

PARÁMETROS FISIOLÓGICOS DE CALIDAD EN PLÁNTULAS DE *Pinus radiata* D. DON

Mena-Petite, A., *Lacuesta, M., Muñoz-Rueda, A.

Departamento de Biología Vegetal y Ecología, Facultad de Ciencia y Tecnología,
Universidad del País Vasco/EHU, Apdo 644, 48080 Bilbao; *Facultad de Farmacia,
Universidad del País Vasco/EHU, Apdo 450, 01080 Vitoria-Gasteiz

Correspondencia: Muñoz-Rueda, A. gvpmurua@lg.ehu.es

Resumen

Se han estudiado los efectos del almacenamiento en la calidad y potencial inicial de supervivencia de las plantas de pino radiata (*Pinus radiata* D. Don), así como la utilidad de diversos parámetros para detectar posibles daños fisiológicos ocurridos durante el almacenamiento y su incidencia en dichos índices de calidad. El potencial hídrico de la planta en el momento de su replante es un parámetro fiable para predecir la capacidad de generar nuevas raíces. Igualmente se ha observado una estrecha relación entre la supervivencia de la plántula y parámetros como la conductividad electrolítica, el potencial hídrico tras el almacenamiento y la capacidad de iniciación y crecimiento de nuevas raíces. Asimismo, se han estudiado numerosos parámetros de intercambio gaseoso y de fluorescencia. Existe una estrecha conexión entre la tasa de fotosíntesis conservada y el índice de crecimiento y capacidad de alargamiento de las raíces. Por ello, parámetros como la tasa de asimilación fotosintética, índice de crecimiento de las raíces o F_v/F_o son, asimismo, buenos indicadores de la calidad de las plántulas de vivero de *Pinus radiata* almacenadas, así como adecuados indicadores de la capacidad de arraigo y supervivencia tras la replantación, al menos en condiciones óptimas.

Palabras clave. Almacenamiento, cepellón, cubierta radical, raíz desnuda, supervivencia, temperatura de almacenamiento.

Abstract

We have investigated the effects of storage conditions on plant quality and initial survival of radiate pine (*Pinus radiata* D. Don) seedlings, and the usefulness of several parameters for detecting physiological damage in seedlings. The water potential at the time of transplanting is a reliable predictor of the ability to generate new roots. We have also observed a close relationship between survival and parameters such as electrolyte conductivity, post-storage water potential and new root length and root growth potential. We have also examined several gas exchange and chlorophyll *a* fluorescence parameters. Photosynthetic rate was positively correlated with the root growth index and new root length. Thus, the CO_2 assimilation rate, the index of root growth and the photochemical efficiency of PSII (F_v/F_o) are also good physiological attributes to evaluate the quality of stored radiate pine seedlings, and to forecast the root growth and the survival of seedlings after transplanting, at least under optimum conditions. **Keywords.** Bare-roots, root cover, soil-plugged roots, storage, storage temperature, survival.

INTRODUCCIÓN

El almacenamiento permite arrancar las plantas cuando las condiciones del vivero son favorables y disponer de ellas cuando las condiciones climatológicas son óptimas para su implantación. Sin embargo, el almacenamiento afecta a la calidad de la plántula y su posterior asentamiento en el campo (MCKAY 1997). Las plantas de coníferas son particularmente sensibles al almacenamiento en frío y a la oscuridad, no obstante dicha técnica es ampliamente usada. El almacenamiento afecta a las características fisiológicas como el potencial de crecimiento de las raíces, la resistencia al estrés hídrico y el endurecimiento frente al frío. Por ello es preciso establecer criterios de calidad como medio de testar la capacidad de supervivencia y crecimiento de las plántulas tras su arranque en el vivero y tras su almacenamiento. Dichos criterios se basan en la determinación de numerosos atributos fisiológicos a fin de evaluar el impacto que factores como el momento de arranque y el periodo y condiciones de almacenamiento puedan tener en la calidad de las plántulas (MCKAY 1997). Entre los parámetros que se han tomado como indicadores de los procesos fisiológicos que pueden afectar a la integridad funcional, a la viabilidad de las plántulas y a su capacidad de supervivencia inicial tras el trasplante, se encuentran la conductividad electrolítica, el potencial de crecimiento de la raíz, las relaciones hídricas, parámetros de fluorescencia y de intercambio gaseoso. Por ello, hemos llevado a cabo un estudio del efecto que factores como la duración del almacenamiento en condiciones de raíz desnuda o cepellón, a varias temperaturas, tienen sobre los procesos fisiológicos mencionados. Hemos analizado hasta qué punto dichos parámetros son útiles

