



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

ÁREA ACADÉMICA DE INGENIERÍA FORESTAL

**"RESPUESTAS FISIOLÓGICAS Y BIOQUÍMICAS DE DOS ESPECIES DE
PINOS EN CONDICIONES LIMITANTES DE HUMEDAD"**

T E S I S

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL TITULO DE:**

INGENIERO EN MANEJO DE RECURSOS FORESTALES

PRESENTA

MARCELO ORTIZ ORTEGA

SEPTIEMBRE 2006

TULANCINGO DE BRAVO, HIDALGO.

CONTENIDO

CONTENIDO	i
ÍNDICE DE CUADROS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	iv
RESUMEN.....	v
1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS.....	4
2.1. OBJETIVO GENERAL	4
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
3. REVISIÓN DE LITERATURA	5
3.1. IMPORTANCIA DEL AGUA EN LAS PLANTAS.....	5
3.2. EFECTOS DEL ESTRÉS HÍDRICO EN LAS PLANTAS	8
3.2.1. EFECTOS MORFOLOGICOS.....	8
3.2.2. EFECTOS FISIOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS	9
3.2.2.1. PAPEL DE LA PROLINA EN LA OSMOREGULACIÓN.....	11
3.3. RESPUESTAS DE LAS ESPECIES FORESTALES AL ESTRÉS HÍDRICO.....	13
3.4. USOS BENEFICOS DEL ESTRÉS HIDRICO.	20
4. MATERIALES Y MÉTODOS	22
4.1 MATERIAL BIOLÓGICO.....	22
4.2 ESTABLECIMIENTO DE CONDICIONES LIMITANTES DE HUMEDAD	23
4.3 VARIABLES EVALUADAS.....	25
4.3.1 INTERCAMBIO DE GASES (CONDUCTANCIA ESTOMÁTICA, FOTOSÍNTESIS Y TRANSPIRACIÓN).	25
4.4 RELACIONES HÍDRICAS	26
4.4.1 POTENCIAL HÍDRICO (Ψ_w) DE LAS HOJAS.....	26
4.4.2 POTENCIAL OSMÓTICO (Ψ_π) DE ACÍCULAS	26
4.4.3 POTENCIAL DE TURGENCIA (Ψ_p):	26

4.4.4 POTENCIAL HÍDRICO EN EL SUELO	27
4.5 CONTENIDO DE PROLINA EN HOJAS	27
4.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.	28
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29
5.1 INTERCAMBIO DE GASES (CONDUCTANCIA, FOTOSÍNTESIS Y TRANSPIRACIÓN).	29
5.1.1 CONDUCTANCIA ESTOMÁTICA.....	29
5.1.2 DETERMINACIÓN DE LA TASA DE ASIMILACIÓN DE CO ₂	33
5.2 RELACIONES HÍDRICAS	37
5.2.1 POTENCIAL HÍDRICO (Ψ_w) DE LAS ACÍCULAS.....	37
5.2.2 POTENCIAL HÍDRICO EN EL SUELO.	40
5.3 DETERMINACIÓN DE PROLINA	42
6. CONCLUSIONES	45
7. RECOMENDACIONES	46
8. BIBLIOGRAFIA	47

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Potencial Hídrico de las acículas de <i>Pinus greggii</i> y <i>Pinus patula</i> en condición de sequía simulada (MPa)	40
Cuadro 2. Potencial Hídrico del suelo de plantas de <i>Pinus greggii</i> y <i>Pinus patula</i> bajo sequia simulada (MPa)	41
Cuadro 3. Niveles de prolina en acículas de <i>Pinus greggii</i> y <i>Pinus patula</i> en dos condiciones de Humedad ($\mu\text{moles g}^{-1}$ p.s.)	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Arreglo experimental de los tratamientos aplicados en la investigación.	24
Figura 2. Curva de Retención de Humedad, para mezcla del sustrato (Tierra de monte, vermiculita, agrolita y peat moss; en proporción 3.55:1:1:1.5).	25
Figura 3. Conductancia estomática de <i>Pinus greggii</i> y <i>Pinus patula</i> , durante el periodo de simulación de sequía. Cada valor representa el promedio de siete mediciones \pm error estándar de la media. Letras iguales para cada valor por día de análisis indican igualdad estadística ($P \leq 5\%$).	32
Figura 4. Tasa de asimilación de CO_2 de <i>Pinus greggii</i> y <i>Pinus patula</i> , durante el periodo de medición. Cada valor representa el promedio de siete mediciones \pm error estándar de la media. letras iguales para cada valor por día de analisis indican igualdad estadística ($P \leq 5\%$).	36

RESUMEN

Con la finalidad de describir las respuestas fisiológicas y bioquímicas de dos especies de pinos, que varían en sus requerimientos de agua, se desarrolló el presente trabajo de investigación en el cual se identificó y contrastó las respuestas de *Pinus greggii* (resistente a sequía) y *Pinus patula* (poco tolerante a la sequía) en condiciones de sequía simulada en invernadero. Para tal fin se propagaron en invernadero plántulas de las dos especies en estudio y al cumplir 9 meses de edad, se simularon condiciones de sequía mediante el método de suspensión de riego. Las variables de estudio fueron variables fisiológicas: transpiración, intercambio gaseoso, conductancia estomática y fotosíntesis neta; variables de relaciones hídricas: potencial hídrico, potencial osmótico y potencial de presión en hojas y potencial hídrico en suelo, y la variable bioquímica prolina. Los resultados mostraron una diferencia significativa respecto a la capacidad de recuperación de las especies estudiadas a la sequía. *Pinus greggii* mostró una mayor habilidad para recuperar la tasa fotosintética y conductancia estomática, mientras que *Pinus patula* no manifestó esa habilidad. El tratamiento de sequía tuvo efectos significativos en todas las variables. La conductancia estomática y tasa de transpiración de CO₂ en *Pinus patula* fueron mas bajas, iniciando la reducción de las mismas antes que en *Pinus greggii*. La concentración de prolina fue mayor en el tratamiento de suspensión de riego en ambas especies, siendo aún mayor en *Pinus patula*.

PALABRAS CLAVE

Pinus greggii, *Pinus patula*, sequía, intercambio gaseoso, relaciones hídricas, prolina.

1. INTRODUCCIÓN

La sequía es una de las limitantes ambientales que afecta en mayor grado tanto a la distribución de las especies vegetales como al desarrollo de las mismas, incidiendo en la estructura y funcionalidad de los ecosistemas por la asociación cerrada entre el carbono y el ciclo hidrológico.

En condiciones naturales, generalmente el déficit hídrico se encuentra asociado al estrés térmico (altas temperaturas). Es muy difícil separar ambos efectos en las plantas, el déficit hídrico produce el cierre de los estomas, lo que a su vez provoca una disminución en la tasa de transpiración y por lo tanto la disipación de calor también se ve afectada, con el consiguiente incremento de la temperatura foliar.

El crecimiento y desarrollo de las plantas está estrechamente relacionado al medio. La radiación solar es un factor que participa directamente en la fotosíntesis, al igual que el agua, minerales, CO₂, y temperatura. A su vez, todos estos factores afectan el crecimiento, el transporte de nutrientes, la respiración, la transpiración y los procesos que están involucrados en la producción vegetal.

El estrés hídrico es una condición desarrollada cuando, por pérdidas excesivas de agua o inadecuada absorción, se produce un balance hídrico negativo suficiente para reducir la turgencia, disminuir la elongación celular y alterar negativamente los procesos fisiológicos esenciales de las plantas. Además varían en función de la especie y su grado de tolerancia, pero también en función de la magnitud de la falta de agua y de la rapidez con que se experimente la carencia de la misma.

El estrés hídrico inhibe el crecimiento de la parte aérea de la planta, alterando la concentración de solutos orgánicos, el contenido hídrico y la actividad metabólica celular. Esta inhibición tiene lugar al mismo tiempo que se produce una estimulación en el crecimiento de la raíz, favoreciendo la absorción de agua de manera que la parte aérea puede mantener unas tasas adecuadas de fotosíntesis.

Los factores principales que pueden ocasionar una condición de estrés hídrico son: temperaturas extremas, altas demandas de vapor de la atmósfera, déficit hídrico y baja conductividad hidráulica del suelo, alta concentración de sales, exceso de agua en el suelo, alta resistencia al flujo de agua en las raíces y daños por frío (congelamiento).

La apertura estomática se ve afectada además por otros factores. Uno de ellos es el contenido hídrico del suelo y de la planta. Si las pérdidas de agua por transpiración no pueden ser compensadas por la absorción, las células oclusivas pierden la turgencia y el estoma se cierra. Cuando la cantidad de agua de la que puede disponer la planta llega a un nivel crítico (que varía según las especies), los estomas se cierran, limitando, la evaporación del agua restante. Esto se produce antes de que la hoja pierda su turgencia y se marchite.

Los efectos del estrés hídrico se producen a nivel celular, individual y a nivel de rodales. Además que tiene efectos también en el crecimiento del árbol, afectándolo en la altura, diámetro y elongación de raíces. Aunque igualmente repercute positivamente en el mismo; reduciendo los daños causados por contaminantes gaseosos (cierre de estomas), aumento en la concentración de algunos compuestos (aceites esenciales), mejoramiento de ciertos aspectos de la calidad de frutos (mayor concentración de azúcar bajo condiciones de estrés moderado) y

el incremento en la proporción de paredes gruesas en el xilema (mayor densidad de la madera).

La respuesta de los pinos al consumo de agua es diferente; *Pinus greggii* del NW del estado se caracteriza por sobrevivir en condiciones adversas; así como por su alto valor comercial dado a sus características tiene una alta tasa de crecimiento y gran potencial ecológico en plantaciones de restauración en zonas degradadas, mientras que *Pinus patula* se desarrolla en ambientes con porcentajes altos de humedad relativa. Lo anterior hace que ambas especies se usen en plantaciones con diferentes fines, desde restauración, protección de mantos acuíferos hasta comerciales. *Pinus greggii* ha dado excelentes resultados en regiones áridas, mientras que *Pinus patula* lo ha logrado en zonas de clima templado.

En la mayor parte del estado de Hidalgo existen condiciones adversas para el crecimiento de las plantas en forma natural, ya que persiste un clima semiárido con precipitaciones bajas. Por lo que es necesario evaluar las respuestas de *Pinus greggii* y *Pinus patula* al estrés hídrico para conocer los cambios fisiológicos y bioquímicos de estas especies, que crecerán bajo sequía; para eventualmente utilizar esa información y proponer el establecimiento de pinos en zonas degradadas y con potencial de restauración.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar los efectos del estrés hídrico sobre algunas características fisiológicas y bioquímicas de *Pinus patula* y *Pinus greggii*.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Evaluar el efecto de sequía simulada sobre las relaciones hídricas e intercambio gaseoso en dos especies de pinos que varían en susceptibilidad a la sequía.

Evaluar la contribución de prolina como indicador de la sequía en *Pinus patula* y *Pinus greggii*.

3. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. IMPORTANCIA DEL AGUA EN LAS PLANTAS

La condición hídrica de los organismos es un factor muy importante en su fisiología debido a la importancia del agua en todos los procesos bioquímicos y fisiológicos del crecimiento y desarrollo. El nivel de humedad en el suelo donde esta creciendo una planta es relevante, puesto que es precisamente el vapor de agua uno de los gases que se intercambian a fin de continuar con el metabolismo del vegetal.

