

ADAPTACIONES A LA SEQUÍA EN ALBAIDA MICORRIZADA

N. GOICOECHEA, S. MERINO Y M. SÁNCHEZ-DÍAZ

Departamento de Fisiología Vegetal. Facultades de Ciencias y Farmacia. Universidad de Navarra. c/Irunlarrea, s/n.

E - 31008 Pamplona (España). e-mail: niegoi@unav.es

RESUMEN

Anthyllis cytisoides L. (albaida) es una leguminosa arbustiva distribuida en ecosistemas mediterráneos del Sureste español, donde se aprovecha como forraje para el ganado. Las precipitaciones irregulares, las altas temperaturas estivales y otros factores antropológicos han provocado un deterioro de la cubierta vegetal y una subsecuente erosión del suelo en estas áreas. En condiciones naturales, los hongos micorrícicos son fundamentales para el correcto crecimiento de *A. cytisoides*. Además, se sabe que la albaida evita la sequía, siendo la defoliación una de las estrategias desarrolladas ante la escasez de agua. Por todo ello, los objetivos de nuestro trabajo fueron: (1) estudiar las adaptaciones desarrolladas por *A. cytisoides* sometida a diferentes grados de déficit hídrico y posterior rehidratación y (2) comprobar si la micorrización favorece las estrategias exhibidas por *A. cytisoides* frente a la sequía. Los resultados mostraron que la micorrización es más beneficiosa para *A. cytisoides* cuando las plantas crecen bajo un déficit hídrico severo y prolongado. Después de 20 días de sequía intensa, se constató una reducción en la altura de las plantas, que fue más evidente en aquéllas no micorrizadas. La escasez prolongada de agua también afectó negativamente a la producción de ramas laterales. Por el contrario, una posterior rehidratación favoreció la aparición de nuevos brotes, lo que reviste interés dada la capacidad fotosintética de los tallos jóvenes. La senescencia foliar se aceleró como consecuencia de la sequía prolongada y las mayores tasas de defoliación correspondieron a las plantas micorrizadas. Además, las plantas asociadas al hongo micorrícico mostraron una elevada deposición de ceras sobre la superficie de las hojas que permanecieron unidas a los tallos durante el periodo de sequía. La combinación de ambas estrategias (defoliación y deposición de ceras epicuticulares) permitiría a las plantas micorrizadas reducir las tasas totales de transpiración y respiración durante un periodo prolongado de sequía.

Palabras clave: Ceras, déficit hídrico, defoliación, *Anthyllis cytisoides* L., hongos micorrícicos.

INTRODUCCIÓN

Los ecosistemas mediterráneos están sujetos a condiciones ambientales extremas, entre las que destacan los veranos secos y prolongados seguidos de fuertes lluvias (Blanca y Morales, 1991). Estas precipitaciones irregulares, combinadas con altas temperaturas y factores antropológicos, han derivado en un progresivo deterioro de la cubierta vegetal, con la subsecuente erosión del suelo, pérdida de minerales y elevadas tasas de evapotranspiración. En estas áreas, las leguminosas constituyen un componente clave en la sucesión natural (Herrera *et al.*, 1993; Azcón y Barea, 1997). Entre ellas destaca *Anthyllis cytisoides*, comúnmente denominada albaída, que forma matas o arbustos que alcanzan los 150 cm de altura. Crece sobre suelos margosos y florece y fructifica de Abril a Junio. Su distribución natural abarca el Sur de Francia, el Noroeste africano (Marruecos y Argelia) y el Este y Sur de la Península Ibérica. Llega a ocupar miles de hectáreas en Murcia y Almería y ha llegado a utilizarse como forraje para el ganado ovino y caprino. A pesar de su escaso contenido proteico y baja digestibilidad, su aceptación por el ganado es bastante buena (Robledo *et al.*, 1991).

Varios estudios han demostrado que *A. cytisoides* es también una especie interesante en programas de revegetación de áreas desertizadas. La utilización de esta leguminosa arbustiva asociada con microorganismos simbioses mejora tanto la fertilidad como la calidad del suelo, ya que promueve el incremento en el contenido de nitrógeno y de materia orgánica y mejora la estabilidad de los agregados del suelo (Requena *et al.*, 1997, 2001). Entre los citados simbioses cabe destacar la asociación de *A. cytisoides* con hongos micorrícicos. Se ha comprobado que, en condiciones naturales, estos hongos son fundamentales para el correcto crecimiento y nutrición mineral de la albaída (López-Sánchez y Honrubia, 1992; López-Sánchez *et al.*, 1992; Díaz y Honrubia, 1995).

A pesar de ser una especie vegetal muy extendida en ecosistemas mediterráneos áridos o semiáridos, la albaída parece estar peor adaptada a las inclemencias climáticas que otras especies que se desarrollan en los mismos hábitats (Haase *et al.*, 2000). Quizás sea este otro motivo por el cual *A. cytisoides* es una planta altamente micorrícica. Es bien conocido que la asociación micorrícica aumenta la resistencia de las plantas frente a la sequía (Sánchez-Díaz y Honrubia, 1994). Hace dos décadas, Nelsen y Safir (1982) señalaron que las micorrizas pueden mejorar el estado hídrico de las plantas sometidas a sequía como consecuencia de una mayor absorción de fósforo del suelo. Aunque esta hipótesis ha sido demostrada muchas veces, diversos estudios han sugerido que las micorrizas también pueden influir en la toma de agua del suelo mediante una absorción directa por las hifas fúngicas (Ruiz-Lozano y Azcón, 1995), una modificación de la arquitectura radical (Kothari *et al.*, 1990) y/o una reducción de la resistencia de la raíz al transporte de agua (Andersen *et al.*, 1988).

