

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE

ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE ORIHUELA

**Master Universitario Oficial en Técnicas Avanzadas para la
Investigación y la Producción en Fruticultura**



**EVALUACIÓN DE INDICADORES FISIOLÓGICOS DE
ESTRÉS HÍDRICO EN LIMONERO VERNA**

TRABAJO FIN DE MASTER

AUTOR:

ANA BELÉN MIRA GARCÍA

DIRECTOR/ES:

JUAN GABRIEL PÉREZ PÉREZ

FRANCISCO GARCÍA SÁNCHEZ

Septiembre 2016



UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE

Se autoriza a la alumna **Dña. Ana Belén Mira García** a realizar el Trabajo Fin de Master titulado: “Evaluación de indicadores fisiológicos de estrés hídrico en árboles de limonero ‘verna’” bajo la dirección de D. Francisco García Sánchez y D. Juan Gabriel Pérez Pérez, debiendo cumplir las directrices marcadas para la redacción del mismo, que están a su disposición en la Normativa para la realización de Trabajos Fin de Máster que se halla en la página Web.

Orihuela, a 28 de abril de 2016

El Director del Máster Oficial en Técnicas Avanzadas para la Investigación y la Producción en Fruticultura



Fdo.: Juan José Martínez Nicolás

TRIBUNAL	
FECHA:	
PRESIDENTE:	FIRMA:
SECRETARIO:	FIRMA:
VOCAL:	FIRMA:

MÁSTER OFICIAL EN TÉCNICAS AVANZADAS PARA LA INVESTIGACIÓN Y LA PRODUCCIÓN EN FRUTICULTURA

INFORME Y VISTO BUENO DEL TRABAJO FIN DE MÁSTER

CURSO 2015/2016

Director/es del trabajo	Área/s de Conocimiento
Juan Gabriel Pérez Pérez Francisco García Sánchez	Agronomía

Declara/n que el Trabajo Fin de Máster

Título del Trabajo
EVALUACIÓN DE INDICADORES FISIOLÓGICOS DE ESTRÉS HÍDRICO EN LIMONERO VERNA
Alumno/a
ANA BELÉN MIRA GARCÍA

cumple los requisitos necesarios para poder ser defendido ante el tribunal correspondiente y emite/n el siguiente:

Informe
<p>Ana Belen Mira para realizar el trabajo fin de Master se ha incorporado al grupo de investigación de la Unidad Asociada del CSIC de Fertirriego y Calidad Hortofrutícola (IMIDA-CEBAS). Ha realizado su trabajo evaluando diferentes indicadores fisiológicos de estrés hídricos para conocer cuál de ellos presentan una mayor sensibilidad y homogeneidad para detectar dicho estrés en árboles de limonero Verna. Para ello, ha colaborado con los investigadores de dicho grupo de investigación en un ensayo que se está realizando en la parcela experimental del IMIDA en Torrepackeco. Ana Belén ha estado trabajando desde el mes de Abril en dicha parcela recopilando datos, y en Junio se ha dedicado al análisis e interpretación de los mimos, por lo que la estudiante del Master ha obtenido una buena formación en aspectos tanto fisiológicos, agronómicos, como estadístico, adquiriendo un conocimiento científico que le será útil para actividades venideras. La estudiante ha adquirido de forma sobresaliente todos los conocimientos que se le han impartido, tiene una gran capacidad de trabajo, muestra un gran interés por el tema, y tiene iniciativa propia. Por lo que, los directores abajo firmantes dan el visto bueno para que defienda su trabajo fin de Master.</p>

FRANCISCO
GARCIA
SANCHEZ

Digitally signed by FRANCISCO GARCIA SANCHEZ
DN: cn=FRANCISCO GARCIA SANCHEZ, serialNumber=223882209, givenName=FRANCISCO, o=GARCIA SANCHEZ, ou=Universidad, ou=ACCV, c=ES
Date: 2016.07.26 14:15:16 +0200

FRANCISCO
O GARCIA
SANCHEZ

Digitally signed by FRANCISCO
SANCHEZ
DN: cn=FRANCISCO[GARCIA]
SANCHEZ,
serialNumber=2298259N,
givenName=FRANCISCO,
ou=GARCIA SANCHEZ,
ou=CiudadReal, o=ACCV, c=ES
#4200

Orihuela, a 27 de Julio de 2016.



Firma/s director/es trabajo

SR. D. JUAN JOSÉ MARTÍNEZ NICOLÁS, DIRECTOR DEL MÁSTER OFICIAL EN
TÉCNICAS AVANZADAS PARA LA INVESTIGACIÓN Y LA PRODUCCIÓN EN
FRUTICULTURA





MÁSTER OFICIAL EN TÉCNICAS AVANZADAS PARA LA INVESTIGACIÓN Y LA PRODUCCIÓN EN FRUTICULTURA

REFERENCIAS DEL TRABAJO FIN DE MASTER

Identificaciones:

Autor:

ANA BELÉN MIRA GARCÍA

Título:

EVALUACIÓN DE INDICADORES FISIOLÓGICOS DE ESTRÉS HÍDRICO EN LIMONERO VERNA

Title:

ASSESSMENT OF PHYSIOLOGICAL WATER STRESS INDICATORS IN VERNA LEMON TREE

Director/es del TFM:

JUAN GARBRIEL PÉREZ PÉREZ

FRANCISCO GARCÍA SÁNCHEZ

Año:

2016

Titulación:

MÁSTER OFICIAL EN TÉCNICAS AVANZADAS PARA LA INVESTIGACIÓN Y LA PRODUCCIÓN EN FRUTICULTURA

Tipo de Trabajo:

EXPERIMENTAL

Palabras claves:

INDICADOR FISIOLÓGICOS DE ESTRÉS HÍDRICO

NIVEL DE ESTRÉS HÍDRICO

LIMÓN

Keywords:

PHYSIOLOGICAL WATER STRESS INDICATOR

WATER STRESS LEVEL

LEMON

N° citas bibliográficas: 53

N° de tablas: 1

N° de figuras: 9

Resumen:

En este estudio, se evaluó la capacidad de detección del estrés hídrico de diferentes indicadores fisiológicos, como el potencial hídrico al alba (Ψ_{alba}), el potencial hídrico del tallo a mediodía (Ψ_{tallo}), la máxima contracción diaria del tronco (MCD) y la conductancia estomática (g_s), a diferentes niveles de estrés hídrico. El ensayo fue llevado a cabo entre los meses de Mayo y Julio en árboles adultos de limonero ‘Verna’ (*Citrus limon* (L.) Burm. fil.), injertados sobre naranjo amargo (*Citrus aurantium* L.). A lo largo del ensayo se aplicaron dos tratamientos de riego, control (100% evapotranspiración del cultivo - ETc) y sequía (0% ETc durante 49 días y 100% ETc en el periodo de recuperación). Durante el experimento, en condiciones de humedad del suelo no limitantes, el Ψ_{tallo} , y la MCD se vieron más influidos por las condiciones ambientales que el Ψ_{alba} . El Ψ_{alba} estuvo más correlacionado con la temperatura del aire (T) al alba ($r^2=0,64$), mientras que el Ψ_{tallo} y la MCD se correlacionaron mejor con la T al mediodía ($r^2= 0,59$ y $r^2 = 0,69$ respectivamente). Para evaluar la capacidad de detección de los diversos indicadores se calcularon, la intensidad de señal (IS), el coeficiente de variación (CV), así como la sensibilidad (S), para los diferentes niveles de estrés considerados; ligero (agua útil - AU 100%-25%), moderado (AU 25%-10%), severo (AU 10%-5%), y recuperación (AU 5%-100%). Los resultados obtenidos mostraron que la capacidad para detectar estrés hídrico de los indicadores estudiados varió en función de la severidad del estrés hídrico aplicado. En este sentido, la g_s fue el indicador que mayor IS mostró a lo largo del estudio. Sin embargo, su fiabilidad disminuyó partir de que el nivel de estrés hídrico fue moderado, resultado de la gran variabilidad que presentaron sus medidas ($CV\approx 29\%$). La MCD presentó una buena capacidad para detectar el estrés hídrico cuando el nivel de estrés fue ligero aunque, a medida que el estrés hídrico fue más severo, la IS disminuyó progresivamente hasta el final del ensayo, lo que indica una baja sensibilidad para detectar estrés hídrico cuando este fue moderado y/o severo. Respecto a los indicadores basados en el potencial hídrico, el Ψ_{alba} mostró buena capacidad para detectar el estrés hídrico, ya que la IS aumentó progresivamente hasta el final del periodo de sequía. Sin embargo, el

Ψ_{tallo} mostró una respuesta similar al Ψ_{alba} hasta que el nivel de estrés hídrico fue severo, momento en que la IS dejó de aumentar.

Abstract:

In this study, the capability of detection of water stress in different physiological water stress indicators, such as predawn leaf water potential (Ψ_{pd}), midday stem water potential (Ψ_{stem}), maximum daily trunk shrinkage (MDS) and stomatal conductance (g_s), was evaluated, at different levels of water stress. The experiment was performed between May and July on adult 'Verna' lemon trees (*Citrus limon* (L.) Burm. Fil.), grafted on sour orange (*C. aurantium* L.) rootstocks. Throughout the trial, two irrigation treatments were applied, control (100% crop evapotranspiration -ETc) and drought (0% ETc for 49 days and 100% ETc in the recovery period). During the experiment, in non-limiting soil water conditions, Ψ_{stem} , and MDS were more influenced by environmental conditions than Ψ_{pd} . The Ψ_{pd} was most correlated with the air temperature (T) at dawn ($r^2 = 0.64$), while the Ψ_{stem} and MDS were better correlated with T at midday ($r^2 = 0.59$ and $r^2 = 0.69$ respectively). To assess the ability of detection the water stress of indicators, the signal intensity (SI), the coefficient of variation (CV), as well as the sensitivity (S), for the different considered stress levels, were calculated; light (amount of available water - AWA 100% -25%), moderate (25% -10% AWA), severe (AWA 10% -5%) and recovery (AWA 5% -100%). The results showed that the ability to detect water stress of the studied indicators varied depending on the severity of the applied water stress. In this regard, the g_s was the indicator that showed a bigger SI throughout the study. However, its reliability decreased from a moderate stress level, as a result of the great variability that their measures presented ($CV \approx 29\%$). The MDS showed a good ability to detect water stress when the stress level was light although, as the stress was more severe, the SI decreased progressively until the end of the experiment, indicating a low sensitivity to detect water stress when this was moderate and / or severe. Regarding the indicators based on water potential, the Ψ_{pd} showed a good ability to detect water stress, as the SI progressively increased until the end of the experiment. However, Ψ_{stem} showed similar response to Ψ_{pd} until the water stress level was severe, when the SI stopped increasing.

AGRADECIMIENTOS

A mis directores D. Juan Gabriel Pérez Pérez y D. Francisco García Sánchez, por su ayuda, supervisión y dedicación.

A mis compañeros del IMIDA, y especialmente a Juan Miguel, Vicente y José Luis, por esas risas y experiencias compartidas.

A mis amigos, que tanto desde la distancia como desde la cercanía, me han brindado su apoyo moral.

A mi familia, a mis padres y a mi hermana, quiénes a lo largo de toda mi vida han apoyado y motivado mi formación académica, confiando en mis capacidades en todo momento.



INDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	10
1.1. IMPORTANCIA SOCIO-ECONÓMICA DEL CULTIVO DEL LIMÓN	11
1.2. EL AGUA COMO FACTOR LIMITANTE EN EL CULTIVO DE CÍTRICOS	12
1.3. IMPORTANCIA DEL USO DE INDICADORES DE ESTRÉS HÍDRICO EN LA PROGRAMACIÓN DEL RIEGO EN LIMONERO.....	13
1.3.1. MEDIDAS DEL CONTENIDO DE AGUA EN EL SUELO.....	14
1.3.1.1. Sonda de Neutrones.....	15
1.3.1.2. Sondas TDR y de Capacitancia	15
1.3.1.3. Resistencia Eléctrica.....	16
1.3.1.4. Tensiómetros.....	17
1.3.2. MEDIDAS DEL CONTENIDO DE AGUA EN LAS PLANTAS.....	17
1.3.2.1. Potencial Hídrico en las plantas.....	18
1.3.2.2. Conductancia Estomática	20
1.3.2.3. Fluctuación del diámetro del tronco.....	22
2. OBJETIVOS.....	24
3. MATERIALES Y MÉTODOS	26
3.1. CONDICIONES EXPERIMENTALES.....	27
3.2. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	27
3.3. MEDIDAS.....	28
3.3.1. CONTROL DEL ESTADO HÍDRICO DEL SUELO	28
3.3.1.1. Sonda de Capacitancia o Sonda FDR	28
3.3.2. CONTROL DEL ESTADO HÍDRICO DE LA PLANTA	29
3.3.2.1. Potencial Hídrico	29
3.3.2.2. Conductancia Estomática	30
3.3.2.3. Fluctuaciones del diámetro del tronco	31
3.3.2.4. Medida de los parámetros ambientales.....	32
3.3.3. MEDIDA DE LA SENSIBILIDAD Y VARIABILIDAD DE LOS INDICADORES DE ESTRÉS HÍDRICO	32
3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	33
4. RESULTADOS.....	34
5. DISCUSIÓN.....	45
6. CONCLUSIONES.....	51
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53



1. INTRODUCCIÓN

1.1. IMPORTANCIA SOCIO-ECONÓMICA DEL CULTIVO DEL LIMÓN

En la actualidad, la Región de Murcia es una de las principales regiones agrícolas a nivel nacional, prueba de ello es que el sector agrícola murciano genera el 5% del producto interior bruto (MAGRAMA 2014). En la región, este sector también es uno de los sectores económicos de mayor relevancia socio-económica, entre otros motivos por la gran cantidad de empleos que genera (14%) (CARM 2015), en comparación con otros sectores económicos. Dentro de este sector, los cítricos son uno de los cultivos que mayor valor social, económico y cultural tienen en la región, representando el 23% del producto final agrario.

En la Región de Murcia, la especie cítrica de mayor relevancia es el limón. Prueba de ello es que en Murcia, la producción de limón es significativamente superior (416.501 toneladas) a la de otras especies de cítricos, como pueden ser la naranja (136.206 toneladas), la mandarina (113.804 toneladas) y el pomelo (34.639 toneladas) (CARM 2015).