El agua representa un componente básico en los procesos metabólicos y fisiológicos, así como en el transporte de sustancias y el mantenimiento de turgencia celular, una deficiencia de agua por lo tanto limitará el crecimiento y desarrollo de los organismos vegetales (Arnon, 1972 citado por Reyes, 2002). Y es esencial para la supervivencia, el crecimiento y la actividad metabólica de las plantas. La estructura y propiedades del agua influyen en la estructura y propiedades de las proteínas, membranas, ácidos nucleicos y otros constituyentes celulares (Sánchez-Díaz y Aguirreolea, 2000).

La forma normal de una planta se mantiene gracias a la presión del agua en sus protoplastos, que actúa contra sus paredes celulares. Además, las plantas crecen a medida que absorben el agua que hace que sus células se expandan (Salisbury y Ross, 1994). De esta manera, el agua mantiene la turgencia celular la cual permite el crecimiento expansivo de la célula (Hsiao *et al.*, 1976 citado por Solarte, 1992); ésta también actúa como solvente y sistema de transporte, favoreciendo los procesos fisiológicos, bioquímicos y biofísicos. Por lo tanto todas estas funciones vegetales pueden ser afectadas en determinado momento por un déficit hídrico; tales alteraciones pueden ser

morfológicas fisiológicas, bioquímicas, fotoquímicas y ultraestructurales (Solarte, 1992).

Sen y Mohammed (1994 citados por Reyes, 2002); mencionan que el agua constituye el 95% del protoplasma celular, en el cual se llevan a cabo innumerables reacciones; además de ser el componente mayoritario en las plantas, afecta directamente la mayoría de los procesos fisiológicos.

Por otra parte, la disponibilidad de agua es el factor ambiental más importante que determina la distribución, composición de especies, el crecimiento y productividad de los bosques (Kramer y Kozlowski, 1979 citados por Vargas, 1985). Aunque el tipo de vegetación y la composición de especies no dependen únicamente de la precipitación total; sino también de la distribución estacional y su variabilidad anual. Por lo general conforme aumenta la cantidad de precipitación, se incrementa el número de especies leñosas, de tal manera que la diversidad de especies es mayor en un bosque tropical húmedo que en cualquier otro tipo de asociación forestal (Doley, 1981 citado por Vargas, 1985).

La importancia ecológica del agua se debe a su importancia en los procesos fisiológicos en los que interviene. El mantenimiento del contenido de agua y turgencia adecuados en las células, es el factor esencial en las relaciones agua-planta que permite el funcionamiento normal de los procesos fisiológicos y bioquímicos involucrados en la división celular y acumulación de Biomasa (Kramer y Kozlowski, 1979 citados por Vargas, 1985). Para evaluar estas respuestas en las plantas, como estrategias para mantener y optimizar el balance de agua y de carbono frente a la sequía estacional se deben caracterizar parámetros

hídricos y fotosintéticos, estacionalmente y a lo largo del año, en especies del mismo género (Mooney, 1983; Nardini *et al.*, 1999 citados por Cabrera, 2002).

El protoplasma es el resultado de las propiedades del agua. Sus componentes proteínicos y de ácidos nucleicos deben sus estructuras moleculares, y por consiguiente sus actividades biológicas, a su estrecha asociación con moléculas de agua. Las moléculas de agua forman parte activa de la química que es base de la vida. El agua y el dióxido de carbono son las materias primas de la fotosíntesis. Ciertamente que hay procesos metabólicos que ocurren sin la utilización o producción de moléculas de agua. A pesar de ello, el agua es relativamente inerte en sentido químico (Salisbury y Ross, 1994).

El hecho de que las plantas tengan una amplia superficie de contacto con el aire, tiene también su lado desfavorable ya que, en ciertas circunstancias, este contacto ocasiona una evaporación intensa del agua de las células de las hojas. Como consecuencia de la intensa transpiración de las plantas, las raíces deben ser extensas para recuperar del suelo toda el agua que pierden las hojas.

Además del agua, las raíces absorben del suelo otros elementos químicos que son esenciales para la vida de las plantas, pero que son requeridos en cantidades relativamente pequeñas. El carbono, oxígeno e hidrógeno son los principales elementos constituyentes de las sustancias que forman el cuerpo vegetal. Estos elementos entran en la planta con el CO₂ de la atmósfera y el agua del suelo; la fotosíntesis y otros procesos asociados los transforman en sustancias orgánicas (Pérez y Martínez, 1994).

3.2. EFECTOS DEL ESTRÉS HÍDRICO EN LAS PLANTAS

El déficit hídrico es un factor muy importante para el crecimiento vegetal; ya que lo reduce considerablemente. Existen dos tipos de déficit hídricos que son el temporal y el permanente. Estos afectan todos los aspectos del desarrollo de la planta, por su parte el déficit temporal es aquel que se produce en días soleados y afecta sólo la transpiración del vegetal ya que la incrementa y ésta es aún mayor a la absorción de agua del suelo; mientras que el permanente es producto de una insuficiencia del agua existente en el suelo y se considera aún más importante por que puede causar la muerte del vegetal.

El estrés hídrico es considerado un estrés abiótico y es probablemente la condición más común y desfavorable ya que el agua es un elemento vital que la planta necesita para crecer, desarrollarse y reproducirse de manera ideal, ya que es componente de los vegetales en un 90% cuando está verde, éste valor se ve alterado cuando la planta se encuentra en condiciones de sequía o de una excesiva transpiración (Tadeo, 2000).

3.2.1. EFECTOS MORFOLOGICOS

El estrés hídrico se produce cuando la cantidad de agua que se evapora mediante la transpiración es superior a la que la planta es capaz de incorporar a través de sus raíces. En estas condiciones sobreviene un déficit de agua cuya primera manifestación visible es el marchitamiento característico de las hojas. Si el déficit se prolonga, el crecimiento se reduce hasta que finalmente se detiene (Granados-Sánchez *et al.*, 1998).

Hsiao *et al.*, (1976 citados por Solarte, 1992), propusieron que el crecimiento celular es probablemente el proceso más sensible al déficit

hídrico, debido a que se disminuye la presión de turgencia y esta es indispensable para el alargamiento celular. Esto se refleja en una marcada reducción del área foliar la cual también es acentuada por el aceleramiento en la tasa de senescencia (Begg, 1985 citado por Solarte, 1992). La disminución del área se considera como un mecanismo adaptativo de las plantas al déficit hídrico, ya que implica una reducción de la tasa de transpiración (Solarte, 1992).

Las modificaciones anatómicas, morfológicas y fenológicas de las plantas sometidas a periodos prolongados de sequía se deben básicamente a las alteraciones en los patrones estacionales y ritmos de división y elongación celular. Los tejidos y órganos más afectados son aquellos relacionados con la absorción y uso del agua (Van Buijtenen *et al.*, 1976 citados por Vargas, 1985).

3.2.2. EFECTOS FISIOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS

Schultze, (1986 citado por Solarte, 1992), sugiere que la disminución en la humedad del aire y del suelo, pueden afectar a la hoja al producir un cambio estomático y de transpiración, un efecto en la conductancia estomática de la hoja y un efecto en el aparato fotosintético.

Cualquiera de los déficits son causantes de efectos químicos e hidráulicos e intervienen en los procesos internos de los vegetales tales como los fisiológicos y metabólicos. La pérdida de agua en un tejido vegetal tiene los siguientes efectos que pueden influir en el metabolismo de la planta: reducción del potencial hídrico, disminución de la turgencia, concentración de moléculas conforme disminuye la turgencia, alteración espacial en plasmalema, tonoplasto y membranas de orgánulos, debido a cambios de volumen y cambio de la estructura

macromolecular como consecuencia de la eliminación o modificación estructural del agua (Sánchez-Díaz y Aguirreolea, 2000).

Con respecto a los efectos en los procesos fisiológicos uno de ellos, incluso mas importante es el aumento en la relación raíz / parte aérea, así como también la abscisión de hojas y frutos especialmente después que desaparece el estrés. Además afecta el desarrollo reproductivo retrasándolo o beneficiándolo en algunas especies que lo requieren para madurar o formar yemas o brotes para pasar la sequía de forma segura.

En lo que se refiere a efectos en los procesos fisiológicos y bioquímicos estos son: el crecimiento celular, síntesis de pared celular, síntesis de proteínas, formación de protoclorofila, nivel de nitrato reductasa, acumulación de ABA, nivel de citoquininas, apertura estomática, asimilación de CO₂, respiración, acumulación de prolina y acumulación de azúcares (Sánchez-Díaz y Aguirreolea, 2000).

Los estomas juegan un papel central en el control del balance entre la asimilación de CO₂ y la transpiración. El grado de apertura estomatal y la conductancia estomática regulan el flujo de CO₂ y de vapor de agua, siendo estos proporcionales a la conductancia, es decir, el estoma responde directamente a un déficit hídrico mediante el cierre estomático, para evitar la perdida excesiva de agua por transpiración (Ludlow, 1985; citado por Solarte, 1992).

En este control de la apertura y cierre de estomas, el ácido abscísico (ABA) participa en la adaptación al déficit hídrico y a otros estrés, tales como el salino, además que induce el cierre de estomas ya que su función principal es la de proteger las plantas frente al estrés hídrico y de inducir la síntesis de proteínas que favorecen la resistencia a la

deseccación durante la sequía, por que aumenta su concentración muy rápidamente en plantas estresadas (Zacarías y Lafuente, 2000).

3.2.2.1. PAPEL DE LA PROLINA EN LA OSMOREGULACIÓN

La progresiva acumulación de aminoácidos como la prolina por efecto de la deshidratación ha sido ampliamente destacada, observando que va acompañada de la disminución paulatina del potencial hídrico del tejido (Aspinall y Paleg, 1981; citados por Reyes, 2002). Esta acumulación es una respuesta amplia en plantas superiores, algas, animales y bacterias a los bajos potenciales hídricos. La acumulación en las hojas a bajos potenciales hídricos es causada por una combinación de un incremento en la biosíntesis y una baja oxidación en la mitocondria (Samaras *et al.*, 1995). La prolina es un soluto compatible pero su presencia no esta del todo clara en relación a su función de su acumulación inducida, aunque su papel en la osmoregulación parece estar clara (Samaras *et al.*, 1995). Se han atribuído a la prolina otras funciones, tales como la estabilización de macromoléculas, una fuente de poder reductor y un almacén de carbono y nitrógeno para usarse una vez pasado el estrés hídrico (Smirnoff y Cumbes, 1989).

La osmoregulación se define como la regulación del potencial osmótico dentro de la célula por la adición o eliminación de solutos en forma de solución hasta que el potencial osmótico intracelular es aproximadamente igual al potencial del medio que rodea la célula. La importancia de la misma radica en que es un mecanismo favorable para la tolerancia a la sequía, porque ésta permite una continuación de la expansión estomática y ajustes fotosintéticos, un mejor crecimiento de la planta y una mejor adaptación en campo.

Los componentes involucrados en el ajuste osmótico principalmente son azúcares, potasio, ácidos orgánicos, cloro y aminoácidos libres como la prolina y el ABA.

Muchas investigaciones revelan que la acumulación de prolina contribuye al ajuste osmótico y tolerancia de las plantas expuestas a condiciones ambientales desfavorables. Por lo que se ha considerado como una respuesta universal de las plantas bajo estrés.

La acumulación de prolina por deshidratación debido a un déficit hídrico o por el aumento de la presión osmótica es la revelación concerniente al rol que juega ella en la osmoregulación en plantas sometidas a los factores ambientales que producen el estrés hídrico.