En vista de que *A. cytisoides* es una especie vegetal que debe enfrentarse periódicamente a condiciones de escasez de agua y es altamente dependiente de los hongos micorrícicos para su desarrollo, los objetivos que se persiguieron en nuestro trabajo fueron los siguientes: (1) estudiar las adaptaciones desarrolladas por *A. cytisoides* sometida a diferentes grados de déficit hídrico y posterior rehidratación y (2) comprobar si la micorrización favorece las estrategias exhibidas por *A. cytisoides* frente a la sequía.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material biológico y condiciones de crecimiento

Las semillas de *A. cytisoides* se escarificaron mediante lijado y se esterilizaron superficialmente utilizando lejía al 10% durante 10 min. Se sembraron cinco semillas en macetas de cinco litros de capacidad que contenían una mezcla de vermiculita, arena y suelo (2,5:2,5:1/ v:v:v). El suelo, con pH de 7,9, 2,32% materia orgánica, 0,17% N total y 36,09% CO₃Ca, se esterilizó en autoclave durante tres días consecutivos. La mitad de las plantas recibieron seis gramos de inóculo micorrícico que contenía esporas, hifas y raíces de plantas de alfalfa crecidas con *Glomus fasciculatum* (Taxter *sensu* Gerd.) Gerdemann y Trappe en el sustrato descrito anteriormente (Goicoechea *et al.*, 2000). Todas las plantas de albarda recibieron la misma solución nutritiva hasta el completo establecimiento del hongo. La solución basal contenía Cl₂Ca 1,5 mM, SO₄Mg 0,25 mM, SO₄K₂ 1 mM, NO₃NH₄ 0,5 mM, K₂HPO₄ 0,05 mM y micronutrientes equivalentes a un cuarto de la solución Hoagland (Bethlenfalvay *et al.*, 1985). A partir de este momento, las plantas no micorrizadas recibieron suplemento de fósforo (K₂HPO₄ 0,1 mM) con el fin de lograr plantas no micorrizadas y micorrizadas comparables en tamaño. Las plantas crecieron en invernadero a 25/15°C día/noche, 50-70% HR y 14 h de fotoperiodo.

Diseño experimental

Cuatro meses después de la siembra, se impuso "sequía progresiva" a 12 macetas inoculadas con el hongo micorrícico y a 12 macetas no micorrizadas, cada una con cuatro o cinco plantas de *A. cytisoides*. Además, otras 12 macetas micorrizadas y 12 macetas no micorrizadas se conservaron como controles bien regados. La "sequía progresiva" consistió en suprimir el riego hasta que el contenido hídrico del sustrato fuese igual a un tercio del contenido en el control (capacidad de campo, CC)(Figura 1). En ese momento, se cosecharon cuatro macetas no micorrizadas y otras cuatro micorrizadas que habían sido sometidas a "sequía progresiva", así como cuatro macetas control no micorrizadas y cuatro macetas control micorrizadas. Durante la "sequía progresiva" el contenido hídrico del sustrato se determinó diariamente con una sonda ThetaProbe tipo ML2

(Delta-T Devices, Cambridge, UK). Las 16 macetas restantes que habían sufrido “sequía progresiva” (ocho no micorrizadas y ocho micorrizadas) se sometieron a continuación a “sequía mantenida”. La “sequía mantenida” consistió en dejar esas plantas durante 20 días con un contenido hídrico en el sustrato equivalente a un tercio de la CC. Para ello, las macetas se pesaron diariamente y el agua evapotranspirada se repuso unas veces con agua y otras con solución nutritiva para evitar un déficit nutricional añadido. Al cabo de los 20 días, se cosecharon cuatro macetas no micorrizadas y cuatro macetas micorrizadas a las que se había aplicado “sequía mantenida”, así como sus correspondientes controles bien regados. Con el fin de comprobar la capacidad de recuperación de *A. cyrtosoides* después de una sequía intensa, las restantes macetas que previamente habían sufrido “sequía mantenida” (cuatro no micorrizadas y cuatro micorrizadas) se regaron hasta CC durante 20 días. Transcurrido ese tiempo, se procedió a su cosecha y a la de sus controles siempre bien regados.

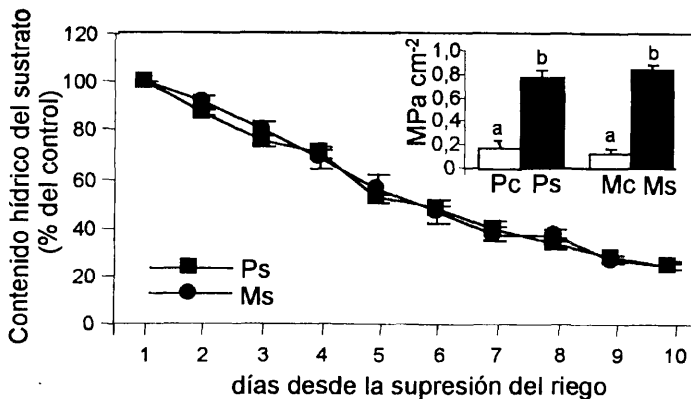


FIGURA 1

Contenido de agua del sustrato en tratamientos no micorrizados (■) y micorrizados (●) durante la sequía progresiva. Los datos se han expresado como porcentajes de los controles bien regados. Los histogramas representan la resistencia a la penetración del sustrato (MPa cm^{-2}) en plantas de albarda no micorrizadas (P) y micorrizadas (M), control (Pc, Mc) o en sequía (Ps, Ms) cuando se alcanzó 1/3 de la capacidad de campo (CC). La coincidencia de letras indica que los datos no difieren significativamente ($p \leq 0,05$).

