

DEPARTAMENT BIOLOGIA ANIMAL, BIOLOGIA VEGETAL I ECOLOGIA
FACULTAT DE CIÈNCIES
UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA

TESI DOCTORAL

EFFECTES DE DIFERENTS TRACTAMENTS
AGRONÒMICS I DE LA MICORIZACIÓ EN LA
BIOPRODUCTIVITAT DE *Rosmarinus officinalis* L.
EN LA FASE DE VIVER I EN RESTAURACIONS
PAISATGÍSTIQUES EN CONDICIONS DE CLIMA
MEDITERRANI.

Carmen Biel Loscos

Barcelona, 2002

DEPARTAMENT BIOLOGIA ANIMAL, BIOLOGIA VEGETAL I ECOLOGIA
FACULTAT DE CIÈNCIES
UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA

TESI DOCTORAL

EFFECTES DE DIFERENTS TRACTAMENTS AGRONÒMICS I DE LA
MICORIZACIÓ EN LA BIOPRODUCTIVITAT DE *Rosmarinus officinalis*
L. EN LA FASE DE VIVER I EN RESTAURACIONS PAISATGÍSTIQUES
EN CONDICIONS DE CLIMA MEDITERRANI.

Tesi que presenta Carmen Biel Loscos per optar al títol de doctor

Directors:

Dr. Robert Savé
Dept. Tecnologia Hortícola
IRTA- Centre de Cabrils

Dra. Victòria Estaún
Dept. Protecció Vegetal
IRTA-Centre de Cabrils

Tutor: Dr. Javier Retana
Professor d'Ecologia
Universitat Autònoma de Barcelona

Barcelona, juny de 2002

AGRAÏMENTS

El meu agraïment a l'Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA) per facilitar-me poder compaginar el treball amb la realització de la part experimental i la redacció d'aquesta memòria. Aquest agraïment voldria concretar-lo especialment en el Dr. Robert Savé, Cap del Departament de Tecnologia Hortícola del Centre de Cabrils on es van realitzar els experiments d'aquesta tesi.

El meu agraïment a en Robert Savé i na Victòria Estaún per dirigir-me la tesi i per animar-me a seguir ampliant la meva introducció a la recerca.

Agraeixo al Dr. Javier Retana per accedir a tutorar aquesta tesi i per les idees que ha aportat.

Als meus companys del Departament de Tecnologia Hortícola, Feli de Herralde, M^a Carmen Bellido, José Montero, Beatriz Cánovas, Pedro Alvé, Pepa Diamantopoulus, David Serra i Abraham Martínez els hi agraeixo la seva ajuda inestimable. A l'Assumpció Antón, Juan Ignacio Montero, Pere Muñoz, Sònia Guri, Rafi Càceres, Ana Puerta, Eulàlia Serra i Jaume Casadesús els hi agraeixo la seva solidaritat i ajuda. A la Victòria Barnés, Amèlia Camprubí i Victòria Estaún per la realització de les tincions de les arrels, el conteig de micorizes i les mesures d'activitat del fong i nombre de propàguls al sòl. Als companys del CREAM pel seu recolzament.

Als meus amics, Ignasi, Xavi, Mar, Lydia, Enrique, Elena, Isabel, Mateu, Belén, Francesc F. i Mariona per compartir les hores baixes i molts altres moments. A la Marta Montserrat per resoldre les meves dubtes estadístiques a distància. Vull agrair a l'Eva Gomar per la revisió sintàctica i ortogràfica i també a l'Alexia per la seva ajuda. També vull agrair el suport logístic de l'Esperanza, sense ella aquests mesos haguessin estat un caos.

Vull agrair a la meva família, a la meva mare, a les meves germanes Elena i Isabel, als meus germans Carlos i Toni, als meus nebots, Ricard, Laura, Andrea, Marina i Marc, al meu sogre, Jordi Canals i cunyats, Marga, Pilar i Jordi, pel seu suport i la il·lusió amb la que m'han animat a seguir estudiant al llarg dels anys i anar endavant amb aquesta tesi. Un record per a dues persones que ja no hi són, el meu pare i per a Josefina Duran que segur que estarien molt contents de saber que he arribat fins aquí.

Finalment vull agrair i dedicar aquesta tesi a en Francesc per la seva gran ajuda, sense ell no hagués acabat "mai".

Índex

CAPÍTOL I. INTRODUCCIÓ	1
1.1. Revegetació i necessitat de revegetar.	1
1.2. Problemes de la revegetació a la conca mediterrània.	2
1.2.1. El clima.	2
1.2.2. El sòl.	2
1.2.3. La pressió antropogènica.	3
1.3. Elecció d'espècies per a revegetar.	4
1.3.1. L'interès de les espècies autòctones.	4
1.3.2. Utilització d'arbusts autòctons.	4
1.3.3. Revegetacions mixtes.	5
1.4. Tractaments en viver per a optimitzar la resposta de les plantes en la revegetació.	7
1.4.1. Aigua	8
1.4.2. Temperatura.	8
1.4.3. Enriquiment amb diòxid de carboni (CO ₂)	9
1.4.4. La micorizació.	10
1.4.5. Enriquiment amb diòxid de carboni i micorizació.	11
1.5. Millores tecnològiques en la realització de la revegetació.	13
1.6. L'Ecofisiologia com a eina per avaluar la resposta de les plantes.	14
1.7. El romaní (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.) com a planta d'estudi.	17
CAPÍTOL II. OBJECTIUS I ESTRUCTURA DE LA TESI.	19
CAPÍTOL III. MATERIAL I METODOLOGIA GENERAL.	23
3.1. El material vegetal: descripció de la planta i del fong micorízic.	23
3.2. Metodologia general	24
3.2.1. Inoculació fong.	24
3.2.2. Condicions de conreu.	24
3.2.2.1. Hivernacles i control condicions ambientals	24
3.2.2.2. Injecció i control diòxid de carboni (CO ₂).	25
3.2.2.3. Contenidors i substrats.	25
3.2.2.4. Sistema de reg.	26
3.2.2.5. Solució nutritiva.	26

3.2.2.6. Potencial hídric i contingut d'aigua del substrat.	27
3.2.3. Mesura dels paràmetres de creixement i producció.	27
3.2.3.1. Creixement en alçada i diàmetre.	27
3.2.3.2. Producció de biomassa.	27
3.2.3.3. Pes específic i índexs d'al·locació de biomassa.	28
3.2.3.4. Longitud i longitud específica de les arrels.	28
3.2.3.5. Cobertura del sòl i angles de les branques.	28
3.2.3.6. Densitat de les arrels en el substrat.	28
3.2.4. Mesura de les relacions hídriques.	29
3.2.4.1. Porometría.	29
3.2.4.2. Potencial hídric de la fulla i l'arrel.	29
3.2.4.3. Potencial osmòtic.	29
3.2.4.4. Corbes pressió-volum.	29
3.2.4.5. Transpiració cuticular.	30
3.2.4.6. Resistència hidràulica radicular.	31
3.2.5. Respiració de les arrels a diferents temperatures.	32
3.2.6. Percentatge de colonització del fong.	32
3.2.7. Densitat del nombre de propàguls en el sòl.	33
3.2.8. Activitat metabòlica del fong micorízic.	34
3.2.9. Anàlisi estadística.	34
CAPÍTOL IV. RESPOSTA DEL ROMANÍ A DIFERENTS TRACTAMENTS EN LA FASE DE VIVER.	35
4.1. Introducció.	35
4.2. Experiment 1: Resposta productiva del romaní en diferents condicions tèrmiques i hídriques.	37
4.2.1. Objectius de l'experiment.	37
4.2.2. Metodologia i plantejament experimental.	37
4.2.3. Resultats i discussió.	39
4.2.4. Conclusions.	44
4.3. Experiment 2: Efecte de la temperatura i la micorizació en la respiració i resistència hidràulica del sistema radical.	45
4.3.1. Objectius de l'experiment.	45
4.3.2. Metodologia i plantejament experimental.	45
4.3.3. Resultats i discussió.	46
4.3.3.1. Respiració de les arrels i temperatura.	46
4.3.3.2. Resistència hidràulica de l'arrel i temperatura.	47
4.3.3.4. Sensibilitat del romaní a les baixes temperatures.	51
4.3.4. Conclusions.	53
4.4. Experiment 3: Efecte de l'adobat carbònic, la micorizació i la dosi d'aigua en la producció.	54
4.4.1. Objectius de l'experiment.	54
4.4.2. Metodologia i plantejament experimental.	54

4.4.3. Resultats i discussió.	56
4.4.3.1. Resultats generals.	56
4.4.3.2. Efecte de l'ECO ₂ en el creixement i en la producció.	57
4.4.3.3. Efecte de l'ECO ₂ en l'al·locació.	59
4.4.3.4. Efecte del tractament hídric.	62
4.4.3.5. Efecte de la micorització. Interacció amb la dosi de reg.	62
4.4.3.6. Resposta de les plantes micoritzades a l'ECO ₂ .	64
4.4.3.7. Colonització de l'arrel pel fong micorízic.	67
4.4.4. Conclusions.	69
CAPÍTOL V. SIMULACIÓ DE REVEGETACIONS AMB ROMANÍ EN CONDICIONS SEMICONTROLADES	71
5.1. Introducció.	71
5.2. Experiment 4: Resposta a l'assecamment ràpid del substrat i posterior recuperació.	73
5.2.1. Objectius de l'experiment.	73
5.2.2. Metodologia i plantejament experimental.	73
5.2.3. Resultats i discussió.	75
5.2.3.1. Relacions hídriques.	75
5.2.3.1. Colonització i activitat del fong.	82
5.2.4. Conclusions.	83
5.3. Experiment 5: Revegetació en un sòl pertorbat amb un aport de reg deficitari interaccionant amb el factor micoriza.	85
5.3.1. Objectius de l'experiment.	85
5.3.2. Metodologia i plantejament experimental.	85
5.3.3. Resultats i discussió.	89
5.3.3.1. Supervivència i superació del trasplantament.	89
5.3.3.2. Seguiment de les relacions hídriques, producció i creixement al llarg de l'assaig.	93
5.3.3.3. Seguiment de la colonització i de la densitat de propàguls.	104
5.3.4. Conclusions.	107
5.4. Experiment 6: Efecte de la competència entre espècies. Resposta de les plantes de romaní a la diferent densitat de plantació amb <i>Lavandula dentata</i>. i <i>Buxus sempervirens</i>.	109
5.4.1. Objectius de l'experiment.	109
5.4.2. Metodologia i plantejament experimental.	109
5.4.3. Resultats i discussió.	113
5.4.3.1. Creixement i producció al final de l'assaig.	113
5.4.3.2. Competència romaní-lavanda.	115
5.4.3.3. Competència romaní-boix.	123
5.4.4. Discussió.	128
5.4.5. Conclusions.	132

CAPÍTOL VI. CONCLUSIONS GENERALS.	135
BIBLIOGRAFIA.	141
ANNEXOS.	161
Annex I. Taules experiment 3	161
Annex II. Taules experiment 5	162
Annex III. Taules experiment 6.	169
Annex IV. Abreviatures i símbols	176

CAPÍTOL I. INTRODUCCIÓ.

1.1. Revegetació i necessitat de revegetar.

La vegetació, a més del seu valor estètic, contribueix de manera decisiva a la conservació del sòl, ja que incideix directament sobre l'erosionabilitat d'aquest fixant-lo amb les arrels i atenuant l'impacte de la pluja, i indirectament a través de la regulació del cicle hidrològic (Borman i Likens, 1979; Viles, 1990).

La coberta vegetal i el sòl poden ser pertorbats per nombrosos factors que condueixen a diferents processos de degradació segons el seu origen (Naveh, 1987; Herrera *et al.*, 1993). La pertorbació dels ecosistemes per causes naturals (focs, sequeres, inundacions, riudes, moviments sísmics, volcans, etc.), pot comportar canvis irreversibles que duguin a la seva desertització. Quan es produeix per causes antròpiques (desforestació, sobreexplotació, activitats extractives, obres públiques, pràctiques recreatives, etc.), pot conduir a la desertificació del medi si els canvis són irreversibles, o a la seva degradació si encara hi ha la possibilitat de recuperar l'ecosistema original mitjançant un adequat programa de restauració.

Un elevat nombre de factors o processos característics de la desertificació actuen indistintament com a causes i efectes de la pèrdua de la qualitat del sòl i de la coberta vegetal. Entre ells, alteracions en el desenvolupament de les plantes, variacions en la composició de la flora, pèrdua de l'estructura del sòl, augment de l'erosió, pèrdua de nutrients i matèria orgànica, pèrdua de propàguls i/o activitat de la flora microbiana del sòl (Skujins i Allen, 1986; Herrera *et al.*, 1993).

A partir d'un medi degradat, la revegetació és el procés que ens permet recuperar l'ecosistema original o bé assolir un nou ecosistema. En aquest últim cas es tracta de rehabilitació i no de recuperació, i la revegetació consisteix en la introducció d'espècies foranies.

La recerca de solucions per a recuperar o rehabilitar la coberta vegetal en zones pertorbades o degradades requereix estudis a diferents nivells. En primer lloc, cal avaluar quines zones poden recuperar-se de forma espontània i en les quals només cal introduir algunes mesures correctores, i quines zones cal revegetar artificialment. En segon lloc, cal valorar la idoneïtat de recuperar l'ecosistema original mitjançant un programa de restauració. Depenent del tipus de degradació de la zona a revegetar, en ocasions només serà possible la seva

rehabilitació, com per exemple en situacions de contaminació greu del medi que només permetin la introducció d'espècies foranies. En tercer lloc, s'ha de valorar quines mesures culturals i millores tecnològiques són les més adequades per a afavorir l'assentament de les plantes, i les condicions que alterin el menys possible el terreny i que requereixin un mínim manteniment posterior.

La major qualitat de vida que cada cop més demanda el nostre model de societat, passa necessàriament per la conservació dels espais naturals i la revegetació d'aquells que ja es troben degradats.

1.2. Problemes de la revegetació a la conca mediterrània.

1.2.1. El clima.

El clima mediterrani es caracteritza per estius calorosos i secs i hiverns curts i suaus, però sobretot amb una pluviometria anual escassa (en molts casos inferior a 500 mm.any⁻¹) i irregularment repartida (Ashman, 1973).

La baixa disponibilitat d'aigua en el sòl resulta no solament de l'escassa precipitació anual i l'alta evapotranspiració potencial, sinó també de la gran variabilitat temporal i la impredictibilitat de les pluges (Boer, 1999), que sovint són de caràcter torrencial. Tot això planteja seriosos problemes a l'hora de revegetar, doncs el dèficit hídric és el principal factor limitant per a la producció de la vegetació terrestre (Turner i Kramer, 1980).

1.2.2. El sòl.

Els atributs del sòl poden accentuar o compensar les variacions estacionals de la precipitació per la seva influència sobre el repartiment de l'aigua en escolament, emmagatzematge i evaporació. La tendència a l'aridesa del clima mediterrani, comporta l'existència de sòls poc desenvolupats, poc profunds, sovint excessivament pedregosos i pobres en matèria orgànica (Klemmedson, 1989). Aquestes característiques, juntament amb la torrencialitat de les pluges, limiten la capacitat d'emmagatzematge del perfil del sòl i que l'aigua rebuda no pugui ser ben aprofitada per la vegetació, donant lloc a una alta proporció d'escolament superficial i a greus problemes d'erosió (Simón, 1990).

En les zones a revegetar, generalment els sòls han estat pertorbats per l'erosió degut a la pèrdua de la coberta vegetal o bé per la intervenció directa de l'home, que els ha modificat mitjançant la construcció d'obres públiques, infraestructures, activitats extractives, etc. Per tant, el sòl es pot haver perdut totalment o bé no té estructura idònia per al desenvolupament de la vegetació degut a la

compactació pel pas de maquinària o, contràriament, per l'existència de grans cavitats o porus que no permeten el desenvolupament normal de les arrels (Passioura, 2002).

Depenent de l'espessor de sòl disponible i de les seves característiques, podrà ser necessària l'aportació externa de substrats, terres o materials de rebliment per a poder revegetar zones degradades. És de gran importància el coneixement de les característiques tant del sòl com dels materials aportats externament: textura, fertilitat orgànica i inorgànica, característiques hidràuliques, etc. Això ens permetrà determinar les relacions hidràuliques entre el sòl i el pa de terra de les plàntules a introduir i prendre decisions sobre el tipus de plantació a fer, la freqüència de regs d'acompanyament després de la plantació i les millores culturals a realitzar en el moment de la plantació (Whitcomb, 1987).

1.2.3. La pressió antropogènica.

A més dels factors climàtics i edàfics, cal afegir la forta pressió antropogènica a que està sotmesa tota la zona mediterrània, exhaustivament descrita per Naveh i Lieberman (1984), i que resulta en una progressiva degradació de la vegetació i del sòl. Els ecosistemes mediterranis són fràgils a causa de les condicions climàtiques, topogràfiques i edàfiques, i això es veu agreujat per la forta pressió humana.

En molts dels països de la conca mediterrània, la majoria dels seus habitants es concentren en grans àrees urbanes. En el cas de Catalunya, més del 50% de la població es troba a la franja costanera i més concretament al voltant de l'àrea metropolitana de Barcelona, donant lloc a altíssimes densitats de població, que a Barcelona ciutat s'han xifrat en 400 habitants/Ha (Terrades, 1987). Aquestes grans àrees urbanes són un mosaic d'espais naturals, semi-naturals, artificials i marginals degradats, amb característiques microclimàtiques i hidrològiques pròpies que difereixen enormement de les zones rurals i/o naturals que les envolten (Jeffrey, 1995).

1.3. Elecció d'espècies per a revegetar.

1.3.1. L'interès de les espècies autòctones.

Des de fa uns anys, la utilització sistemàtica d'espècies forànies en la jardineria tradicional per a revegetar ha estat seriosament qüestionada degut al risc de

colonització indesitjable d'hàbitats propis de la vegetació autòctona (Berger, 1993), i també perquè, en general, es requereix una quantitat d'energia considerable per al seu manteniment: reg, adobat, podes i replantacions periòdiques. Es fa doncs necessari, la recerca d'espècies adaptades al clima mediterrani amb poca disponibilitat d'humitat tant ambiental com edàfica i a sòls poc profunds i pobres en nutrients, és a dir les espècies autòctones mediterrànies (Folch, 1981). La utilització d'espècies autòctones, a més de la continuïtat formal amb el bosc més proper, faciliten les relacions amb les comunitats veïnes perquè tenen la mateixa funcionalitat.

Per tant, en tots els casos i sempre que sigui factible, cal reintroduir plantes autòctones en la zona a revegetar, que es farà en funció dels estudis previs realitzats. Primerament amb espècies herbàcies, i més endavant, si és el cas, amb arbustives i arbòries.

1.3.2. Utilització d'arbusts autòctons.

Els arbusts autòctons són de gran importància en els ecosistemes mediterranis, i particularment en el NE de la Península Ibèrica, ja que dominen grans extensions del paisatge en les primeres etapes de la successió com a resultat de l'abandó de terres agrícoles i zones afectades per incendis forestals (Bolòs, 1988; Masalles i Vigo, 1987).

A més de la seva bona adaptació a les condicions de clima i sòl, la utilització d'arbusts autòctons per a revegetar presenta molts altres punts d'interès.

En molts casos, la introducció d'arbusts proporciona el microclima adequat per a la posterior repoblació espontània o artificial amb arbres (Bolòs, 1988; López de Pablo, 1993; Valle i Lorite, 1996).

Cartagena i Bellot (1996), van mostrar que l'estrat arbustiu és l'estrat de vegetació amb una major influència en la disminució del flux superficial d'aigua. Això es degut a que els arbusts augmenten molt la intercepció de la pluja (Cabezas *et al.*, 1991), i per altra banda a l'efecte embut o "Funnel effect" suggerit per González-Hidalgo (1992).

Segons Cabezas *et al.* (1991), el percentatge de pluja interceptada pels arbusts mediterranis depèn de la seva estructura, essent més gran en arbusts de fulles filiformes que en els planifolis o que en els espinosos. L'efecte embut suggerit per González-Hidalgo (1992), consisteix en la canalització de l'aigua a través de les tiges fins els punts d'inserció d'aquestes amb el sòl. L'elevada densitat de punts d'inserció de l'estrat arbustiu mediterrani, comporta una reducció

important del flux superficial augmentant la infiltració, el que incideix directament sobre la reserva hídrica del sòl (Cartagena i Bellot, 1996).

Les pèrdues de sòl per erosió i els percentatges de pluja perduts per escolament superficial sota cobertes de diferents espècies arbustives mediterrànies també ha estat quantificada per Martínez *et al.* (1993) a la zona de les Alpujarras de Granada i Almeria, amb una pluviometria de 530 mm.any⁻¹. Sota una coberta de romaní amb un percentatge de recobriment del sòl del 40%, la pèrdua d'aigua per escolament superficial va ser del 32% i la del testimoni (sòl nu) del 36%. Les pèrdues de sòl amb la mateixa coberta van ser de 5.200 kg.ha⁻¹ durant el període estudiat, mentre que en el testimoni de 6.500 kg.ha⁻¹.

La utilització d'arbusts autòctons mediterranis per a la recuperació paisatgística o revegetació de zones degradades ha provocat darrerament un gran interès també pels seus valors estètics (Savé *et al.*, 1996). Des del punt de vista de la recuperació de valors formals i estètics del paisatge, els arbusts ofereixen un ampli ventall de possibilitats. Es pot augmentar la diversitat paisatgística mitjançant revegetacions amb arbustives com alternativa visual a les reforestacions arbrades. En aquest sentit, es poden crear zones de transició irregulars entre taques arbrades de formes geomètriques i zones nues o amb camps de conreu. Aquestes zones de transició arbustives es poden aconseguir formalment amb revegetacions d'amplada de 5 a 25 metres (MOPT, 1989).

Moltes espècies arbustives presenten a més un interès econòmic afegit: espècies mel·líferes, espècies farratgeres, aprofitament de llur biomassa per a herboristeria, obtenció de destil·lats per a perfumeria, etc.

1.3.3. Revegetacions mixtes.

Els mètodes moderns de revegetació tendeixen actualment a la introducció simultània de varietat d'espècies i a excloure el monocultiu, ja que el resultat final és més proper a la vegetació natural i menys vulnerable als incendis forestals de l'estiu (Ackzell, 1996; Kräuchi i Xu, 1996) i a l'estrès hídric (Nardini *et al.*, 1999). En aquest sentit, una millor comprensió sobre la competència interespecífica per l'aigua disponible, que és el factor limitant amb més incidència sobre la vegetació mediterrània, és important no solament des del punt de vista teòric, sinó també per a propòsits pràctics com la revegetació.

Existeix un debat al voltant de la hipòtesi sobre la relació existent entre l'habilitat competitiva i la tolerància a l'estrès de les plantes, augmentant la intensitat de la competència amb l'augment de la productivitat de l'hàbitat

(Grime, 1977; Wisheu i Keddy, 1992; Ungar, 1998; citats a Donovan i Richards, 2000). El marc de treball conceptual d'aquesta hipòtesi es basa en que s'espera que les plantes tolerants a l'estrès adaptades a la baixa disponibilitat de recursos o altres condicions ambientals adverses com la salinitat o presència de ions tòxics, tenen una baixa taxa de creixement relatiu màxim, i característiques conservadores. Això resulta en una escassa habilitat de competir pels recursos, ja que la seva capacitat per suprimir o afectar el creixement dels veïns a través de l'exhauriment dels recursos, és baixa (Grime, 1977, 1979; Goldberg, 1990; Chapin *et al.*, 1993; Ungar, 1998; citats a Donovan i Richards, 2000).

