de estas dosis de fertilización en estudios previos (ver Ollet *et al.*, 1999). De esta manera tenemos tres niveles de fertilización 0, 4 y 7 g l⁻¹. Este tipo de fertilización tiene como principal inconveniente que no se puede controlar su liberación ya que depende de un factor externo como es la temperatura. Al experimentar con dos cantidades distintas se evaluará la rentabilidad que supone el gasto de una mayor cantidad de fertilizante en la mejoría de la planta, o si por el contrario, a partir de una determinada concentración los efectos son inapreciables, siendo injustificado el coste de una dosis mayor.

Para la segunda fase se aplicaron dos tipos de fertilizantes, manteniendo a concentración de Osmocote utilizada en la primera, que se incorporó al sustrato desde el comienzo, y utilizándose también un fertilizante líquido que se aplicó junto con el agua de riego, Peters Professional® (P) 20/10/20 (N:P:K). La formulación elegida

de éste era la más similar a la del osmocote que había disponible en el mercado. Todos fueron aplicados en una concentración de 4 g l⁻¹.

2.1.5. Tratamientos

En la **primera fase** se establecieron 12 tratamientos resultado de la combinación de dos contenedores (SL-M30 y AT-48C), cuatro sustratos y 3 niveles de fertilización (0, 4 y 7 g l⁻¹). Para facilitar la explicación de los resultados a la combinación de los sustratos más la fertilización se denominará mezcla, de manera que las 6 mezclas resultantes se repiten en los dos contenedores (ver Tabla II.2).

Las características de los materiales utilizados para configurar los diferentes sustratos en esta fase fueron las siguientes:

- œ **Picón:** Procedente de la zona de La Esperanza
- œ **Turba rubia:** Floratorf®. Naturreiner. Qualitätstoff verbessert Kulturböden. Floragard Product. Alemania.
- œ **Vermiculita:** Eurover Vermiculita. Vermiculita exfoliada. Aislante granular Frío/Calor. Acústico. Antifuego. Europerlita S.A.
- œ **Osmocote (Os):** 16/8/12 (16% N; 8% P₂O₅; 12% K₂O) y elementos esenciales (B, Cu, Fe, Mn, Mo, Zn). Fertilizante de liberación lenta, 6-8 meses.

Los materiales utilizados se distribuyeron tal y como se observa en la siguiente tabla:

Contenedor	Sustrato	Fert. (g l ⁻¹)	Mezcla	Tratamiento
SL-M30 (1)	2/3 Tierra + 1/3 picón (1)	0	1	1
	2/3 Turba + 1/3 vermiculita (2)	4	2	2
		7	3	3
	2/3 Turba + 1/3 picón (3)	4	4	4
		7	5	5
1/3 Tierra + 1/3 Turba + 1/3 picón (4)	0	6	6	
AT-48C (2)	2/3 Tierra + 1/3 picón (1)	0	1	7
	2/3 Turba + 1/3 vermiculita (2)	4	2	8
		7	3	9
	2/3 Turba + 1/3 picón (3)	4	4	10
		7	5	11
1/3 Tierra + 1/3 turba + 1/3 picón (4)	0	6	12	

Tabla II.2. Composición de los 12 tratamientos utilizados en la primera fase del cultivo de la planta en vivero.

Para la **segunda fase** del estudio se utilizaron 14 tratamientos diferentes surgidos como combinación de dos contenedores (AT-48C y FP-400), cuatro sustratos y 2 tipos de fertilización (líquida y sólida de liberación lenta). Como se muestra en el siguiente esquema. Igual que en el diseño anterior, para facilitar la explicación de los

resultados a la combinación del sustrato y la fertilización se le denominará mezcla de manera que las 7 mezclas resultantes se repiten en los dos contenedores (Tabla II.3).

Contenedor	Sustrato	Fert. (g l ⁻¹)	Mezclas	Tratamiento
AT 48C (2)	1/3 tierra + 1/3 turba + 1/3 perlita (5)	0	1	1
	3/4 de turba + 1/4 perlita (6)	Os: 4	2	2
		P: 4	3	3
	2/3 de turba + 1/3 perlita (7)	Os: 4	4	4
		P: 4	5	5
	2/3 de turba + 1/3 vermiculita (2)	Os: 4	6	6
		P: 4	7	7
FP 400 (3)	1/3 tierra + 1/3 turba + 1/3 perlita (5)	0	1	8
	3/4 turba + 1/4 perlita (6)	Os:4	2	9
		P: 4	3	10
	2/3 turba + 1/3 perlita (7)	Os: 4	4	11
		P: 4	5	12
	2/3 turba + 1/3 vermiculita (2)	Os: 4	6	13
		P: 4	7	14

Tabla II.3. Composición de los 14 tratamientos utilizados en la segunda fase del cultivo de la planta en vivero.

Las características de los materiales utilizados en la segunda fase fueron:

- **Turba rubia:** Turba Scotts 290 l (EN). Shamrock (Professional Growing Medium). Sphagnum Peat (B9016234xm). Con las mismas características que la usada en la primera fase.
- **Perlita:** Agra Perlite. RHP INH.
- **Vermiculita:** Eurover Vermiculita. Exfoliada. Aislante granular Frío/Calor. Acústico. Antifuego. Europerlita S.A.
- **Osmocote (Os):** 16/8/12 (16% N; 8% P₂O₅; 12% K₂O) y elementos esenciales (B, Cu, Fe, Mn, Mo, Zn). Fertilizante de liberación lenta, 6-8 meses.
- **Fertilizante líquido:** Peters Professional (P) 20/10/20 (20 % N; 10 % P₂O₅; 20% K₂O) y elementos esenciales (B, Cu, Fe, Mn, Mo, Zn).

En esta fase la fertilización sólida (Osmocote) se incorporó al sustrato desde el principio, mientras que la líquida se comenzó una vez que las plántulas hubieron desarrollado los cotiledones (aproximadamente a las 6 semanas de la siembra) y se continuó una vez cada 15 días hasta dos meses antes de la fecha prevista para el paso a campo.

1º Fase Tratamientos	N (mg /planta)	P (mg/planta)	K (mg/planta)
1	0	0	0
2	192	42	119
3	336	73	209
4	192	42	119
5	336	73	209
6	0	0	0
7	0	0	0
8	192	42	119
9	336	73	209
10	192	42	119
11	336	73	209
12	0	0	0
2º Fase Tratamientos			
1	0	0	0
2	192	42	119
3	240	52	199
4	192	42	119
5	240	52	199
6	192	42	119
7	240	52	199
8	0	0	0
9	256	56	159
10	320	70	265
11	256	56	259
12	320	70	265
13	256	56	159
14	320	70	265

Tabla II.4. Cantidad de N, P y K (mg planta⁻¹) aportadas a cada uno de los tratamientos de vivero durante las dos fases de cultivo de las plantas.

2.2. Evaluación de la calidad de planta

2.2.1. Atributos morfológicos

Para la caracterización final de los diferentes lotes de plantas se escogieron 25 plántulas de cada tratamiento, se extrajeron de los contenedores, se eliminó el sustrato y se lavaron bien con agua para proceder al análisis de los diferentes parámetros morfológicos:

Altura (H). Una vez eliminado el sustrato se midió la altura (cm) de las plantas desde la base de la raíz hasta la el penacho superior, ya que en este estado carecían de yema madura.

Diámetro en el cuello de la raíz (D). Este parámetro se midió (mm) con un micrómetro digital, Digital micrometer, Mitutoyo Corporation. APB-1D. 1PC, Japón.

Índice de esbeltez (IE). El índice de esbeltez se halló como la relación entre la altura de la plántula (cm) y el diámetro en el cuello de la raíz (mm), utilizando así los dos parámetros morfológicos descritos anteriormente ($IE = H / D$).

Relación de Biomasa entre la parte aérea y de la raíz (Psa y Psr). El peso de la parte aérea y de las raíces de las plántulas se determinó tras 48 horas en estufa de circulación de aire a 100 °C.

Relación parte aérea-raíz (Psa/Psr). Esta relación se calcula mediante los pesos obtenidos en el apartado anterior.

Índice de calidad de Dickson (ICD). El índice de Dickson se calcula de la siguiente manera:

$$ICD = Pst / (IE + Psa/Psr)$$

donde Pst es el peso seco total (g); IE es el Coeficiente de Esbeltez; y Psa/Psr es la relación en peso seco entre la parte aérea y la raíz.

Facilidad de extracción del cepellón (FEC). Para caracterizar este parámetro se procedió a la extracción de las plántulas de sus envases y en función de la dificultad que presentó dicha extracción se atendió a la clasificación numérica siguiente:

- El cepellón se extrae con dificultad, es necesario emplear algún objeto para empujar desde la base del contenedor y, como consecuencia, se producen desmoronamientos en él (1).

- Se producen complicaciones en la extracción, pero aunque sea necesario empujar el cepellón por la base, finalmente sale sin romperse (2).

- El cepellón sale fácilmente del envase simplemente al tirar de la planta o ayudándonos dando un golpe seco en la boca del envase. No se producen daños (3).

Micorrización. Después de que las plántulas fueron extraídas de los contenedores, eliminado el sustrato y lavado bien con agua, se determinó de manera visual, para cada uno de los tratamientos, en todas las plantas utilizadas para el análisis de los atributos morfológicos, el estado de micorrización del sistema radical indicando simplemente si estaban o no micorrizadas.

2.2.2. Atributos fisiológicos

Los análisis de nutrientes y carbohidratos no estructurales se realizaron utilizando 5 plantas de cada tratamiento. Para la determinación de nutrientes y almidón, el material fue secado en una estufa de circulación de aire, a 60 o 100 °C según los protocolos, molido y pasado por un tamiz de 0,7 mm, guardado en tubos de ensayo herméticos separando las acículas de las raíces, hasta el inicio de los diversos protocolos.

Para los análisis de carbohidratos solubles se partió de peso fresco. En este caso las plántulas se extrajeron de los contenedores, se eliminó el sustrato y se lavaron bien con agua y después con agua destilada. Mediante una relación de peso fresco y seco los datos se presentan en mg g^{-1} de Peso Seco.

Nitrógeno total (N). El nitrógeno se determinó de acuerdo con el método desarrollado por Johan Kjeldahl en 1883, mediante el equipo Büchi Kjeldahl Line ®. Este método se basa en la hidrólisis del nitrógeno ligado orgánicamente en sales de amonio, por medio de la digestión con ácido sulfúrico concentrado a alta temperatura. Al añadir sosa a la muestra digerida conseguimos la liberación de ión amonio de las sales de amonio. Este amonio se colecta en un ácido (ácido clorhídrico o ácido sulfúrico) y se determina por titulación.

Fósforo (P). Tanto para el fósforo como para el potasio se parte del mismo mineralizado obtenido a partir de cenizas del material vegetal atacadas con ácido clorhídrico en ebullición. Para la determinación de fósforo se utilizó el método del vanadato-molibdato (Peter, 1942), en el que se mezcla el mineralizado con vanadato-molibdato y tras 30 de minutos que dura la reacción se lee la absorbancia en el espectrofotómetro. La concentración de fósforo se determina por medio de una curva preparada con Standard de fósforo.

Potasio (K). El potasio se determinó a partir del mineralizado. Las muestras se diluyeron convenientemente para que nos diesen una lectura que se situara dentro de la curva de calibrado, se colocó el filtro adecuado en el aparato y se midió en un fotómetro de llama, según el método de Berneking y Schrenk (1957).

Carbohidratos solubles (CHS). Los carbohidratos solubles se determinaron por el método colorimétrico de la antrona siguiendo a Irigoyen *et al.* (1992). Tras una maceración en etanol (95 %) del material vegetal fresco se centrifugó varias veces con etanol 70 %. Utilizando cloroformo se separó la fase polar que contiene los azúcares y esta se mezcló con el reactivo de antrona, que reacciona a 95 °C con los azúcares. Finalmente se midió la absorbancia a 620 nm en un espectrofotómetro U.V. 160. Shimadzu. Japón. A partir de la lectura de absorbancia, la concentración de azúcares solubles totales se obtuvo por interpolación en una recta de calibrado elaborada utilizando glucosa como patrón. El contenido en azúcares solubles totales se expresó en mg g^{-1} de peso seco de tejido.

Almidón. Los análisis de almidón se realizaron siguiendo un método colorimétrico como se describe en Rose *et al.* (1991). La extracción del almidón se realizó por sucesivos baños con ácido perclórico. Con el extracto resultante se siguió el mismo procedimiento que en los carbohidratos solubles. A partir de la lectura de absorbancia la concentración de almidón se obtuvo por interpolación en una recta

de calibrado elaborada utilizando una solución patrón de almidón. El contenido en almidón se expresó en mg g⁻¹ de peso seco de tejido.

2.2.3. Atributos de respuesta

Test de vigor (test OSU). Debido a que este test no se había realizado antes con plantas de pino canario fue necesario hacer pruebas preliminares para ver si los tratamientos descritos en la literatura (15 minutos de exposición a 32 °C) eran efectivos para esta especie, ya que debido a la resistencia que presenta a las altas temperaturas podría ser necesario incrementar la temperatura y/o tiempos de exposición a ella. Tras las pruebas preliminares realizadas se decidió utilizar un tratamiento más extremo de 40 °C durante 50 minutos para cada uno de los 12 tratamientos, utilizando 15 plantas para aplicar el tratamiento y reservando en todos los casos 10 plantas a modo de control que no fueron sometidas al estrés, pero sí al resto del proceso (extracción del contenedor y lavado de raíces). A continuación todas las plantas se rehidrataron sumergiéndolas en agua durante 5 minutos antes de ser plantadas en bolsas de plástico microperforadas con volumen de 300 cm³. Se utilizó un sustrato de 1:1 turba y vermiculita. Todas las plantas se mantuvieron en condiciones controladas en el invernadero del departamento durante dos meses. Finalmente se realizó un análisis visual de las plantas al mes y a los dos meses de aplicación del tratamiento, contabilizando como muertos aquellos que tenían todas sus acículas secas.

Test de potencial de regeneración radical (PRR). Para la realización de este test se siguió el procedimiento propuesto por Ritchie (1985), empleándose 30 plántulas de pino de cada tratamiento. En primer lugar se eliminó el sustrato lavando con mucho cuidado las raíces. A continuación se cortaron y contaron todas las puntas de raíces blancas del sistema radical y posteriormente se trasladaron las plantas a envases con un volumen mayor que el de procedencia, que en nuestro caso fueron bolsas plásticas de 500 cm³. Estas bolsas se rellenaron con perlita y se mantuvieron a capacidad de campo de forma permanente asegurando un buen drenaje durante la duración del test. Las plántulas se mantuvieron asimismo en el invernadero en condiciones controladas, igual que en el caso anterior. En la segunda fase no se cortaron las puntas blancas antes del trasplante para disminuir el estrés causado.

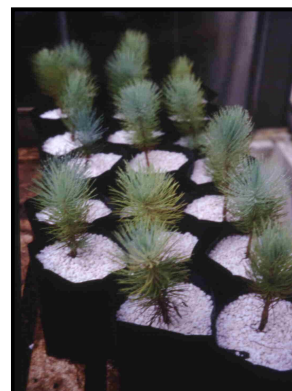


Foto II.1. Plantas sembradas en perlita en el test de potencial de regeneración radical

Después de 4 semanas se extrajeron las plántulas de los envases y se procedió a realizar el conteo del número y longitud de las nuevas raíces producidas según el siguiente criterio:

N_{R1} : Número de raíces blancas que miden menos de 1 cm.

N_{R2} : Número de raíces blancas que miden entre 1 y 3 cm.

N_{R3} : Número de raíces blancas que miden más de 3 cm.

L_{R3} : Longitud de las raíces blancas que miden más de 3 cm.

El número y longitud total de raíces blancas presentes en el sistema radical, se puede calcular para cada planta con las siguientes fórmulas:

Número total de nuevas raíces: $N_{RN} = N_{R1} + N_{R2} + N_{R3}$

Longitud total de las nuevas raíces: $L_{RN} = (0.5 * N_{R1}) + (1.5 * N_{R2}) + L_{RN3}$

2.3. Análisis estadísticos

El análisis estadístico de los datos de morfología se realizó mediante análisis de la varianza (ANOVA) de dos vías, tras comprobar que cumplían las condiciones de normalidad, linealidad y homocedasticidad, tomando contenedor y mezcla como factores. En todos los casos donde se dieron diferencias significativas, se realizó un contraste *a posteriori* para el tratamiento utilizando un test Tukey b con un nivel de significación de $\alpha = 0,05$. Debido al diseño experimental es imposible separar el efecto del sustrato del de la fertilización, por lo que para ver los efectos individuales de cada componente dentro de los tratamientos (turba, tierra, vermiculita, perlita y picón) se hicieron comparaciones de medias entre las mezclas. En los análisis de los atributos fisiológicos, además del factor contenedor y mezcla, también se introdujo el factor parte de la planta (acículas o raíces). Todos los análisis se hicieron utilizando el paquete SPSS 12.0 Chicago, USA.

3. RESULTADOS

3.1. Atributos morfológicos

3.1.1. Primera Fase

Las plantas crecidas en AT alcanzaron una **altura** media (17,9 cm) superior a las de SL (14,6 cm), mostrando diferencias significativas entre contenedores y entre mezclas ($p < 0,001$) (Tabla II.5). Los diferentes tratamientos se pueden agrupar en dos clases principales: por un lado los del cultivo tradicional, aquellos que no alcanzaron los 9 cm (1, 6, 7 y 12) y por otro los del cultivo alternativo, todos los demás, que estuvieron entre los 16 y los 25 cm de altura (Tabla II.4).

T	H (cm)	D (mm)	IE (cm mm ⁻¹)	Psa/Psr	Pst (g)	ICD (g mm cm ⁻¹)
1	7,9±1,4 ^a	2,4±0,3 ^a	3,3±0,5 ^a	1,25±0,40 ^a	1,12±0,29 ^a	0,25±0,07 ^a
2	16,7±2,7 ^b	3,5±0,6 ^b	4,8±0,7 ^{bc}	2,30±0,48 ^b	3,49±1,09 ^b	0,55±0,18 ^{bcd}
3	19,7±2,5 ^c	4,0±0,5 ^c	5,0±0,7 ^{bcd}	2,93±0,6 ^{cd}	3,34±0,77 ^b	0,43±0,12 ^b
4	16,0±3,0 ^b	3,7±0,6 ^{bc}	4,4±0,6 ^b	2,68±0,64 ^{bc}	3,56±1,17 ^b	0,50±0,16 ^{bc}
5	20,0±3,8 ^c	4,0±0,7 ^{cd}	5,1±1,6 ^{cd}	3,21±0,76 ^d	4,84±1,42 ^c	0,61±0,28 ^{cde}
6	7,7±1,2 ^a	2,2±0,2 ^a	3,5±0,6 ^a	1,32±0,56 ^a	1,01±0,32 ^a	0,22±0,09 ^a
7	8,2±1,8 ^a	2,2±0,3 ^a	3,7±0,7 ^a	1,08±0,42 ^a	1,09±0,37 ^a	0,23±0,08 ^a
8	24,5±3,8 ^d	4,4±0,5 ^{de}	5,6±1,0 ^d	2,34±0,49 ^b	5,70±1,25 ^{de}	0,73±0,19 ^{ef}
9	25,5±3,1 ^d	4,5±0,5 ^e	5,7±0,6 ^d	2,62±0,58 ^{bc}	5,48±1,01 ^{cd}	0,66±0,14 ^{de}
10	16,2±2,3 ^b	3,5±0,7 ^b	4,8±0,9 ^{bc}	2,39±0,81 ^b	3,22±1,23 ^b	0,47±0,23 ^b
11	24,6±3,5 ^d	4,7±0,8 ^e	5,3±0,9 ^{cd}	2,61±0,59 ^{bc}	6,37±0,99 ^e	0,81±0,16 ^f
12	8,8±1,7 ^a	2,5±0,4 ^a	3,6±0,7 ^a	1,30±0,47 ^a	1,17±0,34 ^a	0,24±0,09 ^a

Tabla II.4. Resumen de las medidas realizadas a la salida de vivero para las plantas de los 12 tratamientos. Altura (H), Diámetro en el cuello de la raíz (D), Índice de esbeltez (IE), Relación parte aérea /raíz en peso seco (Psa/Psr), Peso seco total (Pst) e índice de calidad de Dickson (ICD), se muestran las medias y los errores estándar. Letras diferentes dentro de una misma columna muestran diferencias significativas a un nivel significación de $\alpha = 0,05$. Los valores de los tratamientos tradicionales se resaltan en gris.

Comparando entre mezclas y/o sustratos podemos extraer el efecto de cada componente de los tratamientos. Así las diferencias entre los tratamientos 1 y 6 como entre 7 y 12 ponen de manifiesto que el aporte de turba a la mezcla de tierra y picón no mejora ninguno de los parámetros estudiados. Las diferencias encontradas con los demás sustratos se deben únicamente al aporte del fertilizante. Al analizar las mezclas en función del fertilizante se encontraron diferencias entre los que no están fertilizados y los que sí lo están pero no se dieron diferencias entre las dos dosis empleadas. Con respecto a los elementos inertes del sustrato la sustitución de picón por vermiculita hizo que la altura de la planta aumentase 2 cm, o lo que es lo mismo un 11,2 %.

El análisis estadístico del **diámetro** en el cuello de la raíz mostró diferencias significativas entre contenedores ($p < 0,001$) (Tabla II.5), siendo la media de SL (3,3 mm) menor que la de AT (3,6 mm).

La misma tendencia que mostraron los datos de la altura se observó al comparar los datos de los diámetros. Se pueden establecer dos grupos bien marcados, aquellas cultivadas en sustratos naturales no fertilizados (cultivo tradicional) que no sobrepasaron los 2,5 mm (1, 6, 7, 12) y todos los demás (alternativo), que presentaron valores entre 3,5 y 4,7 mm (Tabla II.4)

EL análisis de los datos del **índice de esbeltez** mostró diferencias significativas tanto entre contenedores como entre meclas ($p < 0,001$), aunque las diferencias dentro de los tratamientos alternativos fueron mínimas. Las plantas más esbeltas resultaron ser

las de los tratamientos con sustratos artificiales y las menos esbeltas las de sustratos naturales, que mostraron valores cercanos a 3,5.

El análisis estadístico de los datos de **Psa/Psr** mostró diferencias significativas entre contenedores ($p=0,01$) y entre mezclas ($p<0,001$) (Tabla II.5). Para las plantas del cultivo tradicional este valor se mantuvo entre el 1 y el 1,3, mientras que para las plantas del cultivo alternativo lo hizo entre el 2,3 y el 3,2.

Con respecto a la **biomasa** de las plantas y en relación al contenedor, los valores más altos se encontraron en AT (3,8 g) frente a los de SL (2,8 g), mostrando diferencias significativas tanto entre contenedores ($p<0,001$) como entre mezclas (Tabla II.5). Las plantas del cultivo alternativo presentaron hasta 6 veces más biomasa que las del cultivo tradicional (1, 6, 7 y 12) mostrando éstos los menores valores (Tabla II.4).

El análisis estadístico para el **índice de calidad de Dickson** mostró diferencias significativas entre los contenedores ($p=0,001$) y entre las mezclas ($p<0,001$) (Tabla II.5). Este índice se mantuvo cercano a 0,25 para las plantas del cultivo tradicional mientras que para las del cultivo alternativo los valores fueron superiores y más cercanos a uno, entre 0,43 y 0,81 (Tabla II.4).

Factor	H		D		IE		Psa/Psr		Pst		ICD	
	F	p	F	p	F	F	F	p	F	p	F	p
Mezcla	305,99	***	14,16	***	52,18	***	81,54	***	197,91	***	78,72	***
Contenedor	109,8	***	27,77	***	19,12	***	11,07	**	74,50	***	29,62	***

Tabla II.5. Resultado de los test ANOVA en la primera fase para Altura (H), Diámetro (D), Índice de Esbeltez (IE), relación peso seco aéreo-peso seco raíz (Psa/Psr), Peso seco total (Pst) e Índice de calidad de Dickson (ICD) con mezcla y contenedor como factores. * ($p\leq0,001$), ** ($p\leq0,01$), * ($p\leq0,05$), ns ($p>0,05$).**

En relación a la **facilidad de extracción del cepellón (FEC)**, y con respecto a los contenedores, las plantas cultivadas en SL fueron en general más fáciles de extraer, ya que estos contenedores son de manejo individual, y al ser de plástico semi-rígido se facilitaba el separarlo del cepellón de las paredes del contenedor (Tabla II.6). Las plantas cultivadas en AT, al no poder ser manipuladas de manera individual fueron algo más tediosas de extraer. Las plantas cultivadas en tierra de monte fueron mucho más difíciles de extraer, y al hacerlo se produjeron algunos desmoronamientos en los cepellones. Las plantas cultivadas con turbas fertilizadas fueron mucho más fáciles de extraer, porque el cepellón se encontraba totalmente colonizado por raíces que lo mantenían mucho más compacto. Dejando el cepellón sin regar un día se facilitó totalmente la extracción para las plantas del cultivo alternativo, aunque no tanto para el tradicional en las que se originaron algunos daños.

C	Super-Leach						Arnabat					
Trat	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
FEC	1	3	2	3	3	1	1	3	3	2	2	1

Tabla II.6. Facilidad de extracción del cepellón (FEC) para las plantas de los diferentes tratamientos (1 menor facilidad, 2 facilidad media, 3 mayor facilidad de extracción y sin daños).

Alrededor del 70 % de las plantas cultivadas con tierra de monte presentaron **micorrización**, lo que no ocurrió en los tratamientos alternativos, al menos de manera visible. Estos resultados eran lógicos de esperar al ser un sustrato natural sin esterilizar. Aún así hay muchos fenómenos de micorrización espontánea en viveros, sobretodo si se encuentran al aire libre, como en nuestro caso.



Foto II.2. Ejemplo de la morfología de las plantas de los 12 tratamientos de la primera fase de cultivo en vivero (Tratamientos 1-12 de izquierda a derecha).

3.1.2. Segunda Fase

Como medida adicional, que no se realizó en la primera fase, a partir de agosto de 2002 se realizó un seguimiento a intervalos mensuales de la altura y diámetro de las plantas (Figura II.1). Los tratamientos con sustrato de tierra de monte fueron los que crecieron en altura más lentamente (1 y 8), mientras que los tratamientos en sustrato artificial, especialmente los que recibieron fertilización sólida (2, 4, 6, 9, 11 y 13), son los que experimentaron un crecimiento más rápido.

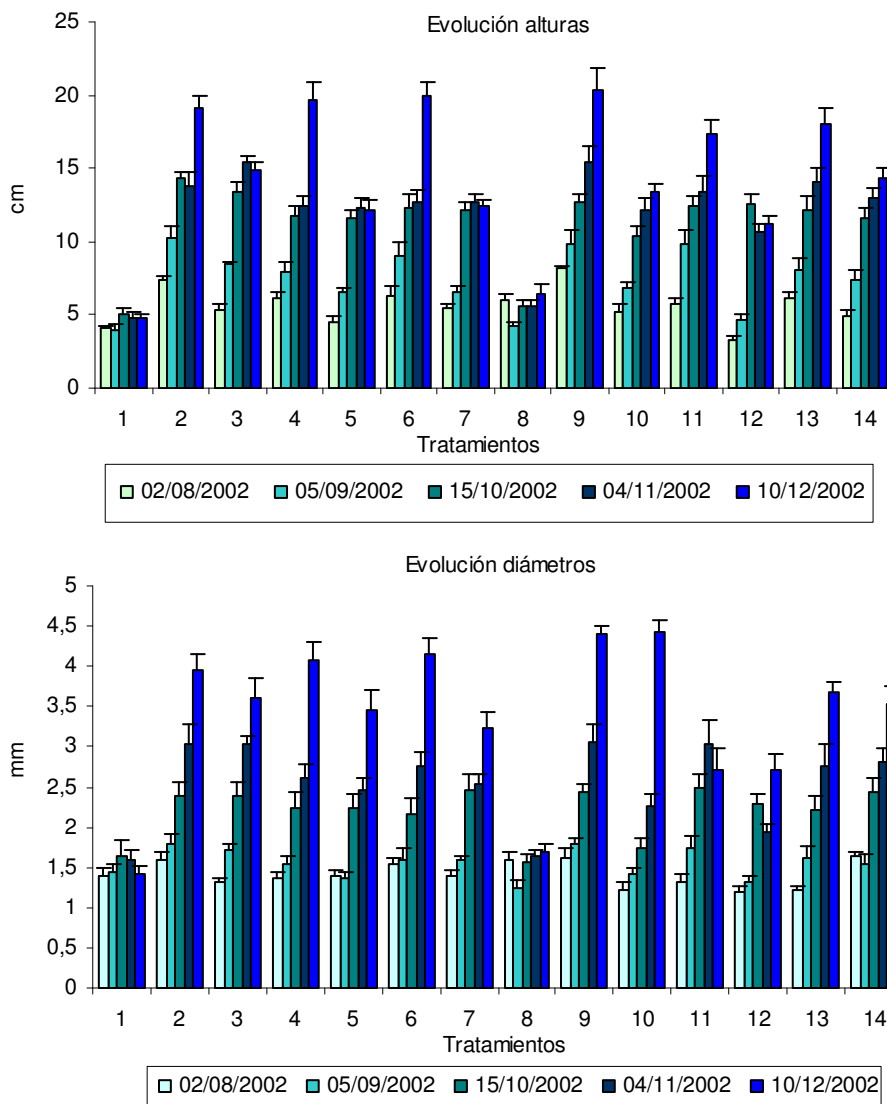


Figura II.1. Valores medios y barras de error de las alturas (gráfica superior) y los diámetros (inferior) de los tratamientos a lo largo de los meses, desde agosto hasta diciembre de 2002.

Para el diámetro se observó la misma tendencia que para las alturas (Figura II.1), el crecimiento más lento del diámetro en el cuello de la raíz lo experimentaron las plántulas crecidas en sustratos de tierra y el crecimiento más rápido las plántulas crecidas en sustrato artificial, viéndose más favorecidas las plántulas tratadas con fertilización sólida (tratamientos 2, 4, 6, 9, 11 y 13). En la figura II.2 se observa más claramente las diferencias de crecimiento en la altura y el diámetro en función de la fertilización aplicada. El crecimiento tanto en altura como para en diámetro fue mayor para las plantas con fertilización sólida, mientras que las del cultivo tradicional casi no crecieron.

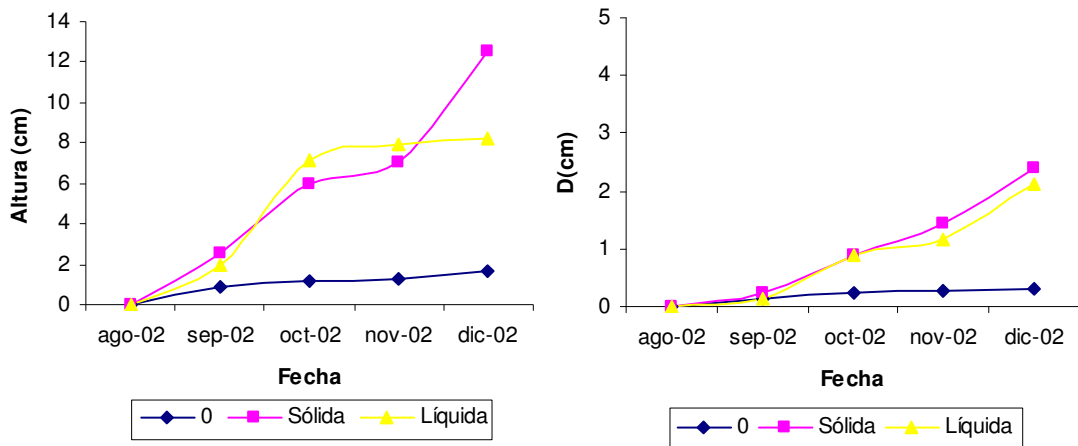


Figura II.2. Incremento en altura y en diámetro en el cuello de la raíz (D) de las plantas en función de la fertilización aplicada. 0 (sin fertilizar), Sólida (Osmocote), Líquida (Peters Profesional).

La caracterización de las plantas a la salida del vivero en esta segunda fase mostró la misma tendencia encontrada en la primera, donde las plantas del cultivo tradicional (que incorporan tierra de monte en la mezcla) presentan valores más bajos para todos los parámetros medidos.

Con respecto a la **altura** de las plantas se dieron diferencias significativas entre contenedores ($p < 0,05$) y entre mezclas ($p < 0,001$) (Tabla II.8). Una vez más las plantas crecidas en sustratos naturales sin fertilizar presentaron alturas inferiores a las crecidas en turbas fertilizadas (Tabla II.7).

Se observa cómo las plántulas sometidas a fertilización sólida ganaron algo más de altura que aquellas mantenidas con fertilización líquida, como se ve comparando especialmente las plántulas sembradas en FP-400 (9, 11 y 13 frente a 10, 12 y 14), aunque esas diferencias no llegaron a ser estadísticamente significativas.

T	H (cm)	D (mm)	IE	Psa/Psr	Pst (g)	ICD
1	5,9 ± 0,19 ^a	1,5 ± 0,11 ^a	3,8 ± 0,24 ^{ab}	0,9 ± 0,16 ^a	0,5 ± 0,09 ^a	0,1 ± 0,02 ^a
2	20,5 ± 0,96 ^d	5,4 ± 0,35 ^{bc}	3,8 ± 0,18 ^{ab}	1,6 ± 0,14 ^{abc}	7,5 ± 0,71 ^{bcd}	1,4 ± 0,18 ^b
3	22,0 ± 1,42 ^d	5,0 ± 0,27 ^{bc}	4,5 ± 0,51 ^b	2,0 ± 0,24 ^{bc}	7,1 ± 0,53 ^{bcd}	1,1 ± 0,14 ^b
4	19,6 ± 1,21 ^{cd}	4,6 ± 0,13 ^{bc}	4,1 ± 0,20 ^{ab}	2,1 ± 0,29 ^c	6,1 ± 0,54 ^{bc}	0,9 ± 0,09 ^b
5	13,5 ± 0,78 ^b	4,1 ± 0,26 ^b	3,3 ± 0,17 ^{ab}	1,2 ± 0,05 ^{ab}	4,4 ± 0,57 ^b	0,9 ± 0,14 ^b
6	17,2 ± 1,56 ^{bcd}	5,0 ± 0,45 ^{bc}	3,4 ± 0,19 ^{ab}	1,5 ± 0,13 ^{abc}	6,6 ± 1,16 ^{bc}	1,3 ± 0,25 ^b
7	13,2 ± 1,02 ^b	4,4 ± 0,39 ^{bc}	3,0 ± 0,17 ^a	1,1 ± 0,09 ^a	4,9 ± 0,75 ^{bc}	1,2 ± 0,23 ^b
8	7,1 ± 0,47 ^a	2,0 ± 0,19 ^a	3,6 ± 0,38 ^{ab}	1,4 ± 0,21 ^{abc}	0,6 ± 0,11 ^a	0,1 ± 0,03 ^a
9	21,2 ± 1,11 ^d	5,5 ± 0,29 ^c	3,9 ± 0,29 ^{ab}	2,0 ± 0,11 ^c	9,8 ± 1,00 ^d	1,7 ± 0,26 ^b
10	18,0 ± 1,08 ^{bcd}	4,7 ± 0,32 ^{bc}	3,8 ± 0,17 ^{ab}	1,5 ± 0,14 ^{abc}	6,8 ± 0,70 ^{bc}	1,3 ± 0,18 ^b
11	22,5 ± 1,99 ^d	5,0 ± 0,29 ^{ab}	4,4 ± 0,20 ^{ab}	2,0 ± 0,13 ^c	7,9 ± 0,91 ^{cd}	1,2 ± 0,14 ^b
12	18,5 ± 1,21 ^{bcd}	4,5 ± 0,15 ^{bc}	4,0 ± 0,27 ^{ab}	1,5 ± 0,14 ^{abc}	5,5 ± 0,38 ^{bc}	1,0 ± 0,12 ^b
13	21,6 ± 2,02 ^d	5,0 ± 0,34 ^{bc}	4,4 ± 0,52 ^b	1,6 ± 0,19 ^{abc}	6,0 ± 0,57 ^{bc}	1,1 ± 0,20 ^b
14	14,5 ± 0,54 ^{bc}	4,4 ± 0,22 ^{bc}	3,2 ± 0,10 ^{ab}	1,2 ± 0,08 ^{ab}	5,8 ± 0,62 ^{bc}	1,3 ± 0,17 ^b

Tabla II.7. Resumen de las medidas realizadas a la salida de vivero para las plantas de los 14 tratamientos. Altura (H), Diámetro en el cuello de la raíz (D), índice de esbeltez (IE), relación parte aérea /raíz en peso seco (Psa/Psr), peso seco total (Pst) e índice de calidad de Dickson (ICD). Letras diferentes dentro de una misma columna muestran diferencias significativas entre tratamientos a un nivel de significación de 0,05. Las líneas sombreadas corresponden a los tratamientos del cultivo tradicional.

Comparando entre mezclas y/o sustratos para ver los efectos de cada componente por separado se observa que un aumento en la cantidad de turba en la mezcla no mejora los parámetros estudiados resultando mejor la proporción de 33 % de turba (Tratamientos 6, 7, 11 y 12). Para ver el efecto de la perlita y la vermiculita se comparó entre los tratamientos 7 y 2 ya que diferían en el componente inerte y se comprobó anteriormente que no presentaron diferencias significativas entre niveles de fertilización (tratamientos 4, 5, 11 y 12 con 6, 7, 13 y 14). No se encontraron diferencias significativas entre ellas lo que parece indicar, al menos a nivel de vivero, que la modificación de vermiculita por perlita no aporta mayores beneficios a la calidad de la planta.

El **diámetro** no mostró diferencias significativas entre contenedores pero sí entre mezclas (Tabla II.8). Al igual que ocurrió con la altura del tallo, las plantas de menor diámetro son las de los tratamientos 1 y 8, que son las plantas del cultivo tradicional, manteniéndose entre 1,5 y 2 mm de diámetro, mientras que las plantas del cultivo alternativo alcanzaron más del doble de diámetro (Tabla II.7). Las plantas mantenidas con fertilización sólida mostraron valores ligeramente mayores para el diámetro en el cuello de la raíz, que aquellas tratadas con el fertilizante líquido, aunque no se encontraron diferencias significativas entre sustratos artificiales y tampoco entre las mezclas que diferían sólo en los elementos inertes (perlita-vermiculita).

Para el **Índice de Esbeltez**, no se observaron diferencias significativas entre contenedores aunque sí se encontraron diferencias débilmente significativas entre

mezclas, los valores fueron muy similares y no se observan claras diferencias entre los tratamientos en general (Tabla II.7).

En cuanto a la relación entre la parte aérea y la raíz, **Psa/Psr**, todas las plantas estuvieron bastante equilibradas mostrando valores entre 1 y 2. No se dieron diferencias entre contenedores, pero sí entre mezclas (Tabla II.8). Igual que durante la primera fase se observa que, a grandes rasgos, la fertilización fomenta el crecimiento generalizado de la planta, especialmente de la parte aérea a costa de la radical, lo que ocasiona un aumento de dicha relación.

La diferencia de biomasa total, **Pst**, fue débilmente significativa entre contenedores y fuertemente significativa entre mezclas (Tabla II.8), siendo ligeramente superior para las plantas crecidas en FP. Entre tratamientos estas diferencias son fuertemente significativas, presentando las plantas del cultivo alternativo entre 8 y 16 veces más biomasa que las del cultivo tradicional (Tabla II.7). Comparando entre tipos de fertilización se observa que vuelve a ir mejor la fertilización sólida. Con respecto a este parámetro el elemento inerte de las mezclas (perlita-vermiculita) tampoco tuvo una influencia significativa.

Podemos observar que las plántulas crecidas en los sustratos artificiales alcanzan los mayores valores de este parámetro y, aunque de nuevo sin llegar a ser diferencias estadísticamente significativas, la fertilización sólida parece dar mejores resultados que la fertilización líquida.

El **Índice de Calidad de Dickson** no mostró diferencias entre contenedores aunque sí claras diferencias entre mezclas (Tabla II.8), presentando valores de 0,1 y cercanos a 2, respectivamente (Tabla II.7). Tampoco se observaron diferencias entre el tipo de fertilización y las proporciones utilizadas de turba y perlita o vermiculita.

Factor	H		D		IE		Psa/Psr		Pst		ICD	
	F	p	F	p	F	p	F	p	F	p	F	p
Mezcla	36,83	***	34,81	***	3,20	**	8,20	***	27,78	***	14,46	***
Contenedor	6,27	*	1,20	ns	1,63	ns	1,38	ns	4,55	*	1,19	ns

Tabla II.8. Resultado de los test ANOVA en la segunda fase para Altura (H), Diámetro (D), Índice de Esbeltez (IE), relación peso seco aéreo-peso seco raíz (Psa/Psr), Peso seco total (Pst) e Índice de calidad de Dickson (ICD) con mezcla y contenedor como factores. * ($p \leq 0,001$), ** ($p \leq 0,01$), * ($p \leq 0,05$), ns ($p > 0,05$).**

En relación a la **facilidad de extracción del cepellón** las plantas que fueron crecidas en sustratos con tierra de monte presentaron mayores complicaciones a la hora de la extracción (Tabla II.9). Las plántulas crecidas en sustratos artificiales fueron, casi siempre, mucho más sencillos de extraer y no se produjeron daños. Aún así cuando éstos estaban en los contenedores tipo Arnabat, presentaron un poco más de

complicación, especialmente en los tratamientos con menos turba y un poco más de perlita o vermiculita. Una mejor extracción del cepellón se logró en el contenedor FP, posiblemente porque este tipo de mezcla permite una mayor compactación del sustrato.

C	Arnabat							ForesPot						
Trat	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
FEC	1	3	3	3	2	3	2	2	3	3	3	3	3	3

Tabla II.9. Facilidad de extracción del cepellón (FEC) para las plantas de los diferentes tratamientos (1 menor facilidad, 2 facilidad media, 3 mayor facilidad de extracción y sin daños).

En relación a la **micorrización**, y al contrario que en la fase anterior, en la cual los tratamientos en sustratos artificiales no presentaron micorrizas, en esta segunda fase se produjo una micorrización espontánea en todos los tratamientos. Probablemente debido a micorrizas de vivero o a una contaminación de la turba empleada.



Foto II.3. Ejemplo de la morfología de las plantas de los 14 tratamientos de la segunda fase de cultivo en vivero. (Tratamientos 1-14 de izda. a dcha.)

3.2. Atributos fisiológicos

3.2.1. Primera Fase

Los macronutrientes (N,P,K) mostraron diferencias de concentración altamente significativas entre mezclas y entre partes de la planta. En ninguno de los casos se dieron diferencias significativas entre contenedores (Tabla II.12), por lo que se presentan los datos agrupados por contenedores y separados en función de la parte vegetal utilizada en los casos que se dieron diferencias entre éstas. Todos los análisis se llevaron a cabo con los datos de concentración y no de contenido, para que no influyese el tamaño de la planta.

Las plantas que presentaron mayores concentraciones de **nitrógeno** fueron las de la mezcla 4, presentando los valores más bajos las mezclas que contenían tierra de monte (1 y 6) (Tabla II. 10). Entre las plantas de los cultivos tradicional y alternativo hubo una diferencia del doble de concentración de nitrógeno (foliar y radical) a favor de las alternativas, ocasionada por la adición del fertilizante, siendo la concentración en la parte aérea superior a la radical. Las plantas fertilizadas con 7 g l⁻¹ de Os presentaron menor concentración para este elemento que las fertilizadas con 4, ya que las plantas fueron mayores. Tras expresarlo por cantidad total, las plantas fertilizadas con 7 g l⁻¹ presentan mayor cantidad para este elemento que las plantas fertilizadas con 4 g l⁻¹.

La concentración de **fósforo** varió entre 0,9 y 2,8. Las mezclas del cultivo tradicional mostraron concentraciones foliares algo superiores a las del cultivo alternativo. El aporte de fertilización supuso un aumento en la concentración de este elemento en la planta.

Las concentraciones de **potasio** fueron superiores a las de fósforo pero inferiores a las de nitrógeno en las distintas partes de la planta. La concentración en acículas fue mayor que en raíces y la mezcla que mostró concentraciones más altas fue la 4.

M	N _a (mg g ⁻¹)	N _r (mg g ⁻¹)	P _a (mg g ⁻¹)	P _r (mg g ⁻¹)	K _a (mg g ⁻¹)	K _r (mg g ⁻¹)
1	12,0±0,4 ^{ab}	6,4±0,1 ^a	2,1±0,3 ^c	1,1±0,2 ^a	6,6±1,2 ^{ab}	2,6±0,4 ^a
2	22,5±0,6 ^{cd}	14,4±0,2 ^b	1,5±0,4 ^b	1,4±0,7 ^a	8,1±2,8 ^{bc}	5,1±2,8 ^{ab}
3	17,2±0,5 ^{bc}	19,9±0,5 ^c	2,2±0,6 ^c	1,9±0,3 ^b	4,5±0,6 ^a	4,8±0,5 ^{ab}
4	23,9±0,3 ^d	12,5±0,4 ^b	0,9±0,3 ^a	0,8±0,5 ^a	9,8±2,0 ^c	6,7±3,8 ^b
5	22,6±0,6 ^{cd}	5,1±0,1 ^a	1,5±0,1 ^b	1,4±0,4 ^{ab}	5,7±0,9 ^a	2,8±1,4 ^a
6	8,0±0,4 ^a	5,6±0,1 ^a	2,8±0,5 ^d	1,0±0,3 ^a	8,2±2,1 ^{bc}	4,2±1,6 ^{ab}

Tabla II. 10. Concentración (mg g⁻¹) de Nitrógeno (N), Fósforo (P) y Potasio (K) en las acículas (a) y en las raíces (r) de las plantas crecidas en los diferentes mezclas en la primera fase. Se muestran las medias y los errores para cada mezcla unificando las medias de los dos contenedores. Letras diferentes dentro de la misma columna indica diferencias significativas ($\alpha = 0,05$). Las líneas sombreadas corresponden a los tratamientos del cultivo tradicional.

Los **carbohidratos no estructurales** mostraron diferencias significativas entre mezclas, siendo estas diferencias más marcadas para los carbohidratos solubles que para el almidón (Tabla II. 12). Además los carbohidratos solubles presentaron también diferencias entre partes de la planta, siendo la concentración superior en las acículas, no observándose en el almidón. El contenedor no influyó en ninguno de los casos en la concentración de estos azúcares.

Aunque no hay diferencias significativas entre las dosis de fertilización aplicadas se observa una tendencia a aumentar la concentración de los carbohidratos solubles foliares con la dosis más alta de fertilizante (7 g l⁻¹).

M	CHS _a (mg g ⁻¹)	CHS _r (mg g ⁻¹)	Al(mg g ⁻¹)
1	126,4±32,8 ^a	78,8±38,3 ^{ab}	122,0±80,6 ^{ab}
2	125,6±34,3 ^a	102,0±54,6 ^b	171,5±64,4 ^b
3	164,5±43,2 ^b	81,9±49,1 ^{ab}	112,4±42,6 ^a
4	116,7±23,2 ^a	72,2±32,5 ^{ab}	128,0±57,9 ^{ab}
5	128,3±30,8 ^a	90,0±34,1 ^b	131,4±33,0 ^{ab}
6	102,3±27,5 ^a	51,7±20,5 ^a	125,0±42,7 ^{ab}

Tabla II.11. Valores medios de concentración en carbohidratos solubles, en acículas (CHS_a) y raíces (CHS_r), y de Almidón (Al), en este caso la media total. Se muestran las medias y los errores estándar para cada mezcla. Letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencias significativas ($\alpha = 0,05$). Las líneas sombreadas corresponden a los tratamientos del cultivo tradicional.

Factor	N		P		K		CHS		Almidón	
	F	p	F	p	F	p	F	p	F	p
Parte	28,58	***	59,39	***	6,61	***	105,9	***	0,84	ns
Mezcla	15,44	***	20,78	***	12,7	***	7,35	***	3,32	**
Contenedor	2,78	ns	3,12	ns	1,07	ns	0,68	ns	0,38	ns

Tabla II.12. Resultado del Análisis Multivariante de los datos de Nitrógeno (N), Fósforo (P), Potasio (K), Carbohidratos Solubles (CHS) y Almidón, con parte de la planta (aérea o radical), mezcla y contenedor como factores. *** ($p \leq 0,001$), ** ($p \leq 0,01$), * ($p \leq 0,05$), ns ($p > 0,05$).

3.2.2. Segunda Fase

Al igual que ocurrió en la primera fase del cultivo los macronutrientes (N,P,K) y los Carbohidratos Solubles (CHS) mostraron diferencias de concentración altamente significativas entre mezclas ($p < 0,001$) excepto para el almidón que fue un poco menor ($p \leq 0,001$). Los macronutrientes también presentaron diferencias de concentración en función de la parte de la planta analizada aunque no así los CHS y el almidón en esta fase. En ninguno de los casos se dieron diferencias significativas entre contenedores (Tabla II.15), por lo que se presentan los datos agrupados por contenedores y separados en función de la parte vegetal utilizada cuando se dieron diferencias entre éstas.

M	N _a (mg g ⁻¹)	N _r (mg g ⁻¹)	P _a (mg g ⁻¹)	P _r (mg g ⁻¹)	K _a (mg g ⁻¹)	K _r (mg g ⁻¹)
1	6,2 ± 0,35 ^a	5,0 ± 0,25 ^a	1,3 ± 0,24 ^a	0,9 ± 0,12 ^a	5,3 ± 0,19 ^a	2,8 ± 0,09 ^a
2	9,6 ± 1,92 ^{ab}	8,6 ± 0,38 ^{bc}	1,5 ± 0,14 ^{ab}	1,0 ± 0,07 ^a	5,4 ± 0,54 ^{ab}	3,7 ± 0,62 ^{abc}
3	9,7 ± 1,03 ^{ab}	7,2 ± 1,18 ^{abc}	2,1 ± 0,17 ^{bc}	1,2 ± 0,12 ^a	7,1 ± 0,53 ^{bc}	4,4 ± 0,10 ^{bc}
4	11,7 ± 0,96 ^b	9,4 ± 0,75 ^c	1,2 ± 0,08 ^a	0,8 ± 0,08 ^a	7,0 ± 0,91 ^c	4,9 ± 0,31 ^c
5	8,4 ± 0,80 ^a	5,1 ± 0,63 ^a	2,5 ± 0,31 ^c	1,2 ± 0,07 ^a	7,1 ± 0,91 ^{bc}	3,9 ± 0,33 ^{abc}
6	10,0 ± 1,89 ^{ab}	9,4 ± 0,94 ^c	1,4 ± 0,15 ^{ab}	0,9 ± 0,07 ^a	6,7 ± 0,74 ^{bc}	4,8 ± 0,17 ^{bc}
7	6,7 ± 0,33 ^{ab}	5,9 ± 0,59 ^{ab}	1,8 ± 0,14 ^{abc}	1,2 ± 0,10 ^a	4,8 ± 0,63 ^{bc}	3,5 ± 0,19 ^{ab}

Tabla II.13. Concentración (mg g⁻¹) de Nitrógeno (N), Fósforo (P) y Potasio (K) en las acículas (a) y en las raíces (r) de las plantas crecidas en los diferentes tratamientos en la segunda fase. Se muestran las medias y los errores para cada mezcla (M). Letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencias significativas ($\alpha = 0,05$). Las líneas sombreadas corresponden a los tratamientos del cultivo tradicional.

La mezcla 1 fue la que mostró los valores de **nitrógeno** más bajos por no poseer fertilización (Tabla II.13), aunque observando las diferencias mostradas por el contraste a posteriori (letras en la tabla) estas diferencias son mínimas entre mezclas. Asimismo, se observa una tendencia a mostrar una mayor concentración de nitrógeno en plantas mantenidas con fertilización sólida. Las diferentes mezclas mostraron valores de dentro del rango dado para coníferas presentando valores más elevados las acículas que las raíces.

Aunque no hay diferencias debidas a la fertilización, en la tabla II.13 podemos observar que la concentración de **fósforo** es, en general, algo superior en plántulas crecidas en sustratos artificiales que han seguido un tratamiento de fertilización líquida. Las diferentes mezclas mostraron valores de dentro del rango dado para coníferas presentando valores más elevados las acículas que las raíces.

Las diferentes mezclas mostraron valores de **potasio** dentro del rango dado para coníferas presentando valores más elevados las acículas que las raíces (Tabla II.13).

La concentración de **CHS y Almidón** en esta fase (Tabla II.14) fue muy similar a la encontrada para las plantas en la primera fase. Se observa una vez más que los valores más altos, en general, los presentaron las plantas de los tratamientos con sustratos artificiales y con fertilización sólida.

Mezcla	CHS (mg g ⁻¹)	Almidón (mg g ⁻¹)
1	93,8 ± 7,57 ^a	97,1 ± 9,46 ^a
2	144,8 ± 8,09 ^b	129,7 ± 13,90 ^{ab}
3	119,7 ± 6,25 ^{bc}	191,3 ± 7,50 ^c
4	123,5 ± 7,90 ^{bc}	168,3 ± 11,40 ^{bc}
5	103,1 ± 4,16 ^a	137,6 ± 10,42 ^{ab}
6	183,9 ± 10,96 ^c	133,12 ± 11,81 ^{ab}
7	134,5 ± 7,57 ^b	167,16 ± 14,82 ^{bc}

Tabla II.14. Valores medios de contenido en carbohidratos solubles (CHS) y Almidón (Al). Se muestran las medias y los errores para cada mezcla. Letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencias significativas ($\alpha = 0,05$). Las líneas sombreadas corresponden a los tratamientos del cultivo tradicional.

