INFLUENCIA DEL FENOTIPO EXPERIMENTAL SOBRE LA SUPERVIVENCIA EN CAMPO DE PLÁNTULAS DE ENCINA (*Q. ilex* L.) Y COSCOJA (*Q. coccifera* L.)

Inmaculada Santos[1], Fernando Valladares[2] y Daniela Brites[2]
1 TRAGSA, División I+D+i C/ Julián Camarillo 6b, 28037 Madrid (isantos@tragsa.es)
2 Centro de Ciencias Medioambientales. CSIC. Serrano 115 dpdo. 28006 Madrid
MESA TEMÁTICA Nº 2

Resumen

El objetivo de este trabajo ha sido cuantificar la influencia de los rasgos fenotípicos (conjunto de caracteres englobados en la noción de calidad de planta) sobre el éxito de las repoblaciones en términos de supervivencia para dos especies de *Quercus* (*Q. ilex* y *Q. coccifera*) importantes en el centro y levante español. Para ello se han germinado y mantenido en vivero mil plántulas por especie, sometidas a distintos tratamientos de fertilización y riego (tres niveles de fertilización: baja, media y alta, correspondientes con dosis totales de 5, 50 y 200 mg de N por planta repartidas de forma exponencial creciente durante las 20 semanas de crecimiento mas intenso; tres niveles de disponibilidad hídrica: baja, media y alta, correspondientes a 30-42, 50-66 y 60-75% de capacidad de campo respectivamente). En las dos mil plántulas se registró su tamaño, morfología y fisiología durante su primer año en vivero, al final del cual se llevaron a la localidad de Enguera (38º 58' N, 0º40' W, Valencia) donde se transplantaron en otoño de 2002. La supervivencia de cada uno de los individuos se registró en la primavera 2003, para determinar el shock debido al transplante, y en invierno 2004, para determinar la mortandad debida al estrés estival. La supervivencia se analizó mediante regresión logística ajustando un modelo en el que la supervivencia fue la variable binomial dependiente, las variables morfológicas y fisiológicas fueron las variables continuas independientes y la especie, el tratamiento hídrico y el tratamiento de fertilización los factores discretos de clasificación. El elevado número de muestras confirió gran robustez estadística al análisis siendo todos los modelos examinados altamente significativos.

Los distintos tratamientos experimentales en vivero dieron lugar a fenotipos morfológica y fisiológicamente contrastados (e.g. plantas más altas y con mayor copa aquellas sometidas a riego y fertilización medios o elevados) que mostraron a su vez diferente supervivencia en campo. Las plantas que sobrevivieron inicialmente al transplante presentaron diferencias significativas en su morfología, de manera que a corto plazo (supervivencia al shock del transplante) la supervivencia fue mayor a mayor altura, número de hojas y diámetro de la base del tallo en las dos especies estudiadas. Se observó un efecto significativo de los rasgos fisiológicos a largo plazo (supervivencia al estrés estival), produciéndose una mayor mortandad asociada con mayor contenido en clorofilas y mayor eficiencia fotosintética.

El riego en vivero afectó significativamente a la supervivencia a corto plazo (supervivencia al shock del transplante) pero no tuvo efecto a largo plazo (supervivencia al estrés estival). Mientras el riego alto tuvo un efecto beneficioso sobre la supervivencia en campo de ambas especies, la fertilización elevada tuvo un efecto negativo sobre la supervivencia de la encina.

P.C.: variabilidad fenotípica, fertilización, sequía, vivero, calidad de planta

Summary

The aim of this work has been to quantify the influence of the phenotypic features (included in the concept of plant quality) on the reforestation success in terms of survival for two important forest species in Central and Eastern Spain namely: *Quercus ilex and Quercus coccifera*. One thousand seedlings per species were germinated and maintained in the greenhouse under different fertilization and irrigation treatments. The fertilization treatments were low, medium and high nutrient availability (total dosage of 5, 50 and 200mg of N per plant respectively, distributed exponentially over the 20 weeks of more intense growth) and the water treatments were low, medium and high levels of water availability, which corresponded with 30-42%, 50-66% and 60-75% field capacity respectively. Size, morphology and physiology of a total of 2000 seedlings were recorded after the first year of in the greenhouse. They were planted in Enguera (38º, 58' N, 0º 40' W Valencia) in autumn 2002. The survival of each individual was recorded in spring of 2003, to determine the shock due to transplant, and in winter 2004, to determine the mortality due to summer stress. Survival was analysed through logistic regression means adjusting a model by which survival was the dependent binomial variable. Morphological and physiological variable were the independent continuous variables and the classification discreet factors were species, water treatment and fertilization treatment. The high number of samples gave robustness to statistical analyses being all models examined highly significant.