para evaluar la calidad de la plántula y su capacidad de establecimiento y supervivencia tras el reimplante en el campo (MENA-PETITE et al. 2001, 2003).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La temperatura de almacenamiento, su duración y el tipo de cubierta de las raíces influyeron en las relaciones hídricas de las plántulas, así como en la integridad de las membranas de acículas y raíces ensayada por la pérdida de electrolitos (Fig. 1). La desecación de las plántulas es uno de los daños más comunes durante el almacenamiento. Nuestros datos mostraron que a medida que el periodo de almacenamiento se incrementa, el potencial hídrico cambiaba desde $-0,50$ MPa en el momento del arranque, hasta $-2,48$ MPa tras 15 días de almacenamiento a 10° C y con raíz desnuda (Figs. 1A, B). Otros autores también han observado que el potencial hídrico declina con el aumento del periodo de exposición de las raíces de pino radiata (BALNEAVES & MENZIES 1990). El CHR también disminuyó, reduciéndose en un 33% en plantas con raíz desnuda almacenadas a 10° C (Fig. 1F). Además, el efecto del almacenamiento dependía del tipo de stock, de manera que las plantas desnudas estaban más afectadas por las condiciones de almacenamiento que las que mantenían el cepellón. La exposición de las raíces reduce el potencial hídrico, mientras que el cepellón facilita la toma de agua y nutrientes y aporta protección frente a la desecación, frente a los daños físicos y frente a las temperaturas extremas (MCKAY 1997). El pino radiata es muy sensible a la desecación, y la disminución del estado hídrico interno puede ocasionar daños severos en las raíces y en las acículas como se manifiesta por la pérdida electrolítica (Figs. 1C, D, G, H), siendo ésta una medida del deterioro del sistema radicular y foliar durante el almacenamiento (MCKAY 1997) y de su posible impacto sobre la supervivencia en el campo. El efecto del almacenamiento en ambos órganos, raíz y acículas, fue diferente: mayor en acículas (Figs. 1C, D) que en raíces (Figs. 1G, H), dependiendo, además, de la temperatura de almacenamiento y de las condiciones de la raíz. El potencial de crecimiento de las raíces se ha utilizado frecuentemente como un atributo idóneo para evaluar la calidad y el potencial de supervivencia en el campo de las plántulas de coníferas tras haber estado almacenadas. La potencialidad para la formación de nuevas raíces es importante para una rápida reanudación de la toma de agua y nutrientes después del trasplante, así como para su supervivencia. Nuestros datos muestran que las condiciones de almacenamiento influyen sobre la capacidad de iniciar (Figs. 2A, B) y alargar (Figs. 2C, D) las nuevas raíces, estando en estrecha relación con el potencial hídrico medido en el momento del implante (MENA-PETITE et al. 2001). Este hecho confirma la elevada sensibilidad del pino radiata al déficit hídrico (MENA-PETITE et al. 1999, 2000). Consecuentemente, el potencial hídrico en el momento del trasplante es un indicador fiable de la capacidad de generar nuevas raíces, y el valor de $\Psi_w < -1,50$ MPa puede considerarse como el umbral por debajo del cual el crecimiento de nuevas raíces en plántulas de pino radiata está comprometido y puede servir para evaluar la calidad de las plántulas. Nuestros resultados también muestran una notable inhibición de la fotosíntesis dependiente de la temperatura de almacenamiento; es decir, cuando la temperatura es mayor, la inhibición es más marcada. Además, a medida que el almacenamiento a la oscuridad se prolongaba se producía un mayor descenso en la fotosíntesis tras el almacenamiento (Figs. 3A, B). La caída en la asimilación de las plántulas almacenadas puede explicarse por la prolongada exposición a la oscuridad la cual induce la reducción de la capacidad de toma de CO_2 , retrasando la reorganización de la maquinaria fotosintética, incluso aunque las plántulas fueron expuestas a condiciones óptimas tras el trasplante. La caída del potencial hídrico (Figs. 1A, B) puede afectar a la asimilación del carbono, tanto directamente, por alterar la integridad de las membranas (Figs. 1C, D, G, H), o indirectamente a través del cierre estomático (Figs. 3C, D). Estos resultados podrían explicar porqué las plantas con raíz desnuda están más afectadas que las que mantienen el cepellón. Algunos autores (ARNETH et al. 1998), mantienen que los efectos producidos por la desecación sobre la función de los estomas de pino radiata son la principal causa de la caída en la tasa de fotosíntesis. Sin embargo, nuestros resultados muestran un ligero incremento del nivel intercelular de CO_2 (Figs. 3E, F), y una dramática reducción en la eficiencia en el uso del agua (Figs. 3G, H); tales resultados demuestran que factores no estomáticos están contribuyendo a la inhibición de la fotosíntesis. La disminución a nivel del cloroplasto de CO_2 causada por el cierre estomático (Figs. 3C, D) podría inducir fotodestrucción del PS II, como consecuencia de la sobresaturación de energía luminosa que alcanza los centros de reacción. Como resultado de tal daño se producen cambios en la fluorescencia de la clorofila (Fig. 4) en respuesta a la iluminación tras el almacenamiento a la oscuridad. El cociente F_v/F_m está fuertemente correlacionado con el