A nivel del país, Murcia es la principal región productora de limón, por encima de otras regiones como el sur de Alicante, Almería y Granada. En la campaña 2014, la Región de Murcia registró una producción de limón de 620.000 toneladas, suponiendo el 57% de la producción de limón a nivel nacional (MAGRAMA 2014). A nivel mundial, España y por extensión Murcia, es el segundo mayor productor de limón tras Argentina y por encima de otros países como Italia, Sudáfrica y Chile (CIRAD 2013).

En la Región de Murcia, el 55% del limón producido se destina a exportación, siendo el principal destino la Unión Europea (93% del limón exportado), y más concretamente Reino Unido, Francia y Alemania. A su vez la Región, también es uno de los principales exportadores de limón del mundo. Prueba de ello es que en la campaña 2014, la exportación de limón de la región supuso el 24,7% de las exportaciones de limón a nivel mundial (ESTACOM 2014).

En España, las principales variedades de limón cultivadas son ‘Fino’ y ‘Verna’, comprendiendo el 83% y el 16,6% respectivamente de la producción total (MAGRAMA 2014). A nivel de la Región de Murcia, la producción de limón tipo ‘Fino’, también es significativamente mayor (346.339 toneladas) en relación a la producción de limón tipo

‘Verna’ (70.162 toneladas) (CARM 2015). En la actualidad, también se cultivan otras variedades de limón como puede ser la variedad Eureka, Interdonato, etc., pero estas variedades suponen una minoría sobre la producción total de limón.

Los principales portainjertos utilizados en limonero han sido naranjo amargo (*Citrus aurantium* L.) y *Citrus Macrophylla*. Antes de la aparición del virus de la tristeza (1957), naranjo amargo era el portainjerto por excelencia limón, de hecho en el año 1957 el 95% de limoneros de la cuenca mediterránea estaban injertados sobre este patrón. Pero tras la aparición del virus de la tristeza, el uso de *Citrus Macrophylla* en limonero comenzó a extenderse ampliamente por la geografía española, consecuencia de su tolerancia a esta enfermedad así como de su rápida entrada en producción. En la actualidad, el portainjerto más comúnmente utilizado es *Citrus macrophylla* (87%), seguido a bastante distancia por naranjo amargo (12,5%).

1.2. EL AGUA COMO FACTOR LIMITANTE EN EL CULTIVO DE CÍTRICOS

El agua es un bien escaso en la Región de Murcia, suponiendo el principal factor limitante en el desarrollo agrario de la región. La insuficiencia e irregularidad de las precipitaciones (estaciones muy lluviosas o estaciones muy secas) es la principal causa de la falta de agua que sufre la comunidad. Las precipitaciones además de ser escasas (precipitación media anual 290 mm/año (SIAM 2015)) e irregulares también presentan una escasa efectividad. La escasa efectividad de las mismas hace que, apenas un 15% de la precipitación total sea de posible uso para las plantas, mientras que el 85% restante se pierde por escorrentía. Por lo que, además de que llueve poco y de forma irregular, su efectividad es escasa, de tal manera que sólo una reducida parte del total del agua de lluvia queda a disposición de las plantas. Además por si fuera poco, a lo largo de estos últimos años, tanto las precipitaciones como la efectividad de las mismas se ha visto reducida. La escasez de precipitaciones en la región, ha provocado que los recursos hídricos propios de la cuenca hidrológica del Segura (1.362 hm³/año) sean considerablemente inferiores a la demanda hídrica total de la misma (1.779 hm³/año) (Plan Hidrológico de la Demarcación del Segura 2015-2021), desencadenando pues períodos de sequía. En la actualidad estos períodos de sequía, están siendo cada vez más frecuentes y persistentes,

no sólo debido a la escasez de precipitaciones, sino también debido al aumento de temperaturas como consecuencia del calentamiento global.

A nivel de la Región de Murcia, la sequía afecta principalmente a la agricultura, ya que principalmente la demanda hídrica en la región es de origen agrario (86%) (CARM 2015). A su vez, dentro del sector agrario los cítricos son uno de los cultivos más afectados por el déficit hídrico, en primer lugar debido a que los cítricos se cultivan en su totalidad en regadío, y en segundo lugar, debido a que la demanda hídrica (6.000 – 6.500 m³/ha) de este cultivo es significativamente superior a su dotación hídrica (4.000 m³/ha) (Plan Hidrológico de la Demarcación del Segura 2015-2021). En el caso de este cultivo, esta falta de agua no se puede suplir mediante el agua de lluvia, debido a que aún teniendo en cuenta la aportación de agua de lluvia que podría ascender a 1.000 m³/ha, las necesidades (6000-6500 m³/ha) del cultivo continuaría siendo mayores a las aportaciones hídricas (5.000 m³/ha). Además también hay que tener en cuenta que no se puede controlar cuando ni cuanto llueve, por lo no se puede garantizar una aportación continua de agua en base a la pluviometría de la región.

Ante este panorama de déficit hídrico, los agricultores de la Región de Murcia tienen dos alternativas, suplir esta falta de agua con la aplicación de aguas generalmente de baja calidad (salinas o procedentes de depuradoras), o aplicar estrategias de riego deficitario a fin de aumentar la eficiencia del uso del agua.

1.3. IMPORTANCIA DEL USO DE INDICADORES DE ESTRÉS HÍDRICO EN LA PROGRAMACIÓN DEL RIEGO EN LIMONERO

Como hemos dicho anteriormente, el principal problema que tiene la agricultura en la Región de Murcia es la escasez de agua. Por lo que, realizar la programación del riego y/o la aplicación de estrategias de riego deficitario controlado (RDC) en base a indicadores de estrés hídrico podría ser de sumo interés en el cultivo del limón ya que, con el uso adecuado de estos indicadores, se podría ahorrar agua regando solamente cuando el cultivo lo necesita, sin necesidad de que el cultivo sufra situaciones indeseables de estrés hídrico. Para lograr un incremento del uso eficaz del agua se tienen que aplicar estrategias agronómicas (como el RDC) que permitan incrementar la relación entre la

producción y la cantidad de agua aplicada, siendo lo más satisfactorio que ni la producción ni la calidad de la fruta se vean perjudicadas. Por eso, empleando este tipo de indicadores se podría detectar rápidamente el nivel de estrés hídrico aplicado en los árboles, lo que permitiría controlar el grado de estrés aplicado, evitando así daños en la producción.

El seguimiento del estado hídrico en los sistemas agrícolas se puede realizar midiendo el contenido de agua tanto en suelo como en planta, e incluye medidas directas del contenido de agua en el suelo, medidas indirectas en la plantas, así como estimaciones basadas en predecir la cantidad de agua pérdida en el sistema suelo-planta durante un período de tiempo a partir de las variables meteorológicas (González-Dugo et al., 2006). En el trabajo objeto de este estudio, se contempla evaluar el uso de indicadores de estrés hídrico en suelo y en planta, para conocer la sensibilidad y variabilidad de los mismos, con el objetivo de que en un futuro se puedan utilizar en la programación del riego y en el diseño de estrategias de riego deficitario controlado en árboles de limonero. Esto permitirá incrementar el uso eficaz del agua, al disminuir la cantidad de agua aplicada al cultivo. A continuación, se detallan las principales características de cada uno de estos indicadores de estrés hídrico.

1.3.1. MEDIDAS DEL CONTENIDO DE AGUA EN EL SUELO

La necesidad de conocer el contenido de agua del suelo a escalas espaciales y temporales para distintas aplicaciones (hidrológicas, climáticas, agrícolas y domésticas), ha conducido al desarrollo de numerosos métodos de medida (Minet et al., 2012). Estos métodos se pueden clasificar en directos e indirectos (Dobriyal et al., 2012). El método directo por excelencia es el método gravimétrico, que en general es el más usado, por ser uno de los más exactos (Gardner, 1986); sin embargo, es destructivo, laborioso, y no permite registrar datos en tiempo real. En los últimos años, el uso de sensores electromagnéticos (TDR; FDR, sondas-C), de resistencia eléctrica (Watermark®), sondas de neutrones, o tensiómetros (Choi et al., 2015), han aumentado considerablemente tanto en la comunidad científica como en el sector agrícola. Estos sensores presentan enormes ventajas con respecto al método gravimétrico tradicional, como por ejemplo que muchos de ellos permiten manejar el riego de manera automática; ya que se pueden conectar a un PC, desde el cual, con el software correspondiente, se visualiza y analiza

fácilmente la tendencia del contenido de agua del suelo, y se registran datos en tiempo real que ayudan a decidir cuándo y cuánto regar (Bonet, Ferrer, Castel, y Intrigliolo, 2010). A la hora de elegir cualquiera de estos métodos se debe tener en cuenta la textura, estructura y contenido de materia orgánica del suelo, distribución y densidad relativa de las raíces en el perfil del suelo, tipo de cultivo, y método de riego, entre otros factores (Ortuño et al., 2010). A continuación comentamos brevemente las características de cada uno de estos sensores.

1.3.1.1. SONDA DE NEUTRONES

La sonda de neutrones se ha utilizado extensamente en trabajos de investigación y aplicaciones prácticas para determinar la humedad del suelo. Una sonda de neutrones contiene una fuente radioactiva que envía una cierta cantidad de neutrones rápidos. Estos neutrones rápidos son aproximadamente del tamaño de un átomo de hidrógeno, un componente esencial del agua. Cuando los neutrones rápidos chocan contra los átomos de hidrógeno, se vuelven más lentos. Un detector dentro de la sonda mide la proporción de los neutrones rápidos que salen y de neutrones lentos que regresan. Esta relación se usa entonces para estimar el contenido de la humedad en el suelo. Sin embargo, debido a que cada suelo tiene unas fuentes de hidrógeno diferentes, es importante calibrar la sonda para cada suelo. Para medir la humedad del suelo con una sonda de neutrones, se instala un tubo de acceso en el suelo. Entonces, la sonda (la cual contiene la fuente radioactiva y el detector) se baja hasta la profundidad deseada. Estas sondas son bastante caras y, debido a que contienen material radioactivo, se necesita una licencia para operarlas.

1.3.1.2. SONDAS TDR Y DE CAPACITANCIA

Estas técnicas son recientemente nuevas y están basadas en utilizar instrumentos de medición de reflectancia en el dominio del tiempo (sondas TDR) y de capacitancia eléctrica (Sondas-C y reflectómetros que funcionan en el dominio de frecuencia, FDR, por sus siglas en inglés). Los instrumentos TDR funcionan bajo el principio de que, la presencia de agua en el suelo, afecta la velocidad de propagación de una onda electromagnética (la hace más lenta). El TDR envía una onda electromagnética a través de una guía (generalmente un par de puntas paralelas de metal) colocada en el suelo a la profundidad deseada. El TDR entonces mide el tiempo que le toma a la onda viajar por

la guía hacia el suelo y regresar. Este aparato registra el tiempo y lo convierte a una lectura de la humedad del suelo. Cuanto más mojado esté el suelo, más tiempo le toma a la onda magnética viajar por el suelo y regresar por la guía. Las sondas C y los instrumentos FDR utilizan un oscilador de corriente alterna para formar un circuito eléctrico en conjunto con el suelo. Después de insertar las sondas, que pueden ser puntas paralelas o anillos de metal en el suelo, el oscilador produce valores de frecuencia de acuerdo al contenido de humedad del suelo. La mayoría de los modelos utilizan un tubo de acceso instalado en el suelo (similar a la sonda de neutrones). Todos los dispositivos TDR, FDR y las Sondas-C han funcionado bien, pero tienen sus limitaciones: sus lecturas registran y abarcan solo un pequeño volumen de suelo, el que rodea a las guías o sondas (Gasque et al., 2016). Tanto los reflectómetros FDR como las sondas-C son sensibles a las burbujas de aire que se forman entre los tubos de acceso y el suelo. Muchos de estos instrumentos necesitan instalación profesional para operar apropiadamente.

1.3.1.3. RESISTENCIA ELÉCTRICA

Otro método que se utiliza desde hace ya algún tiempo es la medición de la resistencia eléctrica. Algunos dispositivos tales como los sensores Watermark® utilizan este sistema. El principio físico de estos dispositivos, es que el contenido de humedad se puede determinar por la resistencia al paso de corriente eléctrica entre dos electrodos en contacto con el suelo. Cuanta más agua haya en la tierra, más baja es la resistencia. La conductividad dieléctrica del agua ($\epsilon_r \sim 80$) es alta en comparación a la de la matriz del suelo ($\epsilon_r < 10$) y del aire ($\epsilon_r \approx 1$) siendo entonces dominante en la mezcla aire-agua-suelo (Fares et al., 2009). De donde se puede deducir que a partir de la conductividad dieléctrica del suelo, se puede inferir el contenido de agua presente en el mismo. Pero hay que tener en cuenta que la constante dieléctrica no es igual para todos los tipos de suelos, puede variar en función de si tienen un área superficial baja (ej. suelos arenosos) o alta (ej. suelos arcillosos). Por lo que es necesario hacer una calibración previa a la medida para cada tipo de suelo. En general, la calibración se realiza por medio de lecturas de frecuencia específica en agua y en aire seco. Para cada tipo de suelo se desarrolla una ecuación de calibrado que se utiliza para determinar el contenido de agua en el suelo basado en la respuesta de los sensores a la constante dieléctrica de la mezcla de aire-agua-suelo (Fares

et al., 2009). Para el correcto uso de este equipo en el cálculo de balances hídricos, se hace necesario estimar el error de medida en función del tipo de suelo.

Para medir la humedad del suelo, los sensores se entierran a una profundidad deseada, con las terminales eléctricas extendidas hasta la superficie del suelo. Cuando los sensores están en equilibrio con el suelo, estas terminales se conectan a un medidor y se toma la lectura. Su uso práctico es limitado puesto que operan muy bien en la parte alta del rango de humedad disponible en el suelo, pero su precisión disminuye en la parte baja de este rango.