The different experimental treatments in greenhouse gave rise to a high morphological and physiological phenotypic variance, which demonstrated at the same time a different survival in the field. Seedlings subjected to medium and higher irrigation and fertilization treatment levels were taller and produced

a larger crown. The plants which survived initially (no transplant shock) were morphologically different, with higher chances of survival at increasing plant height, number of leaves and basal stem diameter in the two species studied. Morphology has no effect in the long run. Plant physiological features had a significant effect in the long term (summer stress survival) with higher mortality associated with higher chlorophyll content and photochemical efficiency.

Water availability during growth significantly affected short-term survival in the greenhouse (transplant shock), but had no effect on long-term survival (summer stress). While high irrigation had a positive effect on field survival in both species, high fertilization had a negative effect on the survival of *Q. ilex*.

K.W.: phenotypic variability, fertilization, drought, nursery, seedling quality

INTRODUCCIÓN

A pesar de la creciente importancia de las repoblaciones con especies del género *Quercus* en la región mediterránea, el conocimiento sobre la influencia de los rasgos fenotípicos (conjunto de caracteres englobados en la noción de calidad de planta) sobre el éxito de las repoblaciones es muy fragmentario.

Los experimentos de campo en nuestro país se enfrentan con la gran variabilidad del terreno y con una gran complejidad de interacciones entre factores ambientales y genéticos que pueden afectar la interpretación de la información recogida. Los resultados de experimentos en vivero con unas condiciones más controladas, a pesar de que nunca pueden ser extrapolables ni comparables, pueden ayudar a comprender e interpretar muchos de los resultados de campo (ABRIL & DIEGO, 1994).

Existen evidencias considerables de que la calidad funcional (morfológica y fisiológica) de la planta producida en vivero es uno de los factores que inciden sobre la supervivencia y el desarrollo de las repoblaciones forestales. A su vez, una de las técnicas viverísticas que pueden modificar dicha calidad es la fertilización además del riego (LANDIS, 1989; OLIET, 1995), puesto que su aplicación incide directamente sobre la morfología y el crecimiento de la planta, altera su composición nutritiva, incluyendo los contenidos en sustancias de reserva, puede modificar las resistencias al frío, estrés hídrico, enfermedades, etc. Se sabe que las plantas fertilizadas con elevados niveles de N presentan mayores crecimientos y que una elevada concentración de este elemento presenta la ventaja de permitir a la planta mayores tasas de fotosíntesis durante la fase de instalación que una planta con menor concentración, lo que le permitirá desarrollar más velozmente y en mayor cuantía su sistema radical. La producción de carbohidratos de reserva puede también ser mayor en las plantas mejor fertilizadas.

El estado nutricional de las plantas destinadas a repoblación ha de ser el que optimice la supervivencia y la producción de biomasa. Existen tendencias que defienden que este desarrollo es especialmente importante el primer año de vida del repoblado, pues este se mantiene durante los siguientes años (McGILVRAY & BARNETT, 1982).

Con el presente trabajo nos propusimos analizar los efectos de un experimento de fertilización y riego en vivero sobre los atributos de calidad de plantas de dos especies del género *Quercus*, germinadas de semillas seleccionadas, cultivadas en un substrato artificial mezcla de turba y vermiculita y sometidas a la combinación no factorial de tres dosis de Nitrógeno y tres regímenes hídricos. Para ello se evaluaron una serie de variables con los cuatro objetivos siguientes: i) determinar el éxito del transplante, ii) determinar el efecto de los distintos tratamientos y su interacción con la especie, iii) determinar la calidad de planta tras un año en el campo, iv) determinar la influencia de la variabilidad fenotípica en la capacidad de aclimatación de la planta.

MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento se inició con plántulas del año germinadas a partir de bellotas de distintas procedencias. Concretamente se trabajó con semillas de *Q. ilex* procedentes de la Alcarria-Serranía de Cuenca ES 9 y de *Q. coccifera* del Sistema Ibérico Meridional RIU 25.