Entonces la disminución de la turgencia es el disparador de la acumulación de prolina en plantas sujetas a condiciones de sequía, ya que la pérdida de turgencia activa una compleja secuencia de eventos adaptativos correlacionados al nivel de estrés.

Se ha demostrado que el déficit hídrico induce la pérdida de potencial osmótico en cultivos como un medio para mantener su turgencia, esta disminución en el potencial osmótico puede lograrse por la acumulación de solutos dentro de las células de la planta o por disminución del volumen celular hasta un incremento en la concentración de solutos osmóticos a partir del agua de las hojas desde la vacuola (Heuer, 1999).

3.3. RESPUESTAS DE LAS ESPECIES FORESTALES AL ESTRÉS HÍDRICO

En las zonas semiáridas los organismos se enfrentan a condiciones ambientales extremas como es la sequía que les obligan a desarrollar adaptaciones morfofisiológicas, entre las que sobresalen, su eficiente sistema radicular, la succulencia, la estructura epidérmica, vías fotosintéticas alternativas (C4 y CAM), una gran diversidad de producción y síntesis de metabolitos secundarios que les permiten enfrentar los factores ambientales bióticos y abióticos; además de estrategias de supervivencia para escapar, evadir y tolerar los factores adversos a que están expuestas (Granados-Sánchez, *et al.*, 1998).

Durante mucho tiempo se ha empleado el término resistencia a la sequía para definir la capacidad de la planta para sobrevivir ante condiciones de sequía ambiental (Levitt, 1972 citado por Vargas 1985).

Un gran número de plantas están adaptadas de un modo u otro para tolerar ocasionalmente periodos de sequía. Algunas, notablemente, como las plantas suculentas de las zonas áridas, pueden sobrevivir a periodos de desecación. Estas plantas sobreviven acumulando grandes cantidades de agua cuando esta disponible conservando y regulando el consumo de esta agua durante periodos de sequía. Otro tipo de plantas mantienen sus estomas cerrados durante el día y los abren durante la noche, de esta manera evitan que las altas temperaturas del día puedan afectar y elevar la velocidad de pérdida de agua a través de la transpiración.

Las plantas hidrófitas tienen estructuras que se adaptan a su hábitat, dado que tienen afinidad por el agua, desarrollan hábitos filamentosos, un sistema de raíces desarrollado pobremente, una cutícula delgada,

tienen sus estomas cerrados o presentes en la parte superior de las hojas que flotan; poseen gran cantidad de espacios intercelulares y tienen un sistema de xilema pobremente desarrollado (Larqué-Saavedra, 1980).

La cantidad de agua disponible en el suelo es un factor determinante en regular la velocidad de crecimiento de las plantas y los eventos fenológicos del ciclo vital de estas. Esto se debe a que los procesos de crecimiento y aquellos que regulan la fijación de bióxido de carbono (CO₂) son sensibles a la reducción en la disponibilidad de agua en el suelo (Davies *et al.*, 1990 citados por Reyes, 2002).

Después de una gran discusión sobre el termino que se debería emplear se llevo al acuerdo de emplear el termino tolerancia a la sequía; ya que describe de manera precisa las respuestas de la planta al factor ambiental sequía (Kramer *et al.*, 1982 citados por Vargas, 1985).

Kramer (1980) citado por Vargas, (1985) subdividió las adaptaciones de la planta que contribuyen a la tolerancia a la sequía en las especies forestales, en las categorías de retardo de la deshidratación (mecanismos de evasión), y de tolerancia a la deshidratación del protoplasma (mecanismos de tolerancia).

Los mecanismos de evasión incluyen todas aquellas modificaciones morfológicas y fisiológicas que les confieren la capacidad de evitar o posponer la desecación de los tejidos, por lo que la planta puede sobrevivir bajo condiciones de sequía conservando niveles relativamente altos de potencial hídrico (Kozlowski, 1982 citado por Vargas, 1985).

Los mecanismos de tolerancia se refieren a la manifestación de cierta capacidad de la planta para soportar la deshidratación de los tejidos sin presentar daño irreversible en su metabolismo, por lo que la planta sobrevive en base a su habilidad para soportar niveles bajos de potencial hídrico (Kramer, 1980 citado por Vargas, 1985).

Las diferencias entre especies en la respuesta de la fotosíntesis y supervivencia a la sequía parecen estar asociadas a las diferencias en la relaciones agua-planta que se ocasionan, debido a que las especies difieren en el potencial de agua en el suelo y en la planta necesarios para que ocurra el cierre estomatal (Vargas, 1985).

Sudachkova *et al*, (1996) realizaron una investigación sobre el efecto de la sequía en la composición de aminoácidos libres de los tejidos de *Pinus silvestris* y *Larix sibirica*. Los resultados de esta investigación mostraron que cuando las plántulas fueron sujetas a sequía inducida presentaron el contenido mas bajo de proteína y el más alto de prolina en la zona cambial o en los órganos y tejidos de asimilación respecto a las plantas con riego normal. En las coníferas los brotes jóvenes pueden ser usados como una prueba indicadora de un déficit de humedad por la composición de sus aminoácidos libres.

Driessche (1991) realizó estudios en *Pinus contorta*, *Pseudotsuga menziesii* y *Picea glauca* evaluando la influencia de los contenedores en vivero con diferentes tratamientos de sequía los cuales fueron expuestos a temperaturas de 13, 16 y 20 °C y tres niveles de sequía aplicados factorialmente. Dando como resultado potenciales de presión del xilema de -0.32, -0.5 y -0.99 Mpa. Encontrando que como práctica de acondicionamiento, incrementó la supervivencia aunque redujo el tamaño de plantas.

En *Pinus echinata*, Choi (1992), evaluó seis familias de una misma región (Arkansas) encontrando que al compararlas bajo control de riego normal y condiciones de sequía. Las familias presentaron significantes cambios en los parámetros de relaciones hídricas y exhibieron cada una de ellas una adaptación diferente entre cada familia. Se tomó la medición de estas variables, ajuste osmótico, supervivencia, potencial osmótico, volumen de agua simplástica, volumen de agua osmótica y potencial de turgencia. Concluye al demostrar que las familias de esta especie tienen una alta resistencia a la sequía durante el proceso de establecimiento en campo.

Tausz *et al.*, (2001), evaluaron los cambios que produce un estrés hídrico suave en *Pinus canariensis*. El experimento consistió de regar las plántulas una vez por semana generando que la conductancia estomática máxima fuera de 50 mmol m⁻² mientras que el otro tratamiento de riego continuo presentó un valor de 130 mmol m² los potenciales hídricos de las acículas de los árboles sin riego fueron mantenidos a -0.44 Mpa, indicando que la actividad molecular de compuestos como el caroteno, ácido ascórbico y clorofila, disminuyen su actividad durante la noche pero estos cambios no son afectados por la sequía.

Rust (2000), investigó el efecto de *Calamagrostis epigejos* en competencia por el nitrógeno con *Pinus silvestris* en condiciones de sequía evaluando: potencial hídrico, ajuste osmótico, prolina libre, conductancia hidráulica, densidad de flujo de la savia; encontró que todas las variables disminuyeron al bajar del 0 al 30% el agua disponible en el suelo, también se redujo la transpiración; y concluyó que no hay diferencias significativas en el efecto de sequía en un terreno sin la capa herbácea que con ella.

Blake (1999), evaluó los efectos de ciclos repetidos de la deshidratación y rehidratación sobre el intercambio de gases y la eficiencia del uso del agua en *Pinus banksiana* y *Picea mariana*. Se utilizaron plántulas de un año las cuales estuvieron sujetas a 5 ciclos de deshidratación y rehidratación por agua retenida en una cámara de humedad directa a las raíces. En donde se obtuvo que *Pinus banksiana* registró la tasa más alta de intercambio gaseoso y el índice más alto de eficiencia de uso de agua mientras que *Picea mariana* fue más bajo en las dos variables. Después de mitigar la sequía; la fotosíntesis, conductancia estomática y el uso eficiente del agua se recuperaron más rápido en *Picea mariana* que en *Pinus banksiana*.

El Ozono (O₃) y el estrés por sequía, son efectos interactivos sobre el intercambio gaseoso en *Pinus halepensis* Mill., así lo comprobaron Inclam *et al.*, (1996); al exponer plantas de 2 años durante 20 meses en cámaras abiertas en el noreste de España donde el ambiente tiene concentraciones de ozono o aire filtrado de carbón vegetal, se aplicaron 2 tratamientos; uno donde se regó diariamente mientras que al otro sólo se aplicó agua 11 días antes del experimento, para después regar todas las plantas de ambos tratamientos y alcanzar capacidad de campo. Cuatro plantas por tratamiento fueron puestas dentro de las cámaras. Las variaciones diarias en la tasa de intercambio gaseoso de estos tratamientos fueron medidas durante y después del estrés. La exposición al ozono y la escasez moderada de agua inducen reducciones similares en las tasas de intercambio gaseoso. Indicando que las plantas que no fueron expuestas al ozono se recuperaron más rápido al alcanzar la capacidad de campo que las que si estuvieron.

Kolb y Robberecht (1996), evaluaron los efectos de la temperatura alta y el estrés por sequía sobre la supervivencia de *Pinus ponderosa*;

destacando que esta especie es de las pocas coníferas que se adaptan a sitios propensos a sequía; entonces se consideró la temperatura de la superficie del suelo a 7 mm y 50 mm por encima de ella que fue de 75 y 45 °C. Las plantas sujetas a estas temperaturas muestran una supervivencia mayor cuando se mantienen por debajo de los 60 °C, mientras que al rebasarla se mueren en 1 minuto, ya que fluctúa la temperatura interna de las plantas entre 15 °C por debajo de la del aire. Las plantas que sobreviven presentan una conductancia estomática más alta que las plantas que no sobrevivieron hasta el otoño. La tasa de transpiración se calculó a partir de la temperatura de la acícula, obteniendo que la conductancia estomática y la demanda evaporativa fueron altas (arriba de 16.7 mmol m⁻²). Lo anterior indicó que el transporte de agua a través de la planta actúa como un mecanismo transmisor de calor refrescando el tallo por debajo del nivel mínimo letal de temperatura. Los cálculos de intercambio de calor mostraron que el agua fluye más rápido a través del tallo de la planta y puede absorber energía suficiente para reducir la temperatura del tallo a 30° durante las horas pico de máxima radiación solar.

Sudachkova *et al*, (1994); evaluaron los efectos de varios factores que provocan estrés sobre el nivel y distribución de carbohidratos en tejidos de *Pinus silvestris* en Siberia. Se estudio el contenido de monosacáridos, oligosacáridos y carbohidratos en acículas de un año y acículas nuevas, brotes nuevos, madera, cambium, floema del tallo, y de las raíces; el cambium, el floema y la corteza, de plantas que se desarrollaron en 4 sitios naturales de Siberia. El primero fue un área seca causada por la sequía de verano. El segundo sitio fue una marisma que provoca falta de oxígeno en la zona de crecimiento de la raíz. El tercero fue una zona congelada que causa estrés por frío. El cuarto fue con condiciones normales. Los déficits naturales en los diferentes sitios causó

acumulación de carbohidratos o almidón en los diferentes tejidos. El estrés por sequía causa acumulación de monosacáridos en la zona cambial de la raíz y disminución de los niveles de oxígeno. En la zona de crecimiento se presentó acumulación de carbohidratos en las acículas y raíces.