1.3.1.4. TENSÍOMETROS

A medida que el suelo se seca las partículas del suelo retienen el agua con mayor fuerza. Los tensiómetros miden la intensidad de la fuerza con la que el suelo retiene el agua. La mayoría de los tensiómetros tienen una punta de cerámica conectada a una columna de agua. Los tensiómetros son instalados a la profundidad deseada. A medida que el suelo se seca, comienza a succionar agua a través del bulbo de cerámica, provocando de esta manera una succión en la columna de agua. Esta fuerza se mide entonces con un indicador de succión. Algunos modelos más nuevos han reemplazado el indicador de succión por un sensor electrónico. Estos dispositivos electrónicos usualmente son más sensibles que los indicadores de manómetros. Los tensiómetros funcionan bien en los suelos con alto contenido de agua, pero tienden a perder buen contacto con el suelo cuando la tierra se pone muy seca.

1.3.2. MEDIDAS DEL CONTENIDO DE AGUA EN LAS PLANTAS

En las plantas también se pueden medir parámetros que nos informan de forma objetiva sobre su contenido de agua. Estos parámetros se clasifican en continuos, si se registran datos en un datalogger cada cierto tiempo, y discontinuos, si las medidas se hacen de forma puntual. En cítricos, se han usado como indicadores de estrés hídrico los parámetros fisiológicos del potencial hídrico de tallo a mediodía (Pérez-Pérez et al., 2014), la conductancia estomática (García-Tejero et al., 2010), flujo de savia (Ortuño et al., 2005), o las fluctuaciones del diámetro del tronco y sus índices (máxima contracción diaria del tronco, MCD; la tasa de crecimiento del tronco, TCT) (Fernández y Cuevas,

2010). Hay que tener en cuenta, que el estado hídrico de los cultivos no depende exclusivamente del contenido de agua en el suelo, sino también depende de las condiciones ambientales, y del estado fenológico del cultivo (de la Rosa et al., 2014), entre otros factores. Por lo tanto, este tipo de indicadores completarían la información aportada por los métodos que nos dan información acerca del contenido de agua del suelo, siendo positiva la integración de ambos tipos de indicadores a la hora de optimizar el riego y/o a diseñar estrategias de RDC más eficientes en el cultivo de los cítricos.

1.3.2.1. POTENCIAL HÍDRICO EN LAS PLANTAS

El potencial hídrico (Ψ) es una medida de la energía libre del agua por unidad de volumen (J m^{-3}). Los principales factores que influyen en el potencial hídrico (Ψ) de las plantas son:

$$\Psi = \Psi_s + \Psi_p + \Psi_m \text{ [Ec. 1]}$$

Siendo Ψ_s , Ψ_p y Ψ_m los potenciales de solutos, presión y matricial, respectivamente (Taiz y Zeiger, 2006). El componente matricial (Ψ_m) es generalmente omitido por lo que el transporte de agua a nivel celular es consecuencia de las diferencias de los solutos disueltos así como del efecto de la presión hidrostática de la energía libre del agua, por lo que la [Ec. 1] puede ser simplificada como:

$$\Psi = \Psi_s + \Psi_p \text{ [Ec. 2]}$$

Actualmente la cámara de presión es el método más usado para medir el potencial hídrico en la hoja, siendo ampliamente utilizado en estudios ecológicos, fisiológicos y agronómicos (Escalona et al., 2013). Con este método se mide la presión hidrostática negativa que ocurre en el xilema de la planta, que es el resultado del balance entre la evapotranspiración de la planta y la resistencia al movimiento del agua, desde el suelo a los tejidos de la misma. A la hora de medir el potencial hídrico se han propuesto varias alternativas: potencial hídrico de la hoja al amanecer (Ψ_{alba}), potencial hídrico de la hoja a mediodía (Ψ_{hoja}), y potencial hídrico del tallo a mediodía (Ψ_{tallo}).

El potencial hídrico de la hoja al amanecer (Ψ_{alba}) es generalmente considerado un buen indicador del potencial hídrico del suelo o de la raíz, ya que este indicador mide el estado hídrico de la hoja cuando el potencial hídrico de la canopia y el de la raíz se

encuentran en equilibrio con el del suelo (Jones, 2007). Este indicador de estrés hídrico puede ser poco fiable en suelos que presentan una gran heterogeneidad en la distribución de agua, ya que proporciona información acerca del potencial hídrico del suelo en la zona de la raíz (Dzikiti et al., 2010), sin tener en cuenta cual puede ser la distribución de la misma en el resto del suelo. La medida del Ψ_{alba} no es útil desde un punto de vista práctico en el control rutinario del riego, debido a la hora (antes de la salida del sol), en la que debe realizarse la medición en el campo.

El potencial hídrico foliar al mediodía (Ψ_{hoja}), proporciona información sobre el potencial foliar que tiene la planta a la luz del día (12:00 pm) y bajo condiciones de transpiración máximas (van Leeuwen et al., 2009), es decir en las condiciones más desfavorables. Depende tanto de la humedad del suelo como de los factores medioambientales.

El potencial hídrico del tallo o del xilema del tallo (Ψ_{tallo}) integra globalmente el estado hídrico de todo el árbol, y es menos sensible a las fluctuaciones ambientales que afectan de manera individual a cada una de las hojas (Jones, 2007), ya que éstas son tapadas durante un tiempo antes de su medida. Se puede considerar que nos da información acerca del estado hídrico del tallo, ya que se mide en condiciones de transpiración nula (Dzikiti et al., 2010). Para ello, las hojas son introducidas en bolsas de plásticos herméticas y opacas antes de la medida de las mismas. No existe un criterio de uniformidad en cuanto al tiempo que deben permanecer embolsadas las hojas, aunque diversos estudios (Chone et al., 2001), han establecido que el tiempo necesario para alcanzar el verdadero potencial hídrico del tallo, oscila entre 45 y 120 minutos o más de 24 horas dependiendo de la especie.

En relación a la sensibilidad del potencial hídrico foliar al mediodía (Ψ_{hoja}) y del xilema del tallo (Ψ_{tallo}), varios estudios indican que el potencial hídrico del tallo es mejor indicador del estrés hídrico que el potencial hídrico foliar al mediodía, siendo este primero más adecuado en la programación de riego en cultivos leñosos (Abdelfatah, Aranda, Savé, de Herraldey Biel, 2013). Principalmente esto es debido a que es más exacto, presenta menos variabilidad, y tiene una buena predicción de la respuesta de la producción de los cultivos ante el estrés hídrico en comparación al potencial hídrico foliar. Parte de la gran variabilidad que presenta el potencial hídrico foliar al mediodía, en relación al potencial

hídrico del tallo puede ser debida a su gran dependencia de las condiciones ambientales. Estudios relacionados (Sdoodee y Somjun, 2008) con ese tema, sugieren que el potencial hídrico foliar al mediodía es el resultado de la combinación de muchos factores: déficit de presión de vapor (DPV), conductividad hidráulica, regulación estomática, mientras que el potencial hídrico del xilema del tallo, depende de factores relacionados con la conductividad hidráulica de la planta, lo que explica su menor variabilidad.

Estudios realizados recientemente en limonero (García-Orellana et al., 2013) sugieren que el potencial hídrico del tallo es más sensible al estrés hídrico que el potencial hídrico foliar, apuntando a la gran dependencia existente entre potencial hídrico foliar al mediodía y las condiciones atmosféricas. Resultados similares fueron observados por (Ortuño et al., 2005) y por (Sdoodee y Somjun, 2008) en naranjos. Además, los datos obtenidos en estos estudios sugieren, que el potencial hídrico del tallo presenta una gran amplitud en relación al potencial hídrico foliar, siendo un indicador más sensible para discriminar entre déficit hídricos moderados y severos.

1.3.2.2. CONDUCTANCIA ESTOMÁTICA

El déficit hídrico en el suelo induce un gran número de respuestas en las plantas que dependen de la especie, intensidad y la duración del período de sequía, etc. Varios estudios realizados sobre cítricos (Pérez-Pérez et al. 2009) han observado una reducción en la tasa neta de fotosíntesis y en la conductancia estomática (g_s) en respuesta a condiciones de sequía. Por eso, este parámetro se debe tener muy en cuenta como posible indicador del estrés hídrico en este cultivo.

La regulación estomática no es igual en todas las especies, ni entre individuos de una misma especie. Las especies se pueden clasificar en isohídricas y anisohídricas, en función del comportamiento estomático que presenten ante condiciones de déficit hídrico. Las especies isohídricas, se caracterizan por un cierre rápido de los estomas ante condiciones de estrés hídrico leves, lo que les permite mantener constante el potencial hídrico (Ψ), evitando de esta manera la cavitación del xilema (Choat et al. 2012). Por el contrario, las especies anisohídricas presentan un potencial hídrico muy variable ya que mantienen los estomas abiertos por más tiempo, evitando así reducciones en tasa de fotosíntesis (Lovisoló et al., 2010), pero sufriendo periodos de deshidratación. Estas

plantas tienen más posibilidad de sufrir daños por cavitación del xilema en condiciones de estrés hídrico, como resultado de la entrada de aire por la ausencia de agua.

Los cítricos se consideran especies isohídricas, ya que presentan una gran sensibilidad estomática ante condiciones de estrés hídrico, presentando un cierre estomático temprano ante niveles de estrés hídricos leves. Estas especies durante los períodos de sequía se caracterizan por reducir considerablemente la biomasa tanto foliar como de frutos, debido a que la maquinaria fotosintética es muy sensible al cierre estomático. Aunque hay que tener en cuenta que ante condiciones de estrés hídrico prolongadas, a consecuencia de que son especies isohídricas presentan una mayor tasa de supervivencia que otros frutales.

La conductancia estomática (g_s) no depende únicamente del contenido de agua en el suelo sino que depende a su vez de tanto de condiciones ambientales (temperatura, intensidad luminosa, déficit de presión de vapor etc.), como por factores intrínsecos en las plantas, como por modificaciones en la concentración de ácido abscísico (Wilkinson y Davies, 2002), cambios en el pH simplástico, transporte de agua y nutrientes en el xilema y floema (Nikinmaa et al., 2013), etc. Como en cítricos este parámetro responde rápidamente a las condiciones de humedad del suelo, este parámetro podría ser un candidato potencial para ser utilizado como indicador de estrés en los programas de riego de este cultivo. Pero como depende de una multitud de factores es necesario estudiar cómo sería la mejor manera de utilizarlo.

Para determinar la conductancia estomática se utiliza el porómetro, aunque también se puede medir haciendo uso de un sistema de fotosíntesis portátil (Robles et al., 2016). Cada uno de estos métodos usa un principio físico diferente, pero hay que destacar que las medidas con el porómetro son más rápidas que los sistemas portátiles de fotosíntesis. Además hay que tener en cuenta que la conductancia estomática no permanece constante a lo largo del día. En estudios recientes (García-Orellana et al., 2013) se ha observado que en términos generales la dinámica diaria apunta a una máxima apertura estomática a primera hora de la mañana seguida por una disminución de la misma de manera gradual desde el mediodía hasta la puesta de sol coincidiendo con un aumento de la radiación solar. Por lo que es necesario conocer a qué hora del día se tiene que medir este parámetro, para que nos valga de forma útil como un indicador de estrés hídrico.

1.3.2.3. FLUCTUACIÓN DEL DIÁMETRO DEL TRONCO

Los tallos y los troncos de los árboles frutales presentan ciclos de contracción y dilatación diarios, esto se conoce con el nombre de fluctuaciones del diámetro del tronco (Kozlowski 1997). A lo largo del día se registran fluctuaciones en el diámetro del tronco como consecuencia de cambios en el contenido hídrico del suelo. Cuando amanece la planta comienza a transpirar, pero generalmente esta transpiración produce un mayor consumo de agua que la que el tronco es capaz de absorber, provocando una disminución de su diámetro (Contracción). Al final del día, sin embargo, la transpiración desciende, y la rehidratación de estos tejidos tiene lugar, lo que se traduce en un aumento del diámetro del tronco (Dilatación). Estos cambios en el contenido de agua de los tejidos del tronco son reversibles, causando fluctuaciones diurnas del diámetro del tronco (Fernández y Cuevas, 2010).

Los dendrómetros son sensores que registran de manera automática las microvariaciones del diámetro del tronco. Los sensores LVDT (linear variable differential transducer) o sensores de desplazamiento lineal, miden el movimiento de un cuerpo a lo largo de una trayectoria rectilínea en relación a un punto de referencia. En general los sensores LVDT son sensores robustos y de gran precisión (cercana a $\pm 1 \mu\text{m}$; Fernández y Cuevas, 2010), aunque en algunos casos no se pueden esperar resoluciones mayores de 10 mm aproximadamente, debido a errores asociados a la calibración, el voltaje, y cambios en la temperatura, etc. Dependiendo del modelo del dendrómetro y del propósito de la medida, sus tornillos pueden ser introducidos en el tronco del árbol (a modo de sujeción) o simplemente servir como punto de referencia de medida (Fernández y Cuevas, 2010). En ocasiones los dendrómetros se sujetan al tronco del árbol con la ayuda de una cinta elástica a fin de evitar interferir en las variaciones del diámetro del mismo.

A partir de las medidas de las fluctuaciones del diámetro del tronco se pueden calcular diversos índices útiles para conocer el estado hídrico de las plantas. Goldhamer y Fereres (2001) definieron la máxima contracción diaria del diámetro de tronco (MCD) como la diferencia entre el máximo (MXTD, primeras horas del día) y el mínimo valor (MNTD, a mediodía) alcanzado por el tronco durante el día; y la tasa de crecimiento diario del tronco (TCD), como la diferencia entre dos valores consecutivos del diámetro máximo diario del tronco. La máxima contracción diaria del tronco (MCD) es el indicador más

comunmente usado para determinar de forma indirecta el estado hídrico de los árboles. En árboles jóvenes la disminución en el crecimiento del tronco es una de las primeras respuestas de la planta frente al estrés hídrico, por lo que se ha propuesto la Tasa de Crecimiento del Tronco (TCT) como indicador más apropiado de estrés (Nortes 2005).

En estudios recientes (Ortuño et al., 2010) la máxima contracción del tronco (MCD) ha sido propuesto como el indicador de estrés más fiable en cultivos leñosos, demostrando su sensibilidad a cambios en el abastecimiento hídrico en diferentes especies de cítricos como naranja (García-Tejero et al., 2012), mandarina (Vélez et al., 2007) y limón (Ortuño et al., 2009). A pesar de la gran fiabilidad que presenta este indicador, también presenta una gran variabilidad. Las condiciones ambientales, la edad y el tamaño del árbol (Intrigliolo y Castel 2006), el estado fenológico (Pagán et al. 2012), la carga de fruta del cultivo (Conejero et al. 2010) pueden interferir en la sensibilidad de este indicador.