Evolution of soil water content in non-mycorrhizal (■) and mycorrhizal (●) treatments during the progressive drought. Values are expressed as percentages of well-watered controls.

Histograms show the soil mechanical resistance to penetration (MPa cm^{-2}) in non-mycorrhizal (P) and mycorrhizal (M) treatments, control (Pc, Mc) or subjected to drought (Ps, Ms) when the soil water content achieved 1/3 of field capacity (FC). Histograms with the same letter indicate that values are not significantly different ($p \leq 0.05$).

Parámetros de crecimiento y micorrización

La cantidad de materia seca de raíz, tallo y hojas se determinó después de secar el material en estufa a 80°C durante 48 horas. El porcentaje de colonización micorrícica se estimó de acuerdo con Hayman *et al.* (1976).

Microscopía electrónica

Para la microscopía electrónica de barrido (SEM) las hojas se fijaron con formaldehído, se deshidrataron en soluciones de etanol de concentración creciente y se secaron por el método del punto crítico utilizando dióxido de carbono. Las hojas secas se cubrieron con una fina película de oro antes de examinarse al microscopio.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de la varianza de dos factores (ANOVA) con el fin de separar la varianza entre los efectos principales y la interacción entre los factores "micorrización" y "sequía". Las medias y los errores estándar fueron evaluados mediante el test t-Student.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Es bien conocido el efecto positivo de la micorrización sobre el crecimiento y la nutrición de las plantas asociadas a estos hongos. Asimismo, se ha comprobado que este efecto beneficioso es aún más patente cuando las plantas se enfrentan a situaciones adversas, la sequía edáfica entre ellas (Sánchez-Díaz y Honrubia, 1994). No obstante, la escasez de agua en el suelo y las características de la sequía (duración, intensidad, etc) también pueden ejercer una importante influencia sobre la propia flora micorrícica del suelo, su diversidad, el ciclo vital de estos hongos y la colonización de las raíces que crecen en ese área (Augé, 2001). Diversas investigaciones han demostrado que el déficit hídrico puede tener consecuencias totalmente diferentes sobre el porcentaje de micorrización de las plantas, puesto que éste puede aumentar o, por el contrario, reducirse. En nuestro estudio, la micorrización disminuyó tanto bajo sequía progresiva como bajo sequía mantenida (Figura 2), posiblemente debido a la alta compactación del sustrato (Figura 1). Asimismo, es posible que existan diferencias en el comportamiento de los distintos géneros y especies de hongos micorrícicos cuando escasea el agua del suelo. Goicoechea *et al.* (1995, 1997) observaron que la colonización de las raíces de alfalfa por parte de *Glomus fasciculatum* puede disminuir con la presencia de sequía edáfica.

Dada la lenta tasa de crecimiento de la albaida (Haase *et al.*, 2000), fueron necesarios 20 días de sequía para observar una reducción significativa en la altura de la parte aérea (Figura 3), siendo este efecto más evidente en las plantas no micorrizadas. Varios autores (ver Augé, 2001) han comprobado que el crecimiento de las plantas micorrizadas resulta menos inhibido por las señales hídricas producidas bajo sequía que el de las plantas no asociadas a estos hongos. La escasez prolongada de agua también redujo la producción de ramas laterales (Figura 3). Por el contrario, durante el periodo de recuperación, aparecieron nuevos brotes, lo que reviste interés dado que los tallos jóvenes son fotosintéticamente activos (Haase *et al.*, 2000). Estos últimos autores comprobaron que, en la época de defoliación más intensa, las hojas que permanecen unidas a los tallos representan, aproximadamente, un 17% del área fotosintética total en la albaida, mientras que ese porcentaje asciende a un 71% durante el periodo primaveral.

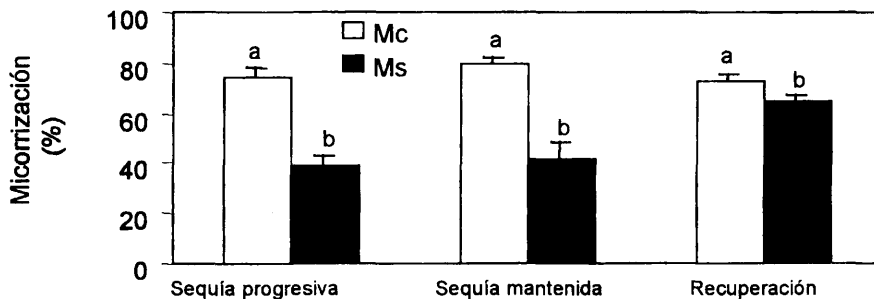


FIGURA 2

Micorrización (%) en plantas de albaida control (Mc)(blanco) o sometidas sólo a sequía progresiva (“sequía progresiva”), a sequía progresiva y posterior sequía mantenida (“sequía mantenida”) o a sequía progresiva, sequía mantenida y posterior recuperación (“recuperación”) (Ms)(negro). Dentro de cada tratamiento, la coincidencia de letras indica que los datos no difieren significativamente ($p \leq 0,05$).