3.4. USOS BENÉFICOS DEL ESTRÉS HÍDRICO.

El riego es una de las prácticas culturales más importantes en la producción de planta, ya que ayuda a mantener un adecuado nivel de humedad para que el crecimiento ocurra sin restricciones (Jonson, 1986; Lopushinsky, 1990, citados por Prieto, 2004). El agua influye en la mayoría de los procesos fisiológicos, tales como la fotosíntesis, respiración, la síntesis de compuestos químicos, la división y elongación celular, el transporte de elementos esenciales y la termorregulación foliar de las plantas, procesos que dependiendo del nivel de estrés hídrico alcanzado, pueden afectar el rendimiento de las plantas (CEFORA, 1994; Rojas, 2003, citados por Prieto, 2004).

El precondicionamiento contribuye a mejorar la calidad de las plantas, previo a su establecimiento en campo y consiste en modificar las prácticas de cultivo en vivero, tales como disminuir la cantidad de agua suministrada, reducir las dosis de nitrógeno y aumentar las de potasio, así como eliminar la sombra y el efecto de invernadero. En ese sentido, en la fase de precondicionamiento la función del agua en las plantas cambia, ya que aparte de servir para que realicen su metabolismo, al disminuir su aporte se induce estrés hídrico para disminuir el crecimiento en altura, promover la aparición de la yema apical e iniciar mecanismos de resistencia a temperaturas bajas extremas (Joly, 1985, Timmer y Armstrong, 1989, Landis *et al.*, 1992 citados por Prieto, 2004), lo que a su vez contribuye a incrementar la resistencia a déficits iniciales de humedad en el sitio de plantación (Peñuelas y Ocaña, 1996; Toral, 1997 citados por Prieto, 2004).

Para provocar el déficit hídrico se deja de regar por periodos cortos de tiempo, hasta que las plantas presentan un cuadro de marchitez o alcanzan un estrés determinado (Landis *et al.*, 1989 citados por Prieto

2004). El tiempo de restricción de humedad depende de las condiciones ambientales del sitio de producción, el tipo de sustrato y envase utilizado, así como la especie y sus características morfológicas (Prieto, 2004).

En México como practica de manejo en vivero; el estrés hídrico ha sido poco estudiado; entre las investigaciones mas recientes destacan las de Cetina (1997), Cetina *et al.*, (2001) y Cetina *et al.*, (2002); en *Pinus greggii*; Martínez *et al.*, 2002; en *Pinus leiophylla* y Cornejo y Emmingham, (2003) en *Pinus durangensis*, *Pinus arizonica* y *Pinus engelmannii*; quienes resaltan la importancia que tiene el estrés hídrico en el metabolismo de las plantas. Sin embargo, para entender la respuesta de las plantas a las diferentes condiciones de producción de vivero y a las diversas características ecológicas de los sitios de plantaciones es necesario profundizar sobre temas de esta naturaleza (Cornejo, 1999; Shibu *et al.*, 2003 citados por Prieto, 2004), de manera que contribuyan a las tasas de supervivencia y crecimiento, principalmente en sitios con escasez de humedad (Scagel *et al.*, 1998 citados por Prieto 2004).

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 MATERIAL BIOLÓGICO

Se utilizó germoplasma de *Pinus greggii* colectado en el Ejido "La Hierbabuena", municipio de Zimapan, Hidalgo, a una altitud de 1780 m y a 20° 49' 29" N y 98° 20' 29" W, con precipitación de 391 mm y 18.3 °C de temperatura media anual. Mientras que las semillas de *Pinus patula* se colectaron en el Ejido "El Palizar", ubicado en la Ranchería del mismo nombre, municipio de Huayacocotla, Veracruz, a una altitud de 1900 m y a 20° 23' 21" N y 98° 25' 06" W, con precipitación de 800 mm y 28 °C de temperatura media anual.

La siembra del germoplasma se realizó en el vivero universitario de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, utilizando envases de plástico cónicos de 100 cm³ de capacidad, ocupando alrededor de 100 g de substrato formado por corteza de pino, vermiculita, agrolita y peat moss; en proporción 3.55:1:1:1.5 respectivamente en volumen, agregando también 7 Kg m⁻³ de fertilizante osmocotte.

Se colocaron dos semillas por envase. Una vez germinados se estableció una plántula por envase. Para evitar la presencia de hongos se aplicó Captan 2 g L⁻¹ de agua cada tercer día, las plántulas se mantuvieron en invernadero con malla sombra.

Para el cuidado de las plántulas, previamente se realizó una curva de retención de humedad del substrato con el fin de determinar el agua necesaria para alcanzar la capacidad de campo en los envases.

Las plántulas se regaron periódicamente hasta completar 9 meses después de germinadas, posteriormente se transplantaron en envases de polietileno negro de 1 litro de capacidad, utilizando el mismo sustrato y después de 15 días mantenidas en el invernadero perteneciente al Centro de Investigaciones Forestales, se inició el experimento de estrés hídrico en el invernadero. Todo esto para favorecer su establecimiento y proceder a los tratamientos de sequía.

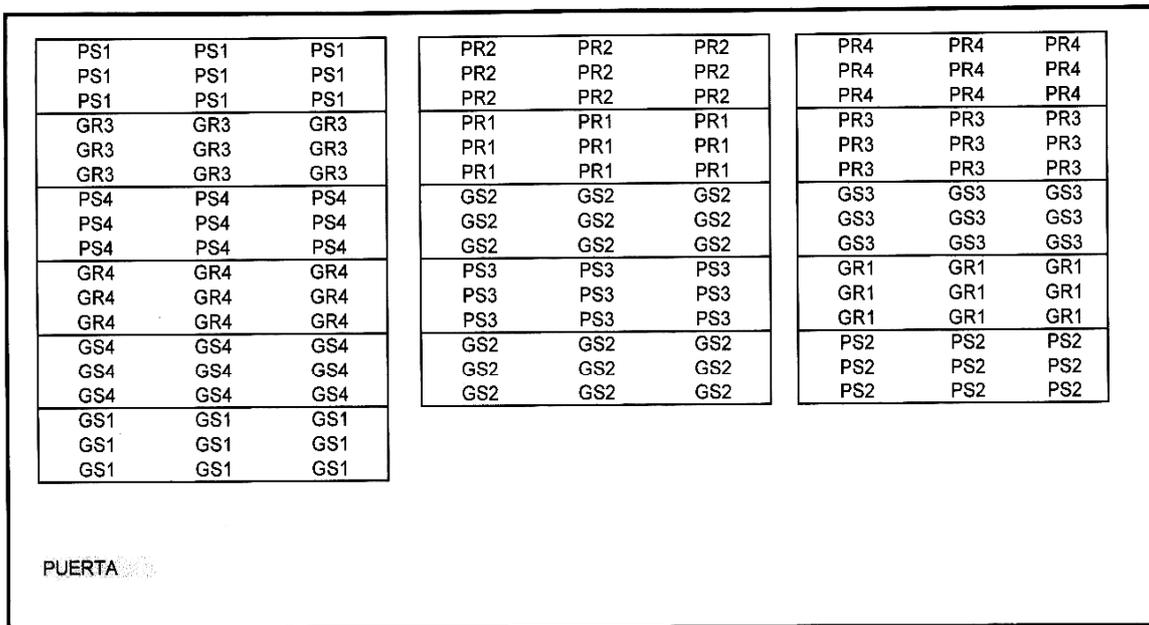
4.2 ESTABLECIMIENTO DE CONDICIONES LIMITANTES DE HUMEDAD

Se utilizó el método de riego-sequía. Al inicio del experimento se aplicó un riego a todas las plántulas agua hasta alcanzar la capacidad de campo.

En los días subsecuentes, la mitad de las plantas se continuaron con riego normal, agregando diariamente la cantidad de agua perdida hasta alcanzar la capacidad de campo. La otra mitad de las plantas se mantuvieron sin riego durante 10 días.

Los tratamientos se distribuyeron en un diseño de bloques al azar, estableciendo por especie 4 repeticiones por tratamiento de riego y sequía, con nueve unidades experimentales en cada una de ellas.

El total de plántulas por tratamiento, fue entonces de 36 árboles para dar un total de 72 plantas por especie y 144 en total para todo el experimento (Figura 1).



PS PATULA SEQUÍA
 PR PATULA RIEGO
 GS GREGGII SEQUÍA
 GR GREGGII RIEGO

Figura 1. Arreglo experimental de los tratamientos dentro del invernadero.

Con el fin de evaluar la capacidad de retención de agua del sustrato, se realizó una curva de retención de humedad por el método de la olla de presión (Figura 2). La curva muestra que el sustrato utilizado presenta una alta capacidad de retención de humedad, ya que a 20 bars aún presenta un 96.2 % de humedad; lo que no sucede con un suelo común. La mezcla presenta partículas que retienen en mayor proporción el agua, por lo que la planta requerirá de un menor esfuerzo para disponer del agua. Esto con fines prácticos, indica que al plantar un árbol en un área deficiente de humedad podrá sobrevivir un mayor tiempo a consecuencia de disponer una mayor cantidad de agua.

Curva de Retención de Humedad

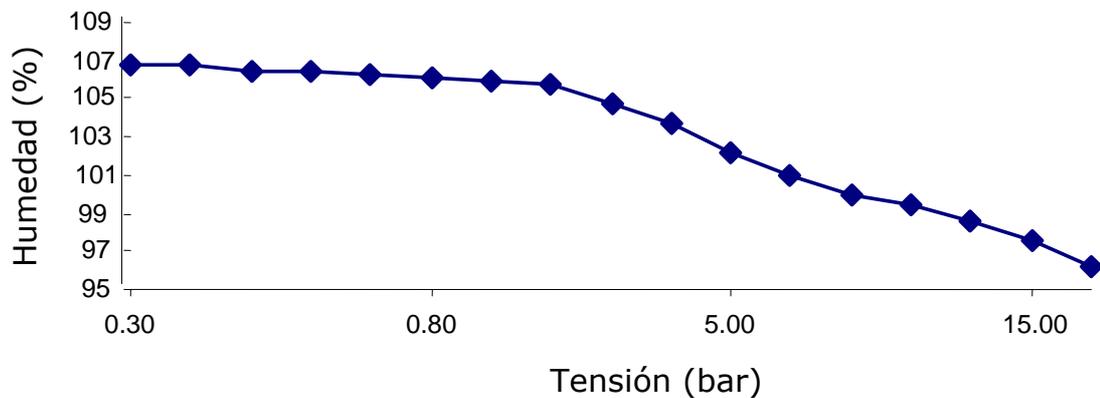


Figura 2. Curva de retención de humedad, para mezcla del sustrato (Corteza de pino, vermiculita, agrolita y peat moss; en proporción 3.55:1:1:1.5).

4.3 VARIABLES EVALUADAS

4.3.1 INTERCAMBIO DE GASES (CONDUCTANCIA ESTOMÁTICA, FOTOSÍNTESIS Y TRANSPIRACIÓN).

Estas mediciones se llevaron a cabo diariamente, desde el inicio de la suspensión de riego, determinándose la conductancia estomática ($\text{mmoles}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) y tasa de asimilación de CO_2 ($\mu\text{moles}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) durante la evaluación en las horas de mayor iluminación (11:00-13:00 horas). Dichas mediciones se realizaron con un sistema abierto y portátil de análisis de gases en el espectro infrarrojo (IRGA) modelo CIRAS-II (PP Systems).