No obstant, altres teories sobre la competència sostenen que un creixement relatiu baix no comporta necessàriament una baixa capacitat per competir (Tilman, 1988; Grace, 1990; Goldberg, 1990, 1997; citats a Donovan i Richards, 2000), assumint que la intensitat de la competència no es veu afectada per la productivitat de l'hàbitat.

Models conceptuals més recents, emfatitzen que les interaccions entre plantes en hàbitats adversos poden tendir cap a la facilitació (interaccions positives) en lloc de a la competència (interaccions negatives) (Bertness i Callaway, 1994; Callaway, 1995; Callaway i Walker, 1997; citats a Donovan i Richards, 2000).

L'estratègia de les plantes per resistir l'estrès hídric, és un procés adaptatiu que pot determinar en bona mesura la seva capacitat per competir pels recursos hídrics. Per exemple, el garrofer (*Ceratonia siliqua* L.), que adopta una estratègia d'evitació davant de l'estrès, competeix millor pels recursos hídrics que l'ullastre (*Olea oleaster*), que ha desenvolupat una estratègia basada en la tolerància, presentant una reduïda taxa de creixement (Nardini *et al.*, 1999).

La majoria d'estudis de resistència a l'estrès hídric es realitzen amb individus aïllats, sense interacció amb altres plantes, positives o negatives. Novoplansky i Goldberg (2001), subratllen la necessitat d'incorporar la interacció entre espècies en els estudis de fisiologia de la resistència a l'estrès hídric i plasticitat.

1.4. Tractaments en viver per a optimitzar la resposta de les plantes en la revegetació.

La planificació i tipus de tractaments en viver dependran del tipus de revegetació a realitzar. Per exemple, la revegetació en actuacions paisatgístiques (parcs urbans i periurbans), requereix generalment plantes de mida mitjana-gran, i en reforestacions o restauracions de canteres s'utilitza planta de mida petita i endurida.

Les tècniques de producció del planter que s'utilitza per a la revegetació han de tendir a facilitar el seu establiment i a que el seu manteniment sigui mínim, de manera que el procés d'adaptació es produeixi de forma natural atenent als propis mecanismes de les plantes sense necessitat d'intervenció (Savé *et al.*, 1996). Diferents pràctiques culturals i tractaments en el viver poden contribuir de forma decisiva a l'èxit de la revegetació.

En la fase de producció de la planta al viver, poden introduir-se determinades pràctiques que augmentin la probabilitat de supervivència. S'ha descrit el xoc del trasplantament com un període d'estrès hídric que s'estén des del trasplantament fins que les plàntules assoleixen uns valors normals en les seves relacions hídriques en el nou emplaçament. Aquest estrès està causat per una relació entre part aèria i part subterrània desfavorable (Kozlowski i Davies, 1975), i per una major taxa transpiratòria i una insuficient regulació de les pèrdues d'aigua pels estomes i la cutícula. Un bon coneixement de les característiques de l'espècie a introduir i com podem modificar-les "endurint-la" amb el maneig del reg, la nutrició o variant la temperatura, podrà contribuir a millorar la supervivència, l'arrelament i l'assentament de la planta en unes condicions que generalment són hostils (Van Driessche, 1991 a i b). Aquests tractaments en viver han d'anar encaminats a disminuir les pèrdues d'aigua per la cutícula, millorar la regulació dels estomes, disminuir el desequilibri entre part aèria i subterrània i a promoure la formació de conductes d'entrada i transport d'aigua més eficients.

1.4.1. Aigua.

L'aigua és el principal factor limitant per al desenvolupament de les plantes, i amb el seu maneig en el viver es poden aconseguir plantes de diferents característiques tant morfològiques com fisiològiques.

Per aconseguir els objectius de producció necessaris en la producció viverística, durant la fase de creixement exponencial cal aportar la quantitat d'aigua necessària per a satisfer les necessitats de la planta i obtenir un creixement òptim. Un cop aconseguida la mida del planter adequada per cada espècie, s'ha d'aturar el seu creixement per tal de conferir-li certa resistència per a poder suportar el transport, el trasplantament i les condicions ambientals del

emplaçament definitiu (Matthews, 1983). Per això es poden emprar diferents tècniques: estrès hídric moderat, disminució de la fertilització, disminució de la temperatura nocturna o la seva combinació.

L'estrès hídric moderat provoca una disminució de turgència de les cèl·lules i, com a conseqüència, s'atura el creixement en alçada i en producció de matèria seca. La taxa de fotosíntesi neta disminueix però no s'anul·la, amb la qual cosa l'excés d'assimilats s'emmagatzema en òrgans de reserva com arrels i tiges. Aquestes reserves permetran formar noves estructures quan les condicions siguin favorables (van den Driessche, 1991 a i b). Un altre efecte de l'estrès hídric, és l'acumulació de soluts en les fulles de certes espècies, que els confereix resistència a la sequera i a les baixes temperatures hivernals (Villar *et al.*, 1999). Els tractaments d'estrès hídric moderat s'han de realitzar durant les èpoques de fotoperíode llarg i s'han d'aplicar de manera gradual per aconseguir que es desenvolupin els mecanismes de resistència a l'estrès hídric i al fred (Van den Driessche, 1969; Blake *et al.*, 1979).

1.4.2. Temperatura.

La temperatura és un dels factors més controlats en un viver a través d'estructures com hivernacles o umbracles. La temperatura alta de l'estiu es pot controlar evitant l'arribada de la radiació amb malles d'ombreig i/o afavorint la ventilació de l'hivernacle amb obertures adequades. La utilització de calefacció a l'hivern depèn de l'espècie i del benefici que se n'obté. En cultius forestals només s'utilitza en la fase de germinació i post-germinació de certes espècies (per exemple en *Quercus spp.*). El cultiu de planta ornamental i per a jardineria s'utilitza amb la finalitat d'evitar pèrdues per gelades o avançar la producció primaveral.

Tal com s'ha apuntat en l'apartat anterior, el maneig de la temperatura també pot conferir al planter característiques de resistència a l'estrès hídric (Landis *et al.*, 1992).

Amb menors temperatures de cultiu en la fase de producció en viver, es poden aconseguir canvis morfològics i d'al·locació de biomassa en el planter, com menor creixement en alçada, menor relació alçada/diàmetre i "root/shoot" i major pes específic foliar, i finalment un augment de la resistència del planter a l'estrès hídric un cop trasplantat i en condicions de camp (van des Driessche, 1991 a i b). També es pot intervenir incrementant la diferència entre les temperatures diurnes-nocturnes (Burr *et al.*, 1990), o sotmetre el planter periòdicament a temperatures de "chilling" (Roberts i Zwiazek, 1999),

aconseguint canvis morfològics que poden ser associats amb una millor resistència de les plantes a l'estrès hídric (Mooney, 1982; Gratani i Bombelli, 2000), i millor recuperació del planter després de sotmetre'l a cicles de sequera (Roberts i Zwiazek, 1999).

Amb la disminució gradual de la temperatura nocturna un mes, s'ha observat que el planter de determinades espècies forestals desenvolupa mecanismes de resistència a l'estrès hídric (Landis *et al.*, 1992).

1.4.3. Enriquiment amb diòxid de carboni (ECO₂).

L'exposició de les plantes a ambients amb una elevada concentració de diòxid de carboni (ECO₂) durant curts períodes de temps, generalment estimula la fixació fotosintètica de carboni i el creixement (BassiriRad *et al.*, 1997). Així, en estudis a curt termini (inferiors als 6 mesos) de plantes llenyoses exposades a nivells elevats de CO₂ i amb diferent disponibilitat de recursos, s'ha descrit que la biomassa total s'incrementa un 38% de mitjana en coníferes i un 63 % en caducifolis (Ceulemans i Mousseau, 1994; Tissue *et al.*, 1997). La durada dels assajos d'aquests autors és similar al cicle de producció del romaní en viver.

Tanmateix, en estudis a mig i/o llarg termini s'han descrit canvis en la mida i en les relacions al·lomètriques (Bazzaz *et al.*, 1993), en la quantitat i proporció de biomassa radicular (BassiriRad *et al.*, 1997; Will i Teskey, 1997) i en la concentració de diferents nutrients en els teixits, especialment el nitrogen (Peñuelas *et al.*, 1995; Rogers *et al.*, 1996). Aquest cúmul de sucres i nutrients fa augmentar el pes específic i disminuir el potencial osmòtic, la qual cosa pot ajudar a les plantes en situacions d'estrès hídric i en la supervivència després del trasplantament (Savé *et al.*, 1998).

També s'ha descrit que l'ECO₂ té efecte en la producció de metabolits secundaris, principalment terpens, i en el cas del romaní s'ha observat un lleuger augment en la producció d'olis essencials i de la concentració de terpens, sobretot degut a l'augment de biomassa a 700 ppm (Llusià *et al.*, 1996).

De tota manera, la resposta a l'ECO₂ no és universal ja que hi ha espècies que responen positivament (Bazzaz, 1990; Eamus i Harvis, 1989; Rogers *et al.*, 1994; Stulen i der Hertog, 1993) i d'altres que són indiferents (Norby, 1994).

1.4.4. La micorizació.

A més de les pràctiques culturals i diferents tractaments, en el viver es poden introduir altres millores tecnològiques encaminades a equilibrar la resposta de

les plantes davant l'estrès hídric i nutricional a que es veuran sotmeses en la zona a revegetar.

En general, en les àrees fortament degradades o desertificades, la flora micotròfica del sòl disminueix dràsticament. Per això, la inoculació artificial del planter amb fongs micorízics adaptats a les condicions ambientals i edàfiques en les que es desenvoluparan, és una millora tecnològica que pot resultar interessant (Trappe, 1988; St. John, 1996), particularment quan les zones a revegetar estiguin fortament degradades i presentin una merma dràstica de la flora micotròfica del sòl (Parker *et al.*, 1983; Skujins i Allen, 1986; Cuenca i Lobera, 1992; Herrera *et al.*, 1993; Miller i Jastrow, 1992).

Les micorices arbusculars són una simbiosi entre les arrels de la majoria de les espècies vegetals i fongs de la classe zigomicetes, que es troba present en gairebé tots els ecosistemes naturals i agrícoles.

En aquesta simbiosi, la planta subministra al fong hidrats de carboni i un nínxol ecològic protegit. La simbiosi arbuscular pot arribar a utilitzar entre un 10 i un 20% del CO₂ assimilat per la planta, per la qual cosa juga un paper important en l'al·locació del carboni des de la planta cap al sòl (Jakobsen i Rosendahl, 1990).

Per la seva part, el fong incrementa la capacitat d'absorció de nutrients minerals (P, N, K, Ca, Mg, Zn i Cu), especialment el fòsfor, afavorint el creixement i el desenvolupament de la planta (Maschner i Dell, 1994; Smith i Read, 1997). Així mateix, la simbiosi arbuscular pot millorar la resposta de la planta a l'estrès hídric (Nelsen, 1987). La bibliografia descriu un ampli ventall de possibles mecanismes pels quals la planta hoste millora la resistència a l'estrès hídric. Serien entre d'altres, l'increment de la conductivitat hidràulica radicular degut a la presència de més conductes i punts d'entrada d'aigua a l'arrel (Safir *et al.*, 1972); una major regulació estomàtica per canvis en els nivells hormonals (Allen *et al.*, 1982); la millora i l'increment en l'absorció d'aigua degut a les hifes extra-radicals (Hardie, 1985); l'ajust osmòtic de les fulles (Augé *et al.*, 1986 a i b) i a canvis en l'elasticitat de la paret cel·lular de les fulles que permetrien un ajust elàstic (Augé *et al.*, 1987). Al desenvolupar-se la resistència a la sequera, s'incrementa la hidratació de la planta i la turgència, que promou una major conductància estomàtica i fotosíntesi (Boyer, 1976), i consegüentment un major creixement de les plantes micoritzades (Bradford i Hsiao, 1982; Levitt, 1980). D'altra banda hi ha autors que refusen aquesta hipòtesi, ja que han observat que la simbiosi en condicions de sequera extrema pot representar un drenatge de recursos per a la planta, i no aporta cap avantatge a aquesta enfront a

situacions d'estrès hídric elevat (Levy i Krikun, 1980; Levy *et al.*, 1983b; Allen i Boosalis, 1983; Parker *et al.*, 1983; George *et al.*, 1992; Jasper *et al.* 1993).

1.4.5. Enriquiment amb diòxid de carboni i micorizació.

L'enriquiment atmosfèric amb diòxid de carboni estimula el creixement de les arrels, que a la vegada facilita l'establiment de processos simbiòtics (Syversten i Graham, 1999). Per altra banda, les micorizes presenten una alta demanda de carboni; aquesta demanda promou el transport de carbohidrats cap al sistema radicular i afavoreix la fixació de carboni a nivell de tota la planta (Lovelock *et al.*, 1997). A més, s'ha observat un estímul de la fotosíntesi en relació a plantes no micoritzades, almenys en els primers estadis de creixement (Pearson, 1993; Snellgrove *et al.*, 1982). Les arrels de les plantes micoritzades actuen com a embornal de fotosintetats, retardant l'autoregulació ("downregulation") de la fotosíntesi, que té lloc quan hi ha una acumulació excessiva de carbohidrats a les fulles (Lewis *et al.*, 1994).

Els efectes de l'ECO₂ observats en les plantes micoritzades poden resumir-se en:

- Estímul en el creixement de les arrels, que a la vegada facilita la seva colonització, ja que en les zones de creixement de l'arrel és on es produeixen les noves estructures simbiòtiques (Lincoln *et al.*, 1986; Fajer, 1989; Lincoln i Covet, 1989). S'ha observat també un efecte sobre la colonització total de les arrels, depenent de l'espècie hoste colonitzada i de l'espècie del fong que intervé en la relació simbiòtica (O'Neill, 1991; Monz *et al.*, 1994). En els següents casos s'ha observat increments en el percentatge total de colonització en resposta a l'ECO₂: *Plantago lanceolata* (Rouhier i Read, 1998), *Bouteloua gracilis* (Monz *et al.*, 1994; Morgan *et al.*, 1994), *Avena barbata* i *Linanthus parviflorus* (Rilling *et al.*, 1998), *Prunella grandiflora* (Sanders, 1996). En altres espècies no s'ha observat cap influència de l'ECO₂ sobre el percentatge de colonització: *Artemisa tridentata* (Klironomos *et al.*, 1996), *Gossipium hirsutum* (Runion *et al.*, 1994), *Trifolium repens* (Jonge *et al.*, 1996), *Pascopyrum smithii* (Monz *et al.*, 1994), *Liriodendron tulipifera* (O'Neill *et al.*, 1991), *Prunella vulgaris* (Sanders, 1996), *Bromus hordeaceus* i *Vulpia microstachys* (Rilling *et al.*, 1998). Però en tots els casos esmentats anteriorment, l'ECO₂ comporta increments en la longitud total de les arrels, i per tant sempre hi ha més longitud d'arrel colonitzada o potencialment colonitzable.
- Un augment de l'activitat metabòlica del fong ja establert dins l'arrel, ja que augmenta el seu creixement i respiració, provocant una major demanda de

carbohidrats cap a les arrels o efecte embornal (Hendrix *et al.*, 1994; Jongen *et al.*, 1995; Lovelock *et al.*, 1997).

- Estímul de l'activitat fotosintètica de la planta i emmagatzematge de carboni a les fulles en forma de sucres acompanyat d'una disminució del midó en les arrels i increment de l'emmagatzematge de carboni dins les estructures del fong (arbuscles i vesícules) (Curtis, 1990; O'Neill *et al.*, 1991; Lovelock *et al.*, 1997).

- La fenologia de les micorizes arbusculars s'altera en resposta a l'ECO₂, i la naturalesa d'aquesta resposta depèn de l'espècie del fong. En efecte, en estudis amb *Artemisa tridentata*, Klironomos *et al.* (1996), van trobar que en condicions d'ECO₂ augmentava la proporció d'arbuscles (òrgans d'intercanvi de nutrients fong-planta), hifes internes i hifes externes, mentre que els vesícules (òrgans d'emmagatzematge) i les espores (estructures propagatives) no responien a l'ECO₂. En *Plantago lanceolata*, Rouhier i Read (1998), van detectar un augment en el nombre de vesícules. En *Populus tremuloides*, l'ECO₂ va causar un increment en la llargada de les hifes extra-radicals, però no va variar la colonització intra-radical (Klironomos *et al.*, 1997). Els resultats d'aquest article mostren que les espècies de *Glomus* produeixen més arbuscles i hifes internes en resposta a l'ECO₂ que *Acaulospora* i *Scutellospora*. Les hifes externes i les espores tenen una resposta més variable. En definitiva, alguns autors consideren que en l'estudi de l'efecte de l'ECO₂ sobre la colonització, cal tenir en compte els possibles canvis fenològics en el fong, ja que es donen casos de resposta fenològica sense que es detectin canvis en els nivells de colonització (Duckmanto i Widden, 1994; Klironomos *et al.*, 1996, 1997).

1.5. Millores tecnològiques en la realització de la revegetació.

Diferents millores tecnològiques i pràctiques culturals es poden aplicar en el moment de la plantació o posteriorment, per tal d'assegurar l'èxit de la revegetació.

El planter cultivat en contenidor amb un tipus de substrat determinat, un cop trasplantat al sòl definitiu, pateix un estrès hídric. Aquest estrès ve determinat per un assecament del substrat per evapotranspiració, pèrdua d'aigua en el perfil per les forces gravitacionals i pèrdua d'aigua en el pa del substrat per diferència de textures sòl-substrat, igualant-se el potencial del pa de substrat amb el del sòl (Örlander i Due, 1985). Si no aportem aigua addicional, la plàntula s'assecarà ja que en aquests primers dies les arrels només es localitzen en la zona del substrat (Matheny *et al.*, 1979). Depenent de l'època de trasplantament i del

règim pluviomètric de la zona a revegetar, caldrà almenys un reg de suport per garantir la supervivència de les plàntules.

En un contenidor, la forma i la petita mida dels forats de la part inferior, sovint obstrueix el moviment de l'aigua, que de forma natural drenaria per les forces gravitacionals. Aquesta obstrucció o trencament de la columna d'aigua forma el que s'anomena "perched table" (Spomer, 1974). En el sòl en canvi, la columna d'aigua és contínua des de la superfície fins al nivell freàtic (Matheny *et al.*, 1979; Nelms i Spomer, 1983), i el moviment d'aigua segueix el gradient de potencial. En el terreny a revegetar, la instal·lació d'una capa de plàstic o de grava que trenqui la columna d'aigua justament a la profunditat del pa de substrat, forma una retenció d'aigua que facilita la seu aprofitament pel planter recentment trasplantat (Matheny *et al.*, 1979), millora les seves relacions hídriques i augmenta la probabilitat de supervivència (Beeson, 1994).

Altres millores o pràctiques culturals conegudes serien: la poda de la part aèria per reduir la superfície transpiratòria i/o l'ús d'antitranspirants en el moment del trasplantament (Davies i Kozlowski, 1975); optimització de l'època de la plantació; millora de les condicions microclimàtiques al voltant de la plàntula mitjançant l'ús de "mulch", ombrejat o tubs protectors de plàstic; utilització d'hidrogels, que tot i ser una tècnica cara, millora l'aport d'aigua en els mesos posteriors al trasplantament (Savé *et al.*, 1995).

1.6. L'Ecofisiologia com a eina per avaluar la resposta de les plantes.

En l'estudi de la resposta de les plantes davant dels estressos tant biòtics com abiòtics, s'empren tècniques i metodologies pròpies de l'ecofisiologia. L'ecofisiologia es pot definir com la branca de la ciència que estudia els processos fisiològics que resulten de la interacció entre plantes i ambient, així com els processos vitals d'aclimatació i adaptació (Prasad, 1997), i que són la base de qüestions d'interès ecològic. Així, l'ecofisiologia aplica coneixements i tècniques emprades en la fisiologia a individus i escenaris més propis de l'ecologia.

En aquest treball s'ha estudiat de forma més extensa la part relacionada amb les relacions hídriques, ja que l'aigua és el factor més limitant en els ecosistemes mediterranis. El tipus de creixement, reproducció i la dinàmica estacional i diària dels paràmetres que descriuen les relacions hídriques, han permès definir

algunes de les principals estratègies adoptades per les plantes per resistir l'estrès hídric (Levitt, 1980; Kramer, 1983; Nilsen i Orcutt, 1996; entre d'altres).

Els mecanismes que permeten a les espècies vegetals sobreviure, desenvolupar-se i reproduir-se en condicions de sequera i aridesa són, segons Levitt (1980), l'escapament, l'evitació i la tolerància.

- Escapament de la sequera: les plantes que escapen a la sequera són aquelles que completen el seu cicle abans que arribi l'època seca.

- Evitació de la sequera: són evitadores de la sequera aquelles espècies que, mitjançant diferents mecanismes adaptatius, eviten la pèrdua d'aigua per transpiració, retardant el més possible la deshidratació. Entre aquests mecanismes hi ha: (a) tancament estomàtic ràpid i complert; (b) presència de cutícules gruixudes i molt impermeables; (c) reducció de la superfície foliar; (d) disminució de la transpiració, que es pot aconseguir bé disminuint el gradient de pressió de vapor, bé augmentant la resistència de la capa d'aire adherida a la fulla; (e) emmagatzematge d'aigua als troncs, fulles i arrels (suculència).

La presència de fulles petites que afavoreixin la convecció i la dissipació de calor; la disposició de les fulles de forma paral·lela als rajos solars; la presència de determinats pigments foliars (color verd clar) o ceres brillants que reflexen la radiació; o el desprendiment d'olis volàtils que augmenten la densitat mitjana del gas de la capa adherida a les fulles disminuint així la taxa de difusió de vapor, són alguns dels mecanismes adaptatius pels quals les plantes disminueixen la transpiració reduint el gradient de pressió de vapor.

La presència de cambres subestomàtiques; la presència de tricomes més o menys densos; o el cargolament de les fulles sobre sí mateixes, són mecanismes adaptatius de disminució de la transpiració que augmenten la resistència de la capa d'aire adherida a la fulla.

- Tolerància de la sequera: és la capacitat del protoplasma per a suportar pèrdues d'aigua elevades mantenint la turgència cel·lular. Les plantes ho aconsegueixen mitjançant l'ajust osmòtic de les cèl·lules de les fulles, que consisteix en l'acumulació activa de soluts tant orgànics com inorgànics (Morgan, 1984); o bé mitjançant l'ajust elàstic, que consisteix en la disminució del mòdul d'elasticitat (ϵ) de les parets cel·lulars de les fulles, augmentant la seva elasticitat, que permet el manteniment de la turgència cel·lular a continguts relatius d'aigua baixos (Turner i Jones, 1980).

L'estructura de la capçada vegetal és la disposició espacial dels òrgans de la planta per sobre del sòl. Com ja s'ha apuntat, modificacions en aquesta estructura poden constituir mecanismes d'evitació a l'estrès hídric. Les fulles serveixen de col·lectors de la radiació solar i intercanviadors de gasos (CO_2 i O_2). Les tiges i branques suporten aquesta superfície de tal manera que els intercanvis de radiació per convecció i per radiació siguin el més eficients possibles. Per tant, conèixer l'estructura d'una capçada vegetal ens permet preveure la intercepció i transmissió de llum, de pluja i de temperatura cap al sòl (Givnish, 1987).