Mycorrhizal colonization (%) in A. cytisoides grown under well-watered conditions (Mc, white colour) or subjected to only progressive drought (“progressive drought”), progressive and subsequent maintained drought (“maintained drought”) or progressive drought, maintained drought and recovery period (“recovery”)(Ms, black colour). Within each treatment the coincidence of letters indicates that values are not significantly different ($p \leq 0.05$).

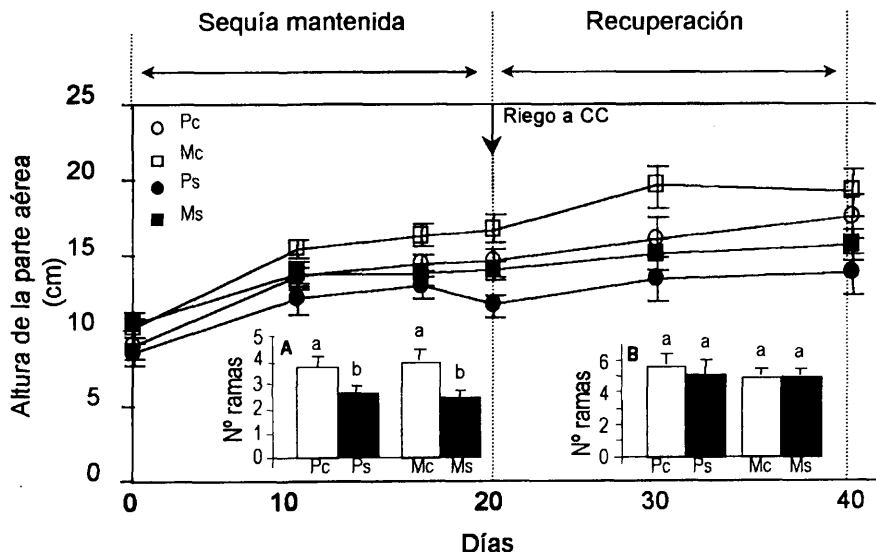


FIGURA 3

Altura de la parte aérea (cm) de plantas de albarda no micorrizadas (P) y micorrizadas (M), sometidas (Ps, Ms) o no (Pc, Mc) a déficit hídrico, durante la sequía mantenida y recuperación. Los histogramas indican el número de ramas secundarias de los tratamientos al final de la sequía mantenida (A) o del periodo de recuperación (B). La coincidencia de letras indica que los datos no difieren significativamente ($p \leq 0,05$).

Shoot height (cm) in non-mycorrhizal (P) and mycorrhizal (M) *A. cytisoides*, grown under well watered conditions (Pc, Mc) or subjected to water deficit (Ps, Ms), during the maintained drought and recovery period. Histograms show the number of secondary shoots at the end of the maintained drought (A) or recovery period (B). The coincidence of letters indicates that values are not significantly different ($p \leq 0.05$).

Las plantas que crecen en regiones áridas se clasifican en especies que escapan, especies que evitan y especies que toleran la sequía (Sánchez-Díaz y Aguirreolea, 2000). Uno de los mecanismos que permite minimizar los efectos lesivos de la falta de agua en los tejidos vegetales es la defoliación. En condiciones naturales, la albarda pierde hojas y parte de los tallos más jóvenes durante el verano y comienza a formar nuevos brotes en otoño (Robledo *et al.*, 1991). En invernadero, la sequía mantenida aceleró y acentuó los procesos de senescencia foliar y defoliación, especialmente en las plantas micorrizadas (Figura 4). Algunos investigadores (Henderson y Davies, 1990; Davies *et al.*, 1996) también han encontrado mayores tasas de abscisión foliar en plantas micorrizadas que en no

micorrizadas bajo condiciones de déficit hídrico, lo que puede interpretarse como una adaptación que permite reducir la pérdida de agua y redistribuir los recursos para una supervivencia prolongada, siendo esta estrategia especialmente importante en especies arbustivas (Kozłowski *et al.*, 1991; Arndt *et al.*, 2001).

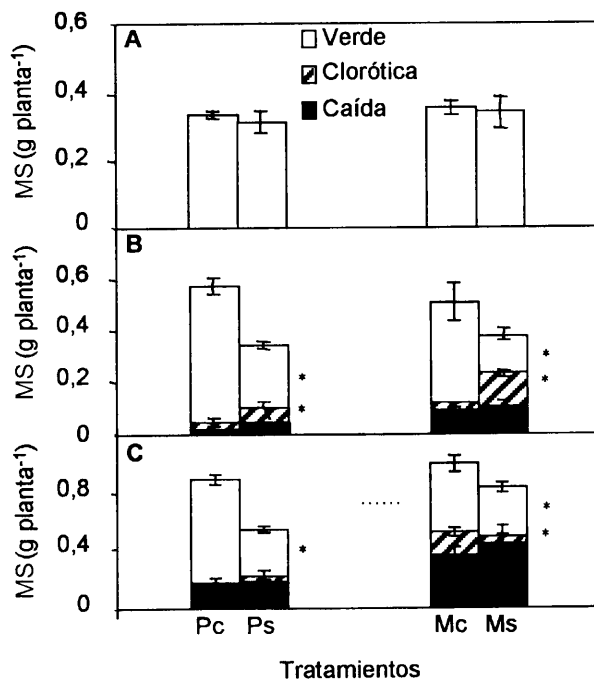


FIGURA 4

Materia seca (MS)(g planta⁻¹) de hoja verde, clorótica o caída en plantas de albaidia no micorrizadas (P) y micorrizadas (M), sometidas (Ps, Ms) o no (Pc, Mc) a déficit hídrico, al final de los periodos de sequía progresiva (A), sequía mantenida (B) o recuperación (C). Los asteriscos indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre las plantas sometidas a cada tratamiento (A, B o C) y sus correspondientes controles bien regados.