Para realizar las mediciones anteriores se tomaron 7 plantas seleccionadas en forma aleatoria de las cuatro repeticiones establecidas.

4.4 RELACIONES HÍDRICAS

4.4.1 POTENCIAL HÍDRICO (Ψ_{ω}) DE LAS HOJAS

Esta variable se determinó en la hoja anterior a la que se usó para realizar las mediciones de intercambio de gases. Se utilizó una cámara de presión de tipo Scholander (Soil moisture Company), registrándose el valor de la presión utilizada en megapascales (MPa).

Una vez registrada la medición, esta hoja se envolvió en papel aluminio y se almacenó en nitrógeno líquido para determinar posteriormente el potencial osmótico.

4.4.2 POTENCIAL OSMÓTICO (Ψ_{π}) DE ACÍCULAS

Las muestras de acículas fueron finamente picadas e introducidas en cámaras psicrométricas (Modelo C-52) (Wescor Inc.) conectadas a un microvoltímetro durante un periodo de dos horas; elaborándose previamente una curva de calibración con concentraciones conocidas de NaCl para así calcular el Ψ_{π} .

4.4.3 POTENCIAL DE TURGENCIA (Ψ_{ρ}):

Este se calculó a partir de la diferencia entre Ψ_{ω} y Ψ_{π} .

4.4.4 POTENCIAL HÍDRICO EN EL SUELO

Se tomaron muestras de suelo a los 15 cm de profundidad para los tratamientos de suspensión de riego y el tratamiento de riego continuo. Las muestras de suelo se incubaron por 3 horas en cámaras psicrométricas modelo C-52 (Wescor Inc). Posteriormente las cámaras se conectaron a un microvoltímetro de punto de rocío modelo HR-33T (Wescor Inc.) y el potencial hídrico se determinó por el método de punto de rocío.

4.5 CONTENIDO DE PROLINA EN HOJAS

Este aminoácido se determinó en base a la metodología de Bates (1973), en la cual se evalúa una fracción de la hoja que se utilizó en las mediciones de potencial de agua y osmótico. Los tejidos se liofilizaron por 48 horas y posteriormente fueron finamente molidos. A continuación se utilizó 0.1 g de muestra de cada hoja, se maceró en 5 ml de ácido sulfosalicílico al 3 %, el macerado se filtró con papel filtro Whatman del No.4. Posteriormente se adicionaron 2 ml de este filtrado, 2 ml de ninhidrina ácida y 2 ml de ácido acético glacial en un tubo de ensaye y se agitó vigorosamente en un vortex.

Los tubos se incubaron en baño maría a 100 °C por una hora. Durante este periodo los tubos se mantuvieron cubiertos con una esfera de vidrio para evitar la evaporación de la mezcla. Al finalizar el tiempo de incubación la reacción se detuvo de súbito sumergiendo los tubos en un recipiente con agua a 0 °C y se les agregó 4 ml de tolueno agitándolos vigorosamente. Posteriormente se tomó una muestra de la fase cromófora y se determinó su absorbancia en un espectrofotómetro

Varian modelo 50 a una longitud de onda de 520 nm. Los valores de las absorbancia obtenida se compararon con los valores de la curva estándar de prolina.

4.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Se realizó un análisis de varianza con comparación de medias con la prueba de Tukey entre los tratamientos bajo un diseño de bloques completamente al azar, con la ayuda del paquete estadístico SAS V. 8.0.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 INTERCAMBIO DE GASES (CONDUCTANCIA, FOTOSÍNTESIS Y TRANSPIRACIÓN).

5.1.1 CONDUCTANCIA ESTOMÁTICA

Una vez suspendido el riego, las plantas tienden a disminuir su conductancia estomática. Durante todo el experimento las plantas de *Pinus patula* sujetas a sequía fueron las que presentaron la menor conductancia estomática con un valor de $3 \text{ mmoles m}^{-2}\text{s}^{-1}$; en tanto que las que se mantuvieron constantes en riego presentaron un valor promedio de $110.33 \text{ mmoles m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Figura 3).

Mientras que el valor mínimo de las plantas de *Pinus greggii* sujetas a sequía alcanzaron al día seis un valor promedio de $4.37 \text{ mmoles m}^{-2}\text{s}^{-1}$, las plantas con régimen de riego continuo presentaron un valor de $164.4 \text{ mmoles m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Figura 3).

La conductancia estomática para el caso del tratamiento de sequía en ambas especies presentó diferencia estadística significativa, respecto al tratamiento de riego a partir del día tres; incrementándose la diferencia con respecto al de riego continuo, en ambas especies; hasta alcanzar un valor mínimo promedio de $4 \text{ mmoles m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Figura 3).

En el día seis se aplicó un riego de recuperación hasta alcanzar la capacidad de campo del sustrato; a partir del cual se observó una tendencia ligera de aumento; donde *Pinus patula* mostró una lenta capacidad de respuesta; manteniéndose por debajo de $25 \text{ mmoles m}^{-2}\text{s}^{-1}$; situación diferente a *Pinus greggii*; en la cual denota una rápida

reacción al riego, registrando valores de 4.35 hasta 195.7 $\text{mmoles m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

En lo referente a los tratamientos de riego en ambas especies no hubo cambios significativos en los valores, manteniéndolos constantes entre 100 y 150 $\text{mmoles m}^{-2}\text{s}^{-1}$ para *Pinus patula* y de 160 a 240 $\text{mmoles m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en *Pinus greggii*; lo que coincide con lo presentado en la literatura de que las especies con mayor resistencia a la sequía presentan valores de fotosíntesis neta y conductancia estomática, esto pudiera explicar en parte la supervivencia de esta especie en lugares sujetos a estrés hídrico constante. (Figura 3).

Se observó que las plantas de *Pinus greggii* presentaron las tasas más altas de conductancia estomática en los dos tratamientos y además en el tratamiento de sequía, destacó su rápida recuperación al riego de recuperación; por el contrario de *Pinus patula* que presentó los valores más bajos de conductancia estomática y también dió prueba de la incapacidad de recuperar los niveles de conductancia después del riego de recuperación en el tratamiento de sequía.

Una posible explicación a estos resultados puede atribuirse a que las especies provienen de regiones climáticas diferentes y por tanto tienen diferencias en cuanto a apertura y cierre estomático; de manera general, cuando las plantas son sometidas a un estrés hídrico, tienden a cerrar sus estomas, con la consiguiente disminución en la conductancia estomática.

Lo anterior, ha sido demostrado experimentalmente en numerosas especies vegetales. En poblaciones tolerantes a sequía de *Pinus ponderosa* se presenta mayor sensibilidad estomatal que las menos

tolerantes, lo que resulta en altas tasas fotosintéticas de las poblaciones tolerantes bajo condiciones favorables pero bajas tasas de fotosíntesis neta cuando el agua es limitante, de tal manera que la tasa relativa de crecimiento bajo condiciones favorables es mayor en las poblaciones altamente tolerantes a sequía que en las menos tolerantes (Zhang *et al.*, 1997 citados por Martínez 2001). Estas respuestas son similares a las observadas en este estudio en *Pinus greggii*, el cual proviene de una zona semiárida y que mantiene tasas de conductancia estomática mayores en ambos tratamientos que *Pinus patula*; lo cual apoya la idea de que es una especie tolerante a la sequía. Sin embargo, se observó diferente reacción de apertura y cierre estomatal. Al respecto Blake (1999) al evaluar los efectos de ciclos repetidos de la deshidratación y rehidratación sobre el intercambio de gases y la eficiencia del uso del agua en *Pinus banksiana* y *Picea mariana* observó que *Pinus banksiana* registró la tasa más alta de intercambio gaseoso y el índice más alto de eficiencia de uso de agua, mientras que en *Picea mariana* los valores de las dos variables fueron menores. Después de mitigar la sequía; la fotosíntesis, conductancia estomática y el uso eficiente del agua se recuperaron más rápido en *Picea mariana* que en *Pinus banksiana*. En este experimento se presentó lo contrario al lo expresado anteriormente, encontrándose que *Pinus greggii* mantuvo los valores más altos de conductancia estomática en comparación con *Pinus patula*, el cual al proporcionarle el riego de recuperación, no alcanzó los niveles iniciales de conductancia que las plantas sujetas a riego continuo.

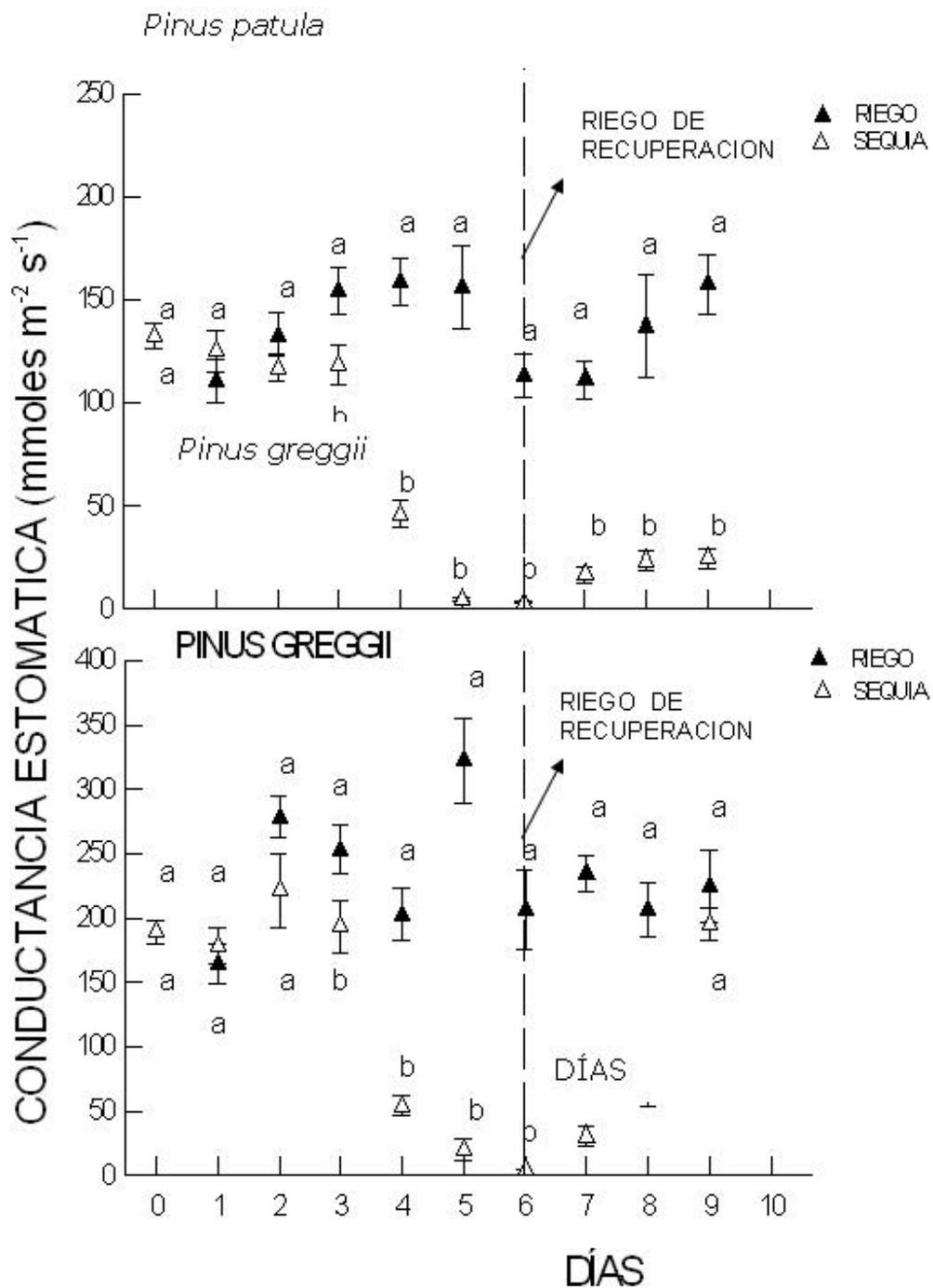


Figura 3. Conductancia estomática de *Pinus greggii* y *Pinus patula*, durante el periodo de simulación de sequía. Cada valor representa el promedio de siete mediciones \pm error estándar de la media. Letras iguales para cada valor por día de análisis indican igualdad estadística ($P \leq 5\%$).