La semilla se almacenó en cámara frigorífica dentro de bolsas de plástico cerradas, con un pequeño orificio para que las bellotas respiren, moviéndolas de vez en cuando para que no apareciesen hongos y a una temperatura comprendida entre 0 - 2º C.

A la semilla no se le sometió a ningún tratamiento de pregerminación, salvo la inmersión en agua para eliminar aquellas que quedan flotando. Se les sometió a tratamiento fungicida para evitar la proliferación de hongos. Tiempo de germinación: 2-3 meses.

En abril del año 2002 se sembraron las bellotas en bandejas de 50 alvéolos tipo Forest-pot-300 (alvéolo de 300 mL). Para la preparación de la siembra se rellenaron los alvéolos empleando como substrato una mezcla de turba rubia tipo “spagnum” (pH = 4) y vermiculita: 75%-25% en volumen respectivamente,

tapando, después de la siembra, los alvéolos con vermiculita para mantener, hasta la germinación, un grado de humedad constante. Se mantuvieron con riego y sin fertilización durante los dos siguientes meses, comenzando el tratamiento aproximadamente en el mes de Mayo. El cultivo fue realizado en el Vivero Forestal gestionado por la empresa TRAGSA sito en las instalaciones de la Escuela de Capacitación Agraria de San Fernando de Henares (Madrid).

Las bellotas se sembraron con una profundidad aproximada de 3 cm. con una ligera inclinación, aunque las bellotas más pesadas se deben sembrar a mayor profundidad pues de esta forma dan lugar a plantas más altas y más fuertes.

Los tratamientos se iniciaron en mayo de 2002, tras la aparición de las primeras hojas adultas (momento hasta el cual no se puede limitar el riego en aquellas que van a ser sometidas a un estrés hídrico) y se mantuvieron durante toda la estación de crecimiento, hasta otoño de 2002. Las bandejas de alvéolos se ubicaron bajo los carros de riego del vivero y se sometieron a distintas dosis de riego y nutrientes de forma semi-automatizada. El contenido hídrico de las bandejas se calculó mediante el método de las pesadas.

Dichos tratamientos consistieron en tres niveles de riego y tres niveles de fertilización, aplicados en un diseño no factorial (mientras se varía uno de los tratamientos, el otro permanece constante en su nivel intermedio). Por lo tanto, los tratamientos que se llevaron a cabo fueron cinco: Riego Medio/Nutrición Alta (RmNa), Riego Alto/Nutrición Media (RaNm), Riego Medio/Nutrición Media (RmNm), Riego Bajo/Nutrición Media (RbNm) y Riego Medio/Nutrición Baja (RmNb). Se dispusieron 200 individuos por especie y tratamiento divididos en cuatro réplicas de 50 individuos (una bandeja forestal). Cada réplica se dispuso en un bloque. Cada bloque constaba de dos bandejas (una por especie y tratamiento), con lo que el número de réplicas por especie y tratamiento coincidía con el número de bloques. Dentro del bloque las bandejas se colocaron al azar, y el bloque se rodeó de bandejas vacías para disminuir el efecto borde. El riego se realizó mediante carros de riego automático y los distintos tratamientos se obtuvieron ajustando la frecuencia de riego para conseguir tres valores de capacidad de campo: Riego bajo (Rb-30-42%), medio (Rm-50-66%) y alto (Ra-60-75%). Para ajustar la frecuencia de riego para conseguir estos niveles, las bandejas se pesaron regularmente. Los niveles de fertilización se obtuvieron aplicando manualmente distintas dosis de fertilizante Peters de crecimiento (N:P:K, 20:7:19) disuelto en agua, de forma que se obtuvieron tres niveles de fertilización contrastada: baja (Nb), media (Nm) y alta (Na), correspondientes con dosis totales de 5, 50 y 200 mg. de N por planta, respectivamente, repartidas de forma exponencial creciente durante las 20 semanas de crecimiento más intenso.

