

+ 7/74

TESIS DOCTORAL

Universidad de Granada
Facultad de Ciencias

UNIVERSIDAD DE GRANADA
Facultad de Ciencias
Fecha ... 09.05.03
ENTRADA NUM. ... 1701

ANÁLISIS NUTRICIONAL DE SEIS ESPECIES VEGETALES DE INTERÉS FORESTAL, Y SU RESPUESTA A DOS CONDICIONES EDÁFICAS DIFERENTES, EN AMBIENTES MEDITERRÁNEOS

BIBLIOTECA UNIVERSITARIA
GRANADA
N.º Documento 613659030
N.º Copia 115733944

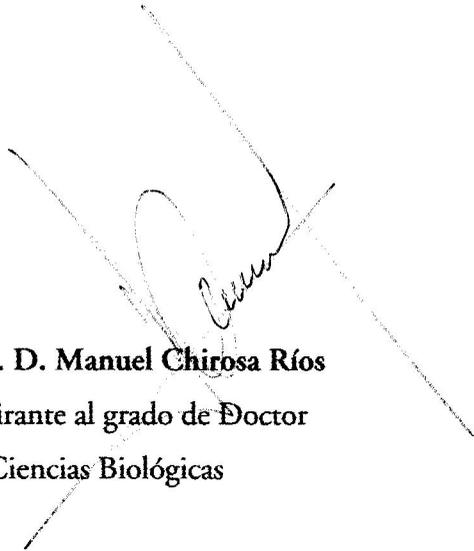
UNIVERSIDAD DE GRANADA
28 ABR. 2003
COMISION DE DOCTORADO

Manuel Chiroso Ríos

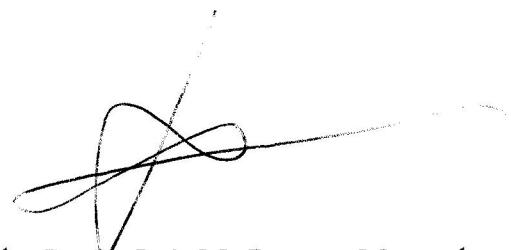
Granada 2003

Presentación

El presente trabajo de investigación titulado “**Análisis Nutricional de Seis Especies Vegetales de Interés Forestal y su Respuesta a Dos Situaciones Edáficas Diferentes, en Ambientes Mediterráneos**” para aspirar al grado de Doctor en Ciencias Biológicas que presenta el *Licenciado D. Manuel Chiroso Ríos*, ha sido realizado en el Departamento de Fisiología Vegetal de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Granada, bajo la dirección del Profesor *Dr. D. Luis M^a Romero Monreal*, al que deseo expresar mi sincero agradecimiento.



Fdo. D. Manuel Chiroso Ríos
Aspirante al grado de Doctor
en Ciencias Biológicas



Fdo. Dr. D. Luis M^a Romero Monreal
Director de la Tesis Doctoral
Profesor Titular de la Universidad de Granada

Granada, 2003

INDICE

1. Objetivos.....	11
2. Introducción.....	11
2.1. Gestión, Investigación y conservación de los Ecosistemas Forestales.....	12
2.2. Condiciones ambientales y estrés en la vegetación mediterráneo.....	14
2.2.1. Estrés térmico.....	19
2.2.2. Estrés luminoso.....	23
2.2.3. Estrés hídrico.....	28
2.2.4. Estrés nutricional.....	40
2.3. Nutrición mineral en plantas silvestres.....	47
2.3.1. Respuesta de las plantas a situaciones bajas en nutrientes....	49
2.3.2. Concentración de nutrientes y eficacia en su uso.....	51
2.3.3. Almacenamiento y ciclo anual de nutrientes.....	52
2.3.3.1. Especies no anuales de hoja caduca.....	52
2.3.3.2. Especies no anuales de hoja perenne.....	53
2.3.4. Comportamientos de las plantas en suelos ácidos.....	53
2.3.5. Comportamientos de las plantas en suelos alcalinos.....	55
3. Material y Métodos.....	58
3.1. Localización del área de muestreo.....	58
3.2. Especies estudiadas.....	60
3.2.1. Generalidades sobre Vegetación.....	60
3.2.1.1. Pisos Bioclimáticos.....	60
3.2.1.2. Vegetación.....	61
3.2.2. Encuadramiento taxonómico y descripción botánica.....	62

3.3. Parámetros ambientales.....	64
3.3.1. Geología.....	64
3.3.2. Climatología.....	65
3.4. Suelos.....	66
3.4.1. Toma de muestras.....	67
3.4.2. Preparación de las muestras.....	68
3.4.3. Análisis de las muestras.....	68
3.4.3.1. Análisis físico y mineralógico.....	68
3.4.3.2. Análisis químico.....	69
3.4.3.2.1. pH.....	69
3.4.3.2.2. Materia orgánica.....	70
3.4.3.2.3. Nitrógeno orgánico.....	70
3.4.3.2.4. Carbono orgánico.....	70
3.4.3.2.5. Fósforo.....	70
3.4.3.2.6. Potasio.....	70
3.4.3.2.7. Carbonato cálcico equivalente.....	70
3.4.3.2.8. Cationes de cambio: K, Na, Ca y Mg.....	71
3.4.3.2.9. Capacidad de cambio catiónico.....	71
3.4.3.2.10. Suma de bases.....	71
3.4.3.2.11. Porcentaje de saturación.....	71
3.4.3.2.12. Micronutrientes: Fe, Mn, Zn, B y Cu.....	71
3.5. Material Vegetal.....	72
3.5.1. Caracterización de las parcelas de estudio.....	72
3.5.2. Toma de muestras.....	72
3.5.3. Preparación de las muestras.....	72
3.5.4. Diseño experimental.....	73
3.5.5. Análisis de material seco.....	75
3.5.5.1. Mineralización por vía húmeda con sulfúrico.....	75
3.5.5.1.1. Nitrógeno orgánico.....	75
3.5.5.1.2. Fósforo.....	75
3.5.5.1.3. K, Na, Ca y Mg.....	76

3.5.5.1.4. Micronutrientes totales: Cu, Fe, Mn, Zn y B.....	76
3.5.5.2. Extracción con agua de las formas solubles de los macronutrientes.....	77
3.5.5.2.1. Fósforo inorgánico.....	77
3.5.5.2.2. K y Na solubles.....	78
3.5.5.2.3. Ca inorgánico y Mg clorofílico.....	78
3.5.5.2.4. Amonio (NH ₄ ⁺).....	79
3.5.5.2.5. Nitratos (NO ₃ ⁻).....	79
3.5.5.2.6. Cloro.....	80
3.5.5.2.7. Sulfatos (SO ₄ ²⁻).....	80
3.5.5.3. Extracción en medio ácido de las formas solubles de los micronutrientes.....	80
3.5.6. Análisis del material vegetal fresco.....	81
3.5.6.1. Proteínas y aminoácidos solubles.....	81
3.5.6.2. Prolina.....	82
3.5.6.3. Fenoles.....	83
3.5.6.3.1. Ortodifenoles.....	83
3.5.6.3.2. Fenoles totales.....	83
3.5.6.4. Pigmentos foliales.....	84
3.5.6.4.1. Pigmentos clorofílicos: clorofila a, b y carotenos.....	84
3.5.6.4.2. Pigmentos accesorios: Antocianinas y Licopenos.....	84
3.5.6.5. Enzimas y actividad enzimática.....	85
3.5.6.5.1. Nitrato-reductasa.....	85
3.5.6.5.1.1. NR Endógena.....	85
3.5.6.5.1.2. NR Inducida (NO ₃ ⁻).....	86
3.5.6.5.1.3. NR Inducida (Mo).....	87
3.5.6.5.1.4. NR Inducida por NO ₃ ⁻ y Mo.....	87
3.5.6.5.2. Fosfatasa ácida endógena (AFA).....	87
3.5.6.5.3. Ribonucleasa.....	88
3.5.6.5.3.1. Ribonucleasa Endógena.....	88
3.5.6.5.3.2. Ribonucleasa Inducida (Zn).....	89
3.5.6.5.4. Peroxidasa y Catalasa.....	90
3.5.6.5.4.1. Peroxidasa y Catalasa Endógenas.....	90
3.5.6.5.4.2. Peroxidasa y Catalasa Inducidas (Fe).....	90
3.5.6.5.4.3. Peroxidasa y Catalasa Inducidas (Mn).....	91
3.5.6.5.5. Ascórbico oxidasa.....	91
3.5.6.5.5.1. Ascórbico Oxidasa Endógena.....	91

3.5.6.5.5.2. Ascórbico Oxidasa Inducida (Cu).....	92
3.6. Tratamiento estadístico.....	92
3.6.1. Análisis de la varianza.....	93
3.6.2. Test de Duncan.....	93
4. Resultados y Discusión.....	95
4.1. Condiciones Ambientales.....	95
4.1.1. Climatología.....	95
4.1.2. Edafología.....	99
4.1.2.1. Análisis físicos.....	99
4.1.2.1.1. Análisis granulométrico.....	99
4.1.2.1.2. Análisis del contenido en agua.....	101
4.1.2.2. Análisis químicos.....	102
4.1.2.3. Análisis mineralógico.....	106
4.1.2.4. Discusión.....	108
4.2. Plantas.....	112
4.2.1. Situación fisiológica de las especies.....	112
4.2.1.1. Nitrógeno y sus formas	112
4.2.1.2. Fósforo y sus formas	118
4.2.1.3. Potasio y sodio	119
4.2.1.4. Calcio y Magnesio.....	121
4.2.1.5. Sulfato.....	122
4.2.1.6. Cloro	123
4.2.1.7. Pigmentos	123
5. Conclusiones.....	128
6. Bibliografía.....	131

OBJETIVOS E INTRODUCCIÓN

1. Objetivos

La creciente preocupación por la conservación y adecuada gestión de las especies vegetales y la necesidad de conocimientos científicos que avalen la gestión, nos motivan a estudiar el comportamiento de seis especies, consideradas de interés forestal, y el modo de responder de estas a las diferentes condiciones ambientales.

Con nuestra investigación pretendemos conocer el estado nutricional de las especies estudiadas en condiciones edáficas diferentes, e interpretar las posibles adaptaciones de carácter fisiológico que han permitido a las mismas especies desarrollarse en hábitats distintos.

Es nuestro objetivo encontrar una línea metodológica que posibilite la aproximación al conocimiento de los requerimientos nutricionales de las especies silvestres en los ecosistemas mediterráneos con vista a los posibles usos en la restauración forestal o modelos de recuperación de hábitats naturales.

2. Introducción

El estudio de la nutrición de las plantas silvestres nos aporta una buena base para el conocimiento y comprensión de los mecanismos de adaptación de las plantas. El empleo del análisis químico de una planta como método de diagnóstico no es nada nuevo, fue usado por el químico alemán Liebig hace más de un siglo, para evaluar la fertilidad del suelo. Desde entonces se ha venido usando para evaluar el estado nutricional de los vegetales (Lundergårdh, 1951; Chapman, 1966; Bergman y Neubert, 1976; Molina, 1982; Sánchez, 1985; Guzmán, 1987; Valenzuela, 1990; Benton Jones et al., 1991).

A su vez suministra información para la gestión forestal ya que nos ofrece la localización posible de las especies en unos suelos o en otros, lo que trasladado a escala comarcal, provincial o regional posibilita un marco de trabajo en la toma de decisiones.

Sin olvidar que es imprescindible la interdisciplinariedad de estudios para afinar y acertar en la gestión.

Por ello hemos estudiado las condiciones ambientales de estrés en las que viven las especies vegetales en el clima mediterráneo.

2.1. Gestión, Investigación y Conservación de los Ecosistemas Forestales

En Andalucía sólo en fechas recientes (Plan forestal Andaluz 1989) las políticas forestales han pretendido integrar las funciones múltiples que tienen los ecosistemas forestales, con la conservación de los mismos. Se intenta dar respuesta al complejo binomio Conservación - Producción que por otra parte es la filosofía que enmarca la política moderna de conservación de la naturaleza en el contexto de la unión europea y como resultado de los convenios y foros en el ámbito global.

En este trabajo hemos seleccionado un conjunto de especies del ámbito forestal mediterráneo en el intento de entender su comportamiento en condiciones naturales diferentes bajo la presión de condiciones ambientales frecuentes en nuestro ámbito.

Hemos intentado buscar un fin práctico a nuestra investigación por entender el papel fundamental que puede jugar la investigación aplicada en la resolución de problemas de gestión, en este caso entender mejor el comportamiento de especies frecuentes en los bosques de encinas andaluces en suelos diferentes.

Los sistemas forestales han sufrido históricamente la presión de las distintas civilizaciones tanto como aportadoras de recursos fundamentales como por el espacio que se liberaba para el pastoreo o el urbanismo, de forma que una importante superficie forestal ha sido talada en el conjunto del planeta y aún hoy este proceso continúa bajo la presión imparable del crecimiento de la población humana y sus necesidades.

Hay que entender, al margen de los problemas de conservación que hoy tienen todos los ecosistemas del planeta y particularmente los bosques, desde una perspectiva singular

los problemas de los ecosistemas forestales mediterráneos para comprender la aproximación que nosotros hemos pretendido con nuestro trabajo.

El mundo mediterráneo en general constituye una unidad biogeográfica bien diferenciada climática y ecológicamente hablando, donde se encierra una de las diversidades más importantes del planeta. También es cierto que por su historia el área mediterránea ha sufrido una importante presión humana que ha modificado considerablemente su paisaje primigenio. A esto hay que unirle que el mediterráneo desde la perspectiva geopolítica no constituye ni mucho menos una unidad, debiendo diferenciar en el entorno mediterráneo distintos países con grandes diferencias en política ambiental y en densidades de población. Esto lógicamente incide de forma muy directa y diferenciadamente en su medio natural, además debemos sumar el que no existe una política forestal única en el mediterráneo al igual que no existe una política forestal para los países que pertenecen a la Unión Europea. Esta falta de visión integrada está detrás de los problemas de los bosques mediterráneos andaluces y es motivo entre otros, del proceso gradual hacia su desaparición. Para los ambientes vegetales mediterráneos, algunos de los motivos de su degradación son: la falta de una productividad, la inexistencia de una política forestal coordinada, la tradición forestal heredada de escuelas centro y noreuropeas que no tienen lógicamente los problemas y situaciones de los ambientes mediterráneos, y cuando se han aplicado estas estrategias han tenido como consecuencia la uniformización del paisaje, el empobrecimiento de las poblaciones locales ya de por sí sometidas a rentas de subsistencia, la desaparición de un patrimonio natural único, la propagación de graves problemas de erosión, incendios forestales, plagas etc.

Andalucía tiene casi un 50% de superficie forestal, el conocimiento que poseemos hoy de los aspectos biogeográficos y de las dinámicas de las distintas formaciones vegetales han aportado un importante apoyo a la gestión de este patrimonio. Sin embargo faltan estudios de detalle sobre las principales especies forestales y su comportamiento ecofisiológico. No así por ejemplo en lo referente a las especies cultivadas de cuyos métodos nos valdremos para abordar esta caracterización.

2.2. Condiciones ambientales y estrés en la vegetación Mediterránea.

La principal característica de la región mediterránea es la estacionalidad de la temperatura y de las precipitaciones, así como la impredecibilidad de la cuantía de las mismas, esto provoca un periodo de sequía en verano y de frío en invierno (Köppen, 1931; Bagnouls y Gaussen, 1953; Emberger, 1955; Aschmann, 1973). Esta peculiaridad del clima mediterráneo tiene importantes repercusiones en el funcionamiento de la vegetación y limita la estación más favorable para el crecimiento a la primavera, cayendo los periodos de actividad en los restantes meses. Las especies mediterráneas se han adaptado a persistir durante generaciones en dichos medios debido a su capacidad de tolerancia o recuperación a variables ambientales, como son la sequía que limita la disponibilidad de agua o las bajas temperaturas que limitan el crecimiento (Rundel, 1995; Joffre et al., 1999).

Levitt (1980) sugirió que “el estrés biológico era cualquier alteración en las condiciones ambientales que pudiera reducir o influir de manera adversa en el crecimiento o desarrollo de una planta”. Sin embargo, ésta definición es bastante relativa si se aplica a ambientes mediterráneos, en donde las plantas, las denominadas xerófitas, están adaptadas a vivir bajo unas condiciones estresantes de luminosidad, temperatura, disponibilidad de agua y nutrientes, presentando un crecimiento y metabolismo favorable. Por lo tanto, la cuestión de si una planta sufre o no estrés en una determinada situación sólo puede ser contestada cuando se compara con su comportamiento normal (Grierson, 1994). De ésta forma, se diría que las plantas están estresadas en sus hábitats naturales en el sentido que tienen que gastar energía para superar los efectos dañinos de los factores adversos y poder mantener sus funciones normales (Larcher, 1987).

Existen tres conceptos relacionados con el estrés que convendría diferenciar y definir :

-**resistencia**, que es el proceso por el cual se intentan normalizar las funciones vitales de la planta;

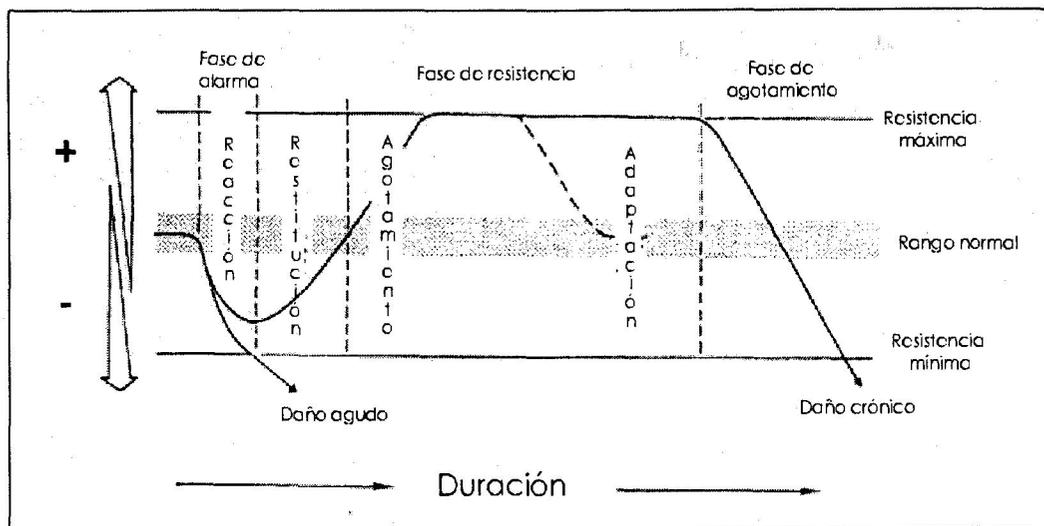
-**tolerancia**, es el conjunto de modificaciones transitorias que se producen por exposición a un cambio en el medio (Tobías, 1999) y

-**adaptación**, que se define como aquellas modificaciones heredables que aumentan la probabilidad de que una planta sobreviva y se reproduzca en un ambiente particular (Hopkins, 1995).