Factor	N		P		K		CHS		Almidón	
	F	p	F	p	F	p	F	p	F	p
Parte	6,55	*	82,80	***	82,65	***	1,60	ns	0,02	ns
Mezcla	12,9	***	11,41	***	6,54	***	17,05	***	8,10	**
Contenedor	0,02	ns	8,22	ns	3,55	ns	0,03	ns	0,31	ns

Tabla II.15. Resultado del Análisis Multivariante de los datos de Nitrógeno (N), Fósforo (P) y potasio (K), Carbohidratos Solubles (CHS) y Almidón. *** ($p \leq 0,001$), ** ($p \leq 0,01$), * ($p \leq 0,05$), ns ($p > 0,05$).

3.3. Atributos de respuesta

3.3.1 Primera Fase

Test de vigor (test OSU). Tras realizar el tratamiento de temperatura (40 °C) a las plantas de cada uno de los tratamientos durante una hora, en ninguno se produjeron

marras, ni al mes (vigor 1) ni a los dos meses de aplicación del test (vigor 2). Todas las plantas presentaron un aspecto bastante similar, (datos no mostrados) sólo hubo dos tratamientos (3 y 9) que presentaron cierta sequedad en sus acículas pero también lo hicieron las plantas control de ese mismo tratamiento por lo que se descartó que fuese un efecto de la temperatura.

Test de Potencial de Regeneración Radical. Tras aplicar el test a todos los lotes de plantas se observaron claras diferencias entre las plantas del cultivo tradicional y las del cultivo alternativo. En la siguiente tabla se recogen los resultados del test de Potencial de Regeneración Radical (PRR).

TRAT	R _{N1}	R _{N2}	R _{N3}	N _{RN}	L _{RN} (cm)	L _{RN3} (cm)	%
1	0,6 ± 0,13	0,5 ± 0,10	0,4 ± 0,09	1,5 ± 0,32	4,4 ± 0,44	4,0 ± 0,22	45
2	22,8 ± 5,09	4,9 ± 1,10	2,0 ± 0,44	29,6 ± 6,62	22,4 ± 4,76	4,3 ± 0,57	100
3	29,7 ± 6,65	7,5 ± 1,68	1,6 ± 0,35	36,9 ± 8,25	31,6 ± 6,00	4,0 ± 0,47	90
4	39,9 ± 8,93	7,2 ± 1,60	1,9 ± 0,44	46,6 ± 10,42	33,4 ± 7,09	3,6 ± 0,56	95
5	32,1 ± 7,17	18,7 ± 4,18	9,2 ± 2,06	60,0 ± 13,41	50,6 ± 10,75	5,0 ± 0,90	95
6	0,6 ± 0,13	0,0 ± 0,00	0,1 ± 0,01	0,7 ± 0,15	2,8 ± 0,13	5,5 ± 0,06	10
7	10,8 ± 2,42	0,4 ± 0,08	0,2 ± 0,04	10,8 ± 2,41	10,0 ± 1,45	5,5 ± 0,19	70
8	5,0 ± 1,12	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	28,0 ± 6,26	22,8 ± 5,09	4,8 ± 0,57	95
9	18,9 ± 4,24	7,5 ± 1,67	3,1 ± 0,68	32,2 ± 7,20	27,4 ± 5,82	5,1 ± 0,77	95
10	32,1 ± 7,17	18,7 ± 4,18	9,2 ± 2,06	32,7 ± 7,31	28,7 ± 5,78	4,9 ± 0,90	100
11	31,5 ± 7,05	20,6 ± 4,60	6,9 ± 1,54	56,1 ± 12,53	51,1 ± 10,85	4,4 ± 0,99	100
12	6,9 ± 1,55	1,1 ± 0,24	0,1 ± 0,01	8,1 ± 1,80	7,8 ± 1,19	5,0 ± 0,06	75

Tabla II.16. Resultados del test de potencial de regeneración de la raíz para las plantas de cada tratamiento en la primera fase. R_{N1}: Número medio de raíces nuevas menores de 1 cm; R_{N2}: Número medio de raíces nuevas de entre 1-3 cm; R_{N3}: Número medio de raíces nuevas mayores de 3 cm; N_{RN}: Número medio total de raíces nuevas; L_{RN}: Longitud media total de las raíces nuevas; L_{RN3}: Longitud media de las raíces mayores de 3 cm y %: Porcentaje de plantas que presentaron formación de raíces nuevas. Se muestran las medias y los errores. Las líneas sombreadas corresponden a los tratamientos del cultivo tradicional.

Entre el 90 y el 100 % de las plantas de los cultivos alternativos presentaron formación de nuevas raíces, frente a las del cultivo tradicional que lo hicieron en un 22,5 % de media en SL y sobre un 75 % en AT. Asimismo tanto el número de raíces nuevas de cada clase formadas por planta, como la longitud total de éstas fueron muy superior para las plantas cultivadas con turba. Los tratamientos del cultivo tradicional formaron una media de 5 raíces nuevas por planta con una longitud total media de las raíces nuevas producidas de 6,25 cm por planta, frente a las 40 que desarrollaron las del cultivo alternativo con una longitud total media de 33,5 cm. El contenedor no influyó significativamente en ninguno de los parámetros medidos en el test. Sin embargo la mezcla influyó significativamente en todos los parámetros

($p < 0,001$), excepto en la longitud de las raíces mayores de 3 cm, donde no se vieron diferencias entre mezclas (Tabla II.17).

Factores	Mezcla		Contenedor	
	F	p	F	p
R _{N1}	5,90	***	1,28	ns
R _{N2}	12,59	***	0,01	ns
R _{N3}	8,24	***	0,00	ns
N _{RN}	10,07	***	0,54	ns
L _{RN}	11,39	***	0,99	ns
LR _{N3}	0,84	ns	3,20	ns

Tabla II.17. Resultado del Análisis Multivariante de los datos del test de potencial de regeneración de la raíz en la primera fase. * ($p \leq 0,001$), ** ($p \leq 0,01$), * ($p \leq 0,05$), ns ($p > 0,05$).**

3.3.2. Segunda Fase

Test de vigor (test OSU). En esta fase del proyecto el test de vigor se realizó con bastante éxito utilizando una temperatura de 45 °C durante dos horas. Un mes después del tratamiento (vigor 1) ya eran visibles los efectos del tratamiento de temperatura. El 100 % de las plantas de los cultivos tradicionales sometidas al tratamientos de temperatura murió durante los dos meses que duró el experimento, frente a un 37,5 % de las plantas del cultivo alternativo, de manera que las primeras presentaron un menor vigor. Aún así, debió darse algún factor de estrés para las plantas durante la manipulación que afectó a la supervivencia de las mismas ya que un 30 % de los controles del cultivo tradicional también murieron, reduciéndose este porcentaje para los controles del cultivo alternativo a un 18 %.

Test de Potencial de Regeneración Radical. Tras aplicar el test a todos los lotes de plantas se observaron claras diferencias entre las plantas crecidas en sustratos que contenían tierra y las crecidas en sustrato artificial. En la siguiente tabla (II.18) se recogen los resultados del test de Potencial de regeneración Radical (PRR). En la tabla se observa que las plantas crecidas en sustratos que contenían tierra presentaron porcentajes más bajos que las demás. El 100 % de las plantas de los cultivos alternativos presentaron formación de nuevas raíces, frente a las del cultivo tradicional que lo hizo entre un 70 y un 77,8 %. También en esta fase tanto el número de raíces nuevas de cada clase formadas por planta, como la longitud total de éstas fue muy superior para las plantas cultivadas con turba. Los tratamientos del cultivo tradicional formaron una media de 2,7 raíces nuevas por planta, con una longitud total media de las raíces nuevas producidas de 2,5 cm por planta, frente a las 43,7 que desarrollaron las del cultivo alternativo con una longitud total media de 34,5 cm.

TRAT	R _{N1}	R _{N2}	R _{N3}	N _{RN}	L _{RN} (cm)	L _{RN3} (cm)	%
1	1,8 ± 0,57	0,8 ± 0,35	0,1 ± 0,11	2,7 ± 0,79	2,4 ± 0,79	3,2 ± 0,34	77,8
2	12,3 ± 1,96	15,9 ± 4,08	23,8 ± 4,70	51,9 ± 9,15	37,3 ± 6,34	7,3 ± 0,71	100
3	13,5 ± 2,53	15,2 ± 3,55	6,1 ± 1,88	34,8 ± 6,71	34,1 ± 6,60	4,5 ± 0,62	100
4	12,2 ± 2,69	11,7 ± 2,45	12,6 ± 2,90	36,5 ± 6,33	28,7 ± 4,54	5,0 ± 0,33	100
5	24,1 ± 6,07	18,8 ± 4,17	12,4 ± 3,72	55,3 ± 12,40	45,2 ± 9,03	5,0 ± 0,25	100
6	19,5 ± 5,09	7,6 ± 1,18	16,8 ± 3,65	43,9 ± 7,54	26,8 ± 3,80	5,7 ± 0,69	100
7	12,6 ± 3,77	12,2 ± 3,09	5,2 ± 0,79	30,0 ± 6,47	29,9 ± 6,37	5,3 ± 0,20	100
8	1,8 ± 0,57	0,7 ± 0,26	0,2 ± 0,13	2,7 ± 0,70	2,6 ± 0,73	3,4 ± 0,45	70
9	17,6 ± 3,33	10,7 ± 2,50	19,4 ± 3,10	47,7 ± 7,62	31,4 ± 4,83	6,6 ± 0,40	100
10	22,8 ± 6,87	13,3 ± 1,95	10,1 ± 2,32	46,2 ± 9,54	36,7 ± 5,70	5,4 ± 0,51	100
11	47,4 ± 10,68	13,8 ± 3,22	14,1 ± 2,12	75,3 ± 14,04	50,9 ± 9,24	6,6 ± 0,33	100
12	18,4 ± 6,02	11,8 ± 3,49	4,8 ± 1,35	35,0 ± 9,18	31,3 ± 7,55	4,4 ± 0,75	100
13	13,0 ± 1,74	13,0 ± 2,57	12,2 ± 1,65	38,2 ± 4,13	32,2 ± 4,14	6,2 ± 0,26	100
14	12,8 ± 1,47	11,3 ± 2,78	5,6 ± 2,25	29,7 ± 4,78	27,4 ± 4,41	4,0 ± 0,70	100

Tabla II.18. Resultados del test de regeneración de la raíz para las plantas de cada tratamiento en la primera fase. R_{N1}: Número medio de raíces nuevas menores de 1 cm; R_{N2}: Número medio de raíces nuevas de entre 1-3 cm; R_{N3}: Número medio de raíces nuevas mayores de 3 cm; N_{RN}: Número medio total de raíces nuevas; L_{RN}: Longitud media total de las raíces nuevas; L_{RN3}: Longitud media de las raíces mayores de 3 cm, %: Porcentaje de plantas que presentaron formación de raíces nuevas. Se muestran las medias y los errores estándar. Las líneas sombreadas corresponden a los tratamientos del cultivo tradicional.

El contenedor no influyó en ninguno de los parámetros medidos en el test. El tipo de mezcla tuvo una influencia débilmente significativa (p= 0,027) en el número total de raíces nuevas producidas, y fuertemente significativa (p<0,001) en el número de raíces mayores de 3 cm y en la longitud de las mismas (Tabla II.19)

Factores	Mezcla		Contenedor	
	F	p	F	p
R _{N1}	2,85	ns	1,56	ns
R _{N2}	1,28	ns	0,18	ns
R _{N3}	7,42	***	0,55	ns
N _{RN}	2,50	*	0,10	ns
L _{RN}	1,64	ns	0,47	ns
L _{RN3}	8,02	***	0,55	ns

Tabla II.19. Resultado del Análisis Multivariante de los datos del test de potencial de regeneración de la raíz en la segunda fase. *** (p≤0,001), ** (p≤0,01), * (p≤0,05), ns (p> 0,05).

3.4. Relación entre los atributos medidos

3.4.1. Relación entre el desarrollo de la planta y la fertilización

Los distintos parámetros morfológicos medidos en las dos fases, a la salida de las plantas de vivero fueron correlacionados con los macronutrientes. Se establecieron

correlaciones de éstos parámetros morfológicos con el aporte de cada macronutriente por planta (mg), con la concentración en los tejidos (mg g^{-1} Ps) y con el contenido en biomasa foliar (mg). Las correlaciones más significativas fueron las realizadas con los datos de contenido de nutrientes en acículas. Con respecto al contenido todas las correlaciones realizadas entre los parámetros morfológicos y los datos de contenido de los macronutrientes, fueron positivas y fuertemente significativas ($p < 0,001$), excepto entre el contenido en nitrógeno foliar (N_a) y el diámetro ($p < 0,05$), y entre el nitrógeno foliar con el P_{sr} e ICD que resultaron no significativas. La figura II.3 ilustra un ejemplo de las distintas correlaciones encontradas entre la altura y el aporte por planta, concentración foliar y contenido foliar en nitrógeno.

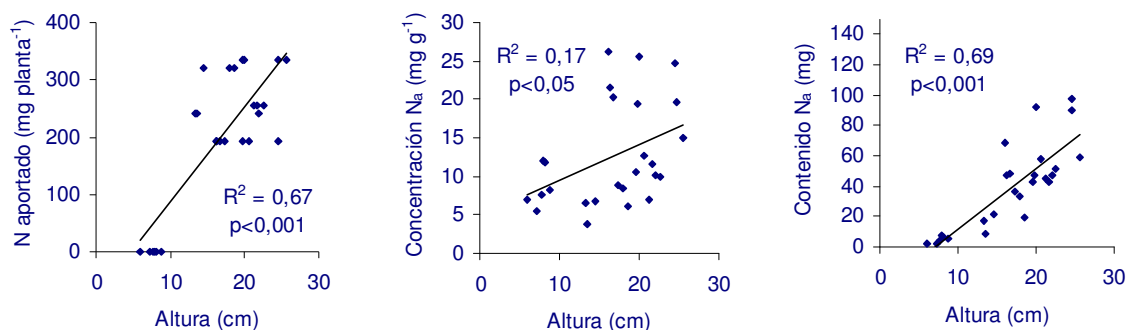


Figura II.3. Correlaciones de la altura media por tratamiento con el nitrógeno aportado por planta, la concentración foliar (N_a) y el contenido total foliar de éste en las dos fases de cultivo en vivero (n = 26).

En relación a las correlaciones realizadas con el aporte de cada elemento todas las correlaciones fueron positivas y fuertemente significativas ($p < 0,001$) para los tres macronutrientes con los distintos parámetros morfológicos.

Los datos de concentración de N, P, y K fueron los que peor correlacionados estuvieron con los parámetros morfológicos mostrando para el fósforo y el potasio correlaciones negativas en todos los casos y no significativas, tanto cuando se utilizó la concentración foliar como radical. En cuanto al nitrógeno, la concentración de N_a , mostró una correlación débilmente significativa con la altura de la planta ($p < 0,05$) mientras que con todos los demás parámetros las correlaciones resultaron no significativas.

3.4.2. Fertilización y crecimiento radical

Tanto el número de raíces nuevas formadas como la longitud de las mismas se correlacionaron positiva y significativamente con la cantidad de macronutrientes

aportadas a cada tratamiento así como con el contenido de los mismos en la planta. Los coeficientes de correlación fueron un poco mejores con la longitud de las raíces nuevas producidas que con el número, pero en ambos casos fueron altos (entre 0,6 y 0,8). Las concentraciones de N, P y K no se correlacionaron ni con la longitud ni con el número de raíces nuevas formadas.

4. DISCUSIÓN

4.1. Atributos morfológicos

Históricamente se ha considerado que, por sí solo, el análisis de la altura no ofrecía demasiada información, ya que, según varios autores no se ha encontrado una correlación entre la supervivencia y la altura, es decir que no por tener mayores partes aéreas las plantas repobladas crecen o sobreviven más (Thompson, 1985; Tuttle *et al.*, 1988; Mexal y Landis, 1990; Bayley y Kietka, 1997; Dey y Parker, 1997; South, 2000), incluso se han encontrado correlaciones negativas entre altura y supervivencia en algunas repoblaciones realizadas en medio árido (Trubat *et al.*, 2003). Sin embargo, hoy en día, cada vez está más aceptado el hecho de que plantas de mayor porte y mejor aspecto general van a presentar mejores expectativas de supervivencia en el traslado a campo, especialmente en las duras condiciones del clima mediterráneo como lo demuestran diversos trabajos (Cortina *et al.*, 1997; Oliet *et al.*, 1997; Villar-Salvador *et al.*, 2000, 2001a).

Las plantas crecidas en sustratos artificiales fertilizados fueron mayores en altura y presentaron mayor diámetro en el cuello de la raíz. En relación a la altura mínima que deben tener las plantas para el paso a campo, todas las plantas de los tratamientos alternativos se encontraron dentro del rango adecuado para el paso a campo de coníferas (Peñuelas y Ocaña, 2000). Por el contrario las plantas de los tratamientos tradicionales no alcanzaron la altura mínima de los 10 cm. En varios de los tratamientos alternativos las plantas alcanzaron alturas superiores a las permitidas por la normativa española para el paso a campo, pero el hecho de que las plantas que superaron esa altura máxima "legal" alcanzaran las mayores tasas de supervivencia en el campo, como se expondrá en el capítulo siguiente, debería ser tenido en cuenta a la hora de revisar cuales son los valores máximos permitidos en la normativa legal para el paso a campo de esta especie.

Tradicionalmente las plantas más pequeñas eran las que se usaban para reforestar ya que se suponía que eran menos sensibles al viento, a la sequía y a los estreses por bajas temperaturas. Sin embargo, estudios más recientes en especies del

género *Pinus* y *Quercus* han demostrado que si las plantas son grandes, pero se encuentran bien equilibradas, pueden tener igual o incluso mejor desarrollo en el campo tal y como describen varios trabajos (South, 2000; Mason, 2001; Cortina *et al.*, 1997; Oliet *et al.*, 1997; Villar-Salvador *et al.*, 2000; Puértolas *et al.*, 2003, Luis *et al.*, 2004a), donde se muestran correlaciones positivas entre la altura inicial y la supervivencia de las plantas. Con respecto al diámetro, todas se encontraron dentro de los rangos óptimos, alrededor de los 2 mm. La esbeltez de las plantas fue bastante similar, de modo que podría esperarse que su resistencia al viento, a la sequía o al frío sea parecida (Gil y Pardos, 1997). Según estos mismos autores plantas con valores de Psa/Psr superiores a 3 son inaceptables para el paso a campo. Algunas plantas del cultivo alternativo los presentaron, aunque en el caso del pino canario y teniendo en cuenta todos los demás atributos medidos no creemos que este valor suponga un descenso del éxito del arraigo de las plantas.

A grandes rasgos una mayor fertilización fomenta el crecimiento generalizado de la planta, especialmente de la parte aérea a costa de la radical lo que ocasiona que la relación entre la parte aérea y la raíz (Psa/Psr) se incremente (Villar-Salvador *et al.*, 2001a). Aunque las plantas del cultivo tradicional mostraron valores más bajos de Psa/Psr, ya que debido a la ausencia de fertilización sus partes aéreas no se desarrollaron tanto como las del cultivo alternativo, queda claro después de estudiar la morfología de las plantas, que éstas últimas son plantas más equilibradas y que presentan un buen desarrollo radical para mantener a las partes aéreas, por lo que suponemos tendrán un buen desarrollo en el campo.

El índice de calidad de Dickson, ha sido considerado como de mayor valor predictivo que los dos índices anteriores tratados de forma aislada y aunque se utiliza bastante en la bibliografía no existen unos valores límites claros para considerar la buena o mala calidad de planta. En general la calidad es mayor cuanto mayor es este índice que presenta valores entre 0 y 1,5 para especies de pinos mediterráneos (Oliet *et al.*, 1997) con valores próximos a 0,4 para *Pinus halepensis* y cercanos a 0,5 para *Pinus pinea*, similares a los obtenidos en la primera fase del cultivo. En la segunda fase las plantas del cultivo tradicional mostraron valores de 0,1 mientras que las del cultivo alternativo en general mostraron valores superiores a 1, lo que nos hace suponer que éstas últimas tendrán tasas de supervivencia superiores.

En general las plantas fertilizadas mostraron mayores valores de biomasa tanto aérea, como radical.

Las plantas cultivadas con tierra de monte presentaron mayor dificultad a la hora de extraerlas de los contenedores, produciéndose desmoronamientos en el

cepellón que originaron daños en el sistema radical, resultando mejor el SL-M30 ya que es de manipulación individual.

La micorrización, se dio de manera espontánea en los tratamientos cultivados con tierra de monte en la primera fase del cultivo y en todos los tratamientos en la segunda pero no pareció tener ninguna influencia en la calidad de la planta.

4.2. Atributos fisiológicos

El estado nutricional de las plantas aporta información muy útil a la hora de evaluar la calidad de planta, aunque en nuestro estudio no presentaron en general grandes diferencias entre nutrientes. Todos los parámetros fueron aceptables para el paso a campo de las plantas, y aunque no fueron buenos parámetros para discriminar entre tratamientos, si fueron muy útiles para confirmar que se encontraban dentro de los rangos óptimos descritos para el paso a campo de coníferas cultivadas en contenedor (Duryea y McClain, 1984; Van der Driessche, 1987; Landis, 1989) y similares a los rangos obtenidos para otras especies mediterráneas (Royo *et al.*, 1997; Oliet *et al.*, 1999; Villar-Salvador *et al.*, 1999; Del Campo, 2002; Puértolas *et al.*, 2003), así como para ejemplares adultos de pino canario (Tausz *et al.*, 2004).

La concentración de N en hojas está relacionada con la capacidad de recuperación tras cualquier tipo de situación estresante, como lo es el paso a campo (Folk *et al.*, 1996) y por eso ha sido positivamente correlacionada con el desarrollo de las plantas en el campo (Van den Driessche, 1987; Villar-Salvador *et al.*, 2000; Puértolas *et al.*, 2003). En nuestro estudio las plantas del cultivo alternativo presentaron los valores más altos de este nutriente.

El fósforo interviene decisivamente junto con el nitrógeno en el desarrollo de la planta, ya que forma parte de las moléculas de ATP y tiene un papel regulador en la síntesis de almidón y carbohidratos, estimulando el desarrollo de la parte radical frente a la aérea y contribuyendo a producir una planta más equilibrada en contenedor, teniendo en cuenta que estará limitada por el volumen de dicho contenedor (Timmer y Armstrong, 1987; Oliet, 1995; Ruiz y Domínguez, 1997). Los valores medios de planta tipo para el fósforo rondan los 2 mg g⁻¹, y para plantas producidas en contenedor entre 2-4 mg g⁻¹ (Landis, 1989; Oliet *et al.*, 1999). En nuestros tratamientos los valores medios para este nutriente tanto en las acículas como en las raíces se encontraron dentro del rango óptimo. Los valores más altos los presentaron los tratamientos de tierra, ya que fueron plantas mucho más pequeñas de tamaño. Valores altos de nitrógeno provocan un efecto de dilución en otros nutrientes como el fósforo (Oliet, 1999), es por ello que las plantas no fertilizadas presentaron los valores más altos de fósforo ya que no se produjeron fenómenos de dilución como en las fertilizadas, ya que al experimentar menor crecimiento se diluyó menos la concentración de fósforo en los

tejidos. El hecho de que la concentración de este elemento fuera mayor en las acículas se debe a que el fósforo es un elemento bastante móvil que se trasloca rápidamente desde las raíces hasta las parte área de la planta donde interviene en multitud de procesos metabólicos.

El potasio, después del nitrógeno, es el elemento esencial requerido en mayores cantidades por la planta. La concentración de potasio en tejidos está relacionada con el vigor de la planta en vivero pero el papel más conocido de este elemento en la fisiología de la planta es el ajuste osmótico en la regulación de la apertura estomática (Timmer, 1991; Van Steenis, 1999), estas propiedades convierten al potasio en un elemento esencial en el proceso de arraigo (Oliet *et al.*, 1999). Una vez más las plantas que presentaron mayores valores de este elemento fueron las plantas del cultivo alternativo.

Los azúcares solubles juegan un importante papel en el ajuste osmótico (Gebre *et al.*, 1994; Premachandra *et al.*, 1995) así como en procesos de tolerancia a la deshidratación (Santarius, 1973) tanto en tallos como en raíces (Villar-Salvador *et al.*, 1999). En las coníferas, la formación de nuevas raíces y el mantenimiento de la planta durante las primeras etapas en campo, se produce principalmente a partir de los azúcares formados en la fotosíntesis y en menor medida de los de reserva (Van den Driessche, 1987; Philipson, 1988; Villar-Salvador, 2003) los cuales son acumulados y utilizados como sustancias de reserva de energía en estas etapas (Palacios *et al.*, 2001). La falta de éstos en el momento de la repoblación puede afectar negativamente al desarrollo de las plantaciones, por ello es uno de los atributos fisiológicos de calidad que más información puede aportar acerca de la respuesta de las plantas en campo (Puttonen, 1986; Rose, 1992), además su presencia es importante sobretudo en casos de defoliación o herbivorismo ya que los carbohidratos almacenados tienen un papel básico en la recuperación de la planta (McPherson y Williams, 1998; Canham *et al.*, 1999). Es necesario, por tanto, que presenten una concentración suficiente de estos carbohidratos en sus tejidos para asegurarse la supervivencia. Todos las plantas de Pino canario presentaron valores de carbohidratos solubles y almidón dentro de los rangos óptimos descritos sin mostrar diferencias entre ellos y presentando valores algo superiores para las partes aéreas en el caso de los primeros.

4.3. Atributos de respuesta

Los caracteres morfológicos y fisiológicos describen el estado del material, sin embargo, no informan de su capacidad funcional real, la cual viene definida por otros atributos que son los de respuesta o desarrollo (Mattsson, 1997). La ventaja de estos atributos es que nos proporcionan una medida real del vigor y resistencia de una

planta y a menudo presentan una buena correlación con las plantas en campo especialmente en condiciones limitantes (Ritchie y Dunlap, 1980; Mattson, 1991; Van den Driessche, 1992; Simpson *et al.*, 1994; Simpson, 1995; Simpson y Ritchie, 1997; McKay y Morgan, 2001).

Con respecto al test de Vigor (OSU), el hecho de que ninguna de las plantas muriera el primer año nos hace suponer que, debido a que el pino canario es una especie muy resistente al calor (Peters *et al.*, 1999), la temperatura aplicada así como el tiempo de exposición a la misma (40°C durante 50 minutos) no fue lo suficientemente drástica, aún siendo superior, tanto la temperatura como el tiempo de exposición, a las aplicadas para otras especies de pinos que sí presentaron diferentes tasas de mortalidad (McCreary y Duryea, 1985). Por lo tanto, teniendo en cuenta sólo los resultados de este test todas las plantas de nuestros tratamientos deberían tener un bajo porcentaje de mortalidad en campo debido a condiciones de altas temperaturas. Sin embargo, al aumentar la temperatura y el tiempo de exposición del test en la segunda fase, ya se produjeron marras en las plantas y se observaron diferencias significativas entre los cultivos, presentando las plantas del cultivo alternativo mayor vigor que las del tradicional.

La capacidad de formar nuevas raíces ha sido considerada como una medida del vigor de las plantas, (Simpson y Ritchie, 1997) así, a mayor número de raíces las plantas tienen mayor supervivencia en campo (Gil y Pardos, 1997). Si comparamos el número total de raíces nuevas y la longitud de éstas, entre las dos primeras fases de este trabajo, se observa que en la segunda fase estos parámetros alcanzan mayores valores debido a las variaciones introducidas en el test, donde el lugar de eliminar el sustrato del cepellón y cortar las puntas blancas, fue el cepellón entero el que se plantó y se contaron posteriormente las raíces que habían crecido por fuera del mismo. De esta forma se redujo el estrés a las plantas por lo que el potencial de regeneración de raíces fue más alto. Tanto el número total como la longitud total de las nuevas raíces producidas fueron mayores en sustratos artificiales, principalmente con fertilización sólida lo cual hace suponer que éstas serán las que presenten un mayor arraigo en campo. Este test ha sido considerado mejor que otros para evaluar la calidad de planta ya que indica la resistencia que tienen las plantas al estrés producido por el cambio de sustrato y refleja el potencial de regeneración radical de las plantas (Sutton, 1979; Ritchie y Tanaka, 1990). Sin embargo, hay que tener en cuenta que lo que refleja es la calidad de la planta en sí y no la calidad de la plantación, que va a verse afectada por múltiples factores que van a condicionar el éxito de la plantación.

4.4. En busca del contenedor ideal

Numerosos estudios demuestran que la importancia del volumen del contenedor es indiscutible (Marien y Drovin 1978; Ward *et al.*, 1981; Vilagrosa *et al.*, 1997; Chirino *et al.*, 2005; Domínguez-Lerena *et al.*, 2006). Según estas investigaciones, un mayor espacio para el desarrollo radical supone mejores resultados posteriores en campo, así se propone la utilización de contenedores de al menos 300 cm³ para pinos en ambientes mediterráneos (Villar-Salvador, 2003). Los resultados obtenidos en las dos fases de cultivo de la planta ponen de manifiesto que un volumen de 300 cm³ es adecuado para el cultivo de esta especie, mientras que un aumento del mismo a 400 cm³ no supuso una mejora considerable de la calidad de la planta; sin embargo aumenta los costes económicos del cultivo, por lo que se recomienda la utilización de contenedores de un volumen aproximado de 300 cm³. Aunque las diferencias entre las características de los contenedores fueron mayores en la segunda fase (volumen de 300 frente al de 400), parece haber tenido mayor influencia en la morfología de las plantas las diferencias entre los contenedores empleados en la primera (sección y manejo del envase), por lo que cabe la posibilidad que, para el cultivo de esta especie, sea importante la morfología radical resultante de un contenedor de sección circular y manipulación individual, siempre y cuando se cumpla un mínimo de volumen del mismo.

En relación con la facilidad de extracción del cepellón las plantas crecidas en Super Leach resultaron más fáciles de extraer sin producir daño cuando se trató de sustratos tradicionales, sin embargo, esto se debe a que este tipo de bandeja permite una manipulación individual de los alvéolos y, por lo tanto, facilita las labores de extracción, en cuanto a la facilidad de extracción de las plantas del cultivo alternativo resultó similar en todos los casos.

Dentro de los parámetros evaluados en este estudio el contenedor tuvo una influencia significativa en los morfológicos pero en ningún caso en los fisiológicos o en los de respuesta.

4.5. Considerando el sustrato más adecuado

Los sustratos son una parte fundamental del cultivo, ya que determinan la cantidad de nutrientes, agua y aire disponible para las raíces y en consecuencia las características funcionales de las plantas (Landis *et al.*, 1990). El efecto del sustrato fue más acusado en la morfología de las plantas que en los parámetros fisiológicos, en los que tuvo mayor efecto la fertilización. Los tratamientos compuestos por sustratos artificiales fertilizados presentaron, en general, plantas de mayor altura, mayor diámetro en el cuello de la raíz, mejor índice de calidad de Dickson y mayores valores de Pst, ICD y mejores relaciones entre Psa/Psr. Dentro de las mezclas que contenían

tierra de monte en su composición la adición de turba a las mismas no supuso una mejora en los valores de los parámetros estudiados. La aplicación del picón como elemento inerte resultó bastante similar en cuanto a eficacia con respecto a la vermiculita, de manera que se recomienda el uso de ésta última por ser más fácil su estandarización en cualquier vivero de producción y por el hecho de que la utilización del picón está en desuso y cada vez más se tiende a utilizar materiales de propiedades similares, como la perlita o la vermiculita, que no supongan la merma de un recurso natural de nuestras Islas, con el grave impacto sobre el paisaje que ello conlleva.

Dentro de las mezclas compuestas a base de turbas fertilizadas, el elemento inerte sí que tuvo un efecto significativo en el caso de la altura, mejorandola cuando se sustituyó el picón por la vermiculita, aunque no las demás variables estudiadas. Además no se encontraron diferencias significativas entre la vermiculita y la perlita por lo tanto es el criterio del viverista, la gestión y la economía del vivero en cuestión las que deben decidir las proporciones y el uso de unos materiales o de otros en función de los precios actuales de mercado en un determinado momento.

Asimismo, los tratamientos en sustratos artificiales arrojaron mejores resultados en el test de regeneración radical, que fue prácticamente nula en los tratamientos que contenían tierra de monte en su composición.

En relación a la micorrización, en la primera fase del cultivo se dio sólo en las plantas crecidas en sustratos que contenían tierra de monte, mientras que en la segunda se dio en todos los sustratos, probablemente por micorrizas llamadas "de vivero". En este último caso los hongos simbiotes corren el riesgo de ser desplazados por otros hongos más agresivos que se encuentren adaptados en el lugar donde se lleve a cabo la repoblación. Si las plantas repobladas son de buena calidad nada impide que sean micorrizadas por hongos en el lugar de arraigo en el campo.

Al comparar entre los cultivos tradicional y alternativo el factor que verdaderamente estuvo afectando fue la fertilización, pasando a un segundo plano el sustrato utilizado que aportó ligeras diferencias entre mezclas con el mismo nivel de fertilización.

Los resultados obtenidos sugieren, por tanto, la utilización de sustratos compuestos a base de turbas fertilizadas en lugar de aquellos a base de tierra de monte.

4.6. Fertilizar, ¿Necesidad o lujo?

Tras analizar los resultados obtenidos en las dos fases de cultivo de la planta queda bastante clara la necesidad de aportar fertilización a la planta, ya que la disponibilidad de nutrientes presente en la tierra de monte no es suficiente para alcanzar los valores óptimos en el cultivo del Pino canario. Ésto queda aún más claro al

ver los resultados de campo que se discutirán en el capítulo siguiente, sin embargo entre las dosis ensayadas, así como entre los dos tipos de aplicación de fertilizante no se dieron grandes diferencias.

En general, no se observaron diferencias significativas, en ninguno de los parámetros estudiados, entre el menor y el mayor grado de fertilización con Osmocote (4 ó 7 gramos por litro de mezcla) debido, probablemente a que los requerimientos de esta especie se mueven por niveles umbrales dentro de los cuales no se observan diferencias notables. Por ello elegimos como óptima la menos concentración, por motivos puramente económicos, en la producción de planta en los viveros.

Con respecto a la forma de aplicación del fertilizante en este ensayo la aplicación del fertilizante de liberación lenta aportó mejores valores para los parámetros estudiados, pero podría deberse, como se explicó previamente a las condiciones particulares en las que fue suministrado el fertilizante líquido, por lo que estudios muchos más profundos de fertilización son necesarios para una buena estandarización del cultivo del pino canario.

5. CONCLUSIONES

El método de cultivo en vivero del pino canario tuvo una influencia totalmente significativa en las características morfofuncionales de las plantas, resultando las del Cultivo Alternativo de mejor calidad siendo plantas más grandes, equilibradas, mejor nutridas y con mejores respuestas en los test de respuesta aplicados.

No se dieron grandes diferencias entre contenedores, mostrando los tres empleados buenos resultados cuando se utilizaban sustratos a base de turbas, por tanto se propone el uso de contenedores de al menos 300 cm³ para este tipo de cultivo, ya que el aumento a 400 cm³ no supuso una mejora considerable en la calidad de las plantas.

No se dieron grandes diferencias entre la fertilización sólida y la líquida, ni entre las dosis aplicadas, por lo que el uso de un tipo u otro de fertilización podrá variar en función de la infraestructura del vivero, siendo más recomendable la incorporación del fertilizante al agua de riego que permite un mejor control de la fertilización en todo momento. Aún así estudios mucho más profundos serán necesarios para optimizar este parámetro.

Dentro de los parámetros morfológicos, la altura a la salida de vivero fue, la que definitivamente aportó mejores resultados a la hora de cuantificar la calidad de planta, aunque en general todas las demás medidas de morfología fueron buenas para discriminar entre tratamientos.

Entre los parámetros fisiológicos evaluados, la concentración de nitrógeno foliar fue la que mayores diferencias detectó entre tratamientos, aportando los demás

nutrientes y carbohidratos no estructurales evaluados información sobre el estado de las plantas pero sin mostrar marcadas diferencias entre tratamientos.

En relación a los test de respuesta, el test de regeneración de la raíz fue el que mejores resultados aportó, y las diferencias entre los tratamientos fueron bastante marcadas.



Capítulo III. Seguimiento en Campo

“Cuando un hombre planta árboles, bajo los cuales sabe que no se sentará, ha empezado a descubrir el sentido de la vida...”

Elthon Trueblood

1. INTRODUCCIÓN

El pinar canario es la masa forestal principal y más importante en las islas. La superficie que ocupaba esta formación en el pasado era aproximadamente de un 25 % del territorio insular, formando un cinturón continuo de pinar alrededor de las cumbres de las islas más occidentales. Esta extensión debido a los múltiples usos de la madera de pino se vio reducida a menos de un 12 % tras la conquista de las islas a finales del siglo XIX (Parsons, 1981; Peters, 2001). Como consecuencia de esta desaparición, en los últimos 50 años las autoridades han propuesto que se llevaran a cabo intensas tareas de repoblación para recuperar el antiguo cinturón de esta masa, aumentando considerablemente, hasta alcanzar hoy en día casi la superficie original que ocupaba antes de la conquista (Figura III.1).

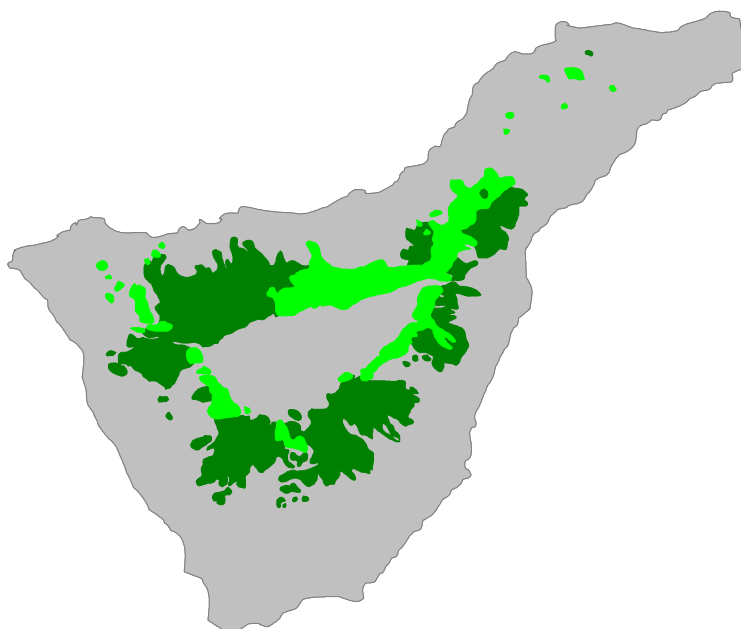


Figura III.1. Distribución de los pinares naturales (verde oscuro) y de los de repoblación principalmente con *P. canariensis* (Navascues, 2005, modificado de Del Arco *et al.*, 1992).

Como ya se mencionó en la introducción general, existen, sin embargo algunas zonas donde se han dado algunos problemas en las repoblaciones debido a que las condiciones de aridez son más pronunciadas (≤ 300 mm anuales), impidiendo así el cierre de este cinturón de pinar.

1.1. Influencia de la calidad de planta en el éxito de la repoblación

Muchas son las actuaciones destinadas a luchar contra la deforestación mediante repoblaciones forestales, lo que ha hecho que aumenten considerablemente las inversiones en investigación para producir plantas de mayor calidad que sean más resistentes a las condiciones extremas de la sequía estival

mediterránea. Uno de los parámetros más importantes para evaluar la calidad de las plantas, como se ha mencionado en el capítulo anterior, ha sido la altura a la salida de vivero siendo éste un tema de gran controversia en los últimos años en lo que se refiere a especies forestales de ámbito mediterráneo. Aunque tradicionalmente, existía la tendencia generalizada por parte de los gestores de utilizar plantas pequeñas para las repoblaciones en zonas áridas porque su equilibrio hídrico era más favorable, no se han encontrado estudios que lo demuestren en especies del género *Pinus* (Navarro *et al.*, 2006). Por el contrario hay numerosos estudios que demuestran mejores tasas de supervivencia para plántulas con mayor altura inicial (Van den Driessche, 1992; Cortina *et al.*, 1997; Olliet *et al.*, 1997; Luis *et al.*, 2004a; Villar-Salvador *et al.*, 2004).

Desde que se ha demostrado que plantas más grandes tienen mayor potencial de crecimiento radical (Villar-Salvador *et al.*, 2000) y mejor supervivencia y desarrollo en el campo (Villar-Salvador *et al.*, 2004), se ha hipotetizado que esta capacidad es esencial para alcanzar el éxito en climas mediterráneos, donde las plantas que son llevadas al campo en otoño o invierno resultarán favorecidas a la hora de la llegada de la sequía estival y a la hora de acceder a las escasas reservas de agua en el suelo. Estas diferencias pueden mantenerse durante los primeros años de plantación determinando el éxito de arraigo de las plantas. En los últimos años se han empezado a incorporar técnicas ecofisiológicas para evaluar la calidad de las plantas tanto en vivero como en campo, destacando entre ellas medidas del estado hídrico, intercambio gaseoso, fluorescencia de la clorofila y conductividad hidráulica (Vilagrosa *et al.*, 2005). A pesar de la gran cantidad de estudios que relacionan la supervivencia de las plantas con la altura inicial de las mismas, no hay ninguno en el que se establezcan relaciones entre ésta y su comportamiento fisiológico para aceptar o descartar esta hipótesis, y por supuesto no existen estudios de ninguno de los dos tipos para *Pinus canariensis*.

1.2. Objetivos

Tal y como se describió en el capítulo anterior, el cultivo tradicional de pino canario produce plantas mucho más pequeñas que el cultivo alternativo. Partiendo de la hipótesis que las plantas grandes tendrán mejor supervivencia, crecimiento y estado fisiológico que las pequeñas, los objetivos de este capítulo son:

1. Evaluar la supervivencia en campo de los dos tipos de cultivos, para comprobar si los nutrientes minerales presentes en la tierra de monte (Cultivo Tradicional) confieren a la planta una calidad similar a la aportada con los nutrientes en la fertilización (Cultivo Alternativo).

2. Relacionar la supervivencia con la morfología y fisiología de las plantas en el campo y determinar qué parámetros de vivero son más efectivos a la hora de predecirla.

3. Evaluar la respuesta fisiológica de los dos tipos de cultivo durante un periodo de sequía estival en el campo.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Diseño Experimental

En este capítulo se detallan los seguimientos de dos plantaciones, la realizada con las plantas de la primera fase de cultivo en vivero, denominada **Ensayo 2002** y la resultante del paso a campo de las plantas de la segunda fase de vivero, denominada **Ensayo 2003**. Durante el primer año de ambas plantaciones se realizó el seguimiento de la supervivencia, altura, diámetro y estado de madurez. Además en el ensayo 2002, se siguió la supervivencia y morfología durante un año más y al tercer año de plantación se estudió el estado fisiológico durante la sequía estival.

2.1.1. Zonas de Estudio

Las zonas de estudio se encuentran situadas en el municipio de Fasnía, con coordenadas 28°15'28''N-16°29'40''O y 28°15'37''-16°29'20'' para los ensayos 2002 y 2003 respectivamente, y orientación sudeste en la ladera de Fasnía-Arico sobre los 1500 m s.n.m. Se eligieron terrenos representativos de las zonas susceptibles de repoblación, tanto en lo que se refiere a altitud, como a pedregosidad, pendiente y vegetación acompañante (Climent *et al.*, 2003a), donde no se alcanzaron los porcentajes de supervivencia esperados en repoblaciones anteriores. La zona tiene un bioclima tipo Mesomediterráneo pluviestacional seco con precipitaciones medias anuales de 300 mm y temperaturas medias de 15° C y está en el dominio potencial del Pinar (Rivas-Martínez *et al.*, 1993). Los suelos de la zona son de tipo Aridisoles, caracterizados por la presencia de un horizonte superficial claro y pobre en materia orgánica y que no disponen de agua suficiente durante largos periodos. Cuando no se encuentran bajo riego, los Aridisoles se asocian con una vegetación xerófila, la mayoría de las veces escasa y que no cubre completamente la superficie del suelo. Las características químicas del suelo de la zona de estudio se detallan en la tabla III.1.

Tabla III.1. Características químicas del suelo de la zona de plantación.

CIC	10
pH	7,57
M.O %	0,64
Ca ²⁺ ppm	7,0
Mg ²⁺ ppm	5,3
Na ⁺ ppm	0,5
K ⁺ ppm	1,2
CE x 10 ³	0,46

Las plantaciones de los ensayos 2002 y 2003 se llevaron a cabo en febrero de 2002 y 2003 respectivamente, con un marco de 2x2 m mediante ahoyado manual de 30x30x40 cm, aplicándosele un riego de asiento de 20 L por hoyo antes de plantar quedando todo el ensayo plantado el mismo día en ambos casos.

2.1.2. Ensayo 2002

El diseño experimental consta de 5 repeticiones (bloques completos). En cada uno de los bloques se colocaron 6 plantas (unidad experimental de cada uno de los 12 tratamientos (Tabla II.2. Capítulo II) que fueron distribuidos al azar dentro de cada bloque, sumando un total de 360 plantas en el ensayo (ver figura III.2). Este diseño permite separar el efecto microambiental debido al bloque del efecto real del tratamiento. En este ensayo se llevaron a campo plantas de los 12 tratamientos producidos en la primera fase de vivero.

Bloque I	Bloque II		12	1	6	3	8	12
			3	11	5	11	9	1
			8	7	2	2	10	6
			10	4	9	7	4	5
Bloque III	Bloque IV		2	11	5	3	6	7
			8	1	7	1	5	10
			12	4	6	9	2	12
			10	3	9	11	4	8
Bloque V			11	1	6	12	3	5
			2	8	10	4	7	9

Figura III.2. Esquema de la disposición de las plantas en el terreno de plantación. Los números indican la disposición de cada uno de los 12 tratamientos dentro de cada bloque (con 6 plantas por unidad experimental) resultando en total de 360 plantas.

2.1.3. Ensayo 2003

El diseño experimental consta de 6 repeticiones (bloques completos). En cada uno de los bloques se colocaron 6 plantas (unidad experimental) de cada uno de los 10 tratamientos que fueron distribuidos al azar dentro de cada bloque sumando un total de 360 plantas en el ensayo (ver figura III.3). En el caso del ensayo 2003, y teniendo en cuenta las medidas realizadas en la fase de vivero y los resultados de la primera plantación, se decidió no llevar a campo todos los tratamientos, de manera que de los 14 tratamientos ensayados en la segunda fase, sólo 10 de ellos fueron llevados al campo para su seguimiento quedando fuera del ensayo los tratamientos 6, 7, 13 y 14 (Tabla II.3 Capítulo II) ya que no mostraron diferencias significativas.

Bloque I	Bloque VI	1	2	3	4	5	11	10	8	9	12	3	12
Bloque II		9	10	12	11	3	8	5	2	1	4	5	2
Bloque III		8	2	5	1	4	10	9	11	12	3	11	8
Bloque IV		10	9	8	12	11	5	4	3	2	1	4	10
Bloque V		4	1	11	3	8	2	10	5	9	12	9	1

Figura III.3. Esquema de la disposición de las plantas en el terreno de plantación. Los números indican la disposición de cada uno de los 10 tratamientos dentro de cada bloque con 6 plantas por unidad experimental resultando en total de 360 plantas.

2.2. Seguimiento de la supervivencia, morfología y fenología de las plantaciones

2.2.1. Supervivencia

La supervivencia se determinó considerando como muertas las plantas con el 100 % de las acículas secas. El **Ensayo 2002** se comenzó a evaluar a los tres meses de haber realizado la plantación realizando seguimientos en 11 ocasiones a lo largo de los dos años siguientes a la fecha de plantación (10/05/02; 29/05/02; 13/06/02; 23/08/02; 25/10/02; 3/04/03; 16/05/03; 7/07/03; 2/09/03; 14/10/03 y 25/03/04). Para el **Ensayo 2003** el recuento de las plantas se hizo en 6 ocasiones (10/04/03; 16/05/03; 7/07/03; 2/09/03; 14/10/03 y 25/03/04) durante un año.

2.2.2. Morfología

La **altura** de las plantas se midió desde el suelo hasta el meristemo apical del tallo principal, en ocho ocasiones (10/05/02; 25/10/02; 3/04/03; 16/05/03; 7/07/03; 2/09/03; 14/10/03 y 25/03/04) en el ensayo 2002 y en seis (10/04/03; 16/05/03; 7/07/03; 2/09/03; 14/10/03 y 25/03/04) en el ensayo 2003. El **diámetro** al ser un parámetro de menor variación y mayor dificultad de medición fue medido con menor frecuencia evaluándose en cuatro ocasiones (3/04/02; 7/07/03; 2/09/03 y 25/04/04) en el ensayo 2002 y en cinco ocasiones (16/05/03; 7/07/03; 2/09/03; 14/10/03 y 25/03/04) en el ensayo 2003.

2.2.3. Fenología

El seguimiento de la **fenología**, tomando como parámetros estimativos del estado de madurez de las plantas la presencia de yemas terminales maduras y de acículas secundarias, se realizó a los 14 meses de la plantación (abril 03) en el ensayo 2002. Este seguimiento se hizo tres veces (septiembre 03, octubre 03 y abril 04) en el ensayo 2003 con el fin de tener una mejor aproximación sobre el momento en el que se empieza a producir el cambio de fase.

2.3. Seguimiento fisiológico de las plantas del Ensayo 2002 durante la sequía estival

Las medidas de fisiología en la plantación se hicieron durante tres días totalmente claros a lo largo del periodo de sequía estival durante el tercer verano de plantación. Para ello se utilizaron solamente las plantas del ensayo 2002. Las plantas del ensayo 2003, en el momento de realizar las medidas, presentaban un tamaño que no permitió la realización de las mismas (algunas de las plantas no mostraban más de 5 cm de altura) siendo imposible la toma de muestras y la realización de medidas fisiológicas con los aparatos.

Para las medidas de fisiología se eligieron al azar 5 plantas de los cultivos tradicionales y otras cinco de cualquiera de los cultivos alternativos, ya que no presentaron diferencias significativas entre ellos en la respuesta de la supervivencia ni en la morfología. Para ello se tuvo en cuenta que todas se encontraran en el mismo estado de madurez, así todas presentaron yema terminal y los dos tipos de acículas. A continuación se detallan las medidas realizadas.

2.3.1. Caracterización de las plantas

Justo antes del comienzo de las medidas de fisiología se tomaron muestras foliares de acículas secundarias para realizar análisis de nitrógeno, carbohidratos no estructurales (según los protocolos detallados en el capítulo anterior apdo. 2.2.2) y pigmentos.

Para la determinación de pigmentos se siguió el método espectrofotométrico de Lichtenthaler, (1987) utilizando acetona 80% para la extracción, midiendo la concentración por espectrofotometría y aplicando las siguientes fórmulas (donde A es la absorbancia a las distintas longitudes de onda).

$$\text{Clorofila a (Chla)} = 12.25 * A_{663.2} - 2.79 * A_{646.8}.$$

$$\text{Clorofila b (Chlb)} = 21.50 * A_{646.8} - 5.10 * A_{663.2}$$

$$\text{Clorofilas totales} = 7.15 * A_{663.2} + 18.71 * A_{646.8}.$$

$$\text{Carotenoides} = (1000 * A_{470} - 1.82 \text{ Chla} - 85.02 \text{ Chlb}) / 198.$$

2.3.2. Potencial hídrico

Es la medida más frecuentemente usada para conocer el estado hídrico de las plantas y es particularmente importante a la hora de conocer los requerimientos hídricos que pueda necesitar un cultivo. El potencial hídrico (Ψ_w) se midió en acículas secundarias en la base del braquiblasto justo por encima de los canales resiníferos para que la resina no interfiriera en la medida. Para medir el potencial hídrico se utilizó

la cámara de presión siguiendo a Scholander (1965), marca PMS-Corvallis, Oregon USA.

2.3.3. Contenido hídrico relativo

Este parámetro (CHR) es un buen indicativo del estado hídrico en el que se encuentran las plantas. Se calcula mediante la relación entre el peso fresco del momento o actual (P_{fac}), el peso fresco a saturación (P_{fsat}) y el peso seco (P_s).

$$CHR (\%): ((P_{fac}-P_s)/(P_{fsat}-P_s)) \times 100$$

2.3.4. Intercambio gaseoso

La medida de las tasas de intercambio gaseoso en condiciones naturales es una forma bastante fácil y rápida de cuantificar el estado fisiológico de la planta. Ésta se realizó con un analizador de gases por infrarrojo (IRGA: **Infra Red Gas Analyser**) portátil de sistema abierto ADC (Analytical Development Co. Ltd., Hoddesdon, Herts, U.K.) que trabaja en modo pseudodiferencial (modelo LCA4). El IRGA proporciona medidas de intercambio de CO_2 y vapor de H_2O de la hoja que se encuentra dentro en la cámara que a su vez tiene sensores de temperatura y radiación fotosintéticamente activa incidente. Las medidas se determinan en base al estado del aire que entra al aparato y del aire que pasa a través de la muestra que se encuentra en la cámara. Así, el IRGA es capaz de medir simultáneamente el CO_2 y el H_2O , gracias a un sistema óptico dual que se basa en las propiedades de absorción de los dos gases en la región del infrarrojo. Para hacer el cero de las concentraciones de CO_2 y de H_2O el aparato dispone de unas columnas adosadas que contienen productos químicos como drierita, que absorbe el agua (un producto con las mismas propiedades que la más conocida sílica gel), y soda lima, que absorbe el dióxido de carbono. Por medio de una serie de ecuaciones, basadas en los estudios de von Caemmerer y Farquhar (1981) y descritas con detalle en el anexo I, el IRGA es capaz de cuantificar las medidas dándonos la absorción neta de CO_2 o fotosíntesis (A), la transpiración (E) y la conductancia estomática (g_s). Las medidas se realizaron en acículas secundarias, en las que debido a la gran longitud de las mismas, la cámara utilizada no fue la especial para coníferas, sino una de 6,25 centímetros cuadrados de área de exposición, diseñada para especies de hoja ancha. Así, para realizar el cálculo de los diversos parámetros, se introdujo en el aparato un área promedio para 10 acículas de la especie *Pinus canariensis* (3,25 cm²) calculada mediante un estudio previo (Peters, 2001). Los cálculos, las correcciones, las conversiones y las compensaciones empleadas por el aparato se describen con detalle en el Anexo I.

