Caracterización de la respuesta adaptativa a sequía de dos cultivares de melocotonero en condiciones de aridez

B. Bielsa[1], J. García-Brunton[2], M.A. Sanz[3] y M.J. Rubio-Cabetas[1,*]

[1] Unidad de Hortofruticultura, Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón, Instituto Agroalimentario de Aragón – IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza), Avda. Montañana 930, 50059 Zaragoza, España

[2] Departamento de Producción Vegetal y Agrotecnología, Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (IMIDA), C/ Mayor s/n 30150 La Alberca, Murcia, España

[3] Área de Laboratorios de Análisis y Asistencia Tecnológica. Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA), Av. Montañana 930, 50059, Zaragoza, España

Resumen

Se evaluó la respuesta a sequía de dos cultivares de melocotonero con distinta época de maduración, 'Ufo-3' y 'Fergold', injertados sobre el patrón híbrido almendro × melocotonero, 'Garnem', en los veranos de 2015 y 2016 en Murcia, España. En poscosecha, los árboles se sometieron a 5 días sin riego y, posteriormente, a 5 días de recuperación de riego. Se evaluó el estado hídrico del árbol, el intercambio gaseoso, así como el contenido en ácido abscísico (ABA) foliar. Se comprobó un descenso del contenido hídrico del suelo (CHS), que ocasionó la reducción del potencial hídrico foliar (PHF) y el cierre estomático. Reiniciado el riego, el estado hídrico de los árboles estresados fue recuperado. Se observó una correlación negativa entre el PHF y el uso eficiente del agua intrínseco (UEAi) en 2015, indicando una posible estrategia de tolerancia mediante la cual se conservase la capacidad fotosintética, a pesar de los bajos valores de conductancia estomática (gs) y PHF. Por otra parte, la regulación del cierre estomático observada en los árboles estresados no fue provocada por la acumulación de ABA. Esta evaluación agronómica permitirá una mayor comprensión del posible efecto del patrón 'Garnem' en la adaptación fisiológica y bioquímica a la sequía y su comportamiento en recuperación bajo condiciones de campo áridas de los cultivares de melocotonero injertados.

Palabras clave: Estrés hídrico, híbrido almendro × melocotonero, intercambio gaseoso, patrón, *Prunus*, uso eficiente del agua.

Characterization of drought-adaptive response of two peach cultivars in arid conditions

Abstract

The drought response of two peach cultivars with different fruit maturation periods, 'Ufo-3' and 'Fergold', grafted onto the interspecific hybrid almond × peach rootstock 'Garnem', was evaluated during summers 2015 and 2016 in an experimental plot located at Murcia, Spain. After fruit harvest, the trees were subjected to of 5 days without irrigation, followed by a re-watering period of 5 days. The tree wa-

* Autor para correspondencia: mjrubioc@cita-aragon.es

Cita del artículo: Bielsa B, García-Brunton J, Sanz MA, Rubio-Cabetas MJ (2019). Caracterización de la respuesta adaptativa a sequía de dos cultivares de melocotonero en condiciones de aridez. ITEA-Información Técnica Económica Agraria 115(4): 307-325. https://doi.org/10.12706/itea.2019.010

ter status, the gas exchange, as well as the foliar abscisic acid (ABA) accumulation were evaluated. A decrease in soil water content (SWC) was verified, which caused the reduction of midday leaf water potential (LWP) and the induction of stomatal closure. Once irrigation was restored, the water status of stressed trees was recovered. A negative strong correlation between the LWP and the intrinsic water use efficiency (iWUE) was found only in 2015, suggesting a possible drought tolerance strategy that allowed maintaining the photosynthetic capacity, despite the low values of stomatal conductance (gs) and the LWP. On the other hand, the stomatal closure regulation observed in stressed trees is not caused by the accumulation of ABA. This agronomic evaluation will allow a better understanding of the possible effect of the 'Garnem' rootstock on the physiological and biochemical adaptation to drought and its behaviour in recovery period on arid field conditions of the grafted peach cultivars.