Larcher (1987) describió un modelo en el que se distinguían las fases observadas en plantas sometidas a estrés:

Fase de alarma. La aparición de factores estresantes provoca la desestabilización de las condiciones estructurales y funcionales necesarias para el normal desarrollo de la actividad de la planta. En el caso de una rápida intensificación de la perturbación aparece un daño celular irreversible. De no ser así, la fase de alarma comienza con un periodo de reacción en donde predomina el catabolismo sobre el anabolismo; y continúa con una fase de restitución en la que aparecen procesos de reparación como la síntesis de proteínas.

Fig. 1. Modelo de las fases y respuestas de las especies vegetales ante cualquier tipo de estrés. (Larcher, 1987; Arndt et al., 1987 y Tesche, 1989).



Fase de resistencia. Bajo un estrés continuo, la resistencia va aumentando hasta llegar al nivel máximo (endurecimiento). Si persiste la exposición se llega a una normalización que recibe el nombre de adaptación.

Fase de agotamiento. Ocurre cuando el organismo está expuesto durante mucho tiempo a estrés, o éste aumenta, provocando daños crónicos en la planta (agotamiento) o irreversibles.

Fase de regeneración. Si los factores estresantes cesan y los daños no han sido muy importantes, se recupera el estado funcional de forma parcial o total (Lichtenthaler, 1988).

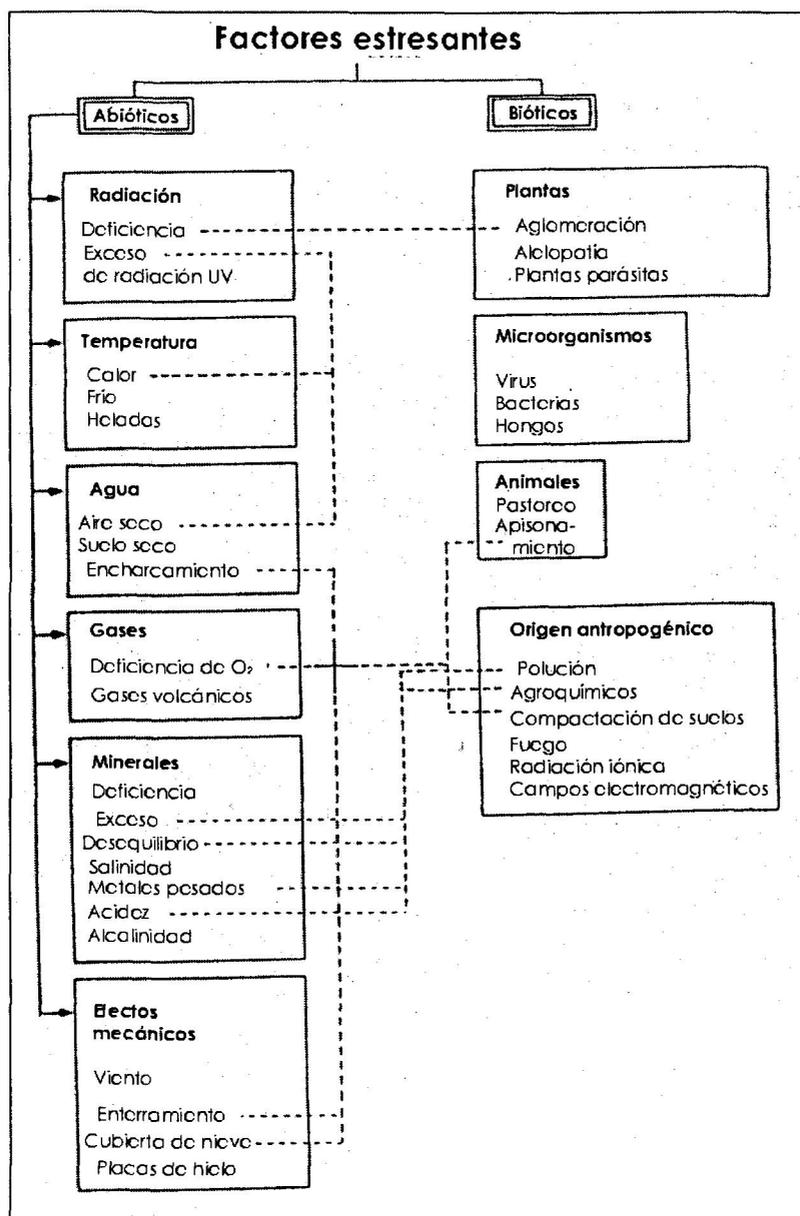
En resumen, se podría definir el estrés como un estado en el cual, al aumentar las exigencias en una planta se llega a una desestabilización inicial de las funciones, seguida de una normalización y una resistencia. Si los límites de tolerancia y la capacidad de adaptación se exceden, puede resultar un daño permanente o incluso la muerte (Larcher, 1987; Crawford, 1989). Esta desviación de las condiciones óptimas para la vida provoca cambios y respuestas en todos los niveles funcionales del organismo.

Podemos distinguir varios tipos de estrés que quedan clasificados en dos (Fig.2):

Estrés abiótico. Hay una gran cantidad de factores climáticos que ejercen sus efectos en la atmósfera, el suelo o bajo el agua: alta o baja radiación; temperaturas excesivamente altas o bajas, lo último acompañado de heladas, suelo congelado o cubiertas de nieve y hielo; deficiencia de precipitaciones y sequía; fuerte viento, etc. En el suelo, las plantas pueden estar sometidas a altas concentraciones de NaCl (en su componente osmótico y químico), suelos inestables (arenas móviles y corrientes de agua), anaerobiosis por encharcamiento, metales pesados, contaminantes atmosféricos (O_3 , SO_2 y los NO_x), los herbicidas, la carencia de determinados elementos químicos, excesiva acidez o alcalinidad, etc.

Estrés biótico. Es muy común en plantas usadas por animales y microorganismos en su dieta. Se debe añadir a éstos estreses naturales la acción que ejerce el hombre sobre la vegetación.

Fig. 2. Factores estresantes en el medio ambiente, y algunas de sus múltiples interrelaciones. (Kreeb 1974 y Levitt, 1980).



Las plantas poseen una variedad de mecanismos de protección para retrasar o prevenir la ruptura del equilibrio termodinámico o químico entre el medio ambiente y el interior de la célula (Amzallag y Lerner, 1995). La naturaleza e intensidad de la respuesta de una planta a un factor estresante particular puede variar considerablemente dependiendo de la edad, el

grado de adaptación, su reacción normal determinada genéticamente, la estación o incluso la actividad diurna (Barbour et al., 1999). Podemos distinguir dos tipos de efectos:

Efectos específicos. Como regla, los síntomas son altamente específicos y se desarrollan unos patrones bien definidos de mecanismos de respuesta. Por ejemplo, la radiación intensa provoca daños directos en las membranas tilacoidales; y la elevada concentración de iones y metales pesados tienen un efecto inmediato en las proteínas enzimáticas.

Efectos no específicos. Son una expresión primaria del grado de severidad de la perturbación y siguen un patrón estándar cualquiera que sea la naturaleza del factor estresante. Podemos citar los cambios en la actividad enzimática (especialmente la peroxidasa, glutatión reductasa, dehidroascorbato reductasa); biosíntesis de poliaminas; síntesis y acumulación de antioxidantes (ácido ascórbico), de metabolitos de estrés y sustancias activas osmóticamente compatibles (betaína, glicina) y numerosas sustancias vegetales secundarias (polifenoles, antocianinas), pero sobre todo hormonas del estrés (ácido abscísico, etileno). Además distinguimos alteraciones en las propiedades de la membrana, un aumento en la respiración, inhibición de fotosíntesis, desórdenes en el crecimiento, menor fertilidad o una senescencia prematura.

Normalmente en la naturaleza actúan múltiples tipos de estrés conjuntamente, existiendo una relación importante entre temperatura, elevada irradiación y déficit hídrico. La combinación de varios factores estresantes provoca en la planta respuestas distintas a las inducidas por cada uno de los tipos de estrés por separado y además, puede reforzar la respuesta de la planta a un solo factor estresante; el estrés salino, por ejemplo, dependiendo de su intensidad, duración y de la fase de estrés, puede contribuir al aumento de la estabilidad de la planta al frío, al calor y a la desecación (Havaux, 1992). Esta tolerancia se debe a la estabilización general del protoplasma como resultado de los cambios estructurales en las membranas y proteínas. Igualmente, las similitudes estructurales entre las proteínas involucradas en el estrés salino, choque térmico y estrés hídrico, constituyen la

base molecular de este tipo de protección cruzada. También las reacciones no específicas como la acumulación de flavonoides, la activación de peroxidasa juega un papel protector contra las radiaciones ultravioleta, ataque de hongos y pastoreo.

Por último decir que la persistencia de una especie en zonas sometidas a estrés es mayor cuando la prevención del estrés es posible, si la resistencia al estrés de las partes de la planta más vulnerable e indispensable es adecuada, y si la capacidad de recuperación es suficiente para la reparación de cualquier daño provocado.

2.2.1. ESTRÉS TÉRMICO.

La temperatura, íntimamente relacionada con la radiación solar, es uno de los aspectos más importantes que afectan al crecimiento, desarrollo y supervivencia vegetal. Las plantas pueden sobrevivir en todos los rangos de temperatura que existen en la superficie de La Tierra (-89 a 58°C; McFarlan, 1990), e incluso a mayores temperaturas (mas de 70°C) como ocurre en los suelos desérticos en el caso de los cactus (Nobel, 1988). Es difícil definir el rango específico de temperatura que se considera estresante para las plantas pero por lo general, las temperaturas subóptimas van desde unos grados más bajos que la congelación hasta cerca de los 40°C (Jones, 1992).

La variación de temperatura superficial depende de varios factores como la altitud, latitud, topografía, aspectos de pendiente, proximidad al agua, cubierta de nubes y de vegetación. Diferentes plantas presentan un amplio rango de adaptaciones que les faculta vivir en diferentes climas cálidos. Incluyen mecanismos de tolerancia bioquímicos, adaptaciones morfológicas y fisiológicas que les permite evitar las temperaturas extremas, y la estacionalidad (completar el ciclo de vida dentro del periodo de temperaturas favorables; Mooney et al., 1976). Las plantas capaces de sobrevivir a la desecación normalmente toleran otros estreses medioambientales como las temperaturas extremas, pudiendo resistir los 50°C (Kappen, 1981). Levitt en 1980 comprobó por su parte que el contenido de agua es un factor crucial en la tolerancia a la congelación.

Una respuesta común a las altas temperaturas (y otras condiciones medioambientales), es un cambio en el patrón de síntesis de las proteínas (Craig, 1986 y Ho y Sachs, 1989); ya que cuando se alcanza un valor crítico (cerca de los 40°C) se detiene y es sustituida por una síntesis rápida y coordinada de las denominadas proteínas de choque térmico o HSPs. La síntesis de éstas proteínas está relacionada con un incremento en la transcripción durante los primeros 3-5 minutos del estrés térmico y que continua durante 3 ó 4 horas descendiendo rápidamente hasta alcanzar el patrón de síntesis que se tenía con la temperatura baja inicial; incluso si continúan las altas temperaturas.

Las HSPs participan en la inducción de la termotolerancia por exposición a breves periodos de altas temperaturas manteniendo la estructura y la función celular, previniendo la fotooxidación; y protegiendo a las enzimas esenciales y a los ácidos nucleicos de la desnaturalización, ya que éstos últimos podrían ser destruidos por los iones metálicos específicos que desde el exterior o la vacuola entran en el citoplasma a medida que las membranas se hacen más permeables a las temperaturas elevadas. Los chaperones son un tipo de HSPs presentes en baja cantidades y que están relacionadas con la reparación de la estructura terciaria de las proteínas (Mahan et al., 1997).

El aparato fotosintético es extremadamente sensible al estrés térmico y las altas temperaturas afectan no solo a la capacidad fotosintética sino también a la función de varias partes del aparato fotosintético (Barbour et al., 1999). Baker en 1991, observó que el fotosistema II (PS II) es el componente de la cadena transportadora de electrones más sensible, incluso a un incremento moderado de la temperatura. Muchas de las diferencias en la estabilidad térmica entre especies resulta de las diferencias en la estabilidad térmica de las membranas de los cloroplastos, y en particular, de la integridad del PS II (Fitter y Hay, 1991).

El orden de la sensibilidad térmica de las reacciones del transporte de electrones y la fotofosforilación es la siguiente: evolución del oxígeno, actividad fotoquímica del PS II, fotofosforilación, transporte de electrones a nivel del complejo cit b6/f y la actividad fotoquímica del FS I (Mamedov et al., 1993; Bukhov y Mohants, 1999). Ya en 1968, Yamashita y Butler (1968), comprobaron que daños en el sistema de hidrólisis del agua en el PS II son la principal causa de la inhibición inducida por calor del transporte de

electrones. Por otra parte, la reacción de oxigenación de la RuBisCo aumenta más que la de carboxilación al ser la fotorespiración más importante debido a que la solubilidad del CO_2 disminuye con el aumento de la temperatura más rápidamente que la del O_2 (Larcher, 1995; Falk et al., 1996; Raines y Lloyd, 1996).

Las tasas de fotosíntesis y crecimiento son bajas a altas temperaturas porque la fluidez de la membrana aumenta con la temperatura. En *Nerium oleander*, la adaptación a altas temperaturas está relacionada con un aumento del grado de saturación de los lípidos de membranas. La fluidez de la membrana se debe a que los grupos acilo están menos organizados y más configurados al azar; y una disminución de esteroides y de los niveles de ácidos grasos insaturados (Hale y Orcutt, 1987; Wilson, 1997).

Las hormonas vegetales también son sensibles a la temperatura y sufren cambios en su concentración y patrones de localización en respuesta a los flujos de temperatura. Itai et al. en 1973 comprobaron que tras dos minutos de someter a raíces de *Nicotiana rustica* y *Phaseolus vulgaris* a temperaturas entre 46 y 74°C, había una reducción en los niveles de citoquininas en los exudados xilemáticos y un incremento en los niveles de ácido abscísico (Mozafar, 1994).

De igual forma que las plantas se adaptan a las condiciones estresantes provocadas por altas temperaturas, también presentan mecanismos para tolerar ambientes con temperaturas cercanas a la congelación. Las bajas temperaturas son una causa directa de los daños sufridos por las células vegetales. Las plantas sensibles al frío sufren daños letales a temperaturas un poco más bajas que el punto de congelación y la muerte es consecuencia de lesiones en las membranas y la interrupción del aporte de energía (Lambers et al., 1998). Podemos distinguir dos tipos:

- a) Las especies totalmente sensibles en las que cada parte de la planta es susceptible de sufrir daños.
- b) Las especies que sólo son dañadas parcialmente.

Las plantas sensibles a la congelación mueren tan pronto como se forma hielo dentro de sus tejidos; mientras que las plantas tolerantes al congelarse pueden sobrevivir a éstas condiciones, aunque terminan muriendo (Hale y Orcutt, 1987; Hingram et al., 1997).

Los daños producidos por el frío no solo dependen del grado de duración de las bajas temperaturas, sino también de la edad de las hojas, el estado ontogénico, el grado de aclimatación, velocidad de los cambios de temperatura, temperatura del suelo, humedad del aire, etc. (Lyons, 1973).

Los daños provocados por el frío en primer lugar sólo afecta a algunas funciones que son temporalmente dañadas o detenidas y posteriormente hay una perturbación irreversible en la permeabilidad; estos daños tardan algunos días incluso semanas en aparecer. El primer efecto es la transición de los componentes lipídicos de las biomembranas desde un fluido cristalino a un estado de gel, y una separación de las proteínas de membrana. La selectividad del proceso de permeabilidad disminuye y aparece un intercambio descontrolado de metabolitos e iones entre los distintos compartimentos celulares, por lo que el contenido celular se pierde. Debido a que los procesos metabólicos no están en equilibrio con el resto, y la producción de energía disminuye a favor de la respiración anaeróbica, hay una acumulación de intermediarios tóxicos y productos finales. Con ésta pérdida de la división celular, la célula se deteriora y muere (Grierson, 1995). A parte, podemos distinguir otros efectos producidos por las bajas temperaturas en las células:

- a) Los complejos proteicos de la clorofila se separan.
- b) La hidrólisis del agua se inhibe.
- c) La reoxidación de la plastoquinona Q_A^- es suprimida.
- d) Pérdida de la actividad de las enzimas sensibles al frío.
- e) Daños en la membrana mitocondrial y cloroplastidial. Las bajas temperaturas hacen las membranas más rígidas debido al aumento en la producción de ácidos grasos insaturados y de esteroides.
- f) La absorción de agua y nutrientes disminuye.
- g) Hay una acumulación de poder reducido en forma de NADP reducido.
- h) El ácido abscísico (ABA) tiende a aumentar la resistencia al frío y retarda la ruptura de los microtúbulos (Rinkin et al., 1983).
- i) Chen y Li (1982) propusieron una hipótesis por la que el daño producido por el frío en tomate se debía a una disminución del potencial osmótico como resultado de una acumulación de azúcar, un incremento en la concentración de

ABA desencadenada por una disminución en el potencial osmótico y un aumento en la síntesis proteica causada por el incremento de ABA.

- j) Hay una disminución en la biosíntesis.
- k) La fotooxidación aumenta porque las reacciones biofísicas de la fotosíntesis son menos sensibles a la temperatura que las reacciones bioquímicas. La clorofila continúa absorbiendo luz pero la energía no es transferida a los componentes con la suficiente rapidez como para evitar la fotoinhibición.
- l) Investigaciones sobre los efectos de la temperatura en la concentración de fitohormonas en frutos de pepino realizadas por Wang y Adams (1982), concretaron que una temperatura de 25°C aceleraba la síntesis de aminociclopropanocarboxilato (ACC, precursor del etileno) comparada con una experiencia realizada a 13°C. Se encontró que los tejidos de la piel tenían elevados niveles de ACC. La máxima síntesis de etileno ocurría 4 días después de la exposición a elevadas temperaturas y desaparecía 6 días después. Los niveles de ACC eran máximos a los 7 días y caían a los 9 días. Una exposición prolongada al frío producía daños en el sistema de conversión del ACC al etileno (Mozafar, 1994; Kacperska, 1997).

