

## EVOLUCIÓN DIARIA DE LAS TASAS DE FOTOSÍNTESIS Y TRANSPIRACIÓN EN HOJAS DE TRÉBOL SUBTERRÁNEO BAJO CONDICIONES DE RIEGO Y SEQUÍA\*

J. VADELL Y H. MEDRANO

Laboratori de Fisiologia Vegetal  
Departament de Biologia Ambiental  
Universitat de les Illes Balears  
Carretera de Valldemosa km. 7,5  
07071 Palma de Mallorca

### RESUMEN

Se estudia la evolución a lo largo del día de las tasas de fotosíntesis, transpiración y otros parámetros relacionados en dos cultivares (Clare y Seaton Park) de trébol subterráneo sometidos a dos tratamientos: riego y sequía. A partir de las medidas puntuales de fotosíntesis, transpiración, respiración y peso específico de la hoja, se establecen los balances globales de asimilación de carbono, transpiración y exportación de asimilados.

En condiciones de riego, los dos cultivares, con características foliares (tamaño y peso específico de la hoja) bien diferenciadas, presentan balances globales de asimilación de carbono y pérdidas de agua por transpiración prácticamente iguales.

Las plantas aclimatadas a sequía presentan, en ambos cultivares, una reducción importante del tamaño de las hojas y un ligero aumento de su peso específico. Las tasas de asimilación de CO<sub>2</sub> y transpiración son claramente inferiores a las de riego, suponiendo el balance global de asimilación de carbono un 40% y las pérdidas de agua por transpiración un 30%.

La aclimatación a sequía supone cambios morfológicos y fisiológicos, entre los cuales la modificación del modelo de evolución de la fotosíntesis y transpiración a lo largo del día contribuye a un uso más eficiente del agua.

**Palabras clave:** Eficiencia en el Uso del Agua, Balance diario del Carbono, Balance diario del Agua, cv. Clare, cv. Seaton Park.

\* Este trabajo pertenece al proyecto nº 6.010 de la CEE-AGRIMED.

## Introducción

En condiciones de clima mediterráneo, el déficit hídrico es el primer factor limitante de la productividad de las plantas, incluso en forrajeras anuales como el trébol subterráneo que finalizan el crecimiento antes del verano (Mc Guire, 1985).

La reducción gradual de la disponibilidad de agua en el suelo permite a la planta el desarrollo de una serie de caracteres morfológicos y fisiológicos que conducen a un uso más eficiente del agua (Dickson, Isebrand; 1991) y que permiten a la planta sobrevivir y hasta mantener una cierta tasa de crecimiento bajo sequía (Turner, Kramer; 1980).

Dentro de este marco general, existe una amplia diversidad de modelos de respuesta de las plantas frente a la sequía, tanto entre especies como entre cultivares de una misma especie (Ludlow, 1989). En el trébol subterráneo, forrajera de amplio uso en la zona mediterránea, muy propensa a sequías intermitentes, el conocimiento de los modelos de respuesta a la sequía puede ayudar a mejorar el manejo de los pastos y a identificar criterios de selección útiles en programas de mejora (Medrano, Vadell; 1992).

Entre los cambios fisiológicos en relación con la resistencia a la sequía, las modificaciones del modelo de evolución diaria de fotosíntesis y transpiración parecen tener un papel importante en ambientes de tipo mediterráneo. Los estudios de Tenhunen *et al.* (1987) y Harley *et al.* (1987), muestran que en especies arbustivas mediterráneas que habitualmente sufren sequía (*Quercus*, *Phyllirea*, *Arbutus*,...) se produce un cierre estomático al mediodía en respuesta a las elevadas irradiancias, temperaturas y reducida humedad relativa del aire en las horas centrales del día. Esta respuesta resulta adaptativa puesto que reduce el gasto de agua en las horas de más alta demanda.

Aparte del interés como pauta natural de adaptación, la modificación del modelo de evolución diaria de fotosíntesis y transpiración refleja la capacidad de modulación y regulación de la actividad de la planta a los cambios instantáneos del medio y supone un factor importante a tener en cuenta en el establecimiento de relaciones fotosíntesis / producción, y en la valoración de la eficiencia en el uso del agua.

Sin embargo, se conoce poco sobre la incidencia de esta respuesta en plantas herbáceas en condiciones habituales de cultivo, las variaciones que puede presentar entre especies y cultivares, y la importancia de estas variaciones.

En este sentido, el presente trabajo aborda el estudio del efecto de la sequía sobre el modelo de evolución diario de la fotosíntesis y la transpiración en condiciones mediterráneas y compara este efecto en praderas de dos cultivares representativos de trébol subterráneo.

## Material y Métodos

Se utilizaron semillas de *Trifolium subterraneum* ssp. *brachycalycinum* cv. Clare y *T. subterraneum* ssp. *subterraneum* cv. Seaton Park. Previamente a la siembra fueron inoculadas con *Rhizobium trifolii*. La siembra se realizó en parcelas de 4x1,5 m<sup>2</sup>, en un suelo calcáreo, en Palma de Mallorca, a finales de octubre de 1988. Previamente se fertilizó el suelo a razón de 6,1 g P m<sup>-2</sup> y 5,8 g K m<sup>-2</sup>. El crecimiento fue satisfactorio, y no se aportó ningún otro fertilizante durante el periodo de cultivo.