2.3.5. Fluorescencia de la clorofila

En el aparato fotosintético la fotoquímica, la fluorescencia y disipación de calor son tres procesos que compiten entre sí. Cualquier aumento en la eficiencia de uno de ellos resultará en un descenso de los otros dos. Por tanto, midiendo la fluorescencia de la clorofila se puede obtener información acerca de la eficiencia de la fotoquímica y de la disipación de calor.

La fluorescencia constituye únicamente entre el 0,5 y el 5 % del total de luz absorbida por la clorofila (Bolhàr-Nordenkampf y Öquist, 1993), y su medida es, en principio, bastante fácil. El espectro de fluorescencia difiere del de la luz absorbida, con el pico de emisión desplazado hacia una longitud de onda mayor que la del pico de absorción; basta, pues, con exponer una hoja a luz de longitud de onda definida y medir la cantidad de luz reemitida a longitudes de onda mayores.

Al igual que en los apartados anteriores, las determinaciones se realizaron en acículas secundarias. Dentro de este apartado tenemos que distinguir entre dos tipos de medidas:

a) La relación F_v/F_m se determinó en hojas adaptadas a oscuridad empleando el fluorímetro **Handy-PEA** (Plant Efficiency Analyser; Hansatech, U.K). La hoja se adapta a oscuridad cubriéndola con un clip durante 30 minutos lo que asegura una completa adaptación. La fuente luminosa emite luz roja de una longitud de onda máxima de 650 nm, la cual es rápidamente absorbida por los cloroplastos de la hoja. La señal de fluorescencia recibida por el sensor durante una medida es digitalizada en la caja control. Una vez finalizada la medida, los parámetros, fluorescencia inicial (F_0), fluorescencia máxima (F_m), variable (F_v) y relación entre la fluorescencia variable y la máxima (F_v/F_m) son automáticamente calculados.

$$F_v/F_m: (F_m - F_0)/F_m$$

La relación F_v/F_m proporciona una medida de la eficiencia intrínseca (o máxima) del PSII. Esta relación se utiliza como un indicador sensible del funcionamiento fotosintético,

correlacionándose positivamente con el rendimiento cuántico de la fotosíntesis neta en hojas intactas, y mostrando valores óptimos en torno a 0,83 para la mayoría de las especies vegetales (Björkman y Demmig, 1987). Se observan valores inferiores cuando las plantas han sido sometidas a estrés y, particularmente, cuando ha habido fotoinhibición. Al final de la jornada de



medida, las hojas fueron llevadas al laboratorio, para, determinar la F_v/F_m , de recuperación tras 24 h en oscuridad y a saturación acuosa.

b) Las medidas tomadas bajo las condiciones ambientales del momento se realizaron con un fluorímetro de luz modulada **Mini-PAM** (Pulse Amplitude Modulation; Walz, Effeltrich, Germany). Se registró la fluorescencia en condiciones de luz (F'), la fluorescencia máxima en condiciones de luz (F'_m), el rendimiento cuántico del fotosistema dos (Φ_{PSII}), "quenching" fotoquímico (qP) que proporciona información acerca del número de centros de reacción que se encuentran abiertos, "quenching" no fotoquímico (NPQ) que está relacionado con la disipación de calor, la tasa de transporte electrónico (ETR), y el exceso relativo de PPFD (rePPFD). Al final de la jornada de medida las hojas se llevaron al laboratorio, para siguiendo a Fleck *et al.*, (1998), determinar F_0 , F_m y F_v/F_m . De acuerdo con Demmig-Adams y Adams III (1996), las lecturas de F' , F'_m , F_0 y F_m , se corrigieron en función de los cambios en la salida del haz de medida inducidos por cambios de la temperatura interna del MINI-PAM refiriéndolas todas a 25°C. Con los valores corregidos se recalculó el Φ_{PSII} , qP, NPQ y ETR.

Para el cálculo de Φ_{PSII} se utilizó la expresión, de Genty *et al.*, (1989),

$$\Phi_{PSII} = (F'_m - F')/F'_m$$

El coeficiente de "quenching" fotoquímico (qP) se calculó según van Kooten y Snel (1990)

$$qP = (F'_m - F')/(F'_m - F'_0)$$

siendo F'_0 la fluorescencia mínima del estado adaptado a luz. F'_0 se estimó a partir de F_0 , F_m y F'_m aplicando la siguiente ecuación (Oxborough y Baker, 1997)

$$F'_0 = F_0/(F_v/F_m + F_0/F'_m)$$

Para el cálculo de NPQ se siguió a Demmig-Adams (1990), aplicando la expresión

$$NPQ = (F_m - F'_m)/F'_m$$

El rePPFD se determinó según Bilger *et al.* (1995), como



$$\text{rePPFD} = (F_v/F_m - \Phi_{\text{PSII}})/(F_v/F_m)$$

Por último, ETR se estimó a partir de Φ_{PSII} aplicando la expresión de White y Critchley (1999),

$$\text{ETR} = \Phi_{\text{PSII}} * \text{PPFD} * 0,5 * 0,84$$

donde el factor 0.5 da cuenta del requerimiento de 2 cuantos de luz por electrón transportado, y 0,84 es la fracción de PPFD incidente absorbida por la hoja.

2.3.6. Levantamiento de las plantas

Una vez finalizados los seguimientos fisiológicos se procedió al levantamiento de las diez plantas utilizadas para medir fisiología y así poder hacer un balance total de biomasa.

2.4. Análisis estadísticos

La elevada supervivencia registrada en algunos tratamientos, hizo que los tests habituales (análisis de la varianza) no se pudieran emplear ya que la distribución de los datos estuvo muy alejada de la normalidad, y no se consiguió evitar ni siquiera con las transformaciones habituales de la variable. Por ello, se emplearon métodos alternativos tales como tests no paramétricos de Kruskal-Wallis.

Las variables morfológicas se analizaron utilizando test ANOVA de una vía para los distintos componentes de los cultivos (Tratamientos, Contenedores, Mezclas y Fertilización). La supervivencia media por unidad experimental se utilizó para establecer un modelo de regresión no lineal entre la supervivencia y la altura inicial de las plantas. Los datos fueron transformados cuando fue necesario para cumplir las condiciones de normalidad, linealidad y homocedasticidad.

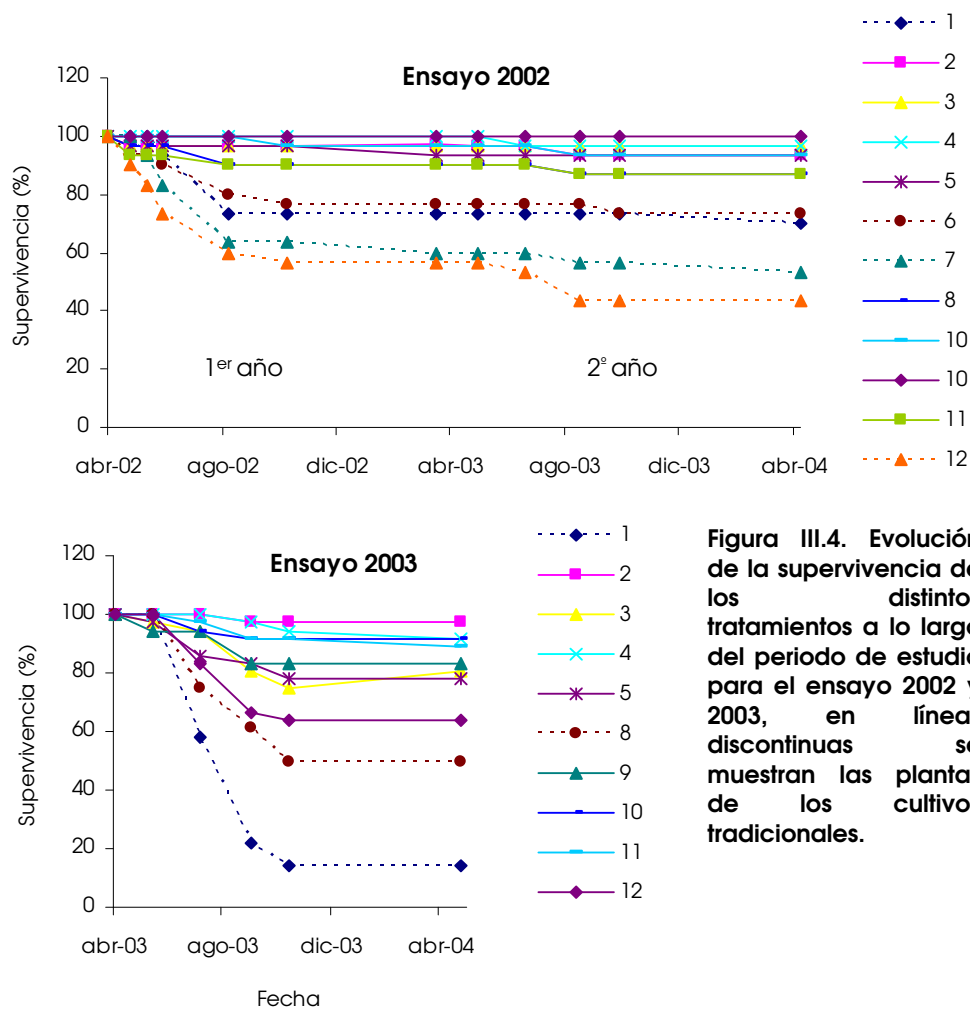
Se establecieron modelos de regresión simple y múltiple entre las variables medidas en vivero y la supervivencia de las plantas en el campo.

Los parámetros de fisiología en campo se analizaron mediante análisis de la varianza multifactorial, tomando como factores la fecha y el tratamiento. En los casos donde se dieron diferencias significativas, se aplicaron contrastes a posteriori para la fecha tipo Tukey-b con nivel de significación de $\alpha = 0,05$. Todos los análisis se llevaron a cabo utilizando los paquetes SPSS 12.0, y Statgraphics Plus 5.

3. RESULTADOS

3.1 Supervivencia

La supervivencia en general de ambas plantaciones fue disminuyendo a lo largo del periodo de estudio, produciéndose el mayor descenso durante los primeros meses de verano y siendo éste más acusado en el ensayo 2003 debido a las condiciones climáticas más adversas durante ese año donde hubo menor precipitación en la primavera (datos no mostrados).



Aun así la supervivencia media de las plantaciones al final del primer año fue aceptable, 86 % en el ensayo 2002 y 74 % en el 2003, disminuyendo sólo en un 3 % durante el segundo año para el ensayo 2002 (83 %).

No se detectaron diferencias ni entre bloques ni entre unidades experimentales confirmando así que el microclima no tuvo efecto significativo en la supervivencia de las plantas, debiéndose las diferencias encontradas a la composición de los tratamientos.

En relación a los tratamientos, la supervivencia media por tratamiento, mostró diferencias significativas entre tratamientos (Tabla III.2) agrupándose por un lado el cultivo tradicional (1, 6, 7 y 12 en el ensayo 2002 y 1 y 8 para el ensayo 2003) con supervivencias más bajas que el cultivo alternativo (resto). Dentro del cultivo tradicional en el ensayo 2003, las plantas sembradas en el contenedor de menor volumen (tratamiento 1) mostraron tasas de supervivencias menores que las sembradas en el contenedor de 400 cm³ (tratamiento 8), sólo en este caso concreto el contenedor tuvo un efecto significativo en la supervivencia, ya que dentro de los tratamientos del cultivo alternativo no se dieron diferencias entre contenedores.

La supervivencia media final tras el primer año para las plantas del cultivo tradicional fue de un 67 % en el primer ensayo y de un 32 % para el segundo, frente al 95 % y al 84 % alcanzado por las plantas de los cultivos alternativos en los ensayos 2002 y 2003, respectivamente. Transcurrido el segundo año en el ensayo 2002 la supervivencia del cultivo tradicional disminuyó al 60 % y la del alternativo al 93 %, siendo el descenso de la supervivencia muy pequeño comparado con el del primer año (Figura III.4)

Ensayo 2002	χ^2	gl	p
Tratamiento	38,07	11	***
Sustrato	33,51	3	***
Fertilización	33,68	2	***
Contenedor	1,14	1	ns
Ensayo 2003			
Tratamiento	33,44	9	***
Sustrato	25,30	2	***
Fertilización	26,51	2	***
Contenedor	0,001	1	ns (!)

Tabla III.2 Resultados de los tests Kruskal-Wallis aplicados a los datos de supervivencia para los distintos tratamientos, sustratos, fertilización y contenedores en los ensayos 2002 y 2003, * ($p \leq 0,001$), ** ($p \leq 0,01$), * ($p \leq 0,05$), ns ($p > 0,05$). (!) Fue significativo ($p = 0,014$) al comparar entre los tratamientos 1 y 8).**

El diseño experimental no pretendía separar el efecto del sustrato del de la fertilización, sino comparar los métodos de cultivo tradicionales con los que se han ido imponiendo en otras especies (cultivo alternativo). Por ello para poder analizar más en profundidad sus efectos se han agrupado los lotes de plantas en función de los distintos parámetros de partida (tratamientos, sustratos, contenedores y fertilización) como se puede ver en las figuras III.5 y III.6.

En relación al efecto del sustrato la adición de turba a la mezcla de tierra no aumenta la supervivencia en ninguno de los casos. Tampoco se observan diferencias en la supervivencia entre las mezclas con vermiculita o picón, así como entre vermiculita y perlita.

La fertilización tuvo un efecto significativo en la supervivencia (Tabla III.2), suponiendo la adición de fertilizante un aumento de alrededor de un 30 % en la supervivencia final respecto de los que no se añadió fertilizante para el ensayo 2002 y de un 50 % para el ensayo 2003. La adición de la dosis más alta de fertilizante (7 g/l en lugar de 4 g/l) no se tradujo en un aumento de la supervivencia para el ensayo 2002 así como tampoco redundó en un aumento de la supervivencia, la adición periódica de fertilizante líquido frente a la aplicación del fertilizante de liberación lenta en el ensayo 2003.

Entre contenedores, aunque parece darse una cierta variación entre ellos, principalmente en el ensayo 2002, no se encontraron diferencias significativas. La tendencia observada en las plantas no fertilizadas (donde parece que la supervivencia es mayor en SL que en AT) es debida a que las plantas de los cultivos tradicionales, con sustratos de tierra de monte en su composición, resultaron más difíciles de extraer en el contenedor AT, ya que el SL al ser de manejo individual se podía manipular mejor, así el descenso de la supervivencia para este grupo de plantas podría deberse a que se hubieran producidos daños en el sistema radical en el momento de la extracción de las plantas del contenedor (ensayo 2002). Para el segundo ensayo parece existir una tendencia a mostrar una supervivencia un poco mayor las plantas en el contenedor de mayor volumen (400 cc) aunque no mostraron diferencias significativas.

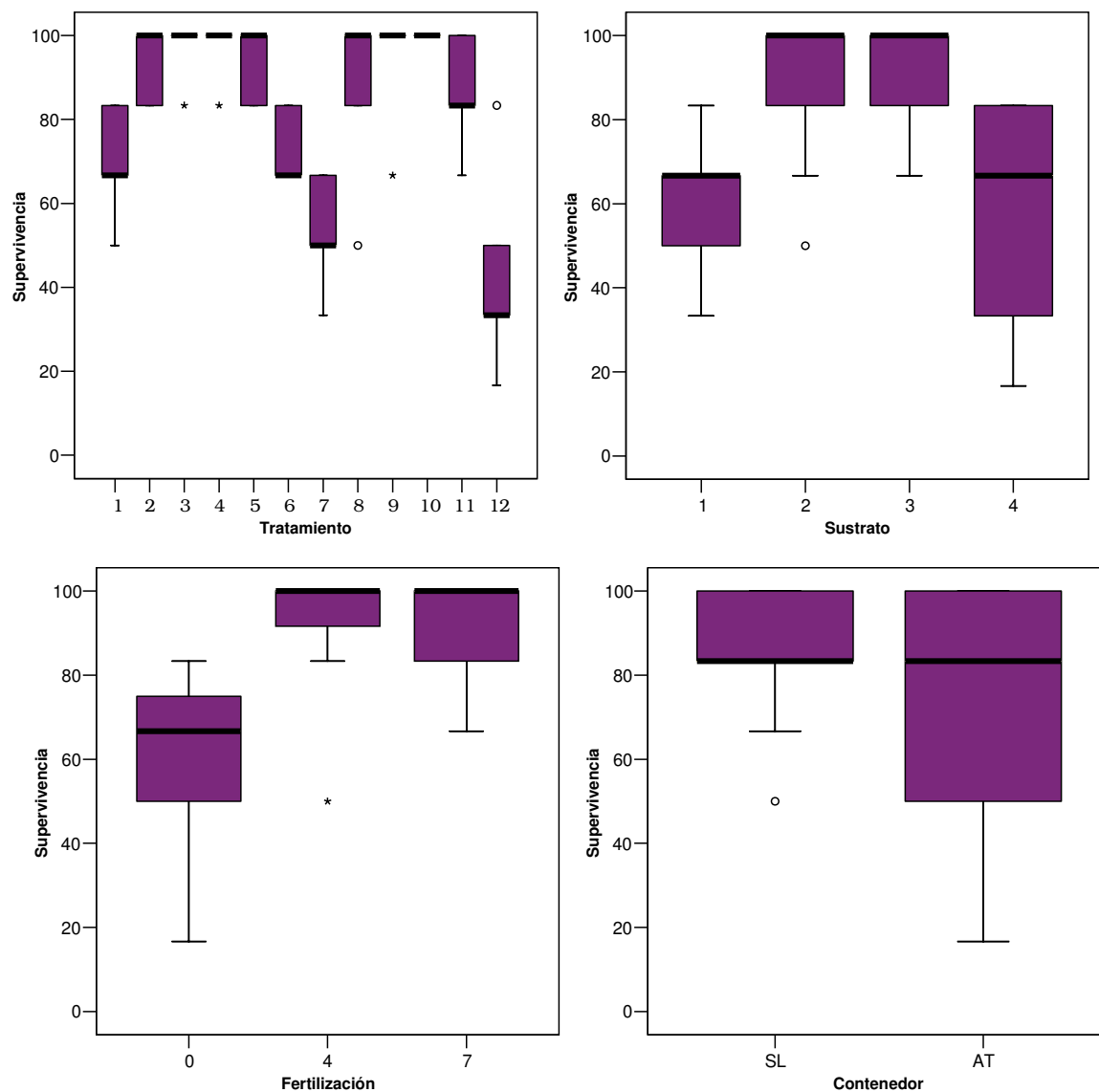


Figura III. 5. Supervivencia media por unidad experimental de las planta del ensayo 2002 al final del periodo de estudio para los distintos tratamientos (1-12); sustratos: 1 (2/3 Tierra+1/3 picón), 2 (2/3 turba + 1/3 vermiculita), 3 (2/3 turba+ 1/3 picón), 4 (1/3 tierra+1/3 turba+1/3 picón); niveles de fertilización (0, 4 y 7 g l⁻¹) y contenedores (SL y AT). Cada caja muestra la mediana, los cuartiles y los valores extremos de una categoría. Los símbolos fuera de las cajas muestran los valores singulares (*outliers*)

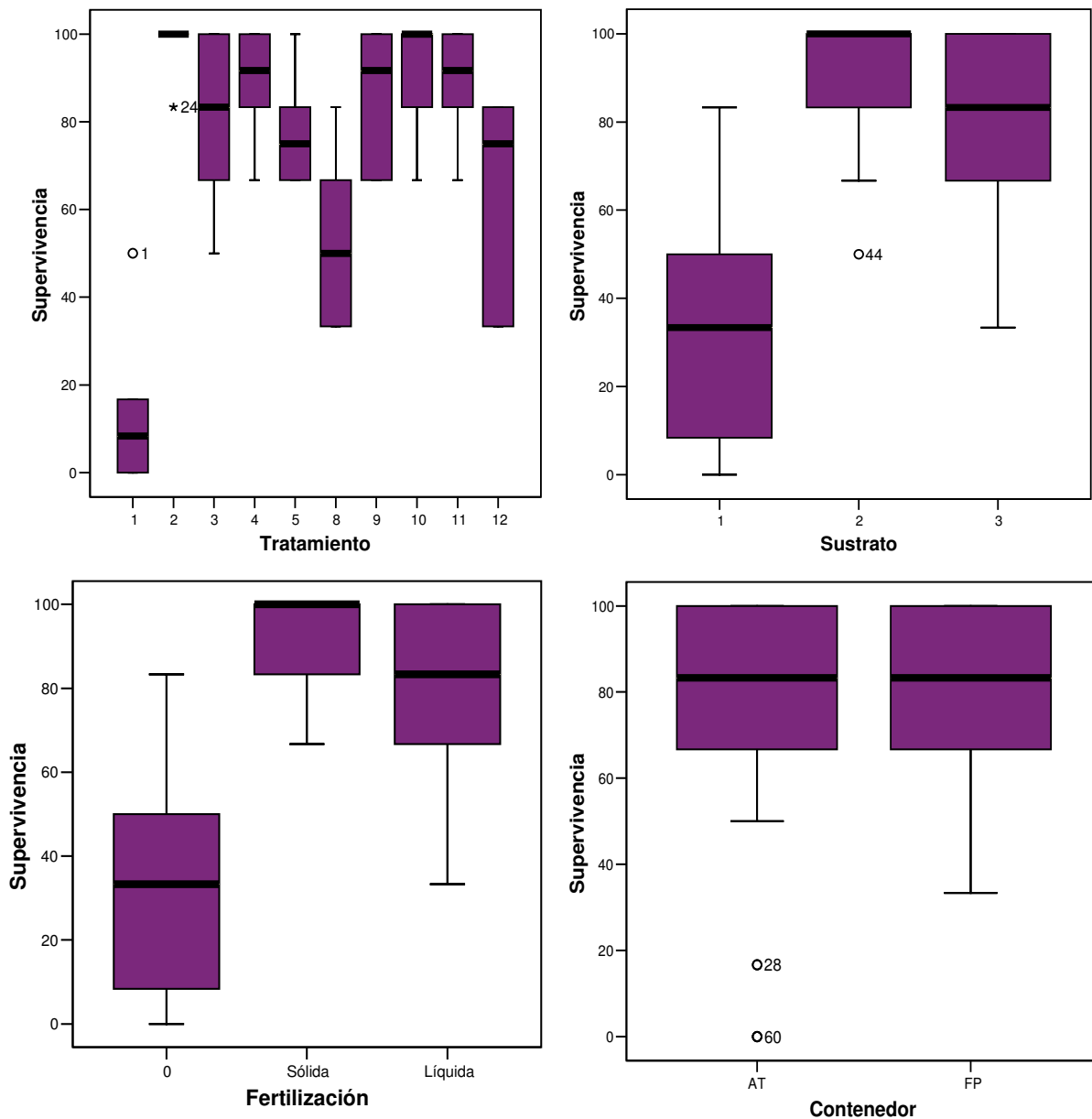


Figura III. 6. Supervivencia media por unidad experimental de las plantas del ensayo 2003 al final del periodo de estudio para los distintos tratamientos, sustratos: 1(1/3 tierra+1/3 turba +1/3 perlita), 2 (3/4 de turba +1/4 perlita), 3 (2/3 de turba +1/3 perlita); tipos de fertilización y contenedores. Cada caja muestra la mediana, los cuartiles y los valores extremos de una categoría. Los símbolos fuera de las cajas muestran los valores singulares (*outliers*)

3.2. Relación de los parámetros de vivero con la supervivencia en campo

Todos los parámetros medidos en vivero estuvieron relacionados en mayor o menor medida con la respuesta en campo de las plantas (Figura III.7). Se establecieron modelos de regresión simple para cada una de las variables por separado (Tabla III.3).

Los parámetros morfológicos en su conjunto lograron explicar un 75 % de la variación encontrada en los datos de supervivencia de las plantaciones tras el primer verano, contribuyendo la variable altura con un 50 %, siendo así el parámetro más relacionado con la supervivencia junto con la relación Psa/Psr, que mostró el mismo coeficiente de correlación.

Dentro de los nutrientes, el que mejor correlacionado estuvo fue la concentración de nitrógeno foliar, mostrando un R^2 de 0,34. En conjunto los nutrientes por si solos explicaron un 42 % de la variación encontrada en los datos. Para la concentración foliar de carbohidratos solubles se obtuvo un R^2 de 0,22, mientras que la relación encontrada de la concentración radical de estos azúcares con la supervivencia fue mucho menor.

Respecto a los resultados del test de regeneración de la raíz, el número de raíces nuevas producidas contribuyó a explicar el 39 % de la variabilidad encontrada, siendo por tanto un parámetro importante a tener en cuenta.

Considerando la variable de cada grupo que más contribuyó a la explicación de los datos (Altura, concentración de nitrógeno foliar, concentración foliar de carbohidratos y número de raíces nuevas producidas en el test de regeneración de la raíz) se probaron distintos modelos de regresión con el fin de determinar que variables estudiadas contribuyen en mayor medida a la supervivencia en campo. El modelo obtenido (1) incorporó como mejores variables la altura y la concentración foliar de nitrógeno, explicando el modelo el 60 % de la variación encontrada con una significación de 0,0001.

$$(1) \text{ Supervivencia: } 35,5 + 1,86 \times \text{Altura} + 10,44 \times \text{Nfoliar}$$

La incorporación de más variables al modelo no aumentó significativamente el R^2 . Los parámetros que estuvieron menos correlacionados con la supervivencia de las plantas fueron la concentración de fósforo, tanto foliar como radical, siendo la concentración de fósforo foliar el único parámetro que mostró una correlación negativa. La concentración de fósforo foliar y de carbohidratos de raíz también mostraron bajas correlaciones.

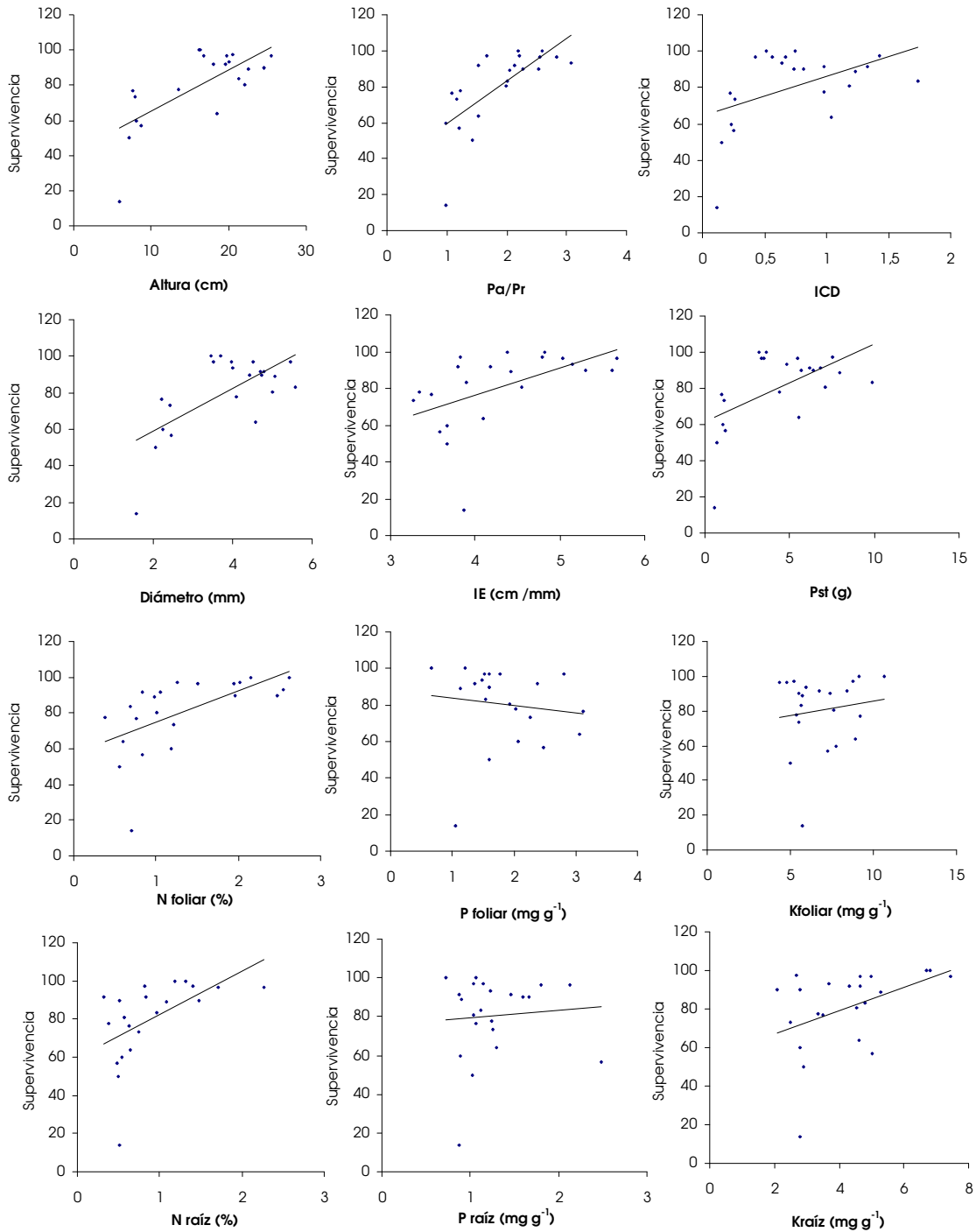


Figura III.7. Regresiones simples entre la supervivencia al final del primer año (para los ensayos 2002 y 2003) y los parámetros medidos en vivero (primera y segunda fase). Altura, Relación biomasa aérea-raíz (Psa/Psr), Índice de calidad de Dickson (ICD), Diámetro, Índice de Esbeltez (IE), Peso seco total (Pst), Concentración nitrógeno foliar (Nfoliar), Concentración fósforo foliar (Pfoliar), Concentración potasio foliar (Kfoliar), Concentración nitrógeno radical (Nraíz), Concentración de fósforo radical (Praíz), Concentración potasio radical (K raíz).

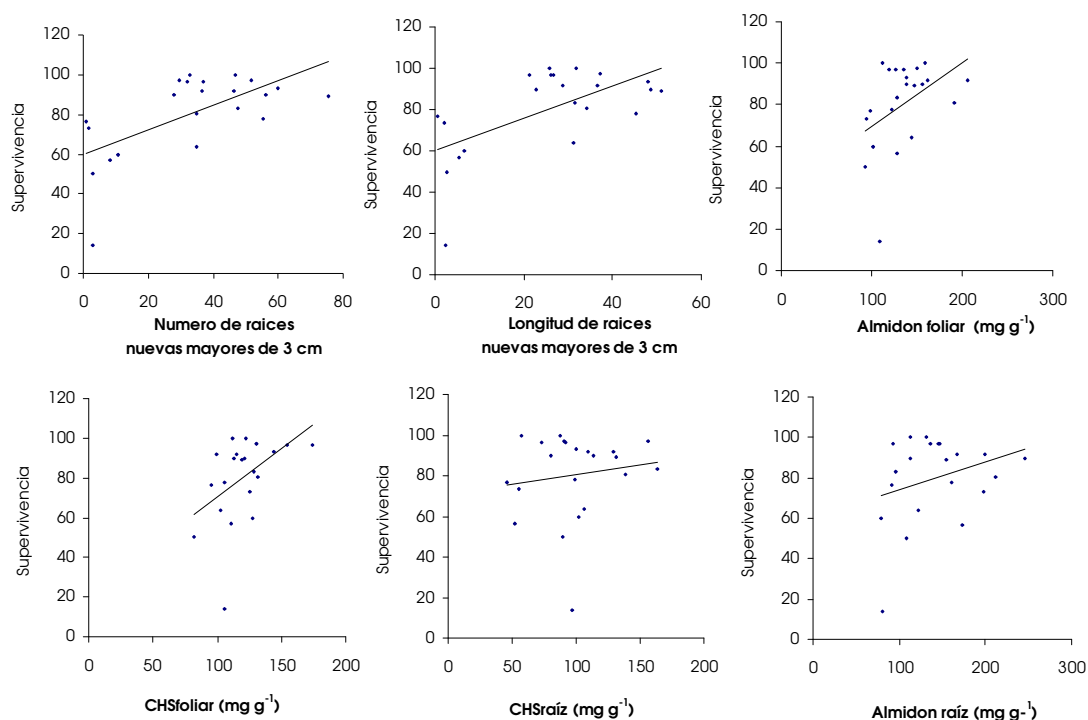


Figura III.7. (continuación) Regresiones simples entre la supervivencia al final del primer año (para los ensayos 2002 y 2003) y las variables medidas en vivero (primera y segunda fase). Número de raíces nuevas mayores de 3 cm, Longitud de raíces nuevas mayores de 3 cm, Concentración de almidón foliar, Concentración foliar de carbohidratos solubles (CHS foliar), Concentración radical de carbohidratos solubles (CHS raíz), Concentración de almidón raíz.

Variable	Modelo	SC	gl	F	CC	R ²	p
Altura	S= 41,44+2,34* H	4656,32	1	20,44	0,71	0,50	0,0002
Diámetro	S= 35,48+11,69* D	4090,49	1	15,97	0,66	0,44	0,0007
ICD	S= 64,48+21,56* ICD	2044,14	1	5,70	0,47	0,22	0,0269
IE	S= 17,35+14,69* IE	2442,65	1	7,22	0,51	0,26	0,0142
Psa/Psr	S= 36,07+23,65* Psa/Psr	4680,96	1	20,66	0,71	0,50	0,0002
Pst	S= 61,39+2,34* Pst	2842,41	1	8,92	0,55	0,30	0,0073
N foliar	S= 57,21+17,43* N foliar	3129,51	1	10,44	0,58	0,34	0,0042
N radical	S= 59,29+22,79* N radical	2629,78	1	7,80	0,53	0,29	0,0116
P foliar	S= 87,48+3,85* P foliar	130,13	1	0,29	-0,11	0,00	0,5980
P radical	S= 75,46+3,91* P radical	61,032	1	0,13	0,08	0,01	0,7188
K foliar	S= 69,19+1,63* K foliar	173,86	1	0,38	0,13	0,01	0,5421
K radical	S= 54,97+6,03* K radical	1668,08	1	4,42	0,42	0,18	0,0483
CHS foliar	S= 22,05+0,48* CHS foliar	2031,67	1	5,66	0,46	0,22	0,0274
CHS radical	S= 71,49+0,09* CHS radical	175,666	1	0,39	0,13	0,01	0,5400
Al foliar	S= 39,21+0,3* Al foliar	1705,17	1	4,54	0,43	0,18	0,0457
Al radical	S= 60,34+0,13* Al radical	808,21	1	1,87	0,29	0,08	0,1879
Npr	S= 59,81+0,62* Npr	3671,27	1	13,25	0,63	0,39	0,0016
Lpr	S= 60,14+0,78* Lpr	3451,34	1	11,98	0,61	0,37	0,0025

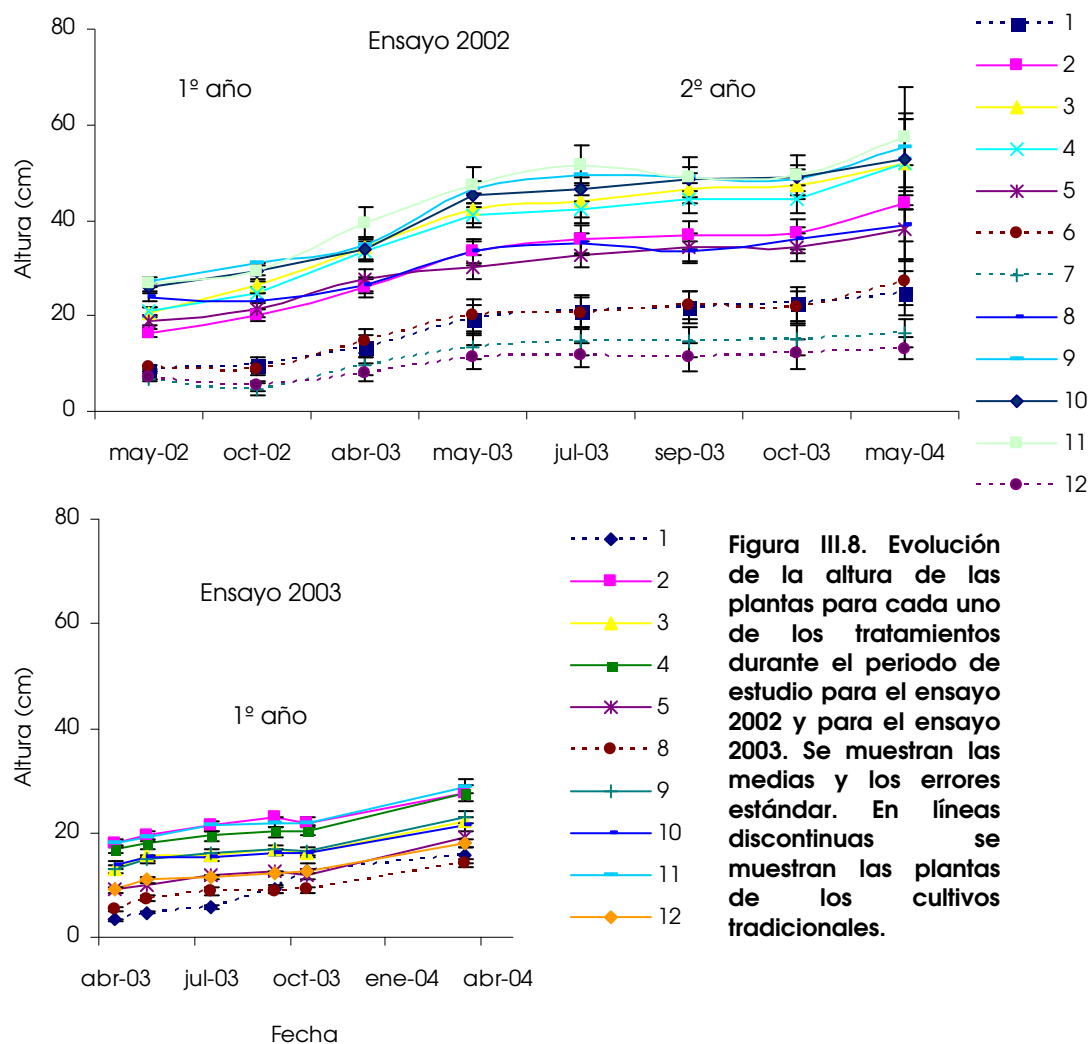
Tabla III.3. Modelos de regresión simple entre las variables medidas en vivero (medias por tratamiento de la primera y segunda fase) y la supervivencia de las plantas tras el primer año (medias por tratamiento para el ensayo 2002 y 2003), (n: 22). Se muestra el modelo de regresión, la suma de cuadrados (SC) grados de libertad (gl), el estadístico utilizado en el test (F), coeficiente de correlación entre las variables (CC), grado de ajuste del modelo (R²) y la significación (p). Resaltado en negrita los modelos estadísticamente significativos (abreviaturas según Figura III.7).

3.3. Seguimiento morfológico de las plantaciones

3.3.1. Altura

La altura de las plantas se incrementó a lo largo del periodo siguiendo la misma tendencia que la observada para la supervivencia donde las plantas del cultivo alternativo presentaron valores más altos que las que incorporaron tierra de monte (cultivo tradicional).

Las plantas que alcanzaron mayores alturas, en el ensayo 2002, fueron las de los cultivos alternativos, con valores entre 39 y 57 cm y con una media de 48 ($\pm 2,6$ cm) (Figura III.8) frente a los tradicionales que estuvieron entre 13 y 27 cm con una media de 20 ($\pm 2,6$ cm). No se dieron diferencias significativas dentro de los cultivos alternativos o tradicionales por lo que unificando los tratamientos se ve más clara la evolución de la altura de las plantas para los dos cultivos (Figura III.9). En el ensayo 2003 la tendencia encontrada fue la misma, las plantas de los cultivos tradicionales mostraron valores más bajos (28-18 cm) que los alternativos (14-15 cm)



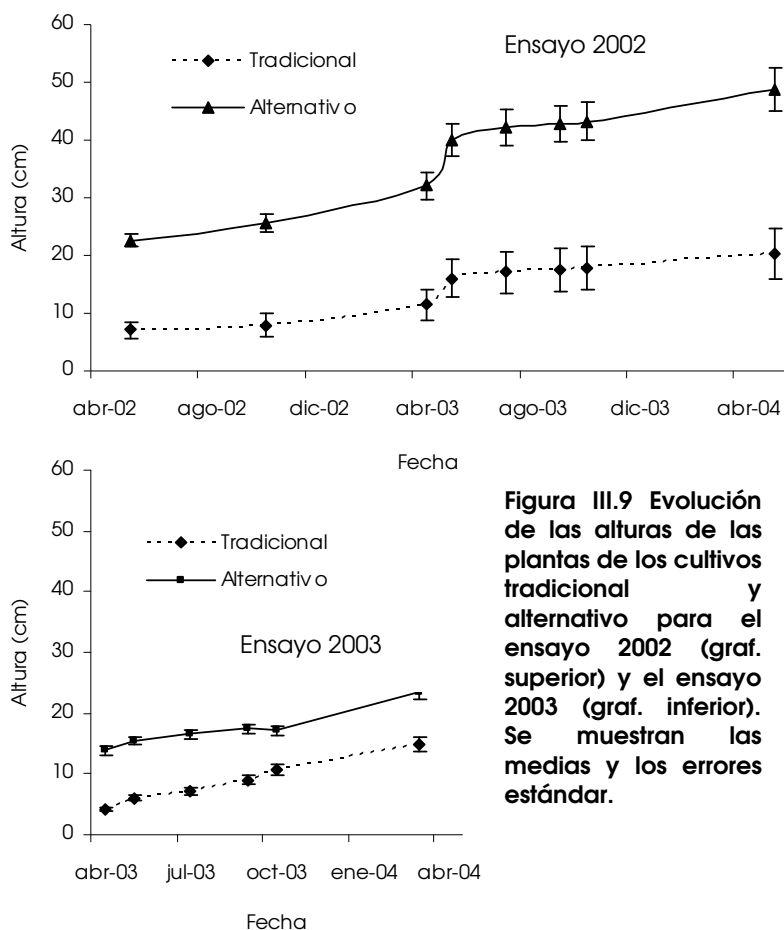


Figura III.9 Evolución de las alturas de las plantas de los cultivos tradicional y alternativo para el ensayo 2002 (graf. superior) y el ensayo 2003 (graf. inferior). Se muestran las medias y los errores estándar.

El efecto de los distintos elementos de partida en la altura (tratamiento, sustrato, fertilización y contenedor) se observa en la tabla III.4. En el ensayo 2002 cada elemento tuvo un efecto significativo en la altura de las plantas, mientras que en el ensayo 2003 no se observaron diferencias entre fertilización ni entre contenedores. Al comparar las dos plantaciones, vemos que las plantas del ensayo 2002 alcanzaron alturas superiores que las del ensayo 2003 y esto se debe, por un lado a la diferente altura de partida de las plantas de ambas plantaciones y por otro a las diferencias climáticas entre los dos años, ya que si comparamos las tasas de crecimiento durante los dos años de seguimiento esta fue mayor en el primer año que en el segundo.

Altura	gl	F	p
Ensayo 2002			
Tratamiento	11	8,61	***
Sustrato	3	24,61	***
Fertilización	2	26,90	***
Contenedor	1	5,10	**
Ensayo 2003			
Tratamiento	9	10,35	***
Sustrato	3	16,84	***
Fertilización	2	0,72	ns
Contenedor	1	3,46	ns

Tabla III.4 Resultados de los tests ANOVA aplicados a los datos de altura final de las plantas de los dos ensayos con tratamiento, sustrato, contenedor y fertilización como factores. * (p≤0,001), ** (p≤0,01), * (p≤0,05), ns (p> 0,05).**

3.3.2. La altura como carácter predictivo de la supervivencia

Se estableció un modelo de predicción para la muerte o supervivencia de las plantas en función de los distintos parámetros, con la posibilidad de incorporar cada variable paso a paso. Es decir, se comienza por incluir la variable que más variación explica, y las siguientes variables sólo se incorporan si aportan un aumento significativo de la variación explicada por el modelo. La variable que mejor resultó fue la **altura**. La supervivencia por unidad experimental tras el primer verano en ambas plantaciones se correlacionó positivamente con la altura inicial de las plantas en el campo (Figura III.10). Mediante un modelo de regresión no lineal la altura inicial de las plantas consiguió explicar el 70 % de la variación encontrada en la supervivencia media por unidad experimental tras el primer año en el ensayo 2002 y un 68 % en el ensayo 2003, mostrando en ambos casos un buen ajuste del modelo.

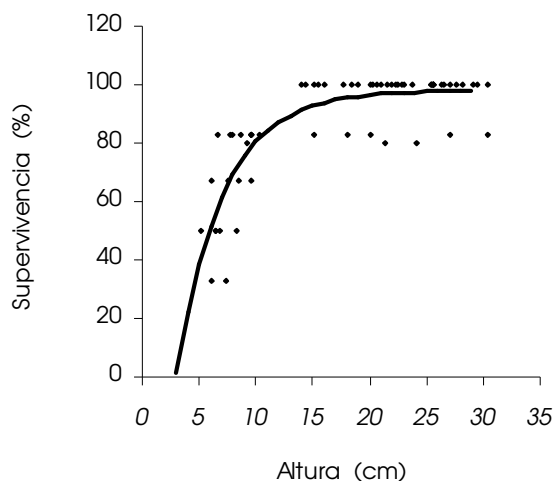


Figura III.10.
Regresión no lineal entre la supervivencia media y altura inicial en campo (Ensayo 2002).

Las ecuaciones para los modelos fueron:

- | | |
|-----------------|--|
| (1) Ensayo 2002 | Supervivencia: $0,98 - 2,01 * 0,784^{\text{Altura}}$ |
| (2) Ensayo 2003 | Supervivencia: $0,98 - 1,86 * 0,83^{\text{Altura}}$ |

Así podríamos considerar la altura como una buena variable predictiva de la supervivencia en las condiciones de estos ensayos. Por ejemplo utilizando el modelo, una planta de 5 cm tendrá una supervivencia de un 38 % mientras que si la altura de la planta aumenta 10 cm, alcanzando una altura de 15 cm, cabe esperar que la supervivencia tras el primer verano aumente hasta un 93 %. Teniendo en cuenta que la primera parte de la curva es casi lineal, la supervivencia de las plantas se incrementaría en un 10 % por cada cm de más que tuviera la planta en el momento

de la plantación (entre los primeros 5 y 10 cms), así plantas de menos de 3,5 cm mostrarán una supervivencia nula en las condiciones de este estudio.

3.3.3. Diámetro

El diámetro de las plantas mostró diferencias significativas entre tipos de cultivo (Tradicional y Alternativo) aunque no dentro de los distintos tratamientos de cada tipo. (Tabla III.5). En el ensayo 2002 tanto la fertilización como el contenedor tuvieron influencia en el diámetro de las plantas, mientras que en el ensayo 2003 ninguno de estos dos factores modificó el diámetro de las plantas. En ambos casos las plantas del cultivo alternativo mostraron valores superiores, alcanzando 123 mm las alternativas frente a 48 mm las tradicionales en el ensayo 2002 y 50 mm frente a 31 respectivamente en el ensayo 2003. En el ensayo 2002 las diferencias de vivero no sólo se mantuvieron sino que se acentuaron a lo largo del periodo de estudio, la misma tendencia fue observada el ensayo 2003 aunque en menor medida, siendo en ambos casos mayor la tasa de crecimiento para las plantas del cultivo alternativo (Figura III.11).

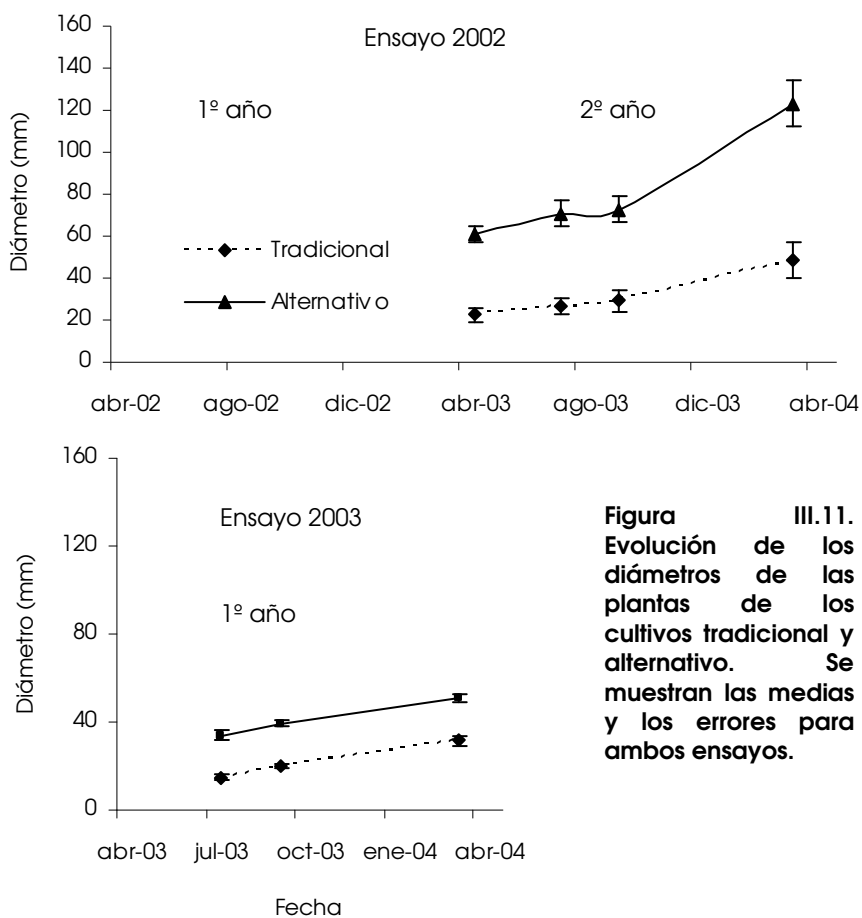


Figura III.11. Evolución de los diámetros de las plantas de los cultivos tradicional y alternativo. Se muestran las medias y los errores para ambos ensayos.

Diámetro	gl	F	p
Ensayo 2002			
Tratamiento	11	6,94	***
Sustrato	3	20,47	***
Fertilización	2	20,60	***
Contenedor	1	13,07	***
Ensayo 2003			
Tratamiento	9	15,58	***
Sustrato	3	25,07	***
Fertilización	2	0,89	ns
Contenedor	1	0,16	ns

Tabla III.5 Resultados de los tests ANOVA aplicados a los datos de diámetro final de las plantas de los dos ensayos con tratamiento, sustrato contenedor y fertilización como factores. *** ($p \leq 0,001$), ** ($p \leq 0,01$), * ($p \leq 0,05$), ns ($p > 0,05$).

3.4. Estado fenológico

Las plantas del cultivo alternativo alcanzaron antes el estado de madurez, determinado por la presencia de yemas terminales maduras y de acículas secundarias. Tras 14 meses de plantación sólo un 0,8 % (Ensayo 2002) y un 1,38 % (Ensayo 2003) de las plantas del cultivo tradicional mostraron presencia de acículas secundarias con respecto a las plantas del cultivo alternativo (Figura III.12) donde la media de plantas que las presentaron fueron 21,3 % (Ensayo 2002) y 11,8 % (Ensayo 2003). Con respecto a la presencia de yema terminal madura en el ensayo 2002, un 1,7 % de las plantas del cultivo tradicional la presentaron a los 14 meses frente a un 41,3 % de las del cultivo alternativo. Transcurrido el mismo tiempo en la segunda plantación ninguna planta las había formado aún.

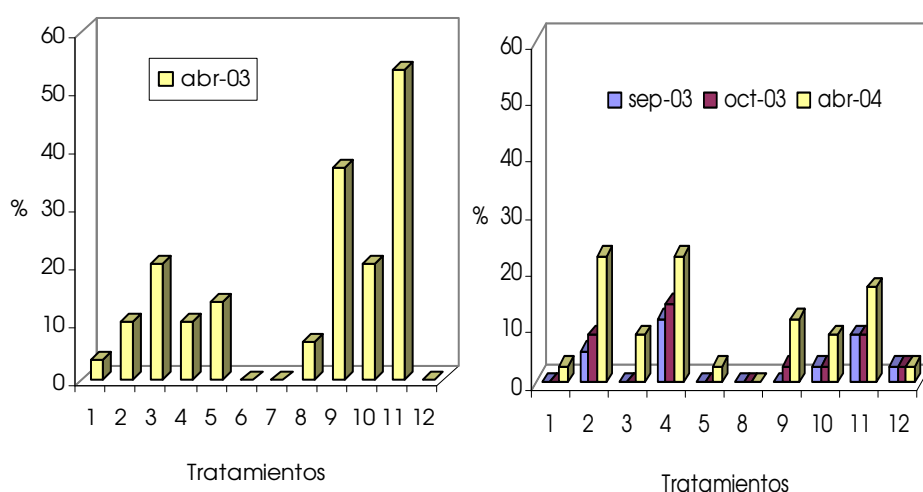


Figura III.12. Porcentaje de plantas de cada tratamiento con acículas secundarias tras 14 meses de la plantación en el ensayo 2002 (gráfica izada.) y en tres fechas en el ensayo 2003 (dcha.).

La diferencia encontrada entre ambas plantaciones se debe por un lado a las diferencias de altura inicial de las plantas en ambos ensayos, siendo superiores las del ensayo 2002, y a las condiciones climáticas entre los dos años de medida, que influyeron en el desarrollo fenológico de las plantas, siendo el segundo año más lluvioso y con temperaturas medias más bajas. Sin embargo la diferencia entre tratamientos se mantuvo.

3.5. Seguimiento fisiológico del ensayo 2002 durante la sequía estival

3.5.1. Caracterización de las plantas

Con el fin de explicar las posibles variaciones que se pudieran encontrar en la fisiología de las plantas se realizaron algunas medidas para caracterizar las plantas de los dos cultivos.