2.2.2. ESTRÉS LUMÍNICO.

El nivel de irradiación es un factor ecológico importante del cual todas las plantas fotoautótrofas dependen. La vegetación puede reflejar, absorber o transmitir la radiación solar que incide en sus hojas, el grado de éstas tres reacciones va a depender de la longitud de onda de la radiación, estructura y superficie foliar y orientación de la hoja (Ormod y Hale, 1995). Las hojas pueden reflejar el 70% de la radiación infrarroja, del 6 al 12% de la radiación visible, pero sólo un 3% de las radiaciones ultravioleta. Después de que la radiación ultravioleta pase a través de la atmósfera, la luz solar contiene ultravioletas por encima de los 290 nm, incluyendo todas las longitudes de onda de UV-A (315-400nm) y parte de UV-B (280-315 nm) (Barbour et al., 1999) (Figura 3).

En la naturaleza la radiación UV-B sólo aparece en una pequeña proporción, pero se espera que crezca si el efecto de la capa de ozono como filtro va disminuyendo como consecuencia de la emisión de óxidos de nitrógeno y de hidrocarburos (Cappelletti, 1961; Caldwell, 1977; Caldwell, 1977; Robberecht y Caldwell, 1978; Wellmann, 1983). Estudios en mas de 300 plantas han permitido comprobar que cerca del 50% son consideradas sensibles a los UV, donde la sensibilidad se define como un cambio morfológico, fisiológico o bioquímico negativo inducido por UV-B.

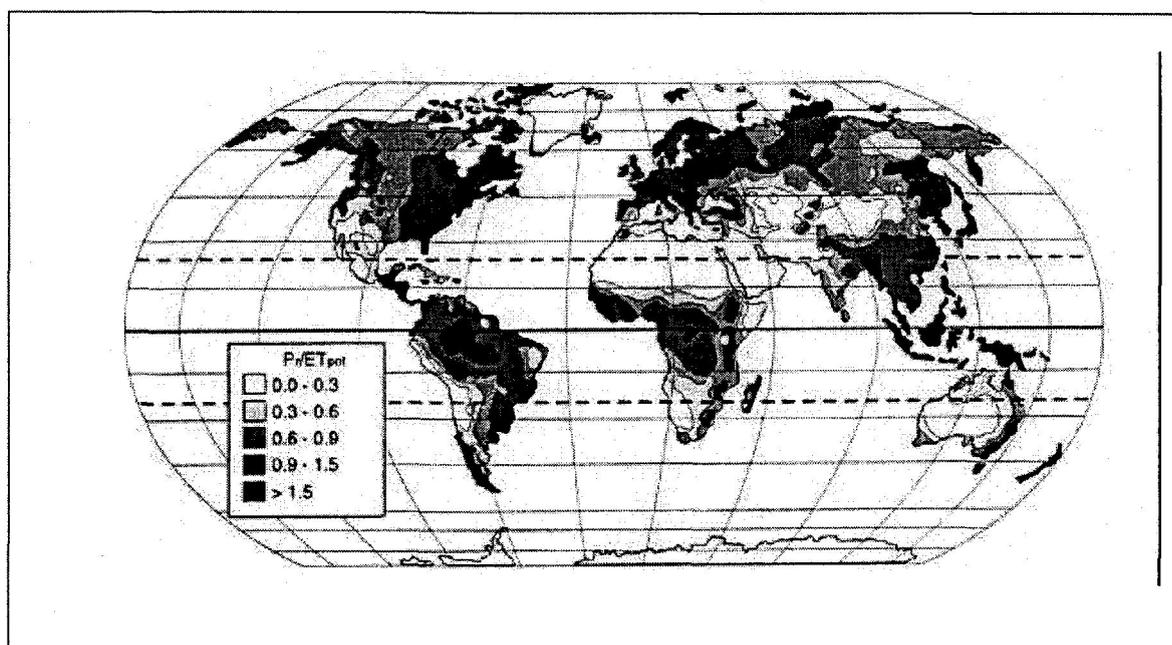


Fig. 3. El mapa muestra la distribución de las radiaciones solares sobre la superficie de La Tierra en kcal (cm/yr). (H.E. Landsberg et al., 1961).

La radiación UV-A es principalmente oxidativa; mientras que la UV-B además de fotooxidativa, causa fotolesiones, particularmente en las biomembranas. Los mecanismos moleculares del daño por UV en el protoplasma consisten en la ruptura de los puentes disulfuro de las moléculas proteicas; y la dimerización de los grupos de timina del ADN, lo que provoca errores en la transcripción (Strid y Desborough, 1993; Murphy, 1997). Además, los UV inhiben la violaxantina de-epoxidasa, aumenta la actividad de la peroxidasa, inhibe la citocromo oxidasa, hay una menor rendición fotosintética (Day et al, 1992; Day, 1993) y una disminución del crecimiento por alteración en las concentraciones

de ácido indolacético y ácido abscísico. A continuación se detallan cada uno de los efectos citados.

La luz, a través de su acción sobre los fitocromos, actúa también a nivel de la permeabilidad de la membrana, el transporte iónico y el transporte de metabolitos como las fitohormonas. La respuesta de los fitocromos puede dividirse en tres categorías:

- a) Aquella que ocurre rápidamente (0 a 15 minutos) y es una respuesta asociada a membrana.
- b) Aquella que se expresa en 1 a 3 horas, que incluye cambios en la cantidad o actividad de determinadas enzimas y que pueden producir cambios en la expresión genética.
- c) Aquella que es mucho más lenta y se expresa como respuestas en el desarrollo.

Las plantas que ocupan hábitats soleados necesitan elevadas intensidades de luz para mantener una tasa fotosintética alta y muestran bajas proporciones de fotosíntesis a bajas intensidades luminosas. Los cloroplastos presentes en plantas expuestas a altas irradiaciones tienen los granas orientados en un solo plano y hay una menor proporción de membranas tilacoidales con respecto al estroma (Percy et al., 1996; Tevini, 1999).

Las hojas expuestas a la irradiación tienen una mayor cantidad de enzimas del ciclo de Calvin por unidad de área debido a un mayor número de cloroplastos por célula y un mayor volumen de estroma, donde se localizan éstas enzimas. También tienen más membranas tilacoidales expuestas hacia el estroma, las cuales contienen el citocromo b6/f y las ATP asnas que van a determinar la capacidad fotosintética de la hoja (Hipkins, 1984; Teramura y Ziska, 1996).

La magnitud de la fotoinhibición depende de la duración e intensidad de exposición a altas intensidades de luz. La fotoinhibición se debe a la presencia de una mayor energía fotoquímica de la que puede ser utilizada para fotosíntesis; la sobrecarga del proceso fotosintético da lugar a una menor utilización de los cuanta (Demmig y Björkman, 1987) y una rendición en la asimilación más baja. Debido a éste exceso de energía, se crean oxígenos singletes o radicales libres que destruyen el centro de reacción, a menos que exista

un receptor para este aumento de poder reductor. Este receptor normalmente es el proceso de fijación del CO₂, en el que interviene la RuBisCo (Ribulosa Bisfosfato Carboxilasa). La irradiación extrema produce el denominado fotodaño al destruir los pigmentos fotosintéticos (se reconoce por la presencia de zonas decoloradas en las hojas) y las estructuras tilacoidales (Bukhov y Mohanty, 1999).

Las plantas aclimatadas a la alta irradiación disipan el exceso de energía a través de reacciones mediadas por un grupo particular de carotenoides (Demmig-Adams y Adams, 1996). Durante la irradiación de los cloroplastos, la enzima de-epoxidasa es activada por la caída del pH en el lumen debido al transporte de electrones. Bajo las condiciones de un gradiente de protones a través de la membrana tilacoidales la violaxantina es reducida a zeaxantina con la participación de los sistemas redox glutation/glutation oxidado (GSH/GSSG) y ácido ascórbico/ácido dehidroascórbico (Asc/DHAsc). El exceso de energía es transferido a la zeaxantina, que la disipa en forma de calor (Demmig et al., 1987; Johnson et al., 1993), que puede ser medida por la fluorescencia de la clorofila. La reconversión de zeaxantina a violaxantina, que ocurre en la oscuridad o cuando la luz es menos intensa, requiere la utilización de oxígeno y es catalizada por la epoxidasa (Hager, 1967, 1975, 1980; Powles, 1984; Demmig-Adams y Adams, 1992).

Muchos componentes de las células vegetales absorben fotones de la gama de los ultravioleta: ácidos nucleicos, proteínas, ácido indolacético, ácido abscísico, flavoproteínas, etc. La inactivación más común de los ácidos nucleicos es la lesión fotoquímica de los polímeros de bases de pirimidina en el ADN. El resultado es la producción de dímeros de pirimidina y la pérdida de la actividad biológica del ADN. Para conseguir la inactivación del ARN y de las proteínas se necesitan dosis mas altas de irradiación, probablemente por su mayor concentración en la célula comparada con la del ADN.

Durante la evolución, las plantas se han adaptado a los distintos niveles de radiaciones UV-B, desarrollando dos mecanismos de protección:

- a) Fotoreactivación. Esta dirigida a la reparación de los dímeros de timina.
- b) Acumulación de pigmentos capaces de absorber UV, tales como fenilpropanoides y flavonoides (Stapleton y Walbot, 1994), sintetizados en la

capa epidérmica (Jahnen y Hahlbrock, 1988; Hahlbrock y Schell, 1989; Tevini et al., 1991; Karabourniotis et al., 1992; Reuber et al., 1996). Esta función protectora ha sido demostrada en semillas de centeno (Tevini et al., 1991) y la biosíntesis de éstos compuestos se ha visto que está regulada por procesos de isomerización de compuestos precursores inducidos por UV (Braun y Tevini, 1993; Biswal, 1996). Markham et al. en 1990 llegaron a la conclusión que la concentración de flavonoides puede ser un indicador del cambio en las intensidades de UV a lo largo del año.

Las plantas que crecen en altas montañas, desiertos, costas, etc. están acostumbrados a una alta irradiación y son capaces de tolerar estos niveles; se dice que son fotoestables. Esta capacidad se debe a:

- a) El aumento de enzimas del metabolismo del carbono.
- b) El incremento de la concentración de los transportadores de la cadena transportadora de electrones.
- c) La intensificación de la capacidad del transporte del CO₂.

Además hay un aumento de suberina, cera y materiales de la pared celular foliar, lo que provoca un incremento en la cantidad de luz reflejada. La fotodestrucción de la clorofila se puede reducir por un aumento en el contenido de β -carotenos, xantofila y fosfolípidos. También un incremento en el apilamiento de los granas junto con la estabilización de las membranas cloroplastidiales ayudan a preservar la clorofila (Evans, 1996).

Sin embargo, incluso en tales plantas la fotoinhibición y el fotodaño pueden producirse si la transferencia de electrones al ciclo de Calvin no se lleva a cabo, lo que ocurre cuando la planta ha estado estresada previamente o actúa algún tipo de estrés adicional (Vass, 1996).

Las plantas que crecen en el campo están sometidas a varios estreses potenciales, por lo que es importante considerar los efectos de la radiación UV con otros factores ambientales; siendo el estrés hídrico uno de los más comunes. En semillas de pepino se vio que plantas estresadas irradiadas con altos niveles de UV-B perdían su capacidad para cerrar los

estomas (Teramura et al., 1983). En contraste, las semillas de rábano se vieron menos sensibles a la radiación ultravioleta bajo estrés hídrico. La razón es probablemente la mayor concentración de flavonoides en la epidermis de las hojas de rábano (Tevini et al., 1983).

2.2.3. ESTRÉS HÍDRICO.

En regiones donde la temperatura permite el crecimiento vegetal, la disponibilidad de agua es el factor más importante que determina la productividad y la tasa de crecimiento (Figura 4). Es por ello que juega un papel esencial en el metabolismo de la planta, tanto a nivel celular como a nivel de la planta (Pugnaire et al., 1994). Cualquier descenso en la disponibilidad de agua tiene un efecto inmediato en el crecimiento vegetal, viéndose gravemente afectados procesos que van desde la fotosíntesis hasta el transporte y acumulación de solutos (Hsiao et al., 1976).

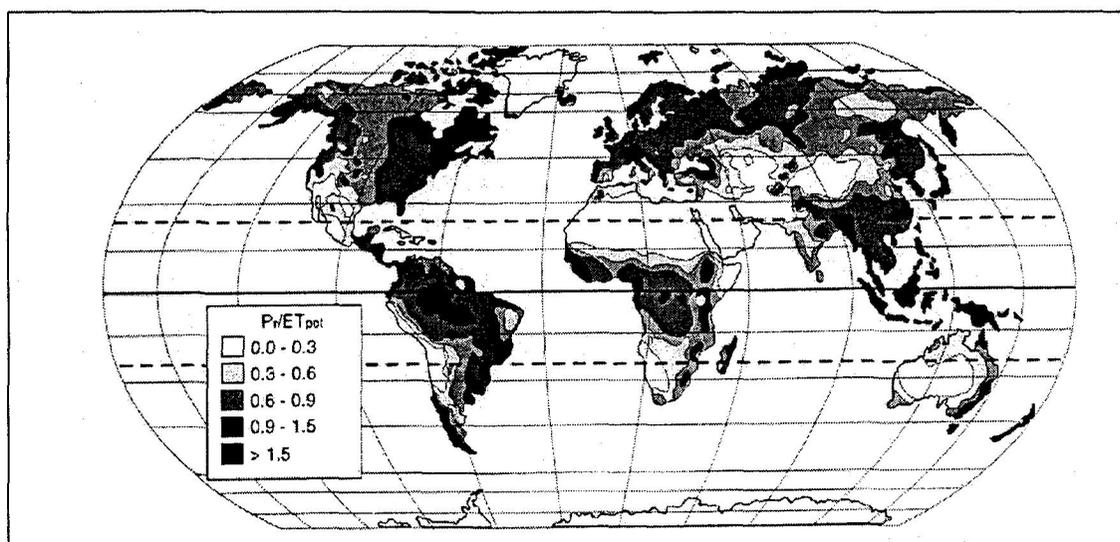


Fig. 4. Las regiones secas de La Tierra. La clasificación se basa en la relación de la precipitación anual con la evapotranspiración potencial (Pr/ET_{pot}). *Clima árido* por debajo de 0.3; *semiárido*: 0.3-0.6; *subhúmedo*: 0.6-0.9; *húmedo*: 0.9-1.5; *muy húmedo*: por encima de 1.5. (UNESCO 1979; Box y Meentemeyer, 1991).

El contenido relativo de agua más bajo tolerado por las plantas vasculares está entre el 4 y el 15%, lo que equivale a un 1.4-8.4% de su peso seco (Kaiser et al., 1985). Debemos tener en cuenta que las plantas están sometidas a variaciones de disponibilidad de agua a lo largo del día.

Cuando el suelo seco provoca el retraso de la pérdida de agua por transpiración, aparece un déficit hídrico permanente que puede dar lugar a un marchitamiento continuo y a la muerte por deshidratación.

Existen muchas definiciones de sequía, desde la medida en términos de la duración del periodo sin agua, pasando por definiciones sobre la capacidad de almacenamiento de agua del suelo y la evaporación, hasta aquellas que incluyen algunos aspectos sobre el funcionamiento de la planta. Por lo tanto, el término sequía es usado para referir cualquier combinación posible entre aporte de agua restringido y/o aumento en la pérdida de agua que tiende a reducir la productividad de la planta. También denota un periodo sin precipitación apreciable durante la cual, el contenido hídrico del suelo se reduce de tal forma que las plantas sufren pérdidas de agua. La sequedad del suelo está unido a una fuerte evaporación causada por la sequedad del aire y a altos niveles de radiación (Jones, 1992; Thomas, 1997; Puigdefábregas y Pugnaire, 1999).

La magnitud de tal estrés está determinada por la extensión y duración de la privación. No existe ningún proceso que no se vea afectado por una disminución en el potencial hídrico (Hsiao, 1973; Bradford y Hsiao, 1982). Por lo tanto, las respuestas de las plantas dependen de la naturaleza de la escasez de agua y pueden ser clasificadas en:

- a) *Respuestas fisiológicas a cambios pequeños.* Aparecen a los pocos segundos de comenzar el estrés y están unidas a la regulación estomática, reduciendo la pérdida de agua por transpiración y maximizando la difusión del CO₂. Las plantas superiores mantienen un equilibrio entre la transpiración durante periodos de difusión de CO₂ a través de los estomas abiertos, y la inanición durante periodos de cierre de estomas para prevenir el exceso de pérdida de H₂O (Srivastava y Kumar, 1995).
- b) *Adaptación a ciertos niveles de disponibilidad de agua.* Incluye el ajuste del potencial osmótico a la acumulación de solutos, cambios en la elasticidad de la pared celular y cambios morfológicos (Kramer y Boyer, 1995).
- c) *Adaptaciones a la sequía.* Podemos destacar los patrones de distribución de biomasa fijados genéticamente, modificaciones anatómicas específicas y mecanismos fisiológicos sofisticados, con una reducción del crecimiento para equilibrar la adquisición de recursos (Chapin, 1980; Chapin, 1991).