El creixement d'arbres i arbusts pot ser caracteritzat per la simetria longitudinal al llarg de l'eix vertical, i per la simetria lateral al llarg de l'eix horitzontal. Cada espècie té un model de creixement prefixat genèticament. Els arbusts es caracteritzen perquè l'eix principal deixa de créixer (creixement determinat) i els borrons de la base desenvolupen branques laterals de major longitud. El model tridimensional de creixement de les branques i les fulles, està destinat a afavorir una major intercepció de la radiació solar per les fulles. Una distribució heliotròpica facilita que arribi més llum a totes les fulles si aquesta és un factor limitant; si hi hagués un excés de llum, les fulles i les branques es disposarien paral·lelotròpicament. La competència entre plantes també té influència en la seva morfologia. Així, si la llum es escassa, totes creixeran al màxim per evitar l'ombra de les altres competidores.

La fenologia del creixement en la major part dels arbres i arbusts perennifolis de la zona de clima mediterrani, es caracteritza per una brotada a la primavera quan les temperatures s'atemperen, i una aturada a l'estiu quan les temperatures són altes i el dèficit hídric del sòl i de l'ambient és extrem. És força comú que hi hagi una brotada a la tardor depenent de l'espècie i de l'estat fisiològic de l'individu, i que continuï creixent fins l'arribada dels primers freds (Diamantoglou i Mitrakos, 1981; Castells, 1992).

El desenvolupament addicional de teixits estructurals en moltes xeromòrfiques origina cèl·lules rígides i inextensibles, amb un mòdul d'elasticitat elevat (ϵ). Aquesta característica també permet a les cèl·lules tolerar altes concentracions osmòtiques, amb la capacitat conseqüent de mantenir la turgència fins a valors molt baixos de potencial.

La constància del volum cel·lular pot ser també important en el manteniment de l'activitat fisiològica per a un ampli espectre de potencials sense necessitat d'ajust osmòtic. El volum cel·lular influeix en l'elasticitat del teixit, essent les

cèl·lules més petites les més elàstiques. Degut a la sequera hi ha una disminució del creixement i una reducció de la mida de la cèl·lula, i això possibilita el manteniment de la turgència degut a la major capacitat de les cèl·lules petites de mantenir-se turgents a potencials hídrics baixos. Joly i Zaerr (1987), van trobar que l'estrès hídric provocava canvis reversibles en el mòdul d'elasticitat (ajust elàstic) en fulles de pi, les quals regulen la turgència.

La majoria de les plantes natives de regions àrides i semi-àrides tenen fulles gruixudes, i molt cutinitzades que s'anomenen escleròfil·les. Presenten baixa transpiració cuticular i estomes que es tanquen ràpidament amb l'aire sec (Turner, 1994). La taxa de transpiració cuticular depèn menys del gruix de la cutícula com de la quantitat de ceres dipositades en la superfície i dintre de la cutícula (Schönherr, 1982). La quantitat de cera dipositada depèn del potencial genètic i de l'ambient de la planta, i generalment és molt alta tant en plantes herbàcies com en plantes llenyoses de llocs secs (Van Volkenburgh i Davies 1977; Pallardy i Kozłowski, 1980). L'acumulació de ceres en l'antecàmara de l'estoma és particularment efectiva per a reduir la transpiració (Kozłowski, 1982). L'estrès hídric i la llum brillant també causa un augment del gruix de la fulla i de la relació entre la superfície del mesòfil i la superfície de l'epidermis en fulles de sol comparades amb les d'ombra. Això tendeix a incrementar més la fotosíntesi que la transpiració i millora l'eficiència en l'ús de l'aigua (Nobel, 1983).

Encara que l'èxit d'una espècie en la natura generalment està molt relacionada amb la seva tolerància a l'estrès hídric, és sovint difícil distingir les causes de les diferències en la tolerància. Això és perquè la tolerància depèn de característiques morfològiques i fisiològiques, la importància relativa de les quals varia en els diferents ambients. És per tot això que la recerca sobre la tolerància a l'estrès ha de considerar l'ambient a on la planta creixerà (Pallardy, 1981).

1.7. El romaní (*Rosmarinus officinalis* L.) com a planta d'estudi.

El romaní (*Rosmarinus officinalis* L.) és l'espècie dominant en nombroses brolles calcícoles litorals de les contrades mediterrànies, a excepció dels Pirineus. Aquestes brolles corresponen al domini *Rosmarino-Ericion*. Les trobem distribuïdes amplament com a estadi de degradació dels alzinars i també substituint màquies. La seva àrea de distribució s'estén des del Roselló fins a

València. Pot desenvolupar-se bé en llocs amb baixa disponibilitat d'aigua i amb temperatures extremes (Folch, 1981).

En aquesta Tesi Doctoral s'ha escollit el romaní com espècie de treball en tots els experiments, per la seva àmplia distribució en el domini mediterrani i per la seva provada resistència a l'estrès hídric, ja que pot viure amb un 1% de contingut d'aigua al sòl (Merino, 1988; Martínez *et al.*, 1993; González-Hidalgo, 1994; Savé *et al.*, 1995).

En el moment que es van iniciar els primers experiments inclosos en aquesta Tesi, hi havia poques publicacions sobre la fisiologia del romaní. Darrerament però, han estat publicats diversos articles sobre aspectes relacionats amb la resposta fisiològica d'aquesta espècie a la sequera. Així, tant en Pastor (1996) com en Munné *et al.* (1999a), es descriu la resposta de romaní a l'estrès hídric en condicions de cultiu en contenidor i en condicions de camp. La conclusió a què van arribar tots dos autors, és que el romaní és una espècie que presenta disminucions de la taxa fotosintètica, la conductància estomàtica i el potencial hídric foliar amb la disminució de l'aigua disponible en el sòl/substrat. Així mateix, les fulles són capaces de deshidratar-se fins al 50% de contingut relatiu d'aigua i recuperar-se al tornar-les a regar. Cal destacar que, en aquestes condicions, l'aparell fotosintètic mesurat segons la relació F_v/F_m no es va veure afectat. Pastor (1996) també descriu que aquesta espècie és capaç de realitzar ajust osmòtic i augmentar el mòdul d'elasticitat en condicions de sequera. Per altra banda, el dèficit hídric no provoca en el romaní un increment en la concentració d'àcid abscísic en les fulles (López-Carbonell *et al.*, 1996).

Els aprofitaments del romaní són molt diversos. Es produeix en viver amb finalitat ornamental i com a planta per a revegetar zones degradades, i s'utilitza en ajardinaments amb l'objectiu d'aconseguir jardins amb baix cost de manteniment (Burés, 1993; Andrés i Martín, 1992). S'empra com a font d'inòcul de fongs micorízics en replantacions de fruiters (Camprubí *et al.*, 1992). S'utilitza també com a planta medicinal, mel·lífera, com a condiment culinari i en perfumeria.

La seva utilitat per a la indústria farmacèutica i química radica en que és una planta molt rica en olis essencials (Muñoz, 1987), i darrerament ha suscitat gran interès la seva utilització en la indústria agroalimentària com a additiu i conservant substitutori d'additius sintètics. Les fulles de les plantes de romaní produeixen una major quantitat d' α -tocoferol, carotens i àcid carnòsic quan es sotmeten a dèficit hídric. Aquests compostos intervenen en processos que ajuden

a protegir la fulla de processos oxidatius, que esdevenen com a conseqüència de la limitació fotosintètica deguda a l'estrès hídric (Munné *et al.*, 1999b).

El cultiu de romaní en ambients enriquits amb CO_2 hi ha un augment de la concentració de terpens degut a l'increment de biomassa (Llusia *et al.*, 1996).

Al voltant del 60% de les publicacions sobre romaní trobades en les bases de dades, fan referència a la presència de diferents compostos i el seu ús en la indústria farmacèutica, perfumeria i com a conservant en la indústria agroalimentària. Tant sols el 9% es dedica a aspectes relacionats amb la fisiologia de la planta, i el 7% sobre la utilització de metabolits secundaris per a la protecció de cultius.

CAPÍTOL II. OBJECTIUS I ESTRUCTURA DE LA TESI.

Grossnickle i Folk (1993), defineixen la qualitat d'una planta produïda en viver com aquelles característiques que confereixen una millor aptitud per a sobreviure, créixer i desenvolupar el seu cicle en les condicions definitives.

Tal com s'ha descrit en la introducció, la qualitat de la planta produïda en viver es pot modificar introduint variacions en els factors de cultiu, de manera individual o combinada. També es poden aplicar diferents tractaments un cop les plantes s'introdueixen en l'emplaçament definitiu, de manera que augmentin la probabilitat de supervivència i ajudin a la planta a desenvolupar-se.

Els experiments inclosos en aquesta tesi doctoral, s'han agrupat en dos capítols, el Capítol IV i el Capítol V.

El Capítol IV titulat "Resposta del romaní en condicions de viver" inclou els experiments realitzats en condicions de producció en viver, en els quals s'assagen diferents factors de cultiu amb l'objectiu comú de caracteritzar i optimitzar la qualitat del romaní per a ser utilitzat en revegetacions com a planta autòctona. Entre l'ampli ventall de possibilitats, els factors de cultiu escollits han estat la dosi d'aigua, la temperatura, l'adobat carbònic i la inoculació amb un fong micorízic vesículo-arbuscular. La descripció dels objectius concrets de cada experiment es fa per a cadascun d'ells, però de forma general l'objectiu dels experiments inclosos en aquest capítol són:

- Experiment 1: avaluar la resposta del romaní a la modificació de la temperatura ambiental i dosi de reg durant el cultiu hivernal.
- Experiment 2: avaluar l'efecte de la temperatura i la inoculació amb un fong micorízic (*Glomus intraradices*) en la fisiologia del sistema radicular del romaní.
- Experiment 3: estudiar l'efecte de l'adobat carbònic, la inoculació amb *Glomus intraradices*, i la dosi d'aigua en la producció de matèria seca i l'al·locació de biomassa del romaní.

En el Capítol V, titulat "Simulació de revegetacions amb romaní en condicions semicontrolades", s'hi agrupen aquells experiments realitzats en hivernacle i en condicions controlades o semi-controlades, que pretenen simular les condicions del trasplantament, les d'una revegetació amb romaní i les d'una revegetació

mixta. L'objectiu comú d'aquests experiments és estudiar i avaluar la resposta del romaní en diferents situacions que tenen lloc amb la seva introducció en un espai degradat que es pretén rehabilitar o restaurar. En aquests experiments s'assagen dosis d'aigua pròpies de règims pluviomètrics de la conca mediterrània, un cicle de sequera que comporta condicions d'estrès hídric similars a les que poden tenir lloc durant el trasplantament, la profunditat de sòl disponible, la utilització de plantes de romaní micoritzades en viver i la interacció entre el romaní i altres espècies autòctones. De forma general, l'objectiu dels experiments inclosos en aquest capítol són:

- Experiment 4: estudiar els mecanismes de tolerància i evitació desenvolupats pel romaní micoritzat i no micoritzat durant un dèficit hídric de curta durada i forta intensitat, similar al que es pot produir en el trasplantament.
- Experiment 5: estudiar la resposta productiva i fisiològica del romaní micoritzat i no micoritzat en el transcurs d'una revegetació simulada, amb dos règims pluviomètrics diferents propis de zones àrides i semi-àrides.
- Experiment 6: avaluar l'efecte de la profunditat de sòl disponible i la interacció amb dues espècies autòctones en la producció i relacions hídriques del romaní en el transcurs d'una revegetació mixta simulada.

Per tal de no reiterar descripcions, el Capítol III es dedica a l'exposició del material i la metodologia utilitzada de forma comuna en tots els experiments.

En el capítol VI de conclusions generals es fa un compendi de les conclusions de cada experiment i es plantegen possibles aplicacions dels resultats obtinguts.

Aquesta tesi doctoral s'ha desenvolupat dins de les línies temàtiques pròpies del Departament de Tecnologia Hortícola de l'IRTA de Cabriels: "Bases fisiològiques del comportament de material vegetal en condicions ambientals i agronòmiques pròpies dels agrosistemes hortícoles".

Els experiments que formen la memòria van estar englobats en les activitats de diversos projectes duts a terme en diferents anys:

- Projecte CICYT AGF 92-0428: "Aplicación de las micorrizas vesiculo-arbusculares a la producción de frutales. Relaciones microbianas en la rizosfera y efectos del déficit hídrico".

- Projecte CEE AIR3 CT94-2472: "Introduction of promising native ornamental species to the European market, adapted to low water availability and saline conditions".
- Projecte INCO-DC ERBIC18CT70197: "Use of mycorrhizal and rhizobial symbiosis for the sustainable development of forest resources in the mediterranean region".
- Projecte de demostració de l'aplicació de gasos en el cultiu d'espècies llenyoses i contractes amb l'empresa subministradora de gasos Carbuross Metàlics.

CAPÍTOL III. MATERIAL I MÈTODES GENERALS.

3.1. El material vegetal : descripció de la planta i del fong micorízic.

El romaní, *Rosmarinus officinalis* L., ha estat utilitzat com a planta d'estudi en tots els experiments. Pertany a la Classe *Magnoliopsida*, Subclasse *Asterides*, Ordre *Lamiales*, Família *Lamiaceae* o Labiades. Aquesta família està constituïda per herbes o mates, i més rarament arbusts o arbres. Són productores d'essències i de morfologia molt característica.

El romaní és un arbust de branques erectes i amb les fulles coriàcies, revolutes i tomentoses per revers. Les tiges són quadrangulars i les fulles són simples, oposades i decussades. La flor té la corol·la formada per 5 peces, 2 superiors i 3 inferiors, i és de color blau pàl·lid o intens. L'aroma i la fragància d'aquestes plantes és deguda a unes glàndules que es troben en el revers de la fulla i són plenes d'olis essencials, formats majoritàriament per terpens. Els olis essencials tenen una funció dissuasòria dels herbívors, a qui desagrada la flaire que desprenen i el sabor que donen a les fulles i tiges.

En tots els experiments, el planter de romaní utilitzat provenia d'un viver comercial proper al Centre de l'IRTA de Cabrils, on es van dur a terme els assajos. El planter es va obtenir en tots els casos per reproducció vegetativa a partir de plantes mare, i es van arrelar en un substrat de torba sota hivernacle amb control de la humitat relativa mitjançant sistema "mist".

El fong micorízic utilitzat va ser el *Glomus intraradices* Schenk & Smith. Taxonòmicament pertany a la Divisió *Eumicetes*, Classe *Zigomicetes*, Ordre *Glomales*, Subordre *Glominae*, Família *Glomaceae*.

Glomus intraradices és una espècie endomicorízica vesículo-arbuscular, que forma clamidospores lliures en el sòl o sovint dins del parènquima cortical de l'arrel de la planta hoste colonitzada. L'inòcul utilitzat d'aquest fong, va ser originalment aïllat d'una zona de Tarragona destinada a la producció de viver de cítrics, de pH alcalí, alt contingut en carbonats i baixa fertilitat. Així doncs, hi ha coincidència entre els hàbitats potencials dels dos simbionts escollits. Aquest aïllat està registrat en el Banc Internacional de Glomals amb el nombre 72. La seva eficàcia, efectivitat i infectivitat va ser comprovada prèviament en patrons de fruiters i també en plantes aromàtiques entre elles el romaní (Camprubí et al., 1992).

3.2. Metodologia general.

3.2.1. Inoculació del fong.

El fong es va cultivar associat a porro (*Allium porrum* L.) com a planta hoste per obtenir inòcul suficient. Es va escollir aquesta planta com a hoste perquè és molt micòtrofa i no comparteix plagues ni malalties amb el romaní.

L'inòcul utilitzat per al romaní, va consistir en arrels de porro colonitzades amb *G. intraradices* i sòl rizosfèric. La inoculació es va dur a terme en tots els casos en el moment del repicat de les plantes de romaní de 2 mesos d'edat (trasplantament), dosificant l'inòcul en forma de capa sota les arrels en el nou contenidor.

A les 6 setmanes de la inoculació, es van realitzar controls de colonització de les arrels tant de les plantes de romaní inoculades com de les plantes control o no inoculades. Aquests controls de colonització per comprovar l'efectivitat de la inoculació o la possible contaminació de les plantes control, es van fer seguint la metodologia exposada a l'apartat 3.2.6.

3.2.2. Condicions de conreu.

3.2.2.1. Hivernacles i control de les condicions ambientals.

En tots els experiments, les plantes es van cultivar sota coberta. En els experiments 2, 4, 5 i 6 es va utilitzar un hivernacle amb coberta de vidre, i en l'experiment 3 un hivernacle multitúnel amb coberta plàstica de polietilè.

En l'experiment 1 es va utilitzar un túnel amb coberta plàstica de polietilè per al tractament $-T^a$, i el mateix hivernacle multitúnel de l'experiment 3 per al tractament $+T^a$.

El control climàtic es va realitzar mitjançant l'obertura de finestres (ventilació) a partir de 20°C, i en els experiments 1 (tractament $+T^a$) i 3, es van escalfar amb aroterms d'aire calent per a mantenir sempre una temperatura mínima per damunt de 12°C.

El cicle d'estrès de l'experiment 4 es va realitzar en una cambra de condicions controlades (Koxka 1M/365/IA) a temperatura controlada constant de 20°C, humitat ambiental del 70% i una intensitat lumínica de $250 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ aportada per fluorescents i bombetes incandescentes. El fotoperíode va ser de 16 hores de llum 8 de fosc.

3.2.2.2. Injecció i control del diòxid de carboni (CO₂).

En l'experiment 3, per tal de fer l'enriquiment diferencial de l'aire amb CO₂, es va dividir l'hivernacle multitúnel en tres mòduls de 80 m², separats per plàstics de polietilè. El gas emprat per enriquir l'aire tenia una riquesa del 99.5% en CO₂ i va ser subministrat per Carburos Metálicos © emmagatzemat en un tanc en estat líquid. La distribució es feia a través de tubs de polietilè en els mòduls corresponents a 500 i 750 ppm, a l'alçada de les plantes.

En cadascun dels 3 mòduls es mostrejava l'aire en 3 punts mitjançant un autòmata programable PLS Omron C20K, analitzant la concentració de CO₂ consecutivament per un mesurador d'infraroig (IRGA) model LIRA 3600 (MSA, Espanya). La senyal de l'IRGA era transmesa a un ordinador, que automàticament donava l'ordre d'injecció de CO₂ en els mòduls 500 i 750 ppm sempre que la concentració mesurada fos més baixa que el nivell establert. El cicle de mesura per tots els mòduls va ser de 20 minuts i la injecció de CO₂ continua dia i nit.

Encara que l'experiment 3 es va dur a terme durant l'hivern, inevitablement va ser necessari ventilar l'hivernacle per controlar les altes temperatures (<20°C) i la humitat relativa, podent afectar la concentració de CO₂ dels tractaments de 500 i 750 ppm. Únicament no es va ventilar quan les temperatures exteriors eren menors que les de l'hivernacle. En general, el temps de ventilació va oscil·lar entre les 10 i les 15 hores.

3.2.2.3. Contenedors i substrats.

En l'experiment 1 es van utilitzar contenidors forestals ("forest pot"), que són safates elevades de 50 alvèols estriats de diàmetre superior 4x5,1 cm i diàmetre inferior de 2,8x3,9 cm, 18 cm de profunditat i 300 cm³ de capacitat. El seu disseny facilita el repicat o trasplantament.

En els experiments 2 i 4, les plantes es van cultivar en contenidor tipus "Robin" (model registrat per Pépinières Robin, França), de 790 mL de capacitat, de forma prismàtica i de mides 6x6x22 cm. Les característiques principals d'aquest contenidor són la forma, les estries verticals que eviten l'enroscament de les arrels, la facilitat d'obertura i la durabilitat. S'utilitza en vivers forestals per la facilitat de maneig a l'hora del trasplantament.

En l'experiment 3 es van utilitzar contenidors de plàstic clàssics, de 14 cm de diàmetre i 1,25 L de capacitat.

El substrat utilitzat en tots els experiments citats va ser torba:perleta en proporció 2:1 (v:v), i de les següents característiques físiques: 95% d'espai

porós, 53% de capacitat d'aireació i 23% d'aigua fàcilment assimilable (% en volum). La torba es va neutralitzar en el moment de fer la barreja amb carbonat càlcic a una dosi de $3,7 \text{ g.L}^{-1}$. No es va realitzar desinfecció del substrat.

En els experiments 5 i 6, en els quals es van simular la revegetació de sòls degradats, es van utilitzar com a contenidors banquetes de grans dimensions: $1,10 \times 16,00 \times 0,40$ i $0,80$ m. Les banquetes es van subdividir en parcel·les (o repeticions) mitjançant plaques de fibrociment de $1,1 \times 0,40$ i $0,80$ m.

Com a substrats, es va utilitzar terra procedent d'un talús d'autopista del Maresme en l'experiment 5, i terra d'un camp de cultiu abandonat de la mateixa zona en l'experiment 6. Les característiques químiques i físiques d'aquestes terres o substrats, estan descrites en la taula II.1 de l'annex II i la taula III.1 de l'annex III, respectivament.

3.2.2.4. Sistema de reg.

En els experiments 2 i 4 el sistema de reg va ser per degoteig amb goters autocompensants de cabdal nominal 2 L.h^{-1} . En l'experiment 1, 3 es va regar amb microaspersors de 27 L.h^{-1} de cabdal nominal. En els experiment 5 i 6 l'aplicació de reg era manual amb una mànega i un difusor, calculant la dosi aplicada segons el cabal i utilitzant aigua de pluja.

3.2.2.5. Solució nutritiva.

En els experiments 2, 3 i 4 es fertirrigava en cada reg. La concentració iònica de la solució nutritiva utilitzada va ser la següent: $14 \text{ meq.L}^{-1} \text{ NO}_3^-$; $1,89 \text{ meq L}^{-1} \text{ NH}_4^+$; $1,2 \text{ meq L}^{-1} \text{ PO}_4\text{H}_2^-$; $2,33 \text{ meq.L}^{-1} \text{ SO}_4^{-2}$; $7,58 \text{ meq.L}^{-1} \text{ K}^+$; $8,71 \text{ meq.L}^{-1} \text{ Ca}^{+2}$; $3,21 \text{ meq.L}^{-1} \text{ Mg}^{+2}$; i la concentració dels següents microelements: $17,8 \text{ } \mu\text{eq.L}^{-1} \text{ Fe}^{+2}$; $9,09 \text{ } \mu\text{eq.L}^{-1} \text{ Mn}$; $1,82 \text{ } \mu\text{eq.L}^{-1} \text{ Zn}$; $7,87 \text{ } \mu\text{eq.L}^{-1} \text{ Cu}$; $4,62 \text{ } \mu\text{eq.L}^{-1} \text{ B}$; $1,04 \text{ } \mu\text{eq.L}^{-1} \text{ Mo}$; $25 \text{ } \mu\text{eq.L}^{-1} \text{ Mg}$. El pH es va mantenir a 6,2 i l'equilibri de la solució va ser: $\text{N: P}_2\text{O}_5:\text{K}_2\text{O} = 1:0.39:1.60$.

3.2.2.6 Potencial hídric i contingut d'aigua del substrat.

En l'experiment 4 el potencial matricial del substrat es va mesurar amb tensiòmetres Soilmoisture Probe (Soilmoisture, Santa Barbara, USA), de rang de mesura comprés entre 0 i $0,01 \text{ KPa}$.