Después de un corte a mediados del mes de marzo y ya restablecido el cultivo, se iniciaron dos tratamientos: riego y sequía, utilizando un diseño de bloques al azar por triplicado. En el tratamiento riego, el contenido hídrico del suelo se mantuvo próximo a capacidad de campo, mientras que las plantas en sequía sólo recibieron agua procedente de la lluvia, muy escasa durante el mes de mayo de 1989. De esta forma el estrés hídrico fue inducido de forma gradual, haciéndose severo durante las últimas semanas del experimento, en las que se realizó el muestreo.

El estudio se realizó durante dos días consecutivos (10 y 11 de junio de 1989), realizando 8 muestreos a lo largo del día: 6 diurnos y 2 nocturnos. Todas las medidas se realizaron sobre hojas completamente expandidas de la parte superior del cultivo, realizándose en cada muestreo, 6 medidas de intercambio de gases para cada cultivar y tratamiento. El contenido hídrico (**CH**), el contenido hídrico relativo (**CHR**) y el peso específico de la lámina foliar (**PE**) se determinaron sobre las mismas hojas en las que se midieron las tasas de intercambio de gases.

Para determinar el contenido hídrico relativo (**CHR**) se recogieron hojas individuales en tubos con agua y de peso conocido, determinándose el peso fresco (**PF**) de la hoja en el momento del muestreo. Los tubos se mantuvieron a 4 °C / 24 h, pesando de nuevo la hoja, a máxima turgencia (**PT**). Posteriormente las hojas se secaron en estufa a 80 °C / 24 h, determinando el peso seco (**PS**).

El **CHR** se determinó como sigue:

$$\text{CHR} = (\text{PF}-\text{PS}) \times 100 / (\text{PT}-\text{PS})$$

Por este procedimiento, también se determinó el **CH**, siendo:

$$\text{CH} = (\text{PF}-\text{PS}) \times 100 / \text{PS}$$

La superficie de las hojas se estimó a partir de las dimensiones medias de los folíolos (largo x ancho x 2,22; Vadell, 1991) y el peso específico (**PE**) a partir de la superficie de la hoja y su peso después de secar la hoja en estufa a 80 °C / 24 h.

Las medidas de intercambio de gases se realizaron con un equipo portátil de medi-

da de fotosíntesis (Li-Cor 6200). Todas las medidas se realizaron sobre hojas enteras sin escindir de la planta usando una cámara de 1/4 L.

Los balances globales de carbono y agua se calcularon a partir de la integración de los valores puntuales medios obtenidos a lo largo del día. La estimación de los asimilados exportados por la hoja se han calculado de acuerdo al método de Terry y Mortimer (1972), donde la exportación  $Ex = D - R$ , siendo  $D$  el descenso del peso específico de la lámina foliar ( $PE$ ) y  $R$  las pérdidas respiratorias, asumiendo que los cambios en biomasa seca en la hoja son debidos a carbohidratos.

## Resultados

### Condiciones ambientales de medida

En los dos días de muestreo el sol aparecía a las 6 h 19 min y se ponía a las 21 h 19 min (15 h de luz directa). Las temperaturas oscilaron entre 15,9 y 31,5 °C, con una humedad relativa, durante el día, entre el 45 y 60 % y déficits de presión del vapor de agua entre 1,56 y 2,13 kPa. La ausencia de nubes permitió una irradiancia elevada durante todo el día, con una radiación fotosintéticamente activa superior a los 1900  $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , en las horas centrales del día (Fig. 1).

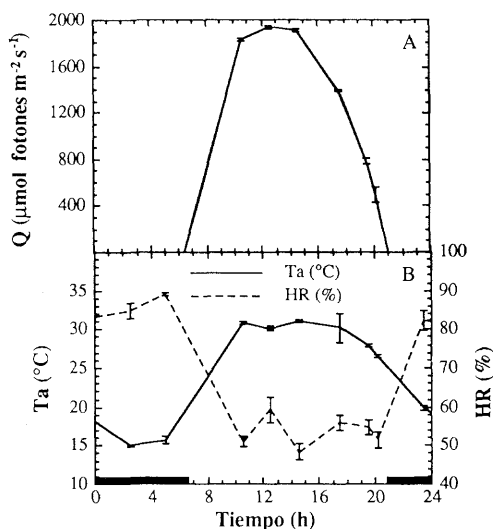


Fig. 1. Condiciones ambientales a lo largo del día. Radiación fotosintéticamente activa ( $Q$ , 1A), temperatura ( $Ta$ ) y humedad relativa ( $HR$ ; 1B). Valores medios  $\pm$ EE. La línea gruesa horizontal indica el periodo de oscuridad.