Para resolver la alta variabilidad que presentan la MCD y la TCT se ha introducido el concepto de intensidad de la señal (IS), que permite normalizar los valores absolutos del indicador en relación a los valores en condiciones no limitantes de agua en el suelo (Ortuño et al., 2005). Valores de intensidad de señal por encima de la unidad indican déficit hídrico; mientras que valores próximos a la unidad indican ausencia de estrés hídrico (Goldhamer y Fereres, 2004). El uso de la IS_{MCD} en la programación del riego puede presentar serios problemas de fiabilidad, ya que el tronco puede dilatarse como consecuencia de una precipitación o como consecuencia de la pérdida de la elasticidad de los tejidos al final de la etapa de crecimiento. Por esta razón, algunos autores (de La Rosa et al. 2015), recomiendan el uso conjunto del potencial hídrico del tallo (Ψ_{tallo}) y de la intensidad de señal de la máxima contracción diaria del tronco (IS_{MCD}), a fin de evitar niveles excesivos de estrés hídrico.



2. OBJETIVOS

El objetivo principal de este estudio fue evaluar la capacidad para detectar cambios en el estado hídrico en planta de diversos indicadores de estrés (potencial hídrico al alba - Ψ_{alba} , potencial hídrico de tallo - Ψ_{tallo} , máxima contracción diaria del tronco - MCD y conductancia estomática - g_s), a diferentes niveles de sequedad del suelo; ligero (agua útil - AU \approx 100-25 %), moderado (AU \approx 25-10 %), severo (AU \approx 10-5 %) y recuperación (AU \approx 100%). También se estudiará la influencia de factores ambientales como la temperatura (T), el déficit de presión de vapor (DPV) y la evapotranspiración de referencia (ET_0) en los valores de los indicadores evaluados en condiciones de humedad del suelo no limitantes.





3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. CONDICIONES EXPERIMENTALES

El experimento fue llevado a cabo entre los meses de Mayo y Julio de 2016 en una finca experimental del IMIDA (Consejería de Agua, Agricultura y Medioambiente, Región de Murcia). Esta finca está situada en Torre Pacheco, Murcia (37° 45' 8'') y tiene una superficie total de 2 hectáreas. El ensayo se realizó sobre árboles adultos de limonero 'Verna 51' (*Citrus limon* (L.) Burm. fil.) injertados sobre naranjo amargo (*Citrus aurantium* L.) de 16 años de edad. En la finca los árboles están distribuidos siguiendo un marco de plantación de 5m × 4m y el sistema de riego consiste en una única línea portagoteros, que cuenta con un total de 4 goteros autocompensantes de 4 L/h por árbol.

El suelo de la finca, según la clasificación Soil Survey Staff Division U.S.D.A., se puede clasificarse como un Aridisol. Su textura es franco-arcillo-arenosa, su capacidad de cambio catiónico baja (C.C.C.; 86 mmol/kg) y presenta un pH ligeramente alcalino. Este suelo, tiene un nivel de materia orgánica (0,53%), de sulfato (2,32 mmol/kg) y de fósforo asimilable (0,39 mmol/kg) bajo, sin embargo tiene un nivel medio de potasio asimilable (8,2 mmol/kg). El contenido en cloruros (3,5 mmol/kg) es bajo.

El agua utilizada en el riego de la finca procede del trasvase Tajo-Segura. Este agua está caracterizado por tener una baja conductividad eléctrica ($CE \approx 1$ dS/m) y un bajo contenido en carbonato sódico residual, lo que la hace apta para el riego de cítricos. Su poder alcalinizante es escaso ($RAS = 1.6$ y su $RAS_{ajdo} = 3.36$).

La climatología, de acuerdo con la estación meteorológica situada en la misma finca (estación TP91, SIAM), fue típicamente mediterránea, con una temperatura media anual de 18 °C, una evapotranspiración de referencia de 1.200 mm y una precipitación media anual de 260 mm.

3.2. DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño del experimento se ajusta a un modelo unifactorial, en el que se estudia la respuesta de un sólo factor (tratamiento de riego: Control y Sequía), en relación a la de una variable respuesta (diversos indicadores de estrés hídrico). En el experimento los diferentes tratamientos de riego estaban distribuidos de manera aleatoria en dos bloques. Cada uno de los bloques contaba con un total de cinco árboles por tratamiento, aunque

las medidas experimentales únicamente se realizaron en tres de los cinco árboles, el resto fueron considerados árboles borde.

A lo largo del ensayo, dos tratamientos de riego fueron aplicados, Control y Sequía entre los días 138-187 del año. El número total de árboles fue de 20, de los que 10 árboles fueron regados al 100% ETc mientras que los otros 10 fueron sometidos a supresión del riego 0% ETc durante 49 días y regados al 100% ETc durante el periodo de recuperación. La cantidad de agua a aplicar en los árboles control se calculó en base a la evapotranspiración del cultivo (ETc) semana a semana. A partir de la siguiente ecuación:

$$ET_c = ET_0 \times k_c \times k_r \quad [Ec. 3]$$

Los datos de la evapotranspiración inicial (ET₀) fueron obtenidos de la estación climática TP91 localizada en la misma finca. El coeficiente de cultivo (K_c) utilizado en el cálculo de la programación de riego fue obtenido, del “Servicio de Información Agraria de Murcia (SIAM-IMIDA)” para limoneros ‘Verna’ injertados sobre naranjo amargo. El factor de corrección (K_r) utilizado en los cálculos fue función del porcentaje de suelo sombreado por el cultivo. La dosis de riego aplicada fue corregida en base a los valores del potencial hídrico del tallo (Ψ_{tallo}) para mantenerlo por encima de -1,3 MPa (Robles et al., 2016).

3.3. MEDIDAS

3.3.1. CONTROL DEL ESTADO HÍDRICO DEL SUELO

3.3.1.1. SONDA DE CAPACITANCIA O SONDA FDR

Para el control del estado hídrico del suelo se utilizó una sonda de capacitancia (mod. Diviner 2000, Sentek Sensor Technologies, Stepney, Australia). Para ello se instaló a 10 cm del gotero un tubo de acceso de PVC, en cada uno de los árboles controlados en el ensayo. La medida del contenido de humedad del suelo se realizó periódicamente al mediodía (13:30-14:00 h). Para la toma de la medida de la humedad del suelo se hizo descender la sonda a lo largo del tubo de acceso hasta la profundidad máxima del mismo. La toma de las lecturas se realizó de manera automática cada 10 cm de profundidad, hasta la profundidad máxima de 50 cm. A partir de las medidas tomadas y teniendo en cuenta

la recta de calibrado proporcionada por el fabricante, para un suelo con la misma textura que el de la parcela experimental, se calculó el contenido volumétrico de agua en el suelo (θ_v).



Figura 1. Sonda de Capacitancia o FDR (Diviner 2000, Sentek Sensor Technologies, Stepney, Australia).



Figura 2. Tubo de acceso de PVC.

Los valores del contenido volumétrico de agua en el suelo (θ_v) se utilizaron para calcular el porcentaje de agua útil AU (%), teniendo en cuenta el contenido volumétrico de agua en el suelo en el punto de marchitez θ_v^{PM} y el contenido volumétrico de agua en el suelo en capacidad de campo θ_v^{CC} .

$$AU(\%) = \frac{\theta_v - \theta_v^{PM}}{\theta_v^{CC} - \theta_v^{PM}} \times 100 \quad [Ec. 4]$$

3.3.2. CONTROL DEL ESTADO HÍDRICO DE LA PLANTA

3.3.2.1. POTENCIAL HÍDRICO

El potencial hídrico se determinó periódicamente haciendo uso de la cámara de presión (model 3000; Soil Moisture Equipment Corp., Santa Barbara, California, USA), siguiendo el procedimiento descrito por Scholander y col., (1965). En el ensayo objeto de estudio, se tomó medida del potencial hídrico al amanecer (Ψ_{alba}) así como del potencial hídrico del tallo al mediodía (Ψ_{tallo}). Las medidas al amanecer se tomaron entre las 06:00 y las 06:30 h mientras que las medidas de mediodía se tomaron entre las 12:00 a las 14:00h.



Figura 3. Cámara de presión (model 3000; Soil Moisture Equipment Corp., Santa Barbara, California, USA).

Tanto el Ψ_{alba} como el Ψ_{tallo} se midieron en dos hojas por árbol. Para la medida de ambos parámetros se escogieron hojas localizadas en la cara soleada y en el tercio medio del árbol. En la medida de ambos parámetros se escogieron hojas fotosintéticamente activas, sanas, completamente desarrolladas, y aparentemente de la misma edad. Las hojas en las que se midió el Ψ_{tallo} fueron tapadas al menos dos horas antes de la medida con bolsas de celofán y cubiertas con papel de aluminio, a fin de reducir la transpiración de las mismas (Turner, 1988).

3.3.2.2. CONDUCTANCIA ESTOMÁTICA

A lo largo del experimento la conductancia estomática (g_s) fue medida periódicamente entre las 12:00 y las 14:00 h, haciendo uso de un analizador portátil de fotosíntesis (Li-6400, Li-Cor, Lincoln, NE, USA). La g_s se midió en dos hojas por árbol controlado. Las medidas se realizaron en hojas de características similares a las utilizadas en las medidas del Ψ_{alba} y del Ψ_{tallo} . Durante las medidas la tasa de flujo molar del aire a través de la cámara fue mantenida a $500 \mu\text{mol s}^{-1}$, la concentración de CO_2 de referencia en $385 \mu\text{mol s}^{-1}$, y la radiación PAR incidente por encima de $1.500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.



Figura 4. Analizador portátil de fotosíntesis (Li-6400, Li-Cor, Lincoln, NE, USA).

3.3.2.3. FLUCTUACIONES DEL DIÁMETRO DEL TRONCO

A lo largo del ensayo las fluctuaciones del diámetro del tronco se midieron de manera continua haciendo uso de dendrómetros (Plantsens[®] de tipo extensiométricos de la marca Verdtech modelo D-5 con un recorrido máximo de 6.100 μm). Los dendrómetros fueron instalados a 20-30 cm sobre el nivel del suelo, en orientación sureste (cara soleada), en el tronco de cada uno de los árboles controlados. La sujeción de los dendrómetros a los árboles se realizó mediante cinta elástica, a fin de evitar interferencias en las fluctuaciones del diámetro del tronco. De manera previa a su puesta en marcha, los dendrómetros fueron calibrados haciendo uso de un voltímetro (0 – 2,45 V). La resolución de las medidas de las fluctuaciones del diámetro del tronco fue de $\pm 5 \mu\text{m}$. Las medidas de las variaciones del diámetro del tronco fueron tomadas cada 15 minutos y almacenadas posteriormente en un datalogger (Addit modelo A-723).



Figura 5. Detalle del dendrómetro de tronco utilizado en el ensayo.

Las medidas de las fluctuaciones del diámetro del tronco fueron utilizadas para calcular la máxima contracción diaria del tronco (MCD). La MCD se calcula como la diferencia entre el máximo (MXDT) y el mínimo diámetro diario del tronco (MNDDT) (Goldhamer and Fereres, 2001).

$$MCD = MXCD - MNCD \text{ [Ec. 5]}$$

3.3.2.4. MEDIDA DE LOS PARÁMETROS AMBIENTALES

Parámetros climáticos como la temperatura del aire (T), el déficit de presión de vapor (DPV), la radiación neta solar (R_n), la humedad relativa (HR), así como la evapotranspiración de referencia (ET_0) y la precipitación (P) fueron tomados de manera automática y con frecuencia horaria por la estación experimental localizada en la misma finca (TP91, SIAM).

3.3.3. MEDIDA DE LA SENSIBILIDAD Y VARIABILIDAD DE LOS INDICADORES DE ESTRÉS HÍDRICO

Las medidas de los indicadores de estrés hídrico no se encuentran únicamente influidas por la disponibilidad de agua en el suelo (θ), sino que también están influidas por los parámetros ambientales. Por lo que, para medir el grado de respuesta de un indicador ante cambios en la disponibilidad del agua en el suelo, se hace necesario normalizar los valores absolutos del indicador en relación a los valores del mismo en condiciones no limitantes de agua en el suelo (Naor y Cohen, 2003; Ortuño et al., 2005). En este sentido, la intensidad de señal (IS) del Ψ_{alba} , del Ψ_{tallo} así como de la MCD fue calculada como [Ec. 6], mientras que en el caso de la g_s fue calculada como [Ec. 7].

$$IS = \frac{\chi_{\text{sequía}}}{\bar{\chi}_{\text{control}}} \text{ [Ec. 6]} \quad \text{ó} \quad IS = \frac{\bar{\chi}_{\text{control}}}{\chi_{\text{sequía}}} \text{ [Ec. 7]}$$

Valores de IS por encima de la unidad indican que la planta sufre estrés hídrico; mientras que valores próximos a la unidad indican ausencia de estrés (Goldhamer y Fereres, 2004). A su vez, también es importante conocer la variabilidad (coeficiente de variación - CV) que presentan las medidas de un indicador. El CV fue calculado como el

cociente entre la desviación estándar de las medidas de las plantas sequía en relación a su media (σ/\bar{X}). A partir de la IS y del CV se puede calcular la sensibilidad (S) como el ratio intensidad de señal (IS): coeficiente de variación (CV). El conocimiento de la sensibilidad de un indicador resulta muy interesante ya que permite evaluar la utilidad del mismo, no solo en la programación del riego (Moreno et al., 2006), sino para controlar el nivel de estrés en la aplicación de estrategias de RDC (Ballester et al. 2013).

3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para evaluar la influencia de los tratamientos de riego (control y sequía) sobre los indicadores estudiados (Ψ_{alga} , Ψ_{tallo} , g_s y MCD) y analizar si existió una respuesta diferente entre cada uno de ellos, se aplicó el análisis de la varianza (ANOVA). En el caso en el que se observaron diferencias significativas, la separación de medias se realizó mediante el test de rango múltiple de Duncan al 95%. Además en este estudio también se analizó el grado de correlación existente entre los indicadores estudiados y ciertos parámetros ambientales como la temperatura del aire (T), el déficit de presión de vapor del aire (DPV) y la evapotranspiración de referencia (ET_0). Para el análisis estadístico de los datos se utilizó el programa estadístico Statgraphics 5.1 Plus y el ajuste lineal entre los indicadores y los parámetros ambientales se realizó mediante el programa Sigmaplot 10.