5.1.2 DETERMINACIÓN DE LA TASA DE ASIMILACIÓN DE CO₂

Al igual que el valor de conductancia, la falta de agua provoca, una disminución de la tasa fotosintética neta; siendo atribuido en ambos casos al cierre de los estomas.

La tasa de asimilación de CO₂ tuvo un comportamiento similar a la conductancia estomática, se observó que la fijación de CO₂ durante el primer día del experimento fue similar en ambas especies en sus respectivos tratamientos registrando valores en *Pinus patula* de 4.55 mmoles m⁻²s⁻¹; y en *Pinus greggii* de 7.20 mmoles m⁻²s⁻¹ (Figura 4).

Durante todo el experimento, el tratamiento que presentó la menor tasa de asimilación de CO₂ fue el de sequía en *Pinus patula* registrando un valor mínimo promedio de -0.4 mmoles m⁻²s⁻¹; en tanto que *Pinus greggii* presentó un valor de 0.73 mmoles m⁻²s⁻¹.

La mayor tasa de asimilación de CO₂ registrada para el tratamiento de riego continuo en *Pinus patula* fue de 6.4 mmoles m⁻²s⁻¹, en promedio, manteniéndose constante entre 4 y 6.5 mmoles m⁻²s⁻¹; en similitud con el mismo tratamiento de *Pinus greggii* que registró 10.42 mmoles m⁻²s⁻¹; conservándose entre 6 y 10 mmoles m⁻²s⁻¹ (Figura 4).

Se observó que la tasa de asimilación de CO₂ en el tratamiento de riego en *Pinus patula* se mantuvo constante; en contraste con el tratamiento de sequía en donde hubo diferencias notables a partir del día tres durante el cual disminuyó considerablemente hasta alcanzar valores de 0 mmoles m⁻²s⁻¹ en el día seis, pero al aplicar el riego de recuperación en este día se observó una ligera recuperación sin sobrepasar 1.5 mmoles m⁻²s⁻¹ al final del experimento.

En *Pinus greggii* se observó desde el primer día una diferencia estadística significativa entre los dos tratamientos misma que fue haciéndose mas notoria durante el experimento. Desde el día uno hasta el día ocho, se presentaron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos y al llegar el día nueve se demostró que esta especie en el tratamiento de sequía, es capaz de recuperar la tasa de asimilación de CO₂, hasta ser estadísticamente igual al del tratamiento de riego continuo, registrando un valor de 10.4 mmol m⁻²s⁻¹ destacando que el valor mínimo desde el cual partió a su recuperación fue de 0.37 mmol m⁻²s⁻¹. Lo anterior coincide con lo expresado por Kolb y Robberecht (1996), los cuales al evaluar los efectos de la temperatura alta y el estrés por sequía sobre la supervivencia de *Pinus ponderosa*, una de las pocas coníferas que se adaptan a sitios propensos a sequía, encontraron que las plantas que sobreviven presentan una conductancia estomática más alta que las plantas que no sobrevivieron hasta el otoño. Lo anterior demuestra que existe un alto intercambio gaseoso para disminuir la temperatura del organismo; y eso explica el porqué en el presente estudio se presentan valores altos de conductancia estomática en *Pinus greggii*; notándose que es resistente a la sequía dada su capacidad de disminuir su tasa de asimilación de CO₂ durante el periodo de máxima sequía; y recuperarse de forma rápida al aplicarle el riego de recuperación, mientras que, *Pinus patula* no se recupera de igual manera.

La procedencia del germosplasma, pudiera explicar el comportamiento de las especies de Pinos estudiadas, como lo demuestran Tognetti et al., (1997) citados por Martínez (2001), los cuales encontraron que las poblaciones de sitios xéricos de *Pinus halepensis* presentaron mayores tasas de transpiración respecto a las de ambientes más húmedos, después de haber estado sometidas a estrés hídrico; además señala que las

poblaciones de procedencias xéricas presentan mas resistencia a la desecación y por lo tanto tienen mayores posibilidades para establecerse en sitios expuestos a déficit hídrico del suelo. Un comportamiento similar pudo haber influido en favorecer el efecto de recuperación mas rápida de *Pinus greggii*, dada su procedencia xérica.

Aunque el tiempo de sequia simulada no afectó visiblemente el crecimiento, como lo demostró Wellburn (1996), el cual expresa que el estrés severo por sequía produce plantas pequeñas con conductancia estomática reducida y tasas de asimilación de CO₂ bajas. En el caso de nuestra investigación es muy notorio que el estrés influye de manera directa en la tasa de asimilación reduciéndola a valores de cero, en ambas especies. Sin embargo, en *Pinus greggii* en el tratamiento de sequía se observó al final del experimento una recuperación significativamente igual al del tratamiento de riego continuo en el día nueve. Esta respuesta podría ser generada por la tolerancia a la sequía de *Pinus greggii*, en comparación con *Pinus patula*.

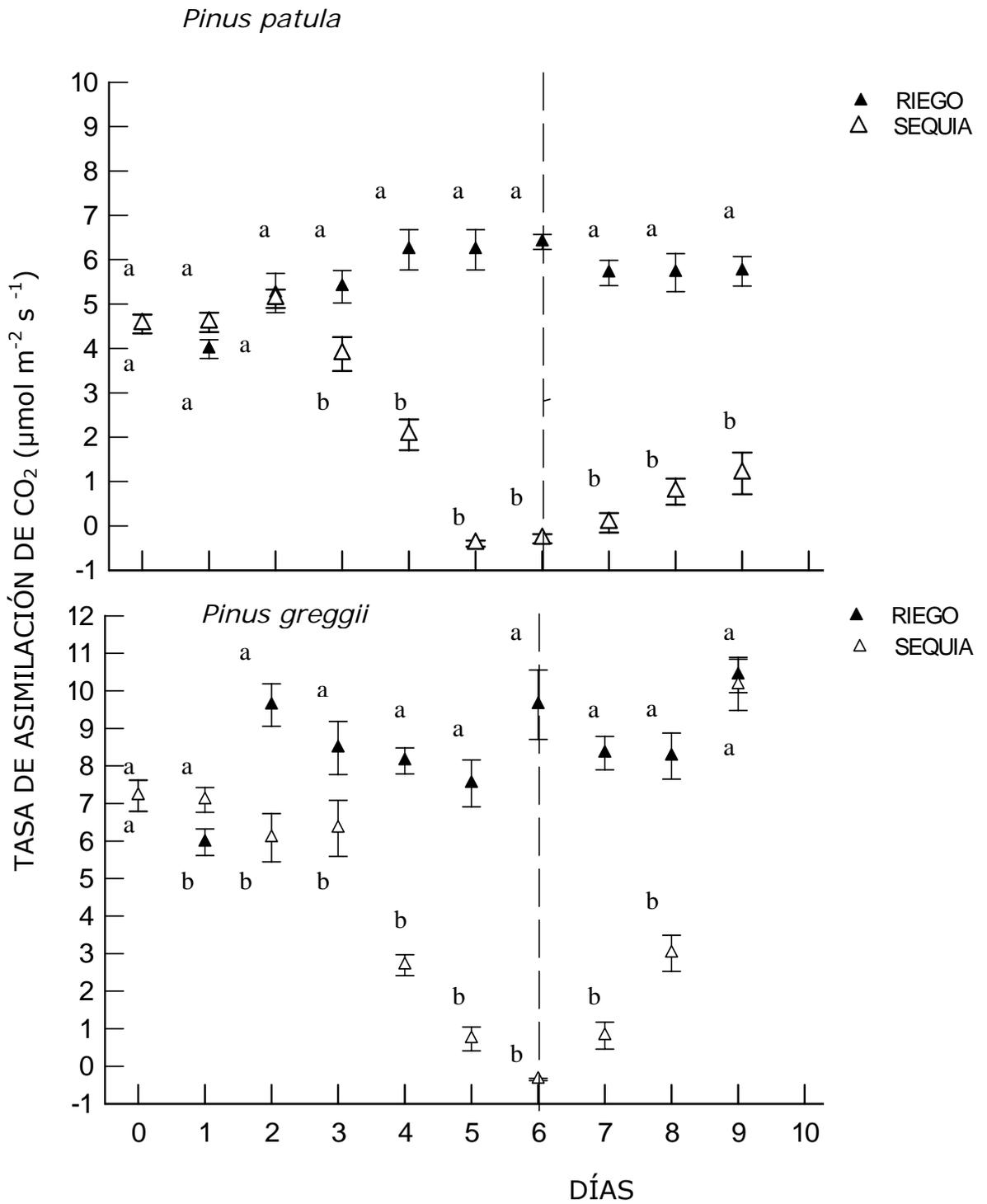


Figura 4. Tasa de Asimilación de CO₂ de *Pinus greggii* y *Pinus patula*, durante el periodo de medición. Cada valor representa el promedio de siete mediciones ± error estándar de la media. Letras iguales para cada valor por día de análisis indican igualdad estadística (P ≤ 5%).

5.2 RELACIONES HÍDRICAS

5.2.1 POTENCIAL HÍDRICO (Ψ_w) DE LAS ACÍCULAS

El potencial hídrico de las hojas de los tratamientos de sequía, al final del experimento en *Pinus greggii* dio un promedio -1.003 MPa; en tanto que el potencial de *Pinus patula* se comportó de forma similar registrando un valor promedio de -1.25 MPa (Cuadro 1).

Ambos tratamientos presentaron una tendencia a disminuir a partir del día tres donde registraron -0.4 y -0.3 MPa, respectivamente; en tanto que el potencial hídrico del suelo para el mismo día registró -0.06 y -0.08 MPa; los valores de potencial hídrico de la hoja para el día seis fueron de -1.75 y -1.95 MPa respectivamente; mientras que el potencial del suelo presentó -1.5 y -1.6 MPa; y después de aplicar el riego de recuperación; se observó un aumento, destacando la recuperación rápida de *Pinus greggii* el cual registró un valor de -0.45 MPa; mientras que *Pinus patula* solo registró -1.0 MPa además de ser lenta su recuperación después del riego. Donde destacó el mismo valor de potencial hídrico del suelo que fue de -0.01 MPa (Cuadro 1).

Los resultados obtenidos coinciden con Landis *et al.* (1989) citado por Prieto, (2004), quienes indican que cuando la humedad del sustrato se mantiene alta, las plantas no son afectadas por escasez de agua al estar fácilmente disponible, lo cual sucedió en los tratamientos de riego continuo.