Las plantas han desarrollado respuestas fisiológicas y estrategias ecológicas para hacer frente a la escasez de agua, a través de la evitación o tolerancia al estrés. Esta respuesta les permite sobrevivir o incluso mantener algún tipo de crecimiento bajo circunstancias muy duras (Levitt,1980). La tolerancia al estrés describe aquellos mecanismos que tienden a mantener la supervivencia de la planta o la reproducción en un ambiente relativamente seco (Volkmar y Woodburg, 1995). Los mecanismos que intervienen en la adaptación a la sequía se pueden clasificar en (Fig. 5):

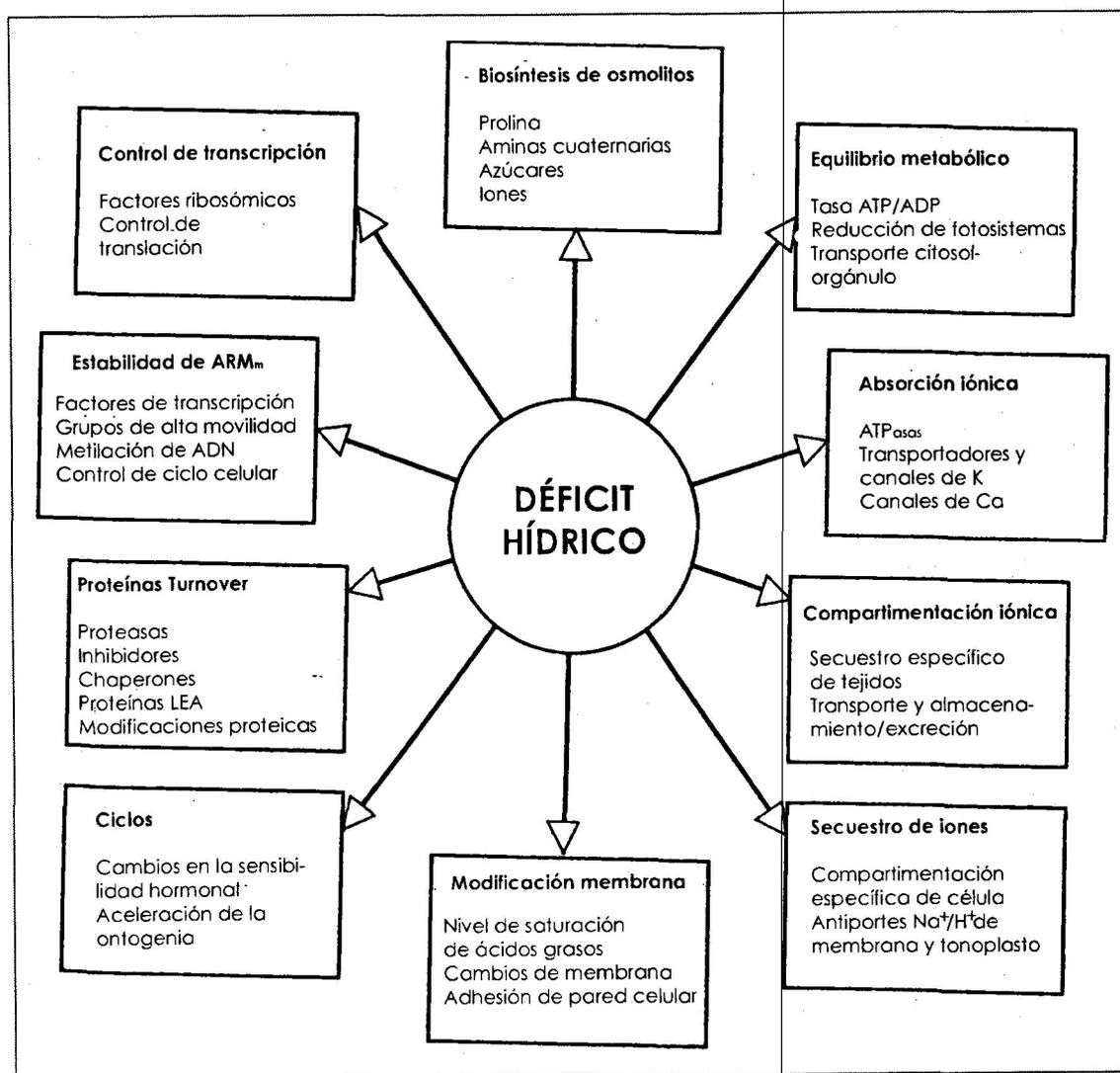


Fig. 5. Respuestas de las plantas al estrés hídrico. (Bohnert et al., 1995).

- a) *Evitación del déficit hídrico*. Incluye todos aquellos mecanismos que hacen posible a la planta mantener un contenido hídrico en los tejidos favorable a pesar de la sequedad del aire o del suelo (Lambers et al., 1998).

Escape de la sequía. Una planta que completa rápidamente su ciclo de vida, o al menos su ciclo reproductivo, puede escapar a periodos de sequía y crecer durante los periodos favorables. Este mecanismo es típico de los efemerófitos de los desiertos, que pueden completar su ciclo de vida desde la germinación hasta la maduración de las semillas en 4 ó 6 semanas.

Conservación del agua. Existen adaptaciones que minimizan la transpiración a favor de la fotosíntesis incrementando la resistencia de difusión de los estomas, usando depresiones en la epidermis, poros, o cutinas o ceras (Fitter y Hay, 1987). Reduciendo la superficie de evaporación, las plantas pueden disminuir la pérdida de agua, y por esta razón las hojas tienden a ser mas pequeñas (Serrano y Pardos, no publicado) y mas delgadas (Witkowski y Lamont, 1991), pero manteniendo una tasa fotosintética alta (Field y Mooney, 1986). También, reduciendo el tamaño de la hoja el flujo de convección de aire caliente a la atmósfera aumenta, y por ajuste del ángulo de la hoja, la interceptación de la radiación solar disminuye (Gulmon y Mooney, 1977). También destaca una mayor proporción de senescencia, de abscisión prematura y un enrollamiento del borde de las hojas (Begg, 1980). El tomento aumenta la reflexión solar, evita altas temperaturas letales y disminuye la pérdida de agua durante el día (Ehleringer, 1980; Fahn, 1986). Aparece una reducción en la proporción de células epidérmicas que forman estomas y un incremento en el número de tricomas (Quarrie y Jones, 1977). Todos estos mecanismos ayudan a mantener el equilibrio energético y tienden a optimizar el crecimiento y funcionamiento vegetal.

Absorción efectiva del agua. El crecimiento de las raíces aumenta a costa de la producción de biomasa aérea (Chapin, 1980; Dwyer y Stewart, 1985). Una larga distribución de las raíces es una característica importante de las plantas de ambientes secos, constituyendo un 60-80% (Caldwell y Richards, 1986) o incluso cerca de un 90% (Puigdefábregas et al., 1996).

b) *Tolerancia al déficit hídrico.*

Mantenimiento del turgor. Este proceso denominado comúnmente ajuste osmótico u osmorregulación es probablemente el mecanismo más importante para mantener la actividad fisiológica cuando el potencial disminuye. Consiste en el aumento de la concentración de solutos, tanto de iones inorgánicos (en especial K^+ y Cl^-) (Ford y Wilson, 1981; Wyn Jones y Gorhan, 1983) como de solutos orgánicos, en la célula en respuesta al estrés hídrico en hojas, raíces y órganos reproductores (Turner y Jones, 1980; Morgan, 1984). Los factores que afectan al ajuste osmótico son:

- La velocidad de desarrollo del estrés.
- Grado del estrés.
- Condiciones ambientales.
- Diferencias entre cultivos y tejidos y órganos expuestos.
- La edad de las plantas.

Solutos protectores, enzimas tolerantes a la desecación, etc. La acumulación de una serie de solutos, conocidos como solutos compatibles, son particularmente efectivos en la protección de las enzimas citoplasmáticas y membranas celulares frente a la desecación; y está correlacionada con el incremento en la resistencia al estrés (Munns, et al., 1979). Incluye una serie de azúcares, azúcares-alcohol (sorbitol y manitol) aminoácidos (especialmente prolina) (Drossopoulos et al., 1985; Navari-Izzo et al., 1990) y betaínas. De acuerdo con Hanson y

Nelson (1978), la betaína aumenta como resultado de una nueva síntesis a partir de precursores de uno o dos carbonos.

Antioxidantes. El radical superóxido (O_2^-) y otros radicales de oxígeno son producidos por una serie de reacciones que tienen lugar en las células, incluyendo la autooxidación de un número de compuestos reducidos, y la reacción Mehler en los cloroplastos, en donde el O_2 , más que el CO_2 , es el último aceptor del transporte de electrones. Una vez formado, el radical O_2^- sufre una reducción hasta radical hidroxilo ($\cdot OH$), que provoca la peroxidación de los lípidos, y el peróxido de hidrógeno. Las plantas tienen un número de mecanismos de protección antioxidantes contra la producción de radicales oxígeno incluyendo:

- Reductores solubles en agua como los componentes que contienen tiol (glutathion) y ascorbato.
- Vitaminas liposolubles como el α -tocoferol y β -carotenos.
- Enzimas antioxidantes como la catalasa y la superóxido dismutasa.

Existen otros aspectos fisiológicos que se ven afectados por el estrés hídrico como son (Fig. 6):

- a) *Estructuras membranosas.* La composición y estructura de algunos tipos de membrana va a condicionar la mayor tolerancia o susceptibilidad a la deshidratación y a la proporción de reconstrucción y restablecimiento de la funcionalidad de las mismas, lo que supone la diferencia principal entre plantas tolerantes y plantas sensibles a la sequía. La habilidad para restablecer la función de la membrana mitocondrial y cloroplastidial que han sido deshidratadas, es de la mayor importancia porque el transporte de electrones y los mecanismos de captación de energía están localizados en la estructura membranosas de dichos orgánulos. La concentración de iones en las células como resultado de la deshidratación también afecta a la estructura y función de las membranas. La suerte de la célula después de la deshidratación está determinada por el grado de destrucción de sus membranas (Bewley, 1979; Hale y Orcutt, 1987).

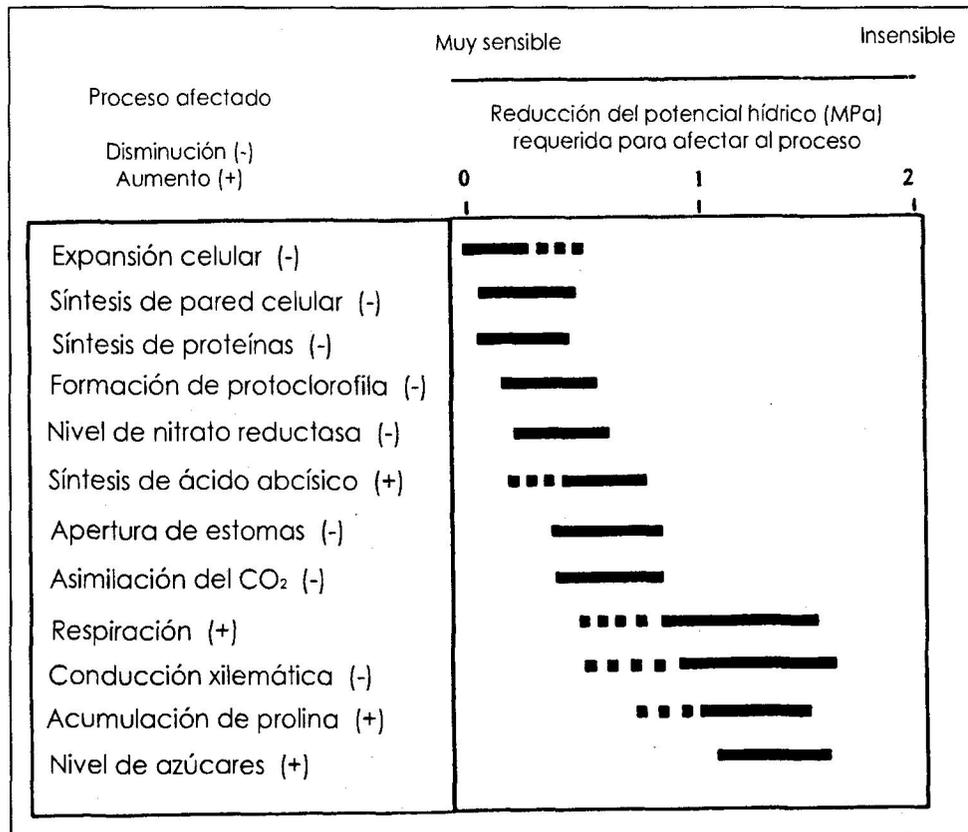


Fig. 6. Sensibilidad relativa al estrés hídrico de varios procesos vegetales. Las líneas continuas indican la sensibilidad y las discontinuas el rango de potencial hídrico. (Hsiao et al., 1976).

- b) *Fotosíntesis*. Muchos autores (Losch y Schulze, 1995; Kappen et al., 1995; Boyer, 1976; Hsiao, 1973) han estudiado el impacto del estrés hídrico en los procesos fotosintéticos. El efecto más inmediato es un incremento de la resistencia debido al cierre de los estomas, que restringe la entrada de CO₂ y de agua a las hojas. Por una parte se siguen produciendo las sustancias que intervienen en la reducción del C del CO₂ (que deben ser acumuladas o usadas), y por otra, un uso continuo de las reservas de carbohidratos da lugar a una deficiencia en los compuestos de carbono usados tanto para el crecimiento como para los procesos de mantenimiento. La reducción en la asimilación de C se debe a la disminución de la actividad de varias enzimas de ciclo de Calvin, este efecto es reversible siempre que el estrés no sea muy severo (Singal et al., 1985; Cornic y Masracci, 1996). El contenido de clorofila permanece

prácticamente intacto, pero el contenido de proteínas, glucolípidos y fosfolípidos en los cloroplastos normalmente disminuye (Prabha et al., 1985). El daño causado por la desecación afecta sobre todo al fotosistema II (Canaani et al., 1986; Plaunt, 1995; Dubey, 1996; Huner et al., 1998).

- c) *Crecimiento*. La respuesta mas sensible al estrés hídrico es el alargamiento de la célula (Hsiao, 1973; Boyer, 1970; Acevedo et al., 1979), al igual que la síntesis de la pared celular y la división celular (fundamentalmente la mitosis en la fase S). La pérdida de crecimiento puede ser recuperada después de una rehidratación (Acevedo et al., 1971). Debido a una disminución en el tamaño de las células existe un aumento en la elasticidad y en el peso seco.
- d) *Nutrición*. Los nutrientes son menos móviles en suelos secos porque los poros entre las partículas de suelo son ocupados por aire y la vía desde el suelo hasta la superficie de las raíces es menos directa (Nye y Tinker, 1977).
- e) *Estomas*. Un complicado sistema de respuestas estomáticas a los parámetros ambientales, desarrollado a lo largo de la evolución de los cornófitos, les permite adaptar su transpiración al equilibrio de aporte y demanda (Schulze y Hall, 1982) y a crecer en distintos ambientes, desde húmedos a extremadamente áridos (Webb, 1998).

La inevitable pérdida de agua cuando los estomas están abiertos para permitir la fotosíntesis, puede llevar a una disminución en el contenido relativo de agua en la hoja si el aporte de agua desde las raíces no iguala la pérdida desde las hojas; afectando directa o indirectamente a la fotosíntesis (Lösch y Schulze, 1995; Lösch, 1999). Durante el día, los estomas se abren y la planta empieza a perder agua, la hoja alcanza su mínimo contenido en agua cuando la transpiración es máxima hacia el mediodía. Los estomas tienen una elevada capacidad de respuesta a cambios en el estatus hídrico de la planta. Son incluso mas sensibles a cambios en la humedad atmosférica (Lange, et al. 1971; Sandford y Jarvis, 1986) y se cierran a medida que el déficit de presión de vapor entra a la hoja y el aire aumenta (Serrano y Pardos, no publicado). La respuesta estomática a un ambiente húmedo es un rasgo específico de cada especie de las células de guarda (Fitter y Hay, 1987). Desde que los

estomas son la vía por la cual el CO₂ entra a la hoja, los cambios que el estrés hídrico induce en la apertura estomática afecta a la toma de CO₂ y a la asimilación y posterior crecimiento. Las hojas que reducen la conductancia estomática durante el mediodía (Tenhunen et al., 1987) solo pueden cerrar algunos de sus estomas, mientras otros permanecen abiertos (Beyschlag y Pfan, 1990; Dowton et al., 1988; Terashima et al., 1988). Esta reacción ocurre cuando las plantas son expuestas rápidamente a la sequía, mientras que los estomas responden de forma uniforme cuando el estrés ocurre lentamente (Mooney, 1991; Gunasekera y Berkowitz, 1992).

Existen evidencias de que el déficit hídrico del suelo puede inducir el cierre estomático, incluso cuando el estatus hídrico de la hoja permanece invariable. Esto sugiere que la conductancia de la hoja no se ve afectada sólo por el potencial hídrico de la hoja, sino más directamente por el potencial hídrico del suelo o de las raíces (Turner et al., 1985).

Cuando la planta está sometida a estrés hídrico, los estomas tienden a cerrarse. Esta respuesta está regulada inicialmente por el ácido abscísico (ABA), una fitohormona producida por las raíces en contacto con el suelo seco y que es transportada por la corriente de transpiración hasta las hojas. Bajo estrés hídrico, el ABA es producido o liberado desde los lugares de almacenamiento en las hojas, raíces o incluso en las células de guarda, y transportada hasta el sitio de acción: el plasmalema de las células de guarda (Comish y Radin, 1990). Se producen cambios en la permeabilidad de la membrana por despolarización del potencial de membrana, y una intensificación del flujo de iones potasio (Lösch, 1993). El contenido de solutos de las células de guarda induce cambios en la apertura de los poros como resultado del equilibrio de turgor alterado entre las células de guarda y la epidermis circundante. Zhang y Davies (1989) observaron que las hojas senescentes perdían turgor hasta su marchitamiento, aumentando rápidamente la concentración de ABA en la savia del xilema. De ésta forma, el ABA procedente de las raíces y las hojas senescentes intensifica el cierre estomático bajo estrés hídrico. También se ha visto que el aumento de ABA foliar reduce la extensibilidad de la pared celular y provoca una disminución en la elongación de la hoja.

Las curvas de la conductancia estomática durante el día en especies mediterráneas se pueden clasificar en función de tres patrones siguiendo a Hinckley et al. (1983):

Tipo 1. Campana de Gauss. Representa situaciones en las que el potencial hídrico del suelo, el potencial hídrico de la hoja y la presión de vapor negativa no limitan la conductancia estomática.

Tipo 2. Tiene dos máximos, uno al principio del día y otro en la tarde, ambos separados por una depresión al mediodía. Corresponde a situaciones en las que uno o mas factores limitan la conductancia.

Tipo 3. Las curvas tienen un máximo al principio del día.

Existen otros aspectos que se ven influenciados por el estrés hídrico:

- a) Fitohormonas. El ABA cumple el principal papel en la integración de la respuesta vegetal tanto al estrés hídrico, como a un amplio rango de estreses ambientales incluyendo salinidad o altas temperaturas (Jones, 1981; Addicott, 1983; Davies y Jones, 1991). La concentración de ABA aumenta rápidamente en plantas estresadas, acumulándose primero en las hojas, aunque todos los órganos muestran algún aumento. Cohen y Bray (1990) observaron que las hojas sujetas a estrés hídrico acumulan rápidamente ABA, cuyas altas concentraciones se detectan a los 30 minutos de la imposición del estrés. El ABA puede ser:
- Retenido en el mesofilo.
 - Metabolizado en el mesofilo y en la epidermis (Heckenberger, 1993).
 - Descargado en el floema y transportado a las raíces (Schurr, 1992).
 - Actuar sinérgicamente con otras sustancias producidas o tomadas de las raíces bajo sequía, y transportadas por la corriente de transpiración, ayudando a la regulación de la pérdida de agua.