Los análisis de **nitrógeno** foliar revelaron que las diferencias observadas a la salida de vivero se habían diluido a lo largo del tiempo presentando todas las plantas porcentajes similares de nitrógeno foliar, siendo ligeramente superiores para el cultivo alternativo y con valores algo más bajos que los presentados en el vivero (Tabla III.6.). No se dieron diferencias significativas en los **carbohidratos solubles** entre las plantas de los diferentes cultivos y los valores fueron algo superiores a los obtenidos en la fase de vivero tanto para las acículas como para las raíces. En relación a los **pigmentos**, éstos tampoco mostraron diferencias significativas entre los dos tipos de cultivos, encontrándose los valores obtenidos dentro de los rangos dados para coníferas.

Ensayo 2002	Cultivo Tradicional	Cultivo Alternativo
Nitrógeno foliar	1,04 ± 0,14	1,19 ± 0,12
CHS foliar	146,29 ± 16,81	176,75 ± 8,61
Clorofila a	1,27 ± 0,12	1,60 ± 0,22
Clorofila b	0,51 ± 0,04	0,73 ± 0,11
Carotenoides totales	0,49 ± 0,03	0,59 ± 0,08

Tabla III.6. Concentración foliar de Nitrogeno (%), Carbohidratos Solubles (CHS, mg g⁻¹ Ps), y pigmentos (Clorofila a, b y Carotenoides totales, mg g⁻¹ Ps) de las plantas de los cultivos tradicional y alternativo al comienzo de las medidas de fisiología en el ensayo 2002.

3.5.2. Condiciones climáticas de los días de medida

Los tres días en los que se realizaron las medidas de fisiología fueron claros realizándose las medidas a mediodía solar, donde el PPFd varió entre 1900-2100 µmol m² s⁻¹. La temperatura media durante las medidas osciló entre 29° C y 38° C y el Déficit de Presión de Vapor (DPV) se mantuvo bastante alto, variando entre 3,2 y 5,9 kPa.

3.5.3. Estado hídrico

Los potenciales hídricos a lo largo de los días fueron cada vez menos negativos, como se puede observar en la figura III.13, presentando diferencias significativas entre fechas y entre tratamientos (Tabla III.7) y debiéndose éstas a las diferencias encontradas en abril y junio, pero no en agosto. El valor máximo alcanzado fue de $-1,2$ MPa, que no es un valor excesivamente bajo como para considerar que las plantas estuvieran bajo condiciones de estrés severo. Esto se vió confirmado con los datos del contenido hídrico relativo de las plantas que no mostró diferencias ni entre fechas ni entre tratamientos, manteniéndose en general por encima del 80 %.

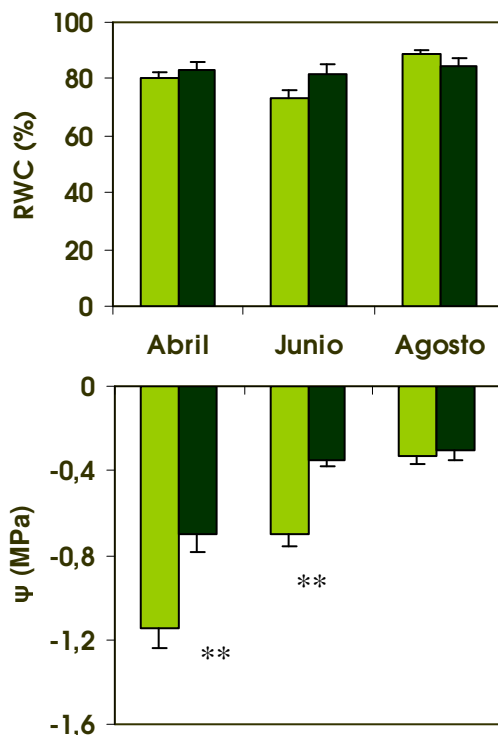


Figura III.13. Evolución del contenido hídrico relativo (RWC, gráfica superior) y del potencial hídrico a mediodía (gráfica inferior) y, en los tres días de medida para las plantas de los cultivos tradicional (barras claras) y alternativo (barras oscuras). Los asteriscos indican diferencias significativas entre cultivos. ** ($p < 0,01$).

La altura de las plantas se correlacionó con su potencial hídrico (Figura III.14). Para ello se utilizaron los datos del día donde las diferencias entre los dos cultivos fueron más marcadas. Cuanto más altas fueron las plantas mejor estuvieron hídricamente, lo que sostiene nuestra hipótesis de que las plantas más grandes tienen una ventaja frente a condiciones estresantes como puede ser este día de medida con un alto DPV ($3,96$ kPa).

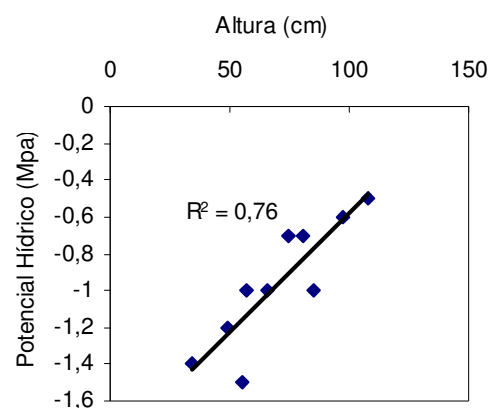


Figura III.14. Relación entre el potencial hídrico y la altura de las plantas en Abril.

3.5.4. Intercambio gaseoso

Tanto la fotosíntesis (A) como la transpiración (E) y la conductancia estomática (gs) fueron disminuyendo a lo largo del tiempo y presentaron diferencias significativas entre fechas (Tabla III.7) presentando los valores más altos el primer día de medida (Figura III.15). Aunque los valores obtenidos no mostraron diferencias significativas entre cultivos en general, al separar por fechas sí dan diferencias significativas entre ellos, observándose una tendencia de las plantas del cultivo alternativo a mostrar valores más altos en estos tres parámetros.

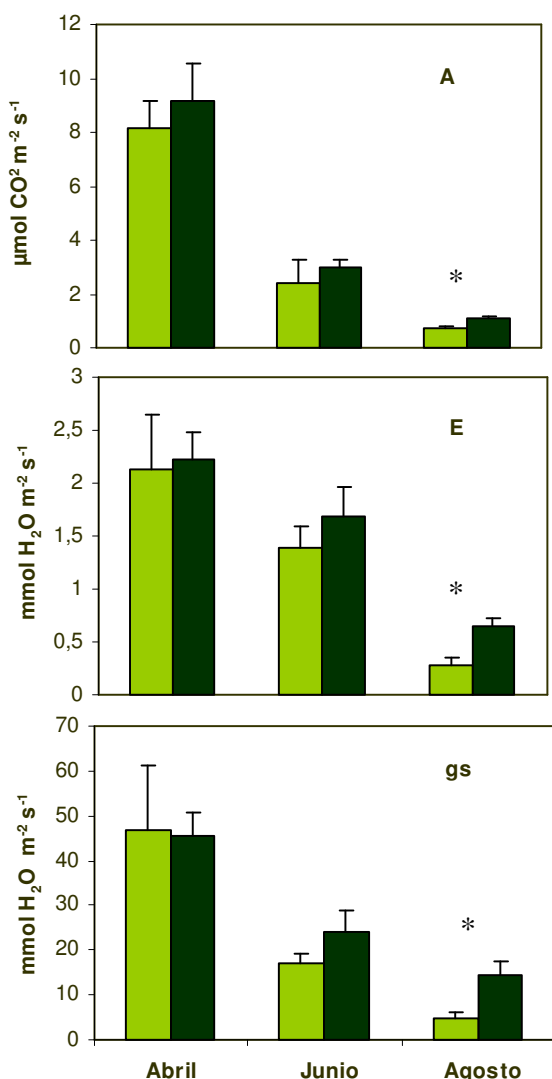


Figura III.15. Evolución de la Fotosíntesis neta (A), Transpiración (E) y conductancia estomática (gs) de las plantas de los cultivos tradicional (barras claras) y alternativo (barras oscuras) durante los días de medida. Se muestran las medias y los errores estándar. Los asteriscos indican diferencias significativas entre cultivos. * ($p \leq 0,05$).

Si observamos la eficiencia en el uso del agua intrínseca (A/g_s) no encontramos diferencias significativas entre fechas ni entre tratamientos mientras que la eficiencia en el uso del agua instantánea (A/E) sí las mostró entre fechas (Tabla III.7). Ambas fueron disminuyendo a lo largo del verano, aunque para el cultivo tradicional parece darse una ligera recuperación en agosto.

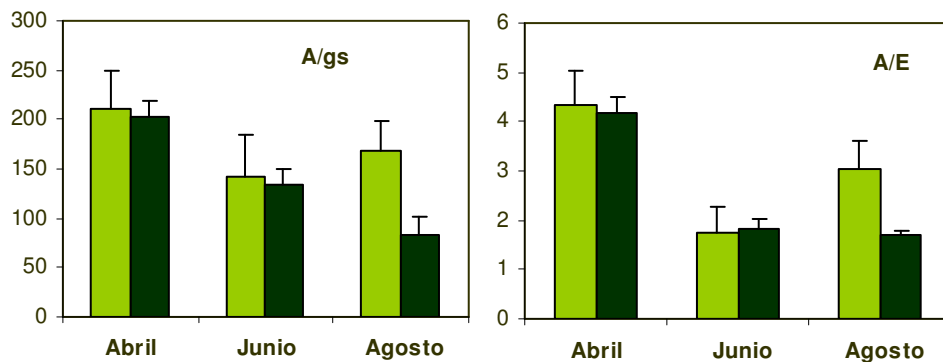


Figura III.16. Eficiencia en el uso del agua intrínseca (A/gS) e instantánea (A/E) de las plantas de los cultivos tradicional (barras claras) y alternativo (barras oscuras) durante los días de medida. Se muestran las medias y los errores.

3.5.5. Fluorescencia de la clorofila

La medida de FvFm de las plantas, tras 24 horas a saturación en oscuridad, no mostró diferencias significativas entre fechas ni entre tratamientos y en todos los casos se mantuvo por encima del valor de 0,75 (datos no mostrados).

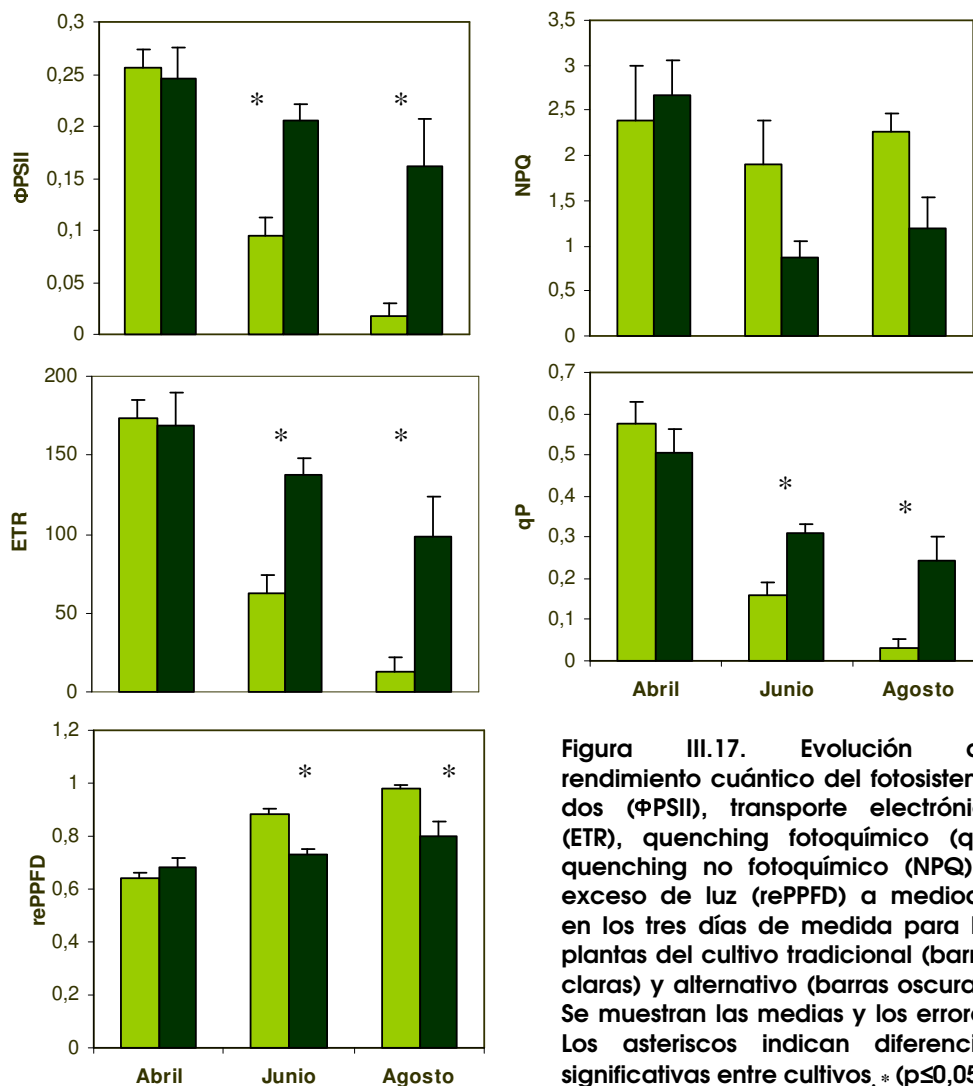


Figura III.17. Evolución del rendimiento cuántico del fotosistema dos (Φ PSII), transporte electrónico (ETR), quenching fotoquímico (qP), quenching no fotoquímico (NPQ) y exceso de luz (rePPFD) a mediodía en los tres días de medida para las plantas del cultivo tradicional (barras claras) y alternativo (barras oscuras). Se muestran las medias y los errores. Los asteriscos indican diferencias significativas entre cultivos. * ($p < 0,05$).

A medida que avanzó el verano se registró un descenso tanto en el transporte electrónico (ETR) (Figura III. 17) como en el rendimiento cuántico del fotosistema II (Φ PSII), presentando diferencias significativas entre los distintos días de medida (Tabla III.7). Los datos mostraron diferencias significativas entre cultivos para los parámetros de ETR, Φ PSII, qP y rePPFD.

La medida realizada en abril fue la que valores más altos aportó para todos los parámetros excepto para el rePPFD, y no mostró diferencias significativas entre cultivos, para ninguno de los parámetros estudiados. En junio y agosto las diferencias entre cultivos fueron más marcadas presentando diferencias significativas y mostrando los valores más altos las plantas del cultivo alternativo excepto para el NPQ y el rePPFD, que se dieron en las plantas del cultivo tradicional.

La relación entre ETR y A (Figura III.18) nos da una idea de qué cantidad de electrones está siendo utilizada en otros procesos complementarios a la fotosíntesis, como puede ser la formación de anión superóxido, fotorrespiración, etc. La evolución de este parámetro se muestra en la figura III.18, en ella se observa cómo va aumentando a lo largo del tiempo para los dos tratamientos mostrando diferencias débilmente significativas entre ellos en el mes de Agosto (Tabla III.7).

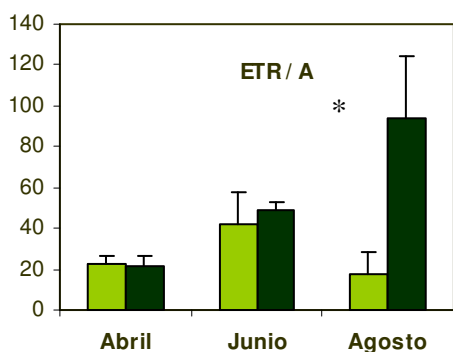


Figura III.18. Relación entre ETR y A en los tres días de medida para las plantas del cultivo tradicional (barras negras) y alternativo (barras blancas). Se muestran las medias y los errores. Los asteriscos indican diferencias significativas entre cultivos. * ($p \leq 0,05$).

	Fecha (gl= 2)		Tratamiento (gl = 1)		F x T (gl=2)	
	F	p	F	p	F	p
RWC	4,41	*	0,96	ns	2,38	ns
Ψ	38,43	***	23,35	***	4,26	*
A	34,04	***	0,60	ns	0,06	ns
E	12,72	***	0,86	ns	0,11	ns
gs	11,80	**	0,61	ns	0,28	ns
A/gs	3,56	ns	1,56	ns	0,77	ns
A/E	14,65	***	1,29	ns	1,01	ns
Φ PSII	19,43	***	14,98	**	5,04	*
ETR	24,08	***	14,62	**	4,62	*
NPQ	3,93	ns	2,73	ns	1,15	ns
qP	43,72	***	16,71	**	8,81	**
rePPFD	23,90	***	12,43	**	6,81	**
ETR / A	3,39	ns	6,31	**	4,59	**

Tabla III.7. Resultado del test ANOVA con fecha, tratamiento y su interacción como factores aplicado a los datos de los distintos parámetros de fisiología medidos. *** ($p \leq 0,001$), ** ($p \leq 0,01$), * ($p \leq 0,05$), ns ($p > 0,05$).

3.5.6. Levantamiento de las plantas

Tal y como se describió en la sección de material y métodos, una vez terminadas las medidas de fisiología se procedió al levantamiento de las plantas que habían sido utilizadas para realizar dichas medidas. Todos los parámetros mostraron diferencias significativas entre cultivos. Las plantas del cultivo alternativo fueron aproximadamente el doble de altas que las tradicionales (Tabla III.8), con una biomasa total 4,5 veces superior a las del cultivo tradicional. Debido a la pedregosidad del terreno no fue posible extraer la raíz principal completa, pudiendo llegar hasta aproximadamente 80 cm de profundidad, donde se podía intuir que la raíz principal de las plantas del cultivo tradicional no llegaba mucho más abajo (observaciones personales). Asimismo el diámetro fue considerablemente menor para las plantas del cultivo tradicional (ver foto 9 del Anexo fotográfico). Aunque la raíz no se pudo extraer completa, se observan claras diferencias en la biomasa subterránea, presentando las plantas del cultivo alternativo casi 5,5 veces más biomasa que las del cultivo tradicional (Tabla III.8 y Figura III.19).

Parámetros Morfológicos	Tradicional	Alternativo
Altura (cm)	55,8 ± 3,86	100 ± 4,46
Longitud raíz (cm)	57 ± 6,61	61 ± 8,14
Diámetro cuello raíz (mm)	191,8 ± 21,47	282 ± 54,26
Nº Yemas	2,4 ± 0,87	8 ± 0,83
Biomasa Raíz (g)	40,7 ± 8,64	215,9 ± 50,52
Biomasa Tallo (g)	37 ± 7,64	197,9 ± 50,02
Biomasa Ramas (g)	2,7 ± 0,52	20,7 ± 6,75
Biomasa Ac. Secundarias (g)	50,6 ± 13,73	192,7 ± 27,7
Biomasa Ac. Primarias (g)	15 ± 4,81	34,4 ± 2,39
Biomasa Total (g)	146,2 ± 26,21	661,8 ± 117,14

Tabla III.8. Resultados de los parámetros morfológicos y de biomasa para las plantas del cultivo Tradicional y Alternativo de las plantas del levantamiento.

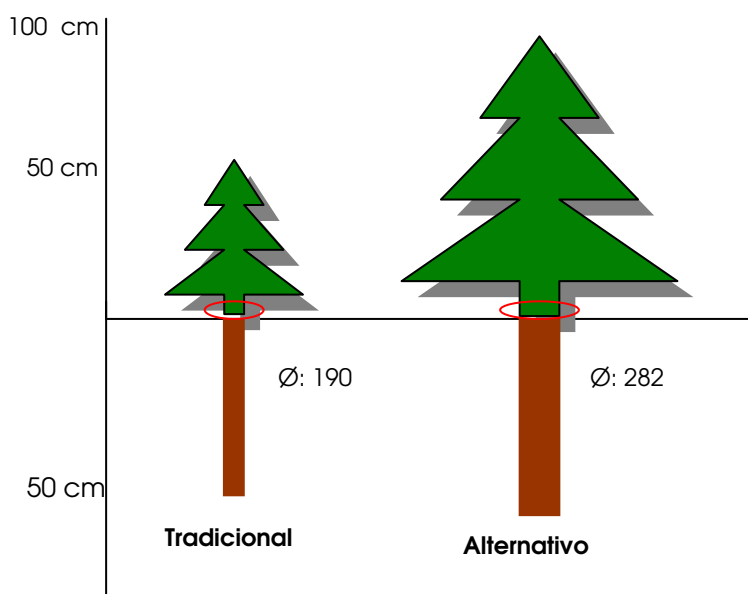


Figura III.19. Esquema de la morfología de las plantas de los dos cultivos en el momento del levantamiento.

4. DISCUSIÓN

La calidad planta, tal y como ya se indicó en el capítulo anterior, se define como "la capacidad para alcanzar unas expectativas de supervivencia y crecimiento en una estación particular" (Duryea, 1985). Es por tanto, la supervivencia, un parámetro fundamental para la evaluación final de la calidad de un lote de plantas. Como cabría esperar, la supervivencia del conjunto de las plantas disminuyó paulatinamente a lo largo del período de estudio produciéndose el mayor número de muertes durante los primeros meses y el verano. La supervivencia media de las plantaciones tras el primer año en campo fue de un 86 % en el ensayo 2002 y de un 76 % en el ensayo 2003, bajando a un 83 % tras el segundo año en el primer ensayo. Se confirmó que el método de cultivo tuvo una influencia significativa en la supervivencia de las plantas. Las plantas del cultivo tradicional mostraron menores supervivencias, alcanzaron menores alturas y diámetros y mostraron un desarrollo fenológico más tardío. Las plantas del cultivo alternativo en su conjunto mostraron tasas de supervivencia de un 95 % en el ensayo 2002 y de un 84 % en el ensayo 2003, frente a las del cultivo tradicional que alcanzaron un 67 % y 32 % de supervivencia, respectivamente. Asimismo no se encontraron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos dentro de los cultivos.

El pino canario se caracteriza por presentar acículas de dos tipos, primarias y secundarias (Ceballos y Ortuño, 1976, Climent *et al.*, 2006a). En esta especie se dan periodos de coexistencia de ambos tipos de acículas que varían según las zonas de cultivo o plantación y de la procedencia de las plantas, produciéndose el cambio de fase de estado juvenil a adulto el momento en el que comienzan a formarse las acículas secundarias junto con la formación de la yema terminal madura (Climent *et al.*, 2006a). El desarrollo fenológico fue claramente diferente entre los dos tipos de cultivo. Las plantas del cultivo alternativo, con un mayor porte desarrollaron antes las nuevas acículas y las yemas terminales maduras. Parece existir una altura umbral para el pino canario (43 cm) a partir de la cual se produce el cambio de fase (Climent *et al.*, 2006a). Tanto las plantas del cultivo tradicional como las del alternativo presentaron alturas cercanas a este valor umbral, en el momento del cambio de fase. El hecho de alcanzar antes el estado de madurez, es una ventaja que puede conferir a la planta una mayor resistencia frente a posibles factores de estrés durante la fase de establecimiento en el campo, ya que es en el estadio de plántula donde las especies pueden ser particularmente sensibles a un estrés determinado (Valladares *et al.*, 2004).

4.1. Efecto del contenedor

Aunque son numerosos los trabajos que relacionan las características de los contenedores con el desarrollo de las plantas en el campo (Brisette *et al.*, 1991;

Domínguez-Lerena *et al.*, 2000, 2006; Villar-Salvador *et al.*, 2001b; Aphalo y Rikala, 2003; Chirino *et al.*, 2005; South *et al.*, 2005; Trubat *et al.*, 2005; Serrada, 2005) las diferencias encontradas entre contenedores en las fases de cultivo de la planta en vivero no se reflejaron en la supervivencia de las mismas en el campo. Por tanto, puede afirmarse que ambos son igualmente adecuados para el cultivo, coincidiendo el volumen de ambos con las recomendaciones para pinos mediterráneos en España, un mínimo de 300 cm³ (Villar-Salvador, 2003). Sin embargo, en los cultivos tradicionales en el ensayo 2002, se apreció una mayor supervivencia en el contenedor Super-Leach. Este resultado se explica por la mayor facilidad de extracción de la planta en los alveolos individuales, mientras que la extracción de los contenedores en bloque es difícil con plantas como éstas, de escaso desarrollo radical.

4.2. Efecto del sustrato y fertilización

La incorporación de elementos inertes al sustrato puede mejorar las propiedades físicas de éste e influir positivamente en el desarrollo de la raíz (Rose *et al.*, 1995). Los elementos inertes empleados en la elaboración de los sustratos (picón, vermiculita y perlita) no tuvieron influencia significativa en los parámetros estudiados (supervivencia, altura y diámetro). Este resultado era de esperar ya que en la fase de vivero tampoco aportaron un aumento significativo a la calidad de las plantas. Puede que la adición de estos elementos favoreciera el desarrollo radical, ya que las plantas de los cultivos tradicionales presentaron un desarrollo radical mucho menor, pero debido al diseño experimental no se puede separar este efecto del producido por la fertilización, que ejerce un efecto mucho más notable en la morfología de la planta. Aunque casi no hay estudios realizados sobre la influencia de los elementos inertes en la calidad de planta, Jacobs *et al.* (2003) no encontraron ninguna relación positiva entre la adición de vermiculita y perlita y la morfología de las plantas, aunque tampoco se detectaron efectos negativos.

Todos los valores de nutrientes y carbohidratos no estructurales obtenidos para los diferentes tratamientos se encontraron dentro de los rangos dados para coníferas (Duryea y McClain, 1984; Puttonen, 1986; Oliet, 1999) aunque no resultaron buenos parámetros para discriminar entre tratamientos.

Si bien es notable la diferencia entre las plantas no fertilizadas y las fertilizadas el aumento del aporte de fertilizante de liberación lenta de 4 a 7 g l⁻¹ (en la primera fase) no conllevó una mayor supervivencia, tampoco la altura mostró mucha variación entre estas dosis por lo que no parece justificado el aumento de 4 a 7 g l⁻¹. La sustitución del Osmocote por el fertilizante aplicado al agua de riego tampoco aportó una mayor calidad a la planta ni repercutió en una mejor respuesta de esta en el campo. La principal hipótesis que se pretendía contrastar es si los nutrientes minerales

presentes en la tierra de monte podían conducir a una calidad de planta comparable a la de los tratamientos fertilizados y la conclusión es bastante clara a favor de la aplicación de fertilizantes a los sustratos, ya que los naturales no aportan los nutrientes necesarios, en las condiciones de este estudio. Aún así es necesaria una investigación más profunda en relación con los efectos de la fertilización y la interacción entre los distintos nutrientes.

4.3. Relación entre los parámetros de calidad de planta en vivero y el comportamiento en campo

Los parámetros morfológicos medidos en vivero se correlacionaron en mayor o menor medida con la supervivencia de las plantas en el campo, aunque las correlaciones de algunos de ellos fueron débilmente significativas. A medida que aumentó la altura, diámetro, ICD, IE, Psa/Psr y Pst de las plantas los porcentajes de supervivencia fueron mayores, apoyando la tendencia actual, cada vez más generalizada de que las plantas grandes tienen mayores expectativas de supervivencia en el campo (Thompson, 1985; Mexal y Landis, 1990; McGrath y Duryea 1994; Cortina *et al.*, 1997; Oliet *et al.*, 1997; South, 2000; Villar-Salvador, 2003; Villar-Salvador *et al.*, 2000, 2001a, 2004; Puértolas *et al.*, 2003; Del Campo, 2002; Luis *et al.*, 2004a, Navarro y Del Campo, 2004).

En las condiciones de este estudio cuanto mayor fue la altura de las plantas, mayor fue su supervivencia. La supervivencia de las plantas tras el primer año de plantación y la altura inicial por unidad experimental presentaron una correlación positiva y fuertemente significativa. Esta relación positiva concuerda con numerosos estudios realizados, tanto en especies no mediterráneas (Thompson, 1985; Mexal y Landis, 1990; McGrath y Duryea, 1994; South, 2000), como en especies de pinos mediterráneos como *P. pinea*, *P. halepensis*, *P. pinaster* y *P. canariensis* (Cortina *et al.*, 1997; Oliet *et al.*, 1997, Villar-Salvador *et al.*, 2000, 2001a; Puértolas *et al.*, 2003; Luis *et al.*, 2004a) o en otras especies mediterráneas como *Olea europaea*, *Ceratonia siliqua* y *Quercus ilex*, (Del Campo, 2002; Navarro y del Campo, 2004; Villar-Salvador *et al.*, 2004). Aunque también hay estudios en plantas de ambientes mediterráneos donde no se ha encontrado relación entre la altura y la supervivencia, e incluso alguno en condiciones de aridez donde se han encontrado relaciones negativas entre estos dos factores (Trubat *et al.*, 2003), en las condiciones de este estudio la altura, junto con la relación Psa/Psr resultaron los mejores parámetros para predecir la supervivencia de las plantas en el campo, aunque debido la mayor facilidad de medición de la primera y del buen ajuste mostrado por el modelo de predicción, se propone la altura como la más idónea.

Aunque Gil y Pardos (1997) establecen que valores superiores a 3 de Psa/Psr son inaceptables para el paso a campo, en las condiciones de este estudio los tratamientos que superaron dicho valor, plantas más altas y con mayor biomasa aérea, presentaron las tasas más altas de supervivencia. La altura, no sólo se correlacionó con la supervivencia, sino también con el potencial hídrico de las plantas a mediodía, rechazando así la creencia general que sostiene que una menor parte aérea es beneficiosa frente a episodios de sequía estival.

Los estudios, cada vez más frecuentes, que relacionan los parámetros de vivero con la respuesta en campo de las plantas hacen necesaria, en muchas ocasiones, una revisión de la actual normativa de calidad, como ocurre en el caso del pino canario, donde la altura máxima debería aumentarse, ya que se han observado buenas repuestas en campo con alturas superiores a las permitidas. En otros países, como en EEUU esta normativa se ha ido modificando durante los últimos 30 años, donde por ejemplo para el caso de *Pinus palustris* se producía planta de entre 1,9-3,6 mm de diámetro y los resultados de múltiples estudios han ido aumentando este rango hasta los 10-11 mm de diámetro que producen los viveros en la actualidad (South *et al.*, 2005).

Hay pocos trabajos en los que se hayan obtenido buenas correlaciones entre los nutrientes medidos en vivero y la respuesta de las plantas en el campo, ya que en la mayoría de los casos las diferencias de vivero se diluyen, como en este caso, y además no hay mucha variabilidad dentro de la supervivencia. El nutriente que más se correlacionó con la supervivencia en campo fue la concentración de nitrógeno foliar, concordando con los trabajos realizados con especies mediterráneas como *Pinus halepensis*, *P. pinea* y *Quercus ilex* (Oliet *et al.*, 1997, 2005; Valdecantos *et al.*, 2006).

Con relación a los test aplicados, a medida que aumentó el número de raíces nuevas producidas en el test de regeneración radical, así como la longitud de las mismas, aumento la supervivencia de las plantas. Muchos autores estiman un rango de 5-10 raíces nuevas de más de 0,5 o 1 cm asociados a porcentajes de supervivencia adecuados en repoblaciones (Burdett *et al.*, 1983; Simpson *et al.*, 1994; Grossnickle *et al.*, 1995; Fernández y Royo, 1998; Grossnickle, 2000). Oliet *et al.* (2003) determinaron que plantas con valores del test de regeneración radical en *Pinus halepensis* de más de 17 raíces mayores de 1 cm mostraron porcentajes de supervivencia cercanos al 80 %. En las condiciones de este estudio plantas con más de 25 raíces nuevas (N_{RN}) presentaron tasas de supervivencias superiores al 80 %.

En relación a la micorrización, las plantas de la primera fase de cultivo que presentaron micorrizas en vivero fueron las del cultivo tradicional, y no les supuso ninguna ventaja con respecto a la supervivencia en campo, probablemente porque fueron desplazadas por otras del lugar de plantación. En la segunda fase todas

presentaron micorrizas de vivero, por lo que no se puede establecer que les haya aportado o no ventaja en relación con la supervivencia, aunque comparando las tasas de supervivencia, éstas fueron más bajas en el ensayo 2003, probablemente debido a las condiciones climáticas.

4.4. Estado fisiológico de las plantas durante la sequía estival

El seguimiento de la fisiología de las plantas durante el período de sequía estival puso de manifiesto que las plantas que consiguieron superar los dos primeros años en la plantación están bastante bien adaptadas y no se ven muy afectadas por la baja disponibilidad de agua en el suelo durante el verano.

Los datos de RWC fueron bastante altos, siempre por encima del 80 %, mostrando las plantas un buen estado hídrico, ya que se considera que empieza a haber un estrés hídrico importante cuando este valor es inferior a un 70 % (Cornic y Massacci, 1996; Chaves y Oliveira, 2004).

Uno de los parámetros más comúnmente utilizados para evaluar el estrés hídrico es el potencial hídrico (Flexas *et al.*, 2004). El potencial hídrico tampoco alcanzó valores muy negativos, máxime considerando que fue medido a mediodía solar y cuanto mayor altura presentaron las plantas mejor estuvieron hídricamente, lo que sostiene nuestra hipótesis de que las plantas más grandes tienen una ventaja sobre las más pequeñas. Sorprendentemente el potencial hídrico de mediodía de las plantas fue disminuyendo, o haciéndose menos negativo, a medida que avanzó el verano a pesar de la ausencia de precipitaciones. Las nieblas matutinas que se dieron en varias ocasiones en la zona de estudio durante los días de medida pudieron originar la rehidratación de los tejidos aéreos provocando una disminución en el potencial hídrico (Waisel, 1958; Boucher *et al.*, 1995; Munné-Bosch y Alegre, 1999).

El descenso de A y de E se debió a un cierre estomático, inducido por un descenso en la disponibilidad de agua en el suelo a medida que avanzó la sequía estival, ya que durante todo el período de medida no se registraron precipitaciones en la zona de estudio. Varios trabajos han demostrado que el cierre estomático es el principal causante del descenso de la fotosíntesis en condiciones de sequía moderada en el suelo (Chaves *et al.*, 2002, 2003) algunos autores citan la conductancia estomática como un parámetro más fiable que el potencial hídrico para detectar un posible estrés moderado debido a la sequía (Chaves y Oliveira, 2004; Medrano *et al.*, 2002), tal y como ocurrió en este ensayo, donde no se detectó una sequía severa que afectara a las plantas. Este descenso en las tasas de A y E también pudo ser ocasionado por la acumulación de gotas de agua en las acículas, como consecuencia de nieblas matutinas, que pueden provocar una reducción en la conductancia estomática (Slatyer, 1960; Ishibashi y Terashima, 1995), sin embargo no lo

explica completamente, ya que las plantas del cultivo tradicional mostraron un descenso más pronunciado. En agosto, las diferencias de potencial entre tratamientos desaparecieron, aunque las diferencias en intercambio gaseoso y fluorescencia aumentaron. Este hecho sugiere que la rehidratación de los tejidos influyó en el potencial hídrico, pero no afectó a las tasas de intercambio gaseoso. Se ha encontrado que bajo condiciones mediterráneas, el rocío mejora el estado hídrico en plantas estresadas, pero no las tasas de fotosíntesis. La recuperación de las tasas fotosintéticas tras fenómenos de estrés hídrico puede tardar algunos días, hasta semanas, incluso cuando las plantas presentan un buen estado hídrico (Harley *et al.*, 1987; Munné-Bosch y Alegre, 2000; Nogués y Alegre, 2002). Aunque los fenómenos de niebla fueron más intensos con el avance del verano, estos fueron intermitentes, lo que no hace esperar una completa recuperación de la fotosíntesis. En cualquier caso la estrecha relación entre el potencial hídrico y la altura de las plantas en abril (donde no hubo influencia de las nieblas) confirma la hipótesis de que la altura inicial de las plantas tiene una fuerte influencia en el estado hídrico de las mismas.

La eficiencia intrínseca en el uso del agua parece mostrar que las plantas del cultivo tradicional pudieran ser algo más eficientes a tasas bajas de gs, presentando las plantas del cultivo alternativo una estrategia con respecto al manejo del agua algo más arriesgada, ya que son más eficientes a tasas altas de gs, pero que tal y como se observa en la supervivencia de este lote de plantas resulta ser más efectiva. Este tipo de estrategias menos conservadoras pueden ser muy útiles por ejemplo tras lluvias de corta duración localizadas (Vilagrosa *et al.*, 2003) donde aprovechar esa escasa agua puede suponer la supervivencia de la planta para lo que queda del período estival (Valladares *et al.*, 2004). Con respecto al comportamiento de ambos cultivos, aunque no se dieron diferencias significativas en todos los días de medida, se observó que el cultivo alternativo mostró tasas algo superiores para A, probablemente debido a una mayor concentración de pigmentos fotosintéticos y a la fertilización nitrogenada, donde las plantas del cultivo alternativo mostraron valores ligeramente superiores de nitrógeno foliar. La concentración de nitrógeno en hojas está relacionada con la capacidad de recuperación de la actividad tras la plantación, a través de una mayor eficiencia fotosintética de las hojas ricas en este elemento (Folk *et al.*, 1996). En varios trabajos con especies mediterráneas se obtienen buenas relaciones entre mayores tasas de fotosíntesis en plantas con mayor concentración de nitrógeno en sus tejidos (Hormilla *et al.*, 1997; Jose *et al.*, 2003; Planelles, 2004).

Con respecto a las medidas de fluorescencia de la clorofila, la medida de F_v/F_m (tras 24 horas a saturación y en oscuridad) se mantuvo por encima del valor de 0,75, valor este establecido para plantas que no sufren estrés (Bolhár-Nordernkampff y Öquist, 1993), indicando que no se dieron daños permanentes por estrés en ninguno

de los casos. Las medidas de fluorescencia de la clorofila fueron las más sensibles para detectar las diferencias entre cultivos. El descenso estacional en los parámetros medidos a mediodía fue debido al cierre estomático originado por un aumento de la sequía edáfica. La consiguiente reducción de CO₂ disponible, como consecuencia de dicho cierre, ocasionó una merma en el ETR (Genty *et al.*, 1998; Loreto *et al.*, 1995; Flexas *et al.*, 2004). Las plantas del cultivo alternativo mostraron valores más altos para todos los parámetros estudiados, excepto para el quenching no fotoquímico (NPQ) y para el exceso de luz (rePPFD). Estos valores más altos de NPQ y rePPDF registrados para las plantas del cultivo tradicional indican que están disipando mayor energía en forma de calor que las plantas del cultivo alternativo, debido a que éstas últimas están usando la energía en el transporte electrónico, que es mayor en este cultivo, y en consecuencia en la fotosíntesis (mayor qP) por lo que disipan menos energía (menor NPQ) (Demmig-Adams y Adams III, 1996; Demmig-Adams *et al.*, 1996).

El descenso estacional de la relación ETR/A lo largo del tiempo se debió a que al disminuir la tasa de fotosíntesis, como consecuencia del descenso en la conductancia estomática, los electrones se dirigen hacia otros sumideros que no son la fijación de CO₂, como puede ser la formación del anión superóxido o una mayor fotorrespiración ya que cuanto más alta es esta relación mayor es la cantidad de electrones que se dirigen hacia otros sumideros (Krall y Edwards, 1992; Medrano *et al.*, 2002).

5. CONCLUSIONES

La supervivencia de las plantas fue disminuyendo a lo largo del periodo de estudio y estuvo totalmente influida por el tipo de cultivo, presentando siempre una mayor supervivencia, mayor desarrollo tanto morfológico como fenológico y un mejor estado fisiológico las plantas del cultivo alternativo, que supieron adaptar su fisiología a las condiciones menos propicias, quedando demostrado que la cantidad de nutrientes aportados en la tierra de monte no es comparable a la aportada con la fertilización, produciendo plantas de menor calidad.

Los resultados obtenidos refuerzan la conclusión obtenida en la fase de vivero, donde se propuso para el cultivo de pino canario de una savia contenedores de volumen mínimo de 300 cm³ utilizando sustratos formados por mezclas turbas fertilizadas y materiales inertes.

Dentro de los parámetros morfológicos medidos en vivero, la altura y la relación Psa/Psr fueron los que más información aportaron acerca de la calidad de la planta por mostrar las mejores correlaciones con la supervivencia.

Con respecto a la altura máxima permitida para el paso a campo de pino canario de una savia, proponemos revisar la normativa de calidad en cuanto a los

parámetros de altura máxima legal permitida para esta especie y ampliar este máximo, actualmente de 25 cm, ya que como se ha demostrado a mayor altura inicial se alcanzan mayores tasas de supervivencia.

Con respecto a los parámetros fisiológicos determinamos la concentración de nitrógeno foliar como la variable de mayor potencial predictivo del posterior desarrollo y supervivencia de la planta en el campo. El potencial de regeneración de la raíz, dentro de los test de respuesta, fue el que aportó mayor información sobre el estado en que se encontraban las plantas antes del paso a campo.

La respuesta fisiológica de las plantas en el campo, fue variable y dependiente de las condiciones ambientales, pero en general las plantas del cultivo alternativo mostraron mayores tasas fotosintéticas. Las plantas del cultivo alternativo parecieron seguir una estrategia más arriesgada, reaccionando mejor que las plantas del cultivo tradicional a medida que las condiciones de estrés eran más severas. Las medidas de conductancia estomática resultaron mejor parámetro que el potencial hídrico para detectar los fenómenos de estrés hídrico debidos a la sequía edáfica. Asimismo, las medidas de fluorescencia de la clorofila fueron las que más información proporcionaron a la hora de discriminar entre los distintos tipos de cultivo.

Después de evaluar todos los parámetros medidos y las correlaciones entre ellos, en las condiciones de este estudio queda clara la influencia de la altura inicial de la planta tanto en la supervivencia, como se ha venido demostrando en diversas especies mediterráneas, como en su estado fisiológico y en su capacidad de respuesta-adaptación a las condiciones estresantes del verano, principal causa de mortalidad de las repoblaciones en zona seca de pino canario.



Capítulo IV. Seguimiento en Maceta

*“Lo esperado no sucede, es lo inesperado lo que acontece”
Eurípides de Salamina*

1. INTRODUCCIÓN

La característica climática que define a los ecosistemas mediterráneos es la estacionalidad con la existencia de un periodo de baja disponibilidad hídrica y altas temperaturas, por lo que para que las plantas puedan sobrevivir en el campo deben ser lo más resistentes posible a estos dos factores o tener la capacidad de modificar su morfología y fisiología para adaptarse a dichos periodos.

La disponibilidad hídrica está considerada como el principal factor que afecta a la actividad de las plantas en ecosistemas mediterráneos (Di Castri *et al.*, 1981; Blondel y Aronson, 1990) principalmente durante el primer año de plantación, que es cuando la mortalidad de las plantas suele ser mayor (Vilagrosa *et al.*, 1997; Vallejo y Alloza, 1998; Villar-Salvador, 2003). Este déficit hídrico afecta prácticamente a todos los aspectos del desarrollo de las plantas, siendo quizás, el factor más importante implicado en la reducción del crecimiento (Boyer, 1982; Chaves *et al.*, 2003). Como se ha ido indicando en los capítulos anteriores y se verá en los siguientes, el cultivo de la planta en vivero modifica la morfología de la planta y como consecuencia su fisiología, pudiéndola hacer más resistente a fenómenos de estrés hídrico, aunque esto signifique que pueda presentar tasas de crecimiento más bajas, por lo que a la hora de obtener plantas en vivero se ha de conseguir que presenten un buen equilibrio entre la tasa de crecimiento y la resistencia a la sequía.

Además de esta reducción de crecimiento, síntomas del estrés hídrico son, entre otros, caída del potencial hídrico y del turgor, cierre estomático y como consecuencia de éste, reducción de la fotosíntesis (Flexas *et al.*, 2004), así como la reducción de nitratos (Correia *et al.*, 2005), produciéndose también bajo estas condiciones especies reactivas de oxígeno (Reddy *et al.*, 2004) que pueden producir daños en las plantas comprometiendo su supervivencia.

Las plantas, para enfrentarse a este tipo de estrés, muestran distintas estrategias (Larcher, 1995) desarrollando mecanismos que hacen a las plantas evitadoras o tolerantes a dicho estrés, y que varían en función de la especie, condiciones ambientales o del estado de desarrollo de la planta (Valladares *et al.*, 2004). Las coníferas, en general, presentan estrategias evitadoras del estrés hídrico, y el pino canario en particular, ha sido catalogado como evitador presentando comportamiento isohídrico, o ahorrador de agua, (Morales *et al.*, 1999) debido a la morfología que presenta su sistema radical con una raíz muy profunda y fuertemente pivotante y al alto control estomático que muestra en situaciones de estrés hídrico, manteniendo alto su contenido hídrico relativo y su potencial hídrico (Morales *et al.*, 1999; Peters, 2001).

En su proceso de adaptación al medio y dependiendo de la estrategia que presentan para resistir estos periodos de estrés, las plantas han desarrollado distintos

procesos para adaptarse a ellos: modificando su superficie foliar; variando la distribución de biomasa y con ella la relación tallo: raíz; a través de fenómenos fisiológicos de aclimatación como pueden ser ajustes osmóticos mediante la acumulación de osmolitos como los carbohidratos solubles y la prolina (Morgan, 1984; Colombo, 1987; Vivin *et al.*, 1996); formación de sustancias antioxidantes; variaciones de la conductancia hidráulica (Tyree y Ewers, 1991; Menzier *et al.*, 1995; Sperry, 2000); modificaciones en la conductancia estomática, etc.. (Cregg, 1994; Valladares *et al.*, 2004, Breda *et al.*, 2006).

El primer síntoma que podemos detectar en las coníferas cuando se ven sometidas a estas condiciones restrictivas de agua en el suelo, es la disminución de la tasa transpiratoria, producida por un descenso en la conductancia estomática. Este cierre estomático origina una disminución en la absorción de CO₂, y por tanto de la fotosíntesis (Chaves, 1991; Cornic, 1994; Lawlor, 1995; Bota *et al.*, 2002, Breda, *et al.*, 2006). La importancia de poder cuantificar la transpiración ha hecho que se desarrollen numerosos métodos para medirla, no sólo a nivel de hoja, como lo son las medidas realizadas con el IRGA, sino también a nivel de ramas y planta entera, ya sea juveniles o adultos mediante medidas de flujo de savia (Cermák *et al.*, 1973, 1982, 1991, Kucera *et al.*, 1977; Sakuratani, 1981; Granier, 1985; Swanson, 1967, 1994) para luego poder extrapolar también esas medidas a nivel de bosque (Jiménez *et al.*, 1996; Wieser *et al.*, 2002; Luis *et al.*, 2005a). Estas medidas de transpiración a nivel de planta entera, nos proporcionan información continua y exacta acerca del comportamiento global de la planta, siendo así una herramienta muy útil para evaluar los efectos de la sequía.

La resistencia a las altas temperaturas, junto con la resistencia al estrés hídrico, es otro factor muy importante, sobre todo en periodos de baja disponibilidad de agua en el suelo y/o alta demanda evaporativa, en ellos, las plantas suelen reducir la conductancia estomática, con lo cual el principal mecanismo de regulación de la temperatura a través de la transpiración de la planta está muy reducido, incluso inactivo, y es entonces cuando un aumento de las temperaturas puede provocar mayores daños (Breda *et al.*, 2006).

El seguimiento del crecimiento y desarrollo de las plantas en el campo está influenciado por éstos y otros factores que, en condiciones naturales son difíciles de controlar. En este capítulo, se van a estudiar los mismos parámetros que los medidos en el campo, incluyendo también medidas de flujo de savia, pero trasplantando las plantas a macetas de volumen superior para que el crecimiento esté menos limitado que en los contenedores de vivero y utilizando un sustrato lo más similar posible al que encontramos en las parcelas donde se realizó la repoblación.

1.1. Objetivos

Por todo lo mencionado anteriormente los objetivos concretos de este estudio son:

1. Evaluar el desarrollo tanto morfológico como fenológico de plantas de los dos cultivos crecidas en maceta, comparándolo con el de las plantas llevadas al campo.

2. Evaluar la respuesta fisiológica tanto a nivel de hoja, (intercambio gaseoso, fluorescencia de la clorofila y estado hídrico), como a nivel de planta entera (flujo de savia) de los dos tipos de cultivo tras aplicar un tratamiento de sequía en plantas crecidas en maceta, y averiguar si dicho tratamiento es capaz de conferir a las plantas distinta resistencia a las altas temperaturas.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Diseño experimental

Tras finalizar la segunda fase de cultivo en vivero se seleccionaron 30 plantas del cultivo tradicional y 30 del cultivo alternativo que no fueron llevadas al campo. Se extrajeron de los contenedores y se trasplantaron en macetas circulares de 20 litros de capacidad utilizando una mezcla de tierra de monte y picón (3:1) para que fuese lo más parecido al sustrato en el que se desarrollan en el campo. Durante 15 meses fueron mantenidas en maceta y bien regadas en la Finca experimental La Tahonilla Alta (610 m s.n.m), en La Laguna, haciéndoles un seguimiento morfológico y fenológico, hasta que alcanzaron el diámetro requerido para instalar los sensores de flujo de savia y comenzar el experimento de estrés hídrico.

2.2. Seguimiento morfológico y fenológico

Entre junio de 2004 y junio de 2005 se realizaron seguimientos de la altura y el diámetro a las 60 plantas del experimento en 12 ocasiones. Simultáneamente se realizaron seguimientos del estado de madurez de las plantas, según los mismos criterios empleados en el campo (ver capítulo III), mediante la presencia de yemas terminales maduras y acículas secundarias.

2.3. Experimento de estrés hídrico

En octubre 2004, una vez las plantas habían alcanzado el diámetro mínimo necesario para colocar los sensores de flujo de savia, se empezó el experimento de sequía que duró 5 meses. Las plantas de cada tratamiento fueron divididas en dos bloques suprimiendo totalmente el riego a 15 de ellas, mientras que las 15 restantes se continuaron regando cada día a capacidad de campo durante los 5 meses que duró el experimento. Así resultó un diseño de 2x2 con dos tratamientos de distinta calidad de vivero (Tradicional y Alternativo) y dos tratamientos de riego (Riego y Sequía). Las plantas fueron colocadas al aire libre y las macetas fueron cubiertas con bolsas de plástico microperforadas que permitían el intercambio de gases entre el suelo y la atmósfera impidiendo que se mojara el sustrato en caso de lluvia (Foto IV.1).



Foto IV.1. Disposición de las plantas para el experimento de sequía

2.3.1. Condiciones climáticas

Desde el comienzo del experimento se instaló una estación meteorológica (Mini-32, Unilog EMS, EMS Brno CZ) en la finca experimental donde estaban las plantas. La estación se compone de un piranómetro que mide la radiación global (W m^{-2}), de un higrómetro para la humedad relativa del aire (%), un termómetro para la temperatura del aire ($^{\circ}\text{C}$) y un pluviómetro para precipitación (mm) todos ellos conectados a un "datalogger" que registra las condiciones ambientales cada minuto y promedia los datos cada 15. A partir de estos datos se elaboraron cursos diarios de factores ambientales y se calcularon las medias de temperatura, humedad y radiación global. Asimismo, se calculó el déficit de presión de vapor de agua en el aire (DPV) como la diferencia entre la presión de vapor a saturación (e_s) y la presión de vapor del momento actual (e_a). La evapotranspiración potencial (PET, mm d^{-1}) fue calculada según Penman (1948) a partir de la radiación, temperatura, humedad relativa y velocidad del viento. Los datos de velocidad del viento fueron tomados de una estación meteorológica cercana (Aeropuerto de los Rodeos) que dista sólo 500 metros de la finca experimental.

2.3.2. Atributos morfológicos

Justo antes del comienzo del experimento se cosecharon 5 plantas de cada cultivo para caracterizarlas morfológicamente. Se midió altura, diámetro y peso seco tanto de la parte aérea como de la raíz. Estas medidas se repitieron también en los dos cultivos una vez finalizado el tratamiento de sequía.

2.3.3. Concentración de Osmolitos

Se determinó la concentración de **Carbohidratos Solubles** foliares en las 5 plantas cosechadas de cada cultivo justo antes del comienzo del experimento y una vez finalizado el mismo se repitieron las medidas a 5 plantas de las que habían estado sometidas a sequía y a 5 de las que estuvieron regadas. El protocolo de análisis fue el mismo que el ya descrito en el capítulo II (Apdo. 2.2.2).

Otro osmolito analizado fue la **Prolina**. Se determinó la concentración foliar de la misma tras finalizado el tratamiento de sequía a las plantas regadas y en sequía de los dos cultivos. La concentración de prolina se midió mediante espectrofotometría según el método de Bates *et al.* (1973) por reacción colorimétrica de la prolina.

2.3.4. Estado Hídrico

El estado hídrico se determinó mediante medidas de potencial hídrico (ψ) utilizando la cámara de Scholander, y de contenido hídrico relativo (RWC) una vez al

mes mientras duró el experimento, al amanecer y a mediodía solar siguiendo el mismo procedimiento que el detallado en el capítulo anterior (Apdo. 2.3.2. y 2.3.3.)

2.3.5. Seguimiento del Flujo de savia

Para las medidas de flujo de savia se utilizaron 3 plantas de cada tratamiento, resultando un total de 12 plantas. El medidor (T4.2 EMS, Brno, CZ) consta de 12 sensores que van conectados a un registrador de datos que toma cada minuto y promedia cada 15. Las medidas de flujo de savia se realizaron utilizando la técnica del balance de calor (THB) dónde se suministra calor a los tejidos y se calcula la diferencia de temperatura que existe en el punto de calentamiento y por debajo del mismo (Cermák *et al.*, 1973; Kucera *et al.*, 1977). El principio en el que se basa esta técnica es que la energía suministrada se divide entre el calentamiento del agua que pasa por el sistema conductor y las pérdidas de calor, según la ecuación:

$$P = Q \cdot dT \cdot c_w + dT \cdot z$$

Donde **P** es la potencia suministrada (w), **Q** la tasa de flujo de savia (kg s⁻¹), **dT** la diferencia de temperatura entre los puntos de medida (K), **c_w** el calor específico del agua (J kg⁻¹ K⁻¹) y **z** el coeficiente de pérdida de calor en el punto de medida (w K⁻¹). Los sensores constan de un sistema de calentadores que de manera externa calientan la superficie del tallo y dos termopares que se insertan en el tejido en el punto de calentamiento y por debajo de él.