Durante los meses de verano se procedió a la toma de medidas no destructivas, tanto morfológicas como fisiológicas: altura (H=cm.) como estimador sencillo de crecimiento, número de hojas (NH), diámetro de la base del tallo (DBT=mm.), Diámetro mínimo y máximo de la copa (Dmin y Dmax), estimación de clorofilas (SPAD), eficiencia fotoquímica (rendimiento cuántico, Fv/Fm) mediante fluorescencia in vivo de las clorofilas, en un número de individuos establecido por especie y tratamiento. Además se efectuaron censos continuos para el cálculo de la supervivencia por especie y tratamiento.

Para obtener las medidas de biomasa y tasa de crecimiento relativo (cuantificación del crecimiento), al inicio de los tratamientos, en mayo, se cosecharon cuatro plántulas por especie, se separaron en raíz, tallo y hojas y se mantuvieron en la estufa a 60ºC durante 48 horas. De todas ellas se midió el peso en seco total de la planta y sus distintos componentes (tallo, raíz y hojas), relaciones alométricas: proporción tallo-raíz, diámetro de la base del tallo, cociente de área foliar (LAR), peso foliar específico (SLA) y carbohidratos no constitutivos.

En Octubre de 2002 se realizó la cosecha final de 10 individuos por especie y tratamiento. Las plántulas se separaron en raíz, tallo y hojas, se limpió cuidadosamente cada parte, especialmente la raíz y se determinó el peso seco de las distintas partes de la planta tras 48 horas en una estufa a 60ºC. Además se tomaron las mismas medidas morfológicas que en las plántulas cosechadas en mayo.

Las plántulas supervivientes de las especies *Quercus ilex* y *Q. coccifera* obtenidas en el vivero y no destruidas fueron trasplantadas a campo. La plantación se realizó en el mes de diciembre de 2002 en una parcela de muestreo sita en los terrenos que en ese momento está repoblando la empresa TRAGSA en el municipio de Enguera (38º 58’ N, 0º 40’ W, Valencia). El diseño de la plantación se llevó a cabo colocando las plantas en línea, siguiendo las curvas de nivel, aprovechando los surcos de un subsolado existente con el que se había preparado el terreno anteriormente para su repoblación. Se mantuvieron los mismos 4 bloques que en el vivero. Cada unidad experimental en cada bloque y tratamiento se colocó en una o dos filas, dispuestas en marco real de 1 metro.

A estas plantas se les hizo un seguimiento a lo largo de dos períodos vegetativos completos durante los que se registró la supervivencia de cada uno de los individuos del ensayo 2002 transplantados a campo, en la primavera de 2003 para determinar el shock debido al transplante, y en invierno de 2004, para determinar la mortandad debida al estrés estival.

La supervivencia se analizó mediante regresión logística ajustando un modelo en el que la supervivencia fue la variable binomial dependiente, las variables morfológicas y fisiológicas fueron las

variables continuas independientes y la especie, el tratamiento hídrico y el tratamiento de fertilización los factores discretos de clasificación.

El elevado número de muestras confirió gran robustez estadística al análisis siendo todos los modelos examinados altamente significativos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La fertilización y el riego tuvieron un efecto significativo sobre las características morfológicas de las plantas, siendo más altas, con mayor copa y diámetro de la base del tallo aquellas sometidas a riego y fertilización medios o elevados, mostrando a su vez diferente supervivencia en campo. En la Figura 1 sólo se muestran datos para una variable morfológica (altura) y una variable fisiológica (clorofilas). Las plantas que recibieron riegos medios y altos presentaron valores significativamente más altos de estas variables que el tratamiento de riego bajo.

Las plantas que sobrevivieron inicialmente al transplante (supervivencia al shock del transplante) no presentaron diferencias estadísticamente significativas en su fisiología. Sin embargo, estas plantas supervivientes al transplante si presentaron diferencias significativas en su morfología. Las plantas más altas, con mayor copa y diámetro de la base del tallo, sobrevivieron más al transplante pero no al verano. A corto plazo la morfología es beneficiosa, plantas grandes tiene menos shock transplante y menor mortalidad (Figura 2 y Tabla 1). Además, las plantas supervivientes al transplante más altas y con mayor copa son aquellas sometidas a tratamientos de riego alto y medio y nutrición alta.