Fig. 1. Environmental conditions along the day. Photosynthetically active radiation ( $Q$ , 1A), temperature ( $Ta$ ) and relative humidity ( $HR$ ; 1B). Mean values  $\pm$ SE. Dark period indicated by de horizontal thick line.

### *Características foliares*

El tamaño de la hoja es en el cv. Clare claramente superior al cv. Seaton Park (12,4 y 8,8 cm<sup>2</sup>, respectivamente). Las plantas sometidas a sequía presentan, en ambos cultivares, una reducción del tamaño de las hojas, entre el 15 y 20%, respecto a las de riego (Tabla 1).

TABLA 1

Tamaño, peso específico (PE) y contenido hídrico relativo (CHR) de las hojas. El PE y el CHR corresponden al amanecer.

Table 1: Leaf size, specific leaf weight (PE) and relative water content (CHR). PE and CHR measured at dawn.

	Riego		Sequía	
	Clare	Seaton Park	Clare	Seaton Park
Tamaño hoja (cm <sup>2</sup> )	12,4±0,4	8,8±0,3	10,4±0,3	6,3±1,1
PE (g m <sup>-2</sup> )	32,7±1,5	30,4±3,1	34,3±2,5	33,3±3,6
CHR (%)	85,9±0,5	96,3±1,0	82,5±4,2	82,1±3,9

El peso específico de la lámina foliar (PE), en las plantas de riego, es de unos 32,7 g m<sup>-2</sup> en el cv. Clare y de unos 30,4 g m<sup>-2</sup> en el cv. Seaton Park. Las hojas de las plantas sometidas a sequía presentan un PE ligeramente superior (Tabla 1).

A lo largo del día se observa un progresivo aumento en este parámetro, que desciende durante la noche a valores similares a los del inicio del día anterior (Fig. 2A). En las plantas sometidas a sequía, este incremento es mucho menos claro, observándose dos pequeñas subidas en las primeras y últimas horas del día pero con una tendencia indefinida en las horas centrales (Fig. 2B).

El contenido hídrico (CH) se mantiene entre 74,5 y 77,6 %, en las plantas de riego, con valores similares en los dos cultivares. En las plantas sometidas a sequía, estos valores son ligeramente inferiores, oscilando entre 77,2 y 72,2 %. El contenido hídrico relativo (CHR) presenta variaciones más acentuadas. Las plantas de riego se mantienen siempre por encima del 86%, mientras que las plantas de sequía no llegan a superar el 85% durante la noche, alcanzando valores mínimos de aproximadamente el 71% en las horas centrales del día (Fig. 3).

### *Intercambio de gases*

Las primeras medidas de intercambio de gases no se realizaron hasta las 10 h ya que el rocío de las primeras horas no permitía una buena estima de las tasas de transpiración.

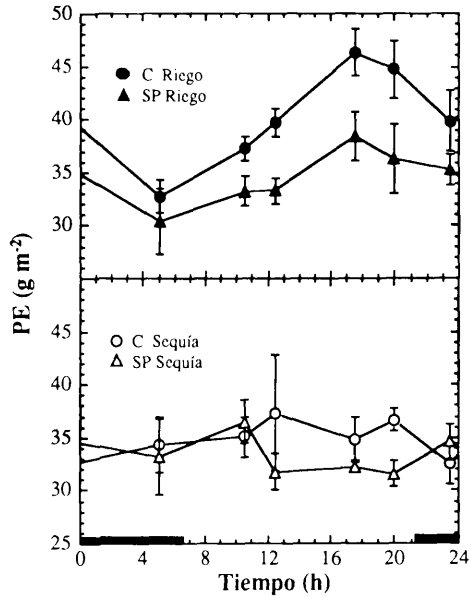


Fig. 2. Evolución del peso específico de la lámina foliar (PE) en los tratamientos de riego y sequía. Valores medios  $\pm$ EE. La línea gruesa horizontal indica el periodo de oscuridad. C: cv. Clare; SP: cv. Seaton Park.

Fig. 2. Evolution of specific leaf weight (PE) under irrigation and drought. Mean values  $\pm$ SE. Dark period indicated by the horizontal thick line. C: cv. Clare; SP: cv. Seaton Park.

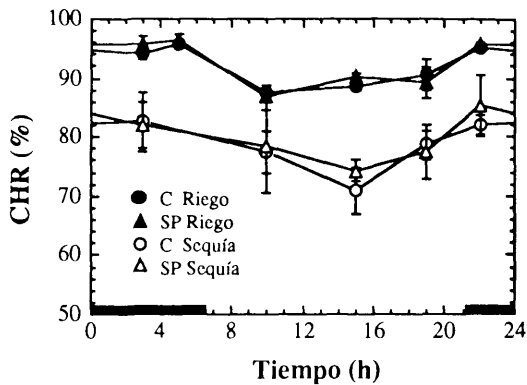


Fig. 3. Evolución del contenido hídrico relativo (CHR). Valores medios  $\pm$ EE. La línea gruesa horizontal indica el periodo de oscuridad. C: cv. Clare; SP: cv. Seaton Park.