Foto IV. 2. Sensores utilizados para el seguimiento del flujo de savia en planta entera.



Con el fin de evitar que se produzcan interferencias en el sistema por variaciones de temperatura externas, todo el sistema se recubre con un papel de aluminio que minimiza las interferencias (foto IV. 2).

2.3.6. Intercambio gaseoso

Al igual que el resto de las medidas de fisiología las medidas de intercambio gaseoso se hicieron una vez al mes a mediodía solar utilizando el mismo IRGA que en capítulo anterior, en las mismas plantas a las que se les estaba monitorizando el flujo de savia y utilizando el mismo procedimiento descrito en el capítulo anterior (Apdo. 2.3.4).

2.3.7. Fluorescencia de la clorofila

Se realizaron dos tipos de medidas de la fluorescencia de la clorofila. Todas ellas en tres plantas de cada tratamiento cada día de medida, una vez al mes mientras duró el experimento.

- Relación F_v/F_m : A mediodía solar tras adaptar las hojas 30 minutos a oscuridad (F_v/F_m mediodía) y de recuperación, tras mantenerlas 24 horas a saturación acuosa y en oscuridad (F_v/F_m recuperación). Para esta medida se utilizó el fluorímetro **Handy-PEA** (Plant Efficiency Analyser; Hansatech, U.K.)

- Medidas, a mediodía solar, de Φ_{PSII} , ETR, qP , NPQ y $rPPFD$, de la misma manera que en el capítulo anterior (Apdo. 2.3.5). Estas medidas se realizaron utilizando el fluorímetro de luz modulada **Mini-PAM** (Pulse Amplitude Modulation; Walz, Effeltrich, Alemania).

2.3.8. Resistencia a altas temperaturas

Se realizó un experimento de resistencia a altas temperaturas con las plantas sometidas a los distintos tratamientos de sequía con el fin de evaluar si dicho tratamiento confirió una mayor resistencia a las plantas que habían estado sometidas a sequía y si estas tenían distinta respuesta en función de los tratamientos de vivero aplicados. Para ello se cogieron acículas de las plantas de los distintos tratamientos al final del tratamiento de sequía.

Las acículas fueron sometidas a tratamientos de temperatura, sumergiéndolas en un baño termostático dentro de bolsas plásticas midiendo la F_v/F_m tras el tratamiento de calor ($F_v/F_{m_{act}}$) y tras 24 horas a saturación y en oscuridad ($F_v/F_{m_{rec}}$). El tratamiento de temperatura inicial fue de 30° C y se fue aumentando de dos en dos grados hasta llegar a 58° C donde todas las acículas resultaron totalmente dañadas. La duración de los tratamientos fue de 30 minutos siguiendo el procedimiento utilizado en otros experimentos similares (Larcher, 1973; Löscher, 1980; González-Rodríguez, 1998;

Peters, 2001). Para determinar el daño de cada tratamiento, los valores de Fv/Fm se representaron frente a la temperatura. De estos gráficos se derivó la temperatura del daño incipiente (LT10), del daño irreversible (LT50) y del daño total (LT100) como las temperaturas a las que los valores se desviaron un 10, 50 y 100 % de los valores normales, esto es, aquellos obtenidos a 30° C (Piotrowska y Kacperska, 1990; Kacperska y Szaniawski 1993; Manley y Hummel, 1996) utilizando las medidas de Fv/Fm de recuperación.

2.5. Análisis Estadísticos

Las medidas de potencial hídrico, contenido hídrico relativo, intercambio gaseoso y fluorescencia de la clorofila se analizaron aplicando ANOVAs de tres vías con tratamiento, riego y fecha como factores principales, evaluando también las interacciones entre ellos. En los casos donde no se detectaron diferencias entre fechas se unificaron los datos y se analizaron mediante ANOVAs de dos vías con tratamiento y riego como factores, de esta última manera se analizaron también los datos de transpiración total de las plantas.

3. RESULTADOS

3.1. Seguimientos morfológico y fenológico

La tasa de crecimiento de las plantas de ambos cultivos fue bastante similar durante el tiempo que estuvieron mantenidas en macetas siendo ligeramente superior para las del cultivo alternativo de enero a abril.

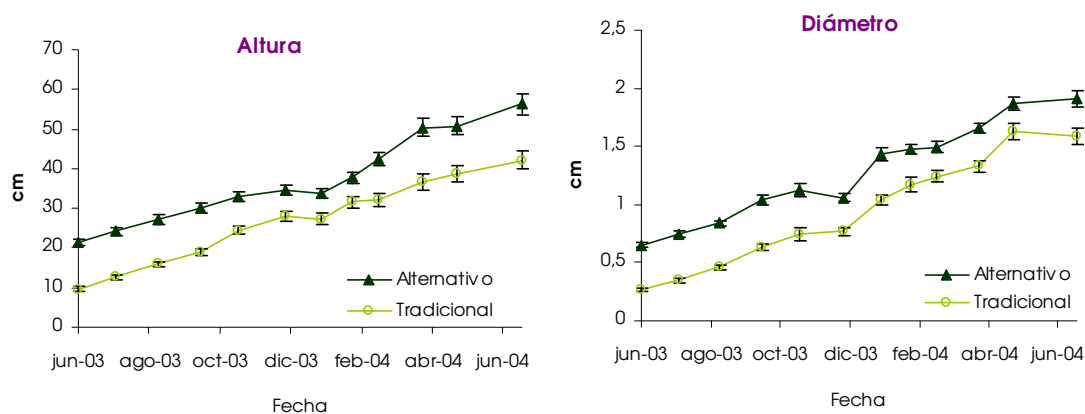


Figura IV.1. Evolución de la altura y el diámetro de las plantas de los tratamientos tradicional y alternativo durante el año previo al experimento de sequía.

Debido principalmente a las diferencias de partida, las plantas del cultivo alternativo alcanzaron los 56 cm de altura media frente a los 42 que alcanzaron las

plantas del cultivo tradicional (Figura IV.1). Con respecto al diámetro, las plantas del cultivo tradicional alcanzaron menores diámetros que las del cultivo alternativo (1,5 frente a 1,9 cm).

El desarrollo fenológico de las plantas también se vio afectado por el tipo de cultivo. Las plantas del cultivo alternativo alcanzaron antes el estado de madurez (Figura IV.2). En ambos cultivos primero se formaron las acículas secundarias y luego las yemas terminales maduras.

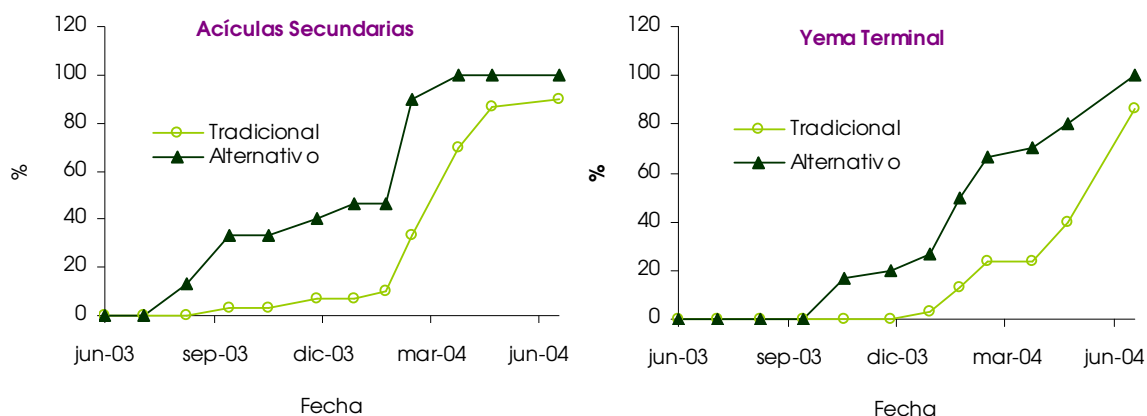


Figura IV.2. Porcentaje de plantas de cada tratamiento que presentan acículas secundarias y yema terminal a lo largo del tiempo.

3.2. Experimento de estrés hídrico

3.2.1. Condiciones climáticas

Las condiciones climáticas a las que estuvieron sometidas las plantas durante el experimento se muestran en la figura IV.3. La temperatura media diaria fue disminuyendo a lo largo del período pasando de los 23 °C hasta temperaturas próximas a 10 °C.

Esta tendencia de descenso no se observó tan claramente en la evapotranspiración potencial que fue muy variable a lo largo del período. La humedad relativa se mantuvo bastante alta exceptuando algunos días de calima o tiempo sur presentando medias mínimas de 35 %. La precipitación a lo largo del periodo fue de 298 mm. EL DPV osciló a lo largo del tiempo variando entre valores cercanos a cero y medias máximas de 1,27 KPa.

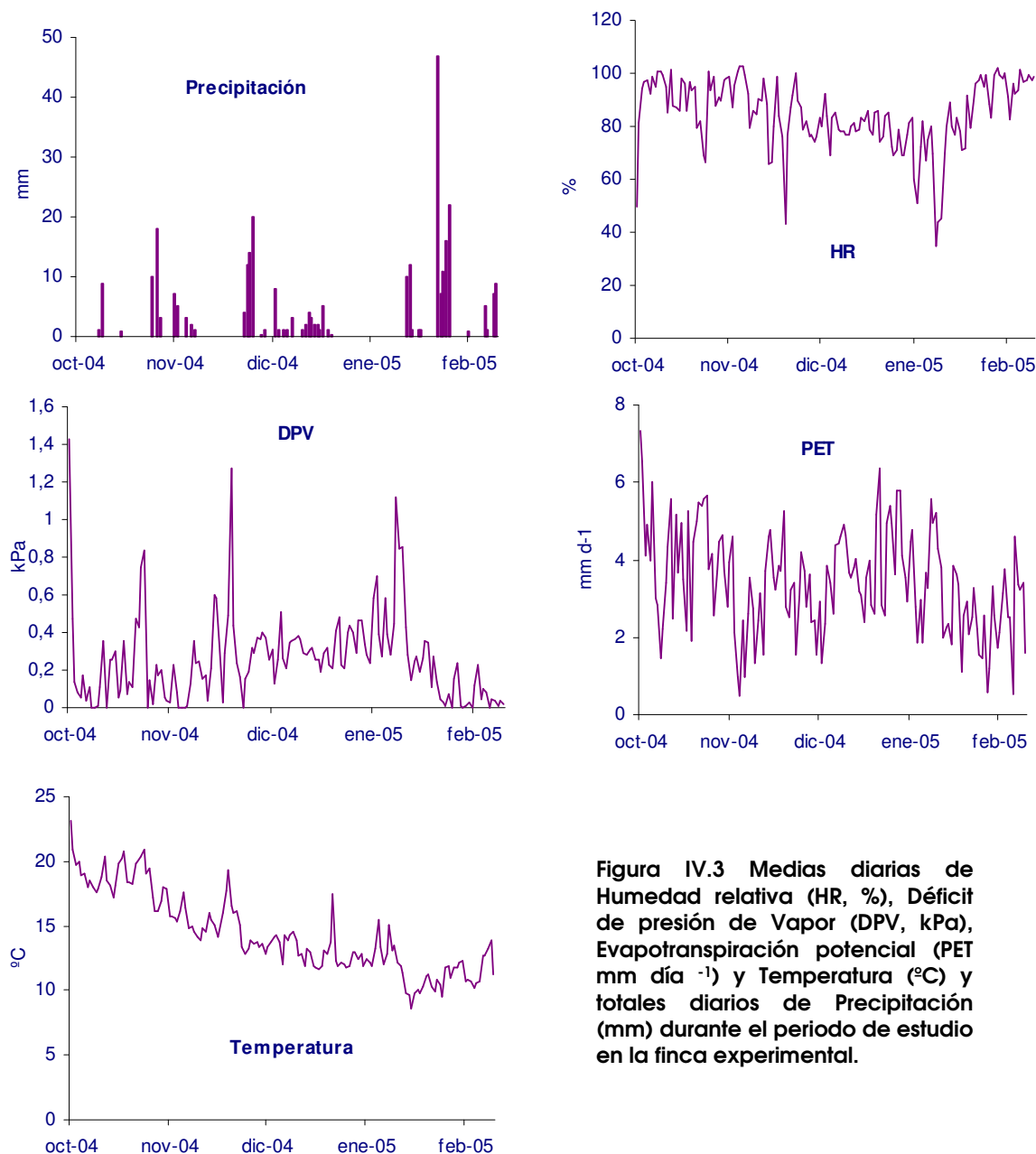


Figura IV.3 Medias diarias de Humedad relativa (HR, %), Déficit de presión de Vapor (DPV, kPa), Evapotranspiración potencial (PET mm día⁻¹) y totales diarios de Precipitación (mm) durante el periodo de estudio en la finca experimental.

Aunque las plantas que estaban en sequía no se regaron y el agua de la lluvia no llegaba al suelo de la maceta porque estaban cubiertas, como ya se explicó anteriormente, la mayor parte del periodo estuvo lloviendo y por tanto las acículas estuvieron la mayoría del tiempo mojadas.

3.2.2. Atributos morfológicos

Las plantas, independientemente del tratamiento de sequía, crecieron durante el periodo que duró el experimento (Figura IV.4). En ambos cultivos se observa una tendencia a que las plantas en sequía crecieron un poco más, pero las diferencias no fueron significativas (Tabla IV.1), mostrando mayores alturas las plantas del cultivo

alternativo. Las diferencias observadas entre cultivos son las mismas antes y después del tratamiento.

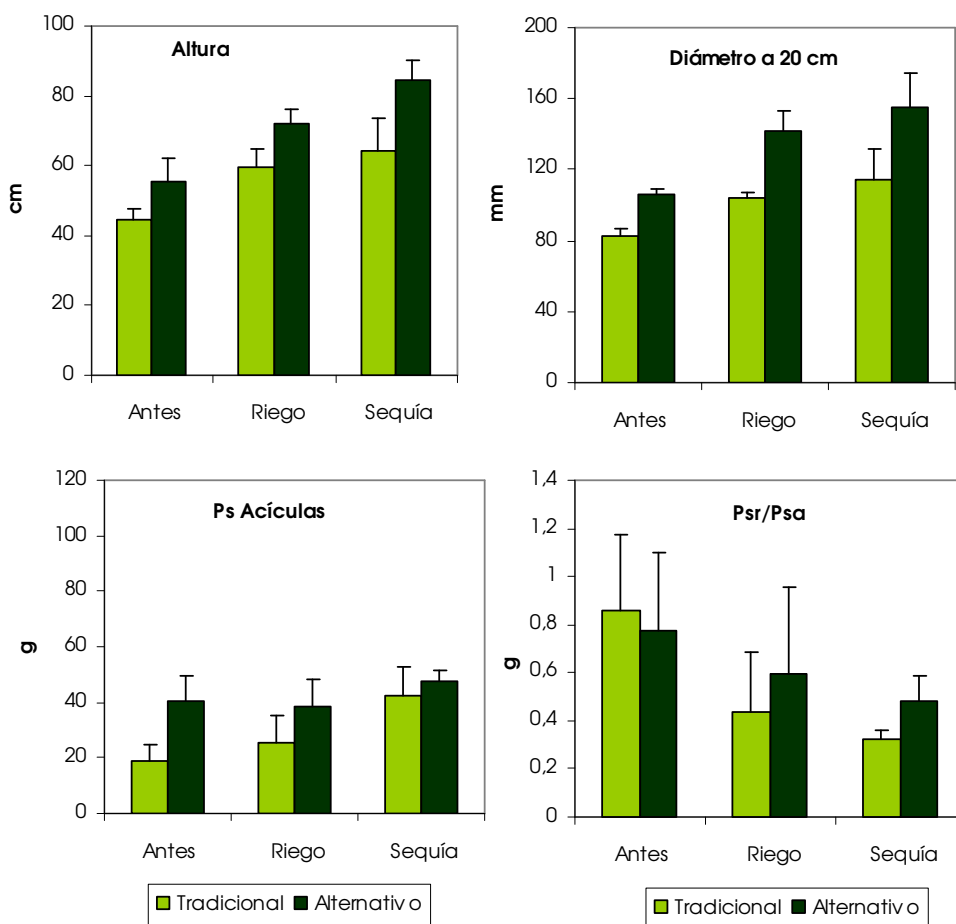


Figura IV.4. Morfología de las plantas, de ambos cultivos, antes y después del tratamiento de sequía, se muestran las medias (columnas) y los errores (barras).

	Tratamiento		Riego		T*R	
	F	p	F	p	F	p
Altura	4,871	*	1,293	ns	0,311	ns
Diámetro	7,045	*	0,667	ns	0,008	ns
Ps Foliar	0,764	ns	1,484	ns	0,141	ns
Psr/Psa	1,474	ns	0,705	ns	0,008	ns

Tabla IV.1. Tabla Anova para los datos de morfología con Tratamiento y Riego como factores. *** ($p \leq 0,001$), ** ($p \leq 0,01$), * ($p \leq 0,05$), ns ($p > 0,05$).

Con respecto al diámetro de las plantas la tendencia fue muy similar a la mostrada por la altura. Para las plantas del cultivo tradicional, las plantas en sequía aumentaron su diámetro 10 mm más que las regadas, y en el cultivo alternativo las regadas crecieron 14 mm menos que las que estaban en sequía alcanzando éstas últimas el valor más alto de diámetro (155 mm) mostrando diferencias débilmente significativas entre cultivos. La variación en los datos de biomasa foliar fue menos

acusada no mostrando diferencias entre tipos de cultivo ni entre tratamientos de sequía. La relación Ps_r/Ps_a se mantuvo más o menos constante antes y después del tratamiento de sequía mostrando un ligero descenso, debido al crecimiento de la parte aérea, pero sin mostrar diferencias significativas y sin presentar diferencias entre cultivos (Tabla IV.1).

3.2.3. Concentración de Osmolitos

La concentración de carbohidratos solubles se incrementó significativamente durante el experimento, mostrando diferencias significativas entre las plantas regadas y no regadas. Antes de empezar el mismo, las plantas presentaron valores bastante bajos de concentración, mientras que tras los 4 meses del experimento, las que se mantuvieron regadas duplicaron su concentración. Las que estuvieron en sequía mostraron el mismo comportamiento independientemente del cultivo al que pertenecían, tanto las del cultivo tradicional como las del alternativo mostraron una concentración 4 veces superior a la encontrada antes de empezar el experimento (Figura IV.4). La prolina a su vez fue algo más alta para las plantas del cultivo alternativo aunque sin mostrar diferencias significativas, además las concentraciones de este osmolito fueron bastante bajas.

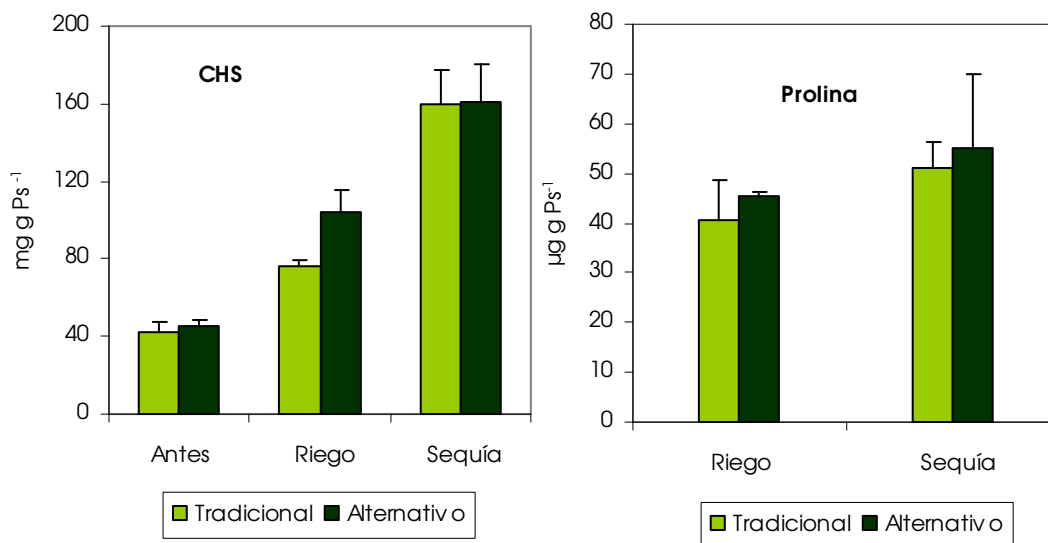


Figura IV.5. Concentración de carbohidratos solubles antes y después del experimento y prolina tras el experimento, para las plantas de los dos cultivos en riego y sequía. Se muestran las medias (columnas) y los errores estándar (barras).

	Tratamiento		Riego		T*R	
	F	p	F	p	F	p
CHS	1,262	ns	27,117	**	1,036	ns
Prolina	0,263	ns	1,264	ns	0,002	ns

Tabla IV.2. Tabla Anova para los datos de Carbohidratos solubles (CHS) y Prolina con Tratamiento y riego como factores. *** ($p \leq 0,001$), ** ($p \leq 0,01$), * ($p \leq 0,05$), ns ($p > 0,05$).

3.2.4. Estado Hídrico

El contenido hídrico relativo de las plantas no sufrió modificaciones con la sequía ni en la medida de mediodía ni en la de amanecer (Figura IV.6), encontrándose al amanecer entre un 85-96 % y ligeramente más bajo en las medidas de mediodía, pero siempre por encima del 75 %. Ninguno de los factores por separado ejerció un efecto significativo en las medidas de contenido hídrico relativo, aunque sí se dieron algunas interacciones entre ellos que se muestran en la tabla IV.3.

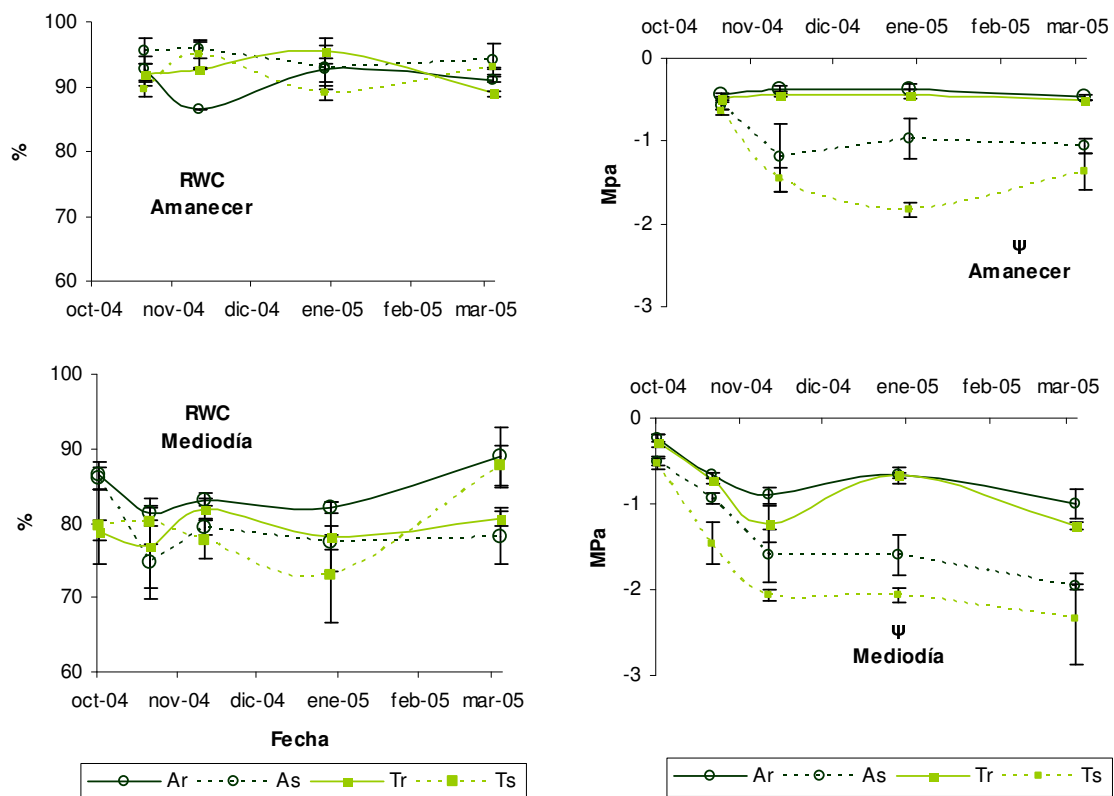


Figura IV.6. Contenido Hídrico Relativo (RWC, %) y Potencial hídrico (ψ , MPa) al amanecer y a mediodía solar para las plantas de los dos cultivos (Tradicional (T), Alternativo (A)) en sequía (s) y regadas (r) a lo largo del experimento.

Sin embargo, el potencial hídrico sí se vió totalmente influido por el tratamiento de sequía, mostrándose las diferencias en el potencial hídrico de mediodía ya desde la primera medida. La medida de amanecer se mantuvo para las plantas regadas de ambos tratamientos sobre los -0,5 MPa durante todo el periodo, mientras que las que estaban en sequía fueron disminuyendo alcanzando un mínimo de -1,5 MPa. La medida de mediodía mostró potenciales más bajos, hasta -2,3 MPa, para las plantas del cultivo tradicional en sequía. El tratamiento tuvo un efecto significativo en los potenciales, mostrando las plantas del cultivo alternativo potenciales menos negativos que las del cultivo tradicional (Tabla IV.3).

	RWC Amanecer		RWC Mediodía		Ψ Amanecer		Ψ Mediodía	
	F	p	F	p	F	p	F	p
Fecha	0,138	ns	2,29	ns	3,677	*	11,70	***
Tratamiento	0,644	ns	0,516	ns	6,24	*	0,019	**
Riego	3,175	ns	2,978	ns	97,91	***	90,55	***
F*T	2,158	ns	0,476	ns	0,857	ns	0,213	ns
F*R	4,893	**	0,239	ns	6,140	**	3,088	ns
T*R	6,508	*	2,646	ns	2,220	ns	0,840	ns
F*T*R	1,444	ns	1,119	ns	0,358	ns	0,651	ns

Tabla IV.3. Resultado de la ANOVA de tres vías aplicada a los datos de Contenido hídrico relativo (RWC) y Potencial Hídrico (Ψ) al amanecer y a mediodía con Fecha, Tratamiento y Riego como factores. *** ($p \leq 0,001$), ** ($p \leq 0,01$), * ($p \leq 0,05$), ns ($p > 0,05$).

3.2.5. Flujo de savia

A partir de los datos diarios de flujo de savia se pudo conocer la transpiración diaria de las plantas que fue bastante variable. La transpiración diaria expresada en función de la biomasa foliar de cada planta durante todo el periodo varió entre 0,04 y 0,175 Kg g Ps⁻¹ con una media de 0,108 Kg g Ps⁻¹ (Figura IV.7).

En ella se puede observar que los valores más altos son alcanzados por las plantas del cultivo alternativo regadas, si bien hay una gran variación según las condiciones evaporativas de cada día. Estas diferencias se observan mejor en un día con alto DPV donde se acentúan las diferencias entre los distintos tratamientos (Figura IV.8). En este día la humedad relativa es bastante baja alcanzando a mediodía valores cercanos al 20 %. En estas condiciones las plantas que se encuentran en sequía transpiran mucho menos que las que tienen riego, haciéndolo un poco más las plantas del cultivo alternativo. Dentro de las plantas regadas también es el cultivo alternativo el que mayores tasas de transpiración alcanzó.

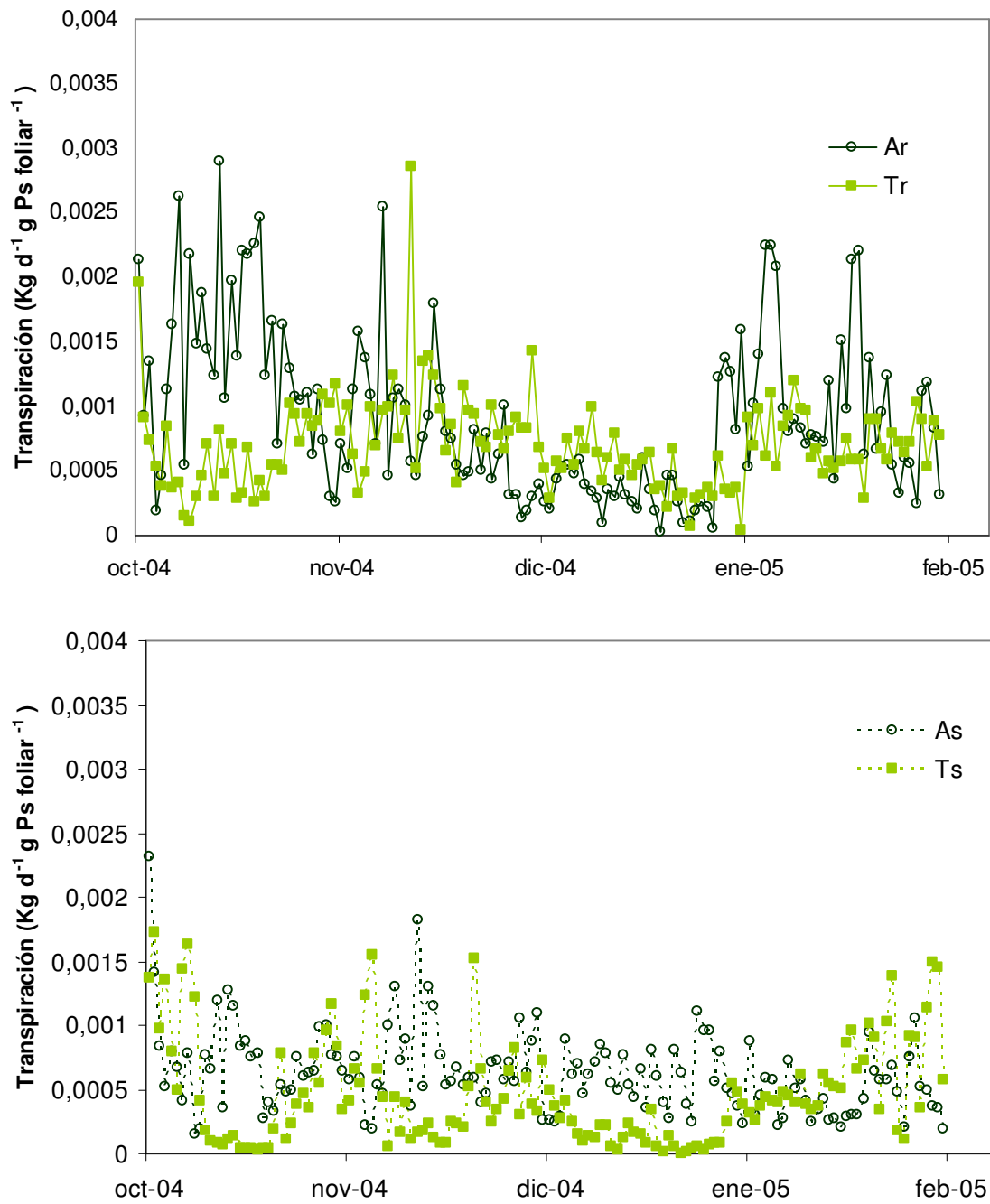


Figura IV. 7. Evolución de la transpiración de las plantas del cultivo tradicional y alternativo tanto en riego (grafica superior) como en sequía (grafica inferior) durante el periodo de estudio.

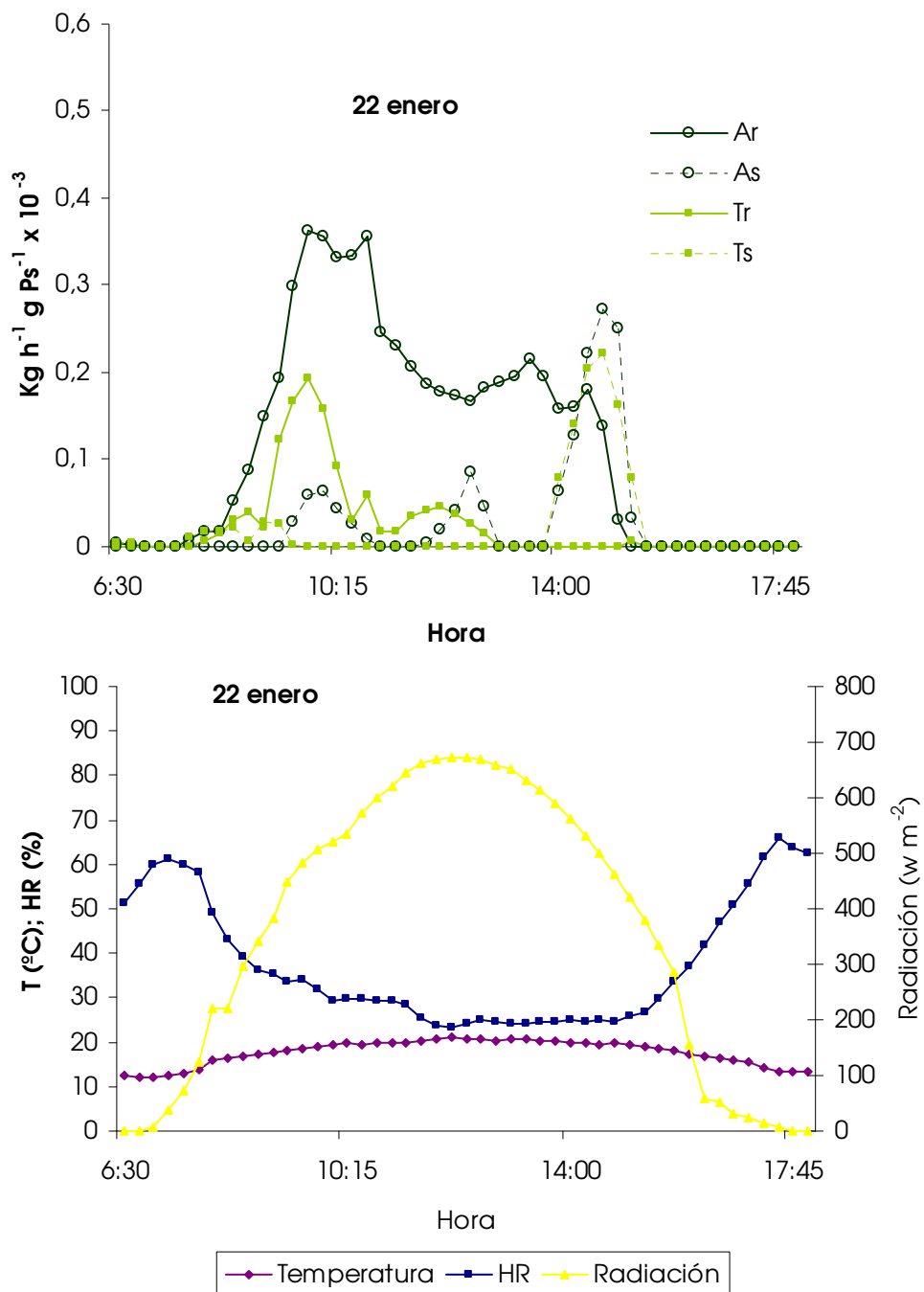
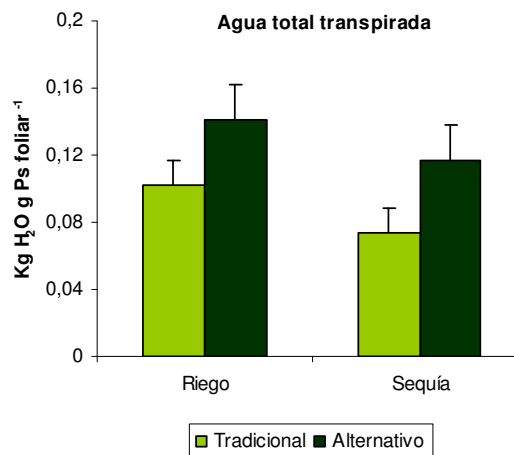


Figura IV.8. Ejemplo del flujo de savia y condiciones climáticas de un día con alto DVP (1,12 kPa) a los 4 meses de iniciado el tratamiento de sequía.

La transpiración total de las plantas durante todo el periodo no se vio afectada por el tratamiento de riego, aún así se observa una tendencia de las plantas a transpirar menos en condiciones de sequía (Figura IV.9), mostrando mayores tasas las plantas del cultivo alternativo. Sí se dieron diferencias débilmente significativas entre los tratamientos de vivero ($p= 0,04$), y no se observó interacción entre el riego y el tratamiento.

Figura IV.9. Media del agua total transpirada ($\text{Kg H}_2\text{O g Ps foliar}^{-1}$) por las plantas de cada tratamiento durante todo el periodo.



La transpiración diaria de las plantas se correlacionó con la evapotranspiración potencial. Las plantas del cultivo alternativo presentaron una correlación fuertemente significativa ($p<0,001$) tanto en sequía como en riego, presentando las regadas mayor coeficiente de correlación. Sin embargo, en las plantas del cultivo tradicional se dió una correlación débilmente significativa con las plantas regadas, pero no con las que se encontraban en sequía

(Figura IV.10).

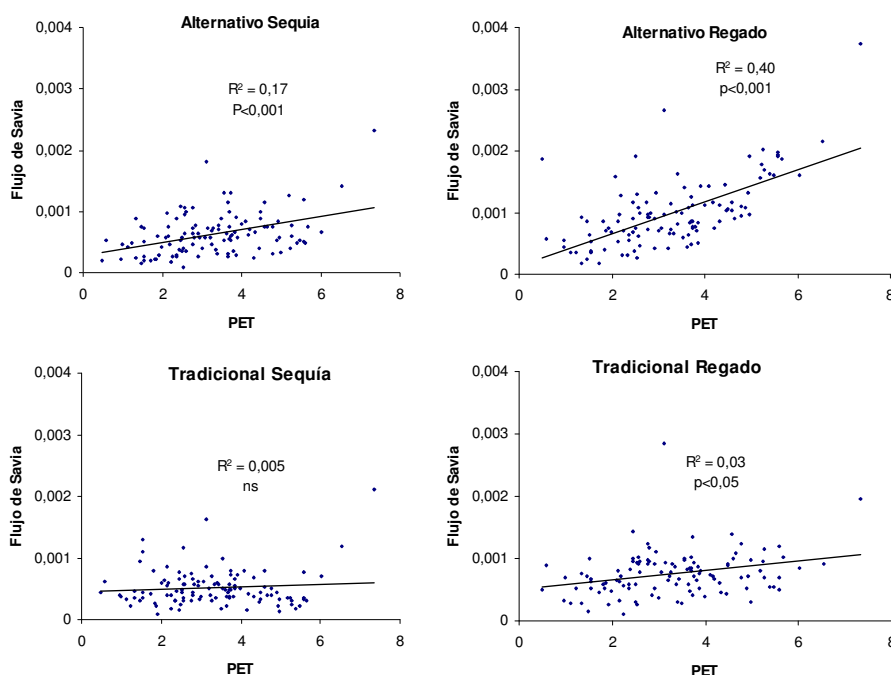


Figura IV.10. Correlaciones entre la media diaria de flujo de savia ($\text{kg H}_2\text{O día}^{-1} \text{ g Ps foliar}^{-1}$) de los distintos tratamientos y la evapotranspiración potencial (mm día^{-1}).

3.2.6. Intercambio Gaseoso

Las medidas de intercambio gaseoso fueron variables durante el periodo, viéndose afectadas principalmente por las condiciones climáticas de los días de medida, donde, aunque todos fueron días soleados en algunos los valores de DPV fueron bastante altos, influyendo en la respuesta puntual de las plantas. Es por ello que se presentan los datos como las medias de cada parámetro para el período (Figura IV.11). Las tasas de A alcanzadas se encontraron dentro de los rangos normales descritos para esta especie, al igual que con la E, gs, y WUE. El análisis estadístico de los datos no reveló que ningunos de los factores analizados (riego y tratamiento) estuviera ejerciendo un efecto significativo en los parámetros medidos (Tabla IV.4), si bien es cierto que se observan ciertas tendencias.

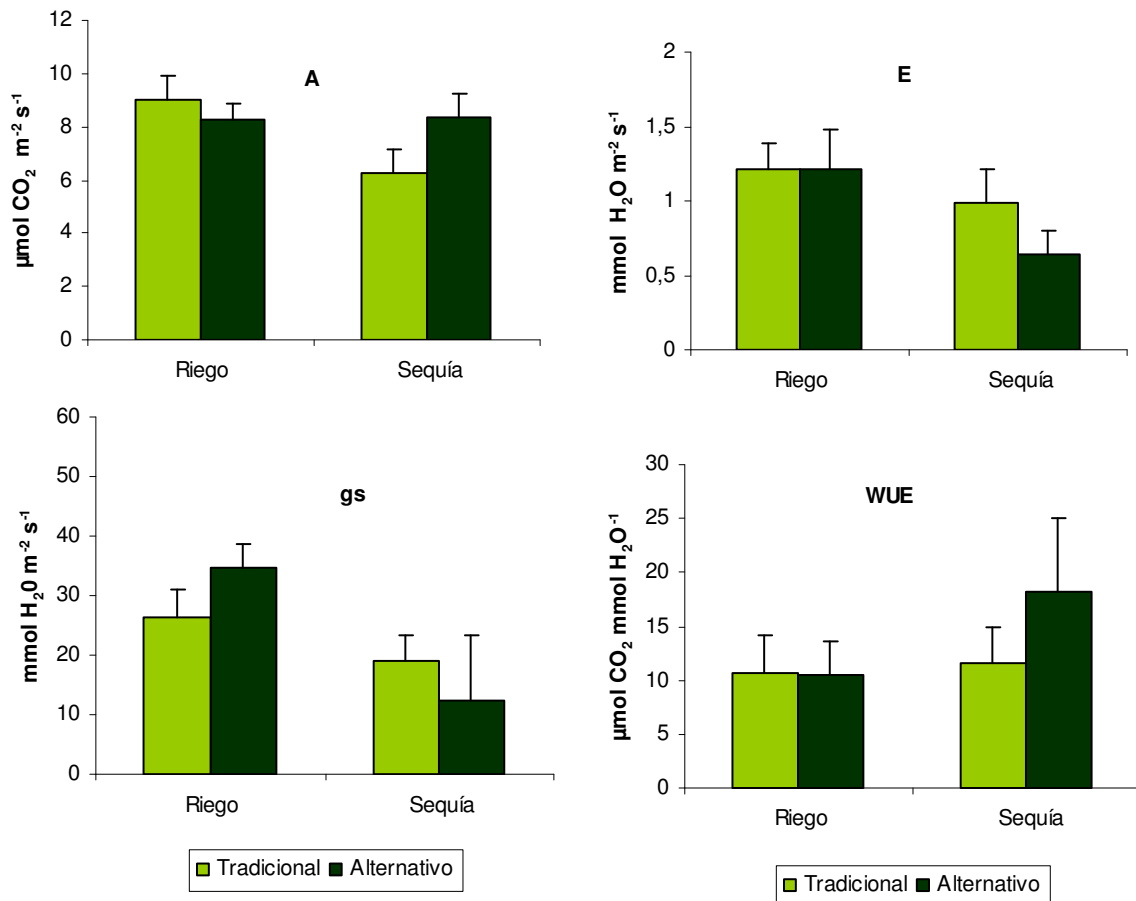


Figura IV.11. Medias y errores para el periodo de los datos de fotosíntesis neta (A), transpiración (E), conductancia estomática, (gs), y eficiencia en el uso de agua (WUE) para las plantas del cultivo tradicional y alternativo en riego y en sequía.

Las tasas fotosintéticas de ambos tratamientos fueron bastante similares para las plantas que estaban bien regadas, presentando las del cultivo alternativo valores

algo superiores en condiciones de sequía. La transpiración media de ambos cultivos fue la misma cuando estuvieron bien regadas mientras que fue superior para las plantas del cultivo alternativo cuando estaban en sequía. Con respecto a la conductancia estomática, los valores de las plantas regadas fueron superiores a los de las plantas en sequía, y dentro de éstas últimas las del cultivo alternativo presentaron mayor cierre estomático, dándose la tendencia opuesta en el caso del riego. Finalmente, los valores de WUE fueron, al igual que ocurrió con la transpiración, casi idénticos para ambos tratamientos en condiciones de riego, mientras que en sequía las plantas del cultivo alternativo mostraron una tendencia a ser más eficientes en el uso del agua.

	A		E		gs		WUE	
	F	p	F	p	F	p	F	p
Riego	1,603	ns	4,665	ns	3,740	ns	2,557	ns
Tratamiento	0,003	ns	0,252	ns	0,111	ns	0,819	ns
R*T	0,216	ns	0,792	ns	0,677	ns	0,544	ns

Tabla IV.5. ANOVA de dos vías aplicada a los datos de Fotosíntesis (A), Transpiración (E), conductancia estomática (gs) y eficiencia en el uso del agua (WUE) con tratamiento y riego como factores. *** ($p \leq 0,001$), ** ($p \leq 0,01$), * ($p \leq 0,05$), ns ($p > 0,05$).

3.2.7. Fluorescencia de la clorofila

La relación Fv/Fm no mostró diferencias entre fechas por lo que, al igual que los datos de intercambio gaseoso, se muestran las medias por tratamiento y riego de las plantas durante el periodo (Figura IV.12). Los valores se mantuvieron en todo momento por encima del valor de 0,75, por debajo del cual comienza a haber daño en el aparato fotosintético.

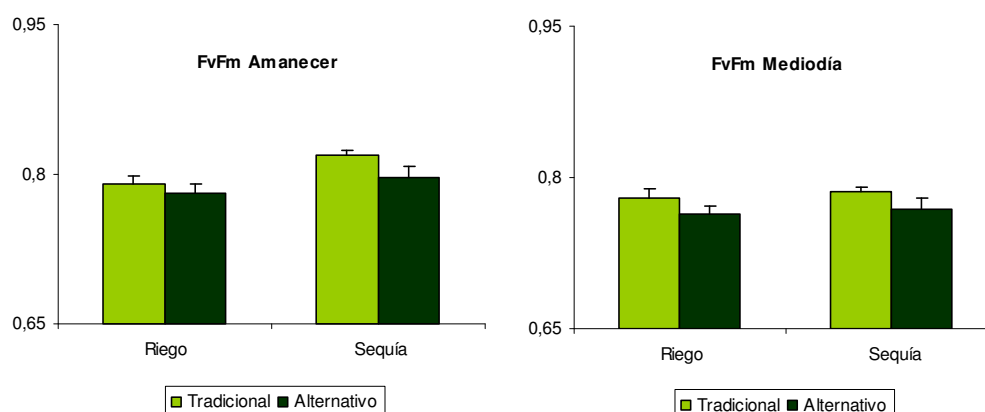


Figura IV.12. Medias para el periodo de los datos de Fv/Fm de Amanecer y de mediodía para las plantas del cultivo tradicional y alternativo en riego y en sequía. Se muestran las medias y los errores estándar.

Esta relación mostró diferencias significativas entre tratamientos tanto en las medidas de mediodía como en las de amanecer (Tabla IV.6), mostrando las plantas del cultivo alternativo valores algo superiores. Sin embargo, no se observaron diferencias dependiendo del riego en los valores de mediodía, pero sí en los de amanecer, mostrando una vez más valores ligeramente superiores las plantas del cultivo alternativo.

	Riego		Tratamiento		R*T	
	F	p	F	p	F	p
Φ PSII	0,05	ns	0,06	ns	0,27	ns
ETR	0,58	ns	0,12	ns	1,80	ns
qP	0,98	ns	0,72	ns	0,25	ns
NPQ	0,38	ns	0,35	ns	0,00	ns
Fv/Fm Rec	6,00	*	5,34	*	0,62	ns
Fv/Fm Mediodía	0,38	ns	13,04	*	0,12	ns

Tabla IV.6 ANOVA de dos vías aplicada a los datos de eficiencia cuántica del fotosistema II (Φ PSII), transporte electrónico (ETR), quenching fotoquímico (qP), quenching fotoquímico (NPQ), Fv/Fm de amanecer y de mediodía, con tratamiento y riego como factores. *** ($p \leq 0,001$), ** ($p \leq 0,01$), * ($p \leq 0,05$), ns ($p > 0,05$).

Los valores de fluorescencia obtenidos en condiciones de luz ambiental a mediodía (Φ PSII, ETR, qP, NPQ) no se vieron influidos por ninguno de los factores (Fecha, Tratamiento, Riego) (Tabla IV.6). Los valores obtenidos estuvieron dentro de los rangos normales.

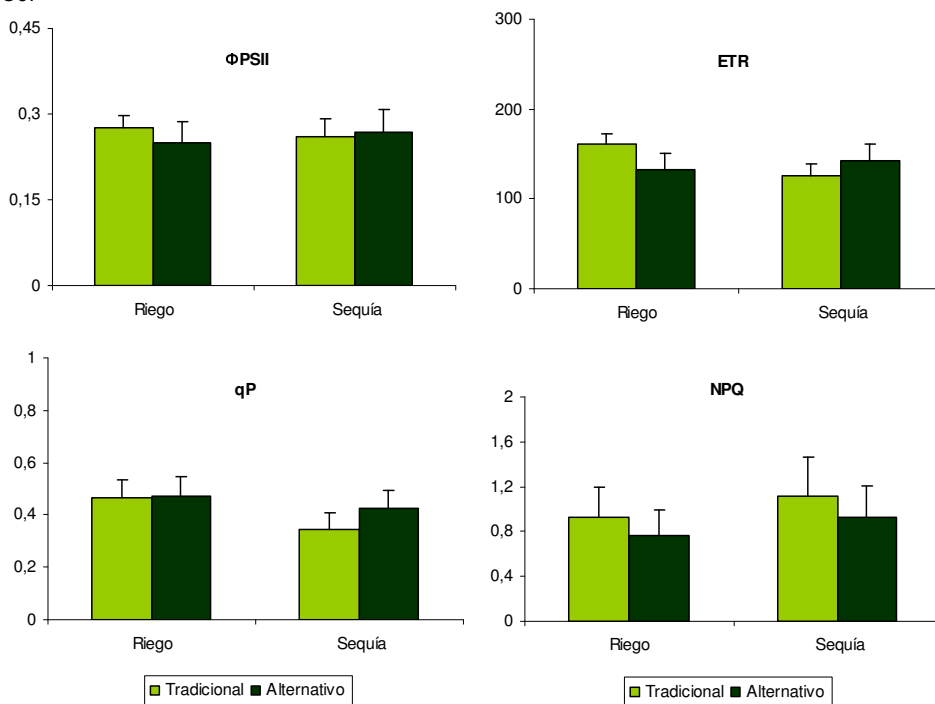


Figura IV.13. Medias para el periodo de los datos de eficiencia cuántica del fotosistema II (Φ PSII), transporte electrónico (ETR), quenching fotoquímico (qP) y quenching no fotoquímico (NPQ) para las plantas del cultivo tradicional y alternativo en riego y en sequía. Se muestran las medias y los errores estándar.

3.2.8. Resistencia a altas temperaturas

Los valores de F_v/F_m de las plantas tras los tratamientos de temperatura se muestran en la figura IV.14. Vemos como estos valores van desviándose de los normales a medida que la temperatura es más alta. La respuesta fue similar en todos los casos, pero las desviaciones comenzaron a producirse a distintas temperaturas según el tipo de cultivo. Considerando los datos más estables, los de recuperación tras 24 horas, es a partir de ellos con los que se calcularon los daños que se representan en la tabla IV.7. Con respecto al tratamiento de riego, éste tuvo un efecto significativo en el daño irreversible LT_{50} y en el daño total LT_{100} (Tabla IV.8), presentando mayor resistencia las plantas que habían estado sometidas al tratamiento de sequía. Las plantas no mostraron diferencias significativas en el daño incipiente ni en el total entre tipos de cultivo pero si en la temperatura donde se produjo el daño irreversible (LT_{50}) siendo más resistentes las del cultivo alternativo y dentro de éste las que estaban en sequía.

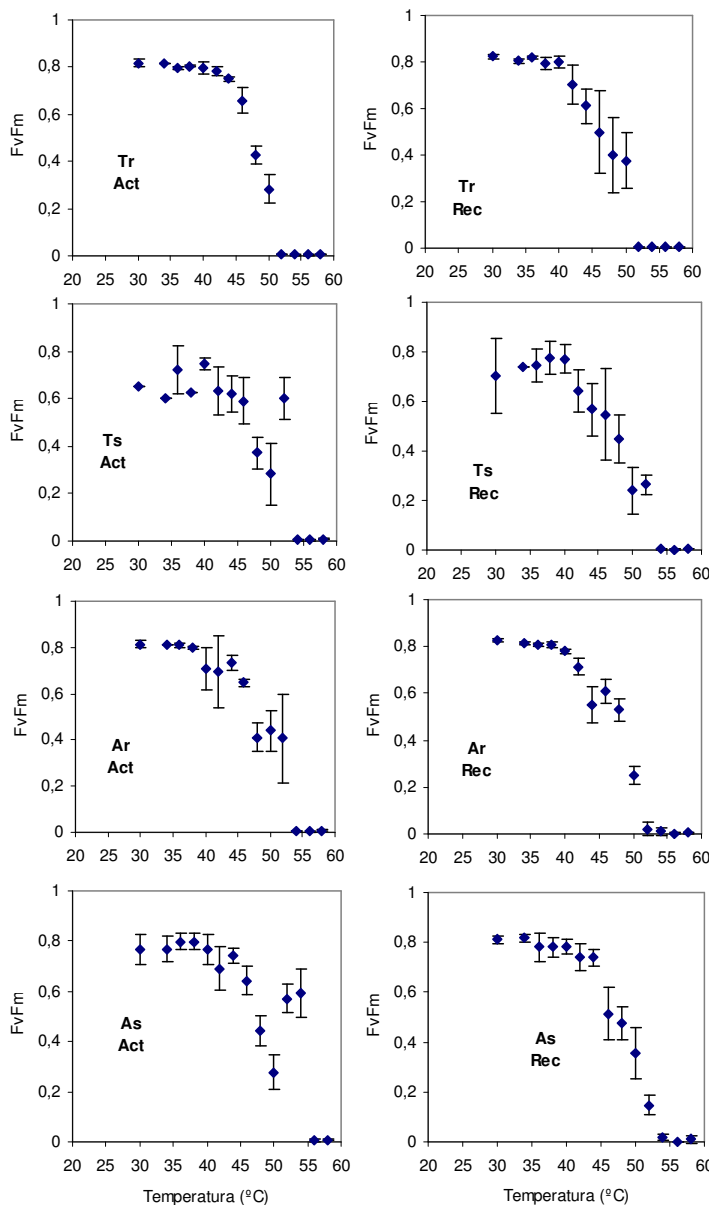


Figura IV.14. F_v/F_m medida justo después del tratamiento de temperatura (Act) y tras 24 horas a saturación y en oscuridad (Rec) en relación con la temperatura de cada tratamiento para las plantas del cultivo alternativo (A) y tradicional (T) en riego (r) y en sequía (s). Se muestran las medias y los errores.