Green, chlorotic and fallen leaf dry matter (MS)(g plant⁻¹) in non-mycorrhizal (P) and mycorrhizal (M) A. cytisoides grown under well watered conditions (Pc, Mc) or subjected to water deficit (Ps, Ms), at the end of the progressive drought (A), maintained drought (B) or recovery (C) periods. Asterisks indicate significant differences ($p \leq 0.05$) between the plants subjected to treatments A, B or C and their respective well-watered controls.

Cuando crece en campo, *A. cytisoides* presenta un sistema radical que profundiza varios metros y penetra, incluso, en el interior de fisuras rocosas, por lo que puede explorar amplios volúmenes de suelo y obtener agua de una capa freática profunda (Domingo *et al.*, 1991). Cuando se cultiva en invernadero, el crecimiento de las raíces está limitado por el tamaño de las macetas empleadas. A pesar de haber utilizado recipientes grandes (cinco litros), fue imposible reproducir las condiciones naturales, con lo que determinados factores, tales como la arquitectura radical, se ven necesariamente afectados. Bajo estas condiciones de limitación de espacio y de sustrato, la sequía mantenida no sólo afectó negativamente a la parte aérea, sino que también provocó una importante reducción de la biomasa radical (Figura 5B). Esto podría obedecer a varias causas: (1) la defoliación (Figura 4B) conllevaría menores tasas fotosintéticas a nivel de planta entera y, por consiguiente, una reducción del aporte de carbohidratos y otros compuestos orgánicos a la raíz; (2) la alta compactación del sustrato en condiciones de sequía se tradujo en un incremento de su dureza (Figura 1), lo que provocaría una disminución tanto en la cantidad de agua disponible para las plantas como en la difusión de oxígeno. Masle y Passioura (1987) comprobaron que, cuando las raíces tienen problemas para penetrar en el suelo, puede alterarse la fisiología de la parte aérea e incluso reducirse el cociente raíz/parte aérea. La disminución de la biomasa radical en *A. cytisoides* sometidas a sequía pudo contribuir a mantener el cociente raíz/parte aérea durante el periodo de sequía (Tabla 1), lo que reviste gran relevancia en especies leñosas (Kolowski *et al.*, 1991). Por otro lado, resulta llamativo el fuerte incremento de la razón raíz/parte aérea experimentado por las plantas de albaida rehidratadas después de la sequía (Tabla 1). Posiblemente obedece a la tendencia natural de esta especie a formar un sistema radical potente, de modo que, ante unas condiciones nuevamente favorables, invierte mucha energía en desarrollar la raíz.

El cociente entre las biomásas foliares y de tallo reviste interés en especies forrajeras. En el caso de la albaida, alcanzó valores medios de 3,5 antes de que las plantas iniciasen una senescencia natural y/o acelerada por la sequía (Tabla 1). Cabe destacar que este cociente fue inferior en las plantas micorrizadas, tanto bien regadas como sometidas a déficit hídrico. Bajo sequía mantenida, la explicación residiría en la importante defoliación (Figura 4) experimentada por las plantas asociadas al simbionte. En condiciones de riego adecuado, la explicación habría que buscarla en el hecho de que las plantas micorrizadas mostraron síntomas de senescencia foliar más tempranamente que aquéllas no micorrizadas (Figura 4B,C), lo que demuestra que se hallaban en distinto estado fenológico a pesar de su porte similar. Los estudios llevados a cabo por Haase *et al.* (2000) en campo sugieren que la defoliación sufrida por la albaida, aunque se da principalmente en verano, no es estrictamente estacional, sino que la fenología de la planta está determinada por una gran cantidad de factores ambientales.

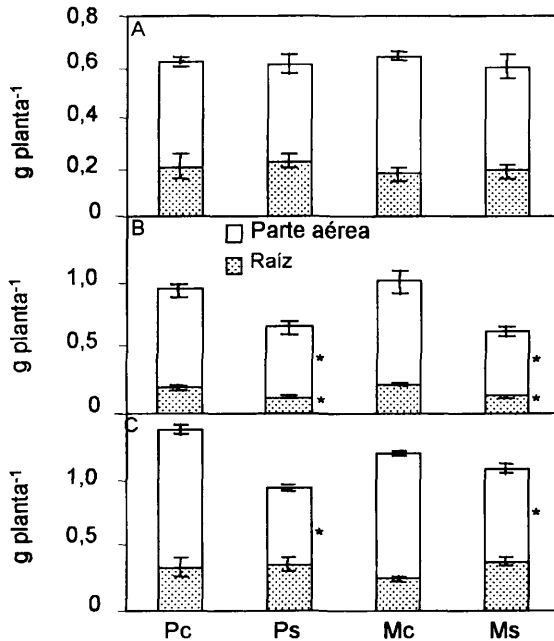


FIGURA 5

Materia seca (MS)(g planta⁻¹) de parte aérea y raíz en plantas de albarda no micorrizadas (P) y micorrizadas (M), sometidas (Ps, Ms) o no (Pc, Mc) a déficit hídrico, al final de los periodos de sequía progresiva (A), sequía mantenida (B) o recuperación (C). Los asteriscos indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre las plantas sometidas a cada tratamiento (A, B o C) y sus correspondientes controles bien regados.