Fig. 3. Evolution of relative water content (CHR). Mean values  $\pm$ SE. Dark period indicated by the horizontal thick line. C: cv. Clare; SP: cv. Seaton Park.

En las plantas de riego, las tasas de asimilación de CO<sub>2</sub> (A) más elevadas se registraron en las horas centrales del día con irradiancias superiores a 1800  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Los

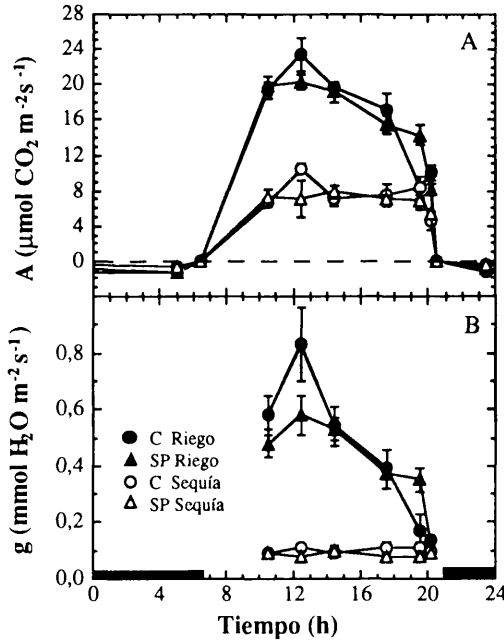


Fig. 4. Evolución de la tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> (A, 4A) y de la conductancia estomática (g, 4B). Valores medios  $\pm$ EE. La línea gruesa horizontal indica el periodo de oscuridad. C: cv. Clare; SP: cv. Seaton Park.

Fig. 4. Evolution of CO<sub>2</sub> assimilation rate (A, 4A) and stomatal conductance (g, 4B). Mean values  $\pm$ SE. Dark period indicated by the horizontal thick line. C: cv. Clare; SP: cv. Seaton Park.

máximos se sitúan a las 12,5 h, alcanzando el cv. Clare 23,5  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  y Seaton Park 20,2  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (Fig. 4A). Durante la tarde se aprecia un ligero descenso gradual de A, que se acentúa durante las últimas horas con el descenso progresivo de la irradiancia.

En las plantas sometidas a sequía, la evolución de A está limitada por el estrés hídrico, sobre todo en el cv. Seaton Park, que mantuvo valores casi idénticos durante todo el día (alrededor de 7  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ). En el cv. Clare, se registraron valores similares pero con una mayor variación a lo largo del día, con dos máximos, a las 12,5 y 19,5 h y un descenso notable en las horas centrales.

En las plantas de riego, durante las horas centrales, los valores de la conductancia estomática al vapor de agua (g) son muy elevados. Todas las medidas son superiores a 0,48  $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  alcanzando el cv. Clare a las 12,5 h 0,83  $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (Fig. 4B). En las plantas sometidas a sequía no se aprecia una variación clara, registrándose, en las horas centrales del día conductancias similares a las del final de

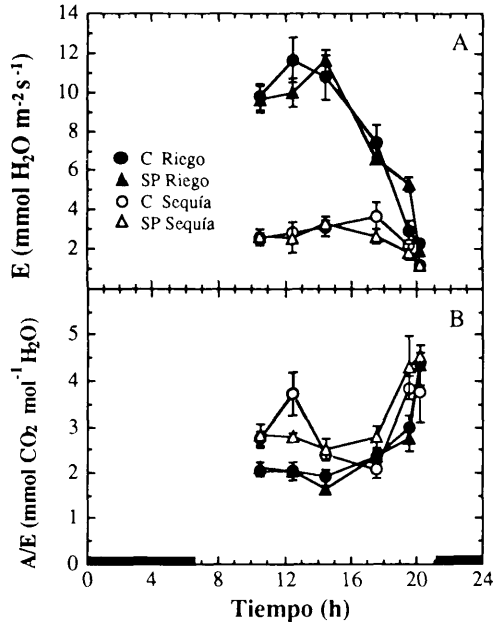


Fig. 5. Evolución de las tasas de transpiración ( $E$ , 5A) y eficiencia instantánea en el uso del agua ( $A/E$ ; 5B). Valores medios  $\pm SE$ . La línea gruesa horizontal indica el periodo de oscuridad. C: cv. Clare; SP: cv. Seaton Park.

Fig. 5. Evolution of transpiration rate ( $E$ , 5A) and instantaneous water use efficiency ( $A/E$ ; 5B). Mean values  $\pm SE$ . Dark period indicated by the horizontal thick line. C: cv. Clare; SP: cv. Seaton Park.

la tarde, alrededor de  $0,10 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , siendo ligeramente superiores en el cv. Clare.