El ABA es distribuido de forma basipetal por la corriente floemática o de forma acropétala por la corriente de transpiración a lo largo del xilema. Schurr (1992) midió una considerable recirculación de ABA en *Rhizinus communis*; y Wolf et al. (1990) comprobaron que la cantidad de ABA transportada de forma acropétala en el xilema era mucho mayor como resultado del incremento en la síntesis de ABA en las raíces.

El ABA endógeno está implicado además en la alteración de la expresión genética, siendo el cambio mas aparente, la acumulación de polipéptidos y ARNm recién sintetizado. La mayoría de los polipéptidos inducidos por la sequía son de bajo pesos moleculares (menos de 30 kdaltons) y se pueden dividir en 4 categorías, basadas en hojas de tomate (Bray, 1990):

- Inalteradas por el déficit hídrico.
- Disminuidas en repuesta al déficit hídrico.
- Aumentadas durante el déficit hídrico.
- Aumentada transitoriamente durante el déficit hídrico.

Los reguladores del crecimiento están involucrados en la integración de varias respuestas (Davies y Jeffcoat, 1990). Aunque el estrés hídrico afecta a los niveles de giberelinas y a las auxinas, hay una pequeña evidencia de que estos reguladores del crecimiento tienen un papel mas importante en las respuestas reguladoras del estrés. La producción de etileno está estimulada por muchos estreses incluido el estrés hídrico. Las citoquininas también están implicadas en algunas respuestas inducidas por la sequía, como la senescencia de la hoja y el cierre de los estomas; datos de Itai et al. (1968) y Blackman y Davies (1985) sugirieron que deben ser una consecuencia de reducción en el aporte de citoquininas en la corriente de transpiración que ocurre durante la sequía.

- b) Enzimas. La enzima nitrato reductasa es una de las mas afectadas, incluso en un breve periodo de estrés hídrico, los niveles disminuyen en hojas cerca de un 20%, o en periodos mas largos incluso un 50% (Hsiao, 1973), debido a la disminución de la translocación de nitratos en el xilema (Shaner y Boyer, 1976).

También se ha comprobado una reducción en la actividad de la enzima fenil amonio liasa (PAL) (Wolosiuk et al., 1994; Adamska, 1998).

- c) Procesos implicados en la reproducción. Adelanta la floración en especies anuales (Angus y Moncur, 1977; Morgan, 1980). Si el estrés ocurre durante el desarrollo del polen, la meiosis da lugar a cromosomas anómalos, especialmente hay trastornos en la metafase y anafase. Esto da lugar a una fertilidad del polen baja (Namuco y O'Toole, 1986).
- d) Desarrollo vegetal y morfología (Jones, 1981; Addicott, 1983; Davies y Jones, 1991).
- e) Un estrés moderado afecta a la translocación indirectamente al alterar la relación fuente/sumidero de los asimilados. Debido a la reducción de la expansión celular, la fuente (hojas) es menor y hay menos disponibilidad de fotosintatos para traslocar a los frutos. Por otra parte, el tamaño del sumidero (frutos) se reduce; y si el estrés hídrico ocurre después de la expansión foliar, el resultado es el que la competición entre hojas y frutos es menor.

Muchos de estos procesos son en principio reversibles. Las respuestas de protección y los procesos destructivos ocurren de uno en uno y en algunos casos se sobreponen (Hsiao, 1973; Bradford y Hsiao, 1982). Cuando el turgor empieza a disminuir, las medidas osmoreguladoras se inician. Una combinación de síntesis de compuestos nitrogenados, y la conversión del almidón a carbohidratos solubles lleva a la acumulación de sustancias orgánicas de bajo peso molecular en los compartimentos celulares y citosol, de tal modo que proporcionan el influjo osmótico del agua. Esto ayuda a mantener el volumen celular y también retrasa la pérdida de turgor en el mesofilo, así como en las células de guarda (Turner, 1986), lo que significa que los estomas permanecen abiertos más tiempo, dejando más tiempo para la asimilación del carbono.

En la fase final que precede a la ruptura celular, la vacuola central se divide en pequeños trozos, los tilacoides de los cloroplastos y las crestas mitocondriales primero se hinchan y

luego se rompen, la membrana nuclear se distingue y los polirribosomas se desintegran (Vieria da Silva, 1976). Si ocurre la rehidratación antes de que esta serie de cambios progrese demasiado, algunas plantas (particularmente especies resistentes a la sequía) son capaces de restaurar sus estructuras membranosas y compartimentos (Baker, 1984).

2.2.4. ESTRÉS NUTRICIONAL.

Las plantas sufren estrés por déficit de nutrientes cuando la disponibilidad de éstos está por debajo de la que requieren para el crecimiento y desarrollo; respondiendo de forma distinta según el estrés y la función del nutriente en la planta (Ingestad y Agren, 1995). Puede ser resultado del bajo estado nutricional del suelo, la baja movilidad de los nutrientes en el suelo, el pH o la forma química del nutriente (Chapin, 1980; Smaling et al., 1999).

Todos los vegetales, como organismos sésiles que son, han desarrollado un tipo de homeostasis controlando el ambiente que les rodea para mantener un medio interno más o menos estable a través de varias formas que aumentan la capacidad de absorción (Orcutt y Nilsen, 2000). Entre ellas destacamos cambios morfológicos, la liberación de compuestos químicos al suelo; y el establecimiento de una simbiosis para tolerar el estrés, asociándose con microorganismos (*Rhizobium* y micorrizas) (Peoples y Craswell, 1992) (Figura 7). La mayoría de éstos mecanismos se activan cuando la planta está sometida a estrés y no se desarrollan cuando el aporte de nutrientes es óptimo (Pearson y Rengel, 1997).

El encharcamiento, la salinidad o el estrés hídrico pueden afectar a la composición mineral de las plantas. Otros estreses potenciales que afectan a la absorción de nutrientes son la contaminación, genotipos inferiores, la época de plantación, propiedades del suelo, enfermedades, presencia de malas hierbas o metales tóxicos, organismos del suelo, viento, granizo y equilibrio nutricional e interacciones entre distintos elementos minerales (Alam, 1994; Nielsen y Orcutt, 1996). También podemos citar numerosos factores que influyen en la adquisición y en la efectiva utilización de los elementos minerales: características fisicoquímicas del suelo, interacciones suelo-raíz, crecimiento, estructura y función de las raíces, absorción de iones y mecanismos de transporte, distribución de los elementos minerales en las células y tejidos, funciones físicas y bioquímicas de los elementos, y el

papel de los nutrientes en el crecimiento y procesos de desarrollo (Longnecker, 1994; Orcutt y Nielsen, 2000).

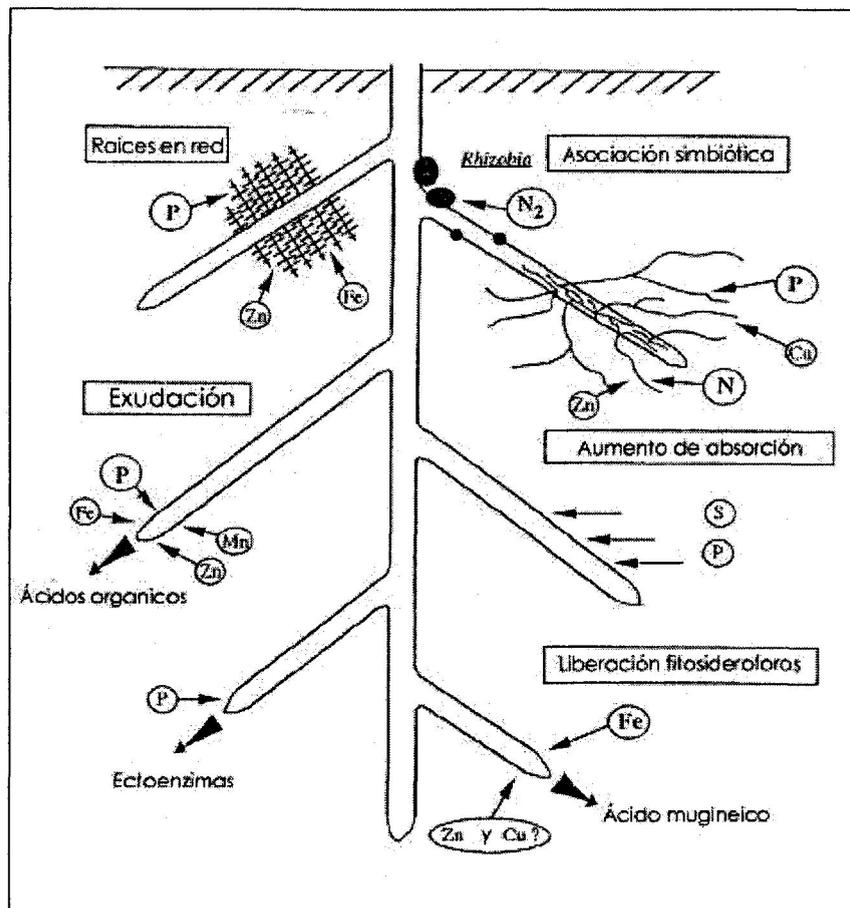


Fig. 7. Resumen de los mecanismos de resistencia en las raíces al estrés por déficit nutricional. (Pearson y Rengel, 1997).

La absorción de nutrientes es el resultado de la interacción entre la planta y el suelo. La cantidad de nutrientes absorbidos depende de la configuración, de la tasa de crecimiento y del radio de las raíces; de la densidad y longitud de los pelos radicales (Jacoby, 1995). Esta absorción y distribución por toda la planta se ven afectados por una serie de factores ambientales bióticos y abióticos que interaccionan con factores vegetales relacionados con el desarrollo, anatomía, morfología y diferencias bioquímicas que están bajo control genético (Alam, 1994; Shuman, 1994).

A medida que las raíces absorben los nutrientes y el agua del suelo, el equilibrio termodinámico entre los elementos unidos a las partículas del suelo y aquellos que están en

solución, se ve alterado dando lugar a un gradiente iónico e hídrico que favorece la captación de iones. La absorción incluye unos movimientos del suelo a las raíces, del exterior de la raíz al interior, y la translocación dentro de la planta. El movimiento a través del suelo a la raíz puede ser por difusión en la solución del suelo, difusión de las partículas del suelo a la raíz directamente, difusión de una partícula a otra, por flujo de masas, acción capilar o flujo gravitacional (Nielsen y Orcutt, 1996; Schurr, 1999).

Algunos iones son móviles dentro de la planta y otros son inmóviles. Algunos iones son capaces de moverse desde las hojas viejas, tallos o brotes a las partes jóvenes en crecimiento (hojas nuevas o semillas en desarrollo). Otros iones son fijados y están incorporados a la estructura o en forma de metabolitos. Otros se acumulan en grandes concentraciones en las vacuolas. Los flujos que ocurren son el resultado de la translocación, tanto en el xilema como en el floema, por gradientes de concentración y presión y depende de la forma en la que el ion es traslocado (Fernandes y Rossiello, 1995).

La concentración de nutrientes varía en función de la edad, de la parte de la planta, especie o el tipo de suelo. La cantidad de nutrientes en el suelo varía ampliamente y depende del material original del que deriva el suelo y los procesos que intervienen en el reciclaje de los elementos en los ecosistemas naturales o agrícolas (Berendse et al., 1999).

El agua y los nutrientes disueltos pueden entrar libremente al espacio apoplástico de los tejidos radiculares. Las células que constituyen la rizodermis, exodermis y el córtex están cargadas negativamente debido a su estructura y composición, dando lugar a la denominada capacidad de intercambio catiónico (CEC: cation exchange capacity), que varía entre diferentes especies vegetales. Esta capacidad le permite repeler iones cargados negativamente y atraer a los cargados positivamente (Clark, 1983). El tipo de ión y la cantidad en la que son absorbidos depende de la composición de la pared celular, concentración de iones en el suelo y la demanda de un ion en particular durante el crecimiento vegetal. Orcutt y Nielsen (2000) comprobaron que las raíces de dicotiledóneas tiene un mayor CEC que las monocotiledóneas (Burns et al., 1997).

Sin embargo, estos factores pueden actuar de forma sinérgica o antagónica en el suelo, la planta o en los lugares de absorción (Alam, 1994). Las interacciones pueden resultar de la

competición por sitios de intercambio catiónico, competición por los transportadores que llevan iones a través de las membranas, antagonismos relacionados con la activación y desactivación de transportadores, interacciones de iones transportados en el sistema vascular, competición o sustitución de iones en las funciones metabólicas y la precipitación de iones como sales insolubles dentro de los tejidos. Podemos distinguir numerosos ejemplos (Welch, 1995):

- a) Deficiencias en Fe, Mo, Zn o K pueden causar disminución en la absorción y utilización del N.
- b) Deficiencias en Fe o Zn reducen la absorción de K.
- c) Altos niveles de K, B o Mn reducen la absorción de Fe.
- d) Altos niveles de Fe, Zn o Cu reducen la absorción de Mn.
- e) Altos niveles de P o B reducen la absorción de Zn.

Generalmente, 17 elementos son considerados esenciales para el normal crecimiento y desarrollo de la mayor parte de las plantas; siendo necesaria una buena aireación del suelo para que la absorción de los nutrientes sea máxima. Incluye macronutrientes (C, H, O, N, P, K, S, Ca, y Mg) y los micronutrientes (Cu, Fe, Cl, B, Mn, Zn, Mo y Ni) (Wignarajah, 1995). Hay otros elementos esenciales y/o beneficiosos para el crecimiento y desarrollo de unas pocas especies, como el Na, Si, Va o Se. Los elementos esenciales se clasifican en (Pearson y Rengel, 1997):

- a) *Estructurales*. Componentes de todos los constituyentes celulares orgánicos.
- b) *Osmóticos*. Controlan el turgor celular y las relaciones hídricas.
- c) *Electroneutros*. Mantienen el óptimo iónico y el equilibrio de pH.
- d) *De transporte*. Interviene en la movilización de nutrientes orgánicos y minerales.
- e) *Cofactores o constituyentes enzimáticos*. Catalizan las reacciones bioquímicas.

El elemento mineral más limitante para el crecimiento es el nitrógeno. Una disminución en la relación raíz/brote se debe a una deficiencia de N (Ericsson, 1995). La deficiencia provoca una acumulación de carbohidratos no estructurales (almidón) en las hojas (McDonald et al., 1986; Thorsteinsson et al., 1990) y da lugar a un aumento en la translocación de los mismos al sistema radicular originando el consiguiente crecimiento de

las raíces (Rufty et al., 1982). Afecta también al desarrollo del área foliar, mientras que la tasa fotosintética no se ve afectada (Waring et al., 1985; McDonald et al., 1992). Por el contrario, una mayor absorción de nitrógeno que la necesaria para el crecimiento da lugar a una acumulación en forma de aminoácidos (Näsholm y McDonald, 1990; Näsholm, 1991; Longnecker, 1994) actuando como sumidero de carbohidratos.

Algunos efectos de la deficiencia de fósforo es el retardo en el crecimiento de los brotes, afectando a la relación brote/raíz (Ulrich y Beny, 1961; Loneragan y Asher, 1967; Reid y Bielecki, 1970; Clarkson et al., 1978; Schenk y Barber, 1979; Ericsson e Ingestad, 1988). Aumenta la concentración de almidón en las hojas (Thorsteinsson y Tillberg, 1987), debido a una disminución del azúcar exportado desde los cloroplastos al citosol (Champigny, 1985; Sharkey, 1985; Sivak y Walker, 1986) y afecta también a la expansión y a la superficie foliar (Fredeen et al., 1989). Las plantas presentan tres mecanismos para evitarlo (Pearson y Rengel, 1997):

- a) *Química*. Secretan exudados a la rizosfera o al suelo para incrementar la absorción del P o para aumentar la solubilidad del mismo.
- b) *Física*. Pueden alterar la forma del sistema radicular.
- c) *Asociaciones simbiótica*. La planta se puede asociar con microorganismos que faciliten la absorción del P.

El hierro es esencial para el crecimiento, la formación de clorofila y la fijación del carbono (Dietz y Harris, 1996). Es un constituyente del sistema redox (citocromo) en cloroplastos y mitocondrias, y por lo tanto tiene un papel importante en la síntesis de la energía necesaria para la fijación del carbono y en el crecimiento estructural (Marschner, 1986). La elongación radicular se ve inhibida en plantas deficientes en hierro, mientras que la formación de pelos radicales se ve estimulada (Marschner, 1995). Las plantas presentan dos estrategias que les permite una mayor absorción del hierro:

- a) *Estrategia I*. Tiene lugar en dicotiledóneas y monocotiledóneas no gramíneas. Está caracterizada por una reducción del Fe (III) a Fe (II) en la membrana plasmática de las células radicales, acidificación de la rizosfera (por exudación de protones), exudación de compuestos reducidos y/o quelados, y cambios en la histología y morfología radicular.

- b) *Estrategia II*. Se expresa en gramíneas. Incluye la exudación de quelatos metálicos, fitosideroforos, a la rizosfera. Adquieren hierro liberando fitosideroforos (PS), aminoácidos no proteínogénicos con una gran afinidad para unirse al Fe, absorbiendo PS ferrado a través de un sistema de absorción transmembranal altamente específico (Marschner y Römheld, 1994; Mori, 1994; Welch, 1995).

Las plantas sometidas a deficiencia de zinc ven más disminuido el crecimiento de las raíces que el de los brotes (Cumbus, 1985; Webb y Loneragan, 1990; Rengel y Graham, 1995). La reducción en el aporte de zinc está asociada al aumento en la acumulación de fósforo en los tejidos de los brotes. De todos modos, es muy difícil diferenciar entre deficiencia de zinc y toxicidad de fósforo (Loneragan y Webb, 1993). Las plantas que crecen con deficiencia en el aporte de Zn continúan aumentando la concentración de P en brotes (Cakmak y Marschner, 1986).

La deficiencia de azufre no es muy común, debido a que la planta recibe S de la atmósfera, o bien aumenta su capacidad de absorción (Hawkesford y Belcher, 1991). El azufre es un constituyente de los aminoácidos cisteína y metionina, y por lo tanto, de las proteínas (Marschner, 1986). La síntesis de proteínas se ve afectada por una deficiencia en S, afectando también al crecimiento, distribución de la biomasa y fijación del carbono (Willenbrink, 1967). Reduce más el crecimiento que la fijación del carbono (Ericsson, 1995). Por otra parte, distinguimos una disminución en el área foliar por la disminución del tamaño y número de células, reduciendo por lo tanto el contenido de clorofila y la fotosíntesis. Hay una acumulación de almidón en las hojas debido a un mal funcionamiento del metabolismo de los carbohidratos o por una baja demanda de los sumideros (Marschner, 1995).