El contingut d'aigua en el substrat (terra) en l'experiment 5 es va mesurar per gravimetria, prenent les mostres sempre abans de regar. El contingut d'aigua s'obtenia per diferència entre el pes inicial de la mostra i el pes final al cap de 3 dies a l'estufa a 105°C.

El contingut d'aigua del substrat o terra de l'experiment 6, es va mesurar en volum mitjançant un TDR (TRIME-FM, Imko, Deutchlan), a una o dues profunditats segons el tractament 40 o 80 cm de l'assaig (Parchomchuk *et al.*, 1997).

3.2.3. Mesura dels paràmetres de creixement, producció i morfològics.

3.2.3.1. Creixement en alçada i diàmetre.

L'alçada i el diàmetre de la tija principal es va mesurar de manera no destructiva en les plantes dels experiments corresponents, utilitzant un regla i un peu de rei de $\pm 0,01$ mm de precisió (Mitutoyo, Japan). Amb aquestes dades es va calcular la taxa de creixement relatiu RGR (Coombs *et al.*, 1985), d'acord amb l'expressió:

$$\text{RGR} = (\ln(L_2) - \ln(L_1)) / (t_2 - t_1);$$

on L_1 i L_2 són o el diàmetre o l'alçada en dos temps consecutius t_1 i t_2 . Les unitats són en $\text{cm} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{dia}^{-1}$ per a l'alçada i en $\text{mm} \cdot \text{mm}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ per al diàmetre.

3.2.3.2. Producció de biomassa i àrea foliar

S'ha considerat en tots els casos la producció de biomassa en pes sec, que es va determinar, sempre que va ser possible, separatament per les fraccions fulles, tiges i arrels.

Un cop netejat el substrat, es separaven les diferents fraccions en fresc i es mesurava l'àrea foliar utilitzant un LICOR 3000 (LI-COR Inc., Lincoln, NE, USA) (Coombs *et al.*, 1985; Pearcy *et al.*, 1989). A continuació, s'assecaven les mostres en una estufa a 60°C durant 3 dies, i es determinava el pes sec amb una balança Metler JK10, de $\pm 0,1$ mg de precisió.

3.2.3.3. Pes específic i índex d'al·locació de biomassa.

A partir de l'àrea (cm^2) i del pes sec foliar (mg), es calculava el pes específic foliar (SLW, $\text{mg} \cdot \text{cm}^{-2}$). Depenent de l'experiment, a partir de les dades de pes sec de les diferents fraccions, es va calcular i utilitzar els següents índex: relació part subterrània/part aèria ("Root/shoot", %), relació pes sec fulles/pes sec total

de la planta (SWR, %), relació pes sec tiges/pes sec total (SWR, %) i relació pes sec arrels/pes sec total (RWR, %) (Coombs *et al.*, 1985; Pearcy *et al.*, 1989).

3.2.3.4. Longitud i longitud específica de les arrels.

La longitud de les arrels es va mesurar (m) utilitzant un digitalitzador d'imatges (DIAS, Delta-T Devices, UK) (Tagliavini, 1993). La longitud específica de les arrels és el quocient entre la longitud i el pes sec total de les arrels ($\text{m}\cdot\text{g}^{-1}$).

3.2.3.5. Cobertura del sòl i angle de les branques.

En els experiments 5 i 6, es va estimar el recobriment del substrat per la vegetació (en %) mitjançant fotografies zenitals preses des de dos metres d'alçada.

En l'experiment 5, el percentatge de cobertura es va determinar mesurant l'àrea del contorn de les plantes retallat sobre els positius de les fotografies en paper, que després es va referir a la superfície total de la fotografia (Marfà, 1990).

En l'experiment 6, el percentatge de cobertura es va estimar emprant el mètode descrit per Hacker *et al.* (1990). Consisteix en superposar una quadrícula a les fotografies en paper o, si és el cas, sobre la projecció de les diapositives. El percentatge de cobertura s'obté a partir del quocient entre el nombre d'interseccions de la quadrícula coincidents amb alguna part de la planta, i el nombre d'interseccions total de la quadrícula.

L'angle de les branques es va mesurar amb un semicercle graduat prenent el nivell del sòl com a 0° .

3.2.3.6. Densitat de les arrels en el substrat.

En l'experiment 6 es va estimar per mostreig la densitat de les arrels del substrat o terra procedent d'un sòl pertorbat. Les mostres es van prendre amb una barrina de 10 cm de diàmetre, i es van pesar després de deixar-les assecar a l'aire. A continuació es van separar les arrels utilitzant un tamís, es van col·locar a l'estufa a 60°C , i als 3 dies se'n va mesurar el pes sec. La densitat d'arrels estimada, s'obtenia dividint el pes sec de les arrels pel pes del substrat o terra assecada a l'aire (Mackie-Dawson i Atkinson, 1991).

3.2.4. Mesura de les relacions hídriques.

3.2.4.1. Porometria.

En els experiments 4 i 5, es van fer mesures de transpiració i conductància estomàtica utilitzant un poròmetre LICOR LI-1600 (LI-COR Inc., Lincoln, NE,

USA) (Percy *et al.*, 1989). Es van prendre fulles adultes a l'atzar, totalment expandides i de similar orientació. Les mesures es van fer separant les fulles de la tija i col·locant-les a la cambra del poròmetre d'1 cm² d'obertura. Es va procurar fer les mesures ràpidament, com a màxim 60 segons des que la fulla era separada de la planta (Warkentin *et al.*, 1992; Espelta, 1996). Cada vegada es va prendre una fulla i es van fer 6 rèpliques per tractament.

3.2.4.2. Potencial hídric de la fulla.

Per avaluar l'estat hídric de la planta es va mesurar el potencial hídric de la fulla (Scholander, 1965; Savé *et al.*, 1993), utilitzant una bomba de pressió Soilmoisture 3005 (Soilmoisture Equipment Corporation, California, USA). Les mesures es van realitzar en fulles totalment expandides d'ídèntiques característiques morfològiques i fisiològiques, prenent 6 fulles per tractament.

3.2.4.3. Potencial osmòtic.

El potencial osmòtic es va calcular a partir de les corbes pressió-volum o es va mesurar directament amb un osmòmetre de pressió de vapor (WESCOR 5100C, WESCOR Inc., USA). Les fulles i arrels que es van utilitzar per a mesurar el potencial hídric es van congelar a -40°C. En el moment d'efectuar les mesures, les mostres es van descongelar a temperatura ambient, se n'extreia la solució cel·lular per pressió i es mesurava el contingut en soluts amb l'osmòmetre. Mitjançant una recta de calibració es va calcular el potencial osmòtic (Savé i Serrano, 1986). A partir de la diferència entre el potencial del xilema i el potencial osmòtic, es va obtenir el potencial de pressió o de turgència.

3.2.4.4. Corbes pressió-volum.

Les corbes pressió-volum permeten determinar el potencial osmòtic a màxima turgència i a pèrdua de turgència, i el mòdul d'elasticitat (Turner, 1988; Savé *et al.*, 1994).

Per a realitzar les corbes pressió-volum es van mostrejear 5 branquillons d'uns 6-10 cm de llarg per tractament, que es van dur al laboratori en una bossa de plàstic amb paper humit.

En el laboratori es van saturar els branquillons col·locant-los en pots d'aigua, moment en que es van tornar a tallar sota l'aigua per evitar la formació del menisc. El procés de saturació va durar 48 hores a 5°C en condicions de foscor.

Una hora abans de començar les corbes es treien les mostres de la nevera perquè s'equilibresin a la temperatura ambient. A continuació s'assecaven amb paper de filtre i ràpidament s'obtenia el primer pes, que era el pes fresc a

saturació. Seguidament es deixaven deshidratar els branquillons per lliure transpiració en una banqueta de laboratori, i s'anaven pesant i mesurant el potencial hídric simultàniament mitjançant una bomba de pressió (Soilmoisture, Santa Barbara, California, USA). Aquest procés es repetia fins que els valors de potencial es mantenien constants. Un cop acabades les mesures, que podien durar entre 4 i 5 hores, s'assecaven les mostres a l'estufa a 60°C per a obtenir el pes sec de les branques. A partir de les diferències entre els pesos frescs i el pes sec s'obtenia el contingut relatiu d'aigua, RWC (Turner, 1988; Pearcy *et al.*, 1989) de la forma següent:

$$\text{RWC} = (\text{Pes fresc} - \text{Pes sec} / \text{Pes saturació} - \text{Pes sec}) \cdot 100$$

Generalment, es realitzaven cinc corbes pressió-volum per cada tractament. Els càlculs es van fer relacionant potencial hídric (Ψ) i el contingut relatiu d'aigua (RWC) a partir de la relació Tipus II: $1/\Psi$ "versus" RWC (Tyree i Richter, 1981). Amb aquesta corba s'obtenia el potencial osmòtic al 100% de turgència, el potencial osmòtic i el RWC a pèrdua de turgència. El mòdul d'elasticitat és el pendent de la recta que relaciona el potencial de pressió i el RWC abans de la pèrdua de turgència (Bowman i Roberts, 1985). Els càlculs de les corbes pressió-volum de cada tractament es van realitzar independentment per a cada un dels cinc branquillons, i després es van fer les mitjanes.

3.2.4.5. Transpiració cuticular.

La transpiració cuticular és la pèrdua d'aigua a través de la cutícula de la fulla, i es pot mesurar en situació de tancament estomàtic. Es calcula quan la disminució del pes fresc és fa constant després de la pèrdua de turgència, considerant la diferència de pesos en un interval de temps. Les unitats són mil·ligrams per minut i per gram de pes sec (Savé, 1986; Sveningsson i Liljenberg, 1986). La mesura de la transpiració cuticular es va fer a partir dels pesos frescs de les mateixes mostres de branquillons de romaní utilitzades per a determinar les corbes pressió-volum a que es fa referència a l'apartat anterior.

3.2.4.6. Resistència hidràulica radical.

La mesura de la resistència hidràulica radical, es va efectuar utilitzant una bomba de pressió Soilmoisture 3005 (Soilmoisture, Santa Barbara, Califòrnia, USA), emprant una metodologia que ha estat descrita per diversos autors (Ramos i Kaufmann, 1979; Markhart III i Smit, 1990; Olivella i Savé, 1993).

Les plantes eren traslladades al laboratori, on es sotmetien a baixa intensitat lumínica ($20-30 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) i temperatura constant ($\approx 20-25^\circ\text{C}$). Es tallaven les

tiges 3 cm per damunt del substrat, i es netejaven les arrels del substrat adherit amb aigua corrent, tenint cura de no trencar les arrels fines. Es van seleccionar arrels de més llargada, que es col·locaven en el cilindre de la bomba submergides en un recipient amb aigua. El tall terminal de l'arrel es connectava amb un tub de plàstic transparent i flexible per tal de recollir l'exudat i es tancava la bomba. S'aplicava una pressió progressivament creixent fins a mantenir-la constant a 1 MPa. Es mesurava el flux que sortia de l'arrel en tres intervals de 30 segons. Seguidament es recuperava l'arrel i se'n mesurava la longitud total manualment o amb un analitzador d'imatges (DIAS, Delta-T Devices, Anglaterra).

El càlcul de la resistència hidràulica s'obtenia mitjançant l'expressió següent:

$$Rh = \text{Pressió aplicada (1.0 MPa)} \cdot \text{Longitud arrel} / \text{Flux}$$

El càlcul del flux d'aigua es va realitzar mitjançant:

$$\text{Flux} = \frac{\text{alçada aigua en el tub} \cdot (\pi \text{ radi tub}^2)}{\text{temps}} = \frac{\text{cm}^3}{\text{s}}$$

Per tant, les unitats de la resistència hidràulica són:

$$Rh = \frac{\text{MPa} \cdot \text{cm} \cdot \text{s}}{\text{cm}^3} = \text{MPa} \cdot \text{s} \cdot \text{cm}^{-2}$$

3.2.5. Respiració de les arrels a diferents temperatures.

En l'experiment 2 es va mesurar la respiració de les arrels micoritzades (M) i no micoritzades (NM) de romaní a diferents temperatures en condicions de laboratori (Temperatura: 0, 10, 20, 30°C), procedint com es descriu a continuació.

Es prenen 0.1 g en pes fresc de fragments d'arrel el més semblants possible segons l'edat, color i situació en el contenidor. El nombre de mostres va ser de dos per planta i quatre plantes per cada combinació de tractaments, és a dir 8 repeticions.

Per obtenir les diferents temperatures de treball en condicions de laboratori, les arrels es situaven en una cubeta de doble cambra. Les mostres estaven en

contacte amb una solució tampó en la cambra interior, mentre que per la cambra exterior circulava aigua procedent d'un recipient proveït d'una resistència i d'un termostat per a controlar la temperatura. Per aconseguir baixes temperatures s'afegia gel al recipient parant la resistència. Un cop separades de la planta, les arrels es mantenien uns 5 minuts en la solució tampó (4 mL) fins assolir la temperatura de treball.

La composició de la solució aquosa tampó era 20 mM d'àcid 2-(N-Morpholino) etanosulfònic (MES) i 0,2 mM de clorur càlcic (CaCl_2), a pH = 6,2, agitada per un magneto. La variació de la concentració d'oxigen de la solució s'enregistrava a intervals d'un minut durant 8-10 minuts mitjançant un elèctrode d'oxigen tipus Clark (Rank Brothers, Cambridge, Anglaterra) (Lambers, 1985; Pearcy *et al.*, 1989; Azcón-Bieto *et al.*, 1989; Poorter *et al.*, 1991; Walker i Leegood, 1993).

Un cop finalitzada la presa de dades, s'extreien les arrels, s'assecaven amb paper de filtre i es pesaven en fresc i després d'assecar-se a l'estufa a 60°C s'obtenia el pes sec. La taxa de respiració es va calcular a partir del pendent de la recta de disminució de la concentració d'oxigen amb el temps. Els resultats es van expressar en base a pes fresc.

3.2.6. Percentatge de colonització del fong.

Per a mesurar el percentatge de colonització radical pel fong *Glomus intraradices*, formador de micorizes, en primer lloc es va efectuar un procés de transparentat i tinció de les arrels seguint el mètode de Phillips i Hayman (1970), modificat per Koske i Gemma (1989).

En el procediment de rentat i tinció es van seguir els següents passos: (a) es partia d'una quantitat de mostra d'aproximadament 1,0 g de pes fresc d'arrel, que es netejava i s'introduïa en un tub d'assaig afegint 10 mL d'hidròxid de potassi (KOH) al 10%, deixant-lo a temperatura ambient durant 24 hores; (b) al dia següent es rentava el KOH amb abundant aigua de l'aixeta, i s'afegia aigua oxigenada (H_2O_2) al 3%; (c) es rentava i s'afegia àcid clorhídric (HCl) al 1%; (d) es va escórrer i, sense rentar, s'afegia àcid làctic+blau tripan al 0,1%; (e) es deixaven les mostres durant un dia a temperatura ambient i al dia següent s'eliminava el colorant.

Les arrels, un cop tenyides, es van conservar en glicerol àcid fins al moment de la seva observació. Per a determinar el percentatge de colonització radical es va utilitzar el mètode d'intersecció amb una quadrícula, en una lupa binocular (Giovannetti i Mosse, 1980).

3.2.7. Densitat de propàguls en el sòl.

La quantitat de propàguls del fong micorízic amb capacitat d'infectar en el terra, es va mesurar mitjançant el bioassaig del nombre més probable (MPN) de Porter (1979).

Aquest bioassaig consisteix en la dilució d'una mostra de terra problema amb quantitats creixents de la mateixa terra esterilitzada, per així determinar quin és el nombre més probable de propàguls que existeixen en la mostra problema. En el nostre cas les dilucions van anar des de la dilució 0 (mostra problema) fins a 10^{-4} (1 part de terra problema/10.000 parts de terra estèril), utilitzant per a cada dilució 5 contenidors de 60 mL (5 repeticions), i el porro (*Allium porrum* L.) com a planta bioindicadora, ja que és molt dependent de la micorizació. Les plantes de porro van créixer durant 6 setmanes amb les diferents dilucions, regant-les cada dos dies. A les 6 setmanes es van tallar les plàntules, es van rentar totes les arrels i es van tenyir seguint el mètode de Koske i Gemma (1989) descrit a l'apartat anterior. La presència o absència de colonització es va considerar com a + o - per a cada plàntula i per a cada nivell de dilució. Els resultats es van transformar seguint el mètode de Cochran (1950) del MPN, que permet estimar la densitat de la població de propàguls de micorizes per mil·lilitre de sòl.

En l'experiment 5, la densitat de propàguls en la terra utilitzada com a substrat es va estimar en 3 ocasions: la primera abans d'introduir les plantes, la segona als 10 mesos i la última als 15 mesos, al final l'assaig.

3.2.8. Activitat metabòlica del fong micorízic.

Per avaluar l'activitat vital de les micorizes arbusculars, es va utilitzar el mètode de tinció de Nitro-Blau tetrazoli (NBT) (Smith i Gianinazi-Pearson, 1990). La succinat dehidrogenasa (SDH), que és un enzim del cicle de l'àcid tricarboxílic present en les hifes viables del fong, reacciona amb el NBT reduint-lo a un compost "formazan" d'un color blau púrpura fosc (Pearse, 1972). El NBT és molt específic d'aquest enzim i no reacciona amb altres elements de la cèl·lula de l'arrel, la qual cosa garanteix que sigui un bon indicador de la viabilitat del fong (Smith i Dickson, 1991). Un cop tenyides, es va mesurar amb microscopi el percentatge d'arrels colonitzades i el d'arrels colonitzades viables.

3.2.9. Anàlisi estadística.

En cada experiment es descriu el disseny experimental i l'anàlisi estadístic aplicat. Les dades es van transformar quan no complien normalitat i homocedasticitat de les variàncies.

L'anàlisi estadístic s'ha realitzat amb la versió 6.0 del programa SAS (SAS Institute, 1989). Tots els experiments que s'han realitzat en aquesta tesi són factorials i equilibrats, excepte en l'experiment 6 on hi ha models descompensats. En el cas d'interaccions significatives, s'han comparat les mitjanes estimades per mínims quadrats de cada combinació de tractaments utilitzant les instruccions LSMEANS i PDIF del procediment GLM del SAS, i el test de Tukey de comparació múltiple. La instrucció SLICE del SAS, que permet la comparació dels diferents nivells d'un factor per a un determinat nivell de l'altre factor o "llesquejat", ha facilitat l'anàlisi i la interpretació de les interaccions en determinats casos. En base a aquestes anàlisis, consideracions i bibliografia consultada (Weater i Cook, 2000), en les taules i figures de les interaccions, es mostren lletres per a simbolitzar les diferències entre combinacions de tractaments.

CAPÍTOL IV. RESPOSTA DEL ROMANÍ A DIFERENTS TRACTAMENTS EN LA FASE DE VIVER.

4.1. Introducció.

Des de fa uns anys hi ha un interès creixent per a la producció viverística de plantes autòctones mediterrànies, entre elles la de *Rosmarinus officinalis* L. (Masvidal, 1993). Això és degut a que la utilització de vegetació autòctona amb finalitats ornamentals, comporta una reducció considerable en els costos de manteniment de zones enjardinades (Araujo-Alves *et al.*, 1999; Burés *et al.*, 2000). Tanmateix, els arbusts llenyosos autòctons com el romaní, també són una bona solució per a revegetar terrenys àrids fortament degradats, ja que poden proporcionar en molts casos el microclima adequat per a una posterior repoblació espontània o artificial amb arbres (Bolòs, 1988; López de Pablo, 1993; Piccolo, 1991; Valle i Lorite, 1996; Vignolio, *et al.*, 2002).

Actualment un 41% dels vivers de planta ornamental de Catalunya produeixen i comercialitzen plantes autòctones mediterrànies i un 24% produeixen plantes aromàtiques i/o medicinals (Directori Federació d'Agricultors Viveristes de Catalunya, 2002). En aquest context, la producció viverística de romaní es caracteritza per ser generalment intensiva. En la majoria de casos es parteix d'esqueixos arrelats de mida reduïda (5-10 cm), encara que actualment comença a imposar-se la sembra de llavor ja que permet automatitzar el procés. Depenent de la orientació productiva, s'assoleixen mides comercials als 4-5 mesos quan la planta és per a revegetar, o bé als 7-8 mesos quan són per a ús ornamental.

La millora de la producció de romaní es pot aconseguir mitjançant l'optimització dels nivells dels factors essencials de producció (temperatura, aigua, nutrients) i, en determinades condicions, també pot resultar interessant l'enriquiment atmosfèric amb CO₂ o bé es poden introduir millores biotecnològiques com la micorizació. La tecnificació de la producció viverística de romaní ha de considerar els aspectes econòmics i la millora quantitativa de la productivitat, però també ha de considerar aspectes qualitatius. Els tractaments en viver han d'anar orientats a fer compatibles els objectius de producció amb l'obtenció de plantes suficientment endurides i resistents per a suportar el trasplantament i les condicions de clima i sòl de l'emplaçament definitiu (Grossnikle i Folk, 1993).

En aquest capítol s'hi agrupen 3 experiments que van ser realitzats en condicions de producció en viver, en els quals es va estudiar l'efecte sobre el

creixement i la fisiologia del romaní de diferents factors de cultiu (dosi d'aigua, temperatura, adobat carbònic i micorització), amb l'objectiu comú de caracteritzar i optimitzar la qualitat del planter per a ser utilitzat en revegetacions com a planta autòctona. En la introducció general es justifica l'elecció d'aquests factors, en particular fent referència a la incidència que el seu maneig pot tenir sobre les característiques morfològiques i fisiològiques de les plantes.

En el primer experiment es va estudiar l'efecte de la temperatura i la dosi de reg en la producció i al·locació de matèria seca del romaní durant el període hivernal.

En el segon experiment s'estudia l'efecte de la temperatura en la fisiologia de les arrels, ja que en l'experiment anterior es va observar que les baixes temperatures incrementen l'al·locació de recursos cap a les arrels. Es va introduir el factor micorització, ja que en estat natural les plantes de romaní estableixen relacions simbiòtiques amb fongs micorízics, i la inoculació amb aquest tipus de fongs en viver es pot plantejar com una solució per millorar el desenvolupament de les plantes.

I en el tercer experiment s'estudia la resposta en la producció i la fisiologia de les plantes de romaní micoritzades i no micoritzades a dues dosis de reg i a l'enriquiment atmosfèric amb CO₂. Aquest experiment es va desenvolupar en el marc del Projecte de demostració de l'aplicació de gasos en el cultiu d'espècies llenyoses i els contractes subscrits amb l'empresa subministradora de gasos CARBUROS METÁLICOS. L'interès de la utilització del CO₂ com a factor de cultiu, a més dels seus efectes sobre la producció, característiques de la planta i la seva interacció amb altres factors, és també de tipus mediambiental, ja que es tracta d'un subproducte o residu procedent de la indústria, i la seva utilització o valorització pot contribuir a la reducció de les emissions.

4.2. Experiment 1. Resposta productiva del romaní en diferents condicions tèrmiques i hídriques.

4.2.1. Objectiu de l'experiment.

El control de les condicions tèrmiques en la producció viverística influeix directament en el creixement i en el desenvolupament de les plantes (Hanan, 1998). No obstant, la calefacció dels hivernacles durant els mesos d'hivern per obtenir taxes de creixement més elevades resulta molt costós. L'objectiu de l'experiment és avaluar, en la fase de viver, si hi ha resposta en la producció de pes sec i en la morfologia del romaní a la variació de les condicions tèrmiques i hídriques durant el període de producció hivernal.