La variación de la transpiración ( $E$ ) a lo largo del día presenta un patrón similar a las variaciones de  $g$ , en las plantas de riego. Clare presenta un máximo a las 12,5 h y Seaton Park a las 14,5 h. Hacia la tarde, se observa un descenso progresivo de  $E$ , en relación con la caída de  $g$  y de la temperatura (Fig. 5A). En las plantas de sequía, aunque  $g$  no experimenta cambios apreciables, las tasas de transpiración varían. Los valores máximos (entre 3 y  $3,7 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) se dan en las horas centrales del día, cuando la temperatura es más elevada.

En las horas centrales, con irradiancia y temperatura máximas, la eficiencia instantánea en el uso del agua ( $A/E$ ) en las plantas de riego, es inferior a  $2 \text{ mmol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$ . Hacia la tarde, el fuerte descenso de la transpiración permite aumentar  $A/E$  que alcanza valores de, aproximadamente, 4,4 en la última medida del día, en ambos cultivares (Fig. 5B). Las plantas sometidas a sequía presentan una eficiencia en el uso del agua claramente superior. Al igual que las plantas de riego, los valores más bajos se registran al mediodía, con un progresivo ascenso durante la tarde alcanzando 3,8 en Clare y 4,5 en Seaton Park.

TABLA 2  
Respiración oscura de las hojas referida a superficie (**Rs**) y a biomasa seca (**Rm**).  
*Leaf dark respiration referred to surface (Rs) and dry biomass (Rm).*

	Riego		Sequía	
	Clare	Seaton Park	Clare	Seaton Park
a) <b>Rs</b> ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )				
Inicio noche (23,5 h)	1,2 $\pm$ 0,1	1,0 $\pm$ 0,1	0,5 $\pm$ 0,1	0,5 $\pm$ 0,1
Final noche (5,0 h)	1,2 $\pm$ 0,1	1,2 $\pm$ 0,1	0,6 $\pm$ 0,1	0,6 $\pm$ 0,1
b) <b>Rm</b> ( $\text{nmol CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ s}^{-1}$ )				
Inicio noche (23,5 h)	30,8 $\pm$ 1,5	27,3 $\pm$ 2,3	16,5 $\pm$ 3,0	15,0 $\pm$ 1,6
Final noche (5,0 h)	35,9 $\pm$ 2,8	38,8 $\pm$ 3,0	18,0 $\pm$ 2,4	17,0 $\pm$ 2,4

Las tasas de respiración (**Rs**) variaron entre 1,0 y 1,2  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  en las plantas de riego (Tabla 2). El cv. Clare presenta valores ligeramente más elevados que Seaton Park. Refiriendo la respiración a biomasa seca (**Rm**), los valores oscilaron entre 27 y 39  $\text{nmol CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ s}^{-1}$ . En el tratamiento de sequía las tasas de respiración (tanto **Rs** como **Rm**), fueron considerablemente inferiores, aproximadamente la mitad de las registradas en las plantas de riego.

#### *Balances del carbono y del agua*

A partir de las medidas puntuales de intercambio de gases se ha calculado el balance global diario de ganancia de carbono y pérdidas de agua por transpiración a nivel de las hojas superiores de la pradera, bien iluminadas. Las ganancias en carbohidratos fueron prácticamente idénticas en ambos cultivares, suponiendo aproximadamente 24 g  $\text{CH}_2\text{O m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  en las plantas de riego, y unos 10 g  $\text{CH}_2\text{O m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  en las hojas de las plantas sometidas a sequía (Tabla 3).

La transpiración alcanzó los 7 L  $\text{m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  en las plantas de riego, mientras que en las de sequía no sobrepasó los 2,3 L  $\text{m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ .

En cuanto a la eficiencia en el uso del agua, las plantas de sequía se muestran claramente más eficientes, con aproximadamente 4,3 g  $\text{CH}_2\text{O L}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$ , mientras que las de riego no superan los 3,3 g  $\text{CH}_2\text{O L}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$ .

## Discusión

### *Características foliares*

La respuesta de la hoja frente a la sequía es coincidente en los dos cultivares estu-

TABLA 3

**Balances diarios del carbono y del agua calculados a partir de las tasas puntuales de asimilación de CO<sub>2</sub> (A) y transpiración (E).**

*Diurnal carbon and water balances calculated from CO<sub>2</sub> assimilation (A) and transpiration (E) rates.*

a) Balance del carbono (g CH<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>)

	Riego		Sequía	
	Clare	Seaton Park	Clare	Seaton Park
Asimilación diaria	24,5±1,7	24,2±1,4	10,4±1,1	9,8±1,3
Respiración nocturna	1,2±0,1	1,1±0,1	0,6±0,1	0,5±0,1
Balance neto	23,2±1,7	23,1±1,4	9,8±1,2	9,3±1,4

b) Transpiración (L H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>)

	7,1±0,7	7,0±0,4	2,3±0,3	2,1±0,3
--	---------	---------	---------	---------

diados. Aunque el tamaño foliar es un caracter que diferencia claramente estos dos cultivares en riego (Clare tiene un tamaño de hoja un 50 % superior que Seaton Park), la aclimatación a la sequía supone, en los dos, una reducción en el tamaño de las hojas formadas bajo estas condiciones de entre el 15 y 20 %. Esta respuesta es bastante común en la aclimatación al déficit hídrico y otros estreses (Lawlor, Leach; 1985).