El magnesio es un componente de la molécula de clorofila; el Mg unido de ésta forma supone entre un 5 y un 10% del total (Marschner, 1986). Este elemento también es esencial para la activación de un gran número de enzimas, como la Ribulosa Bisfosfato Carboxilasa (Marschner, 1986) e incluyendo aquellas que intervienen en la síntesis de proteínas (Clarkson y Hanson, 1980). La deficiencia de Mg tiene un impacto negativo en la fijación del carbono y perjudica la exportación de carbohidratos de las fuentes a los sumideros

(Cakmak et al., 1994; Ericsson, 1995). Aunque la tasa fotosintética es menor, sigue habiendo acumulación de almidón (Marschner, 1986).

El potasio es importante para el transporte de sacarosa por el floema y la expansión celular, afectando a la relación fuente/sumidero. Provoca además una disminución en la tasa fotosintética (Linder y Rook, 1984) y un aumento en el contenido de carbohidratos solubles en las hojas (Marschner, 1986). Estos efectos se explican por el papel del K en la osmorregulación, activación enzimática y translocación de asimilados en el floema.

El papel más conocido del manganeso es en la evolución del oxígeno en la fotosíntesis (Marschner, 1986). La deficiencia de Mn reduce el crecimiento radicular a través de su papel en la producción de ácido indolacético (Abbott, 1967) y no por la alteración en la relación fuente/sumidero (Pearson y Rengel, no publicado). Reduce además la cantidad de carbohidratos en los tejidos y la distribución de la biomasa a las raíces (Göransson, 1994).

El boro afecta más a la reproducción, y por lo tanto a la producción, que al crecimiento vegetativo, en particular de cereales (Shelp, 1995).

El calcio funciona principalmente en el margen del citoplasma. Forma uniones intermoleculares en la pared celular y membrana plasmática (Marschner, 1986), jugando un papel importante en su estabilización. La formación de nuevos tejidos es el proceso más afectado (Ericsson, 1995).

Las plantas sometidas a deficiencias de P, N, S, Mg, K, Fe, Mn o Zn sufren una disminución en la relación brote/raíz ya que se ve inhibida la síntesis de nuevos tejidos radiculares. Las plantas no suelen sufrir deficiencias de Ni, Mo o Cl (Marschner, 1995); ni de Mg y Ca en suelos ácidos o cuando sufren estrés luminoso (Rengel, 1992).

Uno de los factores que más afecta a la vegetación de ambientes mediterráneos es el déficit hídrico. Las raíces son los primeros sensores de éste tipo de estrés, provocando perturbaciones fisiológicas y bioquímicas en los brotes y la disminución del crecimiento (Chapin, 1991). Las especies vegetales y genotipos de una misma especie, varían en su respuesta (Reddy et al., 1980).

El estrés hídrico reduce la absorción de nutrientes, el transporte desde las raíces a los brotes y cambios en el metabolismo de la raíz (Broyer, 1950). Ésta disminución está causada por una excesiva pérdida de iones de las células; aunque también se puede deber a una menor tasa de transpiración, permeabilidad de la membrana y transporte activo (Erlandsson, 1975; Tanguilig et al., 1987).

Muchos elementos minerales aumentan su absorción bajo estrés hídrico (Gerakis et al., 1975). Favorece el aumento en K, N, Ca, Mg, Na y Cl; y disminución en P y Fe. La materia seca disminuye más rápidamente que la absorción de nutrientes, lo cual sugiere que el crecimiento es más susceptible al estrés hídrico que la absorción (Alam, 1994).

2.3. Nutrición mineral en plantas silvestres

Los factores químicos y físicos del suelo, tales como el pH, salinidad, disponibilidad de nutrientes y textura, determinan la distribución de la vegetación natural, es decir de las plantas silvestres. Especies y ecotipos pueden ser clasificados en términos ecofisiológicos de acuerdo a su distribución en los suelos. Algunos ejemplos de especies, agrupadas de esta manera, son acidífugas y acidófilas; calcífugas y calcícolas; halófitas y glicófitas; y metalófitas (adaptadas a suelos metalíferos).

Se han publicado estudios sobre la respuesta de las plantas, especialmente de vegetación natural, a aspectos ecofisiológicos como el pH del suelo (Kinzel, 1983), salinidad (Munns et al., 1983; Läuchli y Schubert, 1989), metales pesados (Woolhouse, 1983; Baker, 1987; Baker y Walker, 1989), y la disponibilidad de nutrientes minerales (Chapin, 1980, 1983, 1988).

Las especies cultivadas son normalmente seleccionadas para suelos de alta fertilidad y sus características nutricionales pueden ser bastante diferentes de aquellas de vegetación natural, nacidas en suelos de baja fertilidad, esto es, lugares pobres en nutrientes (Chapin, 1988.) Pero además, dentro de la vegetación natural hay especies adaptadas a suelos fértiles (especies ruderales) y con similitudes equivalentes en características nutricionales con las especies cultivadas.

En las plantas, el nivel de absorción de la raíz depende del suministro de nutrientes a la superficie radical, y de la capacidad de absorción activa por parte de las células corticales.

A su vez, el suministro de nutrientes a la raíz, depende de:

- La concentración en la solución del suelo.
- La capacidad amortiguadora del suelo. Esto es, su capacidad de reponer los nutrientes a medida que son absorbidos.
- La velocidad con que los nutrientes se desplazan hacia la raíz en la solución del suelo, por difusión o flujo de masas.

El nitrógeno, el fósforo y el potasio suelen estar tan diluidos en la solución del suelo que el flujo de masas no suministra más que una pequeña parte de los requerimientos del total, por ello estos elementos se mueven hacia la superficie radical principalmente por difusión.

Otros cationes, muy móviles fluyen rápidamente acumulándose a menudo alrededor de la raíz cuando el suministro excede a la absorción. La absorción activa por las raíces, o la acumulación pasiva facilitada por las corrientes de transpiración suelen ser los factores limitantes por ello, estos elementos impiden el crecimiento de la planta sólo a concentraciones muy bajas en la solución edáfica, o cuando las raíces absorben, por ejemplo, la mayor parte del nitrógeno como NH_4^+ , provocando con ello un desequilibrio en la carga electrostática de la planta (Haynes y Goh, 1978).

La capacidad de absorción radical difiere entre especies y variedades, siendo entre el 35 y el 70 % hereditaria. Aquellos vegetales que tienen un nivel de crecimiento relativo bajo suelen tener una relación raíz / tallo alta, junto con una baja capacidad de absorción. Esta depende de la concentración de la solución externa. Una alta disponibilidad de nutrientes suele conducir a su acumulación en la planta, en cantidades superiores a las inmediatamente necesarias para el crecimiento. Es el **consumo de lujo**. El nivel de absorción de un nutriente depende frecuentemente de la concentración de otros en la solución del suelo y en la planta.

2.3.1. Respuesta de las plantas a situaciones bajas en nutrientes

Cuando los nutrientes se encuentran poco disponibles, las reservas para el crecimiento de la raíz son distribuidas a expensas del tallo. Entonces se produce un aumento de la relación raíz / tallo.

Una vez en el tallo, los nutrientes móviles se dirigen preferentemente a los sitios de mayor actividad meristemática o sumideros fisiológicos. Así, un bajo contenido de nutrientes tiene un efecto mucho menor sobre el número y tamaño de las hojas en la zona apical del tallo, que en los brotes apicales.

El efecto de los macronutrientes sobre el crecimiento es muy variable. Entre los elementos móviles, el nitrógeno, es el que tiene un mayor efecto sobre el crecimiento, afectando al número de células y su tamaño. El fósforo tiene una influencia similar aunque menos pronunciada, y el potasio es el que tiene menos acción sobre el crecimiento afectando sólo al tamaño de las células. Por otro lado, el calcio, inmóvil en el floema, se acumula en el xilema y en los lugares de máxima transpiración. Su movimiento hacia los meristemas es menos rápido, restringiendo su actividad antes en la expansión y la actividad de las hojas más viejas.

Cuando el aporte de nutrientes desde el suelo es insuficiente, las hojas viejas lo movilizan a los meristemas y hojas jóvenes en crecimiento (Williams, 1948, 1955). En primer lugar, son removilizados de los depósitos existentes (vacuolas), y en menor medida, de los compuestos que son rápidamente hidrolizables como son los ésteres de fosfato y aminoácidos (Brady, 1973). Esto conlleva una reducción en el grado de síntesis de proteínas y clorofilas.

En gran medida, la actividad fotosintética es proporcional al nitrógeno foliar, como componente de las enzimas clorofílicas y sus enzimas, y bastante más independiente de los cambios producidos en la concentración de fósforo y potasio foliar (Natr, 1975; Terry y Ulrich, 1973). La respiración, muy relacionada con el contenido proteínico del tejido también disminuye en condiciones de estrés (Brady, 1973).

Las especies de lento crecimiento que caracterizan muchos de los sistemas naturales, que están sometidos a una fertilidad escasa o a diversos tipos de estrés (sequía, salinidad, etc), normalmente muestran una tasa baja de absorción iónica, que aumenta muy poco en respuesta a un incremento de la concentración externa.

Si ello lo comparamos con las especies propias que viven en medios muy ricos en nutrientes, su capacidad de absorción es considerablemente menor cuando el suministro es abundante, y aproximadamente el mismo o incluso superior cuando la disponibilidad se hace muy escasa.

Para maximizar la entrada de nutrientes estas plantas recurren a una alta relación raíz /tallo junto con la formación de micorrizas.

La razón raíz /tallo de las especies de habitats infértiles viene a ser cinco veces mayor cuando se mide en el campo que cuando se mide en soluciones nutritivas. Esto nos lleva a pensar en una mayor longevidad de las raíces cuando crecen en habitats con fertilidad limitada. Puesto que la capacidad de absorción radicular suele declinar con la edad, la gran biomasa radical que se alcanza en estos casos debe ser incompatible con una alta capacidad de absorción. En estos habitats, donde la difusión es un factor limitante una gran biomasa de raíces es de gran importancia.

Por otro lado la asociación micorrizal es de vital importancia para la nutrición en condiciones de baja fertilidad sobre todo con iones que se difunden lentamente en el suelo (fosfato, amonio, potasio).

La concentración de nutrientes en la solución edáfica y su absorción por la planta, fluctúan considerablemente a lo largo del año. En suelos no agrícolas suele existir un flujo de nutrientes en primavera y a veces otro en otoño e invierno asociados con la disponibilidad de agua, descomposición de la materia orgánica o incremento de la actividad microbiana.

Conforme la disponibilidad de nutrientes aumenta, las especies de rápido crecimiento propias de ambientes más fértiles, responden con grandes incrementos en su tasa de

crecimiento, mientras que otras, adaptadas a medios más pobres lo hacen en menor medida, aumentando antes la concentración en sus tejidos (Bradshaw et al., 1960).

En los ambientes de escasa fertilidad las posibles ventajas de un pequeño grado de crecimiento serían las siguientes:

- Absorción más lenta de nutrientes, con menores probabilidades de agotar las fuentes de suministro (esto tiene más validez en el caso de ausencia de competencia).
- Mecanismo fisiológico adaptado a un régimen bajo en nutrientes de forma que actúa siempre cerca del óptimo.
- Utilización de los nutrientes absorbidos en exceso durante los flujos estacionales para mantener su crecimiento, una vez agotadas las reservas o la capacidad de suministro del suelo, (Grime, 1975 y 1979), aumentando las posibilidades de supervivencia hasta el siguiente flujo estacional. Se mantiene la actividad meristemática y la capacidad de respuesta a una mejora de las condiciones de disponibilidad de nutrientes.

2.3.2. Concentración de nutrientes y eficacia en su uso

La eficacia de empleo de un nutriente se define, generalmente, como la cantidad de materia seca producida por gramo de nutriente.

Cuando crecen en similares concentraciones, las especies de crecimiento lento presentan niveles mayores en sus tejidos (menor eficiencia) que las especies de rápido crecimiento, lo cual nos sugiere que la eficacia en el uso de los nutrientes no es una adaptación importante en estos casos (Clarksol, 1967).

Cuando la fertilidad es alta, las diferencias interespecíficas en concentración de los tejidos son especialmente pronunciadas, debido al consumo de lujo de las especies de crecimiento lento. Pero cuando la fertilidad es baja hay una serie de compensaciones a favor de estas especies. En efecto, las de crecimiento rápido muestran concentraciones muy bajas asociadas con síntomas visuales de deficiencia, reducción de su capacidad de absorción radical, respiración, fotosíntesis, e incrementan la mortalidad en caso de sequía o

enfermedad, a la vez que se hacen más sensibles a la toxicidad por metales pesados y salinidad.

La capacidad que tienen las especies de crecimiento lento de mantener su actividad metabólica en condiciones de estrés nutricional, es una característica clave de su adaptación. Una concentración baja de nutrientes en los tejidos es la norma en estas plantas, cuando se estudian en condiciones naturales se suele ver que ello va unido a una acumulación de carbohidratos no estructurales (Smith, 1973), un tejido muy estructurado (a menudo hojas esclerófilas) y poco contenido en proteínas y clorofilas (Loveless, 1961, 1962). Todo ello debido a la inferioridad de su maquinaria fotosintética y a la menor velocidad de asimilación del CO₂. Las plantas con hojas esclerófilas tienen menor tasa de fotosíntesis y de crecimiento.

La concentración iónica en los tejidos vegetales de las plantas silvestres estudiadas en su medio natural, suele diferir menos entre los distintos lugares que entre los nutrientes del suelo, de modo que no resulta un indicador demasiado bueno de la disponibilidad iónica en el suelo en comparación con las plantas cultivadas. Esto se debe a una mayor variación de las plantas autóctonas en su grado de crecimiento intrínseco, una menor capacidad de respuesta a la disponibilidad de nutrientes, un menor rango de concentración iónica en el tejido y una heterogeneidad ambiental bastante mayor.

2.3.3. Almacenamiento y ciclo anual de nutrientes

Los hábitats donde la fertilidad puede ser un factor limitante se encuentran dominados por especies no anuales antes que por especies anuales (Grime, 1975).

2.3.3.1. Especies no anuales de hoja caduca.

Uno de sus rasgos característicos es el almacenamiento de minerales y carbohidratos en tejidos no fotosintéticos. Su rápido crecimiento primaveral se basa antes que en los nutrientes almacenados en una absorción continua.

El incremento primaveral en nutrientes foliares coincide con una caída en las reservas de nitrógeno y fósforo en tallos y raíces. Este capital de nutrientes (tallo y raíz), es recuperado durante el verano por absorción del suelo, y en otoño por traslocación a partir de las hojas senescentes. Los nutrientes traslocados desde las hojas, fluyen hacia los frutos en desarrollo o mantienen el crecimiento de las raíces al mismo tiempo que llenan los lugares de almacenamiento. Debido a la asincronía en el crecimiento de las diversas partes de las plantas los mismos nutrientes realizan varias funciones en la estación de crecimiento.

2.3.3.2. *Especies no anuales de hoja perenne.*

Retienen los nutrientes foliares "in situ" durante el invierno en lugar de trasladarlos a tallos o raíces, de forma que la disminución estacional de las concentraciones de nitrógeno y fósforo se deben fundamentalmente al efecto diluyente de las paredes celulares. En años consecutivos, las hojas no caídas pueden mantener concentraciones estables y reservas de nutrientes, con ganancias ocasionales debido a consumos de lujo durante periodos de no crecimiento.

El crecimiento de las hojas y los tallos de las especies perennes empieza más tarde y es más gradual que el de las caducifolias, de modo que puede basarse en la absorción directa del suelo o en el consiguiente almacenamiento en hojas tras la absorción otoñal o invernal (Chapin et al., 1980). Así pues, como lugares de acumulación y reserva, las hojas de las perennifolias son al menos tan importantes como raíces y tallos.

La acumulación iónica durante el invierno, capacita a la planta para crecer cuando el agua, temperatura y radiación son más favorables para el crecimiento liberándola de la dependencia diaria de los nutrientes disponibles del suelo (Jeffrey, 1964). Por ello, tanto el almacenamiento estacional de nutrientes como el consumo de lujo resultan esenciales para el triunfo de estas especies en medios de escasa fertilidad.

2.3.4. *Comportamientos de las plantas en suelos ácidos.*

La acidez de la tierra limita el crecimiento de las plantas en muchas partes del mundo. La inhibición del crecimiento de las plantas es el resultado de una variedad de factores específicos y de interacciones entre estos factores (Marschner, 1991b). En suelos ácidos las principales limitaciones para el crecimiento de las plantas son las siguientes:

- Aumento en la concentración de H^+ : toxicidad de H^+
- Aumento en concentración de aluminio: toxicidad del aluminio
- Aumento en concentración del manganeso: toxicidad del manganeso
- Disminución en concentración de cationes de macronutrientes: deficiencia de magnesio, calcio (y potasio)
- Disminución en fósforo y solubilidad del molibdeno: deficiencia en fósforo y molibdeno
- Inhibición en crecimiento de la raíz y captación de agua: deficiencia de nutrientes, tensión de sequedad, aumento del lixiviado de nutrientes.

La importancia relativa de estas limitaciones depende de las especies de plantas y sus genotipos, del tipo de suelo y el horizonte, valor de pH del suelo, concentración y especies de aluminio, la estructura de la tierra y aireación, y el clima. Los niveles de nitrógeno en suelos ácidos son generalmente bajos a menos que haya entrada alta de aire contaminado de la atmósfera (Schulze, 1989).

Los suelos forestales en muchas regiones del mundo son típicamente ácidos. En los últimos años ha aumentado la preocupación sobre la acidificación creciente del suelo del bosque por emisiones atmosféricas de SO_2 y óxidos de nitrógeno ('lluvias ácidas') como factores causantes de los daños al bosque (declive del bosque) particularmente en Europa y América del Norte. Hay mucha controversia acerca de la causa de declive del bosque por acidificación de la tierra. Se cree que el incremento de acidez aumenta la solubilidad del aluminio y por tanto su toxicidad (Murach y Ulrich, 1988), así como una disminución en la concentración y captación de nutrientes, magnesio en particular, provocando por tanto la deficiencia del magnesio (Zoettl y Huettl, 1986; Kaupenjohann et al., 1987; Liu y Huetti, 1991), y un incremento de la deficiencia de este y del calcio debido en particular a la elevada entrada de nitrógeno atmosférico (Schulze, 1989; Aber et al., 1989).

No es posible generalizar, sin embargo, acerca de la importancia de los factores de estrés de los suelos ácidos sin considerar lugares específicos. El papel de la deposición de nitrógeno atmosférico depende no solo de la cantidad sino también de la historia reciente de los lugares forestales (Zöttl, 1990). En Europa por ejemplo, el crecimiento de la raíz del haya (*Fagus sylvática* L.) es mucho más sensible al aumento de la concentración de H^+ que de aluminio.