	LT ₁₀	LT ₅₀	LT ₁₀₀
Tr	43,0 ± 0,58	46,3 ± 0,67	52,0 ± 0,00
Ts	43,0 ± 1,78	48,8 ± 0,44	54,0 ± 0,00
Ar	43,3 ± 0,67	48,3 ± 0,33	52,3 ± 0,33
As	44,3 ± 0,67	49,0 ± 0,58	55,0 ± 0,58

Tabla IV.7. Temperaturas (° C) a las que se produce el daño incipiente (LT₁₀), daño irreversible (LT₅₀) y daño total (LT₁₀₀) en las acículas de las plantas del tratamiento tradicional regado (Tr), tradicional en sequía (Ts), alternativo regado (Ar) y alternativo en sequía (As), basadas en los valores de Fv/Fm de recuperación.

	Tratamiento		Riego		T*R	
	F	p	F	p	F	p
LT10	0,645	ns	0,232	ns	0,232	ns
LT50	7,410	*	5,769	*	1,256	ns
LT100	4,000	ns	49,000	**	1,000	ns

Tabla IV.8. ANOVA de dos vías aplicada a los datos de daño incipiente (LT₁₀), daño irreversible (LT₅₀) y daño total (LT₁₀₀). *** (p≤0,001), ** (p≤0,01), * (p≤0,05), ns (p> 0,05).

4. DISCUSIÓN

4.1. Seguimiento morfológico y fenológico

Al hacer un seguimiento en maceta con plantas de los mismos lotes que las llevadas al campo, hemos podido constatar que durante un año de seguimiento, las plantas de ambos tipos de cultivo mostraron tasas de crecimiento similares, aunque ligeramente superior las del alternativo en el periodo donde dio el mayor crecimiento (desde enero a abril), lo que hizo que este lote de plantas, que ya tenía mayor altura de partida, alcanzaran una altura final mayor de igual manera que ocurrió con el diámetro. Al comparar esta respuesta con los resultados obtenidos en campo vemos que es similar, alcanzando mayores alturas las plantas del cultivo alternativo, quedando así constatado que la altura inicial influye en el crecimiento de las plantas.

Al igual que ocurrió en el campo, el desarrollo fenológico fue claramente diferente entre los dos tipos de cultivo. Las plantas del cultivo alternativo, con un mayor porte desarrollaron antes las nuevas acículas y las yemas terminales maduras. También en condiciones controladas, el cambio de fase se dio cuando las plantas presentaron alturas cercanas a los 43 cm, descritos por Climent *et al.* (2006a) como valor umbral a partir del cual se produce dicho cambio de estado.

4.2. Experimento de estrés hídrico

Al realizar el experimento de sequía con las mismas plantas durante los siguientes meses, pudimos constatar que las diferencias morfológicas continuaron. Las plantas del cultivo alternativo no sólo presentaron una mayor altura y diámetro, sino

también mayor biomasa aérea y radical, sin afectar a ninguno de estos parámetros el tratamiento de sequía impuesto. Hay que hacer notar que este tratamiento se realizó durante los meses de octubre a febrero de un año que fue bastante lluvioso. Aunque las plantas estuvieron protegidas con plásticos microperforados para evitar que el agua de lluvia llegara a la maceta, el agua sí llegaba a las acículas y aunque existía una sequía edáfica, la mayoría de los días no había sequía ambiental por lo que no afectó de una manera significativa al crecimiento.

Este agua de lluvia pudo ser absorbida por las acículas y reestablecer de esta manera su contenido hídrico como se ha visto que ocurre en otras plantas con el rocío (Waisel, 1958; Boucher *et al.*, 1995; Munné-Bosch y Alegre, 1999) por lo que no se detectaron variaciones en el contenido hídrico relativo de las plantas debido al tratamiento de riego. El contenido hídrico relativo tampoco varió significativamente entre cultivos. En todo el periodo se mantuvo por encima del 70% incluso a mediodía, lo que indica que el estrés al que estuvieron sometidas estas plantas no fue en ningún momento severo (Cornic y Massaci, 1996; Chaves *et al.*, 2002; Chaves y Oliveira, 2004), concordando estos datos con los obtenidos en el campo (capítulo III), donde aunque hubo sequía edáfica, las nieblas matutinas que se dieron en la parcela mantuvieron alto el contenido hídrico en las hojas.

A pesar de ello se dio cierto grado de ajuste osmótico, en el que claramente no intervino la prolina. Aunque es un osmolito frecuente en este tipo de respuesta (Hayashi *et al.*, 2000; Sakamoto y Murata, 2002; Rontein *et al.*, 2002; Yin *et al.*, 2005), las concentraciones encontradas no fueron lo suficientemente altas como para que estuviera interviniendo como regulador en este proceso, sin mostrar diferencias de concentraciones entre tratamientos de riego. También es cierto que en las condiciones del experimento, quizás el estrés no fuera lo suficientemente restrictivo como para que se diera esta acumulación (Collet y Guehl, 1997; Shangguan *et al.*, 1999). Los azúcares solubles, sin embargo, sí que incrementaron su concentración con el tratamiento de sequía hasta casi el doble, como se ha observado en otros trabajos (Ludlow *et al.*, 1980; Munns y Weir, 1981; Quick *et al.*, 1992; Picon-Cochard y Guehl, 1999).

El potencial hídrico mostró diferencias entre los tipos de cultivo a lo largo del tiempo, tanto en los medidos al amanecer como en los del mediodía, produciéndose una disminución en las plantas que se encontraban en sequía, respuesta que es normal en la mayoría de las plantas (Thomas y Eamus, 1999; Chaves y Oliveira, 2004; Ohashi *et al.*, 2006; Subrahmanyam *et al.*, 2006), siendo esta disminución significativamente mayor en las plantas del cultivo tradicional. Este hecho pudo ser debido al mayor porte presentado por las plantas de cultivo alternativo de igual manera que se constató en las medias realizadas en el campo.

Aunque a nivel de acículas, no se encontraron diferencias significativas entre las plantas regadas y no regadas en los parámetros de intercambio gaseoso, si se pudieron encontrar a nivel de planta entera, siendo esta una medida integral del comportamiento de la planta (Cermák *et al.*, 2004). Así se pudo constatar la disminución de la transpiración en las plantas sometidas a sequía y cómo esta disminución fue mayor en las que tenían el potencial hídrico más bajo, es decir en las del cultivo tradicional. Aunque en general, el pino canario presenta una estrategia evitadora frente al estrés hídrico (Morales *et al.*, 1999), las diferencias entre tipos de cultivo se acentuaron cuando las condiciones fueron más estresantes, mostrando las plantas del cultivo tradicional en general una estrategia más conservadora (menor pérdida de agua) que las del cultivo alternativo a la hora de responder frente a condiciones climáticas y edáficas cambiantes. La ausencia de correlación entre la evapotranspiración potencial y la pérdida de agua por transpiración en las plantas del cultivo tradicional, manteniendo valores siempre muy bajos, indica un excesivo control de la misma que aunque no se pusieron de manifiesto en los valores de conductancia estomática a nivel de hoja, sí indica este tipo de comportamiento menos arriesgado de perder menos agua aunque sea a costa de también tomar menos CO₂ con la consiguiente merma del crecimiento.

Las medidas de fluorescencia de la clorofila en condiciones de luz ambiental a mediodía no dieron diferencias significativas ni entre los tratamientos de riego ni entre los tipos de cultivo. Los valores la relación Fv/Fm, aunque se mantuvieron en todo momento por encima del 0,75, valor límite general para considerar que las plantas no se encuentran sometidas a condiciones de estrés (Bolhár-Nordenkampf y Öquist, 1993), fueron significativamente superiores para las plantas del cultivo alternativo tanto a mediodía solar como en las medidas de recuperación, poniendo de manifiesto un mejor estado del aparato fotosintético en esta plantas. Las plantas regadas mostraron, como era de esperar, mayores valores que las que estuvieron en sequía para ambos tratamientos.

El estrés hídrico potenció una mayor capacidad para resistir condiciones de altas temperaturas. Este resultado ilustra la naturaleza dinámica del PSII que es capaz de incrementar su termotolerancia en respuesta de varios estímulos ambientales, tales como la luz, el déficit hídrico, o las condiciones suaves de calor (Havaux y Strasser, 1992; Ladjal *et al.*, 2000; Ghouil *et al.*, 2003). Las plantas sometidas a estrés hídrico presentaron valores de LT10, LT50 y LT100 mayores que las regadas y este fenómeno se potenció más en las del cultivo alternativo. Esto puede ser extremadamente importante para la supervivencia de las plantas en un ambiente cálido. En el campo, el estrés por calor es normalmente progresivo (y por lo tanto precedido de una fase de temperaturas moderadamente altas) y en la mayoría de los casos está acompañado

por estrés hídrico y altas irradiancias solares que son susceptibles de endurecer el PSII. Aunque en las condiciones naturales en que se desarrolla el pino canario no son frecuentes las temperaturas por encima de 42 °C, en momentos de gran insolación y baja transpiración, las acículas sí pueden llegar a calentarse en exceso, por lo tanto esta mayor capacidad de resistencia en las acículas de las plantas del cultivo alternativo pueden suponer una mejor adaptación para resistir estas temperaturas extremas y no comprometer la supervivencia de la planta.

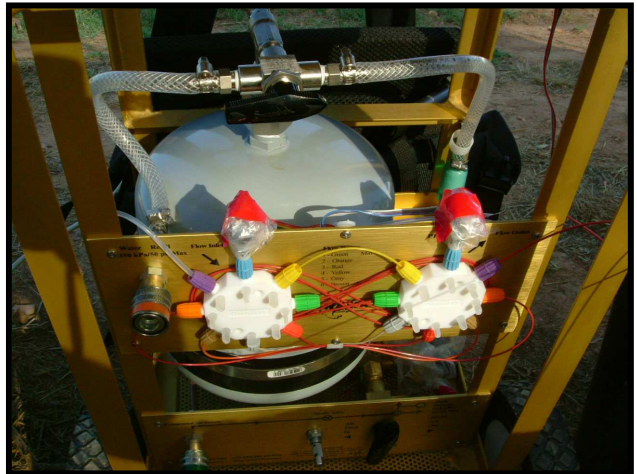
5. CONCLUSIONES

Las diferencias morfológicas a la salida de vivero, se mantuvieron incluso durante más de un año de cultivo en maceta. Tanto la morfología como el desarrollo fenológico de las plantas crecidas en maceta siguieron el mismo patrón que el observado por las crecidas en el campo. Las plantas del cultivo alternativo alcanzaron mayor altura y diámetro, mostrando mayores incrementos para ambos parámetros alcanzando antes el estado de madurez, lo que les puede conferir una mayor resistencia a condiciones de estrés durante las primeras etapas.

En las condiciones de estrés hídrico edáfico, provocado en el experimento de sequía, las plantas presentaron un ajuste osmótico por medio de la acumulación de carbohidratos solubles en sus acículas, sin intervenir la prolina. Este ajuste fue similar en los dos tipos de cultivo.

Bajo las condiciones de sequía edáfica del experimento, las plantas del cultivo tradicional, mostraron un comportamiento menos arriesgado que las del cultivo alternativo, con valores más bajos de potencial hídrico y de transpiración total por planta, que se mantuvo muy baja incluso en las condiciones de mayor demanda evaporativa. Esto que supone una buena defensa frente al estrés hídrico, influyó de manera negativa en el crecimiento.

Las plantas del cultivo alternativo desarrollaron una mayor capacidad de soportar altas temperaturas bajo condiciones de estrés hídrico que las tradicionales, lo que puede suponer una ventaja para su supervivencia en las zonas de repoblación de la vertiente sur de las Islas donde las temperaturas pueden ser considerablemente altas en momento puntuales.



*Capítulo V.
Modificación de la Arquitectura
Hidráulica mediante Fertilización y
Sombreo*

*“La mejor estructura no garantizará los resultados ni el
rendimiento, pero la estructura equivocada es una garantía de
fracaso”
Peter Drucker*

1. INTRODUCCIÓN

1.2. Manipulación de las características morfofuncionales mediante técnicas de vivero

La fertilización es una técnica viverística ampliamente aplicada para modificar las características morfofuncionales de las plantas (Domínguez-Lerena, 2000; Oliet *et al.*, 2003, 2005). Una elevada fertilización nitrogenada fomenta un mayor desarrollo de la parte aérea de la planta, tanto en altura como en área foliar, en detrimento de la radical, disminuyendo así la relación Psr/Psa (Oliet *et al.*, 1997; Villar-Salvador *et al.*, 2004, Vilagrosa *et al.*, 2004). Hay autores que indican que estas variaciones hacen a la planta menos resistente a la sequía (Tan y Hogan, 1995; Leiva y Fernández-Ales, 1998). Los resultados obtenidos hasta el momento en esta memoria, tanto en la fase de campo, como en el experimento en maceta no han mostrado que la fertilización haya supuesto ninguna desventaja a las plantas, sino más bien la tendencia opuesta.

Otro tratamiento que modifica sustancialmente la morfología de las plantas durante la fase de cultivo es el sombreado (José *et al.*, 2003; Fownes y Harrington, 2004; Climent *et al.*, 2006b). Las plantas cultivadas bajo menores intensidades de luz son más esbeltas, es decir, la relación entre diámetro y altura disminuye, presentando menores diámetros en el cuello de la raíz y mayores alturas y áreas foliares (Mitchell, 2003; Luis, 2000; Peters *et al.*, 2001) para optimizar la captación de luz, siendo estas variaciones son similares a las originadas por la fertilización nitrogenada (Villar-Salvador *et al.*, 2004). Aunque se ha visto que estas características podrían reducir la tolerancia frente al estrés hídrico (Aranda *et al.*, 2001), también hay otros autores que han observado que el sombreado puede mejorar el crecimiento y la supervivencia de las plántulas en zonas secas (Holmgren, 2000). Tal y como ha sido observado en otras especies, estas variaciones morfológicas originadas por la fertilización y el sombreado pueden modificar la arquitectura hidráulica de la planta, así como su capacidad de transporte de agua e intercambio gaseoso (Krasowski y Caputa, 2005; Hernández *et al.*, 2006, Trubat *et al.*, 2006).

1.2. Arquitectura hidráulica de la planta

Como ya se ha venido mencionando a lo largo de esta memoria una de las mayores limitaciones que tienen las plantas a la hora de establecerse en el campo es la capacidad de suministro de agua por la raíz. La capacidad de absorción de agua no sólo depende de la cantidad de raíces que la planta tenga, sino de su morfología, de la profundidad a la que llegue el sistema radical, del tipo de ramificación que presenta, de la cantidad de raíces menores de 2 mm, que son las que tienen función absorbente, etc, es decir, del diseño del sistema conductor y de la capacidad de transporte que tenga dicho sistema para elevar el agua hacia las hojas por las distintas partes de la planta (arquitectura hidráulica). El diseño hidráulico de las plantas influye

pues en el suministro de agua desde las raíces hasta las hojas; por lo tanto diferentes diseños hidráulicos pueden tener diferentes consecuencias en el suministro de agua (Tyree y Ewers, 1991; Menzier *et al.*, 1995; Sperry, 2000). Este diseño viene dado por una serie de variables de la arquitectura hidráulica de la planta (Zimmermann y Brown, 1971) y diversos trabajos han demostrado que la capacidad de transporte de agua determina diferentes adaptaciones de las especies a la sequía (Tyree *et al.*, 1993; Villar-Salvador, 1997; Abril y Hanano, 1998; Becker *et al.*, 1999; Nardini y Tyree, 1999). La arquitectura hidráulica se ve condicionada, entre otros factores, por el sistema de cultivo empleado (fertilización, sombreado, etc.) y por lo tanto se puede manipular mediante técnicas viverísticas (Vilagrosa, 2002). En ambientes con fuertes restricciones hídricas, como es el mediterráneo, las plantas deben desarrollar estrategias que sean lo más eficientes posibles para mejorar la absorción y transporte del agua (Levit, 1980; Larcher, 1995), ya que la supervivencia de éstas depende en gran medida de la disponibilidad de agua que tengan (Cortina *et al.*, 2004). Dado que la mayor mortalidad de plantas se produce durante el primer periodo de sequía al que se ven sometidas las plantas tras el paso a campo, (Vilagrosa *et al.*, 1997; Vallejo y Alloza, 1998, Luis *et al.*, 2000), es éste uno de los momentos fundamentales donde tener una elevada capacidad de suministro de agua a las hojas juega un papel fundamental. La trascendencia del transporte de agua por el tallo es, por tanto, evidente por su influencia en el estado hídrico de las hojas, donde tienen lugar procesos tan importantes como el intercambio gaseoso o la fijación de carbono, que están determinados por el estado hídrico foliar (Hsiao, 1973) y son vitales a la hora del establecimiento de la planta en el campo.

1.3. Conductancia hidráulica y respuesta en campo

El concepto de continuo suelo-planta-atmósfera (SPAC) analiza el flujo de agua en los vegetales terrestres como un proceso dinámico desde el suelo hasta la atmósfera. El agua asciende desde el suelo hasta las hojas de la planta y es allí donde tienen lugar los fenómenos de intercambio gaseoso (fotosíntesis y transpiración). Para que el agua pueda subir desde el suelo hasta las hojas a través de las raíces y tallos por los tejidos del xilema, es necesaria una fuerza que la conduzca hacia arriba, explicándose este proceso mediante la teoría de la tensión-cohesión (Böhm, 1983).

En el transporte de agua intervienen dos factores, una fuerza conductora, que está originada por un gradiente de potencial entre el suelo y la atmósfera, y en segundo lugar la conductancia, que es inversamente proporcional a la resistencia que pone el xilema al paso del agua. La capacidad de transporte de agua por el xilema recibe el nombre de **conductancia hidráulica (K_H)**. Esta variable mide el flujo de agua (Kg) expresado como gradiente de presión (MPa) por unidad de tiempo. Esta

constante nos define adecuadamente la cantidad de agua que puede atravesar una determinada estructura (raíz, tallo, pecíolo). En términos prácticos, cuanto mayor sea el valor de esta variable mayor será el abastecimiento de agua al resto de la planta a través de esta parte del sistema conductor. Como este parámetro puede verse influenciado por características anatómicas (tamaño de vasos, área del xilema, etc.) se utiliza la **conductancia hidráulica específica K_s** , que se obtiene tras dividirla por el área de la sección transversal del tallo. Normalmente para realizar estudios comparativos se estandariza la conductancia hidráulica en función de la superficie foliar, pasando a llamarse conductancia hidráulica específica foliar, o **conductancia específica foliar K_L** o en función de la superficie absorbente de la raíz, denominándose **conductancia específica radical K_R** . Todas estas conductancias cuando se expresan en función de la longitud del segmento medido, se denominan conductividades.

1.4. Objetivos

Por todo lo mencionado anteriormente partimos de la hipótesis de que la fertilización y el sombreado modifican las características morfofuncionales de las plantas modificando su conductancia hidráulica, las tasas de fotosíntesis neta y la eficiencia en el uso del agua. Para demostrarlo nos marcamos los siguientes objetivos:

1. Evaluar cómo la fertilización y el sombreado modifican la morfología de la planta y la distribución de la biomasa.
2. Estudiar cómo estos cambios morfológicos afectan a la fisiología de la planta en términos de conductancia hidráulica y su influencia en la fotosíntesis y eficiencia en el uso del agua.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Diseño experimental

Este experimento se realizó en el Centro de Estudios Ambientales del Mediterráneo (CEAM) de Alicante. Para llevarlo a cabo se partió del mismo material vegetal que el empleado en las demás fases del trabajo. Las semillas de pino canario (Procedencia FS-27/01/38/004) fueron enviadas al CEAM (Alicante) donde fueron sembradas en enero de 2005 en el vivero de Santa Faz (Servicios Territoriales de Alicante, Conselleria de Territori i Habitatge, Generalitat Valenciana). Para el cultivo de la planta se emplearon contenedores ForesPot® de 300 cm³ con riego adecuado a las necesidades de cultivo. El sustrato de cultivo utilizado fue una mezcla de turba rubia fertilizada y fibra de coco (1:1 v/v) que produce los mejores resultados en cuanto al desarrollo de sistema radical y características morfofuncionales de los plantones según experiencias previas del CEAM y los resultados obtenidos en las fases anteriores de este trabajo. El cultivo se mantuvo durante 6 meses en vivero. El fertilizante aplicado

fue Osmocote® con una concentración de macronutrientes N:P:K (12 % N; 8 % P₂O₅; 12 % K₂O) y elementos esenciales (B, Cu, Fe, Mn, Mo, Zn) estableciéndose tres niveles de fertilización:

- Nivel 1: fertilización de base aportada con la turba (57 mg dm⁻³ sustrato de Nitrato; 69 mg dm⁻³ sustrato de Amonio; 60 mg dm⁻³ sustrato de P y 344 mg dm⁻³ sustrato de K) sin Osmocote, denominado **0**.
- Nivel 2: base suplementada con 2 g l⁻¹ de Osmocote (N:P:K 12:8:12) denominado **2**.
- Nivel 3: base con 5 g l⁻¹ de Osmocote denominado **5**.

Las plantas fueron separadas en dos lotes y colocadas en dos ambientes luminosos diferentes. Un bloque a pleno sol, que se denominará plantas de **SOL**, y otro en un umbráculo con un 40 % de reducción de luz, denominado de **SOMBRA**.

De esta manera, el experimento quedó con un diseño de 2x3, con 2 niveles de sombreado y tres dosis de fertilización.

2.2. Caracterización morfológica

Para la caracterización morfológica se utilizaron 10 plantas de cada tratamiento. Se midió la altura, el diámetro en el cuello de la raíz y el índice de Esbeltez.

Las plantas fueron extraídas de los contenedores y una vez eliminado el sustrato fueron lavadas y se calculó el área foliar proyectada (A_F , cm²), la longitud de la raíz (L_R , cm) y el superficie absorbente de la raíz (A_R , cm²) mediante un escáner profesional con adaptador de transparencia y un software para análisis de imágenes (WinRhizo, Régent Instruments Inc., Québec Canada).

Tras secar las plantas en la estufa se obtuvo el peso seco de acículas expresado en gramos (P_{sa}) y de las raíces (P_{sr}). Con estos datos se calculó la relación entre la biomasa radical y foliar (P_{sr}/P_{sa}).

2.3. Conductancia hidráulica

La conductancia hidráulica del sistema radical fue medida en 7 plantas de cada tratamiento siguiendo la técnica descrita por Tyree *et al.* (1995) con un medidor de flujo de alta presión High Pressure Flow Meter Method (HPFM, Dynamax, USA). Este equipo permite realizar medidas *in situ* de los componentes principales de la arquitectura hidráulica de una planta.

El aparato de medida se compone de una bombona de agua destilada desionizada y desgasificada la cual se somete a presiones crecientes en un rango entre 0,1 y 0,5 MPa. Esta bombona va conectada por un tubo de sección conocida a la parte de tejido vegetal que queremos medir su conductancia, en nuestro caso al

cuello de la raíz. Entre la bombona y el tejido vegetal se interponen dos transductores de presión, que miden uno la presión con la que sale el agua de la bombona y el otro la presión con la que entra el agua al tallo, ambos conectados a un ordenador. La diferencia de presión entre los dos transductores junto con la sección del tubo conocida, nos determina el flujo de agua por unidad de tiempo que pasa a través de la planta y el gradiente de presión que se establece en cada punto, para finalmente determinar la conductancia hidráulica de la raíz (K_H) como la pendiente de la recta de regresión entre el flujo por unidad de tiempo y el gradiente de presión generado (Tyree *et al.*, 1995). Las plantas fueron cortadas bajo el agua, para impedir que penetrara aire en los vasos del xilema y se embolizaran, sin extraerlas del contenedor para no dañar las raíces. Una vez cortadas se conectaron al medidor de flujo para hacer las medidas.

La conductancia hidráulica del sistema radical está determinada por la superficie absorbente de la raíz que se encuentra en contacto con suelo y por el área foliar (Nardini *et al.*, 1998). La conductancia hidráulica de la raíz en base a la superficie foliar (K_{LS}) se calculó como el cociente entre la conductancia hidráulica específica y el área foliar y en base a la raíz (K_{RS}) como el cociente entre la conductancia hidráulica específica y el área absorbente de la raíz según Nardini *et al.* (1998).

2.4. Intercambio gaseoso

Las medidas de intercambio gaseoso se realizaron con un analizador IRGA (según el mismo procedimiento descrito en el capítulo III) pero utilizando un equipo diferente, en este caso un Li-Cor 6400 (*LI-COR Biosciences UK Ltd*).

Se determinaron los mismos parámetros que en ocasiones anteriores (A , E , g_s y WUE). Para las medidas en condiciones naturales se eligieron 5 plantas de cada tratamiento y se realizaron las medidas en el vivero a mediodía solar en acículas primarias, ya que debido a la duración del cultivo éstas carecían aún de acículas secundarias.

2.5. Análisis estadísticos

El análisis de los datos se hizo mediante ANOVAs de dos vías con la fertilización y el sombreado como factores. Cuando se dieron diferencias entre niveles de fertilización se realizó un contraste a posteriori tipo Tukey-b con un nivel de significación de $\alpha = 0,05$. Cuando fue necesario se hicieron análisis separando tratamientos de sombreado para profundizar en los distintos efectos. Los datos fueron transformados cuando fue necesario para cumplir las condiciones de normalidad, linealidad y homocedasticidad. Los análisis fueron llevados a cabo utilizando el paquete estadístico SPSS (v. 12.0, SPSS Inc., Chicago, IL, U.S.A.).

3. RESULTADOS

3.1. Morfología

La fertilización ejerció un efecto fuertemente significativo en todos los parámetros medidos ($p < 0,001$) (Tabla V.1), produciendo plantas mayores y con mayor biomasa aérea a altas dosis de fertilización con menores valores de peso seco de raíces y menor relación Psr/Psa.

El tratamiento de sombreado tuvo efectos fuertemente significativos en la altura de las plantas y en la relación Psr/Psa, produciendo plantas más esbeltas y con menor valor de esta relación en la sombra que a pleno sol. También influyó en la biomasa de la plantas, pero en menor medida (Tabla V.1).

Factores	Luz		Fertilización		Luz*Fertilización	
	F	p	F	p	F	p
Altura (cm)	15,76	***	531,91	***	20,86	***
Diámetro (mm)	0,09	ns	24,21	***	2,61	*
Índice de Esbeltez	15,59	**	143,55	***	1,90	ns
Peso seco foliar (g)	0,51	ns	119,01	***	5,01	**
Peso seco Raíz (g)	5,46	*	80,39	***	4,41	*
Área foliar (cm ²)	3,70	*	126,74	***	0,55	ns
Longitud Radical (cm)	0,01	ns	49,73	***	1,22	ns
Superficie absorbente de raíz (cm ²)	0,37	ns	54,72	***	1,85	ns
Relación Psr/Psa	31,22	***	24,44	***	1,62	ns

Tabla V.1. ANOVA de dos vías para la fertilización y la luz en los caracteres morfológicos y de biomasa. * ($p \leq 0,001$), ** ($p \leq 0,01$), * ($p \leq 0,05$), ns ($p > 0,05$).**

Con respecto a la altura, ésta aumentó notablemente con la fertilización, tanto en sombra como en sol, siendo en las dosis de 0 y 2 mayor en la sombra, aunque en la dosis de 5 la sombra produjo plantas algo más pequeñas que el sol, de ahí que se observe una interacción entre estos dos factores. El diámetro no mostró variaciones entre sol y sombra en la dosis de 0 ni en la de 2 g l⁻¹, sin embargo en la dosis de 5 las plantas crecidas al sol desarrollaron un mayor grosor. Al analizar los tratamientos por separado el efecto de la fertilización fue el mismo en el sol y en la sombra, presentando diferencias en altura entre los tres niveles de fertilización. El diámetro también aumentó con la fertilización, aunque no se dieron diferencias significativas entre las dosis de 2 y 5 g l⁻¹, pero sí entre estas dos con la de 0. La esbeltez de las plantas fue aumentando con la fertilización y además fue mayor en sombra que en sol en todas las dosis. Al igual que ocurrió con la altura, tanto la biomasa aérea como la de la raíz fue aumentando con la fertilización. La biomasa aérea se vio influida por el tratamiento de sombreado, ya que al sol se encontraron diferencias entre los tres niveles de fertilización y a la sombra las de 2 y 5 fueron similares. El análisis de las distintas

fracciones de la biomasa de raíz mostró que el 100 % de la biomasa radical estuvo formado por raíces finas de menos de 2 mm de diámetro, con función principalmente de absorción no encontrándose raíces con función de reserva (mayores de 2 mm de diámetro).

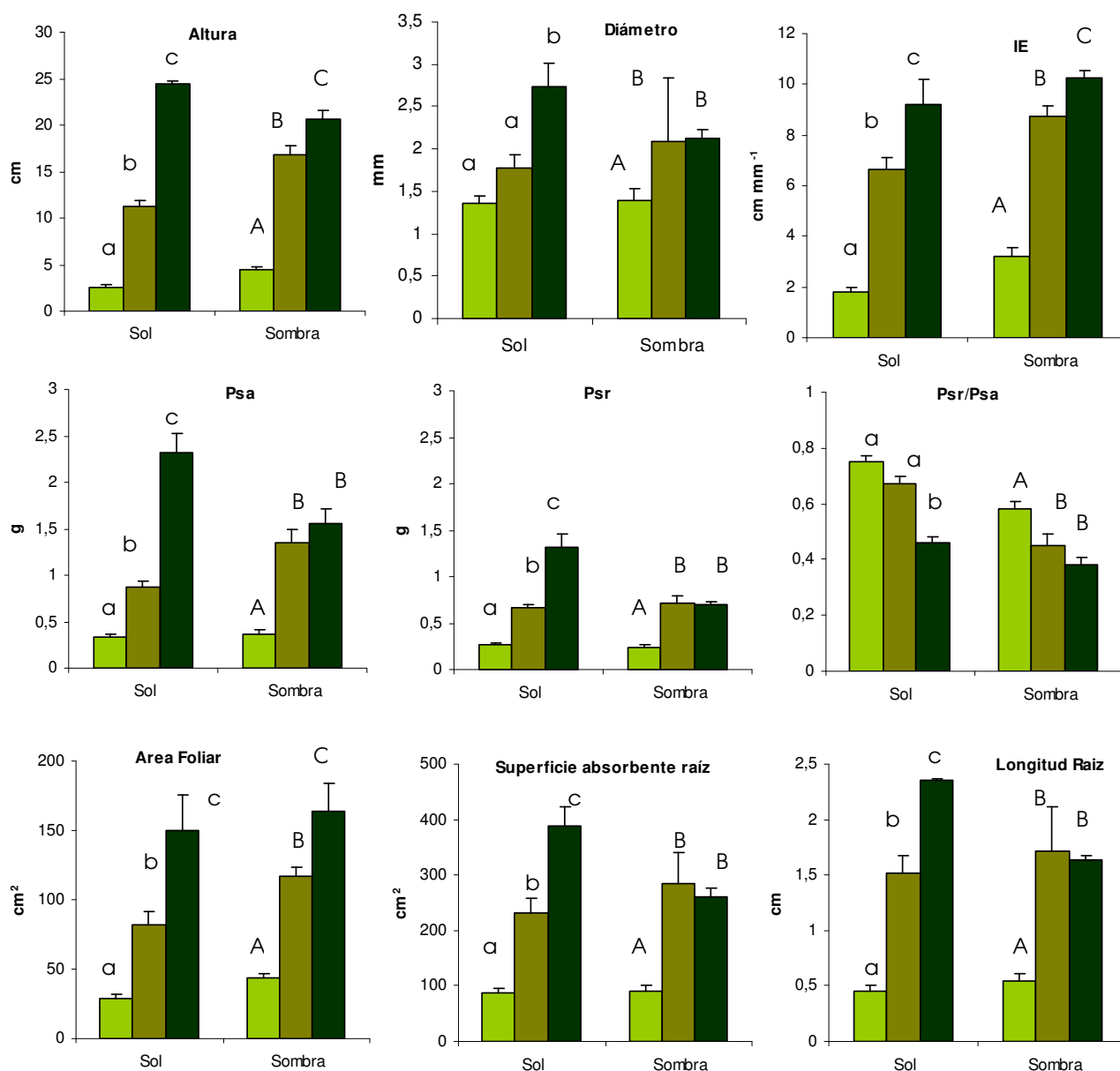


Figura V.1. Morfología de las plantas de los diferentes tratamientos en función de la fertilización y el sombreado. Se muestran las medias y los errores estándar para cada tratamiento. (IE: Índice de Esbeltez; Psa: Peso seco aéreo; Psr: Peso seco Raíz, Relación: Psr/Psa. En verdes de más claro a más oscuro, plantas 0, 2 y 5 respectivamente. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre niveles de fertilización dentro del mismo nivel de sombreado, en minúsculas para el Sol y mayúsculas para la Sombra.

La relación P_{sr}/P_{sa} disminuyó con el aumento de la fertilización, ya que ésta favorece el desarrollo de la parte aérea en detrimento de la radical, y por eso la relación entre las partes disminuye, ésta fue siempre menor en sombra que en sol.

El área foliar aumentó también con la fertilización y con la sombra, sin embargo la superficie radical aumentó también con la fertilización pero en el caso de la dosis de 5 fue superior en sombra que en sol, en sombra no se dieron diferencias entre los niveles de 2 y 5. La longitud de la raíz siguió la misma tendencia que la superficie de la raíz.

3.2. Conductancia Hidráulica

El tratamiento de sombreado no produjo ninguna modificación en la conductancia hidráulica (Tabla V.2) sin embargo la fertilización sí produjo modificaciones mostrando diferencias significativas tanto en K_L como en K_R no se detectó ningún tipo de interacción entre estos dos factores.

Factores Variable	Luz		Fertilización		Luz*Fertilización	
	F	p	F	p	F	p
K_L	0.177	ns	11.47	***	1.32	ns
K_R	3.00	ns	5.16	**	2.47	ns

Tabla V.2. ANOVA de dos vías con la luz y fertilización como factores para la conductancia hidráulica específica de la raíz y de la hoja. * ($p < 0,001$), ** ($p < 0,01$), * ($p < 0,05$), ns ($p > 0,05$).**

En general a medida que aumentó la fertilización disminuyó la conductancia hidráulica de las plantas (Figura V.2), aunque cuando se analizan los efectos de la fertilización y el sombreado por separado se observa que en las plantas crecidas al sol, las menos fertilizadas (nivel 1) alcanzaron valores significativamente superiores de K_L y de K_R a los de plantas cultivadas con 2 y 5 g de fertilizante, sin darse diferencias entre éstos dos últimos lotes. Las plantas 0 mostraron entre dos y tres veces mayor conductancia hidráulica que las 2 y 5 de fertilización, respectivamente. La respuesta de las plantas en la sombra fue la misma, independientemente de la fertilización, y aunque se observa una cierta tendencia a alcanzar valores más altos las plantas 0, no se dieron diferencias significativas.

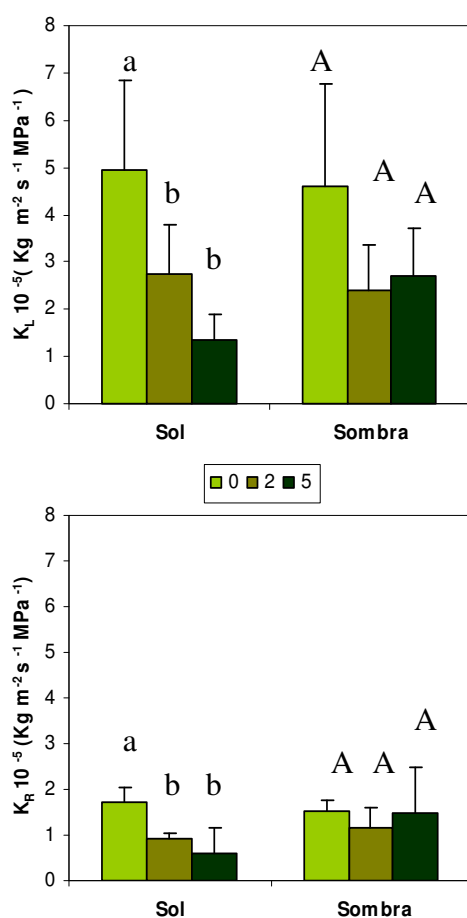


Figura V.2. Conductancia hidráulica específica foliar (K_f : $\text{Kg m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ MPa}^{-1}$) y conductancia hidráulica específica de la raíz (K_r : $\text{Kg m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ MPa}^{-1}$) para el sol y la sombra en los tres niveles de fertilización. Letras diferentes indican diferencias significativas dentro de cada tratamiento de luz ($p < 0,05$), en minúsculas para el sol y mayúsculas para la sombra.

3.3. Intercambio gaseoso

El tratamiento de sombreo sólo tuvo influencia en la tasa de fotosíntesis neta, mientras que la fertilización lo hizo tanto en la fotosíntesis, como en la transpiración y en la eficiencia en el uso del agua aunque en diferente intensidad (Tabla V.3). No se dio interacción entre los dos factores.

Factores	Luz		Fertilización		Luz*Fertilización	
	F	p	F	p	F	p
A	6,93	*	43,48	***	2,24	ns
E	1,65	ns	3,43	*	0,38	ns
gs	0,16	ns	1,39	ns	0,09	ns
WUE	0,02	ns	49,26	***	0,03	ns

Tabla V.3. ANOVA de dos vías con la luz y fertilización como factores para la fotosíntesis neta (A), transpiración (E), conductancia estomática (gs) y eficiencia en el uso del agua (WUE). *** ($p < 0,001$), ** ($p < 0,01$), * ($p < 0,05$), ns ($p > 0,05$).

La fotosíntesis (A) y la eficiencia en el uso del agua (WUE) se vieron fuertemente afectadas por la fertilización, aumentando con ella (Figura V.3). Las plantas fertilizadas

mostraron tasas de fotosíntesis aproximadamente tres veces superiores a las que no lo estaban y además mejoraron la eficiencia en el uso del agua hasta un 80 % en las plantas fertilizadas.

No se observaron diferencias entre las dosis de 2 y 5 g l⁻¹. Con respecto a la transpiración, la conducta fue la opuesta, disminuyendo con la fertilización al igual que la conductancia estomática, aunque no mostró diferencias significativas con ninguno de los dos factores, observándose una tendencia bastante clara a disminuir a medida que aumentó la fertilización. Al analizar los datos en función de los tratamientos de sombreo se observan diferentes respuestas en función del parámetro estudiado, con respecto a la fotosíntesis se da la misma tendencia tanto en la sombra como en el sol, presentando diferencias entre las plantas fertilizadas y las que no lo están y no entre las dosis de 2 y 5 g l⁻¹. Ni la transpiración ni la conductancia estomática mostraron diferencias entre niveles de fertilización ni en la sombra ni en el sol (Tabla V.3). Por último, la eficiencia del uso del agua es diferente para cada nivel de fertilización tanto para el sol como para la sombra siendo mayor en las plantas más fertilizadas.

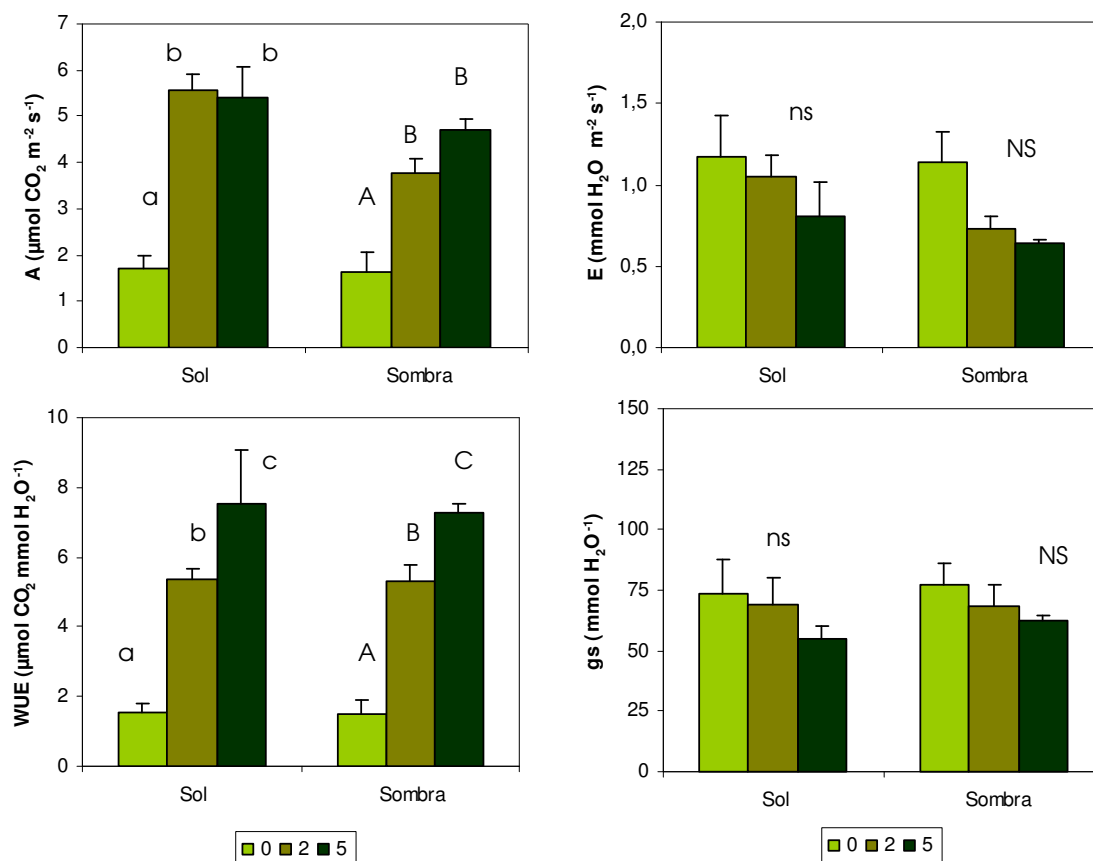


Figura V.3. Fotosíntesis neta (A: µmol CO₂ m² s⁻¹), transpiración (E: mmol H₂O m² s⁻¹), conductancia estomática (gs: mmol H₂O⁻¹) y eficiencia en el uso del agua (WUE: µmol CO₂ mmol H₂O⁻¹) para el sol y la sombra en los tres niveles de fertilización. Letras diferentes indican diferencias significativas dentro de cada tratamiento de luz (p<0,05), en minúsculas para el sol y mayúsculas para la sombra.

4. DISCUSIÓN

4.1. Morfología

La morfología de las plantas se vio modificada por ambos tratamientos de vivero. La fertilización produjo plantas más grandes en cuanto a altura y diámetro, biomasa aérea, biomasa subterránea, área foliar, superficie absorbente y longitud de raíz, como se había visto en otros trabajos con especies mediterráneas (Canham *et al.*, 1996; Domínguez-Lerena, 2000; Oliet *et al.*, 2003, 2005) y en las fases anteriores de esta memoria, siendo la relación P_{sr}/P_{sa} el único parámetro que disminuyó con la fertilización como consecuencia de los mayores portes aéreos de las plantas fertilizadas (Oliet *et al.*, 1997; Graff *et al.*, 1999; Berger y Glatzel, 2001; Villar-Salvador *et al.*, 2004). El tratamiento de sombreado tuvo menor influencia en la morfología, siendo las diferencias entre niveles de sombreado altamente significativas en la altura de las plantas pero débilmente significativas o ausentes en el resto de los parámetros morfológicos indicando que el pino canario soporta bien ciertos niveles de sombreado. Sin embargo, en trabajos con sombra mucho más densa (1-2 % de PAR) sí ha afectado a la supervivencia y crecimiento de las plantas (Peters *et al.*, 2001; Climent *et al.*, 2006b). Además, pudo darse una limitación luminosa que hizo que no se aprovecharan al máximo los recursos nutricionales por verse limitada la fotosíntesis y por tanto la fijación de CO_2 en términos de crecimiento.

4.2. Conductancia hidráulica e intercambio gaseoso

Las variaciones morfológicas descritas anteriormente hacen a la planta menos resistente a la sequía (menor P_{sr}/P_{sa}) según varios autores (Tan y Hogan, 1995; Leiva y Fernández-Ales, 1998; Aranda *et al.*, 2001).

Estas variaciones, provocaron modificaciones en la arquitectura hidráulica de la planta, que dieron lugar a una disminución de la capacidad de transporte de agua (K_L y K_S) a medida que aumentó la dosis de fertilización, similar al comportamiento observado en plántulas de lentisco y alcornoque (Hernández *et al.*, 2006) y también en abeto, donde se describe una disminución de la conductancia hidráulica de la raíz a medida que aumenta el volumen de la misma (Krasowski y Caputa, 2005). El descenso de la conductancia hidráulica desencadenó una bajada de la conductancia estomática evitando así los riesgos de cavitación (Vilagrosa *et al.*, 2003; Martínez-Vilalta *et al.*, 2004; Valladares *et al.*, 2004). El hecho de que no se dieran diferencias significativas entre los niveles 2 y 5 de fertilización en las tasas de conductancia hidráulica puede deberse a que los pinos presentan una estrategia conservadora y no responden a pequeñas diferencias en las dosis de fertilización, aunque sí a fertilizar o no.

Como consecuencia de esta disminución de la conductancia estomática, la transpiración se vio reducida, al aumentar la fertilización, como se ha puesto de manifiesto en otras plantas (Ewers *et al.*, 1999; Ewers y Sperry, 2000) pero al mismo tiempo las tasas de fotosíntesis se incrementaron. Este aumento de la fotosíntesis se explica porque el aumento provocado por la fertilización (Folk *et al.*, 1996; Green y Mitchell, 1992; Jose *et al.*, 2003; Planelles, 2004) contrarrestó la posible disminución debida al cierre estomático.

Además, diversos trabajos han relacionado la arquitectura hidráulica de las plantas con su capacidad fotosintética y la eficiencia en el uso del agua (Nardini y Salleo, 2000; Martínez-Vilalta *et al.*, 2004; Brodribb *et al.*, 2005). Según estos autores, una deficiente capacidad de suministro de agua puede originar una disminución en la tasa fotosintética poniendo la supervivencia y el crecimiento de la planta en peligro. Sin embargo, a pesar de que la conductancia hidráulica disminuyó con la fertilización, el efecto combinado del aumento de A y bajada de E, hizo que aumentase la WUE de las plantas más fertilizadas, tanto al sol como a la sombra, que junto con el alto control estomático descrito para el pino canario (Peters *et al.*, 2003) hacen a estas plantas más tolerantes a fenómenos de baja disponibilidad hídrica en el suelo, siendo esto una ventaja a la hora de establecerse en el campo en periodos de escasez de agua. Comparando la respuesta de estas plantas con la obtenida en los capítulos anteriores, vemos que la tendencia se mantiene, mostrando las plantas del cultivo alternativo (fertilizadas) mayor eficiencia en el uso del agua tanto en campo como en maceta.

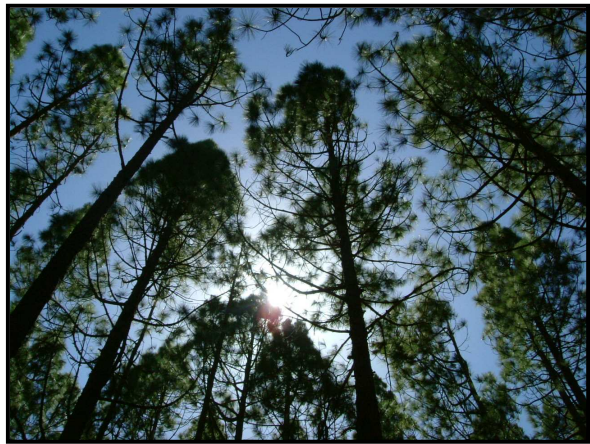
5. CONCLUSIONES

Todos los parámetros morfológicos y de biomasa medidos se vieron fuertemente influidos por el tratamiento de fertilización resultando, por tanto, un buen método para manipular la morfología del pino canario. La altura y la relación entre biomasa radical y foliar (Psr/Psa) fueron los parámetros que más variaron debido al tratamiento de sombreado, no influyendo, o haciéndolo en menor medida los demás parámetros medidos.

El tratamiento de sombreado no produjo ninguna modificación en la conductancia hidráulica de las plantas. Sin embargo, la fertilización produjo modificaciones significativas, causando una disminución en la capacidad de transporte de agua con el incremento en la dosis de nutrientes.

Los parámetros de intercambio gaseoso también se vieron modificados por el tratamiento de fertilización y sólo la tasa de fotosíntesis neta se vio débilmente alterada por el sombreado. El hecho de que la reducción de PAR no influyese en las variables fisiológicas, indica que el pino canario soporta bien ciertos niveles de sombreado.

El efecto combinado de la fertilización sobre la capacidad de transporte de agua y la actividad fotosintética a nivel de hoja produjo un incremento de la eficiencia en el uso del agua, mostrando que la fertilización puede suponer una mejora en la capacidad de arraigo de la planta ante situaciones donde la escasez de agua en el suelo es un factor limitante para su supervivencia.



Capítulo VI. Conclusiones Generales

*“La conclusión es que sabemos muy poco y sin embargo es asombroso
lo mucho que conocemos”*

1. El método de cultivo en vivero del pino canario tuvo una influencia totalmente significativa en las características morfofuncionales de las plantas, resultando de mejor calidad las cultivadas utilizando turbas fertilizadas (Cultivo Alternativo), en lugar de tierra de monte sin fertilizar (Cultivo Tradicional).

2. El cultivo alternativo produjo plantas más grandes, más equilibradas y mejor nutridas que el cultivo tradicional, asimismo dichas plantas tuvieron mejores respuestas en los test aplicados para medir el crecimiento de raíces y el vigor de las plantas.

3. No se dieron grandes diferencias dentro de los contenedores empleados, mostrando todos buenos resultados cuando se utilizaban sustratos a base de turbas, por lo que se propone el uso de contenedores de al menos 300 cm³ para este tipo de cultivo, ya que el aumento a 400 cm³ no supuso una mejora considerable en la calidad de las plantas.

4. La fertilización resultó ser fundamental para un mejor desarrollo de las plantas tanto en vivero como en el campo. No se dieron grandes diferencias entre la fertilización sólida y la líquida, ni entre las dosis aplicadas, por lo que la aplicación de un tipo u otro de fertilización podrá variar en función de la infraestructura del vivero.

5. Dentro de los parámetros morfológicos más útiles a la hora de cuantificar la calidad de planta, la altura a la salida de vivero, fue la que definitivamente aportó mejores resultados, siempre y cuando las plantas se encontraran adecuadamente equilibradas.

6. Dentro de los parámetros fisiológicos evaluados, la concentración de nitrógeno foliar fue la que mayores diferencias mostró entre tratamientos, aportando los demás nutrientes y azúcares solubles evaluados mucha menor información en cuanto a calidad de planta se refiere. El test de regeneración de la raíz fue el que mejores resultados aportó, y las diferencias de respuesta entre los tratamientos fueron bastante marcadas.

7. La supervivencia de las plantas en el campo fue descendiendo a lo largo del periodo de estudio, siendo más pronunciado el descenso durante el primer periodo de sequía estival. Las tasas de supervivencia fueron muy superiores para el cultivo alternativo, 95 % y 84 %, frente a un 67 % y 32 % que mostraron las plantas del

cultivo tradicional en los ensayos 2002 y 2003, respectivamente. Quedó demostrado que las plantas más grandes tuvieron mayor tasa de supervivencia y mayor crecimiento en el campo, alcanzando mayor volumen de raíces y desarrollando sistemas radicales más profundos.

8. La altura inicial de las plantas en el campo fue el mejor parámetro predictivo de la supervivencia, tal y como lo demuestra el alto nivel de ajuste mostrado por el modelo de regresión obtenido entre dicha altura y la supervivencia de las plantas.

9. La respuesta fisiológica de las plantas en el campo, fue variable y dependiente de las condiciones ambientales y edáficas, mostrando en general, las plantas del cultivo alternativo mayores tasas fotosintéticas y de conductancia estomática y reaccionando mejor que las plantas del cultivo tradicional a medida que las condiciones de estrés eran más severas. Las medidas de fluorescencia de la clorofila fueron las que más información proporcionaron a la hora de discriminar entre los distintos tratamientos.

10. Las diferencias morfológicas a la salida de vivero, se mantuvieron incluso durante más de un año de cultivo en maceta. Tanto la morfología como el desarrollo fenológico de las plantas crecidas en maceta siguieron el mismo patrón que el observado por las crecidas en el campo. Las plantas del cultivo alternativo alcanzaron mayor altura y diámetro, mostrando mayores incrementos para ambos parámetros y alcanzando antes el estado de madurez.

11. Las plantas cultivadas en maceta mostraron el mismo tipo de respuesta frente a la sequía que las observadas en el campo. Bajo las condiciones de sequía edáfica del experimento, las plantas del cultivo tradicional, mostraron un comportamiento menos arriesgado que las del cultivo alternativo, con valores más bajos de potencial hídrico y de transpiración total por planta, que se mantuvo muy baja, incluso en las condiciones de mayor demanda evaporativa. Esto que supone una buena defensa frente al estrés hídrico, influyó de manera negativa en el crecimiento, creciendo más las plantas del cultivo alternativo.