4.2.2. Metodologia i plantejament experimental.

Es van utilitzar plàntules de romaní de 2 mesos d'edat procedents d'esqueix, les característiques i mida mitjana de les quals s'observen a la Taula 4.2.1. El cultiu es va realitzar en contenidors tipus "Forest-pot" de 300 cm³ i amb substrat format per la barreja de torba-perleta (2:1, en volum). El reg es va aplicar per microaspersió sense cap tipus de fertilització. El període d'assaig va ser el comprès entre el 26 de gener i 4 d'abril de 1997. El període productiu (8-9 setmanes) va ser, per tant, d'una durada similar a l'utilitzat el similar a l'utilitzat en vivers comercials en aquesta època de l'any.

Taula 4.2.1. Mida i característiques mitjanes de les plàntules a l'inici de l'experiment 1 (n=5).

	Mitjana	Error estàndard
Alçada (cm)	9,10	± 0,33
Diàmetre (mm)	1,62	± 0,07
Pes sec part aèria (g)	0,12	± 0,01
Pes sec arrels (g)	0,04	± 0,004
Àrea foliar (cm ²)	14,97	± 0,43
Pes específic (mg.cm ⁻²)	8,33	± 0,33

El tractaments tèrmics van consistir en:

- Cultiu en hivernacle calefactat mitjançant aeroterms de manera que la temperatura mínima no fos mai inferior als 12°C (tractament: +T^a).
- Cultiu sota túnel de plàstic sense calefacció i amb els laterals permanentment oberts. La coberta plàstica superior permetia controlar el reg (tractament: -T^a).

A la Taula 4.2.2 s'exposen les mitjanes de les temperatures mínimes diàries mensuals obtingudes com a conseqüència dels tractaments tèrmics aplicats.

Taula 4.2.2. Mitjana de les temperatures mínimes diàries obtingudes en els tractaments tèrmics: túnel sense calefacció (-T^a) i hivernacle calefactat (+T^a).

Mes	Túnel sense calefacció (-T ^a)	Hivernacle amb calefacció (+T ^a)
Gener (del 26 al 31)	6,6 ^o	12,7 ^o
Febrer	6,7 ^o	12,9 ^o
Març	8,3 ^o	13,0 ^o
Abril (del 1 al 4)	9,0 ^o	12,5 ^o

El tractament hídric va consistir en l'aplicació de dues dosis de reg per microaspersió, essent la dosi més baixa (50%) la meitat de la més alta (100%). Amb el tractament 50% va pretendre introduir condicions d'estrès hídric. A la Taula 4.2.3 es mostren les mitjanes mensuals de les dosis d'aigua aportades diàriament per m² i per planta en cada tractament hídric durant el període de l'assaig.

Taula 4.2.3. Dosis de reg aportades en cada tractament hídric (50% i 100%) durant l'assaig. Es mostra la mitjana mensual en litres per m² i en litres per planta i dia.

Mes	Litres.m ⁻² .dia ⁻¹		L.planta ⁻¹ .dia ⁻¹	
	100%	50%	100%	50%
Gener (26-31)	5,3	2,7	0,013	0,007
Febrer	14,4	7,2	0,036	0,018
Març	50,9	25,5	0,127	0,064
Abril (1 al 4)	90,0	45,0	0,225	0,113

Les dades experimentals es van prendre al final de l'assaig en data de 4 d'abril de 1997, moment en que es va aturar la calefacció. Per a cada combinació de tractaments, es van mesurar i/o calcular els següents paràmetres sobre un total de 5 plantes (n = 5) escollides a l'atzar:

- Paràmetres morfològics i/o de creixement: alçada i diàmetre, seguint la metodologia descrita a l'apartat 3.2.3.1; àrea foliar i pes específic foliar (SLW), seguint la metodologia descrita als apartats 3.2.3.2 i 3.2.3.3, respectivament.
- Paràmetres de producció: pes sec de fulles, tiges i arrels, seguint la metodologia descrita a l'apartat 3.2.3.2.
- Índex d'al·locació de biomassa: relació part subterrània/part aèria ("Root/shoot"), pes sec fulles/pes sec total (LWR), pes sec tiges/pes sec total (SWR) i pes sec arrels/pes sec total (RWR), seguint la metodologia descrita a l'apartat 3.2.3.3.

L'estructura dels tractaments és bifactorial, amb dos nivells del factor tractament tèrmic (+T^a, -T^a) i dos nivells del factor tractament hídric (50% i 100%), utilitzant un total de 400 plantes, 100 per cada combinació de tractaments. Es va realitzar l'anàlisi de la variància per determinar l'efecte de cada factor

mitjançant el procediment GLM del SAS (versió 6,0 SAS Institute, Inc., 1994), i el test de Tukey per comparar les mitjanes dels factors principals. En el cas d'interaccions significatives, es van comparar les mitjanes estimades per mínims quadrats de cada combinació de tractaments utilitzant les instruccions LSMEANS i PDIFF del procediment GLM del SAS, i el test de Tukey de comparació múltiple. Les dades dels paràmetres de creixement i producció (alçada, diàmetre i pesos secs), es van transformar prèviament mitjançant Ln les per ajustar-les a una distribució normal.

4.2.3. Resultats i discussió.

D'acord amb els resultats de l'anàlisi de la variància, hi va haver efecte del tractament tèrmic en la majoria de paràmetres mesurats, mentre el tractament hídric pràcticament no va comportar diferències significatives. El tractament tèrmic va tenir un efecte significatiu en el creixement (alçada), en els índex d'al·locació de biomassa i en la morfologia de les plantes (àrea i pes específic foliar), però no en la biomassa total, mentre l'única diferència atribuïble al tractament hídric, va ser en l'alçada de les plantes (Taulas 4.2.4 i 4.2.5).

Taula 4.2.4. Resultats de l'anàlisi de la variància (es presenten les probabilitats, p) i mitjanes segons els factors principals dels paràmetres de creixement, producció i morfològics de plantes de romaní (n=5) als 3 mesos de créixer en dos règims tèrmics (+T^a i -T^a) i hídrics (50% i 100%) diferents. Les mitjanes seguides de diferent lletra difereixen significativament amb p≤0,05. La separació de mitjanes dels paràmetres de creixement i producció (alçada, diàmetre, pes sec total i de les fraccions) són en base als valors transformats segons "lnx".

Factor	Alçada (cm)	Diàm. (mm)	Pes sec (g)				Àrea foliar (cm ²)	SLW (mg.cm ⁻²)	
			Fulles	Tiges	Arrels	Total			
Temperatura	<0,001	n.s.	n.s.	<0,001	0,005	n.s.	0,003	0,003	
Aigua	0,032	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
Temper.*Aigua	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
Temper.	+T ^a	19,8 a	2,4	0,665	0,194 a	0,376 b	1,240	74,9 a	9,1 b
	-T ^a	13,4 b	2,6	0,649	0,116 b	0,580 a	1,345	49,1 b	14,0 a
Aigua	50%	15,4 b	2,4	0,627	0,138	0,459	1,225	60,0	11,4
	100%	17,7 a	2,6	0,687	0,171	0,498	1,355	64,0	11,7

*SLW = pes específic foliar.

El tractament +T^a, va comportar plantes un 48% més altes (p<0,001), amb un 68% més de pes sec en les tiges (p=0,001) i 35% menys de pes a les arrels (p=0,005), i sense diferències significatives en el pes sec total respecte del tractament tèrmic -T^a (Taula 4.2.4). En conseqüència, hi ha una clara diferència en la repartició de la biomassa segons el tractament tèrmic. Tots els índex d'al·locació de biomassa són altament significatius (Taula 4.2.5): les plantes

cultivades a $-T^a$ presenten major "Root/Shoot" ($p < 0,001$) i RWR ($p < 0,001$), i menor LWR ($p < 0,001$) i SWR ($p < 0,001$).

Igualment es van detectar diferències significatives en la morfologia de les plantes com a conseqüència de les condicions tèrmiques del cultiu. Les plantes cultivades a sota túnel sense calefacció van presentar fulles considerablement més gruixudes, ja que van tenir un 35% menys d'àrea foliar ($p = 0,003$) i el pes específic foliar va ser un 53% major ($p = 0,003$) que les cultivades en hivernacle calefactat (Taula 4.2.4).

Taula 4.2.5. Anàlisi de la variància (p) i separació de mitjanes dels factors principals dels índex d'al·locació de biomassa de plantes de romaní ($n=5$) als 3 mesos de cultiu en dos règims tèrmics ($+T^a$ i $-T^a$) i hídrics (50% i 100%). Les mitjanes seguides de diferent lletra difereixen significativament amb $p \leq 0,05$. "Root/shoot": relació part subterrània/part aèria; LWR: pes sec fulles/pes sec total; SWR: pes sec tiges/pes sec total; RWR: pes sec d'arrels/pes sec total.

Factor		Root/shoot	LWR	SWR	RWR
Temperatura		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Aigua		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Temperatura*Aigua		n.s.	0,032	n.s.	n.s.
Temperatura	$+T^a$	0,432 b	0,542 a	0,156 a	0,301 b
	$-T^a$	0,761 a	0,483 b	0,085 b	0,431 a
Aigua	50%	0,600	0,517	0,127	0,368
	100%	0,590	0,508	0,115	0,365

L'al·locació de biomassa a les fulles segons el tractament tèrmic va dependre de l'aport d'aigua, ja que la interacció Temperatura*Aigua és significativa per a l'índex LWR (pes sec fulles/pes sec total) amb $p = 0,032$ (Taula 4.2.5 i Figura 4.2.2). Això s'explicaria en part perquè les plantes del tractament $+T^a$ i dosi d'aigua 100%, són les que creixen més en alçada invertint més en teixits de sosteniment (tiges) i, per tant, la proporció relativa de pes sec de fulles disminueix (veure Taula 4.2.4).

Baixes temperatures entre 0°C i 10°C , considerades temperatures de "chilling", poden causar danys en espècies sensibles, inhibint completament el seu creixement. En espècies no sensibles, com les de clima temperat (p.e. el romaní), el creixement no queda inhibit però es redueix, i un cert creixement persisteix a temperatures properes als 0°C (Berry i Raison, 1981). S'ha observat que aquestes temperatures poden comportar en plantes de clima temperat una disminució de les taxes de fotosíntesi, respiració, conductància estomàtica i transpiració, a més d'alentir la seva activitat metabòlica (Brix, 1971; Wang, 1982; Van des Driessche, 1991b, Landis *et al.* 1992, citat a Roberts i Zwiazek, 1999; Larcher, 1995). En aquest experiment s'ha comprovat que el romaní

produeix matèria seca exposat a temperatures mitjanes de les mínimes diàries inferiors a 10°C (tractament -T^a, Taula 4.2.2). En condicions naturals el romaní presenta creixement vegetatiu entre febrer i juliol (Castro-Diez i Martí, 1998).

La menor alçada de les plantes de romaní en el tractament -T^a, coincideix amb els resultats de Van den Driessche (1991a) i Roberts i Zwiazek (1999). Van den Driessche (1991a), va comprovar que l'alçada i la relació alçada/diàmetre en el planter de tres espècies de coníferes cultivades en contenidor, decreixia significativament amb la disminució de la temperatura de cultiu. Roberts i Zwiazek (1999), van trobar una menor taxa de creixement en alçada en planter de *Picea glauca* exposat de forma periòdica a temperatures de "chilling" (5°C), i que aquesta disminució de la taxa de creixement era proporcional a l'augment de la freqüència d'exposició. En romaní, els tractaments de temperatura no van tenir efecte en el diàmetre de les tiges, resultat també idèntic al de Roberts i Zwiazek (1999).

El major pes sec de les arrels de romaní en el tractament -T^a, es pot interpretar com un mecanisme d'adaptació a curt termini, ja que la mida del sistema radical pot en part compensar un decreixement en les taxes d'absorció de nutrients (Hällgren i Öquist, 1980) i d'aigua (Berry i Raison, 1981), evitant així que aquests factors esdevinguin limitants.

El tractament tèrmic va tenir un important efecte en els índex d'al·locació de biomassa, observant-se un repartiment a favor del sistema radical de les plantes de romaní cultivades sota túnel no calefactat (-T^a), que presenten majors relacions "root/shoot" i RWR. En canvi, les fraccions tiges (SWR) i fulles (LWR), augmenten significativament en cultiu sota hivernacle calefactat (+T^a). Van den Driessche (1991 a) va observar que la relació "shoot/root" en el planter de 2 espècies de coníferes disminuïa significativament amb disminució de la temperatura del cultiu. En canvi, Andersen *et al.* (1986), va detectar un augment significatiu del pes sec de tiges de *Pinus resinosa* a temperatures de 8°C, i sosté que les plantes exposades a baixes temperatures al·loquen de forma preferent la matèria seca cap a teixits de reserva de la part aèria, desaccelerant-se el flux de carbohidrats cap a l'arrel. Aquest últim resultat no coincideix amb el trobat en romaní, on l'augment del pes sec de les tiges i de la relació SWR va ser significatiu justament en les plantes de romaní del tractament +T^a.

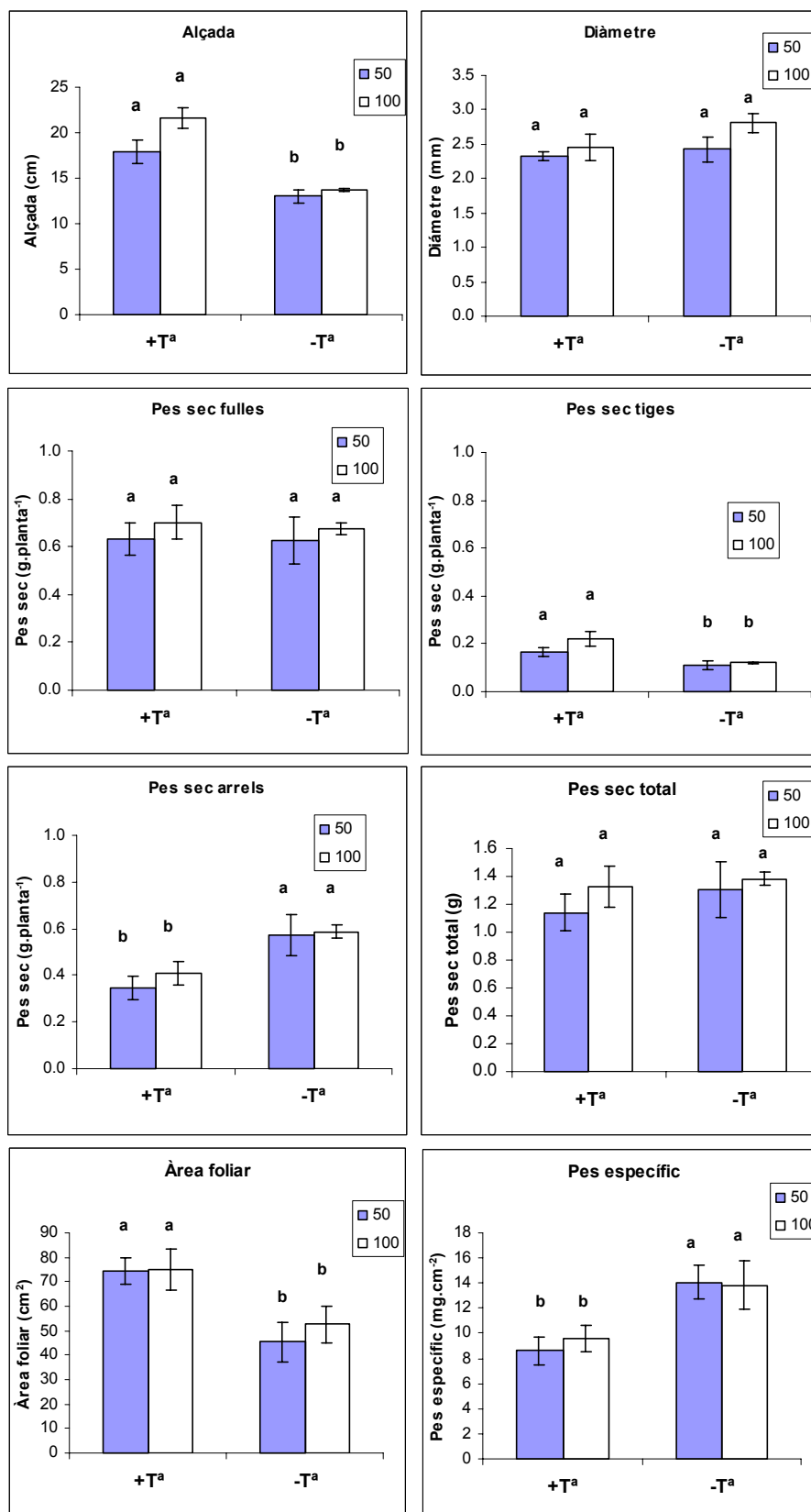


Figura 4.2.1. Valors mitjans dels diferents paràmetres bioproductius del romaní segons la temperatura i la dosi de reg: amb calefacció (+T^a) i sense calefacció (-T^a) i les dues dosi de reg rebudes (50 i 100%). Barres amb diferent lletra difereixen significativament amb p<0,05.

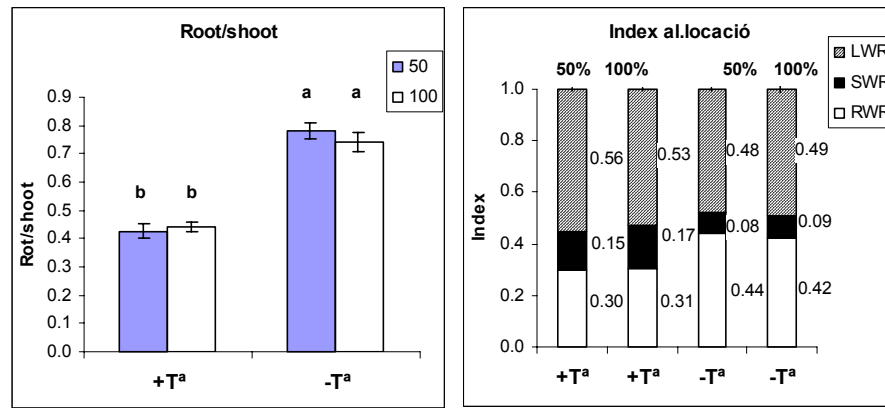


Figura 4.2.2. Valors mitjans de la relació part subterrània/part aèria ("root/shoot"), relació pes sec de fulles/pes sec total (LWR), pes sec de fulles/pes sec total (SWR) i pes sec arrels/pes sec total (RWR), segons la temperatura i la dosi de reg: amb calefacció (+T^a) i sense calefacció (-T^a) i les dues dosi de reg rebudes (50 i 100%). Barres amb diferent lletra difereixen significativament amb $p \leq 0,05$.

La influència de les alteracions de temperatura sobre les relacions font/embornal, han estat generalment relacionades amb canvis en l'al·locació de biomassa, i les taxes de creixement de les diferents parts de la planta poden canviar de forma relativa entre elles (Clarkson *et al.*, 1988, citat a Hällgren i Öquist, 1990). Les baixes temperatures comporten generalment una relació "root/shoot" més elevada (Osmond *et al.*, 1980, citat a Hällgren i Öquist, 1990). Una inhibició en l'absorció de nutrients a baixa temperatura, és en part responsable d'una relació "root/shoot" alta (Davidson, 1969, Chapin, 1980, citats a Hällgren i Öquist, 1990), encara que l'absorció d'aigua també pot estar involucrada en el menor creixement relatiu de la part aèria de la planta. A baixes temperatures, sovint s'observa una acumulació de carbohidrats tant en les fonts com en els embornals, i això s'ha relacionat amb la major sensibilitat del creixement en relació a la fotosíntesi a baixa temperatura (Hällgren i Öquist, 1990).

La sensibilitat diferencial dels enzims i la reducció en el transport del floema, són de gran importància en la repartició de la matèria seca. Tant en les fonts com en els embornals, els processos enzimàtics dominen la resposta a les alteracions de la temperatura, encara que se'n sap molt poc de la sensibilitat individual dels enzims. El mateix és vàlid per a la dependència entre temperatura i els processos de càrrega - descàrrega del floema (Farrar, 1988, citat a Hällgren i Öquist, 1990). Els canvis de fase en els lípids de les membranes cel·lulars de les arrels, s'han suggerit com a principal mecanisme en la inhibició de la translocació a baixa temperatura (Giaquinta i Geiger, 1973, citat a Hällgren i Öquist, 1990).

El tractament tèrmic no va comportar diferències en pes sec de les fulles del planter de romaní, però sí va alterar significativament els seus atributs morfològics: menor alçada i àrea foliar i major pes específic foliar en el tractament $-T^a$. Aquestes característiques morfològiques poden ser associades amb una major resistència a l'estrès hídric (Mooney, 1982; Gratani i Bombelli, 2000). Van den Driesche (1991 a i b), va comprovar que menors temperatures de cultiu en la fase de viver, augmentaven la resistència del planter a l'estrès hídric un cop trasplantat i en condicions de camp, i que aquestes plantes eren de menor alçada, presentaven menors relacions alçada/diàmetre i "shoot/root" i major pes específic foliar. L'exposició de les plantes a baixes temperatures pot promoure un increment de disacàrids en les fulles, i per tant un augment del seu pes específic (Aronsson *et al.*, 1976).

Roberts i Zwiazek (1999) no van observar canvis morfològics en les fulles de planter de *Picea glauca* exposat periòdicament a temperatures de "chilling", però sí un major potencial hídric al migdia durant un cicle sequera, i una millor recuperació d'aquest potencial després de regar.

4.2.4. Conclusions.

- 1) La disminució del reg a un 50% del recomanat, únicament va comportar una disminució significativa del creixement en alçada. En aquesta època de l'any la dosi de reg pot ser reduïda sense que afecti els paràmetres de producció.
- 2) L'increment de la temperatura va permetre un creixement més ràpid de la part aèria, obtenint plantes amb més alçada, més àrea foliar i més pes sec de tiges, característiques comercialment desitjables si es destinen a ús ornamental.
- 3) En condicions de baixa temperatura el creixement total no va ser significativament diferent, però es van observar importants canvis en l'al·locació de la biomassa, incrementant el pes sec de les arrels. Això és evident en l'estudi de les relacions RWR i SWR, que van ser inverses en els dos tractaments de temperatura.
- 4) El tractament de temperatura no va tenir efecte en el pes sec de les fulles, però sí en la morfologia de la planta, ja que en condicions de baixa temperatura es van obtenir plantes de menor alçada i àrea foliar, i major pes específic foliar. Aquestes característiques morfològiques són desitjables per a plantes destinades a revegetacions.

4.3. Experiment 2. Efecte de la temperatura i la micorització en la respiració i la resistència hidràulica del sistema radical.

4.3.1. Objectius de l'experiment.

Aquest experiment té per objectiu estudiar, en condicions de laboratori, la funcionalitat de l'arrel micoritzada de romaní (M) respecte la no micoritzada (NM) a diferents temperatures, en els seus aspectes hídrics i metabòlics, seleccionant com a paràmetres d'estudi, la taxa respiratòria i la resistència hidràulica radical.

4.3.2. Metodologia i plantejament experimental.

Es va mesurar la respiració i la resistència hidràulica (Rh) de fragments d'arrel de 20 plantes micoritzades amb *Glomus intraradices* (M) i 20 plantes no micoritzades (NM) a diferents temperatures (0, 10, 20 i 30°C) als 6 mesos de la inoculació de les plantes M. La inoculació del fong es va realitzar segons la descripció de l'apartat 3.2.1 de material i mètodes general. Les mesures es van realitzar en els mesos de març i abril de 1994.