El contenido hídrico de las hojas, muy similar en los dos cultivares, en condiciones de riego, presenta una ligera reducción a valores también coincidentes en sequía.

Las hojas aclimatadas a sequía tienen, en ambos cultivares, un peso específico superior (entre 5 y 10 %, medido al amanecer) a los de riego.

Estos cambios, en las características foliares, se corresponden con lo descrito por Wilson et al. (1980), Pitman et al. (1983) y Lawlor y Leach (1985), y en general se corresponden con una disminución del tamaño celular y un incremento del grosor de las paredes celulares en el mesófilo, que contribuyen a mantener la turgencia ante bajadas progresivas del potencial hídrico (Wilson et al., 1980; Joly, Zaer; 1987).

En conjunto, los cambios constatados se corresponden con el patrón de aclimatación a sequía descrito en otras plantas, lo que permite afirmar que las hojas muestreadas son representativas de dicha aclimatación.

*Intercambio de gases*

Además de cambiar los caracteres morfológicos, la aclimatación a la sequía supo-

ne también un cambio drástico en el patrón de evolución diario de las tasas de fotosíntesis y transpiración.

En riego, las tasas de fotosíntesis y de transpiración se corresponden con las variaciones de irradiancia, temperatura y humedad relativa, demostrando una respuesta fisiológica inmediata frente a estas variaciones.

Los máximos de fotosíntesis se alcanzan algo antes del mediodía, en coincidencia con los máximos de conductancia. El descenso paulatino, a partir de este punto, se corresponde con una caída más drástica de la conductancia estomática, que a su vez puede relacionarse con los valores más bajos de **CHR**. El cierre estomático se traduce en un mantenimiento e incluso recuperación del **CHR** de la hoja, pero no justifica completamente la progresiva caída de **A**, dado que, en cualquier caso, **g** está por encima de  $0,4 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  y a estos niveles difícilmente resulta limitante en la difusión del  $\text{CO}_2$  hacia la hoja.

La caída paulatina de **A** en riego puede estar asociada a un efecto de acumulación progresiva de carbohidratos en hoja (Azcón-Bieto, 1983), pero cabe pensar, también, en una reducción en la eficiencia en el aprovechamiento de la irradiancia debido al deterioro del sistema de captación de la luz (fotoinhibición), como ya se ha descrito en especies arbustivas mediterráneas y bajo condiciones de alta irradiancia (Demming-Adams et al., 1989).

Las plantas en sequía presentan un patrón de comportamiento totalmente diferenciado. A pesar del cierre estomático mantenido, las condiciones de mediodía, afectan más duramente a las hojas en sequía. Su **CHR**, ya bajo al amanecer, desciende a valores próximos al 70% a mediodía. La recuperación posterior no se debe a un mayor cierre estomático, sino a una clara disminución de la demanda atmosférica (descenso de temperatura e incremento de humedad relativa del aire). En estas plantas, la disponibilidad de agua se convierte en el primer factor limitante y en consecuencia la abertura estomática se mantiene constantemente reducida, lo cual conlleva una limitación en la asimilación de  $\text{CO}_2$  que se mantiene, todo el día, en valores inferiores a  $10 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . En consecuencia, en las hojas de sequía, se obtienen tasas de **A** prácticamente constantes a lo largo de todo el día, apreciándose, ligeramente, un doble pico en el cv. Clare que no se manifiesta en Seaton Park. Por otra parte, hacia la tarde, con el descenso de la irradiancia, la bajada de **A** no es tan manifiesta ya que se mantiene la misma **g**. El modelo ligeramente bimodal de evolución de **A** en el cv. Clare y el observado en Seaton Park se corresponden con lo observado por Tenhunen et al. (1987) y Lange et al. (1987), en especies arbustivas mediterráneas en situaciones de estrés hídrico severo.

La evolución de **A** y **E** a lo largo del día es similar en los dos cultivares ensayados, tanto en riego como en sequía. Las figuras 4 y 5 muestran un punto al mediodía clara-

mente superior a Seaton Park en riego y sequía y otro punto al atardecer en el que se invierten las posiciones.

Esta variación puede indicar una mayor capacidad de Clare para aprovechar las condiciones favorables de la mañana, y un efecto negativo en la tarde por una superior acumulación de carbohidratos en la hoja, aunque sería imprescindible estudiar con detalle estos puntos para confirmarlo.

Por otra parte esta evolución diurna revela que aunque los valores de fotosíntesis puedan ser razonablemente constantes entre las 10 y 16 h la comparación de cultivares, mediante medidas puntuales sólo en un momento concreto del día pueden inducirnos a error.