rendimiento cuántico de la fotosíntesis de hojas intactas, y, cuando éste disminuye como consecuencia de la exposición a situaciones de fotoinhibición, dicho cociente se reduce. Por tanto, el declive del cociente F_v/F_m es un buen indicador del daño fotoinhibitorio causado por la luz cuando las plantas están sometidas a un amplio rango de estreses ambientales, como la sequía (MENA-PETITE et al. 1999), la contaminación atmosférica (MENA-PETITE et al. 2000), o como puede ser la desecación durante el almacenamiento (Fig. 4). El aumento de la pérdida electrolítica de las membranas durante el almacenamiento, indicativa de la destrucción de las membranas (Figs. 1C, D, G, H), podría ser la responsable del descenso de la eficiencia fotoquímica (F_v/F_m). La no recuperación de los parámetros de fluorescencia tras el trasplante puede ser considerada como un indicador de reducción del vigor de la plántula y podría poner en riesgo su supervivencia. Además, el crecimiento inicial de las raíces depende de la reserva de energía almacenada por las plántulas en las etapas de crecimiento anteriores y/o de la fotosíntesis inmediata (PHILLIPSON 1988). Sin embargo, las reservas de energía, especialmente azúcares y almidón, se reducen durante el almacenamiento, habiéndose evidenciado particularmente en pino radiata (MCCRACKEN 1979), debido al consumo por la respiración, aumentándose dicho agotamiento con la temperatura. Consecuentemente, parece que, al menos en pino radiata, la habilidad para iniciar y alargar las nuevas raíces depende mayoritariamente de su capacidad para reasumir tasas de fotosíntesis adecuadas (Fig. 5). La supervivencia de las plántulas de pino radiata tras dos meses del trasplante en condiciones óptimas puede observarse en la Figura 6. La duración del almacenamiento, la temperatura y la cubierta de la raíz ejercen efectos notables sobre dicha supervivencia. Así, las plantas que habían estado almacenadas con cepellón presentaron una supervivencia del 80%, independientemente de la temperatura de almacenamiento; por el contrario, el 80% de las plantas con raíz desnuda murieron. Parámetros fisiológicos como la pérdida electrolítica, el potencial hídrico y el crecimiento de las raíces medidos tras el almacenamiento han sido utilizados como indicadores adecuados de la integridad funcional y potencial de supervivencia inicial de las plántulas de vivero. Otros parámetros como la fotosíntesis neta han sido señalados por diversos autores (MOHAMMED et al. 1997) como pobremente correlacionados con la capacidad de desarrollo tras el implante. Nosotros hemos observado una estrecha relación entre la supervivencia y parámetros como la duración del almacenamiento (Fig. 6), el potencial hídrico tras el almacenamiento, la conductividad electrolítica de las raíces (Fig. 7A) y la longitud de nuevas raíces (Fig. 7B). Asimismo, hemos constatado que la tasa de asimilación neta (Fig. 7C) y la eficiencia fotoquímica del PSII (F_v/F_o , Fig. 7D) son útiles para detectar el deterioro de esta especie durante el almacenamiento, así como que existe una estrecha correlación con dichos parámetros y el índice de supervivencia (Fig. 7). De entre todos los atributos analizados, la tasa de pérdida electrolítica de las raíces es la que se correlaciona más estrechamente ($r = 0,921$) con la supervivencia tras el implante (Fig. 7A). Los presentes resultados muestran claramente que la temperatura y duración del almacenamiento, así como el tipo de stock, tienen un efecto marcado en la calidad de la plántula de pino radiata antes de su implante definitivo. Estos resultados muestran, asimismo, que el almacenamiento a 10° C y a una humedad del 80% durante más de una semana no es recomendable, sobretudo si las plántula se almacenan con la raíz desnuda. También se deduce que tanto la pérdida electrolítica de las raíces como el potencial hídrico en el momento del trasplante son los parámetros fisiológicos más útiles para detectar el estado de deterioro de esta especie durante el almacenamiento.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos GV 118.310-IDT 4/93, UPV 118.310-EB 031/96, UPV 118.310.G 07/98, UPV 118.310-13.533/2001.