4. RESULTADOS

Durante el experimento la temperatura media diaria (T_d) osciló entre 17,2 °C (DDA 138) y 27,2 °C (DDA 166), mientras que la temperatura media durante las horas de medida (mediodía) (T_{md}) osciló entre 21 °C (DDA 138) y 31 °C (DDA 194) (Fig. 6A). El déficit de presión de vapor medio diario (DPV_d) fluctuó entre 0,52 kPa (DDA 138) y 1,98 kPa (DDA 166) a lo largo del ensayo, mientras que el DPV durante las horas de medida (mediodía) (DPV_{md}) lo hizo entre 0,96 kPa (DDA 138) y 2,69 kPa (DDA 194) (Fig. 6B). La humedad relativa (HR) media durante las horas de medida (mediodía) (HR_{md}), fue en general menor (37% (DDA 187) - 61% (DDA 138)) que la media diaria (HR_d) (45% (DDA 166) - 73,5 % (DDA 138)) (Fig. 6C). La evapotranspiración diaria (ET_{0d}) osciló entre 4,4 mm (DDA 138) y 6,87 mm (DDA 166) y no se registraron precipitaciones a lo largo del período experimental (Fig. 6D).

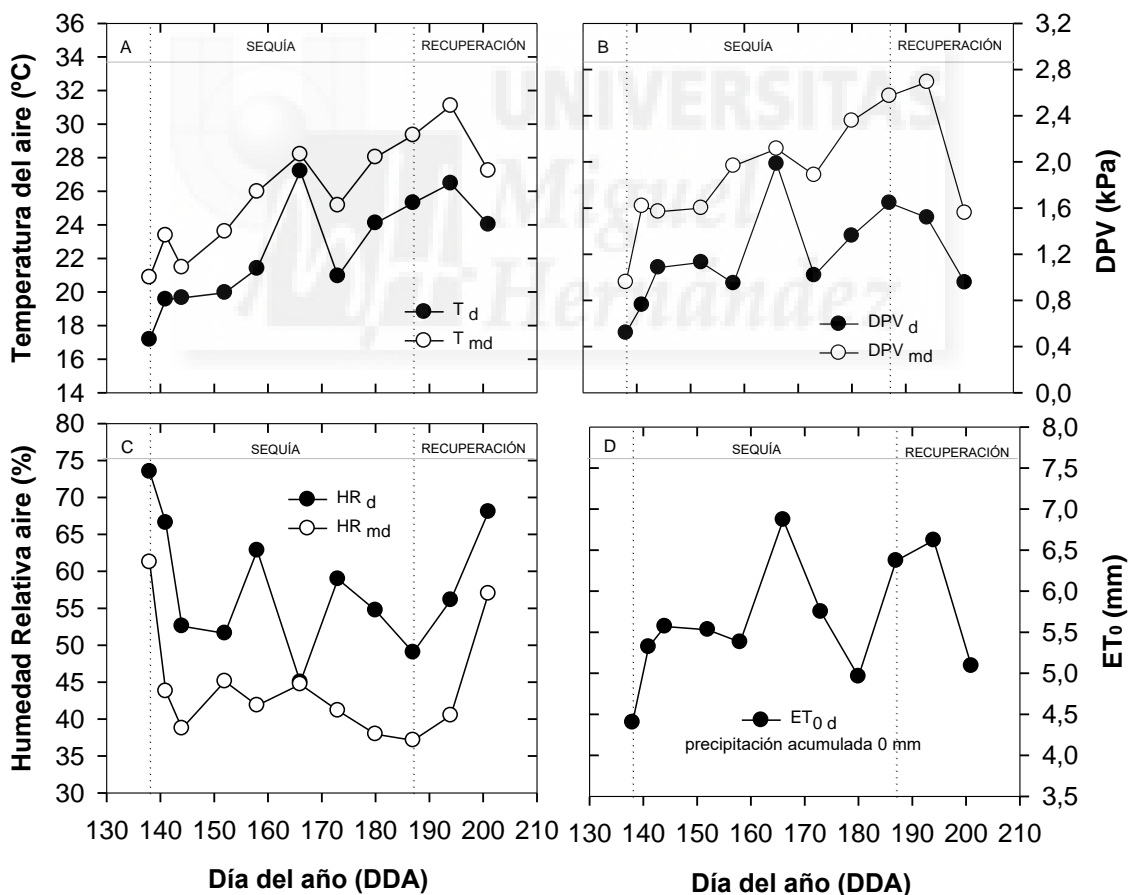


Figura 6. Evolución de la temperatura del aire diaria (T_d) y a mediodía (T_{md}) (A), del déficit de presión de vapor diario (DPV_d) y a mediodía (DPV_{md}) (B), de la humedad

relativa diaria (HR_d) y a mediodía (HR_{md}) (C) y de la evapotranspiración diaria (ET_{0d}) así como de la precipitación acumulada (D) a lo largo del ensayo.

En los árboles control, el AU permaneció prácticamente constante en torno al 90-100% (Fig. 8A). En estas condiciones de humedad del suelo, se evaluó la respuesta de los diferentes indicadores. En el caso del potencial hídrico al alba (Ψ_{alba}) en los árboles control se observó un ligero descenso en sus valores a lo largo del ensayo, oscilando entre -0.4 y -0.5 MPa (Fig. 8B). El potencial hídrico del tallo al mediodía (Ψ_{tallo}) sin embargo sufrió un mayor descenso de sus valores, mostrando valores de -0,85 MPa al inicio y de -1,39 MPa al final (Fig. 8C). La conductancia estomática (g_s) de los árboles control fluctuó a lo largo de todo el ensayo. Durante el período experimental, la g_s de los árboles control mostró un valor de $117 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ al inicio del ensayo, mientras que el resto de valores oscilaron entre 30 y $70 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Fig. 8D). La evolución a lo largo del período experimental de la máxima contracción diaria del tronco (MCD) de los árboles control mostró una tendencia en aumento, mostrando los valores más elevados al final del ensayo (Fig. 8E).

En base al coeficiente de determinación (r^2), el Ψ_{alba} estuvo mejor correlacionado con la T al alba, seguido de la ET_0 y el DPV al alba (presentando ambos valores similares de r^2) (Fig. 7A, B y C). En el caso del Ψ_{tallo} , las variaciones observadas en el estudio solo estuvieron correlacionadas con la T, siendo esta correlación más significativa con la T del momento de la medida (mediodía) (T_{md}) que con la T diaria (T_d) (Fig. 7D). La g_s no se correlacionó con ninguno de los parámetros ambientales estudiados (Fig. 7G, H y I). Por otro lado, analizando los datos ambientales diarios, la MCD solo estuvo correlacionada con la T (Fig. 7J). Sin embargo, si utilizamos los datos ambientales del momento de la medida (mediodía), se observó una mejora del r^2 entre la MCD y la T, además de observar una correlación entre la MCD y el DPV del mediodía (Fig. 7L).

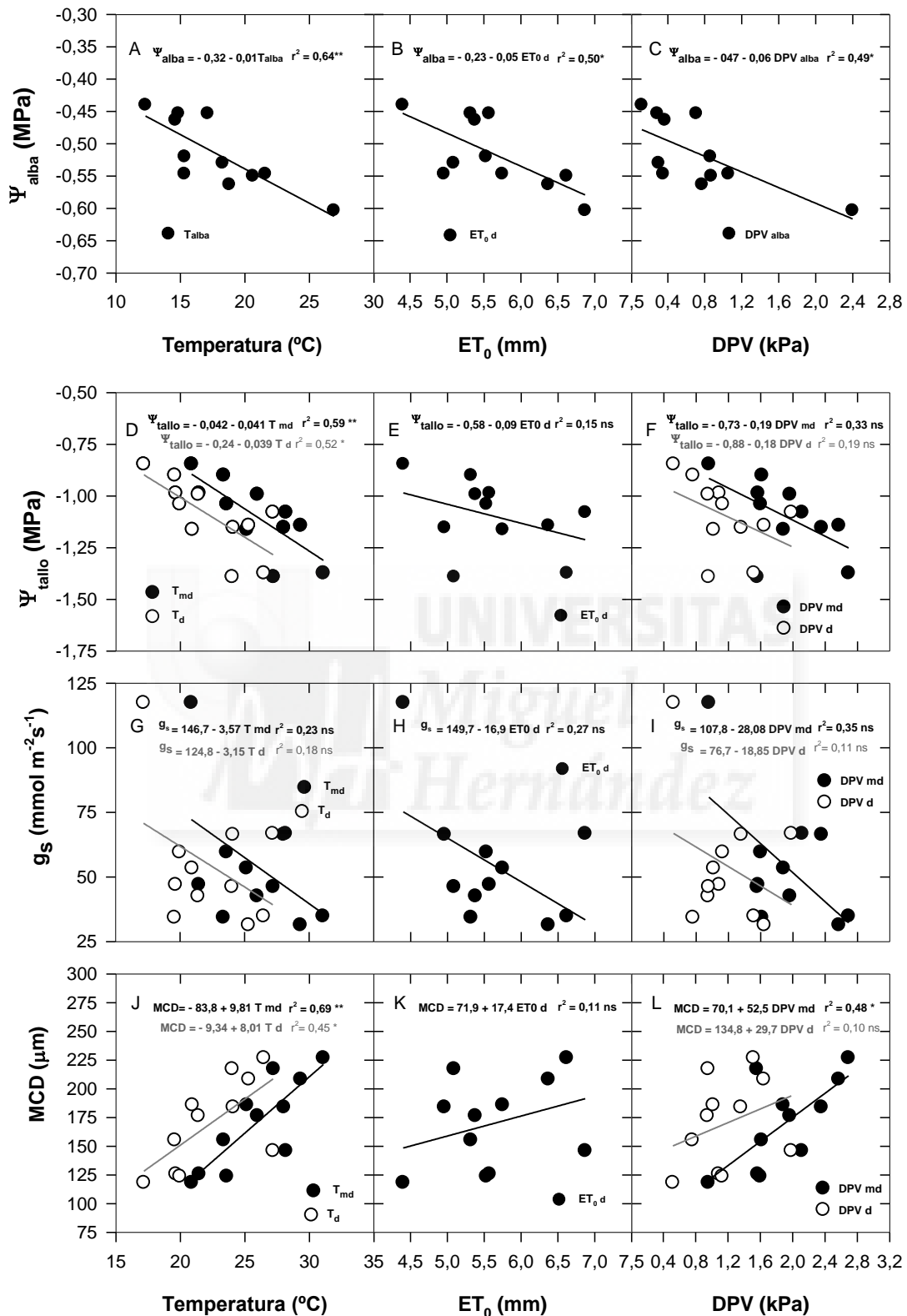


Figura 7. Relación entre los valores diarios del potencial hídrico al alba (Ψ_{alba}) de las plantas control y los valores diarios al alba (6:00-6:30) de la temperatura del aire (T_{alba})

(A) y del déficit de presión de vapor (DPV_{alba}) (C) así como de la evapotranspiración diaria ($ET_{0\text{d}}$) (B). Relación entre los valores diarios del potencial hídrico del tallo (Ψ_{tallo}), de la conductancia estomática (g_s) y de la máxima contracción diaria del tronco (MCD) de las plantas control y los valores diarios y a mediodía (12:00-14:00) de la temperatura del aire (diaria - T_d y a mediodía - T_{md}) (D, G y J), del déficit de presión de vapor (diario - DPV_d y a mediodía - DPV_{md}) (F, I y L) y de la evapotranspiración diaria ($ET_{0\text{d}}$) (E, H y K). 'ns' indica diferencias no significativas, * y ** diferencias significativas a $P < 0.05$ y $P < 0.01$ respectivamente.

La aplicación del tratamiento de sequía provocó un descenso progresivo del AU en el suelo hasta alcanzar valores próximos al 5% (DDA 187) (Fig. 8A). Al inicio del ensayo tuvo lugar un descenso rápido del AU, pasando de valores del 100% al 25 % en 14 días (fase estrés ligero). A medida que el nivel de estrés aumentó (nivel de estrés moderado), el descenso del AU (25 % -10%) del suelo se fue ralentizando, registrando un descenso del 15% en 14 días. Cuando el nivel de estrés alcanzado fue severo, el descenso de AU fue muy lento, experimentando un descenso del 5% en 21 días. Una vez reestablecido el riego, el nivel de AU en el suelo aumentó rápidamente, registrando valores similares a las plantas control ($\approx 100\%$) a los 7 días.

La aplicación del tratamiento de sequía (0% ETc) produjo un descenso progresivo del Ψ_{alba} , alcanzando el valor mínimo de -1,85 MPa al final del periodo de estrés (DDA 187) (Fig. 8B). El Ψ_{alba} no fue capaz de detectar diferencias entre los tratamientos aplicados hasta transcurridos 6 días desde el comienzo del ensayo. Una vez restituido el riego (período de recuperación) los valores del Ψ_{alba} aumentaron gradualmente. A la semana del inicio de la rehidratación el Ψ_{alba} de los árboles sequía y control fue significativamente diferente, alcanzando valores similares al final del ensayo.

En los árboles sequía, la supresión del riego produjo un descenso progresivo en los valores del Ψ_{tallo} hasta el día 173, a partir de ese día y hasta el final de este período este indicador registró valores prácticamente constantes $\approx 2,35$ MPa (Fig. 8C). Los valores del Ψ_{tallo} en las plantas control no fueron significativamente diferentes a los de las plantas sequía, hasta transcurridos 6 días desde el inicio del experimento. Durante el período de recuperación los valores de este indicador aumentaron de manera progresiva, igualando

al Ψ_{tallo} de los árboles control una vez transcurrida una semana. Al final del ensayo el Ψ_{tallo} de las plantas sequía y control fue similar, no existiendo diferencias significativas en relación a los mismos.