En les mesures de respiració, els tractaments de temperatura es van aplicar mitjançant un bany de calor, escalfant aigua amb una resistència elèctrica que la feia circular pel recipient de l'oxímetre mitjançant una bomba. Les temperatures baixes s'aconseguien desconnectant la resistència i afegint gel en el bany. En les mesures de resistència hidràulica, s'escalfava o refredava aigua en un recipient fins la temperatura de treball on s'introduïen les arrels.

La respiració es va mesurar d'acord amb la metodologia exposada a l'apartat 3.2.5 i la resistència hidràulica (Rh) segons la metodologia descrita a l'apartat 3.2.4.6.

Les plantes de romaní es van cultivar en contenidors prismàtics tipus Robin de 790 mL de capacitat, utilitzant un substrat barreja de torba-perleta (2:1, en volum) sense desinfecció prèvia i sistema de reg per degoteig amb fertirrigació, les característiques del qual es descriuen a l'apartat 3.2.2.3.

L'estructura dels tractaments és bi-factorial amb dos nivells del factor fong (M i NM) i 4 nivells del factor temperatura (0, 10, 20 i 30°C). Per a cada combinació de tractaments es van realitzar 4 repeticions de les mesures de respiració i resistència hidràulica (Rh), sobre fragments d'arrel procedents de plantes escollides a l'atzar. Les dades es van analitzar mitjançant el procediment GLM del SAS (versió 6.0 SAS Institute, Inc., 1994) per experiments factorials, i la separació de mitjanes dels factors principals mitjançant el test de Tukey. En el

cas d'interaccions significatives, es van comparar les mitjanes estimades per mínims quadrats de cada combinació de tractaments utilitzant les instruccions LSMEANS i SLICE del procediment GLM del SAS, analitzant pel test de Tukey de comparació múltiple les diferències entre M i NM per a cada temperatura.

4.3.3. Resultats i discussió.

4.3.3.1. Respiració de les arrels i temperatura.

La respiració de les arrels expressada en μmol de O_2 consumits per unitat de temps i pes fresc, va incrementar de manera significativa amb l'augment de la temperatura ($p < 0,0001$). Així mateix, la micorització va promoure una menor taxa respiratòria de les arrels de romaní ($p = 0,0115$). La interacció temperatura*fong no va ser significativa, indicant que la influència de la micorització en la taxa respiratòria es va mantenir en tot el rang de temperatures assajades (Taula 4.3.1 i Fig. 4.3.1).

Taula 4.3.1. Efecte de la temperatura en la respiració de les arrels micoritzades (M) i no micoritzades (NM) de romaní als 6 mesos de la inoculació de les plantes M. Es mostren els resultats de l'anàlisi de la variància (p). Les mitjanes seguides de diferent lletra són significativament diferents amb $p \leq 0,05$.

Factor	Anàlisi de la variància (p)		
Temperatura	<0,0001		
Fong	0,0115		
Temperatura*fong	n.s.		

Temperatura (°C)	Respiració ($\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g PF}^{-1}$)	Fong	Respiració ($\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g PF}^{-1}$)
0	3,87 d	M	7,92 b
10	5,34 c		
20	10,94 b	NM	9,17 a
30	14,02 a		

Mentre alguns estudis mostren que hi ha un increment significatiu en la respiració d'arrels micoritzades (Pang i Paul, 1980, Baas *et al.*, 1989), altres arriben a resultats contraris (Silsbury *et al.*, 1983), com en el present treball.

L'activitat respiratòria del sistema radical es pot mesurar com el percentatge de fotosintetitzats translocats cap a l'arrel i consumits per respiració, el que permet avaluar el cost real de la despesa energètica que suposa per la planta la simbiosi. Mitjançant l'exposició de les plantes a carboni radioactiu $^{14}\text{CO}_2$, diversos autors han pogut avaluar les proporcions d'hidrats de carbó consumits en l'arrel per respiració respecte del total (Harris *et al.*, 1985; Douds *et al.*, 1988). Aquests autors coincideixen en que plantes inoculades amb *Glomus intraradices* presenten proporcions més altes d'hidrats de carbó consumits per respiració en

les arrels durant el procés de colonització, però passades 9-10 setmanes aquest percentatge disminueix respecte plantes no inoculades.

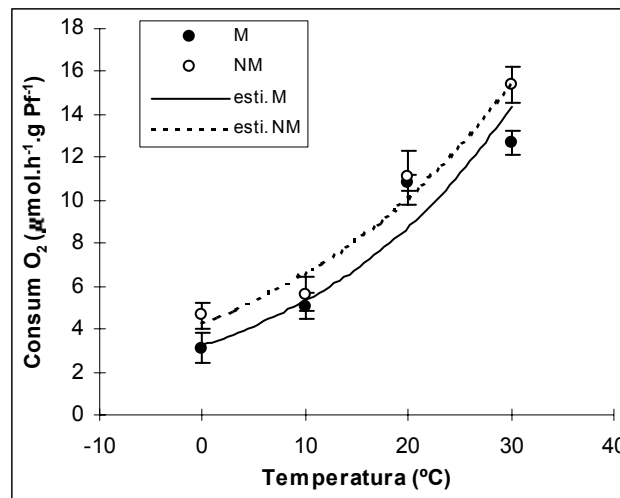


Figura 4.3.1. Consum d'oxigen del sistema radical en funció de la temperatura en plantes micoritzades (M) i no micoritzades (NM) de romaní cultivades en contenidor i fertirrigades, als 6 mesos de la inoculació de les plantes M. Els punts són la mitjana de 4 valors \pm error estàndard.

El nivell de colonització de les plantes M d'aquest experiment era elevat (al voltant del 52%) en el moment de realitzar les mesures de respiració de les arrels, ja que havien estat inoculades 6 mesos abans. D'acord amb l'experiència prèvia amb aquest fong, aquest nivell de colonització correspon a una simbiosi establerta. Per tant, la menor taxa respiratòria de les plantes de romaní micoritzades, coincideix amb els resultats de Harris *et al.* (1985) i Douds *et al.* (1988).

Sobre l'efecte de la temperatura en la respiració radical de plantes M i NM no es tenen referències. No obstant, la disminució significativa de la taxa respiratòria detectada en plantes M a 30°C (resultats no mostrats), implica un menor consum metabòlic. Aquestes condicions tèrmiques són freqüents en la producció intensiva de planta en contenidor (Fretz, 1971; Ingram i Buchanan, 1984), i una menor respiració del sistema radical pot comportar majors taxes d'assimilació neta.

4.3.3.2. Resistència hidràulica de l'arrel (Rh) i temperatura.

La resistència hidràulica de l'arrel (Rh) va disminuir significativament amb l'augment de la temperatura ($p < 0,001$), però amb diferent pendent segons el tractament M i NM (Taula 4.3.2), i les funcions que millor s'ajusten són del tipus

exponencial decreixent (Figura 4.3.2). La influència de la micorització en la Rh va dependre de la temperatura estudiada, ja que la interacció dels factors micorització i temperatura va ser altament significativa ($p < 0,001$).

Taula 4.3.2. Efecte de la temperatura en la resistència hidràulica de les arrels micoritzades (M) i no micoritzades (NM) de romaní als 6 mesos de la inoculació de les plantes M. Per a cada temperatura els valors seguits de diferent lletra difereixen significativament amb $p \leq 0,05$.

Factor	Anàlisi de la variància
Temperatura	<0,0001
Fong	0,0038
Temperatura*fong	<0,0001

Temperatura (°C)	Resistència hidràulica de l'arrel (MPa.s.cm ⁻² .10 ⁻⁴)		p
	M	NM	
0	25,64 a	15,80 b	0,001
10	13,83 a	11,65 a	n.s.
20	6,75 a	6,56 a	n.s.
30	2,02 b	5,07 a	0,001

En efecte, la millora de la conductivitat hidràulica (L_p , inversa de R_h) en plantes M, es va observar a partir de certes temperatures del sistema radical. Els ajusts de les corbes estimades de R_h en funció de la temperatura per a les plantes M i NM (Fig 4.3.2) es creuen aproximadament a 13-14°C, valor a partir del qual la presència de micorizes va fer que disminuís la resistència hidràulica de l'arrel al augmentar la temperatura.

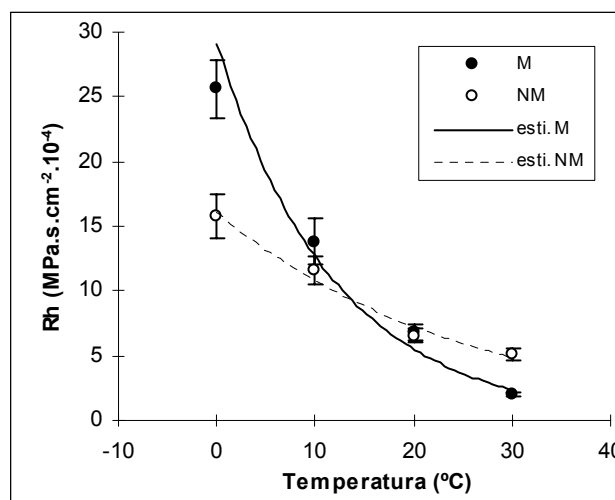


Figura 4.3.2. Resistència hidràulica de les arrels (R_h) en funció de la temperatura en plantes de romaní micoritzades (M) i no micoritzades (NM) cultivades en contenidor i fertirrigades, als 6 mesos de la inoculació de les plantes M. Els valors són la mitjana de 8 valors \pm error estàndard.

El comportament va ser justament invers a temperatures per sota dels 13-14°C: la resistència hidràulica de les arrels va ser major en plantes M, essent l'increment de Rh significatiu ($p < 0,001$) a 0°C.

L'augment de la Rh de les arrels al disminuir la temperatura és un fenomen habitual en totes les plantes que s'explica per canvis en les propietats físiques de l'aigua: augmenta la seva viscositat degut a la formació de més ponts d'hidrogen (Kramer, 1983). Però es produeixen també altres fenòmens, com la disminució de la permeabilitat de les membranes cel·lulars, que tenen més influència en la Rh radical que l'augment de la viscositat de l'aigua (Running i Read, 1980). En plantes sensibles al "chilling", els canvis en la conductivitat hidràulica de les arrels es produeixen de forma brusca per sota de determinades temperatures (Berry i Raison, 1981), que poden ser visualitzats pels canvis de pendent en la representació gràfica de l'equació d'Arrhenius. La disminució de la temperatura comporta canvis en la configuració dels lípids, en l'activitat transportadora, en la permeabilitat i en la ultraestructura de les membranes cel·lulars i també es col·lapsen temporalment els processos formadors d'ATP (Kuiper, 1974; Clarkson *et al.*, 1980, i Palta *et al.*, 1982, entre d'altres).

Generalment, la conductivitat hidràulica de les arrels no es veu alterada en les plantes micoritzades si paral·lelament aquestes no comporten per a la planta un major creixement o un increment en l'absorció de fòsfor (Koide, 1993). De fet, s'ha trobat en diversos casos que la Lp de les arrels de plantes M era menor que en plantes NM quan les plantes comparades eren de mida similar (Safir i Nelsen, 1981; Levy *et al.*, 1983b; Graham *et al.*, 1987; citats a Augé, 2001). No obstant, en estudis comparatius de plantes VAM i NM de diferent mida i concentració de fòsfor dels teixits, generalment ha estat més alta la Lp de les arrels de les plantes micoritzades (Hardie i Leyton, 1981; Nelsen i Safir, 1982b; Graham i Syvertsen, 1984; Cui i Nobel, 1992; citats a Augé, 2001), però no sempre (Graham i Syvertsen, 1985; Graham *et al.*, 1987; Sylvester i Graham, 1990; citats a Augé, 2001).

Com ja s'ha apuntat anteriorment, la disminució de la Rh de les arrels en plantes M s'atribueix a la diferent mida i nutrició de les plantes. Segons Hardie i Leyton (1981), els mecanismes pels quals augmenta la Lp de les arrels de les plantes M, poden ser la major longitud i diàmetre de les arrels i la millor translocació de l'aigua cap a la planta a través de les hifes. Pel contrari, altres autors diuen que la translocació d'aigua a través de les hifes és mínima i que la millora de la Lp seria deguda a la major absorció de fòsfor, especialment quan aquest es troba en quantitats limitants en el sòl o substrat. El fòsfor tindria un efecte directe

disminuint la resistència de les membranes cel·lulars al flux d'aigua, que és, amb diferència, la resistència més gran (Nobel, 1983).

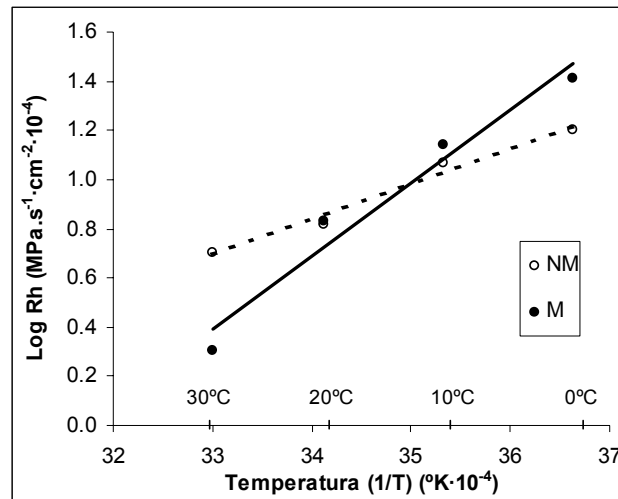
Cal dir que la majoria dels estudis citats anteriorment s'han realitzat en condicions d'estrès hídric, i les plantes d'aquest experiment no van estar sotmeses a condicions limitants d'aigua ni de nutrients. En la bibliografia consultada en cap cas es fa referència però, a la temperatura que s'han realitzat les mesures. Per altra banda, el sistema de mostreig de les arrels utilitzat va excloure forçosament el miceli extern, que pot tenir un paper important en aquest paràmetre.

En una simbiosi ja establerta entre plantes de pastanaga i *Glomus intraradices*, s'ha observat que per sota de 15°C disminueix el percentatge de colonització de l'arrel però no el creixement del miceli, i per sota de 10°C es redueix l'activitat metabòlica del fong (Wang i Hamel, 1998). També en diferents cultius de clima temperat colonitzats amb fongs vesiculo-arbusculars, s'ha detectat una disminució en el desenvolupament de les micorizes per sota de 15°C, i en particular de la colonització extraradical, mentre la colonització intraradical es manté al menys en un 50% de la longitud de l'arrel (Gavito *et al.*, 2001).

La tolerància de les micorizes VA a les baixes temperatures depèn de la intensitat del fred, del temps d'exposició i de la velocitat amb que baixa la temperatura. Alguns fongs mostren una resposta a la disminució de la temperatura similar a la de les plantes, que augmenten la seva resistència al fred si hi ha una aclimatació prèvia (Robinson i Morris, 1984; Smith, 1993 citats a Addy *et al.*, 1998). Aquesta capacitat d'aclimatació ha estat verificada en VAM per Addy *et al.* (1998), ja que l'activitat metabòlica de les hifes extraradicals de *Glomus intraradices* depèn de tractaments previs de fred. El tractament tèrmic es va aplicar en romaní de forma instantània, de tal manera que la disminució de l'activitat metabòlica de les micorizes hauria estat més acusada al no existir aclimatació prèvia.

Per altra banda, el desenvolupament de la simbiosi comporta un important augment de la superfície de les membranes cel·lulars de les arrels de les plantes colonitzades: entre 6 i 12 vegades segons Cox i Tinker (1976) i Alexander *et al.* (1988). Això pot explicar que a baixes temperatures es produeixi un augment de la Rh radical molt més acusat en les plantes M que en les NM.

A altes temperatures, la disminució de la Rh radical en les plantes M pot tenir com a conseqüència una major taxa transpiratòria, afavorint que l'àrea foliar sigui més gran i la resistència a la difusió de l'aigua a través de la fulla més



petita, sempre que la disponibilitat d'aigua no sigui limitant. En condicions d'estrès hídric moderat la transpiració total seguiria sent major degut a la major àrea foliar. En aquest cas, la menor Rh radicular possibilita també una recuperació més ràpida de les plantes M (Harris *et al.* 1985; Safir *et al.* 1971). No obstant, quan l'estrès hídric té lloc de forma sobtada i amb molta intensitat, condicions que es poden donar en el trasplantament, la resistència hidràulica de les arrels pot no recuperar-se en les plantes M (veure resultats de l'Experiment 4), al constatar canvis en l'activitat metabòlica del fong, que pot esporular o inclús es pot produir la mort de la micoriza (Jasper *et al.*, 1993).

4.3.3.4. Sensibilitat del romaní a les baixes temperatures.

La representació gràfica de l'equació d'Arrhenius mostra relacions lineals sense canvis bruscs de pendent entre el logaritme dels paràmetres estudiats (respiració i resistència hidràulica) i l'invers de la temperatura absoluta (Figura 4.3.3 i 4.3.4).

Figura 4.3.3. Representació gràfica d'Arrhenius del logaritme de la taxa de respiració de les arrels de romaní micoritzats (M) i no micoritzats (NM) en funció de la inversa de la temperatura absoluta. L'ajust lineal té per equacions: plantes M: $y = -0,18x + 7,07$, $R^2 = 0,96$; plantes NM: $y = -0,15x + 6,23$, $R^2 = 0,95$.

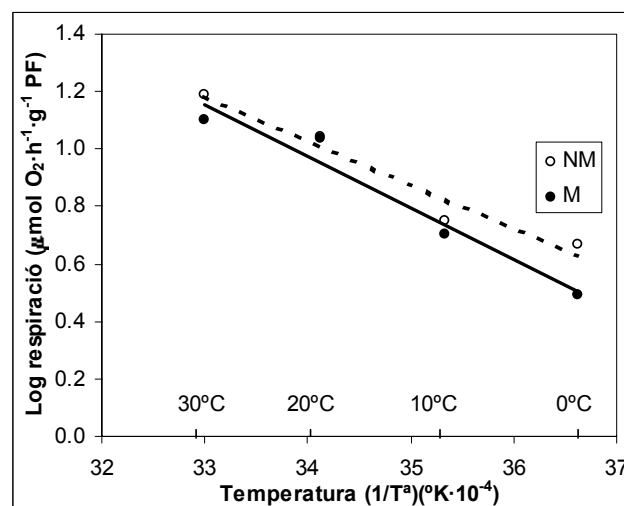


Figura 4.3.4. Representació gràfica d'Arrhenius del logaritme de la resistència hidràulica de les arrels de romaní micorizat (M) i no micorizat (NM) en funció de la inversa de la temperatura absoluta. L'ajust lineal té per equacions: plantes M: $y=0,30x-9,44$, $R^2=0,96$; plantes NM: $y=0,14x-4,03$, $R^2=0,98$.

Els resultats suggereixen que tant les arrels M com NM de romaní són resistents a baixes temperatures, i que per tant, en el rang de temperatures estudiat no hi ha canvis en les membranes lipídiques associades amb el transport d'aigua (Lyons, 1973, citat a Running i Read, 1980).

Si bé aquest comportament era esperable, no sempre s'observa en plantes de clima temperat o de latituds més elevades. Per exemple, en plançons de *Pinus contorta* i *Picea engelmannii*, espècies coníferes pròpies de latituds elevades, sorprenentment s'han trobat discontinuïtats en la representació gràfica d'Arrhenius de la resistència hidràulica de l'arrel a 6°C i 7-8°C, respectivament, mostrant sensibilitat al "chilling" (Kaufman, 1977, citat a Runing i Read, 1980; Runing i Read, 1980).

Per altra banda, de les representacions gràfiques d'Arrhenius de les Figures 4.3.3. i 4.3.4, se'n dedueix que les arrels micoritzades de romaní precisen d'una major energia d'activació de les reaccions enzimàtiques (E_a), ja que mostren en ambdós casos majors pendents de les relacions dels paràmetres estudiats (respiració i R_h) amb la inversa de la temperatura absoluta. Això podria estar relacionat amb el cost energètic que representa per a la planta la simbiosi amb fongs micorízics VA.

4.3.4. Conclusions.

- 1) La relació entre la respiració i la temperatura segueix la mateixa tendència en les plantes micoritzades i les no micoritzades. Tanmateix, les plantes micoritzades presenten valors inferiors de respiració d'O₂ consumit que les no micoritzades per a tot el ventall de temperatures estudiades. Aquests menors valors magnifiquen l'efecte positiu de la micorizació, ja que l'increment en l'absorció d'elements no es veu afectat negativament per unes majors pèrdues per respiració del C assimilat.
- 2) La resistència hidràulica de les arrels micoritzades i no micoritzades disminueix al augmentar la temperatura però amb pendents significativament diferents. Les micorizes faciliten el transport a partir de 14°C, però a baixes

temperatures (0°C) són les arrels de les plantes no micoritzades les que oposen menor resistència al pas de l'aigua. Aquest comportament podria explicar-se per la menor activitat metabòlica del fong a baixa temperatura i major superfície de membranes cel·lulars en les arrels de les plantes colonitzades.

- 3) En la representació d'Arrhenius dels dos paràmetres (respiració i resistència hidràulica) s'ha observat que no hi ha trencament del pendent, això significa que els canvis no són estructurals i que, per tant, les arrels de romaní no són sensibles a les baixes temperatures estudiades.

4.4. Experiment 3. Efecte de l'adobat carbònic, la micorització i la dosi d'aigua en la producció.

4.4.1. Objectius de l'experiment.

L'objectiu d'aquest experiment és estudiar la resposta en la producció i la fisiologia de les plantes de romaní micoritzades i no micoritzades a dues dosis de reg i a l'enriquiment atmosfèric amb CO₂ (ECO₂) com adobat en condicions de viver. A "priori" hi ha un especial interès en l'estudi de la interacció ECO₂*fong, ja que existeix bibliografia que recull diferències importants en la reacció de les plantes control i micoritzades a l'increment del CO₂ atmosfèric. També s'han assajat dues dosis de reg per a valorar l'aport d'aigua com a factor limitant i la seva interacció amb els altres factors.

4.4.2. Metodologia i plantejament experimental.

Es van emprar esqueixos arrelats de romaní de dos mesos d'edat i pes sec total $0,198 \pm 0,018 \text{ g}\cdot\text{planta}^{-1}$ (n=5). El cultiu es va realitzar en contenidors de 14 cm de diàmetre i 1250 cm³, amb substrat de torba-perleta (2:1 en volum) (veure apartat 3.2.2.3). La densitat del cultiu va ser de 25 plantes·m⁻².

L'assaig, que es va iniciar el 26/11/97 i va finalitzar el 17/04/98, es va dur a terme en un hivernacle multitúnel amb coberta de plàstic.

En el tractament de CO₂ es van assajar 3 concentracions (350 ppm o concentració ambiental, 500 ppm i 750 ppm), aplicades dividint l'hivernacle multitúnel en 3 mòduls de 80 m², separats per plàstics de polietilè (veure apartat 3.2.2.1). La distribució i control del CO₂ està descrita a l'apartat 3.2.2.2 de material i mètodes general.

El factor micorització va consistir en la inoculació de la meitat de les plantes de romaní amb *Glomus intraradices* Schenck and Smith (M) a l'inici de l'assaig (trasplantament), seguint la metodologia descrita a l'apartat 3.2.1, que van ser comparades amb plantes no inoculades (NM).