BIBLIOGRAFÍA

ARNETH, A.; KELLIHER, F.M.; MCSEVENTY, T.M. & BYERS, J.N.; 1998. Net ecosystem productivity, net primary productivity and ecosystem carbon sequestration in a *Pinus radiata* plantation subjected to soil water deficit. *Tree Physiol.* 18: 785-793.

BALNEAVES, J.M. & MENZIES, M.; 1990. Water potential and subsequent growth of *Pinus*

radiata seedlings: influence of lifting, packaging, and storage conditions. *N.Z.J. For Sci.* 20: 257-267.
MCCRACKEN, I.J.; 1979. Packaging and cool storage of tree seedlings. *N.Z.J. For. Sci.* 24: 278-287.

MCKAY, H.M.; 1997. A review of the effect of stresses between lifting and planting on nursery stock quality and performance. *New For.* 13: 369-399.

MENA-PETITE, A.; DUÑABEITIA, M.K.; GONZÁLEZ-MORO, B.; MUÑOZ-RUEDA, A. & LACUESTA, M.; 1999. Sequential effects of acidic precipitation and drought on water relations of *Pinus radiata* seedlings. *J. Plant Physiol.* 155: 93-100.

MENA-PETITE, A.; GONZÁLEZ-MORO, B.; GONZÁLEZ-MURUA, C.; LACUESTA, M. & MUÑOZ-RUEDA, A.; 2000. Sequential effects of acidic precipitation and drought on photosynthesis and chlorophyll fluorescence parameters of *Pinus radiata* D. Don seedlings. *J. Plant Physiol.* 156: 84-92.

MENA-PETITE, A.; ORTEGA-LASUEN, U.; GONZÁLEZ-MORO, B.; LACUESTA, M. & MUÑOZ-RUEDA, A.; 2001. Storage duration and temperature effect on the functional integrity of container and bare-root *Pinus radiata* D. Don stock-types. *Trees.* 15: 289-296.

MENA-PETITE, A.; ROBREDO, A.; ALCALDE, S.; DUÑABEITIA, M.K.; GONZÁLEZ-MORO, B.; LACUESTA, M. & MUÑOZ-RUEDA, A.; 2003. Gas exchange and chlorophyll fluorescence responses of *Pinus radiata* D. Don seedlings during and after several storage regimes and its effect on post-planting survival. *Trees.* 17: 133-143.

MOHAMMED, G.H.; NOLAND, T.L.; PARKER, W.C. & WAGNER, R.G.; 1997. Preplanting physiological stress assessment to forecast field growth performance of jack pine and black spruce. *For. Ecol. Manage.* 92: 107-117. PHILLIPSON, J.J.; 1988. Root growth in Sitka spruce and Douglas-fir transplants: dependence on the shoot and stored carbohydrates. *Tree Physiol.* 3: 101-108.