En vista de las diferentes maneras en las que la acidez del suelo puede restringir el crecimiento de las plantas, por un aumento de manganeso y aluminio, las plantas adaptadas a este tipo de suelos, adoptan una variedad de estrategias para defenderse de los factores químicos involucrados en estos suelos (Howeier, 1991). Generalmente se está de acuerdo que, como regla y en una escala mundial, concentraciones altas de aluminio, y en algunos casos también de manganeso, son factores clave en el estrés producido por los suelos ácidos en las plantas, consecuentemente serán especies de alta tolerancia a estos dos factores las que puedan proliferar en estos hábitats con suelos de $\text{pH} < 5$.

2.3.5. Comportamientos de las plantas en suelos alcalinos.

Las tierras alcalinas ($\text{pH} > 7$) son muy comunes en los climas semiáridos y áridos. Estas ocupan más del 30 % de la superficie de la tierra (Chen y Barak, 1982). Su volumen de Ca CO_3 en el horizonte superior varía de un poco por ciento a 95%. Los tipos de suelos alcalinos más frecuentes son los Rendzinas que son suelos poco profundos con una concentración alta de materia orgánica y demasiado material calcáreo. Menos común es el Chernozems y Xerosols. El pH de los suelos calcáreos está determinado por la presencia de Ca CO_3 , que amortigua los suelos con un rango de $\text{pH} 7,5 - 8,5$. Pero a un $\text{pH} > 8$, es el Solonetz el tipo de suelo predominante. Solonetz, o suelos con sodio, se caracterizan por una ratio de adsorción de sodio (SAR) del suelo por encima de 15, y contienen frecuentemente carbonato de sodio. Los suelos sódicos normalmente se dan en asociación con suelos salinos (Solonchaks), y salino-sódicos, estos son más abundantes que los suelos solamente sódicos.

En el contexto de la limitación en el crecimiento de la planta es necesario, sin embargo, hacer una clara distinción entre la salinidad y la alcalinidad debida al sodio. Las tierras salinas no son necesariamente alcalinas, y el crecimiento de la planta en tierras salinas está principalmente afectado por niveles altos de cloruro de sodio (toxicidad y desequilibrio del ión) perjudicando el balance hídrico. El suelo rico en sodio, por otro lado, es alcalino y el crecimiento de la planta se ve dañado principalmente por un pH alto, una concentración alta de bicarbonato, y a menudo una pobre aireación.

Las limitaciones nutritivas en suelos calcáreos difieren de las de suelos ricos en sodio. En virtud de la respuesta de las plantas a la concentración de calcio podemos diferenciar: plantas calcícolas estrictas, que requieren de la presencia de carbonato cálcico (Ca CO_3) en el medio no pudiendo sustituirse por ningún otro compuesto, ejemplo MgCO_3 . Otras plantas son calcícolas menos estrictas ya que pueden utilizar tanto el Ca CO_3 como Ca SO_4 con lo que parece ser que necesitan más que un pH elevado, la presencia del ión calcio. Y por último otro grupo de plantas que se ven inhibidas por el carbonato cálcico y favorecidas por la presencia de Mg. A la vista de esto parece claro que el calcio es, por sí solo, un determinante de la distribución de la planta y que hay plantas calcícolas antes que basófilas pues estas son capaces de sobrevivir a un pH bajo si el suministro de calcio es el adecuado.

El calcio juega un importante papel como nutriente pues hay enzimas que dependen del mismo y su ausencia hace posible la inhibición de la fotosíntesis (Portes et al., 1977). La célula necesita mantener concentraciones citoplasmáticas muy bajas para evitar sus efectos perjudiciales o inhibidores, lo que se consigue por la acción de bombas electrogénicas dependientes del ATP (Clarkson y Hanson, 1980). El calcio puede jugar un papel importante como puente de unión entre los grupos fosfato y carboxilatos de fosfolípidos y proteínas, incrementando la hidrofobicidad de las membranas y su estabilidad, se puede asumir por tanto que un prerrequisito de las plantas capaces de vivir en suelos ácidos será el de poseer una estructura de membranas citoplasmáticas que pueda mantenerse independientemente del calcio, o que no requiera sino trazas del mismo.

La concentración de nitrógeno es un factor de crecimiento-limitante para la mayoría las especies cultivadas (a parte de las legumbres) en suelos alcalinos. Más del 90% del nitrógeno del suelo está orgánicamente fijado (humus) y sólo esta disponible para las plantas después de la mineralización por los microorganismos del suelo. Tanto la cantidad total de nitrógeno del suelo y su disponibilidad para las plantas se relacionan estrechamente con el volumen de materia orgánica del suelo y las condiciones de mineralización (humedad de la tierra, temperatura, y aireación). En tierras alcalinas el pH del suelo tiene menos importancia que el nivel y producción de nitrógeno.

MATERIAL Y METODOS

3. Material y Métodos

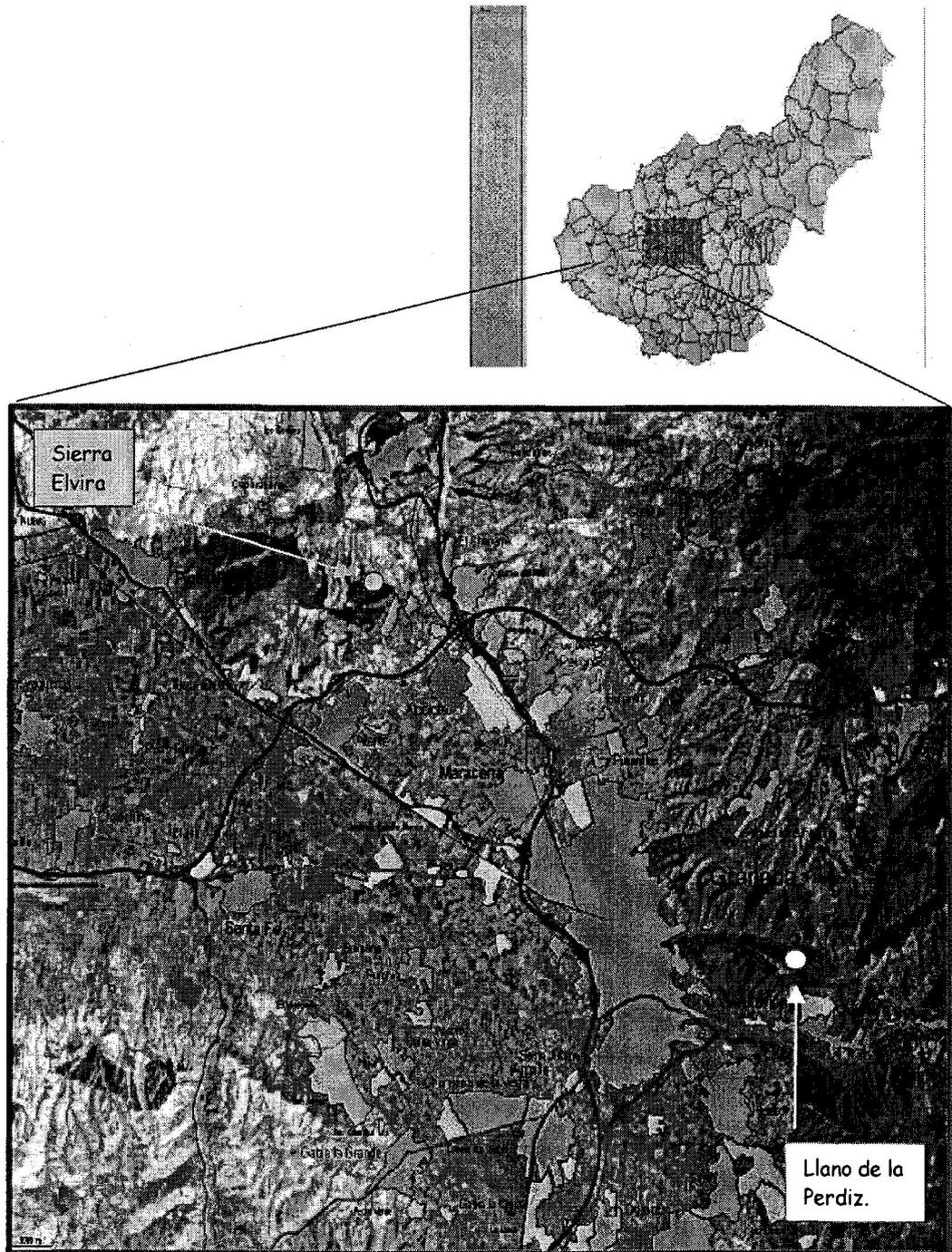
3.1. Localización de las áreas de muestreo.

Nuestro trabajo se realizó en dos zonas de montaña del conjunto que rodea a la depresión de Granada, constituida por los depósitos de esta orla montañosa y cruzada por el río Genil. La elección viene determinada por la presencia de comunidades vegetales similares en ambas zonas de estudio, con suelos de composición distinta, una calcárea y otra con presencia de material no carbonatado. Ambas se encuentran a más de 16 kilómetros de distancia en línea recta y pertenecen a formaciones geológicas muy diferentes.

La zona de Sierra Elvira está a 14 Km de Granada capital en dirección noroeste. Se alza sobre la vega de Granada con una altitud de hasta 1102 m en el pico Elvira. Al este de Sierra Elvira y formando parte de ella está la Sierra de Atarfe, donde se encuentran nuestras parcelas de estudio. Esta se extiende entre los 750 y los 870 metros de altitud en el monte de La Atalaya, Cerro Palomo y Collado de los Pinos.

La zona del Llano de la Perdiz está situada al este de la ciudad de Granada a unos 1000 metros de altura. Constituye una área de esparcimiento de la ciudad calificada por la administración ambiental como Parque Periurbano en el actual catálogo de espacios naturales protegidos de la comunidad autónoma andaluza (C.M.A.). Esta zona de estudio se encuentra entre los 800 m de la ribera izquierda del río Darro y los 1000 m de altura de la altiplanicie del parque de invierno; y entre el primer cortafuegos al este de la altiplanicie y el Barranco de las Tinajas en el extremo oeste. Se extiende a lo largo de la ladera norte que da al río Darro a su paso por la Dehesa del Generalife hasta El cerro del Sol (1036 m), pasando por El Valle.

Fig. 8. Mapa de localización de las zonas de muestreo



3.2. Especies estudiadas.

3.2.1. Generalidades sobre la Vegetación.

La biogeografía es una rama de la geografía que trata de la distribución de los seres vivos en la Tierra. Gracias al conocimiento que en los últimos años se ha alcanzado sobre la distribución de los seres vivos sobre el territorio y en especial la aportación de la corología vegetal, se ha conseguido establecer tipologías o sistemáticas biogeográficas que nos permiten entender la distribución de las especies en relación a factores de índole físico; como el clima, la topografía o el suelo (Rivas Martínez, 1995).

El ámbito de nuestro trabajo se circunscribe en la Región Mediterránea, Provincia Bética. Es ésta entre las demás provincias peninsulares la que presenta mayor número de endemismos florísticos y comunidades vegetales. También en ella están representados todos los pisos bioclimáticos de la Región Mediterránea Peninsular, incluyendo desde el denominado piso Termomediterráneo hasta el Crioromediterráneo. Sus características ombroclimáticas son muy variadas, oscilando entre el tipo hiperhúmedo y el semiárido. El conjunto del área de esta provincia engloba un enorme territorio del sur peninsular que va desde la depresión del Guadalquivir, pasando por la cordillera Penibética y parte de las Subéticas y algunas depresiones del surco intrabético. El conjunto de la vegetación coincide con formaciones de carácter forestal, con bosques más o menos cerrados a excepción de las cumbres de Sierra Nevada y áreas semiáridas, pero estas formaciones naturales originarias han sido ampliamente modificadas por la acción antrópica y sustituidas por formaciones tanto forestales de carácter artificial como por extensiones de cultivo, algunas enormemente significativas en la región, como son los olivares (Martínez Parras. y Peinado Lorca, 1987).

3.2.1.1. Pisos Bioclimáticos.

Se entienden a estos como cada uno de los tipos o espacios termoclimáticos que se suceden en una cliserie altitudinal o latitudinal (Rivas Martínez, 1983).

Tabla 1. Pisos Bioclimáticos en la Provincia Bética

	T	m	M	It
Crioromediterráneo	< 4°	< -7°	< 0°	< -30
Oromediterráneo	4 a 8°	-7 a -4°	0 a 2°	-30 a 60
Supramediterráneo	8 a 13°	-4 a -1°	2 a 9°	60 a 210
Mesomediterráneo	13 a 17°	-1 a -4°	9 a 14°	210 a 350
Termomediterráneo	17 a 19°	4 a 10°	14 a 18°	350 a 470

T = Temperatura media anual. m = Temperatura media de las mínimas del mes más frío.
M = Temperatura media de las máximas del mes más frío. It = Índice de Termicidad. It=(T+m+M) 10. (Rivas Martínez, 1983).

Dentro de cada piso bioclimático, en función de la precipitación distinguimos diversos tipos de vegetación que corresponden de un modo bastante aproximado a otras tantas unidades ombroclimáticas.

Tabla 2. Ombroclimas de la Región Mediterránea

	Precipitación.
Árido	< 200 mm.
Semiárido	200-350 mm.
Seco	350-600 mm.
Subhúmedo	600-1.000 mm.
Húmedo	1.000-1.600 mm.
Hiperhúmedo	> 1.600 mm.

Fte. (Rivas Martínez, 1987).

3.2.1.2. Vegetación

Podemos caracterizar dos ámbitos bien diferenciado en virtud de las comunidades vegetales que se encuentran:

Zona de Sierra Elvira: Se corresponde con la serie termomediterránea de la encina (Paeonio-Querceto rotundifoliae S.), la vegetación potencial es un encinar, que está bien representado en la zona aunque presenta cierto grado de degradación como consecuencia de la actividad humana intensa, de forma que se mezclan los elementos de las distintas etapas de la serie.

El estrato arbóreo lo representan; la encina *Quercus rotundifolia*, y al estar ubicada la parcela de muestreo en umbría aparecen algunos pies de Quejigo, *Q. faginea*.

El sotobosque y zonas abiertas son ricos en arbustos y matorrales así como algunas lianas, encontrando especies como: *Rubia peregrina*, *Crataegus monogina*, *Juniperus oxycedrus*, *Colutea arborea*, *Quercus coccifera*, *Ulex parviflorus*, *Retama sphaerocarpa*, *Daphne gnidium*, *Cistus albidus*, *Cistus monspeliensis*, *Phlomis purpurea*, *Stipa tenacissima*...

Zona del Llano de la Perdiz: Se corresponde con la serie termomediterránea de la encina (Paeonio-Querceto rotundifoliae S.), al estar los suelos sobre materiales de depósito de los esquistos y gneises de Sierra Nevada (conglomerados de la formación Alhambra) presentan un enriquecimiento en especies propias de suelos ácidos o lavados con menos presencia de Calcio, como el cantueso *Lavandula stoechas*, y en los espacios abiertos un jaral espeso con *Cistus monspeliensis* y *Cistus salicifolius*. La vegetación potencial es un encinar, que está bien representado en la zona aunque presenta cierto grado de degradación como consecuencia de la actividad humana intensa, se trata de un lugar altamente visitado (Parque periurbano de la Dehesa del Generalife) con incidencia importante de incendios, de forma que se mezclan los elementos de las distintas etapas de la serie.

El estrato arbóreo lo representan; la encina *Quercus rotundifolia*, y al estar la zona entre los ríos Genil y Darro se incrementan los niveles de frescor y humedad lo que posibilita la aparición de algunos pies de Quejigo, *Q. Faginea*.

El sotobosque y zonas abiertas son ricos en arbustos y matorrales, encontrando especies como: *Juniperus oxycedrus*, *Quercus coccifera*, *Ulex parviflorus*, *Retama sphaerocarpa*, *Daphne gnidium*, *Cistus albidus*, *Cistus monspeliensis*, *Cistus salicifolius*, *Phlomis purpurea*, *Lavandula stoechas*...

3.2.2. Encuadramiento taxonómico y descripción botánica.

Las especies seleccionadas se incluyen dentro del grupo de plantas silvestres características del monte mediterráneo.

Dado el interés tanto conservacionista como forestal que han adquirido estos ecosistemas, hemos seleccionado un conjunto de especies de amplia distribución en los

mismos. Buscamos entender el funcionamiento de estos ecosistemas forestales mediterráneos a través de los comportamientos adaptativos de las especies seleccionadas, que son las siguiente:

Quercus ilex L., *Juniperus oxycedrus* L., *Retama sphaerocarpa* (L.) Boiss, *Cistus albidus* L., *Phlomis lychnitis* L., *Daphne genkwa* L.

Quercus ilex L. subsp. *rotundifolia*

Indicador típico del clima mediterráneo, con veranos calurosos y lluvias de otoño a primavera. Árbol corpulento de 8-15 m, de corteza negrusca y copa densa, amplia, y redondeada. Las hojas son perennes, simples, alternas, algo elípticas, poliformes, de 2 a 5 cm de longitud con nervios secundarios de 5 - 8 pares, de color verde oscuro y coriáceas, con pelos grises afieltrados en el envés. Frutos (bellotas) dulces y comestibles, de 1,5 - 3,5 cm.

Juniperus oxycedrus L.

Arbusto o arbolillo mediterráneo de hojas puntiagudas, con dos líneas blancas en su envés. Frutos redondeado de pequeño tamaño, de 6 a 15 mm, amarillo al principio y rojizo en la madurez. Suele encontrarse en lugares secos, pedregosos, espesos, de la Europa mediterránea.

Retama sphaerocarpa (L.) Boiss.

Arbusto de hasta 2 m, muy ramificado. Leguminosa propia de matorrales seriales producidos por la degradación de encinares. Flores pequeñas de 5-8 mm y de color amarillo. Legumbre de 7-9 mm, ovoide o globosa, lisa exteriormente en la madurez.

Cistus albidus L.

Arbusto erecto de 30-170 cm de altura. Hojas simples enteras y opuestas, de color gris pálido, densamente vellosas, completamente sentadas, ovales o lanceoladas. Flores grandes de color rosa de 4-6 cm, en ramilletes terminales de 1-5. Fruto con pelos cerdosos.

Phlomis lychnitis L.