El descenso de la humedad del suelo ocasionado por la supresión del riego provocó un descenso de la g_s en los árboles del tratamiento de sequía (Fig. 8D). La g_s de los árboles control fue estadísticamente diferente a la de los árboles sequía a los 14 días desde el inicio del experimento. El inicio de la rehidratación de los árboles (período de recuperación) provocó un aumento progresivo de la g_s en los árboles sequía, mostrando valores similares al de los árboles control a los 7 días.

La aplicación del tratamiento de sequía produjo un aumento de la MCD, siendo este significativo a partir del día 144 del año (tras 7 días de la retirada del riego) (Fig. 8E). Las máximas diferencias entre los valores de MCD de los árboles control y los de sequía se obtuvieron el DDA 158, siendo similares en ambos tratamientos a partir de este momento y hasta el final del ensayo.



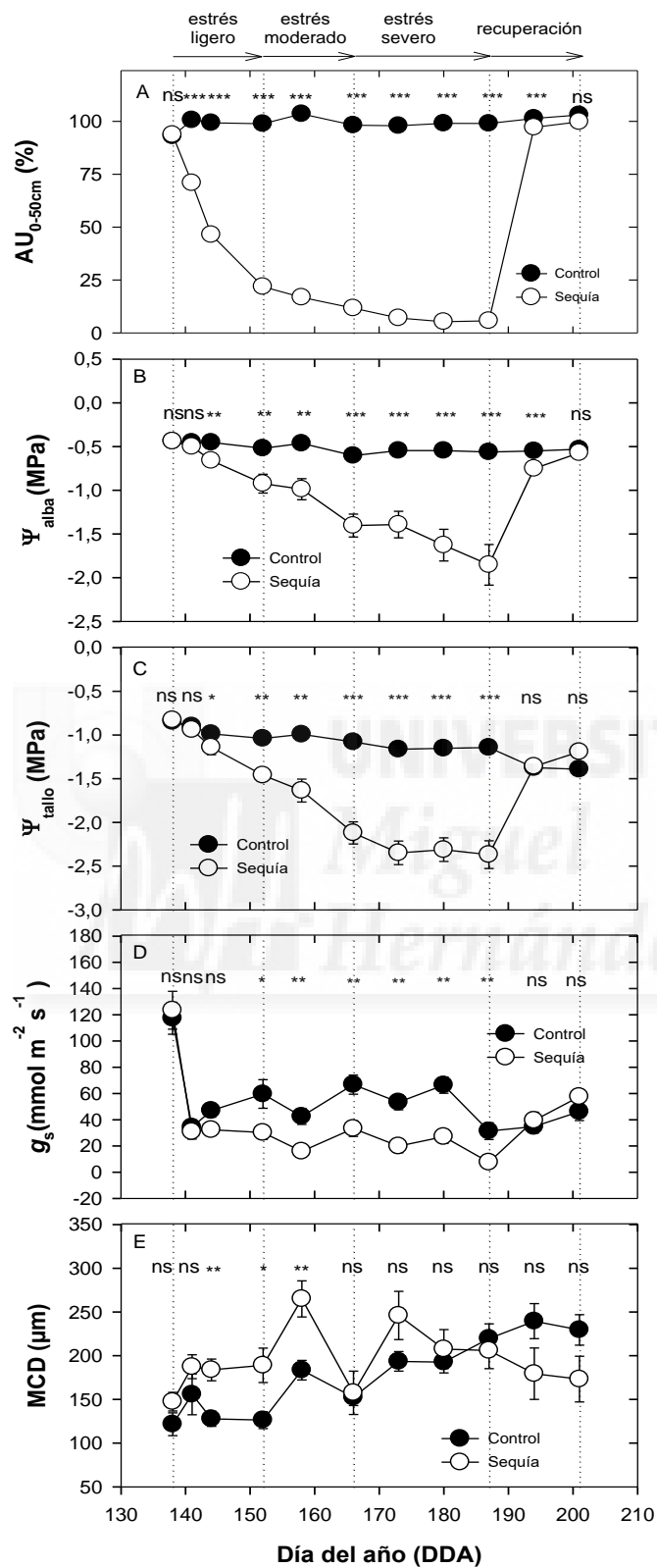


Figura 8. Evolución del porcentaje de agua útil en los primeros 50 cm del suelo (AU_{0-50 cm}) (A), del potencial hídrico al alba (Ψ_{alba}) (B), del potencial hídrico del tallo (Ψ_{tallo})

(C), de la conductancia estomática (g_s) (D) y de la máxima contracción diaria del tronco (MCD) (E) a lo largo del ensayo. Cada punto corresponde a la media de 6 medidas. Las barras verticales de error muestran el error estándar (\pm ES). 'ns' indica diferencias no significativas, *, ** y **** diferencias significativas a $P < 0.05$, $P < 0.01$ y $P < 0.001$ respectivamente.

Para evaluar la capacidad mostrada por cada indicador en la detección del estrés hídrico en planta se evaluó la intensidad de señal (IS) (Tabla 1). Además, para un mejor estudio del grado de sensibilidad de cada indicador al estrés aplicado se analizó el coeficiente de variación (CV) y la sensibilidad (S) (Tabla 1). Al inicio del ensayo, durante la primera etapa del desarrollo del estrés (AU 100% – 25%) la IS de todos los indicadores aumentó de manera similar y gradual (Fig. 9). La IS media mostrada por los indicadores fue similar (Tabla 1). Pese a no existir diferencias significativas, la IS de la g_s (1,51) fue ligeramente superior a la del resto de los indicadores. El Ψ_{alba} y la MCD registraron una IS media similar (1,33 y 1,36) y superior a la del Ψ_{tallo} (1,15). El CV medio fue considerablemente mayor en el caso de la g_s (29%) que en el resto de los indicadores. El Ψ_{alba} y la MCD presentaron un CV medio menor (18% y 16% respectivamente) que la g_s , aunque mayor al CV medio que presentó el Ψ_{tallo} (11%). La g_s presentó una sensibilidad menor (5,29) en relación a la del resto de indicadores. El Ψ_{tallo} fue el indicador que mayor sensibilidad registró (10,7), por encima del Ψ_{alba} y de la MCD, que presentaron una sensibilidad de 7,44 y 8,38 respectivamente.

Durante el período de estrés moderado (AU 25%-10%), la IS del Ψ_{alba} , del Ψ_{tallo} y de la g_s continuó aumentando, mientras que la IS de la MCD fue descendiendo de manera progresiva (Fig. 9). En el caso del Ψ_{alba} el Ψ_{tallo} el aumento de la IS fue uniforme, a diferencia de la g_s que aumentó registrando una serie de alti-bajos a niveles de AU inferiores al 25%.

Cuando el estrés hídrico fue severo un comportamiento dispar se observó en relación a la IS de cada uno de los indicadores (Fig. 9). A lo largo de este período la IS del Ψ_{alba} , continuó aumentando de forma uniforme, mientras que la de la g_s continuó registrando una serie de alti-bajos. Los alti-bajos que se registraron en los valores de la IS de la g_s fueron más pronunciados durante este período, que durante el período de estrés hídrico moderado. La IS del Ψ_{tallo} a diferencia de la del resto de indicadores, permaneció

prácticamente constante desde el día 166 hasta el día 187 del año (AU 10%) (Fig. 9). La IS de la MCD continuó descendiendo de manera gradual a lo largo de todo el período, presentando un comportamiento similar al observado en el período de estrés moderado.

En el período de estrés moderado y severo se observaron diferencias significativas en relación a la IS media de los indicadores (Tabla 1). La g_s fue el indicador que mayor IS media presentó en ambos períodos (2,44 y 3,29). La IS media del Ψ_{tallo} y la del Ψ_{alba} fueron similares y en todo momento superiores a la de la MCD (1,37 y 1,13). El CV medio a lo largo de ambos periodos (estrés moderado y severo) fue mayor en el caso de la g_s (28% y 31%) y del Ψ_{alba} (27% y 27%) que en el resto de los indicadores considerados. La MCD presentó una mayor variabilidad (23% y 26%) en relación al Ψ_{tallo} (14% y 14%). En ambos períodos el Ψ_{tallo} registró una mayor sensibilidad (11,8 y 14,4) a la del resto de los indicadores. La sensibilidad de la g_s (8,80 y 10,5) y la del Ψ_{alba} (7,78 y 10,5) fue similar durante el período de estrés moderado y severo, mientras que la de la MCD (5,88 y 4,29) fue inferior a la del resto de indicadores.

Durante el período de recuperación (DDA 194 y 201) se observó un descenso en la IS de todos los indicadores (Fig. 9). La g_s así como el Ψ_{tallo} presentaron un descenso más pronunciado que el Ψ_{alba} , que registró un descenso más lento. La IS de la MCD continuó descendiendo tal y como sucedió en períodos anteriores. Al final del ensayo la g_s el Ψ_{tallo} y la MCD presentaron una IS inferior al Ψ_{alba} .

Una vez reestablecido el riego, se observaron diferencias significativas en relación a la IS media de los diferentes indicadores (Tabla 1). El Ψ_{alba} fue el indicador que mayor IS media presentó (1,22). La IS media del Ψ_{tallo} (0,92) fue superior a la de la MCD (0,79) y a la de la g_s (0,89). A lo largo de este período el CV medio del Ψ_{alba} fue muy pequeño (5%) en relación al del resto de indicadores. La MCD presentó una gran variabilidad en sus medidas (35%) en comparación al Ψ_{tallo} (13%) y la g_s (19%). En este período la sensibilidad del Ψ_{alba} fue muy alta (26,2), mientras que la sensibilidad de la g_s (4,73) y la de la MCD (2,26) fueron bajas. El Ψ_{tallo} presentó una sensibilidad intermedia (7,33).

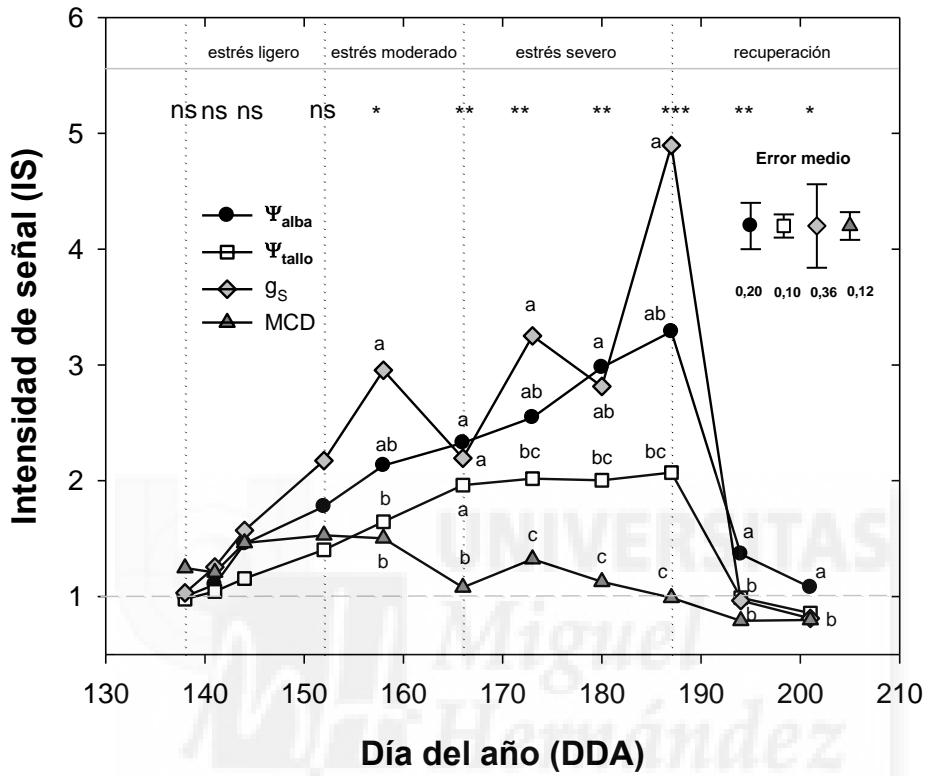


Figura 9. Evolución de la intensidad de señal (IS) del potencial hídrico al alba (Ψ_{alba}), del potencial hídrico del tallo (Ψ_{tallo}), de la conductancia estomática (g_s) y de la máxima contracción diaria del tronco (MCD) a lo largo del ensayo. Cada punto corresponde a la media de 6 medidas. Las barras verticales de error muestran el error estándar (\pm ES). ‘ns’ indica diferencias no significativas, *, ** y *** diferencias significativas a $P < 0.05$, $P < 0.01$ y $P < 0.001$ respectivamente. En cada día de medida, letras diferentes indican diferencias significativas según el método de rango múltiple de Duncan al 95%.

Tabla 1. Valores medios de la intensidad de señal (IS), del coeficiente de variación (CV) y de la sensibilidad (S) del potencial hídrico al alba (Ψ_{alba}), del potencial hídrico del tallo (Ψ_{tallo}), de la conductancia estomática (g_s) y de la máxima contracción diaria del tronco (MCD) durante diferentes períodos de estrés hídrico (ligero-moderado-severo) y durante el período de recuperación.

Período de estrés ligero			
Indicador	Intensidad de Señal (IS)	Coeficiente de Variación (CV) (%)	Sensibilidad (S)
Ψ_{alba}	1,33	17,93	7,44
Ψ_{tallo}	1,15	10,77	10,64
g_s	1,51	28,50	5,29
MCD	1,36	16,25	8,38
ANOVA	ns		
Período de estrés moderado			
Indicador	Intensidad de Señal (IS)	Coeficiente de Variación (CV) (%)	Sensibilidad (S)
Ψ_{alba}	2,08ab	26,71	7,78
Ψ_{tallo}	1,67bc	14,18	11,79
g_s	2,44a	27,74	8,80
MCD	1,37c	23,31	5,88
ANOVA	*		
Período de estrés severo			
Indicador	Intensidad de Señal (IS)	Coeficiente de Variación (CV) (%)	Sensibilidad (S)
Ψ_{alba}	2,78ab	26,63	10,46
Ψ_{tallo}	2,01bc	14,01	14,38
g_s	3,29a	31,24	10,53
MCD	1,13c	26,36	4,29
ANOVA	***		
Período de recuperación			
Indicador	Intensidad de Señal (IS)	Coeficiente de Variación (CV) (%)	Sensibilidad (S)
Ψ_{alba}	1,22a	4,67	26,21
Ψ_{tallo}	0,92b	12,60	7,33
g_s	0,89b	18,79	4,73
MCD	0,79b	35,08	2,26
ANOVA	**		

‘ns’ indica diferencias no significativas, *, ** y *** diferencias significativas a $P < 0.05$, $P < 0.01$ y $P < 0.0001$ respectivamente. En cada columna y en periodo de estrés, letras diferentes indican diferencias significativas según el método de rango múltiple de Duncan al 95%. ($n = 6$).