Shoot and root dry matter (MS)(g plant⁻¹) in non-mycorrhizal (P) and mycorrhizal (M) A. cytisoides, grown under well watered conditions (Pc, Mc) or subjected to water deficit (Ps, Ms), at the end of the progressive drought (A), maintained drought (B) or recovery (C) periods. Asterisks indicate significant differences ($p \leq 0.05$) between the plants subjected to treatments A, B or C and their respective well-watered controls.

TABLA 1

Cocientes (g g^{-1}) entre las materias secas (MS) de raíz (R) y parte aérea (Pa) y entre las materias secas de hoja verde y tallo en plantas de albarda no micorrizadas (P) y micorrizadas (M), bien regadas (control) o después de someterlas sólo a sequía progresiva (SP), a sequía progresiva y posterior sequía mantenida (SP + SM) o a sequía progresiva, sequía mantenida y periodo de recuperación (SP + SM + R). Los valores son medias (3-6 valores) \pm SE. La coincidencia de letras dentro de cada columna y tipo de sequía aplicada indica que los datos no difieren significativamente ($p \leq 0,05$).

Root (R) to shoot (Pa) dry matter (MS) and green leaf to stem DM ratio (g g^{-1}) in non-mycorrhizal (P) and mycorrhizal (M) A. cytisoides, grown under well-watered conditions (control) or subjected to only progressive drought (SP), progressive and subsequent maintained drought (SP + SM) or progressive drought, maintained drought and subsequent recovery (SP + SM + R). Values are means ($n = 3-6$) \pm SE. Within each column and drought treatment, the coincidence of letters indicates that values are not significantly different ($p \leq 0.05$).

Tratamientos	MS R/Pa (g g^{-1})	MS hoja verde/tallo (g g^{-1})
P Control	0,34 \pm 0,10 a	3,70 \pm 0,15 a
SP	0,30 \pm 0,07 a	4,05 \pm 0,18 a
M Control	0,32 \pm 0,08 a	2,97 \pm 0,19 b
SP	0,36 \pm 0,04 a	3,17 \pm 0,17 ab
Micorrización	ns	**
SP	ns	ns
Interacción	ns	ns
P Control	0,31 \pm 0,02 ab	2,68 \pm 0,05 a
SP + SM	0,29 \pm 0,02 ab	1,41 \pm 0,08 b
M Control	0,32 \pm 0,02 b	1,77 \pm 0,13 c
SP + SM	0,27 \pm 0,01 a	0,63 \pm 0,02 d
Micorrización	ns	***
SP + SM	ns	***
Interacción	ns	ns
P Control	0,20 \pm 0,02 a	2,26 \pm 0,09 a
SP + SM + R	0,38 \pm 0,03 b	1,66 \pm 0,15 b
M Control	0,21 \pm 0,02 a	1,34 \pm 0,12 bc
SP + SM + R	0,35 \pm 0,02 b	1,00 \pm 0,06 c
Micorrización	ns	***
SP + SM + R	***	**
Interacción	ns	ns

Otra estrategia que desarrolló *A. cytisoides* sometida a sequía mantenida fue el importante incremento de las ceras epicuticulares en el envés foliar, si bien esta adaptación morfológica únicamente se observó en las plantas micorrizadas (Tabla 2). El espesor y la composición de estas ceras puede modificarse como consecuencia del déficit hídrico (Jenks *et al.*, 2001), lo que no sólo puede reducir la pérdida directa de agua a través de las células epidérmicas, sino que también incrementa la reflexión de la luz y la resistencia que ofrece la capa límite (Sánchez-Díaz *et al.*, 1972; Jeffree, 1986).

TABLA 2

Ceras epicuticulares en el haz y el envés de plantas de albaida no micorrizadas (P) y micorrizadas (M), bien regadas (control) o sometidas a sequía progresiva y posterior sequía mantenida (SP + SM). La cosecha se realizó al final del periodo de sequía mantenida. +, ++ y ++++ significan, respectivamente, presencia de ceras en pequeñas, medianas y muy grandes cantidades.

Cuticular waxes on the adaxial and abaxial leaf surfaces of non-mycorrhizal (P) and mycorrhizal (M) A. cytisoides, grown under well-watered conditions (control) or subjected to progressive and subsequent maintained drought (SP + SM). Harvest took place at the end of maintained drought. +, ++ and ++++ indicate, respectively, little, medium or great presence of cuticular waxes.