En el factor dosi de reg va consistir en l'aplicació de dues dosis de reg per microaspersió, amb fertirrigació i una freqüència de 2 regs diaris per a tots dos tractaments (veure apartats 3.2.2.4 i 3.2.2.5). El tractament 100% va correspondre a la dosi d'aigua necessària per satisfer les necessitats totals diàries estimades de les plantes, amb una quantitat total aportada al final de l'assaig de 1500 L·m⁻², mentre que en el tractament 50 % es va aplicar la meitat de la dosi anterior, amb 750 L·m⁻² d'aigua al final de l'assaig. A la Taula 4.4.1

figuren les mitjanes mensuals de les dosis d'aigua aportades diàriament per m² i per planta en cada tractament hídric (50 i 100%). Les característiques de composició i maneig de la solució nutritiva emprada per a la fertirrigació, es descriuen a l'apartat 3.2.2.5 de materials i metodologia general.

Taula 4.4.1. Dosi de reg aportades en cada tractament hídric (50 i 100%) durant el període de l'assaig. Es mostren les mitjanes mensuals en litres per m² i dia i en litres per planta i dia.

Mes	Litres.m ⁻² .dia ⁻¹		Litres.planta ⁻¹ .dia ⁻¹	
	100%	50%	100%	50%
Novembre (26-30)	7,52	3,76	0,30	0,15
Desembre	7,52	3,76	0,30	0,15
Gener	7,52	3,76	0,30	0,15
Febrer	11,28	5,64	0,45	0,23
Març	13,16	6,58	0,53	0,26
Abril (1-16)	16,92	8,46	0,68	0,34

Es va determinar la biomassa total de les plantes a l'inici de l'assaig (26/11/97), als 2 mesos i mig (12/02/98) i als 5 mesos (17/04/98, final de l'assaig), i es van mesurar i/o calcular els següents paràmetres sobre un total de 5 plantes (n=5) escollides a l'atzar:

- a) Paràmetres morfològics i/o de creixement: alçada i diàmetre, seguint la metodologia descrita a l'apartat 3.2.3.1; àrea foliar i pes específic foliar (SLW), seguint la metodologia descrita als apartats 3.2.3.2 i 3.2.3.3, respectivament.
- b) Paràmetres de producció: pes sec de fulles, tiges i arrels, seguint la metodologia descrita a l'apartat 3.2.3.2.
- c) Índex de creixement i d'al·locació de biomassa: índex de creixement relatiu (RGR), seguint el procediment de càlcul descrit a l'apartat 3.2.3.1; relació part subterrània/part aèria (Root/shoot), pes sec fulles/pes sec total (LWR), pes sec tiges/pes sec total (SWR) i pes sec arrels/pes sec total (RWR), seguint la metodologia descrita a l'apartat 3.2.3.3.
- d) Percentatge de colonització de les arrels mitjançant el mètode descrit a l'apartat 3.2.6.

L'estructura dels tractaments és multifactorial, amb 3 tres nivells del factor CO₂ (350, 500 i 750 ppm), dos nivells del factor micorizació (M i NM) i 2 nivells del factor aigua (50% i 100%), utilitzant un total de 360 plantes, 30 per cada combinació de tractaments. Es va realitzar l'anàlisi de la variància per determinar l'efecte dels tractaments mitjançant el procediment GLM del SAS, i els contrastos ortogonals de significació per a comparar les mitjanes de cada combinació de tractaments (versió 6.0 SAS Institute, Inc., 1994), ja que els

factors estudiats són fixes i estructurats. Els paràmetres de creixement i producció (alçada, diàmetre i pes sec total i de les diferents fraccions), es van transformar prèviament mitjançant "lnx" per complir normalitat i la colonització mitjançant "arcsinus (x)^{1/2}", essent x la colonització en tant per u.

4.4.3. Resultats i Discussió.

4.4.3.1. Resultats generals.

Als 2,5 mesos, l'increment de la concentració de CO₂ (ECO₂), va estimular el creixement i la producció de biomassa de totes les fraccions de la planta, observant-se també diferències en el repartiment de la matèria seca. En canvi, els tractaments d'aigua i micorizació no van tenir efecte en cap dels paràmetres mesurats, ni tampoc van ser significatives les interaccions entre els factors (Taula 4.2.2).

Taula 4.4.2. Valors de p de l'anàlisi de la variància per a determinar l'efecte dels tractaments, i mitjanes dels paràmetres de creixement, productius i morfològics segons els factors principals als 2,5 mesos (mostreig de febrer): adobat carbònic (CO₂: 350, 500, 750 ppm; n=20), micorizació amb *Glomus intraradices* (M i NM; n=30) i aigua (50% i 100%; n=30). Dins de cada factor, les mitjanes seguides de diferent lletra difereixen significativament amb p≤0,05 en base als contrastos ortogonals de significació. Per als paràmetres de creixement i producció (alçada, diàmetre i pesos secs) la separació de mitjanes s'ha fet en base als valors transformats mitjançant "ln x".

Factor	Alçada (cm)	Diàm. (mm)	Pes sec (g)			Àrea foliar (cm ²)	*SLW (mg.cm ⁻²)	Root/shoot (%)		
			Fulles	Tiges	Arrels				Total	
CO ₂	n.s.	0,029	0,024	0,001	<0,001	0,002	n.s.	n.s.	0,007	
A	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
M	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
CO ₂ *A	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
CO ₂ *M	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
A*M	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
CO ₂ *A*M	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
	350	17,1	3,4 b	1,4 b	0,3 b	0,4 c	2,1 b	202,8	7,5	0,21 b
CO ₂	500	19,0	3,9 ab	1,6 ab	0,5 b	0,6 b	2,6 b	240,9	7,2	0,29 a
	750	18,9	4,2 a	1,9 a	0,6 a	0,8 a	3,3 a	243,1	8,2	0,30 a
A	50%	18,8	3,9	1,7	0,5	0,6	5,3	222,8	8,0	0,27
	100%	17,7	3,9	1,6	0,4	0,5	4,3	235,1	7,3	0,26
M	M	18,7	4,1	1,6	0,5	0,6	2,7	225,9	7,6	0,28
	NM	17,9	3,6	1,6	0,5	0,5	2,6	232,0	7,7	0,25

*SLW = pes específic foliar.

Als 5 mesos (final de l'assaig), l'ECO₂ va comportar igualment diferències significatives en els paràmetres de creixement (alçada i diàmetre) i de producció de la planta (pes sec total i de les diferents fraccions), però va tenir efecte en el repartiment de la biomassa ni tampoc en la morfologia de les fulles. Com a

conseqüència de la dosi de reg, es van produir diferències en el creixement en alçada ($p=0,001$), en la biomassa total ($p=0,047$), en l'àrea foliar ($p=0,021$) i en el pes específic foliar ($p=0,005$), modificant-se per tant, la morfologia de les fulles. El tractament de micorizació no va tenir efecte en cap dels paràmetres mesurats, però va ser significativa la interacció d'aquest factor amb la dosi de reg per al creixement en alçada ($p=0,026$), i amb l' ECO_2 per al pes sec de les arrels ($p=0,037$) i pes sec total ($p=0,031$) (Taula 4.4.3).

Taula 4.4.3. Valors de p de l'anàlisi de la variància per a determinar l'efecte dels tractaments, i mitjanes dels paràmetres de creixement, productius i morfològics segons els factors principals al final del període de l'assaig (5 mesos): adobat carbònic (CO_2 : 350, 500, 750 ppm; $n=20$), micorizació amb *Glomus intraradices* (M i NM; $n=30$) i aigua (50% i 100%; $n=30$). Dins de cada factor, les mitjanes seguides de diferent lletra difereixen significativament amb $p \leq 0,05$ en base als contrastos ortogonals de significació. Per als paràmetres de creixement i producció (alçada, diàmetre i pesos secs) la separació de mitjanes s'ha fet en base als valors transformats mitjançant "ln x".

Factor	Alçada (cm)	Diàm. (mm)	Pes sec (g)				Àrea foliar (cm ²)	*SLW (mg.cm ⁻²)	Root/shoot (%)	
			Fulles	Tiges	Arrels	Total				
CO_2	<0,001	0,027	0,046	0,015	0,003	0,005	n.s.	n.s.	n.s.	
A	<0,001	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,047	0,021	0,005	n.s.	
M	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
CO_2 *A	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
CO_2 *M	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,037	0,031	n.s.	n.s.	n.s.	
A*M	0,026	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
CO_2 *A*M	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
	350	36,9 b	5,5 b	11,0 b	3,8 b	4,2 b	19,1 b	828,4	15,5	0,30
CO_2	500	41,0 a	6,5 a	15,7 a	5,5 a	5,0 a	28,2 a	1118,3	14,9	0,35
	750	34,4 b	5,9 a	15,5 a	4,2 b	5,7 a	25,4 a	1030,3	15,9	0,33
A	50%	35,1 b	5,7	12,5	4,4	5,5	22,5 b	816,7 b	16,6 a	0,33
	100%	39,8 a	6,2	15,7	4,5	5,9	26,0 a	1168,0 a	14,2 b	0,32
M	M	38,6	6,2	15,4	4,7	6,2	26,2	1122,7	14,4	0,33
	NM	36,3	5,8	12,8	4,3	5,2	22,3	861,9	15,7	0,33

*SLW = pes específic foliar.

4.4.3.2. Efecte de l' ECO_2 en el creixement i en la producció.

Tant als 2,5 mesos com al final de l'assaig (5 mesos), hi va haver resposta productiva de la planta a l'adobat carbònic: l'increment del pes sec total de la planta i de les diferents fraccions (fulles i arrels) va ser significatiu al augmentar la concentració de CO_2 atmosfèric. Es van produir també increments significatius de l'alçada (5 mesos) i del diàmetre de la tija (2,5 i 5 mesos), però no de l'àrea foliar ni del pes específic foliar (Taulas 4.4.2 i 4.4.3). La resposta productiva del romaní a l'adobat carbònic és coincident amb la de nombroses espècies que, exposades a elevades concentracions de CO_2 durant períodes curts de temps,

veuen estimulat el seu creixement i la fixació fotosintètica (BassiriRad *et al.*, 1997). Els increments màxims de la biomassa total del romaní van ser de l'ordre del 57,1% als 2,5 mesos de cultiu a la dosi de 750 ppm de CO₂, i del 47,6% a 500 ppm als 5 mesos, xifres comparables amb les obtingudes en altres espècies llenyoses per Ceulemans i Mousseau (1994) i Tissue *et al.* (1997). Aquest comportament es va reproduir a les dues dosis d'aigua assajades, ja que la interacció CO₂*Aigua no va ser significativa. També es va observar una tendència a augmentar el pes específic foliar a ECO₂, que està d'acord amb els resultats de Poorter *et al.* (1997).

En el període inicial d'exposició (fins els 2,5 mesos), l'ECO₂ va estimular el creixement relatiu de les plantes (RGR) a les dues dosis de CO₂ assajades (Taula 4.4.5), però només la concentració més alta (750 ppm) va comportar un increment significatiu en la producció de matèria seca, que va ser evident en totes les fraccions de la planta (Taula 4.4.2).

En canvi, l'ECO₂ no va estimular el creixement de les plantes NM en el període següent comprès entre el primer i el segon mostreig (febrer-abril), però sí el de les plantes M (Taula 4.4.5). No obstant, al final de l'assaig (5 mesos), es van obtenir increments significatius globals en tots els paràmetres de producció i creixement a 500 ppm, que va ser la dosi més favorable, mentre que els resultats obtinguts a 750 ppm suggereixen que aquesta concentració de CO₂ pot resultar excessiva per a l'espècie estudiada en les condicions de l'assaig, produint-se saturació (Taula 4.4.3).

L'estimulació del creixement observada en el període inicial d'exposició a ECO₂ (inici-febrer), va anar seguida d'una disminució en la taxa de creixement relativa (RGR) de les plantes NM en el període següent (febrer-abril), que tendeix a valors similars als de l'ambient, i pel contrari d'un increment d'aquesta taxa en les plantes M (Taula 4.4.5).

Aquest comportament en el creixement pot ser degut a un fenomen d'aclimatació de la fotosíntesi probablement a causa de les condicions experimentals de cultiu en contenidor. Nivells elevats de fotosíntesi i de creixement es poden mantenir mentre la demanda d'assimilats sigui alta, i depenen de la capacitat de la planta de generar nous llocs d'emmagatzematge o utilització (embornals). La limitació dels embornals pot ser deguda a característiques intrínseques de l'espècie (Ceulemans i Mosseau, 1994) o bé a limitacions ambientals o experimentals (Stitt, 1991). Les espècies amb creixement indeterminat i capacitat d'embornal elevada (com el romaní), són

menys favorables a mostrar aclimatació que les espècies de creixement determinat (Kaushal *et al.*, 1989).

L'aclimatació de la fotosíntesi ha estat observada en planter d'espècies llenyoses com a conseqüència de limitacions ambientals, com el cultiu en contenidor (Thomas i Strain, 1991; Berntson *et al.*, 1993), ja que la restricció en el creixement de les arrels que provoca el contenidor, resulta en limitacions de l'absorció d'aigua i nutrients (Bazzaz, 1990), així com en la força de l'embornal (McConnaughay *et al.*, 1993; Pettersson i McDonald, 1994). El cultiu d'espècies llenyoses en el sòl, en absència de limitacions en el creixement del sistema radical, s'observa que l'enriquiment amb CO₂ continua estimulants el creixement (Arp, 1991). Idso *et al.* (1991), no van observar evidències d'aclimatació de la fotosíntesi ni manca d'estimulació del creixement a llarg termini en tarongers exposats a ECO₂ cultivats en el sòl. Un recent meta-anàlisi, utilitzant dades de gran quantitat d'experiments a llarg termini sobre una gran varietat d'espècies, ha mostrat que només en el 10% dels casos s'han observat fenòmens d'aclimatació en espècies llenyoses cultivades al sòl (Curtis i Wang, 1998). Per tant, en espècies llenyoses, que en general tenen elevada capacitat d'embornal, l'aclimatació és excepcional, i molt petita en relació a l'efecte estimulants de l'enriquiment en CO₂ (Medlyn *et al.*, 1999).

La interacció CO₂*M, que s'analitza a l'apartat 4.4.3.6, referma la hipòtesi que la manca d'estímul de l'ECO₂ en el creixement de romaní no micorizat durant el període febrer-abril, pot ser deguda a un fenomen d'aclimatació de la fotosíntesi a causa de les condicions experimentals de cultiu en contenidors excessivament petits, que han limitat el creixement i els recursos disponibles per les arrels. La micorizació en canvi, afavoreix la fixació d'una major quantitat de carboni per la planta, que pot ser degut a una millora en l'absorció de nutrients i/o a l'efecte embornal de les micorizes nutrients (Syvertsen i Graham, 1999).

4.4.3.3. Efecte de l'ECO₂ en l'al.locació.

L'augment de la relació "Root/Shoot" al final de l'assaig en relació al mostreig de febrer, és una tendència ontogènica pròpia del planter d'espècies llenyoses, que augmenten aquesta relació amb el temps, és a dir, d'acord amb la mida o desenvolupament de la planta (Ledig i Perry, 1966, entre d'altres; citat a Poorter i Nagel, 2000).

Taula 4.4.4. Valors de p de l'anàlisi de la variància per a determinar l'efecte dels tractaments, i mitjanes (n=20) dels índex d'al·locació de biomassa en funció del factor CO₂: LWR (pes sec fulles /pes sec total); SWR (pes sec tiges/pes sec total); RWR (pes sec arrels/pes sec total), en el mostreig de febrer (als 2,5 mesos) i d'abril (als 5 mesos). Les mitjanes seguides de diferent lletra difereixen significativament amb p≤0,05 en base als contrastos ortogonals de significació.

CO ₂	Mostreig febrer			Mostreig abril			
	LWR	SWR	RWR	LWR	SWR	RWR	
CO ₂ (C)	0,009	n.s.	0,006	n.s.	n.s.	n.s.	
Aigua (A)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
Micorizes (M)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
C*A	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
C*M	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
A*M	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
C*A*M	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
	350	0,67 a	0,16	0,17 b	0,57	0,20	0,22
CO ₂	500	0,61 b	0,17	0,22 a	0,54	0,20	0,25
	750	0,59 b	0,18	0,23 a	0,58	0,17	0,23

D'acord amb l'anàlisi de Poorter i Nagel (2000), els canvis en l'al·locació de la biomassa causats per la variació de factors ambientals, com la llum, nutrients i aigua, segueixen les prediccions de la teoria de l'equilibri funcional formulada per Brownner el 1962, desplaçant-se l'al·locació de biomassa de forma preferent cap als òrgans de la planta més propers al recurs limitant. L'excepció és el CO₂ atmosfèric, que no afecta l'al·locació al augmentar la seva concentració (Stulen i Den Hertog, 1993; Tissue *et al.*, 1997; Curtis i Wang, 1998; Saxe *et al.*, 1998;; Poorter i Nagel, 2000; Tingey *et al.*, 2000), comportament que és coincident amb l'obtingut en romaní al final de l'assaig (Taula 4.4.4), on no hi va haver diferències en el repartiment de la biomassa. La resposta esperada d'acord amb la teoria de l'equilibri funcional hagués estat, en canvi, un increment en la fracció de biomassa al·locada en les arrels i una disminució de la fracció fulles a ECO₂. En contrast amb l'alta radiació, l'ECO₂ fa disminuir la transpiració, inclús a llarg termini (Morison, 1998; citat a Poorter i Nagel, 2000) i, en conseqüència, la menor necessitat d'absorbir aigua fa que no es produeixi un desplaçament en l'al·locació de la biomassa cap a les arrels. La única situació en la qual l'ECO₂ comporta augment del RWR, és l'estrès nutricional pronunciat (Stulen i Den Hertog, 1993), que no és el cas d'aquest experiment, ja que el cultiu s'ha fertirrigat.

No obstant, en el primer mostreig (febrer) es va observar un increment significatiu en l'al·locació de biomassa cap al sistema radical a ECO₂, independentment de la concentració de CO₂ assajada, ja que va disminuir la relació LWR (p=0,009) i augmenta la RWR (p=0,006), mentre la relació SWR resta inalterable (Taula 4.4.4). L'anàlisi al·lomètric mostra que aquestes diferències en l'al·locació detectades en el mostreig de febrer, depenen de la

mida de les plantes (pes sec total) i no del tractament de CO₂ (Figura 4.4.1), ja que els ajustos lineals entre el pes sec de fulles i arrels i el pes sec total a escala logarítmica per a cada tractament de CO₂ (plantes M-100), no difereixen significativament (veure peu Figura 4.4.1). De tota manera, cal prendre amb precaució els resultats de l'anàlisi al·lomètric, doncs faria falta un nombre de punts més elevat i limitar l'estudi de les relacions al·lomètriques als primers mesos de creixement.

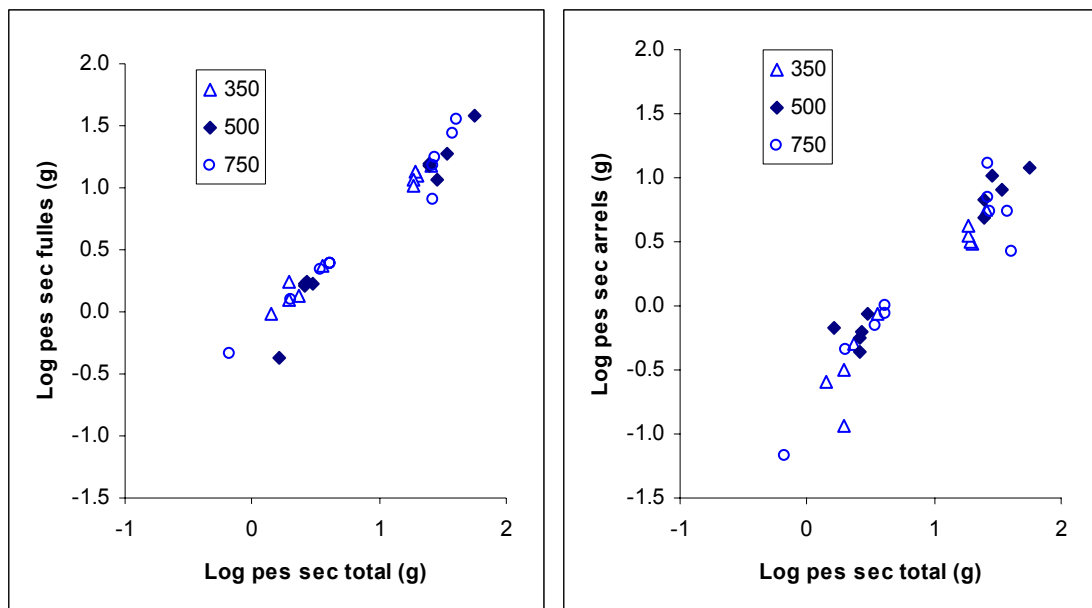


Figura 4.4.1. Resultats de les relacions al·lomètriques pes sec de fulles/pes sec total i pes sec d'arrels/pes sec total a escala logarítmica per a plantes micoritzades (M) a la dosi més alta de reg (100%). Els pendents i termes independents de les regressions lineals per cada tractament de CO₂ no difereixen significativament ($p \leq 0,05$), i les seves equacions són:

Factor CO ₂	Log Pes sec fulles/Log Pes sec total	Log Pes sec arrels/Log Pes sec total
350 ppm	$y = 0,96x - 0,15, R^2 = 0,99$	$y = 1,11x - 0,86, R^2 = 0,93$
500 ppm	$y = 1,05x - 0,32, R^2 = 0,96$	$y = 0,98x - 0,58, R^2 = 0,96$
750 ppm	$y = 0,99x - 0,21, R^2 = 0,96$	$y = 1,03x - 0,76, R^2 = 0,88$

Tot i així, en planter de coníferes s'ha descrit un augment de la relació "root/shoot" de l'ordre del 9% a ECO₂ en els primers estadis de creixement (Cure, 1985; Wullschleger *et al.*, 1995), força menor que l'obtingut en romaní el mostreig de febrer (38%). Tingey *et al.* (2000), proposen un model per explicar aquest fenomen: al principi l'ECO₂ fa augmentar el nombre d'arrels fines per afavorir que la planta absorbeixi més aigua i nutrients per utilitzar l'increment del recurs carboni, però al llarg del temps, es restableix l'equilibri amb el creixement de les fulles i arrels fines, retornant als valors relatius inicials. És a dir, l'ECO₂ causa una breu perturbació en la relació entre les fraccions arrels i

fulles, però a mig termini no varia el model d'al·locació. Els resultats del treball encaixen amb aquesta teoria, ja que al principi (febrer) les plantes a ECO_2 van al·locar més biomassa cap a les arrels, i en el mes d'abril ja no es van detectar aquestes diferències.

4.4.3.4. Efecte del tractament hídric.

El tractament hídric només va tenir efecte als 5 mesos de cultiu, al finalitzar l'assaig (Taula 4.4.3), on la dosi de reg 100% va comportar un augment del creixement de les plantes en alçada, major pes sec total i àrea foliar i un menor pes específic foliar. Per tant, la dosi de reg 50% va ser limitant per al creixement, i les plantes van adaptar la morfologia de les fulles a una situació d'estrès hídric moderat. El romaní és una espècie de gran plasticitat, que modifica amb facilitat la seva morfologia davant de situacions d'estrès hídric, produint-se, entre d'altres adaptacions, un increment del seu pes específic foliar. El pes específic foliar del romaní va presentar valors al voltant de $8-10 \text{ mg.cm}^{-2}$ amb aport d'aigua i condicions normals de producció en viver, mentre que en situacions d'estrès hídric intens pot assolir valors de 35 mg.cm^{-2} (veure resultats de l'Experiment 5).