5. DISCUSIÓN

En árboles bien regados, la capacidad de los indicadores (Ψ_{alba} , Ψ_{tallo} , MCD y g_s) para detectar pequeños cambios en el estado hídrico del suelo fue diferente (Fig. 8B, C, D y E). Como era de esperar, de todos los indicadores estudiados, el Ψ_{alba} fue el indicador que mostró una dinámica más similar a la θ , mientras que la del resto de indicadores evaluados (Ψ_{tallo} , MCD y g_s) evolucionó de forma ligeramente diferente. El hecho de que el Ψ_{alba} presentara una evolución similar a la θ , podría ser debido a que el Ψ_{alba} es un buen indicador del estado hídrico tanto del suelo como de la planta (Jones, 2007), debido a que al amanecer el potencial hídrico del suelo ($\Psi_{\text{mátrico}}$) se encuentra en equilibrio con el potencial hídrico de la planta.

Las medidas del Ψ_{alba} se vieron ligeramente influidas (entre -0,4 MPa y -0,6 MPa) por los factores ambientales (T, DPV y ET_0) (Fig. 7A, B y C). Las pequeñas variaciones observadas en las medidas de este indicador fueron debidas principalmente a cambios en las condiciones ambientales. El Ψ_{alba} dependió principalmente de los cambios en la temperatura del aire en el momento de la medida ($r^2 = 0,64$) (Fig. 7A). La capacidad para detectar cambios en el estado hídrico del suelo del resto de indicadores (Ψ_{tallo} , MCD y g_s) (basados en la medida realizada a mediodía), se vio fuertemente influenciado por parámetros ambientales como la T (Fig. 7D, G y J), la ET_0 (Fig. 7E, H y K) y el DPV (Fig. 7F, I y L). En estudios recientes realizados sobre limonero (Ortuño et al., 2006) y granado (Galindo et al., 2013), se observó una fuerte influencia entre las medidas de estos indicadores y tales factores ambientales. Una mayor correlación fue observada entre estos indicadores (Ψ_{tallo} y MCD) y la T y el DPV a mediodía (T_{md} y DPV_{md}) que entre estos indicadores y el promedio diario de sus medidas (T_{d} y DPV_{d}), lo que indica que las condiciones ambientales en el momento de la medida, tuvieron una mayor influencia en las medidas de los indicadores. En estudios recientes realizados sobre mandarina (Pagán et al. 2012), se observó una mejor correlación entre las medidas de estos indicadores y la temperatura a mediodía, que entre estos indicadores y el promedio diario de la misma. La ausencia de una correlación significativa entre la g_s y los parámetros ambientales, puede ser debido al hecho de que la regulación estomática podría estar influenciada por otros factores de origen químico (ABA) e hidráulico (Comstock 2002) entre otros. Resultados contrarios se observaron en estudios recientes realizados sobre limonero (Pérez-Pérez et al. 2012), donde se observó una fuerte correlación entre este indicador y ciertos parámetros ambientales como el DPV. El Ψ_{tallo} estuvo estrechamente correlacionado con

la T_{md} ($r^2= 0,59$) (Fig. 7D), mientras que la MCD estuvo correlacionada con la T_{md} y el DPV_{md} (Fig. 7J y L), siendo la T_{md} la que mejor coeficiente de r^2 mostró. En investigaciones relacionadas (Ortuño et al., 2006) se observó que la MCD entre otros factores ambientales estuvo claramente influenciada por la temperatura. Sin embargo en estudios realizados sobre otros cultivos; ciruelos (Intrigliolo and Castel, 2006b), almendros (Feres and Goldhamer, 2003) y olivos (Moreno et al., 2006), se observó una mayor influencia del DPV en los valores de la MCD.

Para evaluar la capacidad de los indicadores estudiados de detectar cambios en el estado hídrico del suelo, parte de los árboles fueron sometidos a un tratamiento de sequía. Al inicio del periodo de sequía, cuando el nivel de estrés hídrico en la planta fue ligero y el porcentaje de agua útil (AU) en el suelo osciló entre el 50% y el 100%, la capacidad de detección del estrés hídrico (basada en su IS) fue similar en todos los indicadores (Tabla 1). A pesar de que la capacidad de detección del estrés hídrico fue similar, la g_s presentó una IS media ligeramente superior (1,51) a la del Ψ_{alba} , a la del Ψ_{tallo} y a la de la MCD (1,33, 1,15 y 1,36). La g_s , además de ser el indicador que mayor IS media registró, también fue el indicador que mayor variabilidad registró en sus medidas (CV = 28%), lo que hizo que la sensibilidad de este indicador fuese notablemente inferior a la del resto de indicadores evaluados. El alto CV que presentó este indicador durante este período podría ser debido a que la regulación estomática no depende únicamente de la θ , sino que puede depender también de las condiciones ambientales (temperatura, intensidad luminosa, déficit de presión de vapor etc) y de la concentración de ácido abscísico (Wilkinson y Davies, 2002), entre otros factores. A pesar de que la capacidad para detectar estrés del Ψ_{alba} y de la MCD fue similar (IS media de 1,33 y 1,36 respectivamente), la sensibilidad de estos indicadores (7,44 y 8,38) fue mayor que la de la g_s , consecuencia de que la variabilidad de sus medidas (CV de 18 % y 16% respectivamente) fue considerablemente menor a de la g_s (CV = 28%). El Ψ_{tallo} , aunque registró una menor capacidad de detección del estrés hídrico (IS =1,15) en relación al resto de indicadores, también presentó una menor variabilidad (menor CV), lo que hizo que la sensibilidad de este indicador fuera ligeramente superior al resto (Tabla 1). La baja variabilidad que presentaron las medidas del Ψ_{tallo} podría ser debido al hecho de que, este indicador se mide en condiciones de transpiración nula. De hecho, el Ψ_{tallo} es uno de los indicadores de estrés hídricos más usados entre otros motivos, por la baja variabilidad

que presentan sus medidas (Naor, 2006). Aunque cualquier indicador podría ser utilizado para este rango de humedad (AU 100%-25%), los más recomendados ordenados según su sensibilidad serían el Ψ_{alba} , el Ψ_{tallo} , la MCD y por último la g_s , ya que la g_s presentó una gran variabilidad en sus medidas (28%) lo que provocó una reducción en su sensibilidad.

A medida que el contenido de humedad en el suelo descendió por debajo del 25%, la capacidad de detección del estrés hídrico en planta de los indicadores fue diferente (Tabla 1). En el caso del Ψ_{alba} , del Ψ_{tallo} y de la g_s , la disminución del contenido de agua en el suelo provocó un aumento gradual de su IS, mientras que en el caso de la MCD provocó un descenso paulatino de la misma (Fig. 9). En el caso de la g_s el aumento en la IS fue progresivo hasta alcanzar niveles de AU del 25% (Fig. 9). A partir de este momento, el aumento de la IS que registró este indicador no fue gradual, sino que registró una serie de alti-bajos a medida que avanzaba el desarrollo del estrés hídrico en el cultivo. A su vez también se observó un aumento de la variabilidad de sus medidas ($CV \approx 30\%$) (Tabla 1). Los valores de la g_s no fluctuaron únicamente en las plantas sequía sino que también lo hicieron en las plantas control (Fig 8D). Estas fluctuaciones pueden ser debidas principalmente a que la influencia del DPV sobre la g_s fue mayor en los árboles bien regados que en los árboles sequía, resultados similares se han observado en estudios relacionados (Pérez-Pérez et al. 2012). A pesar de que la g_s mostró una IS media alta y una alta sensibilidad, su capacidad para el detectar estrés hídrico no fue uniforme a niveles de humedad del suelo inferior al 25%, reduciendo su fiabilidad.

En el caso de los indicadores basados en la medida del potencial hídrico, como el Ψ_{alba} , y el Ψ_{tallo} , la IS también aumentó gradualmente, a medida que la humedad del suelo descendió, pero en este caso lo hizo de una manera más uniforme que en el caso de la g_s (Fig. 9). A valores bajos de humedad del suelo la IS del Ψ_{alba} fue mayor a la del Ψ_{tallo} (Fig. 9), especialmente con valores de AU inferiores al 10% (Fig. 8A). En estas condiciones de humedad del suelo, la IS del Ψ_{tallo} permaneció prácticamente constante al mismo tiempo que la IS del Ψ_{alba} continuó aumentando gradualmente (Fig. 9). El hecho de que el Ψ_{tallo} registrará valores prácticamente constantes (entre -2,12 MPa y -2,37 MPa), podría ser consecuencia de un fuerte cierre estomático (Fig. 8C). De hecho durante este periodo se observó que los árboles sometidos a sequía, registraron valores bajos de g_s (Fig. 8D),

poniendo de manifiesto la existencia de un cierre estomático ante condiciones severas de estrés hídrico. En otros estudios realizados sobre naranja (Sdoodee & Somjun, 2008), también se observó una descenso en la g_s de los árboles ante condiciones de estrés hídrico. Esto es debido a que ante una situación de estrés hídrico severo, la planta cierra estomas a fin de evitar la pérdida de agua y la consecuente muerte por deshidratación. Por lo tanto, el Ψ_{tallo} presenta una fiabilidad alta cuando el nivel de estrés hídrico es moderado, reduciéndose a medida que el nivel de estrés hídrico se hace severo. El Ψ_{alba} , sin embargo, presenta una fiabilidad alta tanto durante el período de estrés hídrico moderado como durante el período de estrés hídrico severo.

A medida que la humedad del suelo descendió por debajo del 25%, la IS de la MCD descendió progresivamente, de manera contraria al resto de indicadores (Fig. 9). Esto puede ser debido a que en condiciones de sequía, el transporte de agua entre el xilema y el floema se ve reducido, lo que puede provocar un descenso de la MCD en las plantas sequía, y por lo tanto una reducción de la capacidad para detectar estrés hídrico de este indicador (IS). En estudios relacionados (Ortuño et al., 2005), también se observó un descenso en la IS de este indicador en respuesta a un aumento del estrés hídrico. Por lo que este indicador únicamente presenta buena fiabilidad cuando el nivel de humedad en el suelo está comprendido entre el 25 y 100 % (programación del riego), siendo no apto su uso en el diseño de estrategias de RDC.

Los cambios en la humedad del suelo producidos por la reanudación del riego mostraron, como era de esperar, un descenso gradual en la IS de todos los indicadores evaluados (Fig. 9). Este descenso de la IS fue consecuencia de que una vez devuelto el riego, las diferencias entre los tratamientos se fueron reduciendo progresivamente a medida que se rehidratava el suelo. El descenso en los valores de la IS de los distintos indicadores fue dispar. La IS del Ψ_{alba} registró un descenso más lento en relación a la IS de la g_s y la del Ψ_{tallo} (Fig. 9). El descenso que se observó en la IS del Ψ_{alba} , fue más acorde con el aumento de humedad que se estaba produciendo en el suelo. Los valores del Ψ_{alba} se igualaron en las plantas control y sequía a las dos semanas de reestablecer el riego, mientras que en la g_s y en el Ψ_{tallo} esto sucedió a la semana. En este sentido, teniendo en cuenta que la recuperación de la humedad del suelo es un proceso lento y gradual, parece lógico pensar que una semana es poco tiempo para la recuperación total del mismo. El

hecho de que la g_s y el Ψ_{tallo} , alcanzarán valores similares en los árboles control y sequía más rápido que el Ψ_{alba} , puede ser debido a que las medidas de estos indicadores se toman a mediodía, momento en el que las condiciones ambientales son más desfavorables. A mediodía la g_s de los árboles control puede ser similar a la de los árboles sequía, debido a que las plantas control pueden cerrar estomas en respuesta a una mayor pérdida de agua (transpiración), en relación a su capacidad de absorción. La MCD fue el indicador que menor capacidad de detección del estrés hídrico presentó, consecuencia del descenso gradual que experimentó la IS de este indicador a niveles de AU inferiores al 25%.

Durante el período de rehidratación, el CV medio de los indicadores estudiados fue diferente (Tabla 1). La MCD presentó una alta variabilidad en sus medidas (CV medio \approx 35%), pudiendo ser consecuencia de que el proceso de rehidratación no fue igual en todos los árboles. La variabilidad del Ψ_{tallo} , fue moderada (CV medio \approx 13%) y similar a la observada en períodos anteriores. El CV medio de la g_s fue menor en relación a períodos anteriores. Esto podría ser debido a que, durante el proceso de rehidratación la g_s de los árboles sequía aumentó progresivamente. La variabilidad del Ψ_{alba} fue menor (CV medio \approx 5%) en relación a la del resto de los indicadores evaluados, pudiendo ser consecuencia de que una vez reestablecido el riego, el estado hídrico de los árboles es más similar que durante la supresión del mismo.

Durante este período, el indicador que mayor capacidad de detección registró fue el Ψ_{alba} , mostrando una evolución en sus valores acorde con el aumento de humedad que tuvo lugar en el suelo. El g_s y el Ψ_{tallo} presentaron una baja fiabilidad, debido a que no reflejaron en gran medida las variaciones en el contenido de agua que estaban teniendo lugar en el suelo. La MCD de igual manera que en el período de estrés hídrico moderado y severo, presentó una baja capacidad para detectar el estrés hídrico.



6. CONCLUSIONES

En base a las líneas de referencia obtenidas, se puede concluir que el Ψ_{alba} se vio menos influido por las condiciones ambientales que el Ψ_{tallo} y que la MCD. La temperatura a la hora de medida (T_{alba} o T_{md} dependiendo del caso), fue el parámetro ambiental que más influyó en el comportamiento del Ψ_{tallo} , de la MCD y del Ψ_{alba} . La g_s , no se vio influida por los parámetros ambientales estudiados, indicando pues, que el cierre estomático puede estar regulado por factores, de tipo hormonal e hidráulicos, entre otros.