A largo plazo las características morfológicas no influyeron, mientras que las fisiológicas si, produciéndose mayor mortandad a mayor contenido en clorofilas y mayor eficiencia fotosintética (Figura 2 y Tabla 1). El contenido en clorofilas no estuvo correlacionado con la calidad morfológica de las plantas. No obstante, la mortandad inicial (efecto transplante) es muy baja en relación a la final, tras el verano de 2004 (supervivencia al estrés estival). En este caso, las supervivientes más altas y con mayor copa fueron aquellas sometidas a tratamiento de riego medio.

Esto indica un efecto a corto plazo (supervivencia al shock del transplante) de los rasgos morfológicos (mayor supervivencia a mayor altura, número de hojas y diámetro de la base del tallo) y un efecto a largo plazo (supervivencia al estrés estival) de los rasgos fisiológicos (menor supervivencia en campo asociada con mayor contenido en clorofilas y mayor eficiencia fotosintética).

El riego en vivero afectó significativamente a la supervivencia a corto plazo (supervivencia al shock del transplante) pero no tuvo efecto a largo plazo (supervivencia al estrés estival).

Después del primer verano en campo, el riego presentó un efecto significativo sobre la mortalidad, crecimiento en altura y diámetro de copa de los brinzales de ambas especies. Las plantas sometidas a estrés hídrico presentaron una mortalidad significativamente mayor y un crecimiento menor que las sometidas al tratamiento de Riego Alto y Medio.

Mientras el riego alto tuvo un efecto beneficioso sobre la supervivencia en campo de ambas especies, la fertilización elevada tuvo un efecto negativo sobre la supervivencia de la encina.

En todos los casos se observan diferencias estadísticamente significativas entre especies, siendo siempre más grandes las plantas de encina, motivo por el que tienen mayores tasas de supervivencia. Este efecto especie no se observó en las plantas que sobrevivieron al estrés estival, presentando ambas especies el mismo diámetro de copa. Este dato nos muestra que las coscojas que sobrevivieron al verano crecen a lo ancho, no superando en altura a las encinas.

CONCLUSIONES

Para las dos especies estudiadas en este trabajo, la encina (*Q. ilex* L.) y la coscoja (*Q. coccifera* L.) podemos concluir que las plantas de mayor tamaño soportaron mejor el shock de transplante que las de tamaño inferior. Por el contrario, las plantas de mayor eficiencia fotosintética y contenido de clorofilas toleraron peor el estrés estival. Este efecto negativo de la concentración de clorofilas podría ser debido a una mayor sensibilidad de las plantas a la fotoinhibición. Aunque las plantas acomodan su contenido de clorofilas con el tiempo, las plantas estudiadas mostraron una relación positiva entre el contenido de clorofilas en vivero y en campo. Por tanto, nuestro trabajo sugiere que una elevada concentración de clorofilas en vivero hace a las plantas mas sensibles a las elevadas radicaciones en campo que tienen lugar en condiciones de temperatura y humedad limitantes.

Agradecimientos

Este trabajo forma parte del proyecto “ECOFIARB” (Ref.: REN2000-0163-P4-05) que ha sido

financiado por el Ministerio de Educación y Ciencia.

BIBLIOGRAFÍA

ABRIL, M. y M.V. DIEGO, *Resultados preliminares de un experimento de riego y fertilización con plántulas de encina: efectos sobre el crecimiento y estructura de la planta, relaciones hídricas y fotosíntesis.* STVDIA (Ecologica), 1994. X-XI: p. 329 a 338.

CORNELISSEN, J.H.C., CASTRO, P. y HUNT, R., *Seedling growth, allocation and leaf attributes in a wide range of woody plant species and types.* Journal of Ecology, 1996. 84: p. 755-765.

LANDIS, T.D, (1989), *Mineral nutrients and fertilization*. In: Landis, T.D.; Tinus, R.W.; MacDonald, S.E.; Barnett, J.P. (Eds.): *The container Tree Nursery Manual*, Vol. 4. Agriculture Handbook 674. Forest Service. U.S. Dept. of Agric. pp 1-70.

OLIET, J. (1995), Influencia de la fertilización en vivero sobre la calidad de la planta y la supervivencia en campo de varias especies forestales. Tesis doctoral (inéd.). Escuela Técnica Superior Ingenieros Agrónomos y de Montes. Universidad de Córdoba. Córdoba.