12. El tratamiento de sequía aumentó la resistencia de las acículas a las altas temperaturas en ambos tratamientos, presentando las plantas del cultivo alternativo mayor resistencia a las mismas, suponiendo esto, una ventaja para su supervivencia en las zonas de repoblación de la vertiente sur de las Islas donde las temperaturas pueden ser considerablemente altas en momento puntuales.

13. Las modificaciones observadas en la morfología de la planta con la fertilización, hicieron que se produjera una disminución de la conductancia hidráulica, pero a pesar de esto, el efecto combinado del aumento de la fotosíntesis y el descenso de las tasas de transpiración, hizo que aumentase la eficiencia en el uso del agua de las plantas más fertilizadas. Estas modificaciones producen plantas más tolerantes a fenómenos de baja disponibilidad hídrica en el suelo, hecho que supone una ventaja a la hora de establecerse en el campo en periodos de escasez de agua.

14. El tratamiento de sombreado no influyó de una manera tan decisiva en la morfología de las plantas, ya que no produjo ninguna modificación en la conductancia hidráulica, y dentro de los parámetros de intercambio gaseoso, sólo la tasa de fotosíntesis neta se vio débilmente alterada por éste.

Bibliografía

*“Saber es acordarse”
Aristóteles*

- ABOAL, JR; JIMENEZ, MS; MORALES, D. 2000a. Evaluación de la Precipitación de Niebla a través de la precipitación penetrante. *Vieraea*, 28: 15-29.
- ABOAL, JR; JIMENEZ, MS; MORALES, D; GIL, P. 2000b. Effects on throughfall in canary pine (*Pinus canariensis* Chr. Sm. ex DC) forest. *Journal of Hydrology*, 238: 218-230.
- ABRIL, M; HANANO, R. 1998. Ecophysiological responses of three evergreen woody Mediterranean species to water stress. *Acta Oecologica*, 19: 377-387.
- ALEGRÍA, A; AYALA JL; FUENTE, A; IGLESIAS, A; MUÑOZ, J; SEGOVIA, JA. 1975. Plantación manual de resinosas a raíz desnuda. En: Navarro Garnica, M. (ed). Técnicas de forestación. Ministerio de Agricultura. ICONA. Pp. 107- 114.
- ALONSO, JJ. 1989. Estudio Volcanoestratigráfico y Volcanológico de los piroclastos sálicos del sur de Tenerife. Secretariado de publicaciones. Universidad de La Laguna, La Laguna, Tenerife, España.
- APHALO, P; RIKALA, R. 2003. Field Performance of silver-birch planting-stock grown at different spacing and in containers of different volume. *New Forest*, 25: 93-108.
- ARANDA, I; GIL, L; PARDOS, JA. 2001. Physiological responses of *Fagus sylvatica* L. seedlings under *Pinus sylvestris* L. and *Quercus pyrenaica* Will. Overstories. *Forest Ecology and Management*, 162: 153-164.
- ARÉVALO, JR; FERNÁNDEZ-PALACIOS JM; JIMÉNEZ, MJ; GIL, P. 2001. The effect of fire intensity on the understorey species composition of two *Pinus canariensis* reforested stands in Tenerife (Canary Islands). *Forest Ecology and Management*, 148: 21-29.
- ARÉVALO, JR; FERNÁNDEZ-PALACIOS, JM. 2005a. From pine plantations to natural stands. Ecological restorations of a *Pinus canariensis* Sweet, ex Spreng forest. *Plant Ecology*, 181: 217-226.
- ARÉVALO, JR; FERNÁNDEZ-PALACIOS, JM. 2005b. Gradient analysis of exotic *Pinus radiata* plantations and potential restoration of natural vegetation in Tenerife, Canary Islands (Spain). *Acta Oecologica*, 27 (1):1-8.
- ARÉVALO, JR; NARANJO-CIGALA, A; SALAS, M. 2005. Regeneration in a mixed stand of native *Pinus canariensis* and introduced *Pinus pinea* species. *Acta Oecologica* 28: 87-94.
- ARHOUN, M; BARRENO, E; FOS, S; TORRES-LAPASÍO JR; RAMIS-RAMOS, G. 2000. Injury symptoms and realising rates of inorganic ions from pine needles as indicators of atmospheric pollution in the Canary Islands forests. *Water, Air and Soil Pollution*, 117:105-122.
- BARRENO, E. 1996. Caracterización y tipificación de daños en vegetales para el establecimiento de una red biológica de calidad ambiental en los pinares de Tenerife (Islas Canarias). Jardí Botanic de Valencia. Valencia, 168 pp.
- BATES, LS; WALDREN, RP; TEARE, JD. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil* 39: 205-207.

- BAYLEY, AD; KIETZKA, JW. 1997. Stock quality and field performance of *Pinus patula* seedlings produced under two nursery growing regimes during seven different nursery production periods. *New Forest*, 13: 341–356.
- BECKER, P; TYREE, MT; TSUDA, M. 1999. Hydraulic conductances of angiosperms versus conifers: similar transport sufficiency at the whole-plant level. *Tree Physiol.* 19: 445-452.
- BELLEFONTAINE, R; RAGGABI, M. 1979. Provenances et origines de *Pinus canariensis*. Résultats des essais á court terme installés au Maroc depuis 1972. *Annales de la Recherche Forestière au Maroc*, 19 : 309-326.
- BERGER, TW; GLATZEL, G. 2001. Response of *Quercus petraea* seedlings to nitrogen fertilization. *Forest Ecology and Management* 149: 1-14.
- BERNEKING, AD; SCHRENK WG. 1957. Flame photometer determination of Mn, Fe and Cu. *Journal of Agricultural For. Chem*, 5: 742-745.
- BILGER, W; SCHREIBER, U; BOCK, M. 1995. Determination of the quantum efficiency of photosystem II and non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence in the field. *Oecologia*, 102: 425-432.
- BJÖRKMAN, O; DEMMIG, B. 1987. Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta* 170: 489-504.
- BLANCO, A; CASTROVIEJO, M; FRAILE, JL; GANDULLO, JM; MUÑOZ, LA; SÁNCHEZ, O. 1989. Estudio ecológico del Pino Canario. Serie Técnica vol. 6. ICONA, Madrid, España.
- BLONDEL, J; ARONSON, J. 1990. *Biology and wildlife of the Mediterranean region*. Oxford University Press, New York.
- BÖHM, J. 1983. Capillarität und Saftsteigen. *Ber. Dtsch. Bot. Ges.* 11: 203-212.
- BOLHÄR-NORDENKAMPF, HR; ÖQUIST, G. 1993. Chlorophyll fluorescence as a tool in photosynthesis research. En: *Photosynthesis and production in a changing environment: a field laboratory manual*. HALL, DO; SCURLOCK, JMO; BOLHÄR-NORDENKAMPF, HR; LEEDGOOD, RC; LONG, SP. (Eds.) Chapman y Hall, London, pp: 193-206.
- BOTA, J; FLEXAS, J; KEYS, AJ; LOVELAND, J; PARRY MAJ; MEDRANO, H. 2002. CO₂ / O₂ specificity factor of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase / oxygenase in grapevines (*Vitis vinifera* L.): first *in vitro* determination and comparison to *in vivo* estimations. *Vitis*, 41: 163-168.
- BOUCHER, JF; MUNSON, AD; BERNIER, PD. 1995. Foliar absorption of dew influences shoot water potential and root growth in *Pinus strobus* seedlings. *Tree Physiology*, 15: 819-823.
- BOYER, JS. 1982. Plant productivity and environment. *Science*, 218: 443-448.

- BRISSETTE, JC ; BARNETT JP ; LANDIS TD. 1991. Container seedlings. In: DURYE ML; DOUGHERTY PM. (ed.) Forest Regeneration Manual, Kluwer Academic Publishers. Dordrecht/London pp: 117-141.
- BRÉDA, N; HUC, R; GRANIER, A; DREYER, E. 2006. Temperate forest and stands under severe drought: a review of ecophysiological responses, adaptation processes and long-term consequences. *Annals of Forest Science*, 63: 625-644.
- BRODRIBB, TJ; HOLBROOK, NM; ZWIENIECKI, MA; PALMA, B. 2005. Leaf hydraulic capacity in ferns, conifers and angiosperms: impacts on photosynthetic maxima. *New Phytology*, 165: 839-846.
- BURDETT, AN. 1987. Understanding root growth capacity: Theoretical considerations in assessing planting stock quality by means of root growth tests. *Canadian Journal of Forest Research*, 17: 768-775.
- BURDETT, AN. 1990. Physiological processes in plantation establishment and the development of specifications for forest planting stock. *Canadian Journal of Forest Research*, 20: 415-427.
- BURDETT, AN; SIMPSON, WR; THOMPSON, CF. 1983. Root development and plantation establishment success. *Plant and Soil*, 71: 103-110.
- CANHAM, CD; BERKORWITZ, AR; KELLY, VR; LOVETT, GM, OLLINGER, SV; SCHNURR, J. 1996. Biomass allocation and multiple resources limitation in tree seedlings. *Canadian Journal of Forest Research*, 26: 1521-1530.
- CANHAM, CD; KOBE, RK; LATTY, EF; CHAZDON, RL. 1999. Interspecific and intraspecific variation in tree seedling survival: effects of allocation to roots versus carbohydrates reserves. *Oecologia*, 121: 1-11.
- CASTILLA, F. 1999. Árboles del Arboretum Luis Ceballos. Consejería de Medio Ambiente de Madrid (C.A.M). Madrid, España.
- CEBALLOS, L; ORTUÑO, F. 1976. Vegetación y flora forestal de las Islas Canarias Occidentales. Exmo. Cabildo Insular de Tenerife. 2ª Edición. Santa Cruz de Tenerife.
- CERMÁK, J; DEML, M; PENKA, M. 1973. A new method of sap flow rate determination in trees. *Biologia Plantarum*, 15: 171-178.
- CERMÁK, J; KUCERA, J; STEPANKOVA, M. 1991. Water consumption of full-grown oak (*Quercus robur* L.) in a floodplain forest after the cessation of flooding. *Floodplain Forest Ecosystem II. Developments in Agriculture and Managed Forest Ecology* 15B. PENKA, M; VYSKOT, M; KLIMO, E; VASICEK, F.(Eds.), Elsevier, Amsterdam, pp: 397-417.
- CERMÁK, J; ULEHLA, J; KUCERA, J; PENKA, M. 1982. Sap flow rate and transpiration dynamics in the full-grown oak (*Quercus robur* L.) in floodplain forest exposed to seasonal floods as related to potential evapotranspiration and tree dimensions. *Biologia Planarum*, 24: 446-456.

- CERMÁK, J; KUCERA, J; NADEZHDINA, N. 2004. Sap flow measurements, integration within trees and scaling up from sample trees to entire forest stands. *Trees*, 18: 529-546.
- CHAPMAN, G.W. 1948. Forestry in Irak. *Unasyva* 2(5).
- CHAVASSE, CGR. 1980. Planting stock quality: a review of factors affecting performance. *New Zealand Journal of Forestry*, 25(2): 144-171.
- CHAVES, MM. 1991. Effects of water deficits on carbon assimilation. *Journal of Experimental Botany*, 42: 1-16.
- CHAVES, MM; OLIVEIRA, MM. 2004. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. *Journal of experimental botany*, 55 (407): 2365-2384.
- CHAVES, MM; PEREIRA, JS; MAROCO, JP; RODRIGUEZ, ML; RICARDO, CPP; OSORIO, ML; CARVALHO, I; FARIA, T; PINHEIRO, C. 2002. How plants cope with water stress in the field: photosynthesis and growth. *Annals of Botany*, 89: 907-916.
- CHAVES, MM; MAROCO, JP; PEREIRA, JS; 2003. Understanding plant response to drought: from genes to the whole plant. *Functional Plant Biology*, 30: 239-264.
- CHIRINO, E; VILAGROSA, A; FERNÁNDEZ, R; VALLEJO, R. 2005. Uso de contenedor profundo en el cultivo de quercíneas. Efectos sobre el crecimiento y distribución de biomasa. *Actas del IV Congreso Forestal Español, Mesa 2*, pp 218. Zaragoza.
- CLIMENT, J; GIL, L; PARDOS, JA. 1993. Heartwood and sapwood Development and its relationship to growth and environment in *Pinus canariensis* Chr. Sm. ex DC. *Forest Ecology and Management*, 59(1-2):165-174.
- CLIMENT, J; GIL, L; DE TUERO, M. 1996. Regiones de procedencia de *Pinus canariensis* Chr. Sm. ex DC. ICONA, Madrid, España.
- CLIMENT, J; GIL, L; PARDOS, JA. 1998. Xylem anatomical traits related to resinous heartwood formation in *Pinus canariensis* Sm. *Trees Structure and Function*, 12(3):139-145.
- CLIMENT, J; ORTIZ, I; GIL, L. 2001a. Variabilidad morfológica de las piñas en *Pinus canariensis* Chr. Sm. ex DC. En: *Actas del III Congreso Forestal Español, Montes para la sociedad del nuevo Milenio*, Granada, España.
- CLIMENT, J; PÉREZ, E; GIL, L; PARDOS, JA. 2001b. Ensayos de procedencias de *Pinus canariensis* Sm.: Diseño, instalación y primeros resultados. En: *Actas del III Congreso Forestal Español, Montes para la sociedad del nuevo Milenio*, Granada, España.
- CLIMENT, J; CHAMBEL, MR; PÉREZ, E; GIL, L; PARDOS, JA. 2002a. Relationship between heartwood radius and early radial growth, tree age and climate in *Pinus canariensis*. *Canadian Journal of Forest Research*, 32(1):103-111.

- CLIMENT, J; GIL, L; PÉREZ, E; PARDOS, JA. 2002b. Efecto de la procedencia en la supervivencia de plántulas de *Pinus canariensis* Sm. en medio árido. Investigación Agraria Sistemas y Recursos Forestales, 11:171-180.
- CLIMENT, J; GIL, L; ALONSO, J; PEREZ, E; LUIS, VC; VAXEVANIDOU, Z; GONZALEZ, S; COLLADA, C; GÓMEZ, A; ARANDA, I; LÓPEZ, R; SÁNCHEZ, L; TARDÁGUILA, P. 2003a. Evaluación y Mejora de los factores que afectan a la reforestación con pino canario en Tenerife. Informe final proyecto. Cabildo de Tenerife.
- CLIMENT, J; CHAMBEL, MR; GIL, L; PARDOS, JA. 2003b. Vertical heratwood variation patterns and preiction of heartood volume in *Pinus canariensis* Sm. Forest Ecology and Management, 174 (1-3):203-211.
- CLIMENT, J; TAPIAS, R ; PARDOS, J; GIL, L. 2004. Fire adaptatations in the Canary Islands pine- *Pinus canariensis*. Plant Ecology , 171(1):185-196.
- CLIMENT, J; CHAMBEL R; LÓPEZ, R; MUTKE, S; ALÍA, R; GIL, L. 2006a. Population divergence for heteroblasty in the Canary Island pine (*Pinus canariensis*, *Pinaceae*). American Journal of Botany, 93: 840-848.
- CLIMENT, JM; ARANDA, I; ALONSO, J; PARDOS, JA; GIL, L. 2006b. Developmental constraints limit the response of Canary Island pine seedlings to combined shade and drought. Forest Ecology and Management, 231: 164-168.
- COETZEE, PF. 1978. The influence of different factors on bending strength of *Pinus canariensis* and *Pinus pinaster* poles. Southern African Forestry Journal, 105:18-25.
- COLLET, C; GHUEL, JM. 1997. Osmotic adjustment in sessile oak seedlings in response to drought. Annals of Forest Science, 54:389-394.
- COLOMBO, SJ. 1987. Changes in osmotic potential, cell elasticity, and turgor relationships of 2nd year black spruce container seedlings. Canadian Journal of Forest Reseach, 17: 365-369.
- CORNIC, G. 1994. Drought stress and high light effects on leaf photosynthesis. En: BAKER, NR; BOWYER, JR. eds. Photoinhibition of photosynthesis from molecular mechanisms to the field. Oxford, UK: BIOS Scientific Publishers, 297-313.
- CORNIC, G; MASSACCI, A. 1996. Leaf photosynthesis under drought stress. En: Photosynthesis and environment. BAKER, N (Eds). Kluver Academic Publishers, pp: 347-366.
- CORTINA, J; VALDECANTOS, A; SEVA, JP; VILAGROSA, A; BELLOT, J; VALLEJO, R. 1997. Relación tamaño-supervivencia en plantones de especies arbustivas y arbóreas mediterráneas. Actas del II Congreso Forestal Español, Mesa 3, pp: 159-164, Pamplona.
- CORTINA, J; BELLOT, J; VILAGROSA, A; CATURLA, RN; MAESTRE, FM; RUBIO, E; ORTÍZ DE URBINA, JM; BONET, A. 2004. Restauración en semiárido. En: Avances en el estudio de la Gestión del monte Mediterráneo. VALLEJO, VR; ALLOZA, JA; (Eds), pp. 345-406.

- CORREIA, MJ; FONSECA, F; AZEDO-SILVA, J; DIAS, C; DAVID, MM; BARROTE, I; OSORIO, ML; OSORIO, J. 2005. Effects of water deficit on the activity of nitrate reductase and content of sugars, nitrate and free amino acids in the leaves and roots of sunflower and white lupin plants growing under two nutrient supply regimes. *Physiologia Plantarum*, 124: 61-70.
- CREGG, BM. 1994. Carbon allocation, gas exchange and needle morphology of *Pinus ponderosa* genotypes known to differ in growth and survival under imposed drought. *Tree physiology*, 14: 883-898.
- DEL ARCO, MJ; PÉREZ DE PAZ, PL; WILDPRET, W. 1987. Contribución al conocimiento de los pinares de la isla de Tenerife. *Lazaroa*, 7: 67-84.
- DEL ARCO, MJ; PÉREZ DE PAZ, PL; WILDPRET, W; SAUQUILLO, VL; SALAS, M. 1990. Atlas cartográfico de los pinares canarios I: La Gomera y El Hierro. Gobierno de Canarias, Consejería de Política Territorial, Tenerife, España.
- DEL ARCO, MJ; PÉREZ DE PAZ, PL; RODRÍGUEZ, O; SALAS, M; WILDPRET, W. 1992. Atlas cartográfico de los pinares de Canarias II. Tenerife. Dirección General de Medio Ambiente y Conservación de la Naturaleza. Gobierno de Canarias. Santa Cruz de Tenerife, 228 pp.
- DEL ARCO, MJ; PÉREZ DE PAZ, PL; ACEBES, JR; GONZÁLEZ-MANCEBO, JM; REYES-BETANCORT, A; BERMEJO, JA; DE-ARMAS, S; GONZÁLEZ-GONZÁLEZ, R. 2006. Bioclimatology and climatophilous vegetation of Tenerife (Canary Islands). *Ann. Bot. Fennici* 43: 167-192.
- DEL CAMPO, AD. 2002. Régimen de cultivo, desarrollo en vivero, calidad de planta y respuesta al establecimiento en cuatro especies de frondosas mediterráneas. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba, 310 pp.
- DELGADO, JC. 1986. Propagación de Árboles Canarios. Cabildo Insular de Gran Canaria, Las Palmas, Gran Canaria, España.
- DEMMIG-ADAMS, B. 1990. Carotenoids and photoprotection in plants. A role for the xanthophyll zeaxanthin. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1020: 1-24.
- DEMMIG-ADAMS, B; ADAMS III, WW. 1996. Light stress and photoprotection related to the xanthophyll cycle. In: FOYER, CH; MULLINEAUX, P M. (eds.) Causes of photooxidative stress and amelioration of defence systems in plants. CRC Press, Boca Raton pp 105-126.
- DEMMIG-ADAMS, B; ADAMS III, WW; BAKER, DH; LOGAN, BA; BOWLING, DR; VERHOEVEN, AS. 1996. Using chlorophyll fluorescence to assess the fraction of absorbed light allocated to thermal dissipation of excess excitation. *Physiologia Plantarum*, 98: 253-264.
- DEPAPE, G. 1922. Recherches sur la flore pliocène de la Vallée du Rhône. Flores de St-Marcel (Ardèche) et de Théziers (Gard). *Annales des Sciences Naturelles, Botanique*, 10 : 73-265.

- DEY, DC; PARKER, WC. 1997. Morphological indicators of stock quality and field performance of red oak (*Quercus rubra* L.) seedlings underplanted central Ontario shelterwood. *New Forest*, 14: 145–156.
- DI CASTRI, F; GOODAL, DW; SPECHT, RL. 1981. *Mediterranean-type shrublands*. Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam.
- DICKSON, A; LEAF, AL; HASUER, JF. 1960. Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries. *Forest Chronicle*, 36: 10–13.
- DIN, UA. 1958. Pines for tropical areas. *Unasylyva* 12 (3).
- DOMÍNGUEZ-LERENA, S; CARRASCO, I; HERRERO, N; OCAÑA, L; NICOLÁS, JL; PEÑUELAS, JL. 2000. Las características de los contenedores influyen en la supervivencia y crecimiento de las plantas de *Pinus pinea* en campo. *Actas del 1^{er} Simposio del Pino piñonero*, Tomo I, pp: 203-209.
- DOMÍNGUEZ-LERENA, S; HERRERO, N; CARRASCO, I; OCAÑA, L; PEÑUELAS, JL; MEXAL, JG. 2006. Container characteristic influence *Pinus pinea* seedling development in the nursery and field. *Forest Ecology and Management*, 221: 63-71
- DURYEA, ML. 1985. Evaluating seedling quality: importance to reforestation. En: DURYEA ML. (Ed.) *Evaluating seedling quality: principles, procedures, and predictive abilities of mayor test*, pp: 1-4. Forest Research Laboratory. Oregon State University.
- DURYEA, ML; MCLAIN, K. 1984. Seedling physiology and reforestation success. DURYEA, ML; MCLAIN, K. (eds.) *Nijhoff/Junk Publishers*. Boston.
- ESCUADERO, A; NUÑEZ, Y; PÉREZ-GARCÍA, F. 2000. Is fire a selective force of seed size in pine species?. *Acta Oecologica*, 21: 245-256.
- ESTEVE, CF. 1969. Estudio de las alianzas y asociaciones del orden *Cytiso-Pinetalia* en las Canarias Orientales. *Boletín de la Sociedad Española de Historia Natural (Biología)*, 76: 77-104.
- EWERS, BE; OREN, R; SPERRY, JS. 2000. Influence of nutrient versus water supply on hydraulic architecture and water balance in *Pinus taeda*. *Plant, Cell and Environment*, 23: 2055-1066.
- EWERS, BE; OREN, R; ALBAUGH, TJ; DOUGHERTY, PM. 1999. Carry-over effects of water and nutrient supply on water use of *Pinus taeda*. *Ecological Applications*, 9: 513-525.
- FAO, (Anonymus). 1952. *Forestry in the middle east*. *Unasylyva* 6 (3).
- FARJON, A. 2003. *Pinus canariensis*. En: 2004 IUCN Red list of Threatened Species.
- FERNÁNDEZ- PALACIOS, JM; DE-NICOLÁS, JP. 1995. Altitudinal pattern of vegetation variation on Tenerife. *Journal of Vegetation Science*, 6: 183-190.
- FERNÁNDEZ, M; ROYO, A. 1998. Estudios realizados en la cátedra de anatomía, fisiología y genética forestal para el control de la calidad de planta. *Jornadas sobre producción de calidad de planta en contenedor*. Valsaín (Segovia).

- FERNÁNDEZ, M; TAPIAS, R. 2005. Influencia de la intensidad luminosa sobre las tasa fotosintética de plantas de una savia de pinos españoles. Cuadernos de la Sociedad Española de Ciencias Forestales, 20: 73-78.
- FERNÁNDEZ-PELLO, L. 1987. Configuración espacial del pinar del Hierro. Revista de Geografía Canaria, 2: 87-104.
- FLECK, I; HOGAN, KP; LLORENS, L; ABADÍA, A; ARANDA, X. 1998. Photosynthesis and photoprotection in *Quercus ilex* resprouts after fire. Tree physiology, 18: 607-614.
- FLEXAS, J ; BOTA, J ; CIFRE, J ; ESCALONA, JM ; GALES, J ; GULÍAS, J; LEFI, EK; MARTÍNEZ-CAÑELLAS, SF; MORENO, MT; RIBAS-CARBÓ, M; RIERA, D; SAMPOL, B; MEDRANO, H. 2004. Understanding down-regulation of photosynthesis under water stress: future prospects and searching for physiological tools for irrigation management. Annals of Applied Botany, 144: 273-283.
- FOLK, RS; GROSSNICKLE, SC; ARNOTT, JT; MITCHEL, AK; PUTTONEN, P. 1996. Water relations, gas exchange and morphological development of fall and spring planted Yellow cyprés steckling. Forest Ecology and Management, 81: 197-213.
- FOWNES, JH; HARRINGTON, RA. 2004. Seeding response to gaps: separating effects of light and nitrogen. Forest Ecology and Management, 203: 297-310.
- FRANCO, JM. 1943. Uma nova variedade do pinheiro das Canárias. Anais do Instituto Superior de Agronomía, 14:159-163.
- FRANKIS, M. 1999. *Pinus brutia*. Curtis's Botanical Magazine, 16 : 173-184.
- GASULLA, F; FOS, S; BARRENO, E. 2001. Comportamiento fenológico y variabilidad fenotípica de *Pinus canariensis* (Chr. Sm ex DC). En: Actas del III Congreso Forestal Español. Montes para la sociedad del nuevo milenio. Granada, Junta de Andalucía, España.
- GEADA, G; KAMIYA, K; HARADA, K. 2002. Phylogenetic relationships of Diploxylon pines (subgenus *Pinus*) based on plastid sequence data. International Journal of Plant Sciences, 163 (5): 737-747.
- GEBRE, GM, KUHNS, MR; BRANDLE, JR. 1994. Organic solute accumulation and dehydration tolerance in three water stressed *Populus deltoides* clones. Tree Physiology, 14: 575-587.
- GENTY, B; BRIANTAIS, JM; BAKER, NR. 1989. The relationships between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. Biochimica et biophysica Acta 990, 87-92.
- GERNANDT, DS; GAEDA LÓPEZ, G; ORTIZ GARCÍA, S; LISTON, A. 2005. Phylogeny and classification of *Pinus*. Taxon 54: 29-42.
- GHOUIL, H; MONTPIED, P; EPRON, D; KSONTINI, M; HANCHI, B; DREYER, E. 2003. Thermal optima of photosynthetic functions and thermostability of photochemistry in cork oak seedlings. Tree physiology, 23: 1031-1039.

- GIEGER, T; LEUSCHNER, C. 2004. Altitudinal change in needle water relations of *Pinus canariensis* and possible evidence of a drought-induced alpine timberline on Mt. Teide, Tenerife. *Flora*, 199: 100-109.
- GIL, L; PARDOS, JA. 1997. Aspectos funcionales del arraigo. La calidad fisiológica de la planta forestal. Reunión del grupo de Repoblaciones Forestales. SECF.
- GIL, L; CLIMENT, J; NANOS, N; MUTKE S; ORTIZ, I; SCHILLER, G. 2002. Cone morphology variation in *Pinus canariensis* Sm. *Plant Systematic and Evolution*, 235: 35-51.
- GÓMEZ, A; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, SC; COLLADA, C; GIL, L; CLIMENT, J. 2003. Complex population genetic structure in an endemic Canary Island pine using chloroplast microsatellite markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 107: 1123-1131.
- GONZÁLEZ-ANDRÉS, F; PITA, JM; ORTIZ, JM. 1999. Identification of Iberian and Canarian species of the genus *Pinus* with four isoenzyme systems. *Biochemical Systematics and Ecology*, 27: 235-242.
- GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, AM. 1998. Caracterización fotosintética de árboles de la laurisilva canaria (*Laurus azorica*, *Persea indica* y *Myrica faya*). Tesis Doctoral. Universidad de La Laguna.
- GRAFF, JE; HERMANN, RK; ZAERR, JB. 1999. Dry matter and nitrogen allocation in western redcedar, western hemlock, and Douglas fir seedlings grown in low- and high-N soils. *Annals of Forest Science*, 56: 529-538.
- GRANIER, A. 1985. Une nouvelle methode pour la mesure du flux de seve brute dans le tronc des arbres. *Annales Sciences Forestieres* 42, 193-200.
- GRAVANO, E. 2002. *Pinus canariensis*. En: Pines of silvicultural importance, pp: 35-38, CABI Publishing, Oxon, United Kingdom.
- GREEN, TH; MITCHELL, RJ. 1992. Effects of nitrogen on the response of loblolly pine to water stress. I. Photosynthesis and stomatal conductance. *New Phytologist*, 122: 627-633.
- GREGOR, HJ. 1980. Funde von *Pinus canariensis* Ch. Smith fossilis aus den Neogen von La Palma (Kanarische Inseln). *Vieraea*, 9: 57-64.
- GRILL, D; TAUSZ, M; PÖLLINGER, U; JIMÉNEZ, MS; MORALES, D. 2004. Effects of drought on needle anatomy of *Pinus canariensis*. *Flora*, 199: 85-89.
- GROSSNICKLE, SC. 2000. *Ecophysiology of Northern Spruce Species: The performance of planted Seedlings*. NRC Research press, Ottawa, Ontario, Canada, 409 pp.
- GROSSNICKLE, SC; ARNOTT, J; MAJOR, JE; TSCHAPLINSKI, T. 1991. Influence of dormancy induction treatments on Western hemlock seedlings 1.- Seedling development and stock quality assessment. *Canadian Journal of Forest Research*, 21: 164-174.
- GROSSNICKLE, SC; FOLK, R; RADLEY, R; AXELROOD, P. 1995. Root damage assessment models for seedling quality programs. *Proceedings of the 1995, 1996, 1997 Forest Nursery Associations of British Columbia Meetings*, pp: 32-37.

- GROTKOPP, E; REJMÁNEK, M; ROST, TL. 2002. Toward a causal explanation of plant invasiveness: seedling growth and life-history strategies of 29 pine (*Pinus*) species. *American Naturalist*, 159: 396-419.
- HARLEY, PC; TENHUNEN, JD; LANGE, OL; BEYSCHLAG, W. 1987. Seasonal and diurnal patterns in leaf gas exchange of *Phillyrea angustifolia* growing in Portugal. In: TENHUNEN, JD; CATARINO, FM; LANGE, OL; OECHEL, WC. (Eds.), *Plant response to stress: Functional analysis in Mediterranean ecosystems*, NATO ASI series, vol I, G15. Springer-Verlag, Berlin, pp. 329-337.
- HAVAUX, M; STRASSER, RJ. 1992. Plasticity of the stress tolerance of Photosystem II in vivo. In *Research in Photosynthesis* (Murata, N. ed.). Proceedings of the IXth International Photosynthesis Congress. Nagoya. Japan. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht.
- HAWKING, CDB; BINDER, WD. 1990. State of the art seeding stock quality tests base on seedling physiology. USDA Forest Service. RM-200, pp: 91-121.
- HAYASHI, F; ICHINO, T; OSANAI, M; WADA, K. 2000. Oscillation and regulation of proline content of P5CS and ProDH gene expressions in the light/dark cycles in *Arabidopsis thaliana* L. *Plant Cell Physiology*, 41: 1096-1101.
- HERNÁNDEZ C; DELGADO L; ARTEAGA I. 1999. Ensayo de plantación de pino canario en Chajaña (Cumbres de Arico). Unidad Insular de Medio Ambiente del Cabildo de Tenerife. Informe técnico, No publicado.
- HERNÁNDEZ, E; LLORCA, LUIS, VC; CHIRINO, E; V.R. VALLEJO, VR; VILAGROSA, A. 2006. Conductancia hidráulica, fotosíntesis y transpiración en *Pistacia lentiscus* y *Quercus suber* bajo diferentes condiciones de fertilización y luz. Actas DEL II Congreso Ibérico de Ecología Terrestre. Lisboa, Portugal. Julio 2006.
- HOLMGREN, M. 2000. Combined effects of shade and drought on tulipopuplar seedlings: trade-off in tolerance or facilitation? *Oikos* 90: 67-78.
- HORMILLA, S; PEÑA, J; DUÑABETIA, MK. 1997. Influencia de la ectomicorrización en la respuesta de plantas de *Quercus robur* L. a la deficiencia nutricional. Actas II Congreso Forestal Español. Mesa 3: 313-318.
- HSIAO, TC. 1973. Plant response to water stress. *Annual Review of Plant Physiology*, 24: 519-570.
- IGLESIAS, A; SERRADA, R. 2005. Caracterización de la planta de *Quercus ilex* en vivero y después de tres años de plantación según envase y micorrización. Actas del IV Congreso Forestal Español, Mesa 2, pp: 177. Zaragoza.
- IRIGOYEN, JJ; EMERICH, DW; SANCHÉZ-DÍAZ, M. 1992. Water stress induces changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. - *Physiologia Plantarum* 84: 55-60.

- ISHIBASHI, M; TERASHIMA, I. 1995. Effects of continuous leaf wetness on photosynthesis: adverse aspects of rainfall. *Plant, Cell and Environment*, 18: 431-438.
- IUFRO. 1980. Planting stock quality. *New Zealand Journal of Forestry Sciences*, 10: 1-303.
- JACOBS, D; ROSE, D; HAASE, D; MORGAN, P. 2003. Influence of soil amendments on water relations, root architectural development, and field performance of Douglas-fir transplants. *New Forest*, 26: 263-277.
- JIMÉNEZ, MS; MORALES, D. 2001. Pino canario. Ejemplo de adaptación. *Investigación y Ciencia*, Noviembre, 23-24.
- JIMÉNEZ, MS, CERMÁK, J, KUCERA, J, MORALES, D. 1996. Laurel forest in Tenerife, Canary Islands: The annual course of sap flow in *Laurus trees* and stand. *Journal of Hydrology*, 183: 307-321.
- JIMÉNEZ, MS; TAUSZ, M; ZELNIG, G; PETERS, J; GRILL, D; MORALES, D. 1997. Environmental stresses and antioxidative responses of *Pinus canariensis* at different field stands in Tenerife. *Phyton*, 37:109-114.
- JIMÉNEZ, MS; ZELNIG, G; STABENTHEINER, E; PETERS, J; MORALES, D; GRILL, D. 2000. Structure and ultrastructure of *Pinus canariensis* needles. *Flora* 195: 228-235.
- JIMÉNEZ, MS; LUIS, VC; PETERS, J; GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, AM; MORALES, D. 2005. Ecophysiological studies on *Pinus canariensis*. *Phyton*, 45: 169-177.
- JONSSON, S; GUNNARSON, B; CRIADO, C. 2002. Drought is the mayor limiting factor for tree-ring growth of high-altitude Canary Island pines on Tenerife. *Geografiska Analer Series A- Physical Geography*, 84: 51-57.
- JOSE, S; MERRITT, S; RAMSEY, CL. 2003. Growth, nutrition, photosynthesis and transpiration responses of longleaf pine seedlings to light, water and nitrogen. *Forest Ecology and Management*, 180: 335-344.
- KACPERSKA, A; SZANIAWSKI, RK. 1993. Frost resistance and water status of winter rape leaves as affected by differential shoot/root temperature. *Physiologia Plantarum*, 89: 775-782.
- KASAPLIGIL, B. 1977. A Late-Tertiary conifer-hardwood forest from the vicinity of Güven village, near Kizilcahaman, Ankara. *Bulletin of the Mineral Research and Exploration Institute of Turkey*, 88: 25-33.
- KASAPLIGIL, B. 1978. Past and present pines of Turkey. *Phytologia*, 40: 99-199.
- KHATTABI, A. 1991. Contribution a la connaissance de la qualité technologique du bois de *Pinus canariensis*. *Annales de la Recherche Forestière au Maroc*, 25 : 54-61.
- KLAUS, W. 1982. Ein *Pinus canariensis* Smith-zapfenfund aus dem ober-Miozaen pennon des Wiener Beckens. *Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien*, 84: 79-84.
- KLAUS, W. 1984. Zur mikroflora des Unter-Sarmat am Alpen-Südostrand. *Beiträge zur Paläontologie von Österreich*, 11: 291-437.

- KLAUS, W. 1989. Mediterranean pines and their history. *Plant Systematic and Evolution*, 162: 133-163.
- KOROL, L; GIL, L; CLIMENT, J; ZEHAVI, A; SCHILLER, G. 1999. Canary Islands pine (*Pinus canariensis* Chr. Sm. ex DC.) 2. Gene flow among native populations. *Forest Genetics*, 6 (4): 277-282.
- KRALL, JP; EDWARDS, GE. 1992. Relationship between photosystem II activity and CO₂ fixation in leaves. *Physiologia Plantarum*, 86: 180-187.
- KRASOWSKI MJ, CAPUTA A. 2005. Relationships between the root system size and its hydraulic properties in white spruce seedlings. *New Forest*, 30: 127-146.
- KRUPKIN, AB; LISTON, A; STRAUSS, SH. 1996. Phylogenetic analysis of the hard pines (*Pinus* subgenus *Pinus*, Pinaceae) from chloroplast DNA restriction site analysis. *American Journal of Botany*, 83 (4):489-498.
- KUCERA, J; CERMÁK, J; PENKA, M. 1977. Improved thermal method of continual recording the transpiration flow rate dynamics. *Biologia Plantarum*, 19: 413-420.
- LADJAL, M; EPRON, D; DUCREY, M. 2000. Effects of drought preconditioning on thermotolerance of photosystem II and susceptibility of photosynthesis to heat stress in cedar seedlings. *Tree physiology*, 20: 1235-1241.
- LANDIS, TD. 1985. Mineral nutrition as an index of seedling quality. In: DURYEY, ML. (Ed.) *Evaluating seedling quality, Principles, Procedures and Predictive Abilities of Major Test*. Forest Research Laboratory, Oregon State University, Corvallis pp: 29-48.
- LANDIS, TD. 1989. Mineral nutrients and fertilization. En: LANDIS TD; TINUS RW ; MC DONALD SE ; BARNETT, JP. (Eds.): *The container Tree Nursery Manual, Vol 4. Agriculture Handbook 674*. Forest Service. U.S. Dep. of Agric. pp 1-70. Washington.
- LANDIS, TD; TINUS, RW; MCDONALD, SE; BARNETT, JP. 1990. Containers and growing media. *The container Tree Nursery Manual. Vol. 2. Manual USDA Forest Service, Washington*.
- LARCHER, W. 1973. Limiting temperatures for life functions in plants. En: *Temperature and life*. PRECHT, H; CHRISTOPHERSEN, J; HENSEL, H; LARCHER, W. eds. Segunda edición. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York.
- LARCHER, W. 1995. *Physiological plant ecology*. 5th ed. Springer-Verlag, Berlin. Heidelberg. Nueva York.
- LARSEN, HS; SOUTH, DB; BOYER, JM. 1986. Root growth potential seedling morphology and bud dormancy correlate with survival of loblolly pine seedlings planted in December in Alabama. *Tree Physiology*, 1: 253 –263.
- LAWLOR, DW. 1995. The effects of water deficit on photosynthesis. In: SMIRNOFF, N. (ed). *Environment and Plant Metabolism. Flexibility and Acclimation*. Oxford, UK: BIOS Scientific Publishers, 129-160.

- LEIVA, MJ; FERNÁNDEZ-ALES, R. 1998. Variability in seedling water status during drought within a *Quercus Ilex* subsp. *ballota* population, and its relation to seedling morphology. *Forest Ecology and Management* 111:147-156.
- LEVITT, J. 1980. Responses of plants to environmental stresses. II. Water, radiation, salt and other stresses. Academic Press, New York, 607 pp.
- LICHTENTHALER, HK. 1987. Chlorophyll and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzimology*, 148: 350-382.
- LISTON, A; ROBINSON, WA; PIÑERO, D; ALVAREZ-BUYLLA, ER. 1999. Phylogenetics of *Pinus* (*Pinaceae*) based on nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer region sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 11: 95-109.
- LITTLE, EL, JR; CRITCHFIELD, WB. 1969. Subdivisions of the genus *Pinus*. USDA Forest Service Miscellaneous Publication, 1144.
- LÓPEZ, B; SABATÉ, S; GRACIA, C. 1998. Fine root dynamics in a Mediterranean Forest: effects of drought and stem density. *Tree physiology* 18: 601-606.
- LORETO, F; TRICOLI, D; DI MARCO, G. 1995. On the relationship between electron transport rate and photosynthesis in leaves of C₄ plant *Sorghum bicolor* exposed to water stress, temperature changes and carbon metabolism inhibition. *Australian Journal of Plant Physiology*, 22: 885-892.
- LÖSCH, R. 1980. The heat resistance of the Canarian laurel forest plants. *Flora*, 170: 456-465.
- LUDLOW, MM; NG, TT; FORD, CW. 1980. Recovery after water stress of leaf gas exchange in *Panicum maximum* var. *trichoglume*. *Australian Journal of Plant Physiology*, 7: 299-313.
- LUIS, VC. 2000. Influencia de la luz en el crecimiento y supervivencia de plántulas de *Pinus canariensis*. Tesis de Licenciatura, Universidad de La Laguna, Tenerife, España.
- LUIS, VC; JIMENEZ, MS ; GIL, P ; MORALES, D. 2001. Influencia de los factores ambientales en la mortalidad de plántulas de *Pinus canariensis* en condiciones naturales. *Actas del III Congreso Forestal Español*. Tomo I, pp: 357-362. Junta de Andalucía, Consejería de Medio Ambiente.
- LUIS, VC; KUCERA, J; JIMENEZ, MS; MORALES, D. 2002. Medidas de flujo de savia en un pinar repoblado de *Pinus canariensis*. *Actas del II Simposio Internacional Sobre Manejo Sostenible de Ecosistemas Forestales*. Pinar del Río, Cuba.
- LUIS, VC; CLIMENT J; PETERS, J; PÉREZ, E; PUÉRTOLAS, J; MORALES, D; JIMÉNEZ, MS; GIL, L. 2004a. Evaluación de la calidad de plántulas de *Pinus canariensis* cultivadas con diferentes métodos en la supervivencia y crecimiento en campo. *Cuadernos de la Sociedad Española de Ciencias Forestales*, 17: 63-67.

- LUIS, VC; PETERS, J; GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, AM; JIMÉNEZ, MS; MORALES, D. 2004b. Testing nursery plant quality of Canary Island pine seedlings grown under different cultivation methods. *Phyton*, 44: 231-244.
- LUIS, VC; JIMÉNEZ, MS; MORALES, D; KUCERA, J; WIESER, G. 2005a. Canopy transpiration in a Canary Islands pine forest. *Agricultural and Forest Meteorology* 135: 117-123.
- LUIS, VC; CLIMENT, J; ALONSO, J; JIMÉNEZ, MS ; D. MORALES, D; GIL, L. 2005b. Efecto de la calidad de planta, riego y protectores en la reforestación con pino canario en Tenerife. *Actas del IV Congreso Forestal Español, Mesa 2. SECF, Zaragoza, España.*
- LUIS, VC; GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, AM; JIMÉNEZ, MS; MORALES, D. 2005c. La ecofisiología como herramienta forestal. Aplicación al cultivo tradicional y alternativo de pino canario tras 20 meses de plantación. *Cuadernos de la Sociedad Española de Ciencias Forestales*, 20: 123-128.
- LUIS, VC; HERNÁNDEZ-LLEDÓ, E; LLORCA, M; CHIRINO, E, MORALES, D, JIMÉNEZ, MS, VILAGROSA, A. 2006a. Efecto de la fertilización y el sombreado en las características morfofuncionales y la arquitectura hidráulica de plántulas de pino canario. *Resumos do 2º Congresso Ibérico de Ecología. SPECO-AEET.*
- LUIS, VC; TASHLER, D; HAECKER, J; JIMÉNEZ, MS; WIESSER, G; NEUNER, G. 2006b. Ice nucleation and frost resistance of *Pinus canariensis* seedlings bearing needles in three different developmental states. *Annals of Forest Science* (En prensa).
- LUIS, VC; PUÉRTOLAS, J; PETERS, J; GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, AM; CLIMENT, J; D. MORALES, D; JIMÉNEZ, MS. 2006. En prep. Bigger initial shoot size improves survival and physiological status of containerized *Pinus canariensis* seedlings outplanted in dry Mediterranean climate.
- MANLEY, RC; HUMMEL, RL. 1996. Index of injury compared to tissue ionic conductance for calculating freeze damage of cabbage tissue. *Journal of American Society for Horticulture Science*. 121: 1141-1146.
- MARCELLI, AR. 1984. Deformaciones radicales de las plantas cultivadas en contenedor: inconvenientes y remedios. *Stituto Sperimentale per la pioppicoltura NOTE TECNICHE N°1.*
- MARIEN, JM ; DROVIN, G. 1978. Etudes sur les conteneurs a parois rigides. *Annales des Recherches Sylvicoles. AFOCEL.*
- MARTÍNEZ, C; HARRY, IS; THORPE, TA. 1990. In vitro regeneration of plantlets of Canary Island pine (*Pinus canariensis*). *Canadian Journal of Forest Research*, 20: 1200-1211.
- MARTÍNEZ, C; HARRY, IS; THORPE, TA. 1992. Optimization of bud induction in cotyledonary explants of *Pinus canariensis*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 29: 247-255.

- MARTÍNEZ, C; HARRY, IS; THORPE, TA. 1994. Effect of various bud induction treatments on elongation and rooting of adventitious shoots of Canary Island pine (*Pinus canariensis*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 39: 225-2.
- MARTÍNEZ-VILALTA, J; SALA, A ; PIÑOL, J. 2004. The hydraulic architecture of Pinaceae -a Review. *Plant Ecology*, 171: 3-13.
- MASON, EG. 2001. A model of the juvenile growth and survival *Pinus radiata* D. Don: Adding the effects of initial seedling diameter ad plant handling, *New Forest*, 22: 133-158.
- MATSSON, A. 1997. Predicting field performance using seedling quality assessment. *New Forest*, 13: 227-252.
- MC CREARY, DD; DURYEY, ML; 1985. OSU Vigor Test: principles, procedures, and predictive ability. En: DURYEY, ML. (Ed.) *Evaluating Seedling Quality: principles, procedures, and predictive abilities of major tests*. For. Res. Lab. OSU. Corvallis. pp. 85 – 92.
- MCGRATH, DA; DURYEY, ML. 1994. Initial moisture stress, budbreak and two-year field performance of three morphological grades of slash pine seedlings. *New Forests*, 8: 335-350.
- MCKAY, HM. 1997. A review of the effect of stresses between lifting and planting on the nursery stock quality and performance. *New Forest*, 13: 369-399.
- MCKAY, HM; MORGAN, JL. 2001. The physiological basis for the establishment of bare-root larch seedlings. *Forest Ecology and Management*, 142: 1-18.
- MCPHERSON, K; WILLIAMS, K. 1998. The role of carbohydrate reserves in the growth, resilience and persistence of cabbage palm seedlings (*Sabal palmeto*). *Oecologia*, 117: 460–468.
- MCTAGUE, JP; TINUS, RW. 1996. The effects of seedling quality and forest site weather on field survival of Ponderosa pine. *Tree Planters' Notes*, 47: 16–23.
- MEDRANO, H; ESCALONA, JM; BOTA, J; GULIAS, J; FLEXAS, J. 2002. Regulation of photosynthesis of C3 plants in response to progressive drought: stomatal conductance as a referente parameter. *Annals of Botany*, 89: 895-905.
- MENA-PETITE, A; ROBREDO, A; ALCALDE, S; DUÑABEITIA MK; GONZÁLEZ-MORO, MB; LACUESTA, M, MUÑOZ-RUEDA, A. 2003. Gas exchange and chlorophyll fluorescence responses of *Pinus radiata* D. Don seedlings during and after several storage regimes and its effect on post-planting survival. *Trees*, 17: 133-143.
- MENA-PETITE, A; ESTAVILLO, JM; DUÑABEITIA MK; GONZÁLEZ-MORO, MB; LACUESTA, M, MUÑOZ-RUEDA, A. 2004. Effect of storage conditions on post-planting water status on performance of *Pinus radiata* D. Don stock-types. *Annals of Forest Science*, 61: 695-704.
- MENA-PETITE, A; ESTAVILLO, JM; DUÑABEITIA MK; GONZÁLEZ-MORO, MB; LACUESTA, M, MUÑOZ-RUEDA, A. 2005. Effect of cold storage treatments and transplanting stress on gas

- exchange chlorophyll fluorescence and survival under water limiting conditions of *Pinus radiata* stock-types. *European Journal of Forest Research*, 124: 73-82.
- MENA-PETITE, A; LACUESTA, M, MUÑOZ-RUEDA, A. 2006. Ammonium assimilation in *Pinus radiata* seedlings: effects of storage treatments, transplanting stress and water regimes alter planning under simulated field conditions. *Environmental and Experimental Botany*, 55: 1-14.
- MENZIER, PC; GOLDSTEIN, G; JACKSON, P; HOLBROOK, NM; GUTIERREZ, MV; CAVELIER, J. 1995. Environmental and physiological regulation of transpiration in tropic forest gap species: the influence of boundary layer and hydraulic properties. *Oecologia* 101, 514-522.
- MEXAL, JG; LANDIS, TD. 1990. Target seedling concepts: height and diameter. In: ROSE, R; ET AL., (eds.). Target seedling symposium: Proceedings, combined meeting of the western forest nursery associations. Roseburg, OR. GTR: RM-200. USDA Forest Service pp: 17-34.
- MITCHEL, S. 2003. Effects of mechanical stimulus, shade, and nitrogen fertilization on morphology and bending resistance in Douglas-fir seedlings. *Canadian Journal of Forest Research*, 33: 1602-1609.
- MONTOYA ,JM; CAMPOS ,MA. 1996. La planta y el vivero forestal. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.
- MORALES, D; PETERS, J; JIMÉNEZ, MS; TAUSZ, M; WONISCH, A; GRILL, D. 1999. Gas Exchange of Irrigated and Non-irrigated *Pinus canariensis* Seedlings growing outdoors in La Laguna, Canary Islands, Spain. *Z. Naturforsch.*, 54c, 693-697.
- MORALES, D; GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, AM; PETERS, J; LUIS, VC; JIMÉNEZ, MS. 2005. Ecofisiología de los bosques de laurisilva y pinar de Tenerife. *Cuadernos de la Sociedad Española de Ciencias Forestales*, 20: 25-35.
- MORLA, C; ALCALDE, C; POSTIGO, JM; BARRÓN, E. 2003. Paleobiogeografía de *Pinus canariensis*: estróbilos y semillas fósiles del Plioceno ibérico (cuenca del bajo Segura, Alicante, España). En: AROZENA CONCEPCIÓN, ME; BELTRÁN YANES, E; DORTA ANTEQUERA, P. (eds). *La Biogeografía: Ciencia geográfica y Ciencia biológica*, pp 311-323. Universidad de La Laguna, La Laguna, Tenerife, España.
- MORGAN, JM. 1984. Osmoregulation and water stress in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 35: 299-314.
- MUNNÉ-BOSCH, S; ALEGRE, L. 1999. Role of dew on the recovery of water-stressed *Melissa officinalis* L. plants. *Journal of Plant Physiology*, 154: 759-766.
- MUNNÉ-BOSCH, S; ALEGRE, L. 2000. Changes in carotenoids tocopherols and diterpenes during drought and recovery, and the biological significance of chlorophyll loss in *Rosmarinus officinalis* plants. *Planta* 210: 925-931.

- MUNNS, R; WEIR, R. 1981. Contribution of sugars to osmotic adjustment in elongating and expanded zones of wheat leaves during moderate water deficits at two light levels. *Australian Journal of Plant Physiology*, 8: 93-105.
- NARDINI, A; TYREE, MT. 1999. Root and shoot hydraulic conductance of seven *Quercus* species. *Annals of forest science*, 56: 371-377.
- NARDINI, A; SALLES, S. 2000. Limitation of stomatal conductance by hydraulics traits: sensing or preventing xylem cavitation?. *Trees-Structure and function*, 15: 14-24.
- NAVARRO, RM; PEMÁN, J. 1997. Apuntes de producción de planta forestal. Servicio de publicaciones de la Universidad de Córdoba.
- NAVARRO, RM; DEL CAMPO, A. 2004. Evaluación de calidad de lotes comerciales de varias especies forestales. Universidad de Córdoba-ASOCIAFLOR. Informe final. No publicado.
- NAVARRO, RM; VILLAR-SALVADOR, P; DEL CAMPO, A. 2006. Morfología y establecimiento de los plántones. En: CORTINA, J; PEÑUELAS, JL. (Eds.) *Calidad de la planta forestal para la restauración en ambientes mediterráneos. Estado actual de los conocimientos*. Ministerio de Medio Ambiente, Madrid. (En prensa).
- NAVASCUÉS, M. 2005. Genetic diversity of the endemic Canary Island pine tree, *Pinus canariensis*. Doctoral Thesis, University of East Anglia.
- NOGALES, JV. 1917. *Pinus canariensis* Chr. Sm. *Bulletin de la Société Nationale d'Acclimatation de France*, 1917: 322-325.
- NOGALES, M; OROMÍ, P; PERAZA, JM; MARRERO, M. 1990. Datos sobre la fauna corticícola del tronco del pino canario (*Pinus canariensis* Chr. Sm. ex DC.) *Vieraea*, 18: 143-147.
- NOGUÉS, S; ALEGRE, L. 2002. An increase in water deficits has no impact on the photosynthetic capacity of field-grown Mediterranean plants. *Functional Plant Biology*, 29: 621-630.
- NYOKA, IB. 2002. The status of invasive alien forest trees species in southern Africa. *Forest Genetics Resources*, 30: 11-13.
- OHASHI, Y; NAKAYAMA, N; SANEOKA, H; FUJITA, K. 2006. Effects of drought stress on photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence and stem diameter of soybean plants. *Biologia Plantarum (Prague)*, 50 : 138-141.
- OLIET, JA. 1995. Influencia de la fertilización en vivero sobre la calidad de planta y la supervivencia en campo de varias especies forestales. Tesis Doctoral. ETSIAM Universidad de Córdoba.
- OLIET, JA; PLANELLES, R; LÓPEZ, M; ARTERO, F. 1997. Efecto de la fertilización en vivero sobre la supervivencia en plantación de *Pinus halepensis*. *Cuadernos de la Sociedad Española de Ciencias Forestales*, 4: 69-80.