Tratamiento	Haz	Envés
P Control	+	++
SP + SM	+	++
M Control	+	++
SP + SM	++	++++

CONCLUSIONES

Al igual que lo observado en campo, *A. cytisoides* se comporta en invernadero como una especie que evita la sequía mediante estrategias encaminadas a reducir la pérdida de agua por transpiración. Entre estas adaptaciones destaca la defoliación, que no sólo puede minimizar la transpiración total de la planta, sino también la tasa respiratoria. La micorrización contribuyó a la adaptación de la albaida ante un déficit hídrico severo y prolongado, ya que las plantas asociadas al simbionte mostraron mayor abscisión foliar y una elevada deposición de ceras sobre la superficie de las hojas que permanecieron unidas a los tallos durante el periodo de sequía.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSEN, C. P.; MARKHART, A. H. III.; DIXON, R. K.; SUCCOFF, E. I., 1988. Root hydraulic conductivity of vesicular-arbuscular mycorrhizal green ash seedlings. *The New Phytologist*, **109**, 465-471.
- ARNDT, S. K.; CLIFFORD, S. C.; WANEK, W.; JONES, H. G.; POPP, M., 2001. Physiological and morphological adaptations of the fruit tree *Ziziphus rotundifolia* in response to progressive drought stress. *Tree Physiology*, **21**, 705-715.
- AUGÉ, R. M., 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*, **11**, 3-42.
- AZCÓN, R.; BAREA, J. M., 1997. Mycorrhizal dependency of a representative plant species in Mediterranean shrublands (*Lavandula spica* L.) as a key factor to its use for revegetation strategies in desertification-threatened areas. *Applied Soil Ecology*, **7**, 83-92.
- BETHLENFALVAY, G. J.; BROWN, M. S.; STAFFORD, A. E., 1985. *Glycine-Glomus-Rhizobium* symbiosis. II. Antagonistic effect between mycorrhizal colonization and nodulation. *Plant Physiology*, **79**, 1054-1058.
- BLANCA, G.; MORALES, C., 1991. Impactos sobre la flora y medidas de protección. En: *Flora del Parque Natural de la Sierra de Baza*, 349-362. Servicio de Publicaciones de la Universidad de Granada, Universidad de Granada. Granada (España)
- DAVIES, F. T. JR.; SVENSON, S. E.; COLE, J. C.; PHAVAPHUTANON, L.; DURAY, S. A.; OLALDE-PORTUGAL, V.; MEIER, C. E.; BO, S. H., 1996. Non-nutritional stress acclimation of mycorrhizal woody plants exposed to drought. *Tree Physiology*, **16**, 985-993.
- DÍAZ, G.; HONRUBIA, M., 1995. Effect of native and introduced arbuscular mycorrhizal fungi on growth and nutrient uptake of *Lygeum spartum* and *Anthyllis cytisoides*. *Biologia Plantarum*, **37**, 121-129.
- DOMINGO, F.; PUIGDEFÁBREGAS, J.; CLARK, S. C.; INCOLL, L. D.; LOCKWOOD, J. G., 1991. Plant physiological behaviour in relation to water in a semiarid environment in south-east Spain. En: *Hydrological Interactions between Atmosphere, Soil and Vegetation*, 335-343. Eds. G. KIENITZ; P. C. D. MILLY; M. T. H. VAN GENUCHTEN; D. ROBSJERG; W. J. SHUTTLEWORTH. IAHS Publication N° 204. Wallingford (Inglaterra).
- GOICOECHEA, N.; DOLÉZAL, K.; ANTOLÍN, M. C.; STRAND, M.; SÁNCHEZ-DÍAZ, M., 1995. Influence of mycorrhizae and *Rhizobium* on cytokinin content in drought stressed alfalfa. *Journal of Experimental Botany*, **46**, 1543-1549.
- GOICOECHEA, N.; ANTOLÍN, M. C.; SÁNCHEZ-DÍAZ, M., 1997. Gas exchange is related to the hormone balance in mycorrhizal or nitrogen-fixing alfalfa subjected to drought. *Physiologia Plantarum*, **100**, 989-997.
- GOICOECHEA, N.; ANTOLÍN, M. C.; SÁNCHEZ-DÍAZ, M., 2000. The role of plant size and nutrient concentrations in associations between *Medicago*, and *Rhizobium* and/or *Glomus*. *Biologia Plantarum*, **43**, 221-226.
- HAASE, P.; PUGNAIRE, F. I.; CLARK, S. C.; INCOLL, L. D., 2000. Photosynthetic rate and canopy development in the drought-deciduous shrub *Anthyllis cytisoides* L.. *Journal of Arid Environments*, **46**, 79-91.
- HAYMAN, D. S.; BAREA, J. M.; AZCON, R., 1976. Vesicular-arbuscular mycorrhiza in southern Spain: its distribution in crops growing in soil of different fertility. *Phytopathology of the Mediterranean*, **15**, 1-6.
- HENDERSON, J. C.; DAVIES, F. T., 1990. Drought acclimation and the morphology of mycorrhizal *Rosa hybrida* L. cv. Ferdy is independent of leaf elemental content. *The New Phytologist*, **115**, 503-510.
- HERRERA, M. A.; SALAMANCA, C. P.; BAREA, J. M., 1993. Inoculation of woody legumes with selected arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia to recover desertified mediterranean ecosystems. *Applied and Environmental Microbiology*, **59**, 129-133.