Los valores de eficiencia instantánea en el uso del agua (A/E) se mantienen en sequía por encima de los de riego, aunque el patrón de variación es coincidente. La evolución diaria de este índice revela el fuerte efecto de las condiciones ambientales. En las horas de alta demanda atmosférica de agua (mediodía) la eficiencia se mantiene entre 2 y 3, alcanzando valores superiores a 4, cuando baja dicha demanda. El control de la planta sobre dicha eficiencia es, por tanto, limitado.

#### *Balances del carbono y del agua*

Las integrales de las curvas de variación de A y E a lo largo del día representan la acumulación neta de CO<sub>2</sub> y pérdida de agua en las hojas completamente expuestas a la luz de la parte superior del cultivo.

La fuerte caída de los gastos respiratorios en sequía (50% de riego) permite reducir ligeramente la diferencia en el balance global de ganancia de carbono frente a riego, aunque el escaso peso de las pérdidas respiratorias en hoja sobre el balance global limita la significación de la reducción del gasto respiratorio.

El balance global (Tabla 3) muestra el fuerte efecto del déficit hídrico sobre el balance neto de carbono que se reduce en hojas de sequía a un 40% de lo asimilado en riego. La eficiencia en el uso del agua, en base a estos balances, resulta un 30% más elevada en las plantas de sequía, respecto a las de riego.

Los promedios de estos balances son prácticamente idénticos en los dos cultivares (24 g CH<sub>2</sub>O d<sup>-1</sup>). Las pequeñas diferencias puntuales observadas en determinados momentos del día, son compensadas entre medidas, careciendo de significación en la ganancia final de carbohidratos.

Considerando a la par los cambios en peso específico de la hoja y las tasas netas de intercambio de CO<sub>2</sub> podemos calcular las tasas de exportación de asimilados. Siendo el incremento de PE de las hojas del cv. Clare de 12 g a lo largo del día y la asimilación neta de 24 g H<sub>2</sub>O, las exportaciones diurnas supondrán, aproximadamente, la mitad de los asimilados mientras que la otra mitad se exportará en el periodo de noche. En cam-

bio, el cv. Seaton Park, con un incremento diurno del **PE** de unos 6 g y unas tasas de asimilación similares a Clare presentaría una mayor tasa de exportación diurna, suponiendo la exportación nocturna un 25 % del total.

En las plantas sometidas a sequía no se aprecia una acumulación neta en el **PE** a lo largo del día. Los gastos respiratorios en hoja y la exportación de asimilados a raíces (su crecimiento se favorece en respuesta al estrés hídrico) y otros órganos, equivalen a las entradas por fotosíntesis.

Estos balances globales hacen referencia a la aportación de las hojas superiores del cultivo, bien iluminadas durante todo el día. Teniendo en cuenta las características del perfil de penetración de la luz en este cultivo (Vadell, Medrano; 1990), la mayor parte de la luz es interceptada por las hojas superiores, por lo que serán estas las que contribuirán mayoritariamente en la asimilación de CO<sub>2</sub> en la pradera. También es conocido que la mayor parte de los asimilados son exportados hacia los sumideros de la planta: hojas en formación, órganos reproductores y raíces, donde, sólo los nódulos de *Rhizobium* pueden llegar a consumir entre el 10 y el 25% de los asimilados generados por la parte aérea (Gates, Silsbury; 1987).

## Conclusiones

En respuesta al progresivo déficit hídrico en el suelo, el trébol subterráneo desarrolla hojas de características morfológicas bien diferenciadas y que presentan un patrón de evolución diaria de fotosíntesis y de transpiración distinto.

Los cambios morfológicos y fisiológicos que acompañan la aclimatación a la sequía son coincidentes en los dos cultivares ensayados y suponen un incremento notable de la eficiencia en el uso del agua por estas hojas.

Debido a tales modificaciones bajo sequía las ganancias netas de carbono se sitúan en torno a un 40% de las registradas en riego, pero las pérdidas por transpiración se reducen a un 30%.

El comportamiento de los dos cultivares ensayados es coincidente en riego y en sequía.