MCGILVRAY, J.M., BARNETT, J.P., 1982. Relating seedling morphology to field performance of containerized southern pines. In: Guldin, R.W., Barnett, J.P., (Éds), Proceedings, Southern Containerized Forest Tree Seedling Conference. U.S.D.A. Forest Serv. SO. For. Exp. Stn. Gen. Tech. Rep. SO-GTR-37, pp 39-46.

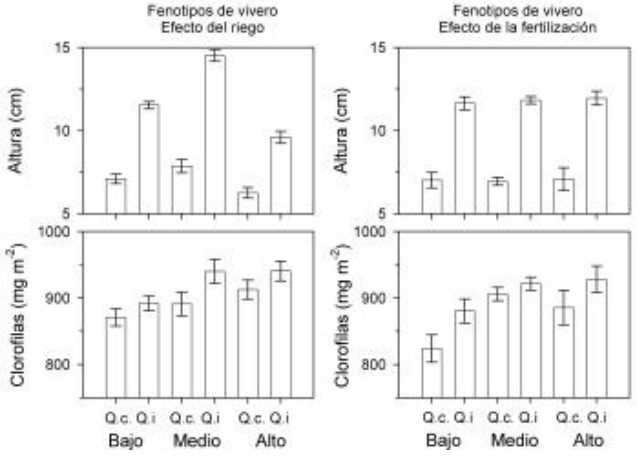

Figura 1. Valores de altura media y contenido en clorofilas de las plantas de *Quercus ilex* y *Q. coccifera* sometidas a distintas condiciones experimentales.

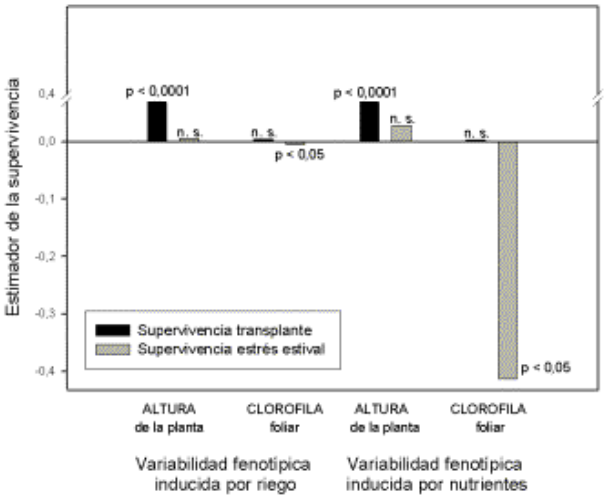

Figura 2. Efecto del riego y los nutrientes aplicados en vivero sobre la supervivencia en campo de las plantas de *Quercus ilex* y *Q. coccifera*. Por claridad se representa -1 x Estimador (el efecto en supervivencia es de signo contrario).

Tabla 1: Valores del Test de Wald y de la probabilidad que explican la variabilidad fenotípica inducida por los distintos tratamientos de riego y fertilización aplicados en vivero sobre la supervivencia al transplante y al estrés estival de las plántulas de *Q. ilex* y *Q. coccifera*.

		SUPERVIVENCIA TRANSPLANTE		SUPERVIVENCIA ESTRÉS ESTIVAL	
		Wald Stat.	p	Wald Stat.	p
VARIABILIDAD FENOTÍPICA INDUCIDA	Altura	32,581	0,000	0,031	0,859
	Tratamiento	1,216	0,544	7,531	0,023
	Especie	3,984	0,045	33,465	0,000
	Tratamiento x Especie	1,408	0,494	4,174	0,124

POR EL RIEGO	Clorofilas	0,135	0,713	5,026	0,024
	Tratamiento	1,090	0,579	9,156	0,010
	Especie	8,126	0,004	24,897	< 0,001
	Tratamiento x Especie	3,814	0,148	4,816	0,089
VARIABILIDAD FENOTÍPICA INDUCIDA POR LOS NUTRIENTES	Altura	33,494	0,000	1,255	0,262
	Tratamiento	4,607	0,099	5,520	0,063
	Especie	< 0,001	0,994	8,749	0,003
	Tratamiento x Especie	0,887	0,641	4,267	0,118
	Clorofilas	0,006	0,933	3,968	0,046
	Tratamiento	2,693	0,260	8,309	0,015
	Especie	< 0,001	0,995	5,923	0,014
	Tratamiento x Especie	0,309	0,856	3,232	0,198