Planta arbustiva, de 20 a 50 cm, y perenne, con tallos y hojas cubiertos de borra blanca. Flores amarillas en inflorescencia espiciforme larga e interrumpida, agrupadas

en verticilos, de 4 a 8, y cada uno de ellos con 6 – 10 flores sostenidas por dos brácteas exteriores anchamente ovales, largamente acuminadas, mucho más anchas que las hojas. Cáliz con densa pubescencia lanosa.

Daphne gnidium L.

Arbusto de matorrales baldíos y roquedos. De porte erecto, poco ramificado, siempre verde de 0,5 a 2 m de altura, propio de la región mediterránea. Flores pequeñas y perfumadas, blancas, que crecen directamente en ramilletes terminales erectos, frecuentemente ramificados. Flores blancas interiormente y pardas por fuera. Hojas numerosas, de 2-4 cm, linear lanceoladas, con punta fina, coriáceas, glaucas, lampiñas. Los frutos y las hojas son venenosas. La planta se usa externamente para limpieza de heridas.

3.3. Parámetros ambientales

3.3.1. Geología.

Las áreas de estudio se encuadran en la hoja 1009 (Granada) del mapa geológico de España, escala 1: 50.000 (IGME, 1988). Esta se caracteriza por ser un área de contacto de las zonas internas y externas de las cordilleras Béticas. La mayor parte de la superficie de esta hoja está ocupada por materiales neógenos de la depresión de Granada.

Las parcelas estudiadas en la zona del Llano de la Perdiz están en el límite de las zonas internas de las cordilleras Béticas. Se sitúan sobre materiales neógenos y cuaternarios de la depresión de Granada, son conglomerados y arenas de la denominada formación Conglomerados de la Alhambra. En conjunto se trata de abanicos aluviales nutridos tanto de materiales procedentes de Sierra Nevada, micaesquistos en su mayoría, como de otros relieves de naturaleza caliza. Su formación se origina entre el Plioceno (finales del Terciario) y el Pleistoceno (principios del Cuaternario).

Sierra Elvira es una formación montañosa rodeada por materiales de la depresión de Granada. Tectónicamente se incluye en las zonas externas de las cordilleras béticas y

dentro de esta en la denominada zona subbética (subbético medio). Son materiales jurásicos en su mayoría y algunos triásicos.

Las parcelas están situadas en la ladera norte de la Sierra Elvira, sobre dolomías, calizas, y calizas margosas con sílex.

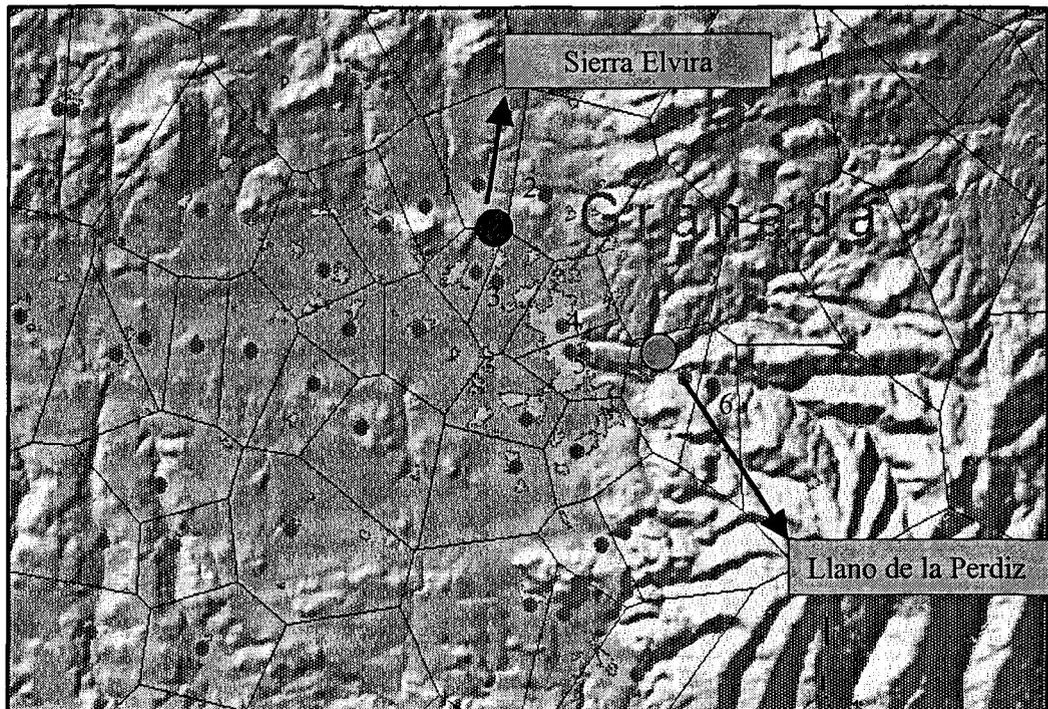
3.3.2. Climatología

Al tratarse de un trabajo sobre especies silvestres los datos del clima no se han obtenido en condiciones de control, de modo que para conocer los parámetros climáticos e interpretar sus efectos sobre los vegetales y las comunidades, nos hemos servido de las series y datos registrados en las estaciones próximas a los lugares de muestreo.

En el mapa adjunto se pueden ver las estaciones meteorológicas presentes en el entorno de Granada así como los polígonos de su ámbito de influencia.

Se han marcado las ubicaciones de los puntos de muestreo así como numerado del 1 al 6 las estaciones meteorológicas donde se han tomado los datos, buscando aquellas cuyos polígonos de influencia afectan a los puntos de muestreo o se encuentran más próximos.

Fig. 9. Mapa de Estaciones Meteorológicas



La información utilizada para la elaboración de la tabla y gráficos procede de la base de datos climáticos del Instituto Nacional de Meteorología.

Según el Atlas temático de la Provincia de Granada nuestras zonas de estudio se pueden incluir en el ámbito climático denominado mediterráneo templado de matiz continental, que genéricamente ocupa la porción occidental de la provincia. Aquí la influencia marítima se difumina, de modo que se acusan fuertes amplitudes térmicas anuales. No obstante, se puede hablar de semicontinentalidad en tanto que la región se encuentra relativamente abierta a los vientos del Atlántico, responsables de unos volúmenes pluviométricos que permiten clasificar a las sierras subbéticas como subhúmedas y a la depresión granadina como seca. El verano es caluroso y seco con un elevado número de días despejados. El invierno es largo y frío, ya que al quedar sometida la zona a la influencia de los vientos fríos del Norte, las temperaturas de enero se sitúan en torno a los 7 °C y las mínimas caen por debajo de los 0 °C (-2,6 °C en Granada). Las precipitaciones oscilan entre los 450 y los 600 mm y se recogen a finales de otoño-invierno y en primavera. Los días de lluvia oscilan entre los 60 y 80 al año y los índices de insolación superan las 2.800 horas anuales. (Ferrer, A. & al. 2002).

Para la caracterización climática de las zonas de muestreo hemos utilizado la información de las estaciones meteorológicas que se muestran en la tabla.3.

3.4. Suelos.

El suelo es un sistema muy complejo, en un volumen determinado encontramos la coexistencia de tres fases, sólida, líquida y gaseosa todas en un estrecho equilibrio (López Ritas J. y López Mellida J., 1990).

La fase sólida puede ser mineral u orgánica, la porción mineral presenta un conjunto de partículas de tamaño, composición y formas muy diversas. La parte orgánica abarca desde organismos vivos hasta restos de plantas o animales en diferentes grados de descomposición (Duchaufour P., 1975).

La fase líquida se encuentra rodeando en forma acuosa a las diferentes partículas sólidas que son las más abundantes. Las plantas se alimentan principalmente de esta fase

y de los nutrientes en ella disueltos. Por último la fase gaseosa se encuentra en los intersticios de los granos no ocupados por líquido.

Las interrelaciones físicas y químicas entre las tres fases están afectadas, además de por sus propiedades por la temperatura, presión y luz (López Ritas J. y López Mellida J., 1990).

La formación de los suelos, Edafogénesis, constituye un proceso largo donde aparte de las consideraciones espaciales, topográficas o geográficas hay que sumar el tiempo, que modifica y tiende a establecer sistemas cohesionados donde clima, vegetación y roca definirán la tipología, perfiles y propiedades del suelo. Sin olvidar en esta dinámica la influencia definitiva de la actividad del hombre que puede cambiar de forma absoluta cualquier escenario.

El estudio edafológico contempla numerosos parámetros naturales, ya que se trata de suelos no cultivados.

3.4.1. Toma de muestras.

Puede afirmarse que el éxito o el fracaso del análisis de suelos, depende de si se obtiene o no una muestra que sea verdaderamente representativa, y de las operaciones subsiguientes de manejo. Esto debe realizarse con gran minuciosidad y siguiendo unas reglas normalizadas (Chapman y Pratt, 1979).

La toma de muestras se realizó al azar en las parcelas previamente definidas para el estudio, donde también se tomaron las muestras de materia vegetal. Estas se recogieron a distintas profundidades, de 5 a 15 cm (nivel 1), de 15 a 30 cm (nivel 2), y de 30 a 70 cm (nivel 3), utilizando para ello materiales de madera y de plástico, y después de homogeneizarlas se introdujeron en bolsas de plástico, convenientemente rotuladas para su posterior análisis (Villora et al., 1997). Se tomaron tres muestras con sus niveles en cada zona experimental. Este sistema de muestreo se realizó en una sola vez pues el fin era conocer la composición y nutrientes del suelo al objeto de comparar los resultados con los obtenidos en los análisis de los órganos vegetales.

3.4.2. Preparación de las muestras.

Las muestras, una vez en el laboratorio, se acondicionaron como fase previa para la realización de los distintos análisis. Este acondicionamiento incluyó la separación de los posibles elementos gruesos y la preparación de las muestras para su análisis químico.

La muestra se desecó al aire hasta que su humedad se equilibró con la ambiental, seguidamente se extendió sobre un tablero, y sirviéndonos de un martillo de goma o un rodillo de madera, se deshicieron los agregados que existían. Posteriormente se pasó la muestra por un tamiz de 2 mm de luz, almacenándose la fracción menor de este tamaño (Marañés et al, 1994).

3.4.3. Análisis de las muestras.

Los suelos fueron sometidos a un análisis físico, otro mineralógico y otro químico, siguiendo las directrices propuestas en los Métodos Oficiales de Análisis (1975). En el análisis físico que se estudió su capacidad de retención de agua y su contenido granulométrico. En el análisis mineralógico se determinó la composición global y la fracción inferior a 2 μ . Y en el análisis químico se determinaron 19 parámetros.

3.4.3.1. Análisis físico y mineralógico

Una parte del análisis físico consistió en ver el contenido en agua. Los métodos ordinarios para la determinación de la textura de los suelos requieren que las partículas estén dispersas en una solución acuosa. La agitación del suelo en una solución alcalina diluida de hexametáfosfato sódico es suficiente, en muchos casos, para la dispersión de los agregados del suelo. Para prevenir una mala dispersión de este, se sometió a lavado por diálisis en una membrana semipermeable y corriente de agua.

Granulométrico: se realizó para cuatro fracciones, arena gruesa y fina, limo y arcilla, siguiendo el procedimiento propuesto por Bouyoucos (1995), basado en la ecuación de Stokes, que relaciona el diámetro de las partículas con el tiempo de caída. La fracción arena se realizó por una primera tamización en húmedo y posterior separación en

subfracciones en una segunda separación en seco. La arcilla y el limo se separaron por sedimentación y se siguió el método de la pipeta de Robinson.

Mineralógico global: el análisis mineralógico de la composición global se ha efectuado por difracción de rayos X (Brindley y Brown, 1980). Este análisis es semicursivo ya que sólo tienen en cuenta el material cristalino y no el amorfo (geles). No fue eliminada la materia orgánica.

Mineralógico de la Fracción Inferior a 2 μ : se utilizó el método agregado orientado, solvatado con etilenglicol (Brindley y Brown, 1980), eliminando previamente la materia orgánica y los carbonatos.

3.4.3.2. Análisis químico.

Se determinaron los siguientes parámetros:

3.4.3.2.1. pH

Este parámetro nos aproxima a las características químicas del suelo, en particular el grado de saturación de bases. El pH del suelo es un factor determinante de la solubilidad de determinados elementos para las plantas. La asimilación de nutrientes del suelo está influenciada por el pH, ya que determinados nutrientes se pueden bloquear en unas condiciones de pH y no son asimilables para las plantas (López Ritas J. y López Mellida J., 1990).

El método empleado valora el denominado pH actual mediante la suspensión del suelo en agua destilada; y el pH potencial, mediante la suspensión del suelo en una disolución de cloruro potásico. Esta última da una idea de la posible concentración de iones ácidos fijados en el complejo adsorbente y también se usa para interpretar y diagnosticar la existencia de salinidad (Cobertera, E. 1993)

Los valores se obtuvieron midiendo el potencial eléctrico que se crea en la membrana de vidrio de un electrodo, que está en función de la actividad de iones hidrógenos a ambos lados de la membrana, utilizando como referencia un electrodo de calomelanos con puente salino. Se determinó, en primer lugar, a partir de una mezcla de suelo / agua en la proporción 1: 1. Posteriormente se efectuó otra medida con cloruro potásico 0.1 M en la misma proporción (Hayward et al., 1973).

3.4.3.2.2. **Materia Orgánica**

Se determinó según el método propuesto por Bremner (1965), basado en la medida espectrofotométrica del cromo originado como consecuencia de la reducción del dicromato potásico, en medio sulfúrico, por la materia orgánica presente en el suelo (De La Rosa, 1984).

3.4.3.2.3. **Nitrógeno orgánico:**

Se realizó según el método clásico de Kjendahl, usando como catalizador una solución sulfúrica de Selenio y como elevador del punto de ebullición sulfato potásico. Destilando posteriormente el mineralizado obtenido y valorando el amonio en un aparato de Bouat Micro Kjendahl (Hillerbrand et al. , 1953).

3.4.3.2.4. **Carbono orgánico:**

Se oxidó la materia orgánica con dicromato potásico en medio ácido, valorando el exceso de este con sal de Mohr (Sulfato amónico) (Walkey, 1935; Jackson, 1964; Hesse, 1971).

3.4.3.2.5. **Fósforo:**

La determinación de este elemento se realiza por medio de una extracción con ácido acético y acetato amónico (Olsen y Larsen, 1979). Después de filtrado el extracto, se valoró una alícuota de éste por el método de Capitán y Martínez (1954).

3.4.3.2.6. **Potasio:**

Se realizó una extracción del elemento con una solución extractora de ácido acético y amoníaco, posteriormente se realizó la lectura por espectrofotometría de llamas y su interpolación en una curva patrón (Pratt, 1965).

3.4.3.2.7. **Carbonato Cálcico Equivalente**

Tratando los carbonatos con ácido clorhídrico 1 N en un dispositivo cerrado, a presión y temperatura constante, el incremento de volumen, es una medida directa del anhídrido carbónico desprendido cuando no se produzcan otros gases (Allison y Moodie, 1965). Las correcciones de presión y temperatura, se hicieron con ayuda de carbonato cálcico puro por medio del instrumento descrito por Barahona (1980).

3.4.3.2.8. Cationes de Cambio: K, Na, Ca y Mg,

Con la muestra de suelo se procedió al desplazamiento del complejo de cambio mediante acetato amónico 1 N (pH 7) por lixiviación en una columna de percolación. Se procedió posteriormente a la determinación por espectrofotometría de absorción atómica en el caso de Ca y Mg, y por espectrofotometría de llama se determinó Na y K (Bower et al. , 1952).

3.4.3.2.9. La Capacidad de Cambio Catiónico:

Se determinó partiendo de suelo saturado en amonio y por desplazamiento de este amonio por sodio mediante una solución de acetato sódico 1 N (pH 8.2), valorando éste posteriormente por espectrofotometría de llama (Richards, 1954).

3.4.3.2.10. Suma de bases

Es el resultado de sumar los contenidos en bases, es decir K, Na, Ca y Mg, en cada perfil. Nos sirve para compararlo con otros datos de la tabla, como la capacidad de cambio.

3.4.3.2.11. Porcentaje de saturación

Hace referencia a la cantidad total de Ca, Mg, Na y K del complejo de cambio como porcentaje con relación a la capacidad de cambio total.

3.4.3.2.12. Micronutrientes: Hierro, Manganeso, Zinc, Boro y Cobre

El extractante utilizado fue el propuesto por Lindsay y Norvell (1978). La extracción se llevó a cabo en frascos de plástico de 250 ml, manteniendo constantes las condiciones de tiempo de extracción (60 minutos) y relación suelo/extractante (1/10). La extracción se realizó en un agitador vuelta-vuelta, produciéndose posteriormente al filtrado de los extractos. La extracción en cada suelo se realizó por triplicado. Se realizó seguidamente la determinación de los microelementos procedentes de los filtrados, por espectrometría de absorción atómica (Lachica et al. 1973) y el boro por colorimetría (Wolf, 1971).

3.5. Material vegetal.

3.5.1. Caracterización de las parcelas del estudio

En cada área de estudio se eligieron cuatro parcelas de 100 m² que se delimitaban con estacas en las esquinas estas se separaron y distribuidas al azar en cada zona. Las plantas se recolectaron aleatoriamente, buscando que su tamaño fuese de porte medio con respecto al tamaño general de la especie.

Se señalaron las plantas elegidas en cada parcela para realizar los muestreos posteriores. Las parcelas fueron dibujadas en un mapa croquis con el fin de encontrarlas fácilmente en las salidas que se sucedieron durante dos años.

3.5.2. Toma de muestras

Las hojas que constituyen las muestras fueron tomadas de la parte central del tallo, pues se considera que estas presentan un crecimiento de vigor medio y una edad fisiológica que corresponde al estado de madurez de la planta entera (López-Cantero y Romero, 1993). Siguiendo las indicaciones de Chapman y Pratt (1979) fueron rechazadas aquellas hojas que presentaban alteraciones o deformaciones morfológicas, así como de desarrollo incipiente o lesiones de tipo mecánico, y se desprecio el pecíolo.

La recolección de los limbos foliares de cada parcela, se realizó con una periodicidad quincenal durante dos ciclos biológicos.

Los frutos sólo en su estación de madurez, con un total de dos muestreos uno por ciclo biológico.

Las muestras se introducían en bolsas de plástico perforadas y convenientemente rotuladas con el objeto de identificarlas bien en el laboratorio. Fueron transportadas en condiciones de frío.

3.5.3. Preparación de las muestras.

Una vez llegadas las muestras al laboratorio se procedió a su descontaminación (Wolf, 1982) lavándolas, introduciendo las hojas en una solución con un detergente no iónico al 1 %, frotándolas, tanto por el haz como por el envés con un cepillo de cerda