- JEFFREE, C. E., 1986. The cuticle, epicuticular waxes and trichomes of plants, with reference to their structure, functions and evolution. En: *Insects and the Plant Surface*, 23-64. Eds. B. J. JUNIPER; R. SOUTHWOOD. Edward Arnold. Londres (Inglaterra).
- JENKS, M. A.; ANDERSEN, L.; TEUSINK, R. S.; WILLIAMS, M. H., 2001. Leaf cuticular waxes of potted rose cultivars as affected by plant development, drought and paclobutrazol treatments. *Physiologia Plantarum*, **112**, 62-70.
- KOTHARI, S. K.; MARSCHNER, H.; GEORGE, E., 1990. Effects of VA-mycorrhizal fungi and rhizosphere microorganisms on root and shoot morphology, growth and water relations in maize. *The New Phytologist*, **116**, 303-311.
- KOZLOWSKI, T. T.; KRAMER, P. J.; PALLARDY, S. G., 1991. Water stress. En: *The Physiological Ecology of Woody Plants*, 247-302. Eds. T.T. KOZLOWSKI; P.J. KRAMER; S.G. PALLARDY. Academic Press Inc. San Diego. California (Estados Unidos).
- LÓPEZ SÁNCHEZ, M. E.; HONRUBIA, M., 1992. Seasonal variation of vesicular-arbuscular mycorrhizae in eroded soils from southern Spain. *Mycorrhiza*, **2**, 33-39.
- LÓPEZ SÁNCHEZ, M. E.; DÍAZ, G.; HONRUBIA, M., 1992. Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection and P addition on growth and P nutrition of *Anthyllis cytisoides* L. and *Brachypodium retusum* (Pers.) Beauv. *Mycorrhiza*, **2**, 41-45.
- MASLE, J.; PASSIOURA, J. B., 1987. The effect of soil strength on the growth of young wheat plants. *Australian Journal of Plant Physiology*, **14**, 643-656.
- NELSEN, C. E.; SAFIR, G. R., 1982. Increased drought tolerance of mycorrhizal onion plants caused by improved phosphorus nutrition. *Planta*, **154**, 407-413.
- REQUENA, N.; JIMÉNEZ, I.; TORO, N.; BAREA, J. M., 1997. Interactions between plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR), arbuscular mycorrhizal fungi and *Rhizobium* spp. in the rhizosphere of *Anthyllis cytisoides*, a model legume for revegetation in mediterranean semi-arid ecosystems. *The New Phytologist*, **136**, 667-677.
- REQUENA, N.; PÉREZ-SOLÍS, E.; AZCÓN-AGUILAR, C.; JEFFRIES, P.; BAREA, J. M., 2001. Management of indigenous plant-microbe symbioses aids restoration of desertified ecosystems. *Applied and Environmental Microbiology*, **67**, 495-498.
- ROBLEDO, A.; RÍOS, S.; CORREAL, E., 1991. Estimación de biomasa en los matorrales de albaida (*Anthyllis cytisoides*) del Sureste de España. *Pastos*, **20-21**, 107-129.
- RUIZ-LOZANO, J. M.; AZCÓN, R., 1995. Hyphal contribution to water uptake in mycorrhizal plants as affected by the fungal species and water status. *Physiologia Plantarum*, **95**, 472-478.
- SÁNCHEZ-DÍAZ, M.; HESKETH, J. D.; KRAMER, P. J., 1972. Wax filaments on sorghum leaves as seen with a scanning electron microscope. *Journal of the Arizona Academy of Science*, **7**, 6-7.
- SÁNCHEZ-DÍAZ, M.; HONRUBIA, M., 1994. Water relations and alleviation of drought stress in mycorrhizal plants. En: *Impact of Arbuscular Mycorrhizas on Sustainable Agriculture and Natural Ecosystems*, 167-178. Eds. S. GIANINAZZI; H. SCHÜEPP. Birkhäuser Verlag, Basilea (Suiza).
- SÁNCHEZ-DÍAZ, M.; AGUIRREOLEA, J., 2000. Transporte de agua y balance hídrico en la planta. En: *Fundamentos de Fisiología Vegetal*, 45-64. Eds. J. AZCÓN-BIETO; M. TALÓN. McGraw-Hill Interamericana. Madrid (España).

ADAPTATIONS OF MYCORRHIZAL ALBAIDA SUBJECTED TO DROUGHT

SUMMARY

Anthyllis cytisoides L. (albaida) is a woody legume that grows in Mediterranean ecosystems in southern Spain, where it is used as forage for sheep and cattle. Irregular rainfall, high temperature in summer and anthropic activities have caused disturbance of the vegetation cover and subsequent soil erosion. *A. cytisoides* is highly dependent on mycorrhizal symbiosis for its correct growth and mineral nutrition. In addition, it is known that *A. cytisoides* behaves as a drought avoider species, being defoliation one of the strategies developed under water deficit. Therefore, the objectives of the present work were (1) to study the strategies developed by *A. cytisoides* when subjected to different degrees of water deficit and subsequent re-watering and (2) to verify if mycorrhizal symbiosis improved the adaptation of *A. cytisoides* to drought. Results showed that mycorrhizal association is even more important for *A. cytisoides* when plants are subjected to severe water deficit. After 20 days of severe drought, plant height was negatively affected, especially in non-mycorrhized plants. In addition, extended drought reduced the number of secondary branches. In contrast, re-watering stimulated the appearance of new secondary shoots, which is important because young stems are photosynthetically active. On the other hand, mycorrhizal *A. cytisoides* exhibited higher foliar abscission and epicuticular waxes deposition than non-mycorrhizal plants as a consequence of prolonged water deficit. The combination of these two strategies, greater defoliation and epicuticular waxes deposition, would allow to reduce both whole plant transpiration and respiration in mycorrhizal plants, thus reinforcing the adaptations exhibited by *A. cytisoides* against severe drought.

Key words: Defoliation, epicuticular waxes, *Anthyllis cytisoides* L., mycorrhizal fungi, water deficit.