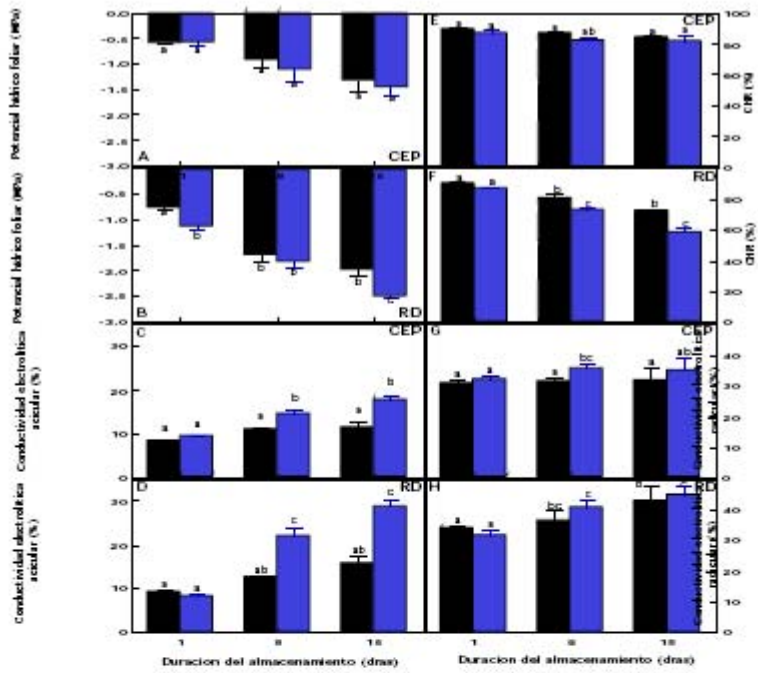


Fig. 1. Efecto de la temperatura (4°C: ■; 10°C: ■) y la duración del almacenamiento (1, 8 ó 15 días) de plántulas de pino radiata con cepellón (CEP) y con raíz desnuda (RD), en el potencial hídrico foliar (A, B), contenido hídrico relativo (E, F), conductividad electrolítica acotular (C, D) y conductividad electrolítica radicular (G, H). Cada barra representa la media (\pm SE) de tres experimentos independientes, cada uno repetido al menos dos veces. Dentro de cada día, letras distintas significan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

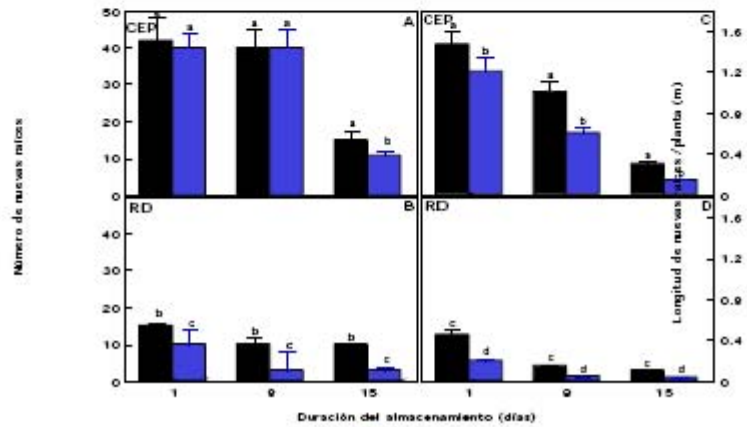


Fig. 2. Efecto de la temperatura (4°C: ■; 10°C: ■) y la duración del almacenamiento (1, 8 ó 15 días) de plántulas de pino radiata con cepellón (CEP) y con raíz desnuda (RD), en el número (A, B) y la longitud (C, D) de nuevas raíces. Tratamiento estadístico como en Fig. 1.

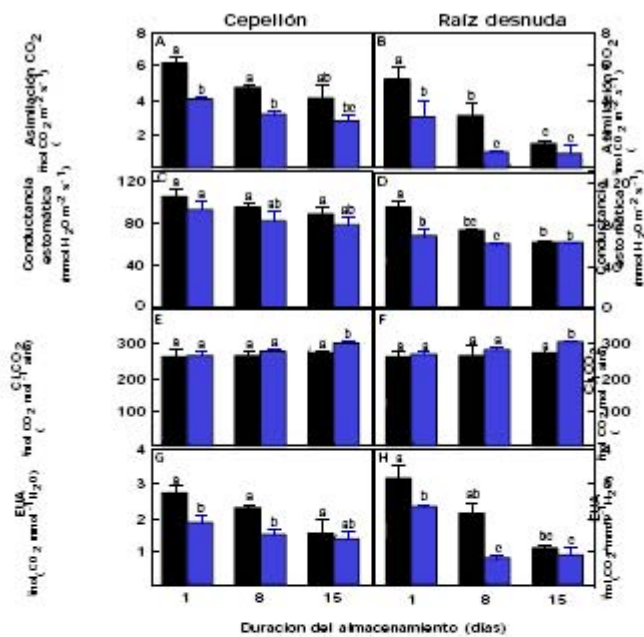


Fig. 3. Efecto de la temperatura (4°C: ■ ó 10°C: ■) y la duración del almacenamiento (1, 8 ó 15 días) de plántulas de pino radiata con cepellón (CEP) y con raíz desnuda (RD), en la asimilación de CO₂ (A, B), conductancia estomática (C, D), concentración interna de CO₂ (E, F) y eficiencia en el uso del agua (G, H). Tratamiento estadístico como en Fig. 1.