El tractament d'aigua d'aquest experiment, va diferir del de l'Experiment 1 quant a les dosis d'aigua aportades i la diferent mida i característiques del contenidor utilitzat, que va ser de capacitat superior en aquest cas. Els períodes dels assajos van coincidir parcialment, si bé aquest va ser de força més durada. Tot això fa que els resultats aconseguits en ambdós assajos difereixin en relació al tractament d'aigua. També en l'experiment 1 només es va aportar aigua, en canvi en aquest es van aportar nutrients.

4.4.3.5. Efecte de la micorizació. Interacció amb la dosi de reg.

Encara que al final de l'assaig es va observar una marcada tendència de les plantes micoritzades a produir més matèria seca en totes les fraccions, créixer més en alçada, presentar una major àrea foliar i menor pes específic foliar, aquestes diferències no van ser en cap cas significatives (Taules 4.4.2 i 4.4.3). L'aport de nutrients mitjançant la fertirrigació durant l'assaig i/o la limitació en la mida del contenidor, poden ser possibles explicacions a la manca de diferències significatives entre plantes M i NM. La limitació del contenidor, comporta que no hi hagi diferències d'accessibilitat als recursos entre plantes micoritzades i no micoritzades, i en aquest cas les micorizes no aporten cap avantatge per la planta des del punt de vista nutritiu.

Segons Tuomi et al. (2001), el desavantatge de les micorizes a alts nivells de nutrició es pot explicar d'acord amb l'escenari següent: (a) les arrels micoritzades són menys cost-eficients en l'adquisició de nutrients (gasten més C per unitat de nutrient adquirit) que les NM a qualsevol nivell de nutrició, la qual cosa s'ha demostrat, almenys, per algunes varietats de cítrics; (b) la planta hoste es beneficia de les micorizes per la seva major taxa en l'absorció de nutrients; (c) el valor d'aquest benefici per guany de Carboni, depèn de l'eficiència en l'ús de nutrients de la fotosíntesi; (d) l'eficiència en l'ús de nutrients de la fotosíntesi, disminueix amb l'augment de la disponibilitat de nutrients; (e) l'avantatge de les M desapareix a nivells alts de nutrients en el sòl o substrat. En conseqüència, la disminució de la colonització amb l'augment de la disponibilitat de nutrients resulta del major cost en Carboni dels nutrients adquirits a través de la simbiosi juntament amb la disminució dels beneficis dels nutrients adquirits.

Al final de l'assaig, l'efecte de la micorització sobre creixement en alçada de les plantes de romaní va dependre de la dosi d'aigua aportada, ja que la interacció Aigua*Micorització va ser significativa ($p=0,026$) (Taula 4.4.3). A la dosi d'aigua 50%, que va resultar limitant per al creixement, hi va haver un increment significatiu en alçada de les plantes M, que no es va observar a la dosi 100% (Figura 4.4.2). La micorització comporta beneficis per al creixement de l'hoste en condicions d'estrès hídric moderat (Augé, 2001).

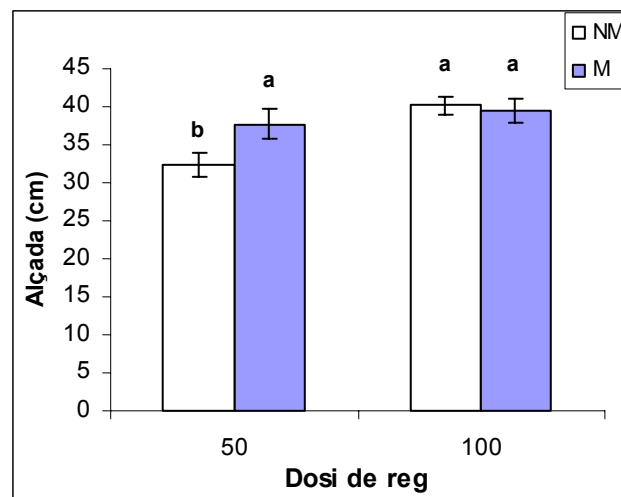


Figura 4.4.2. Efecte sobre l'alçada de les plantes de la dosi de reg (50 i 100%) en plantes micoritzades (M) i no micoritzades (NM) ($n=15$). Barres amb diferents lletres difereixen significativament amb $p \leq 0,05$.

4.4.3.6. Resposta de les plantes micoritzades a ECO₂.

Al final de l'assaig, l'ECO₂ i la micorització van tenir efectes més que additius en la producció, ja que la interacció CO₂*Micorització va ser significativa per al pes sec d'arrels (p=0,037) i pes sec total (p=0,031) (Taula 4.4.3). La resposta a l'adobat carbònic es va produir tant en plantes micoritzades (M), com en les no micoritzades (NM), que es va manifestar en increments significatius del pes sec de les arrels i del pes sec total. Però la magnitud d'aquesta resposta va dependre de la micorització, ja que va ser molt més intensa en plantes M, on l'increment de biomassa total va ser del 67,8% a 500 ppm de CO₂, mentre que en NM l'increment va ser tant sols del 30,6% (Figura 4.4.3).

A 750 ppm, es va observar un efecte saturant del CO₂ sobre la producció en les plantes NM, ja que a aquesta dosi cap dels paràmetres biomètrics mesurats va augmentar de forma significativa respecte la concentració de CO₂ ambient (350 ppm), mentre que en plantes M es va seguir estimulant el creixement a nivells comparables als obtinguts a 500 ppm (Figura 4.4.3). La presència de micorizes va desplaçar la concentració òptima de CO₂ per al creixement cap a valors més elevats.

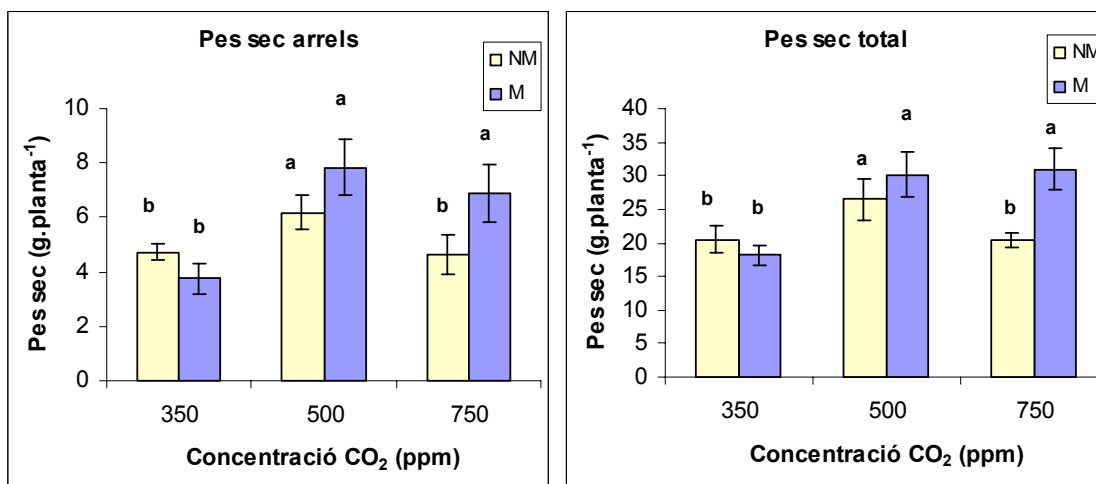


Figura 4.4.3. Resposta de les plantes micoritzades (M) i no micoritzades (NM) a ECO₂ (n=10): efecte sobre el pes sec de les arrels i el pes sec total. Barres amb diferents lletres difereixen significativament amb p≤0,05.

Segons Poorter *et al.* (1996) i Cornelissen *et al.* (1999), la diferència de creixement relatiu (RGR) a ECO₂ respecte al de la concentració atmosfèrica, és un bon indicatiu de l'estímul que té sobre el creixement l'increment de la concentració de CO₂. En base a aquestes consideracions, la Taula 4.4.5 es mostra el creixement relatiu durant el període inicial de creixement (inici-febrer)

i del període subsegüent comprès entre el primer i el segon mostreig (febrer-abril) del pes sec total de la planta a la concentració de CO₂ atmosfèrica (RGR₃₅₀) i l'estímul que sobre el creixement produeixen les concentracions de 500 ppm (RGR₅₀₀-RGR₃₅₀) i 750 ppm de CO₂ (RGR₇₅₀-RGR₃₅₀), respecte la concentració de CO₂ ambient.

Taula 4.4.5. Creixement relatiu del pes sec total a la concentració de CO₂ atmosfèrica (RGR₃₅₀), i estímul del creixement del pes sec total a ECO₂ respecte la concentració de CO₂ atmosfèrica: a 500 ppm (RGR₅₀₀-RGR₃₅₀) i a 750 ppm de CO₂ (RGR₇₅₀-RGR₃₅₀). Es mostren les mitjanes durant el període inicial d'exposició a ECO₂ (inici-febrer), i del període subsegüent comprès entre el primer i el segon mostreig (febrer-abril). Els càlculs del RGR, s'han fet en base a les mitjanes (n=5) del pes sec total de cada combinació de tractaments.

Tract.	Inici-febrer			Febrer-abril		
	RGR ₃₅₀ (g.g ⁻¹ .d ⁻¹)	RGR ₅₀₀ -RGR ₃₅₀ (g.g ⁻¹ .d ⁻¹)	RGR ₇₅₀ -RGR ₃₅₀ (g.g ⁻¹ .d ⁻¹)	RGR ₃₅₀ (g.g ⁻¹ .d ⁻¹)	RGR ₅₀₀ -RGR ₃₅₀ (g.g ⁻¹ .d ⁻¹)	RGR ₇₅₀ -RGR ₃₅₀ (g.g ⁻¹ .d ⁻¹)
M 50	0,03415	-0,00006	0,00729	0,0304	0,00836	0,00196
M 100	0,03384	0,00150	0,00358	0,0348	0,00642	0,00297
NM 50	0,03047	0,00565	0,01020	0,0380	-0,00335	-0,01133
NM 100	0,03098	0,00625	0,00509	0,0388	-0,00207	-0,00639

La taxa de creixement relatiu del pes sec total a la concentració atmosfèrica de CO₂ (RGR₃₅₀) va ser similar per a tots els tractaments fong i aigua durant els dos períodes estudiats: inici-febrer i febrer-abril. No obstant, durant el període inicial d'exposició a ECO₂ (inici-febrer), l'estímul del creixement va ser més important en plantes NM que en les M, coincidint amb la fase d'establiment del fong micorízic en les plantes M (Taula 4.4.5).

En canvi, en el període de creixement següent (febrer-abril), la micorizació va estimular el creixement a ECO₂, particularment a la dosi de 500 ppm, mentre la resposta de les plantes NM a ECO₂ va ser nul·la, essent el RGR₇₅₀ i RGR₅₀₀ similars a la RGR₃₅₀. El tractament hídric sembla que no va tenir influència en l'estímul.

Una menor activitat respiratòria pot caracteritzar les simbiosis madures amb fongs VAM (Silsvury *et al.*, 1983; Doude *et al.*, 1988), mentre que durant la fase d'establiment s'han observat majors taxes respiratòries. Harris *et al.* (1985), va trobar que les arrels de plantes de soja inoculades amb fongs VAM respiraven una major quantitat relativa dels foto-assimilats disponibles a les 6 setmanes, però menor a les 9 setmanes, quan la infecció amb els fongs VAM estava més desenvolupada. Això pot explicar el major estímul del creixement de les plantes NM de romaní durant el període inicial d'exposició a ECO₂ (inici-febrer),

tendència que es va invertir en el següent període de creixement (febrer-abril), quan la simbiosi amb el fong micorízic ja està consolidada.

Luxmore (1981; citat a Ceulemans i Jansens, 1999), ja va fer la hipòtesi que les plantes llenyoses exposades a ECO_2 , al·locarien més C cap a les arrels associades amb microorganismes com els fongs micorízics.

El guany en la producció (pes sec de les arrels i total) i en el creixement de les plantes M de romaní a ECO_2 , coincideix amb aquesta hipòtesi i amb els resultats de diversos autors (Rouhier i Read, 1998, en *Plantago Lanceolata*; Sanders *et al.*, 1998, en *Prunella vulgaris*; Sivertsen i Graham, 1999, en dues espècies de *Citrus spp.*; Olesniewicz i Thomas, 1999, en *Robinia pseudoacacia*), ja que les plantes micorizades evidencien un augment de la força de l'embornal del fong simbiòtic i poden influenciar de forma important la resposta de la planta hoste a l'increment de CO_2 atmosfèric (Klironomos *et al.*, 1998; Rouhier i Read, 1998), inhibint l'aclimatació potencial de la fotosíntesi (Bazzaz, 1990; Staddom i Robinson, 1999b).

Ara bé, només en alguns casos s'ha observat una interacció significativa dels factors CO_2 i micorizació, com en aquest experiment per alguns paràmetres de producció (pes sec de les arrels i pes sec total), trobant respostes més que additives d'aquests factors: Olesniewicz i Thomas (1999) i Syvertsen i Graham (1999), sobre paràmetres de creixement i Staddom i Robinson (1999b), en assimilació neta de Carboni. Altres estudis similars (Jongen *et al.*, 1996; Rouhier i Read, 1998; Staddom *et al.*, 1999 a; Gavito *et al.*, 2000), mostren que no hi ha interacció dels factors CO_2 i micorizació, i que els seus efectes sobre el creixement i la producció són additius i independents. Aquestes discrepàncies poden ser atribuïdes a diferències en les condicions experimentals de cultiu, especialment pel que fa al volum disponible pel sistema radical (capacitat del contenidor), nivell nutricional i temperatura de l'aire i del sòl o substrat. En aquest sentit, Staddom *et al.* (1999a), suggereixen que el funcionament i el desenvolupament de les micorizes i els seus efectes sobre les plantes no estan afectats per l'enriquiment en CO_2 .

En principi no ens podem pronunciar sobre si la interacció ECO_2 *M observada va ser o no deguda a les condicions experimentals, ja que l'assaig es va dur a terme en contenidor. En conseqüència, tampoc es pot concloure res sobre l'additivitat o no dels dos factors.

En aquest experiment, el contenidor va suposar una limitació per al creixement de les arrels, tant de les plantes M com NM i, per tant, també de la seva força

com embornal del CO₂ assimilat. Però la micorizació comporta una demanda addicional de CO₂ assimilat, almenys per a mantenir estructures del fong i per al seu metabolisme (respiració), i això pot haver afavorit la fixació de carboni per part de la planta, que precisaria de més estructures per atendre aquesta demanda addicional.

En principi la fertilització no va ser limitant, però tampoc es pot descartar que la micorizació millorés l'absorció de nutrients, la qual cosa afavoriria una major creixement de les plantes M a ECO₂.

4.4.3.7. Colonització de l'arrel pel fong micorícic.

En les plantes no inoculades el percentatge de colonització de les arrels va ser 0% en el mostreig de febrer i 4,31% de mitjana en el mostreig d'abril, per la qual cosa totes les dades de colonització de les plantes NM van quedar fora de l'anàlisi de la variància.

El tractament hídric no va tenir un efecte significatiu en la colonització de les arrels de romaní en cap dels 2 mostrejors, mentre que es va observar una resposta significativa de la colonització al factor CO₂ només en el segon mostreig ($p=0,002$) (Taula 4.4.6).

En el mostreig de febrer es va observar un establiment més lent en la colonització de les plantes a 500 ppm de CO₂ en relació a la de les plantes a CO₂ ambient, mentre que la tendència va ser oposada a 750 ppm. Aquest comportament va ser similar en les dues dosis d'aigua assajades.

Taula 4.4.6. Valors de p de l'anàlisi de la variància per a determinar l'efecte dels factors: adobat carbònic i el tractament hídric en els dos mostrejors (febrer i abril). Mitjanes del percentatge d'arrel colonitzada per *Glomus intraradices* en funció del factor CO₂. Les mitjanes ($n=10$) seguides diferent de lletra, difereixen significativament amb $p \leq 0.05$, en base als valors transformats segons arcsinus $(x)^{1/2}$, on x és la colonització en tant per u.

Factor	1 ^{er} mostreig (febrer)	2 ^{on} mostreig (abril)
CO ₂	n.s.	0,002
Aigua	n.s.	n.s.
CO ₂ *Aigua	n.s.	n.s.

CO ₂	Colonització (%)	Colonització (%)
350	20,85	51,76 a
500	12,33	60,47 a
750	28,06	14,18 b

Hi va haver una clara progressió en la colonització de les plantes a CO₂ ambient i a 500 ppm en el mostreig d'abril en relació al primer mostreig, assolint valors al

voltant del 50%. L'increment en la concentració de CO₂ però, no va comportar augments significatius en la colonització. Al contrari, les plantes cultivades a 750 ppm de CO₂ van presentar, al final de l'assaig, percentatges de colonització significativament inferiors, comportament que també es va repetir segons el tractament hídric.

El percentatge de colonització de les arrels de les plantes de romaní exposades a ECO₂ no es va incrementar. No obstant, tant en el primer com en el segon mostreig, el pes sec de les arrels a 500 ppm de CO₂ va ser significativament major que a CO₂ ambient i, per tant, un percentatge de colonització igual implica increments en la massa total i en el nombre absolut de micorizes (Ceulemans *et al.*, 1999).

Els resultats de colonització a 500 ppm de CO₂, estan en consonància amb els obtinguts per diversos autors amb diferents espècies llenyoses o herbàcies inoculades amb endomicorizes, en que no hi ha resposta del percentatge de colonització de les arrels a ECO₂, com és el cas de *Pascopyrum smithii* micorizat amb diversos fongs VAM en estat natural (Monz *et al.*, 1994), *Trifolium repens* inoculat amb *Glomus mossae* (Jongen *et al.*, 1996), *Prunella vulgaris* inoculada amb diferents espècies de *Glomus* (Sanders *et al.*, 1998) o en 10 espècies herbàcies inoculades amb *Glomus mossae* (Staddon *et al.*, 1999 c). En tots aquests casos, la massa radical i/o la longitud de les arrels obtinguda com a conseqüència de l'exposició a ECO₂ era major, i es podia concloure una major colonització de les arrels en termes absoluts.

De tota manera, l'efecte de l'enriquiment atmosfèric amb CO₂ sobre el percentatge de colonització és molt variable, ja que freqüentment també s'ha observat un estímul en la colonització a ECO₂, com és el cas de *Plantago lanceolata* inoculat amb una població de fongs dominada per *Glomus fasciculatum* (Rouhier i Read, 1998). Aquesta variabilitat en els resultats de colonització a ECO₂, s'explica per les diferències interespecífiques en la resposta dels fongs VAM (Klironomos *et al.*, 1998), per l'espècie hoste estudiada, en particular pel seu grau de dependència de les micorizes, i per factors ambientals com la nutrició. Per exemple, la colonització radical de dues espècies de *Citrus* per *Glomus intraradices* en condicions d'alta nutrició en fòsfor, augmentava significativament a ECO₂ en *Citrus aurantium*, l'espècie més dependent de les micorizes VA, però no en *Citrus sinensis*, l'espècie menys VAM-dependent. En condicions de baixa nutrició en P no hi havia resposta a l'ECO₂ en cap de les dues espècies (Syvertsen i Graham, 1999).

Els valors de colonització observats en el mostreig d'abril a CO₂ ambient i a 500 ppm són elevats i similars als valors trobats en l'Experiment 5 a CO₂ ambient (resultats publicats per Estaún *et al.*, 1997) per a la mateixa espècie (romaní) inoculada amb el mateix fong (*Glomus intradices*), i a la bibliografia per altres espècies aromàtiques mediterrànies inoculades amb *Glomus mossae* (Camprubí *et al.*, 1992). La manca de resposta a ECO₂ pot ser deguda a una saturació de les arrels que no poden sostenir nivells colonització més elevats (Allen *et al.*, 1995). Staddon *et al.* (1999c), ha suggerit que l'hoste és capaç de regular la colonització interna de micorizes VA, impeding que el fong utilitzi tot el C soluble disponible a les arrels. Lewis *et al.* (1994), va arribar a conclusions similars amb ectomicorizes a ECO₂.

El percentatge de colonització de les arrels és el paràmetre més utilitzat per determinar l'activitat de les micorizes. Darrerament hi ha una tendència a complementar aquest paràmetre amb estudis més detallats que representen millor l'activitat de les micorizes. En aquest sentit, s'ha observat que a ECO₂ hi ha una major colonització extraradical, augmentant la longitud de les hifes externes de les micorizes VA (Sanders *et al.*, 1998; Klironomos, *et al.*, 1998), i un increment en la producció d'espores (Klironomos *et al.*, 1998). En la fase intraradical també s'ha observat un augment en la infecció arbuscular, mentre que la colonització vesicular no es veu alterada per la concentració de CO₂ atmosfèric (Klironomos *et al.*, 1998). Per tant, l'ECO₂ promou l'al·locació de la biomassa dels fongs cap a les hifes externes, augmentant el flux de C cap al sòl, i augmenta el nombre d'arbuscles, els principals òrgans d'intercanvi de C i nutrients entre els fongs VA i l'hoste.

4.4.4. Conclusions.

- 1) Hi va haver resposta productiva de les plantes de romaní joves a l'adobat carbònic. En el període inicial de l'exposició a ECO₂ (fins els 2,5 mesos) els millors resultats es van observar a la concentració de CO₂ més alta assajada (750 ppm). Al final de l'assaig (5 mesos) la millor concentració de CO₂ va ser la de 500 ppm.
- 2) Als 2,5 mesos es van observar diferències en la producció de romaní en resposta a l'ECO₂ i, en conseqüència un diferent repartiment de la biomassa en les tiges i arrels. D'acord amb l'anàlisi allomètric, les diferències en el patró d'al·locació de biomassa no van ser degudes a l'augment de la

concentració de CO₂ atmosfèric sinó a la diferent mida de les plantes comparades.

- 3) Amb l'enriquiment amb CO₂ no es va aconseguir endurir les fulles (mesurat com increment de pes específic), per tant, per a aquesta finalitat no es aplicable en aquesta espècie en les condicions assajades. En canvi, reduint la dosi d'aigua al 50% de la recomanable, sí que es va aconseguir plantes amb major pes específic foliar.
- 4) L'enriquiment en CO₂ i la micorizació van tenir efectes més que additius en la producció de romaní en el període final de l'assaig (febrer-abril). L'ECO₂ no va estimular el creixement de les plantes NM en aquesta fase del cultiu, mentre que la micorizació va estimular la fixació de carboni a les dues concentracions de CO₂ assajades.
- 5) A la dosi d'aigua més baixa assajada, que va resultar limitant per al creixement de les plantes, la micorizació va comportar un creixement més ràpid de les plantes en alçada.
- 6) Al final de l'assaig, l'adobat amb CO₂ no va afectar al percentatge de colonització de les arrels de romaní de les plantes conreades a 500 ppm, encara que es va observar un increment significatiu en la biomassa radical i, en conseqüència, una major colonització de les arrels en termes absoluts i un increment en la massa total de micorizes.
- 7) Al final de l'assaig, la colonització de les arrels de les plantes de romaní micoritzades exposades a 750 ppm de CO₂ va presentar valors significativament inferiors respecte les plantes M a 500 ppm i a CO₂ ambient.