La sensibilidad de los diferentes indicadores estudiados varió, en función de la severidad del estrés hídrico aplicado. La MCD fue sensible únicamente en condiciones de estrés hídrico ligero, por lo que su uso es adecuado en la programación del riego.

La g_s , fue sensible hasta un nivel de estrés hídrico moderado, siendo apropiado su uso en el diseño de estrategias de RDC (nivel de estrés hídrico ligero-moderado). La alta variabilidad que presentaron las medidas de la g_s , debería ser tomada en cuenta a la hora de elegir el número de hojas controladas en el ensayo.

El Ψ_{tallo} , presentó una sensibilidad alta hasta que el nivel de estrés fue severo, por lo que se hace adecuado su uso en el diseño de estrategias de RDC para un nivel de estrés hídrico moderado-severo.

El Ψ_{alba} , fue sensible a cambios en el contenido de agua en el suelo, presentando una respuesta consistente a lo largo de todo el ensayo. El uso de este indicador, es adecuado tanto para la programación del riego, como para el diseño de estrategias de RDC a cualquier nivel de estrés.



7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdelfatah, A., Aranda, X., Savé, R., de Herralde, F., Biel, C., 2013.** Evaluation of the response of maximum daily shrinkage in young cherry trees submitted to water stress cycles in a greenhouse. *Agric. Water Manage.* 118, 150–158.
- Ballester, C., Castel, J., Intrigliolo, D.S., Castel, J.R., 2013.** Response of Navel Lane Late citrus trees to regulated deficit irrigation: yield components and fruit composition. *Irrig. Sci.* 31 (3), 333–341.
- Bonet L, Ferrer P, Castel JR, Intrigliolo DS 2010.** Soil capacitance sensors and stem dendrometers. Useful tools for irrigation scheduling of commercial orchards? *Span J Agric Res* 8:852–865.
- Celedón, J.M., Gil, P.M., Ferreyra, R., Maldonado, P., Barrera, C., 2012.** Sensitivity and variability of two plant water stress indicators: exploring criteria for choosing a plant monitoring method for avocado irrigation management. *Child. J. Agric. Res.* 72, 379–387.
- Choat, B., Jansen, S., Brodribb, T. J., Cochard, H., Delzon, S., Bhaskar, R., ... Zanne, A. E. 2012.** Global convergence in the vulnerability of forests to drought. *Nature*, 491(7426), 752–5. <http://doi.org/10.1038/nature11688>
- Chone, X., Leeuwen, C. v., Dubourdieu, D., Gaudillere, J.P., 2001.** Stem water potential is a sensitive indicator of grapevine water status. *Ann. Bot.* 87, 477–483.
- Comstock, J. 2002.** Hydraulic and chemical signaling in the control of stomatal conductance and transpiration. *J. Exp. Bot.* 53:195-200.
- Conejero, W., Ortuño, M.F., Mellisho, C.D., Torrecillas, A., 2010.** Influence of crop load on maximum daily trunk shrinkage reference equations for irrigation scheduling of early maturing peach trees. *Agricultural Water Management* 97, 333–338.
- De la Rosa JM, Domingo R, Gómez-Montiel J, Pérez-Pastor A 2015.** Implementing deficit irrigation scheduling through plant water stress indicators in early nectarine trees. *Agric. WaterManag.* 152:207–216. doi:10.1016/j.agwat.2015.01.018.
- De la Rosa, J. M., Conesa, M. R., Domingo, R., & Pérez-Pastor, A. 2014.** A new approach to ascertain the sensitivity to water stress of different plant water indicators in extra-early nectarine trees. *Scientia Horticulturae*, 169, 147–153. <http://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.02.021>.
- Dobriyal, P., A. Qureshi, R. Badola, and S.A. Hussain. 2012.** A review of the methods available for estimating soil moisture and its implications for water resource management. *J. Hydrol.* 458–459:110–117. doi:10.1016/j.jhydrol.2012.06.021.
- Dzikiti, S., Verreynne, J.S., Stuckens, J., Strever, A., Verstraeten, W.W., Swennen, R., Coppin, P. 2010:** «Determining the water status of Satsuma mandarin trees [Citrus Unshiu Marcovitch] using spectral indices and by combining hyperspectral and physiological data». *Agricultural and Forest Meteorology* 150 , 3. Pp. 369-379.
- Escalona J.M., Fuentes S., Tomás M., Martorell S., Flexas J., Medrano H., 2013.** Responses of leaf night transpiration to drought stress in *Vitis vinifera* L. *Agr. Water Manage.*, 118, 50-58.
- Fares, A., M. Safeeq, and D.M. Jenkins. 2009.** Adjusting temperature and salinity effects on single capacitance sensors. *Pedosphere* 19:588–596. doi:10.1016/S1002-0160(09)60153-3.

- Fereres, E., & Goldhamer, D. a. 2003.** Suitability of stem diameter variations and water potential as indicators for irrigation scheduling of almond trees.pdf. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 78(2), 139–144. <http://doi.org/10.1080/14620316.2003.11511596>.
- Galindo, A., Rodríguez, P., Mellisho, C. D., Torrecillas, E., Moriana, A., Cruz, Z. N., Torrecillas, A. 2013.** Assessment of discretely measured indicators and maximum daily trunk shrinkage for detecting water stress in pomegranate trees. *Agricultural and Forest Meteorology*, 180, 58–65. <http://doi.org/10.1016/j.agrformet.2013.05.006>.
- García-Orellana, Y., Ortuño, M. F., Conejero, W., & Ruiz-Sánchez, M. C. 2013.** Diurnal variations in water relations of deficit irrigated lemon trees during fruit growth period. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 11(1), 137–145. <http://doi.org/10.5424/sjar/2013111-3153>.
- García-Orellana, Y., Ruiz, S.M.C., Alarcón, J.J., Conejero, W., Ortuño, M.F., Nicolás, E., Torrecillas, A., 2007.** Preliminary assessment of the feasibility of using maximum daily trunk shrinkage for irrigation scheduling in lemon trees. *Agric. Water Manage.* 89, 167–171.
- García-Tejero I, Romero-Vicente R, Jiménez-Bocanegra JA, Martínez- García G, Durán-Zuazo, Muriel-Fernández JL 2010.** Response of citrus trees to deficit irrigation during different phenological periods in relation to yield, fruit quality, and water productivity. *Agric. Water Manage.* 97:689-699.
- García-Tejero, I., Durán-Zuazo, V.H., Arriaga-Sevilla, J., Muriel-Fernández, J.L., 2012.** Impact of water stress on citrus yield. *Agron. Sustainable Dev.* 32, 651–659.
- García-Tejero, I.F., Durán-Zuazo, V.H., Arriaga, J., Muriel-Fernández, J.L., 2012.** Relationships between trunk- and fruit-diameter growths under deficit-irrigation programmes in orange trees. *Sci. Hortic.* 133, 64–71.
- Gardner, W.H. 1986.** Water content. En: Klute A, (ed.). *Methods of soil analysis, Part 1.* Madison, USA: ASA-SSSA. p 493-544.
- Gasque, M., Martí, P., Granero, B., & González-Altozano, P. 2016.** Effects of long-term summer deficit irrigation on “Navelina” citrus trees. *Agricultural Water Management*, 169, 140–147. <http://doi.org/10.1016/j.agwat.2016.02.028>.
- Goldhamer, D., Fereres, E., 2001.** Irrigation scheduling protocols using continuously recorded trunk diameter measurements. *Irrigat. Sci.* 20, 115–125.
- Goldhamer, D.A., Fereres, E., 2004.** Irrigation scheduling of almond trees with trunk diameter sensors. *Irrigation Science* 23, 11–19.
- González-Dugo, M.P., Moran, M.S., Mateos, L., Bryant, R., 2006.** Canopy temperature variability as an indicator of crop water stress severity. *Irrig. Sci.* 24 (4), 233–240.
- Intrigliolo, D.S., and J.R. Castel. 2006a.** Performance of various water stress indicators for prediction of fruit size response to deficit irrigation in plum. *Agric. Water Manag.* 83:173-180.
- Intrigliolo, D.S., Castel, J.R., 2006.** Usefulness of diurnal trunk shrinkage as a water stress indicator in plum trees. *Tree Physiol.* 26, 303–311.
- Jones, H.G., 2007.** Monitoring plant and soil water status: established and novel methods revisited and their relevance to studies of drought tolerance. *J. Exp. Bot.* 58, 119–130.
- Kozlowski, T.T. 1997.** Responses of woody plants to flooding and salinity. *Tree Physiol. Monograph No. 1.*

- Lincoln Taiz y Eduardo Zeiger. 2006.** Fisiología Vegetal. Castellón de la Plana: Universitat Jaume I.
- Lovisolo C., Perrone I., Carra A., Ferrandino A., Flexas J., Medrano H. and Schubert A. 2010.** Drought-induced changes in development and function of grapevine (*Vitis* spp.) organs and in their hydraulic and non-hydraulic interactions at the whole-plant level: a physiological and molecular update. *Functional Plant Biology* 37, 98-116.
- Minet, J., Bogaert, P., Vanclooster, M., Lambot, S., 2012.** Validation of ground penetrating radar full-waveform inversion for field scale soil moisture mapping. *J. Hydrol.* 424–425, 112–123.
- Moreno, F., Conejero, W., Martín-Palomo, M.J., Girón, I.F., Torrecillas, A., 2006.** Maximum daily trunk shrinkage reference values for irrigation scheduling in olive trees. *Agric. Water Manag.* 84, 290–294.
- Naor, A. 2006.** Irrigation scheduling and evaluation of tree water status in deciduous orchards. *Hort. Rev.* (Amer. Soc. Hort. Sci.) 32:111–165.
- Naor, A., Cohen, S., 2003.** The sensitivity and variability of maximum trunk shrinkage, midday stem water potential, and transpiration rate in response to withholding of irrigation in field-grown trees. *Hortscience* 38, 547–551.
- Nikinmaa E, Hölttä T, Hari P, et al. 2013.** Assimilate transport in phloem sets conditions for leaf gas exchange. *Plant, Cell&Environment* 36: 655–669.
- Nortes, P.A., Pérez-Pastor, A., Egea, G., Conejero, W., Domingo, R., 2005.** Comparison of changes in stem diameter and water potential values for detecting water stress in young almond trees. *Agric. Water Manage.* 77, 296–307.
- Ortuño MF, Brito JJ, Conejero W, García-Orellana Y, Torrecillas A 2009.** Using continuously recorded trunk diameter fluctuations for estimating water requirements of lemon trees. *Irrig Sci* 27:271–276.
- Ortuño MF, Conejero W, Moreno F, Moriana A, Intrigliolo DS, Biel C, Mellisho CD, Pérez-Pastor A, Domingo R, Ruiz-Sánchez MC, Casadesus J, Bonany J, Torrecillas A 2010.** Could trunk diameter sensors be used in woody crops for irrigation scheduling? A review of current knowledge and future perspectives. *Agric Water Manag* 97:1–11.
- Ortuño MF, García-Orellana Y, Conejero W, Ruiz-Sánchez MC, Alarcón JJ, Torrecillas A 2006.** Stem and leaf water potentials, gas exchange, sap flow and trunk diameter fluctuations for detecting water stress in lemon trees. *Trees* 20, 1-8.
- Ortuño, M. F., García-Orellana, Y., Conejero, W., Ruiz-Sánchez, M. C., Mounzer, O., Alarcón, J. J., & Torrecillas, A. 2005.** Relationships between climatic variables and sap flow, stem water potential and maximum daily trunk shrinkage in lemon trees. *Plant and Soil*, 279(1-2), 229–242. <http://doi.org/10.1007/s11104-005-1302-z>
- Pagan, E., Pérez-Pastor, A., Domingo, R., Conesa, M.R., Caro, M., 2012.** Suitability of trunk diameter reference lines for irrigation scheduling with saline water in late mandarin trees with different crop load. *Agricultural Water Management* 111, 11–19.
- Pérez-Pérez JG, Dodd IC, Botía P. 2012.** Partial rootzone drying increases water-use efficiency of lemon Fino 49 trees independently of root-to-shoot ABA signalling. *Functional Plant Biology* 39, 366–378.

- Pérez-Pérez, J. G., Robles, J. M., & Botía, P. 2014.** Effects of deficit irrigation in different fruit growth stages on “Star Ruby” grapefruit trees in semi-arid conditions. *Agricultural Water Management*, 133, 44–54. <http://doi.org/10.1016/j.agwat.2013.11.002>.
- Pérez-Pérez, J.G., Robles, J.M., Botía, P., 2009.** Influence of deficit irrigation in phase III of fruit growth on fruit quality in lane latesweet orange. *Agric. Water Manage.* 96, 969–974.
- Robles, J. M., Botía, P., & Pérez-Pérez, J. G. 2016.** Subsurface drip irrigation affects trunk diameter fluctuations in lemon trees, in comparison with surface drip irrigation. *Agricultural Water Management*, 165, 11–21. <http://doi.org/10.1016/j.agwat.2015.11.008>.
- Scholander, P.F., Hammel, H.T., Bradstreet, E.A., Hemmingsen, E.A., 1965.** Sap pressure in vascular plant. *Science* 148, 339–346.
- Sdoodee, S., & Somjun, J. 2008.** Measurement of stem water potential as a sensitive indicator of water stress in neck orange (*Citrus reticulata* Blanco). *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 30(5), 561–564.
- Turner NC. 1988.** Measurement of plant water status by the pressure chamber technique. *Irrigation Science* 9:
- van Leeuwen, C., Tregogat, O., Chone, X., Bois, B., Pernet, D., Gaudillere, J.P., 2009.** Vine water status is a key factor in grape ripening and vintage quality for red Bordeaux wine. How can it be assessed for vineyard management purposes? *J. Int. Sci. Vigne Vin.* 43, 121–134.
- Vélez J.E., Intrigliolo D.S., Castel J.R., 2007.** Scheduling deficit irrigation of citrus trees with maximum daily trunk shrinkage. *Agric. Water Manage.* 90, 197-204.
- Wilkinson S, Davies WJ 2002.** ABA-based chemical signalling: the co-ordination of responses to stress in plants. *Plant, Cell & Environment* 25, 195–210. doi: 10.1046/j.0016-8025.2001.00824.x.