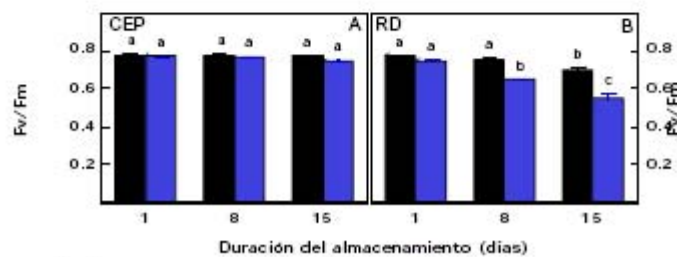


Fig. 4. Efecto de la temperatura (4°C: ■ ó 10°C: ■) y la duración del almacenamiento (1, 8 ó 15 días) de plántulas de pino radiata con cepellón (CEP, A) y con raíz desnuda (RD, B), en Fv/Fm. Tratamiento estadístico como en Fig. 1.

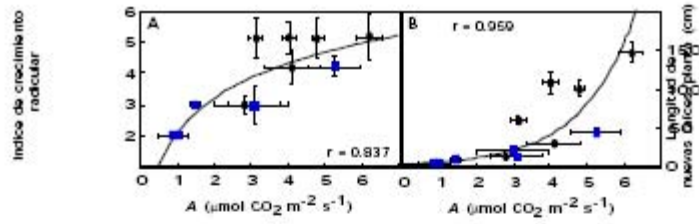


Fig. 5. Correlación entre el índice de crecimiento radicular (A) y la longitud de nuevas raíces (B), y la asimilación fotosintética de CO₂ de plántulas de pino radiata almacenadas entre 1 y 15 días, a 4°C y 10°C, con cepellón o a raíz desnuda.

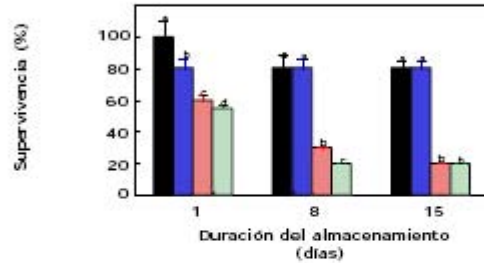


Fig. 6. Efecto del almacenamiento en la supervivencia de plántulas de pino radiata almacenadas con cepellón a 4°C (■) ó a 10°C (■), o con la raíz desnuda a 4°C (■) ó a 10°C (■). Tratamiento estadístico como en Fig.1.

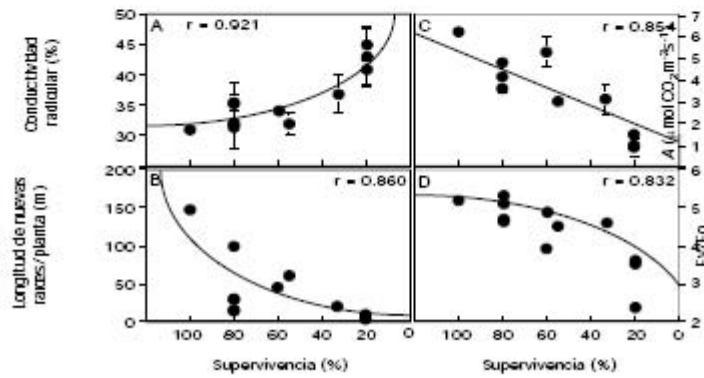


Fig. 7. Correlación entre la conductividad electrolítica radicular (A), la longitud de nuevas raíces (B), la asimilación fotosintética de CO₂ (C) y Fv/Fo (D), y la supervivencia de plántulas de pino radiata almacenadas entre 1 y 15 días, a 4°C y 10°C, con cepellón o a raíz desnuda.