- OLIET, JA; PLANELLES, R; LÓPEZ, M; ARTERO, F. 1999. *Efecto de la fertilización en vivero sobre la supervivencia en plantación de Pinus halepensis*. Cuadernos de la Sociedad Española de Ciencias Forestales, 10: 69-77.
- OLIET, J; PLANELLES, R; ARTERO, F; MARTÍNEZ, E, ÁLVAREZ, L; ALEJANO, R; LÓPEZ, M. 2003. El potencial de crecimiento radical en la planta de vivero de *Pinus halepensis* Mill. Influencia de la fertilización. Investigaciones Agraria Sistemas y Recursos Forestales, 12: 51-60.
- OLIET, J; PLANELLES, R; VALVERDE, R.; ARTERO, F. 2005. Resultados de 7 años de plantación de *Pinus halepensis* en medio semiárido en respuesta a la fertilización en vivero. Actas IV Congreso Forestal Español. Mesa 2.
- OXBOROUGH, K; BAKER, NR. 1997. Resolving chlorophyll *a* fluorescence images of photosynthetic efficiency into photochemical and non-photochemical components—calculation of qP and $F'v/F'm$ without measuring $F'o$. Photosynthesis Research, 54: 135–142.
- PAGE, NC. 1974. Morphology and affinities of *Pinus canariensis*. Notes of the Royal Botanical Garden Edinburgh, 33: 317-323.
- PALACIOS, G; NAVARRO, RM; DEL CAMPO, A. 2001. Determinación y evaluación de una ecuación de NIRS para la determinación del contenido de almidón en raíces de plantas forestales. Actas del III Congreso Forestal. Granada. Pp: 804-810.
- PARSONS, JJ. 1981. Human influences on the pine and laurel forests of the Canary Islands. Geographical Review, 71: 253-271.
- PENMAN, HL. 1948. *Natural evapotranspiration from open water, bare soil and grass*. Royal Soc. London. Proc. Ser. A, 193:120-146.
- PEÑUELAS, J; OCAÑA, L. 2000. El cultivo de planta forestal en contenedor. Mundi – Prensa . Madrid.
- PERAZA, C; LÓPEZ DE ROMA, A. 1967. Estudio de las principales maderas de Canarias. IFIE, Madrid, España.
- PÉREZ DE PAZ, PL; DEL ARCO, MJ; RODRÍGUEZ, O; ACEBES, JR; MARRERO, M; WILDPRET, W. 1994a. Atlas Cartográfico de los pinares canarios III: La Palma. Gobierno de Canarias, Consejería de Política Territorial, Tenerife, España.
- PÉREZ DE PAZ, PL; SALAS, M; RODRÍGUEZ, O; ACEBES, JR; DEL ARCO, MJ; WILDPRET, W. 1994b. Atlas Cartográfico de los pinares canarios IV: Gran Canaria y plantaciones de Fuerteventura y Lanzarote. Gobierno de Canarias, Consejería de Política Territorial, Tenerife, España.
- PETER, CS. 1942. Soil and plant analysis. - Hassel Press, Adelaida, Australia.
- PETERS, J. 2001. Ecofisiología del Pino Canario. Tesis Doctoral, Universidad de La Laguna, Tenerife, España.

- PETERS, J; JIMENEZ, MS ; MORALES, D. 1999. Effect of extreme temperature on the photosynthetic apparatus of the Canarian endemic pine (*Pinus canariensis*). Z. Naturforsch., 54 c: 681-687.
- PETERS, J; LUIS, VC; JIMENEZ, MS; GIL, P; MORALES, D. 2001. Influencia de la luz en el crecimiento y mortalidad de plántulas de *Pinus canariensis*. Actas del III Congreso Forestal Español. Tomo I, pp: 363-368. Junta de Andalucía, Consejería de Medio Ambiente.
- PETERS, J; JIMENEZ, MS; MORALES, D. 2003. Gas exchange characteristics of *Pinus canariensis* needles in a field stand in Tenerife, Canary Islands. Trees 17: 492-500.
- PFEIFHOFER, HW. 2000. Composition of the essential oil of *Pinus canariensis* Sweet ex Sprengel. Flavour and Fragrance Journal, 15: 266-270.
- PHILIPSON, J. 1988. Root growth in Sitka spruce and Douglas-fir transplants: dependence on the shoot and stored carbohydrates. Tree Physiology, 4: 101-108.
- PICON-COCHARD, C; GUEHL, JM. 1999. Leaf gas exchange and carbohydrate concentrations in *Pinus pinaster* plants subjected to elevated CO₂ and a soil drying cycle. Annals of Forest Science, 56: 71-76.
- PILGUER, R. 1926. Pinaceae. In: ENGLER, A; PRANTL, K. (Eds). Phylogenie und Systematik der Coniferae. Die Natürlichen Pflanzenfamilien, Vol III, pp: 33-42, Leipzig: Wilhelm, Engelmann.
- PIOTROWSKA, G; KACPERSKA, A.1990. Utility of leaf disks cultured in vitro for studies on frost resistance. Plant, Cell, Tissue and Organ Culture, 22: 21-26.
- PIOTTO, B. 1990. Early field performance of *Cedrus atlantica* nursery grown in different container types. Istituto sperimentale per la pioppicoltura.
- PITA, JM ; SANZ, V ; ESCUDERO, E. 1998. Seed cryopreservation of seven Spanish native pine species. Silvae Genetica, 47: 220-223.
- PLANELLES, R. 2004. Efectos de la fertilización N-P-K en vivero sobre la calidad funcional de planta de *Ceratonia siliqua* L. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Madrid.
- PLANELLES, R; OLIET, JA; ARTERO, F; LÓPEZ, M. 2001. Efecto de las distintas dosis de N-P-K sobre la calidad funcional de la planta de *Ceratonia siliqua*. Respuesta en plantación. En: III Congreso Forestal Español. Junta de Andalucía (C.M.A); SECF (Ed). Mesa 3: 599-605.
- PREMACHANDRA, GS; HAHN, DT; RHODES, D; JOLY, RJ. 1995. Leaf water relations and solute accumulation in two grain sorghum lines exhibiting contrasting drought tolerance. Journal of Experimental Botany, 46: 1833-1841.
- PUÉRTOLAS J. 2003. Efecto del riego y la fertilización nitrogenada sobre la calidad de planta de *Pinus halepensis* Mill. y su comportamiento en campo. Tesis doctoral inédita. Universidad Politécnica de Madrid.

- PUÉRTOLAS, J; GIL, L; PARDOS, JA. 2003. Effects of nutritional status and seedling size on field performance of *Pinus halepensis* planted on former arable land in the Mediterranean basin. *Forestry*, 76: 159-168.
- PUÉRTOLAS, J; GIL, L; PARDOS, JA. 2005. Effects of nitrogen fertilization and temperature on frost hardiness of Aleppo pine (*Pinus halepensis* Mill.) seedlings assessed by chlorophyll fluorescence. *Forestry*, 78: 501-511.
- PUTTONEN, P. 1986. Carbohydrate reserves in *Pinus sylvestris* seedling needles is an attribute of seedling vigour. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 1: 181-193.
- PUTTONEN, P. 1997. Looking for the "silver bullet"- can one test do it all?. *New Forests*, 13: 9-27.
- QUEREJETA, JI; GONZÁLEZ-BARBERÁ, G; ALBALADEJO, J; CASTILLO, V. 2006. Evaluación del estado hídrico de *Pinus halepensis* en repoblaciones forestales experimentales mediante medidas de isótopos estables de carbono y oxígeno en las acículas. Resumos do 2º Congresso Ibérico de Ecología. SPECO-AEET.
- QUICK, WP; CHAVES, MM; WENDLER, R; DAVID, MM; RODRIGUES, ML; PASSARINHO, JA; PEREIRA, JS; ADCOCK, MD; LEEGOOD, RC; STITT, M. 1992. The effect of water stress on photosynthetic carbon metabolism in four species grown under field conditions. *Plant, Cell and Environment*, 15: 25-35.
- REDDY, AR; CHAITANYA, KV; VIVEKANANDAN, M. 2004. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of Plant Physiology*, 161: 1189-1202.
- RITCHIE, GA. 1984. Assessing seedling quality. En: DURYE, ML; LANDIS, TD (eds). *Forest nursery manual: production of barerroot seedlings*. The Hague: Martinus Nijhoff / Dr. W Junk Publishers, for forest research laboratory, Oregon State University, Corvallis, OR, pp: 243-259.
- RITCHIE, GA. 1985. Root growth potential: principles procedures and predictive ability. - En: DURYE M.L. (Eds.), *Evaluating seedling quality: principles, procedures, and predictive abilities of mayor test*, pp. 93-105. Forest research laboratory, Oregon State University.
- RITCHIE, GA; DUNLAP, JR. 1980. Root growth potential: its development and expression in forest tree seedlings. *New Zealand Journal of Forest Science*, 10: 218-248.
- RITCHIE, GA, TANAKA, Y. 1990. Root growth potential and the target seedling. En: ROSE, R; CAMPBELL, SJ; LANDIS, TD. (eds). *Target seedling symposium: Proceedings: Combined meeting of the Western Forest Nursery Associations; 1990 Aug 13-17; Roseburg, OR. Fort Collins (CO): USDA Forest Service, Rocky Mountain Forest and Range Experiment Station. General Technical Report RM-200, pp 37-51.*
- RIVAS-MARTÍNEZ, S.1987. *Memoria del Mapa de Series de Vegetación de España*. ICONA, Madrid.

- RIVAS-MARTÍNEZ, S; WILDPRET, W; DÍAZ, TE; PÉREZ DE PAZ, PL; DEL ARO, MJ; RODRÍGUEZ DELGADO, O. 1993a. Excursion Guide: outline vegetation of Tenerife island (Canary Islands), *Itinera Geobotánica*, 7: 5-169.
- RIVAS-MARTÍNEZ, S; WILDPRET, W; DEL ARCO, MJ; RODRÍGUEZ, O; PÉREZ DE PAZ, PL; GRACÍA-GALLO, A; ACEBES, J; DÍAZ, TE; FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, F. 1993b. Las comunidades vegetales de la isla de Tenerife (Islas Canarias). *Itinera Geobotánica*, 7: 169-374.
- ROMERO, AE ; RIDER, J ; FISHER, JT ; MEXAL, JG. 1986. Root system modification of container stock for arid land plantings. *Forest Ecology and Management*, 180: 281-290.
- RONTEIN, D; BASSET, G; HANSON, AD. 2002. Metabolic engineering of osmoprotectant accumulation in plants. *Metab Eng*, 4: 49-56.
- ROOK, DA. 1991. Seedling development and physiology in relation to mineral nutrition. En: VAN DEN DRIESSCHE, R (Ed.): *Mineral nutrition in conifer seedlings*. CRC Press. Pp: 86-112.
- ROSE, R. 1992. Root growth potential and starch differences in seedlings of six families of genetically improved loblolly pine. *Forest Science*, 39: 448-456.
- ROSE, R; CAMPBELL, SJ; LANDIS, TD. 1990. The target seedling concept. En: ROSE, *et al.*, eds. *Target seedling symposium: Proceedings, combined meeting on the western forest nursery associations*. Roseburg, OR. USDA Forest Service, pp: 1-8.
- ROSE, R; ROSE, CL; OMI, SK; FERRY, KR; DURALL, DM; BIGG, WL. 1991. Starch determination by perchloric acid versus enzymes: evaluating the accuracy and precision of six colorimetric methods, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39: 2-11.
- ROSE, R; HASE, D; BOYER, D. 1995. *Organic Matter management in Forest Tree Nurseries: Theory and Practice*. Nursery Technology Cooperative, Oregon State University, Corvallis, 68 pp.
- ROUSSIS, V; PETRAKIS, PV; ORTIZ, A; MAZOMENOS, BE. 1995. Volatile constituents of needles of five *Pinus* species grown in Grece. *Phytochemistry*, 39 : 357-361.
- ROYO, A; FERNÁNDEZ, M; GIL, L; PUELLES, A; RUANO, R, PARDOS, JA. 1997. La calidad de planta de vivero de *Pinus halepensis* Mill. Destinada a la repoblación forestal. Tres años de resultados en la Comunidad Valenciana. *Montes*. 50: 29-39.
- RUIZ, P; DOMÍNGUEZ, S. 1997. Estudio sobre factores influyentes en un ensayo de fertilización de planta de *Pinus pinea* L.: potencial de regeneración de raíces, concentración de nutrientes y tamaño de planta. EUITF. Madrid. Inédito.
- SAKAMOTO, A; MURATA, N. 2002. The role of glycine betaine in the protection of plants from stress: clues from transgenic plants. *Plant Cell and Environment*, 25: 163-171.
- SAKURATANI, T. 1981. A heat balance method for measuring water flux in the stem of intact plants. *Journal of Agricultural Meteorology*, 37: 9-17.
- SALEM, B. 1997. *Root strangulation: a neglected factor container grown nursery stock*. Berkeley, Thesis. University of California, 50p.

- SANTARIUS, KA. 1973. The protective effect of sugars on chloroplast membranes during temperature and water stress and its relationship to frost, desiccation and heat resistance. *Planta*, 113: 105-114.
- SAPORTA, G. 1865. Etudes sur la végétation du Sud-Est de la France à l'époque Tertiaire. *Annales des Sciences Naturelles, Botanique*, 5: 5-152.
- SAPORTA, G. 1868. Etudes sur la végétation du Sud-Est de la France à l'époque Tertiaire. *Annales des Sciences Naturelles, Botanique*, 5: 5-62.
- SAPORTA, G. 1873. Etudes sur la végétation du Sud-Est de la France à l'époque Tertiaire. – Supplément II. Révision de la flore des gypses d'Aix. *Annales des Sciences Naturelles, Botanique*, 5: 5-44.
- SCHILLER, J; KOROL, L; UNGAR, ED; ZEHAZI, A; GIL, L; CLIMENT, J. 1999. Canary Islands pine (*Pinus canariensis* Chr. Sm. ex DC.) I. Differentiation among native populations in their isoenzymes. *Forest Genetics*, 6: 257-276.
- SCHMINCKE, HU. 1967. Mid-Pliocene fossil wood from Gran Canaria – Preliminary note. *Cuadernos de Botánica Canaria*, 2: 19-20.
- SCHMINCKE, HU. 1968. Pliozäne subtropische vegetation auf Gran Canaria. *Die Naturwiss*, 55: 185-186.
- SCHOLANDER, PF; HAMMEL, HT; BRADSTREET, ED; HEMMINGSEN, EA. 1965. Sap pressure in vascular plants. *Science*, 148: 339–346.
- SERRADA, R. 2005. Apuntes de Selvicultura. Servicio de Publicaciones de la EUIF. Madrid.
- SHANGGUAN, Z; SHAO, M; DYCKMANS, J. 1999. Interactions of osmotic adjustment and photosynthesis in winter wheat under soil drought, *Journal of Plant Physiology*, 154: 753-758.
- SIMPSON, DG. 1995. Nursery growing density and container volume affect nursery and field growth of Douglas-fir and Lodgepole pine seedlings. En: National Proceedings, Forest and Conservation Nursery Associations. No. RM-GTR-257 in USDA Forest Service General Technical Report. US Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Forest and Range Experiments Station, Fort Collins, Colorado, pp: 105-115.
- SIMPSON, DG; RITCHIE, GA. 1997. Does RGP predict field performance? A debate. *New Forests*, 13: 253–277.
- SIMPSON, DG; THOMPSON, CF; SUTHERLAND, CD. 1994. Field performance potential of interior spruce seedlings: effects of stress treatments and prediction by root growth potential and needle conductance. *Canadian Journal of Forest Research*, 24: 576-586.
- SLATYER, RO. 1960. Aspects of the tissue water relationship of an important arid zone species (*Acacia aneura* F. Muel) in comparison with two mesophytes. *Bull. Res. Council. Isr. Sec. D. 8*, 675 – 680.

- SOUTH, DB. 2000. Planting morphologically improved pine seedlings to increase survival and growth. Forestry and Wildlife Research Series N° 1. Alabama Agricultural Experiment Station. Auburn University, Alabama. 12 pp.
- SOUTH, DB; HARRIS, SW; BARNETT, JP; HAINDS, MJ; GJERSTAD, DH. 2005. Effect of container type and seedling size on survival and early height growth of *Pinus palustris* seedlings in Alabama, USA. *Forest Ecology and Management*, 204: 385-398.
- SPENCER, CC; NEIGEL, JE; LEBERG, PL. 2000. Experimental evaluation of the usefulness of microsatellites DNA for detecting demographics bottlenecks. *Molecular Ecology*, 9 (10): 1517-1528.
- SPERRY, JS. 2000. Hydraulic constraints on plant gas exchange. *Agricultural and Forest Meteorology*, 2831: 1-11.
- SRUTEK, M; DOLEZAL, J; HARA, T. 2002. Spatial structure and associations in a *Pinus canariensis* population at the treeline, Pico del Teide, Tenerife, Canary Islands. *Artic, Antarctic and Alpine Research*, 34: 201-210.
- STABENTHEINER, E; PFEIFHOFER, HW; PETERS, J; JIMÉNEZ, MS; MORALES, D; GRILL, D. 2004. Different surface characteristics of primary and secondary needles of *Pinus canariensis*. *Flora*, 199:90-99.
- STRAUSS, SH; DOERKSEN, AH.1990. Restriction fragment analysis of pine phylogeny. *Evolution* 44:1081-1096.
- SUBRAHMANYAM, D; SUBASH, N; HARIS, A; SIKKA, AK. 2006. Influence of water stress on leaf photosynthetic characteristics in wheat cultivars differing in their susceptibility to drought. *Photosynthetica*, 44: 125-129.
- SUTTON, R. 1979. Planting stock quality and grading. *Forest Ecology and Management*, 2: 123-132.
- SWANSON, RH. 1967. Seasonal course of transpiration of lodgepole pine and engelmann spruce. En: SOPPER Y LULL (Eds.) *Proceedings, International Symposium on Forest Hydrology*. Pergamon, Oxford. pp. 417-433.
- SWANSON, RH. 1994. Significant historical development in thermal methods for measuring sap flow in trees. *Agricultural and Forest Meteorology*, 72: 113-32.
- TAN, W; HOGAN, GD. 1995. Effects of nitrogen limitations on water relations of jack pine (*Pinus banksiana* Lamb.) seedlings. *Plant, Cell and Environment*, 18: 757-764.
- TAPIAS, R; CLIMENT, J; PARDOS, JA; GIL, L. 2004. Life histories of Mediterranean pines. *Plant Ecology*, 171 (1-2): 53-68.
- TAUSZ, M; GRILL, D; JIMÉNEZ, MS; MORALES, D. 1997. A physiological comparison between environmental effects on Canary pine in Tenerife and Norway spruce in Austria. *Impacts of Global Change on Tree Physiology and Forest Ecosystems*. MOHREN, GMJ; KRAMER, K; SABATÉ, S. (Eds). pp: 103-110. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London.

- TAUSZ, M; JIMÉNEZ, MS; GRILL, D. 1998a. Antioxidative defence and photoprotection in pine needles under field conditions. A multivariable approach to evaluate patterns of physiological responses at natural sites. *Physiologia Plantarum*, 104: 760-764.
- TAUSZ, M; JIMÉNEZ, MS; MORALES, D; GRILL, D; PETERS, J. 1998b. Element contents and stress-physiological characterization of *Pinus canariensis* trees in Mediterranean type forest stands in Tenerife. *Chemosphere*, 36: 1019-1023.
- TAUSZ, M; MORALES, D; JIMÉNEZ, MS; GRILL, D. 1999a. Photoprotection in Forest trees under field conditions. *Phyton*, 39: 25-28.
- TAUSZ, M; WONISCH, A; PETERS, J; JIMÉNEZ, MS; MORALES, D; BYTNEROWICZ, A; ARBAUGH, MJ; GRILL, D. 1999b. Complex patterns of the antioxidative defence systems in pine species at field plots subjected to different environmental stress combinations. En: Different pathways through life DENKE, A; KERSTIN, D; FLEISCHMANN, F; GRASSMANN, J; HEISER, J; HIPPELI, S; OSSWALD, W; SCHEMP, H. (Eds). *Lincom studies in Biochemistry 02. LINCOM EUROPA*.
- TAUSZ, M; WONISCH, A; GRILL, D; BYTNEROWICZ, A; ARBAUGH, MJ; PETERS, J; JIMÉNEZ, MS; MORALES, D. 2000. The significance of the glutathione redox system in responses of conifers to natural and anthropogenic stress. *Sulfur Nutrition and Sulfur Assimilation in Higher Plants: molecular, biochemical and physiological aspects*. BRUNOLD, C; RENNENBERG, H; DE KOK, L; STULEN, J; DAVIDIAN, J. (Eds.) 355- 357. Paul Haupt Verlag. Berna, Suiza.
- TAUSZ, M; WONISCH, A; PETERS, J; JIMÉNEZ, MS; MORALES, D; GRILL, D. 2001. Short-term changes in chloroplast pigment and free-radical scavengers in *Pinus canariensis* needles as affected by mild drought stress. *Journal of Plant Physiology* 158: 213-219.
- TAUSZ, M; WONISCH, A; GRILL, D; MORALES, D; JIMÉNEZ, MS. 2003. Measuring antioxidants in tree species in the natural environment: from sampling to data evaluation. *Journal of Experimental Botany*, 54: 1505-1510.
- TAUSZ, M; TRUMMER, W; WONISCH, A; GOESSLER, W; GRILL, D; JIMÉNEZ, MS; MORALES, D. 2004. A survey of foliar mineral nutrient concentrations of *Pinus canariensis* at field plots in Tenerife. *Forest Ecology and Management*, 189: 49-55.
- TAUSZ, M; TRUMMER, W; GOESSLER, W; WONISCH, A; GRILL, D; NAUMANN, S; JIMÉNEZ, MS; MORALES, D. 2005. Accumulating pollutants in conifer needles on an Atlantic island - A case study with *Pinus canariensis* on Tenerife, Canary Islands. *Environmental Pollution*, 136: 397-407.
- TEJEDOR, M; JIMÉNEZ, C; MONTEVERDE, C; PARRA, J. 2004. The influence of deforestation on soil water conservation in a pine forest in Tenerife (Canary Islands, Spain). En: RAINE, S; BIGGS, A; MENZIES, N; FREEBAIRN, D; TOLMIE, P. (Eds.). *Conserving Soil and Water for Society: Sharing Solutions, Proceedings 13th International Soil Conservation Organization Conference, Brisbane, Australia*.

- THOMAS, DS; EAMUS, D. 1999. The influence of predawn leaf water potential on stomatal responses to atmospheric water content at constant C_i and on stem hydraulic conductance and foliar ABA concentrations. *Journal of Experimental Botany*, 50: 243-251.
- THOMPSON, BE. 1985. Seedling morphological evaluation. What you can tell by looking. En: DURYEA, ML. (Ed.) *Evaluating seedling quality: principles, procedures, and predictive abilities of major test*. Forest Research Laboratory. Oregon State University. Pp: 59-71.
- TIMMER, VR. 1991. Interpretation of seedlings analysis and visual symptoms in mineral nutrition of conifer seedlings. En: VAN DEN DRIESCHE, R. (Ed.). *Mineral Nutrition of Conifer Seedlings*. CRC Press.
- TIMMER, VR; ARMSTRONG, G. 1987. Growth and nutrition of containerised *Pinus resinosa* at exponentially increasing nutrient additions. *Canadian Journal of Forest Research*. 17: 644-647.
- TINUS, RW; OWSTON, PW. 1984. Physiology research made reforestation with containergrown seedlings successful. En: DURYEA, ML; BROWN, GN. (Eds.), *Seedling physiology and reforestation success*. London.
- TRUBAT, R; CORTINA, J; VILAGROSA, A. 2003. Estado nutricional y establecimiento de especies leñosas en ambiente semiárido. *Cuadernos de la Sociedad Española de Ciencias Forestales*, 17: 245-251.
- TRUBAT, R; CORTINA, J; VILAGROSA, A. 2005. Manipulación de las dimensiones de los contenedores forestales y su aplicación a la restauración. *Actas del IV Congreso Forestal Español, Mesa 2*, pp: 208. Zaragoza.
- TRUBAT, R; CORTINA, J; VILAGROSA, A. 2006. Plant morphology and root hydraulics are altered by nutrient deficiency in *Pistacia lentiscus* (L.). *Trees*, 20: 334-339.
- TUTTLE, CL; SOUTH, DB; GOLDEN, MS; MELDAHL, RS. 1988. Initial *Pinus taeda* seedling height relationships with early survival and growth. *Canadian Journal of Forest Research*, 18: 867-871.
- TYREE, MT; EWERS, FW. 1991. The hydraulic architecture of trees and other woody species. *New Phytol.* 119: 345-360.
- TYREE, MT; SINCLAIR, B; LU, P; GRANIER, A. 1993. Whole shoot hydraulic resistance in *Quercus* species measured with a new high-pressure flowmeter. *Ann. Sci. For.* 50: 417-423.
- TYREE, MT; PATIÑO, S; BENNINK, J; ALEXANDER, J. 1995. Dynamic measurements of roots hydraulic conductance using a high-pressure flowmeter in the laboratory and field *Journal of Experimental Botany*, 46: 83-94.
- VALDECANTOS, A; CORTINA, J; VALLEJO, R. 2006. Nutrient status and field performance of tree seedlings planted in Mediterranean degraded areas. *Ann. For. Sci.* 63: 249- 256.

- VALLADARES, F; VILAGROSA, A; PEÑUELAS, J; OGAYA, R; CAMARERO, J; CORCUERA, L; SISÓ, S; GIL-PELEGRÍN, E. 2004. Estrés Hídrico: ecofisiología y escalas de la sequía. En: VALLADARES, F. Ecología del Bosque mediterráneo en un mundo cambiante, pp 163-190. Ministerio de Medio Ambiente, EGRAF., SA. Madrid.
- VALLEJO, VR; ALLOZA, JA. 1998. The restoration of burned lands: The case of Eastern Spain. En: Moreno, JM. (Ed.) Large Forest Fires. Backbuys Pub. The Netherlands, pp: 91-108.
- VALLEJO, VR; CORTINA, J; VILAGROSA, A; SEVA, JP; ALLOZA, JA. 2003. Problemas y perspectivas de la utilización de leñosas autóctonas en la restauración forestal. En: REY-BENAYAS, JM; ESPIGARES PINILLA, T; NICOLAU IBARRA, JM (Eds.). Restauración de Ecosistemas Forestales Mediterráneos, Universidad de Alcalá /Asociación Española de Ecología Terrestre, pp: 65-86.
- VAN DEN DRIESSCHE, R. 1987. Importance of current photosynthate to new root growth in planted conifer seedlings. Canadian Journal of Forest Research, 17: 776-782.
- 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. Canadian Journal of Forest Research, 22 (5): 740-749.
- VAN KOOTEN, O; SNEL, JHF. 1990. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. Photosynthesis research, 25: 147-150.
- VAN STEENIS, E. 1999. Forest seedling nutrition trends. National Proceedings: Forest & Conservation Nursery Association.
- VAXEVANIDOU, Z; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, SC; CLIMENT, J; GIL, L. 2006. Tree populations bordering on extinction: a case study in the endemic Canary Island pine. Biological Conservation 129: 451-460.
- VILAGROSA, A. 2002. Estrategias de resistencia al déficit hídrico en *Pistacia Lentiscus* L. y *Quercus coccifera* L. Implicaciones en la repoblación forestal. Tesis Doctoral Inédita. Universidad de Alicante.
- VILAGROSA, A; SEVA, JP; VALDECANTOS, A; CORTINA, J; ALLOZA, JA; SERRASOLSAS, I; DIEGO V; ABRIL, M; FERRAN, A; BELLOT, J; VALLEJO, VR. 1997. Plantaciones para la restauración forestal en la Comunidad Valenciana. En: VALLEJO, VR (Ed.), Restauración de la cubierta vegetal en la Comunidad Valenciana., Valencia pp: 435-548.
- VILAGROSA, A; BELLOT, J; VALLEJO, R; GIL-PELEGRÍN, E. 2003. Cavitation, stomatal conductance and leaf dieback in seedlings in two co-occurring Mediterranean shrubs during an intense drought. Journal of Experimental Botany, 54: 2015-2024.
- VILAGROSA, A; CORTINA, J; RUBIO, E; TRUBAT, R; CHIRINO, E; GIL-PELEGRIN, E; VALLEJO, VR. 2005. El papel de la ecofisiología en la restauración forestal de ecosistemas mediterráneos. Investigación Agraria: Sistemas y Recursos Forestales, 14: 446-461.

- VILLAR-SALVADOR, P. 2003. Importancia de la calidad de la planta en los proyectos de revegetación. En: REY-BENAYAS, JM; ESPIGARES PINILLA, T; NICOLAU IBARRA, JM (Eds.), Restauración de Ecosistemas en Ambientes Mediterráneos., Universidad de Alcalá /Asociación Española de Ecología Terrestre, pp : 65-86.
- VILLAR-SALVADOR, P; CASTRO-DÍEZ, P; PÉREZ-ROMTONÉ, C; MONTSERRAT-MARTÍ, G. 1997. Stem xylem features in three *Quercus* (*Fagaceae*) species along a climatic gradient in NE Spain. *Trees-Structure & Function*, 12: 90-96.
- VILLAR-SALVADOR, P; OCAÑA, L; PEÑUELAS, JL; CARRASCO, I. 1999. Effect of water stress conditioning on the water relations, root growth capacity and the nitrogen and non-structural carbohydrate concentration of *Pinus halepensis* Mill. (Aleppo pine) seedlings. *Annals of Forest Science*, 56: 459-465.
- VILLAR-SALVADOR, P; PEÑUELAS, JL; CARRASCO, I. 2000. Plantas grandes y mejor nutridas de *Pinus pinea* L. tienen mejor desarrollo en campo. 1^{er} Simposio de Pino Piñonero (*Pinus pinea* L.). I. (ed.). Junta de Castilla y León, Valladolid, pp: 219-227.
- VILLAR-SALVADOR, P; PLANELLES, R; ENRÍQUEZ, E; PEÑUELAS, JL; ZAZO, J. 2001a. Influencia de la fertilización y el sombreado en el vivero sobre la calidad de la planta de *Quercus ilex* y su desarrollo en campo. *Actas del III Congreso Forestal Español*, Mesa 3 pp: 770-776.
- VILLAR-SALVADOR, P; GARRACHÓN, S; DOMÍNGUEZ-LERENA, S; PEÑUELAS, JL; SERRADA, R; OCAÑA, L. 2001b. Desarrollo en campo, arquitectura radical y estado hídrico seis años después de la plantación de brinzales de *Pinus pinea* cultivados en diferentes tipos de contenedor. *Actas del III Congreso Forestal Español*, Mesa 3 pp: 791-796.
- VILLAR-SALVADOR, P; PLANELLES, R; ENRÍQUEZ, E; PEÑUELAS RUBIRA, J. 2004. Nursery cultivation regimes, plant functional attributes, and field performance relationships in the Mediterranean oak *Quercus ilex* L. *Forest Ecology and Management*, 196: 257-266.
- VIVIN, P; GUEHL, JM; CLÉMENT, A; AUSSENAC, G. 1996. The effects of elevated CO₂ and water stress on whole plant CO₂ exchange, carbon allocation, and osmoregulation in oak seedlings. *Annals Science of Forest*, 53: 447-459.
- VON CAEMMERER, S; FARQUHAR, GD. 1981. Some relation between biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta*, 153: 376-387.
- WASEL, Y. 1958. Dew absorption by plants of arid zones. *Bull. Res. Coun. Israel*, Sec. D 6, 180.
- WANG, XR; TSUMURA, Y; YOSHIMARU, H; NAGASAKA, K; SZMIDT, AE. 1999. Phylogenetic relationships of Eurasian pines (*Pinus*, *Pinaceae*) based on chloroplast rbcL, matK, rpl20-rps18 spacer, and trnV intron sequences. *American Journal of Botany*, 86: 1142-1153.

- WARD, TM ; DONNELLY, JR; CARL, CH. 1981. The effects of containers and media on sugar maple seedling growth. Tree planters' notes – Summer 1981.
- WHITE, AJ; CRITCHLEY, C. 1999. Rapid light curves: a new fluorescence method to assess the state of the photosynthesis apparatus. Photosynthesis Research, 59: 63-72
- WIESER, G; PETERS, J; LUIS, VC; MORALES, D; JIMENEZ, MS. 2002. Ecophysiological studies on the water relations in a *Pinus canariensis* stand, Tenerife, Canary Islands. Phytion, 42: 291-304.
- WIESER, G; LUIS, VC; CUEVAS, E. 2006a. Quantification of ozone uptake at the stand level in a *Pinus canariensis* forest in Tenerife, Canary Islands: an approach based on sap flow measurements. Environmental pollution, 140: 383-386.
- WIESER, G; JIMENEZ, MS; MORALES, D; LUIS, VC. 2006b. Quantification of canopy transpiration in two pine forests of contrasting environment. Actas del VIII Simposium de Relaciones Hídricas en las Plantas. El agua en las plantas: Desde genes y moléculas a comunidades y ecosistemas, Tenerife, pp: 181-184.
- WILKINSON, GB. 1969. Some establishment problems on Southland and Otago. New Zealand Journal of Forestry, 14: 170–177.
- YIN, C; PENG, Y; ZANG, R; ZHU, Y; LI, C. 2005. Adaptive responses of *Populus kangdingensis* to drought stress. Physiologia Plantarum, 123: 445–451.
- ZELLNIG, G; PETERS, J; JIMÉNEZ, MS; MORALES, D; GRILL, D; PERKTOLD, A. 2002. Three-Dimensional reconstruction of the stomatal complex in *Pinus canariensis* needles using serial sections. Plant Biology, 4: 70-76.
- ZIMMERMANN, MH; BROWN, CL. 1971. Trees: Structure and Function. Springer-Verlag. New York.

Anexos

Fórmulas, conversiones y correcciones usadas por el analizador de gases por infrarrojo (IRGA)

Radiación fotosintéticamente activa incidente en la hoja (Q_{leaf} en $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$):

$$Q_{leaf} = Q * Trw$$

donde Q es el PAR ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); y Trw es el factor de transmisión del PAR para la ventana de la cámara (adimensional).

Conversión del flujo molar a flujo volumétrico:

$$V = u * Vm20 * (273+T_{ch})/293 * p * 60$$

donde u es el flujo de aire (mol s^{-1}); $Vm20$ el volumen de 1 mol de aire a 20 °C y 1 bar de presión (m^3); T_{ch} la temperatura de la cámara (°C); y p la presión ambiente (bares).

Flujo molar de aire por m^2 de superficie de hoja (u_s):

$$u_s = u/\text{área}$$

donde u es el flujo molar (mol s^{-1}); y área es el área proyectada de la hoja (m^2).

Corrección para las lecturas de CO_2 (de referencia y de análisis) para la presencia de H_2O (C_{ref} o C_{an}) (vpm):

$$C_{ref} = (C_{ref})_1 + b * W_{ref} * (C_{ref})_1$$

donde $(C_{ref})_1$ es la presión corregida de CO_2 de la lectura de referencia ($(C_{an})_1$ cuando se trata de la de análisis) (vpm); b es un factor de compensación (cuyo valor es el mismo para la de análisis) (adimensional); y W_{ref} es la presión de vapor de agua de referencia (W_{an} cuando es la de análisis) (mol mol^{-1}).

Corrección del análisis de CO_2 para la dilución por vapor de agua (C'_{an}) (vpm):

$$C'_{an} = C_{an} * (1-W_{ref}) / (1-W_{an})$$

donde C_{an} es el CO_2 que sale de la cámara (vpm); W_{ref} es la concentración del vapor de agua que entra en la cámara ($mol\ mol^{-1}$); y W_{an} es la concentración de vapor de agua que sale de la cámara ($mol\ mol^{-1}$).

Diferencia en la concentración de CO_2 (vpm ($mol\ mol^{-1}$)):

$$DC = C_{ref} - C'_{an}$$

donde C_{ref} es el CO_2 que fluye al interior de la cámara ($\mu mol\ mol^{-1}$); y C'_{an} es el CO_2 que fluye hacia fuera de la cámara ($\mu mol\ mol^{-1}$).

Corrección del análisis de H_2O para la dilución por la transpiración

$$(W'_{an})\ (mol\ mol^{-1}): W'_{an} = W_{an} * (1 - W_{ref}) / (1 - W_{an})$$

donde W_{an} es la concentración de vapor de agua de análisis ($mol\ mol^{-1}$); y W_{ref} es la concentración de vapor de agua de referencia ($mol\ mol^{-1}$).

Compensación de las lecturas CO_2 y H_2O debido a la variación de la presión

$$((C_{an})_1)\ (vpm): (C_{an})_1 = (C_{an}) * p_s / p$$

donde p_s es la presión de referencia (mbar); y p la presión ambiente (mbar).

Constantes:

Volumen de 1 mol de aire a 20 °C y 1 bar (V_{m20c})

Valor usado: $2.4387 * 10^{-2}\ m^3$.

Calor latente de la vaporización del agua (l)

Valor usado: $45064.3 - (T_{ch} * 42.9)\ J\ mol^{-1}$.

Constante de Boltzmann (s)

Valor usado: $5.7 * 10^{-8}\ W\ m^{-2}\ K^{-4}$.

Peso molecular del aire (Ma)

Valor usado: 28.97.

Calor específico a presión constante (C_p)

Valor usado: 1.012 J g⁻¹ K⁻¹.

Tasa de transpiración (E) (mol m⁻² s⁻¹):

$$E = u_s * DW$$

donde DW es la concentración de vapor de agua diferencial (mol mol⁻¹); y u_s es el flujo de masa del aire dentro de la cámara por m² de área de la hoja (mol s⁻¹ m⁻²).

Resistencia estomática al vapor de agua (r_s) (m² s mol⁻¹):

$$r_s = ((W_{hoja} - W_{an}) / (DW * u_s)) - r_b$$

donde W_{hoja} es la concentración de vapor saturada a temperatura ambiente (mol mol⁻¹) ($W_{hoja} = e_s / p$; siendo e_s la presión de vapor saturada a la temperatura de la hoja (mbar) y p la presión atmosférica (mbar)); DW el vapor de agua diferencial a través de la cámara (mol mol⁻¹); W_{an} la concentración de vapor de agua fuera de la cámara (mol mol⁻¹); r_s la resistencia de la capa límite al vapor de agua (m² s mol⁻¹); y u_s el flujo de masa del aire por m² de hoja (mol m⁻² s⁻¹).

Conductancia estomática al vapor de agua (g_s) (mol m⁻² s⁻¹):

$$g_s = 1 / r_s$$

donde r_s es la resistencia estomática al vapor de agua (m² s mol⁻¹).

Temperatura calculada de la hoja (T_{hoja}) (°C):

$$T_{hoja} = T_{ch} + (((Q * Hfactor) - IE) / (0.93 Ma C_p / r_b) + 4s * (T_{ch} + 273.16))^3$$

donde T_{ch} es la temperatura de la cámara (°C); Q la intensidad de flujo fotónico sobre la ventana de la cámara (μmol m⁻² s⁻¹); $Hfactor$ el factor de conversión de energía (adimensional); I el calor latente de vaporización del agua (J mol⁻¹); Ma el peso molecular del aire (adimensional); C_p el calor específico a presión constante (J g⁻¹ K); r_b la resistencia de la capa límite a la transferencia de vapor (m² s mol⁻¹); y s la constante de Boltzmann (W m⁻² K⁻⁴).

Tasa fotosintética (tasa de intercambio de CO₂ en la cámara) (Pn) (μmol m⁻² s⁻¹):

$$P_n = u_s * DC$$

donde DC es la diferencia en la concentración de CO₂ a través de la cámara (μmol mol⁻¹); y u_s el flujo de masa del aire por m² de área de la hoja (mol m⁻² s⁻¹).

Concentración de CO₂ en la cavidad subestomática (C_i) (μmol mol⁻¹):

$$C_i = \frac{((g_c - (E/2)) * C'_{an})}{(g_c + (E/2))}$$

donde g_c = 1 / (1.6 r_s + 1.37 r_b); C' an el CO₂ que sale de la cámara (μmol mol⁻¹); E es la tasa de transpiración (mol m⁻² s⁻¹); r_b la resistencia de la capa límite al vapor de agua (m² s mol⁻¹); y r_s la resistencia estomática al vapor de agua (m² s mol⁻¹).

Presión de vapor saturada de agua (e_s) (bar):

Para temperaturas sobre 0 °C:

$$e_s = 6.13753 * 10^{-3} * e * ((T_{ch} (18.564 - (T_{ch}/254.4)))/(T_{ch} + 255.57))$$

donde T_{ch} es la temperatura de la cámara (°C).

Presión de vapor de agua dentro y fuera de la cámara (e_{ref} y e_{an}, respectivamente) (mbar):

$$e_{ref} = W_{ref} * p; e_{an} = W_{an} * p$$

donde W_{ref} y W_{an} son concentraciones de vapor de agua (mol mol⁻¹); y p es la presión atmosférica (mbar).

Cálculos para la humedad relativa dentro y fuera de la cámara (W_{ref} y W_{an}, respectivamente) (%):

$$W_{ref} = e_{ref} / e_{sat} * 100; W_{an} = e_{an} / e_{sat} * 100$$

donde e_{ref} es la presión de vapor de agua en la cámara (mbar); y e_{sat} es la presión de vapor de agua a la temperatura de la cámara (mbar).

Diferencia de presión de vapor de agua (D_e) (mbar):

$$D_e = e'_{an} - e_{ref}$$

donde e_{ref} es la presión de vapor de agua dentro de la cámara (mbar); y e'_{an} la presión de vapor de agua fuera de la cámara (mbar).



Foto 1: Disposición de las bandejas en los canteros. Primera fase de cultivo.



Foto 2: Germinación de las plantas.



Foto 3: Disposición de las bandejas en los canteros. Segunda fase de cultivo



Foto 4. Ensayo 2002 (Octubre 2003)



Foto 5.
Cultivo Alternativo
(Octubre 2003)



Foto 6.
Cultivo Tradicional
(Octubre 2003)



Foto 7. Extracción de raíz de una planta del cultivo Alternativo

Foto 8. Comparación cultivo Alternativo (izqda, cultivo tradicional, dcha)

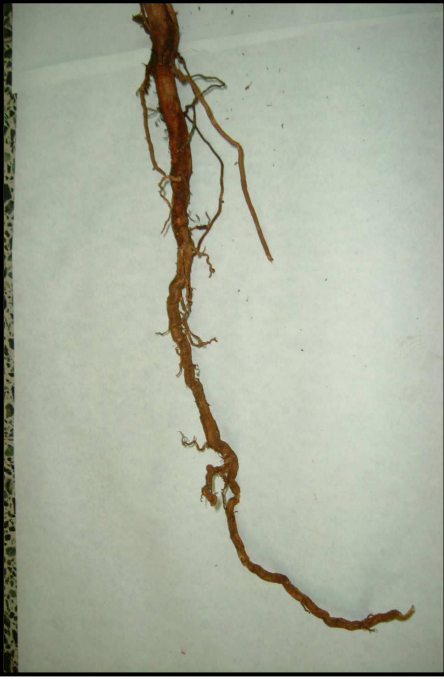


Foto 9. Detalles del sistema radical en el levantamiento de las plantas cultivo Alternativo (izqda) y cultivo Tradicional (dcha).



Foto 10. Ensayo 2002 en Octubre 2004. Mar de nubes llegando a la parcela



Foto 11. Ensayo 2002. Cultivo Alternativo (Octubre 2004)



Foto 12. Ensayo 2002. Cultivo Tradicional (Octubre 2004)



Foto 13.
Ensayo 2003.
Nubes
llegando a la
parcela



Foto 14. Comparación cultivo
Alternativo (superior)
Cultivo Tradicional (inferior).
Octubre 2003





Foto 15. Ensayo 2003.
Cultivo Alternativo (Mayo
2004)



Foto 16. Ensayo 2003.
Cultivo Tradicional
(Mayo 2004)

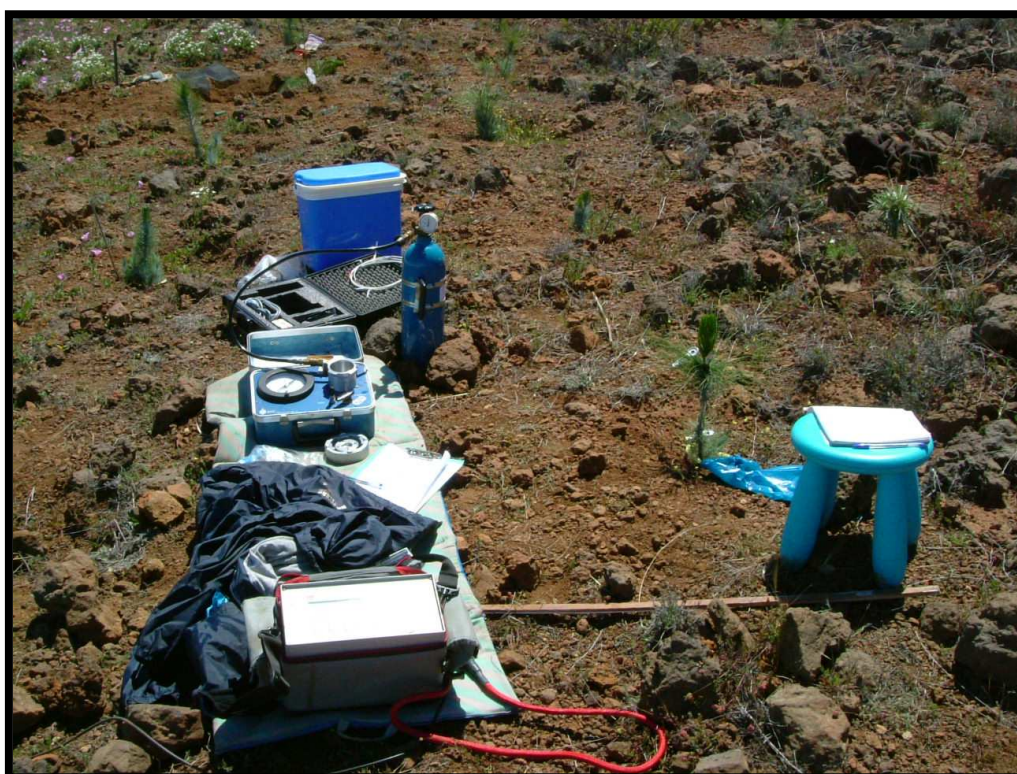


Foto 17. Aparatos de medida de fisiología. IRGA,
Schölander y Mini-Pam.



Fotos 18 y 19. Experimento en maceta. Plantas en Noviembre 2003 (foto superior) y en Julio 2004 (foto inferior), antes de empezar el estrés por sequía, en ambos casos las plantas cultivadas de manera tradicional están a la izqda. de la foto y las cultivadas de manera alternativa a la dcha.



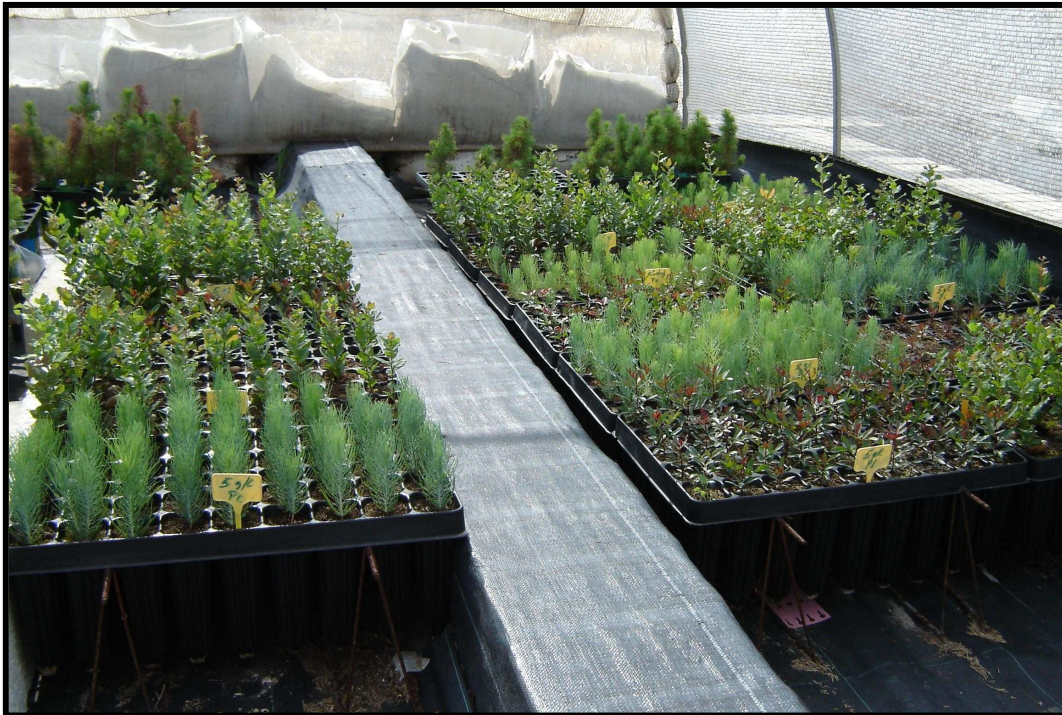


Foto 20 y 21. Experimento en condiciones controladas. Medidores de flujo de savia recubiertos fundas termoprotectoras (foto superior) y plantas cubiertas para evitar interacción de la lluvia (foto inferior) una vez empezado el experimento.





Foto 22 y 23. Experimento de manipulación de la arquitectura hidráulica. Vivero de Santa Faz (Alicante). Plantas cultivadas a pleno sol (foto superior) y bajo umbráculo (foto inferior), además de Pino canario, Alcornoque y Lentisco.



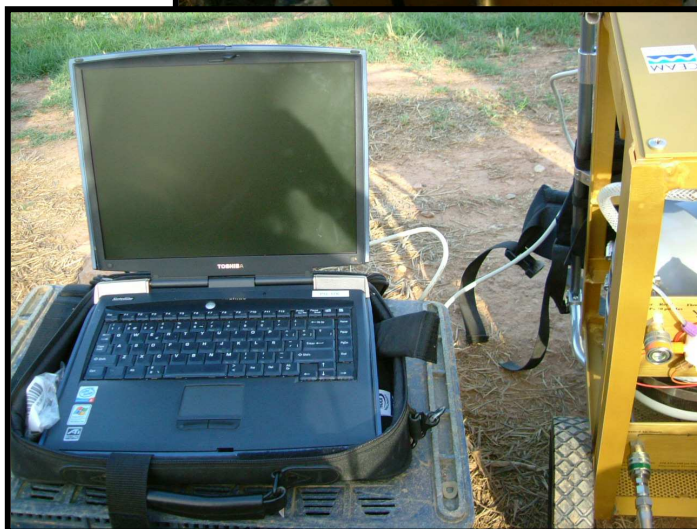
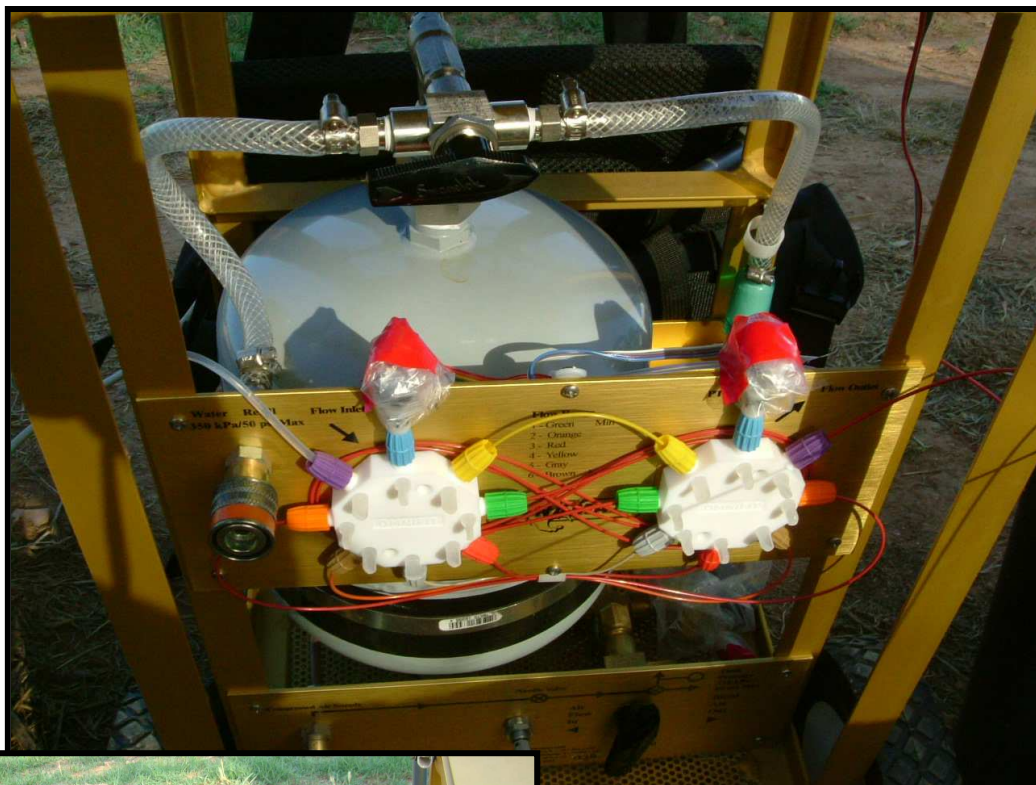


Foto 24. Equipo de medida de Conductividad Hidráulica (Dinamax)