A pesar de que las especies tienen diferente sensibilidad al estrés hídrico; Landis *et al.* (1989); Prieto, (2004) recomiendan regar cuando el potencial hídrico disminuye por debajo -0.5 MPa, condición

prevaleciente en ambas especies hasta el día tres del inicio del experimento.

Potenciales hídricos entre -0.5 y -1.5 MPa son considerados como moderados y es recomendable mantener estos niveles en caso de que se requiera reducir el crecimiento, inducir al letargo, incrementar la resistencia al frío y favorecer la lignificación de las plantas (Lopushinsky, 1990 citado por Prieto, 2004), situación que destaca en el lapso del día tres al cinco donde el potencial hídrico de ambas especies no afecta la supervivencia de las mismas.

Cuando el estrés hídrico varía -1.0 y -1.5 MPa se restringe el crecimiento, aunque Cleary *et al.* (2003, citado por Prieto 2004) manifiestan que las coníferas pueden soportar altos niveles de estrés hídrico y valores de hasta -1.2 MPa que no afectan el crecimiento.

En nuestro caso esta situación es viable, ya que para el día cinco, ambas especies presentan valores de -1.4 y -1.3 MPa, pero no sabemos en qué medida se afectó el crecimiento de las plantas; aunque si encontramos que la conductancia estomática y la tasa de asimilación fueron afectadas disminuyendo conforme decrece el potencial hídrico de la planta. Para el caso *Pinus patula* el daño fue severo ya que no pudo recuperarse.

Cuando el potencial hídrico de la planta varía entre -1.5 y -2.5 MPa se entiende que el estrés es severo y existe el riesgo que las plantas sufran daños, esto hace que la mayoría de las plantas cierren los estomas para evitar su desecación. Además reducen las tasas de fotosíntesis y disminuye el crecimiento (Lopushinsky, 1990; CEFORA, 1994; Humara *et al.*, 2002; Cleary *et al.*, 2003; Thie y Manninen, 2003; Rahman *et al.*, 2003 citados por Prieto 2004). En este experimento, el potencial hídrico

disminuyó hasta -1.95 MPa, y se detectaron daños físicos evidentes que provocaron marchitamiento de la yema apical, amarillamiento y muerte en algunas plantas; caso contrario al experimento de Prieto (2004) quien sometió a *Pinus engelmannii* a estrés hídrico fluctuante entre -2.0 y -2.3 MPa sin sufrir daños; éste mismo hecho fue reportado por Cornejo (1999) citado por Prieto,(2004) quien experimentó con la misma especie sometiéndola a estrés moderado de -1.4 MPa. Aunque, Villar *et al.* (1997a) y Villar *et al.* (1997b) citados por Prieto (2004) encontraron que en *Pinus halepensis* Mill. se incrementó la resistencia a déficits de humedad al someterlas a estrés hídrico de hasta -2.2 MPa.

Esta última aseveración coincide con los resultados, donde destaca que ambas especies resisten a potenciales hídricos de -1.75 y -1.95 MPa y pueden recuperarse al aplicarles un riego de recuperación.

Aunque no se realizó un estudio del grado de afectación del crecimiento solo destaca que son resistentes a potenciales hídricos inferiores a -1.5 MPa.

La resistencia de las plantas al estrés hídrico también debe considerar la procedencia de la especie; estudios realizados por Cregg y Zhang (2001) en *Pinus sylvestris* L., Calamassii *et al.*, (2001) en *Pinus halepensis*, Martínez *et al.*, (2002) en *Pinus leiophylla* y Prieto (2004) en *Pinus engelmannii*, encontraron que la planta proveniente de sitios más secos, tienen mayor resistencia al estrés hídrico.

En nuestro caso concuerda para *Pinus greggii* donde destacó por su resistencia a la sequía; disminuyendo tasa de conductancia estomatosa y de asimilación de CO₂, restableciéndolas después del riego de recuperación.

Cuadro 1.- Potencial Hídrico de las acículas de *Pinus greggii* y *Pinus patula* en condición de sequía simulada (MPa)

(Ψ) Mpa		
Día	<i>Pinus greggii</i>	<i>Pinus patula</i>
sequía		
1	-	-
3	-0.40	-
5	-1.4	0.30 -1.3
6	-1.75	-
7	-1.5	1.95 -1.6
RECUPERACION		
9	-0.52	-1.2
10	-0.45	-1.0

5.2.2 POTENCIAL HÍDRICO EN EL SUELO.

Se observó que el potencial hídrico del suelo, de ambas especies tuvo la misma tendencia; a partir del día uno se registraron valores promedio de -0.01 MPa, y con una tendencia a la baja más o menos constante hasta el día cinco; cuando disminuyó drásticamente hasta registrar un valor de -1.5 MPa; para *Pinus greggii*; y -1.6 MPa en *Pinus patula*. Después del riego de recuperación ambas especies se recuperaron de forma similar hasta alcanzar el mismo valor que fue de -0.01 MPa al final del experimento.

Cuando se inició el experimento la humedad del sustrato de *Pinus greggii* y *Pinus patula* fluctuó de -0.01 a -0.07 MPa, el potencial hídrico de la hoja presentó -0.4 y -0.3 MPa e incluso cuando el potencial del suelo disminuyó hasta -0.6 y -0.5; el estrés hídrico de las plantas aumentó sólo 1 MPa en ambas especies. De acuerdo a la tendencia decreciente del potencial del suelo, el potencial hídrico de las hojas presentó la misma tendencia, haciéndose más notorio que al disminuir el potencial hídrico del suelo, este influye directamente sobre el potencial hídrico de la planta (Cuadro 2).

Cuadro 2. Potencial Hídrico del suelo de plantas de *Pinus greggii* y *Pinus patula* bajo sequia simulada (MPa)

(Ψ_m) (MPa)		
Día	<i>Pinus greggii</i>	<i>Pinus patula</i>
		sequía
1	<-0.01	<0.0 1
3	-0.06	- 0.08
5	-0.6	-0.5
6	-1.5	-1.6
7	-1.1	-1.2
		RECUPERACIÓN
9	-0.03	- 0.05
10	<0.01	<0.0 1

5.3 DETERMINACIÓN DE PROLINA

El contenido inicial en las dos especies pinos estudiadas no presentó diferencia estadística significativa, presentando un contenido promedio de 23.39 y 20.01 $\mu\text{moles g}^{-1}$ p.s. para *Pinus greggii* y *Pinus patula*, respectivamente (Cuadro 3). La tendencia en ambas especies fue la de aumentar sus niveles conforme disminuía el potencial hídrico, en tanto que las plantas mantenidas con riego continuo, de manera general, conservaron los niveles iniciales del aminoácido. En el día seis se dió un riego de recuperación hasta alcanzar la capacidad de campo y se observó que en ambas especies aumentó la concentración siendo ligeramente mas alta en *Pinus patula*. Para el día siete se agudizó la diferencia entre estas especies, por un cambio muy drástico en los niveles de prolina (Cuadro 3). Este mismo comportamiento lo encontró Vance (1990) en acículas de plántulas de *Pinus ponderosa* sujetas a sequía quien observó que ésta induce un incremento total en la concentración de aminoácidos, entre ellos la prolina.

Según Bogess *et al.*, (1976, citado por Reyes, 2002), la prolina se acumula en condiciones de sequía, y se especula que puede contribuir con la acumulación de solutos en el ajuste osmótico (Hanson *et al.*, 1977; Barrientos y Rodríguez, 1994 citados por Reyes 2002). En condiciones de déficit hídrico se ha encontrado esta respuesta en diferentes especies; siendo mayor su acumulación en el citoplasma de las células (Reyes, 2002).

En el experimento presente, la acumulación de este aminoácido no parece estar ligada a la resistencia a la sequía, ya que apareció en mayor concentración en *Pinus patula*, especie que no se considera resistente a la sequía. Además es importante resaltar que las plantas de

esta especie, fueron la que mas produjeron este aminoácido y que aparentemente tuvieron las tasas mas bajas de conductancia estomática y de asimilación de CO₂

Se ha pensado que la síntesis de este aminoácido bajo condiciones de estrés puede conferir alguna característica de resistencia a otras especies (Aspinall y Paleg, 1981 citados por Reyes, 2002); sin embargo también se ha encontrado que especies que son resistentes a sequía son las que producen menor cantidad de este compuesto (Andrade *et al*, 1985 citados por Reyes, 2002).

Cuadro 3 Niveles de prolina en acículas de *Pinus greggii* y *Pinus patula* en dos condiciones de Humedad ($\mu\text{moles g}^{-1}$ p.s.)

Día	<i>Pinus greggii</i>		<i>Pinus patula</i>	
	Sequía	Riego	Sequía	Riego
1	23.39 ^z cd	23.39 cd	20.01 cd	20.01 cd
3	30.03 cd	-	32.15 cd	-
6	49.37 cd	8.33 d	55.67 bc	9.68 d
7	101.22 b	15.98 cd	172.04 a	12.65 d

^z letras iguales entre los tratamientos indican igualdad estadística ($\alpha=0.05$)

En relación a los resultados de esta investigación contrario a lo que se pensó al inicio del experimento, *Pinus patula* produjo la mayor concentración de prolina en el tratamiento de sequía, lo cual no le ayudó para tolerar la sequia experimental, esto nos lleva a concluir que *Pinus greggii* tiene una mayor tolerancia a la sequía aunque la concentración

de este aminoácido sea menor. Lo anterior coincide con lo expresado por Tymms y Gaff, 1979, en el sentido de que mencionan que la habilidad de las plantas para recuperarse después de la desecación no es atribuible a la acumulación de prolina libre. Así lo corrobora un estudio realizado en planta de Té por BoQian (1995), donde se destaca que la prolina se acumuló en las hojas de todos los cultivos y no hubo correlación entre los cambios en el contenido de prolina y tolerancia a la sequía en los cultivos.

Lo anterior puede indicar, sin ser concluyente, que aunque es claro que los niveles de prolina aumentan significativamente y que pueden contribuir como metabolito compatible en el ajuste osmótico no determinan su relación a la resistencia a la sequía en las especies estudiadas.

6. CONCLUSIONES

Se encontró una capacidad diferencial en cuanto a la respuesta estomatal e intercambio de gases en *Pinus greggii* y *Pinus patula*.

Pinus greggii parece ser mas resistente a la sequía debido a su alta capacidad de recuperación en la tasa de asimilación de CO₂, después del riego de recuperación, en tanto que *Pinus patula* pierde dicha habilidad.

La concentración de Prolina, no se correlacionó con una mayor resistencia a la sequía, aunque ante la falta de agua las dos especies estudiadas tienden a incrementar sus niveles iniciales.

Los resultados obtenidos pueden explicar de manera parcial la diferencia en cuanto a resistencia en las especies estudiadas; es decir, ésta diferencia estaría dada por su capacidad de apertura y cierre de estomas con un efecto directo en la capacidad de realizar fotosíntesis neta. Sumando a lo anterior podría pensarse en una inactivación del aparato fotosintético en *Pinus patula*. Lo anterior no implicaría una alteración a nivel celular, dado que mantiene otras capacidades como la de producir altas cantidades de prolina.

7. RECOMENDACIONES

- El fenómeno de la resistencia es un complejo mecanismo que involucra muchas rutas metabólicas asociadas, por lo que es importante ampliar el rango de respuestas medidas y así poder explicarlo de mejor manera. Así mismo, es conveniente ampliar los estudios a nivel genético para identificar los genes involucrados en la resistencia y dar una respuesta integral al evento fisiológico en *Pinus greggii* y *Pinus patula*.
- Se recomienda realizar investigaciones similares entre la misma especie de diferentes procedencias.