## BIBLIOGRAFÍA

- AZCON-BIETO, J. (1983) Inhibition of photosynthesis by carbohydrates in wheat leaves. *Plant Physiol.* **73**: 681-686.
- DEMMING-ADAMS, B.; ADAMS, W.; WINTER, K.; MEYER, A.; SCHREIBER, U.; PEREIRA, J. S.; FRÜGER, A.; CZYGAN, F. C.; LANGE, O. L. (1989) Photochemical efficiency of photosystem II, photon yield of O<sub>2</sub> evolution, photosynthetic capacity, and carotenoid composition during the midday depression of net CO<sub>2</sub> uptake in *Arbutus unedo* growing in Portugal. *Planta* **177**: 377-387.
- DICKSON, R. E.; ISEBRANDS, J. G. (1991) Leaves as regulators of stress response. En: MOONEY, H. A.; WINNER, W. E.; PEEL, E. J. (eds.), *Response of plants to multiple stresses*. Academic Press. pp. 3-33.
- GATES, R. P. G.; SILSBURY, J. H. (1987) Effects of temperature on growth and nitrogen fixation by swards of subterranean clover. *Ann. Bot.* **59**: 461-469.
- HARLEY, P. C.; TENHUNEN, J. D.; LANGE, O. L.; BEYSCHLAG, W. (1987) Seasonal and diurnal patterns in leaf exchange of *Phyllirea angustifolia* growing in Portugal. En: Tenhunen, J. D.; Catarino, F. M.; Lange, O. L.; Oechel, W. C. (eds.), *Plant Response to Water stress*. Springer Verlag pp. 329-337.
- JOLY, R. J.; ZAEER, J. B. (1987) Alteration of cell-wall water content and elasticity in Douglas-fir during periods of water deficit. *Plant Physiol.* **83**: 418-422.
- LANGE, O. L.; HARLEY, P. C.; BEYSCHLAG, W.; TENHUNEN, J. D. (1987) Gas exchange methods for characterizing the impact of stress on leaves. En: TENHUNEN, J. D.; CATARINO, F. M.; LANGE, O. L.; OECHEL, W. C. (eds.), *Plant response to stress*. Springer-Verlag pp. 3-25.
- LAWLOR, D. W.; LEACH, J. E. (1985) Leaf growth and water deficits: biochemistry in relation to biophysics. En: BAKER, N. R.; DAVIES, W. I.; ONG, C. K. (eds.), *Control of leaf growth*. Cambridge Univ. Press pp. 267-294.
- LUDLOW, M. M. (1989) Strategies of response to water stress. En: KREEB, K. H.; RICHTER, H.; HINCKLEY, T. M. (eds.), *Structural and functional responses to environmental stresses*. Academic Publishing pp. 269-281.
- Mc GUIRE, W. S. (1985) Subterranean clover. En: TAYLOR, N. L. (ed.), *Clover Science and Technology*. ASA-CSSA pp. 515-535.
- MEDRANO, H.; VADELL, J. (1992) Criterios de selección por resistencia a la sequía en plantas forrajeras. *Rev. de Cièn.* (en prensa).
- PITMAN, W. D.; HOLT, E. C.; CONRAD, B. E.; BASSHAW, E. C. (1983) Histological differences in moisture stressed and non-stressed kleingrass forage. *Crop Sci.* **23**: 793-795.

- TENHUNEN, J. D.; BEYSCHLAG, W.; LANGE, O. L.; HARLEY, P. C. (1987) Changes during summer drought in leaf CO<sub>2</sub> uptake rates of macchia shrubs growing in Portugal: Limitations due to photosynthetic capacity, carboxylation efficiency, and stomatal conductance. En: TENHUNEN, J. D.; CATARINO, F. M.; LANGE, O. L.; OECHEL, W. C. (eds.), *Plant response to stress*. Springer-Verlag pp. 305-328.
- TERRY, N.; MORTIMER, D. C. (1972) Estimation of the rates of mass carbon transfer by leaves of sugar beet. *Can. J. Bot.* **50**: 1049-1054.
- TURNER, N. C.; KRAMER, P. J. (eds). (1980) *Adaptation of plants to water and high temperature stress*. John Wiley, New York.
- VADELL, J. (1991) *Variabilitat dels paràmetres fotosintètics al trèvol subterrani*. Tesis doctoral. Universitat de les Illes Balears. 318 pp.
- VADELL, J.; MEDRANO, H. (1990) Distribución de la biomasa y penetración de la luz en praderas de trébol subterráneo. *Actas de la XXX Reunión Científica de la SEEP*. San Sebastián. pp. 152-159.
- WILSON, J. R.; LUDLOW, M. M.; FISHER, M. J.; SCHULZE, E. D. (1980) Adaptation to water stress of the water relations of four tropical forage species. *Aust. J. Plant Physiol.* **7**: 207-220.

## DIURNAL VARIATIONS OF PHOTOSYNTHESIS AND TRANSPIRATION RATES IN SUBTERRANEAN CLOVER LEAVES UNDER IRRIGATION AND DROUGHT CONDITIONS

### SUMMARY

Diurnal variations of leaf photosynthesis and transpiration rates, as well as related parameters are studied in two cultivars of subterranean clover (Clare and Seaton Park) both under irrigation and drought conditions. Daily balances of carbon assimilation, water transpiration and assimilate export are calculated from diurnal patterns of leaf gas exchange rates.

Under irrigation, both cultivars present clear differences in leaf characteristics (size and specific leaf mass); however, their total daily carbon assimilation and water losses are very similar.

Plant acclimated to drought of both cultivars, show a significant reduction in leaf size and a small increase in specific leaf weight. CO<sub>2</sub> assimilation and transpiration rates are clearly lower than under irrigation. Daily carbon balance account only a 40% and water losses a 30% of those obtained under irrigation.

Drought acclimation imposes morphologic and physiologic changes. Among the physiologic ones, modification of diurnal patterns of photosynthesis and transpiration contribute to a more efficient water use by plants.

**KEY WORDS:** Water use efficiency, daily carbon balance, Daily water balance, cv. Clare, cv. Seaton Park.