8. BIBLIOGRAFIA

- Alam, S. M. 1994. Nutrient uptake by plants under stress conditions. *In*: M. Pessaracki (Ed.) Handbook of plant and crop stress. Marcel Decker, Inc. New York. pp: 227-246.
- Barnett, N. M. and W. A. Naylor. 1966. Aminoacid and protein metabolism in Bermuda grass during water stress. *Plant Physiology* 41 (7): 1222-1230.
- Bates, L. M. and A. E. Hall. 1981. Stomatal closure with soil water depletion not associated with changes in bulk leaf water status. *Oecologica* 50: 62-65.
- Bates, L. S. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Cell and soil* 39:205-207.
- Blake, T. J. y Li Jiyue. 1999. Effects of repeated cycles of dehydration-rehydration on gas exchange and water use efficiency of seedlings. *Journal of Beijing Forestry University* 3(21):1-8.
- BoQian, W. and GenSheng, P. 1995. Studies on physiological and chemical respnse to water stress in tea plant. *Journal of Zhejiang Agricultural University* 5(21):451-456.
- Brix, H. 1979. Effects of plant water stress on photosynthesis and survival of four conifers. *Canadian Journal of Forest Research* 2:160-165.
- Cabrera, H. 2002. Respuestas ecofisiológicas de plantas en ecosistemas de zonas con clima mediterráneo y ambientes de altamontaña. . *Rev. chil. hist. nat.* [online]. Sep.,2002 vol.75, no.3 [citado 22 Mayo 2005], p.625-637. Disponible en la World Wide Web
- Cetina, A. V.M., Gonzalez, H. V. A. y Vargas, H. J. J. 1999. El manejo en vivero de *Pinus greggii* y la calidad de planta. *Agrociencia* 4(33):423-430.
- Cetina-Alcalá, V. M., González, H. V., Ortega, D. M., Vargas, H. J. y Villegas, M. A., 2002. Supervivencia y crecimiento en campo de *Pinus greggii* Engelm. Previamente sometido a podas o sequía en vivero. *Agrociencia* 36: 233-241.

- Choi, H.S. 1992. Variation in water potential components among half-sib families of shortleaf pine "*Pinus echinata*" in response to soil drought. *Canadian Journal of Forest Research* 1(22):111-116.
- Cuevas, R. y Cervantes, M. A. S. 1981. Análisis radicular de *Pinus hartwegii*, *Abies religiosa*, *P. montezumae*, *P. ayacahuite* var. *Veitchii* y de algunas especies herbáceas en relación con la humedad y otras propiedades del suelo. Tesis profesional. Facultad de Ciencias. UNAM, México. 149 p.
- Driessche, R. 1991. Influence of container nursery regimes on drought of seedlings following planting. II Stomatal conductance, specific leaf area, and root growth capacity. *Canadian Journal of Forest Research* 5(21):566-572.
- Farghuan, G. D. and Sharkey, T. D. 1982. Stomatal conductance and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology* 33: 317-345.
- Granados-Sánchez, D., López, R. G. F., Gama y Flores, J. L., 1998. Adaptaciones y estrategias de las plantas de zonas áridas. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del ambiente* 4(1): 169-178.
- Griffiths, H., and Parry, A. J. 2002 Plant Responses to water stress. *Annals of Botany* 89:801-802.
- Hare, P. D. and Cress, W. A. 1997. Metabolism implications of stress-induced proline accumulation in plants. *Plants Growth Regulation* 21:79-102.
- Heuer, B. 1999. Osmoregulatory Role of Proline in Plants Exposed to Environmental Stresses. *In: Pessarakli, M. (ed.). Handbook of Plant and Crop Stress. Second edition. University of Arizona Tucson, Arizona. Pp. 675-688.*
- Inclan, R., Alonso, R., Pujadas, M., Terés, J. y Gimeno, B. S. 1998. Ozone and drought stress: interactive effects on gas exchange in Aleppo pine *Pinus halepensis* Mill. *Chemosphere* 4/5(36):685-690.
- Kaufmann, M.R. 1979. Stomatal control and the development of water deficit in Engelmann spruce seedlings during drought. *Canadian Journal of Forest Research* 9:297-304.
- Kolb, P. F. y Robberecht, R. 1996. High temperature and drought stress effects on survival of *Pinus ponderosa* seedlings. *Tree Physiology* 8(16):665-672.

- Kozlowski, T. T. 1982. Water supply and the tree growth. Part I. Water deficits. *For. Abs.* 43(2):57-95.
- Kramer, P. J. 1980. Drought, stress and the origin of adaptations. *In: Adaptations of plants to water and high temperature stress.* Turner, N. C. and P.J. Kramer eds. Wiley-Interscience. New York. pp: 7-20.
- Kramer, P. J. 1988. Changing concepts regarding plant water relations. *Plant Cell and Environment* 11: 556-568.
- Kramer, P. J. and Kozlowski, T. T. 1979. *Physiology of woody plants.* Academic Press. New York. 811 p.
- Larqué-Saavedra, A. 1980, *Fisiología Vegetal experimental el agua en las plantas.* 1º edición; C.P. Chapingo, México. Pp.63.
- Levitt, J. V. 1980. *Response of plant to environmental stresses.* 2nd edition, vol. 2. Academic Press. New York. 697 p.
- Mansfield, T. A. and Atkinson, C. J. 1990. Stomatal behaviour in water stressed plants. *In: Stress Responses in Plants: Adaptation and acclimation mechanism.* Wiley-Liss, Inc. pp 241-264.
- Martinez, T. T., 2001. *Respuesta al déficit hídrico en plantulas de Pinus leiophylla Schl et Cham de distintas poblaciones.* Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. Pp. 2-20.
- Naqvi, S. S. M. 1994. Plant hormones and stress phenomena. *In: M. Pessaracki (ed.) Handbook of plant and crop stress.* Marcel Decker, Inc., New York. 383-400.
- Passioura, J. B. 1981. Water collection by roots. *In: L.A. Paleg and D. Aspinall (eds.). The physiology and biochemistry of drought resistance in plants.* Academic press. Australia. pp 39-53.
- Pérez, G. F. y Martínez, L. J. B. 1994. *Introducción a la Fisiología Vegetal.* 1º edición; Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. Pp.32, 45 y 54.
- Prieto, R. J. A., 2004. *Factores que influyen en la producción de planta de Pinus spp. en vivero y en su establecimiento en campo.* Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias Forestales. Universidad Autónoma de Nuevo León. Linares, Nuevo León. México. Pp. 32-46.

- Reyes, S. M. I. 2002. Anatomía del sistema de conducción de agua y respuesta fisiológica de aguacatero (*Persea americana* Mill.) en condiciones limitantes de humedad. Tesis Doctoral. Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. Pp. 4.
- Rust, S. 2000. Studies on drought stress in Scots pine stands with varying nitrogen levels in northeast Germany. *Allgemeine Forst- und Jagdzeitung* 4(171):61-67.
- Salisbury, F. B. y Ross, C. W. 1994. Fisiología Vegetal. Grupo Editorial Interamérica. USA. Pp. 31, 127-139 y 639.
- Samaras, Y., Bressan, R.A., Csonka L.N., García-Ríos, Paino D'Urzo, M., Rhodes, D. 1995. proline accumulation during water deficit. In: Smirnoff, N., ed. Environment and plant metabolism. Flexibility and acclimation. Oxford: Bios Scientific publishers.
- Sánchez-Díaz, M. y Aguirreolea, J. 2000. Relaciones Hídricas. In: Fundamentos de Fisiología Vegetal. Azcón-Bieto j. y Talón M. (Eds). McGraw-Hill /Interamericana. Madrid, España. Pp. 17-64.
- Sauter, A., Davies, W. J. and Wolfram, H. 2001. The long-distance abscisic signal in the droughted plant: the fate of the hormone on its way from root to shoot. *Journal of Experimental Botany* 52(363): 1991-1997.
- Singh, T. N., Paleg L.G. and Bogess, S. F. 1973. Stress metabolism. II. Changes in proline concentration in excised plant tissues. *Australian Journal of Biological Science* 26: 57-63.
- Smirnoff, N. Cumbes, Q.J. 1989. Hidroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry* 28:1057-1060.
- Solarte, C. M. 1992. Efectos de estrés hídrico en la fisiología y actividades fotoquímicas del frijol. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. Pp. 3.
- Sudachkova, N. E., Romanova, L. I., Milyutina, I. L., Kozhevnikova, N N. y Semenova, G. P. 1994. Effects of natural stress factors on level and distribution of carbohydrates in tissues of Scots pine in Siberia. *Lesovedenie* 6:3-9.
- Tadeo, F. R. 2000. Fisiología de las plantas y el estrés. In: Fundamentos de Fisiología Vegetal. Azcón-Bieto j. y Talón M. (Eds). McGraw-Hill /Interamericana. Madrid, España. Pp. 17-64.

- Tausz, M., Wonisch, A., Peters, J., Jimenez, M. S., Morales, D. y Grill, D. 2001. Short-term changes in free radical scavengers and chloroplast pigments in *Pinus canariensis* needles as affected by mild drought stress. *Journal of Plant Physiology* 2(158):213-219.
- Tymms, M. J. and Gaff, D. 1979. Proline Accumulation during Water stress in Resurrection Plants. *Journal of Experimental Botany* 114(30):165-168.
- Vargas, H. 1985. Respuesta a la sequía de cuatro especies de *Pinus* en estado de plántula. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. Pp. 3-23.
- Vance, N. C. y Zaerr, J. B. 1990. Analysis by high-performance liquid chromatography of free amino acids extracted from needles of drought-stressed and shaded *Pinus ponderosa* needles. *Physiologia Plantarum* 1(79):23-30.
- Velásquez, M. A. 1984. Estudio de algunos factores que influyen en la regeneración natural de *Pinus hartwegii* Lind., en Zoquiapan, México. Tesis M.C. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. Pp. 123.
- Walton, D. C., Harrison, M. A. and Coté, P. 1976. The effect of water stress on abscisic-acid levels and metabolism in roots of *Phaseolus vulgaris* L. and other plants. *Planta* 131: 141-144.
- Wellburn, F. A. M., Lau Kakeung, Milling, P. M. K. y Wellburn, A. R. 1996. Drought and air pollution affect nitrogen cycling and free radical scavenging in *Pinus halepensis* Mill. *Journal of experimental Botany* 302(47):1361-1367.
- Whitehead, D., Sheriff, D. W. and Greer, D. H. 1983. The relationship between stomatal conductance, transpiration rate and tracheid structure in *Pinus radiata* clones at different water vapor saturation deficits. *Plant Cell and Environment* 6: 703-710.
- Zacarías, L., Lafuente y Talón, M. 2000. Etileno, Ácido abscísico y otros reguladores del desarrollo. *In: Azcón-Bieto J. y Talón M. (Eds) Fundamentos de Fisiología Vegetal.. McGraw-Hill /Interamericana. Madrid, España. Pp. 481-498.*
- Zavitkovski, J. and Ferrell, E. K. 1970. Effect of drought upon rates of photosynthesis, respiration and transpiration of seedlings of two ecotypes of Douglas-Fir. II. Two year old seedlings. *Photosynthetica* 4: 58-67.

Zhang, J. and Davies, W. J. 1989. Abscisic acid produced in dehydrating roots may enable the plant to measure the water status of the soil. *Plant Cell and Environment* 12: 73-81.