Keywords: Almond × peach hybrid, gas exchange, leaf water potential, *Prunus*, rootstock, water stress, water use efficiency.

Introducción

El melocotonero es una de las especies con mayor importancia dentro del género *Prunus*. España es el segundo productor a nivel mundial de melocotón, solo por detrás de China (FAOSTAT, 2018). Las principales zonas españolas productoras de melocotón son el Valle del Ebro y Murcia (MAPAMA, 2018). Estas regiones destacan a nivel edafoclimatológico por sus largos períodos secos con alta radiación y temperatura, y la semiaridez de sus suelos (Barradas *et al*., 2005), favorables para el desarrollo de diferentes estreses abióticos como la sequía. Aunque el cultivo del melocotonero actualmente se realiza en regadío, la producción de fruta se ve afectada bajo estas condiciones ambientales limitantes (Romero y Botía, 2006).

En periodos de sequía, como consecuencia de la falta de agua en el suelo, las plantas disminuyen su estado hídrico, provocando la puesta en marcha de diferentes mecanismos de respuesta en función de su estrategia: de escape, de evitación o de tolerancia al estrés (Blum, 2016). Estos mecanismos están asociados a la regulación de procesos fisiológicos y bioquímicos tales como el cierre estomático, el ajuste osmótico, la estabilidad de las membranas celulares y modificaciones en el crecimiento (Verslues *et al*., 2006; Blum, 2016). Una de las fitohormonas más importantes en estos procesos es el ácido abscísico (ABA), la cual está involucrada en la regulación del cierre estomático bajo condiciones de estrés (Kim *et al*., 2010; Tombesi *et al*., 2015). La falta de agua en el suelo, hace que aumente la acumulación de ABA en las raíces, desencadenando una señal bioquímica que provoca un aumento de ABA foliar, el cual induce el cierre estomático con el fin de mantener el estado hídrico de la planta, a costa de limitar la asimilación de carbono (Kim *et al*., 2010; Tombesi *et al*., 2015; Blum, 2016). La conductancia estomática (gs) disminuye como resultado del descenso del potencial hídrico foliar (PHF) (Romero y Botía, 2006) y, por tanto, esta disminución de la disponibilidad de CO_2 hace que la fotosíntesis se vea afectada, al igual que la transpiración (Chaves *et al*., 2009).

Uno de los factores más importantes asociados con la adaptación a la sequía en plantas es la eficiencia del uso del agua (UEA) (Blum, 2009). Las plantas tolerantes a la sequía son capaces de aumentar su UEA bajo estrés hídrico como consecuencia de la relación no lineal entre la asimilación de CO_2 en la fotosíntesis y la pérdida de agua transpirada, estando relacionado con la productividad de las plantas bajo condiciones de sequía (Medrano *et al*., 2015). Así, las plantas para ser eficientes bajo condiciones de sequía, necesitan equilibrar su intercambio gaseoso para

asimilar la máxima cantidad de CO_2 en la fotosíntesis, minimizando la pérdida de agua por transpiración y como consecuencia, maximizando el uso del agua del suelo (Blum, 2009).

Debido a que el sistema radicular de las plantas es el responsable de la absorción de agua y nutrientes, es imprescindible seleccionar patrones adaptados a condiciones de cultivo desfavorables como el estrés hídrico provocado por la sequía y la influencia de este sobre la variedad injertada en cuanto a transpiración y balance hídrico, entre otros factores. Esta influencia ha sido analizada en estudios previos bajo diferentes déficits hídricos y en distintos *Prunus* especialmente en melocotonero (García Brunton *et al*., 2004; Martinazzo *et al*., 2011; Jiménez *et al*., 2013; Rickes *et al*., 2017). En la actualidad, el principal reto en los programas de mejora en patrones es la creación de híbridos interespecíficos en los que se combinen caracteres de interés de diferentes especies de *Prunus*. Entre estas destacan las obtenciones híbridas, procedentes del cruzamiento entre el almendro 'Garfi' [*Prunus amygdalus* Batsch, syn *P. dulcis* (Mill.)] y el melocotonero 'Nemared' [*P. persica* (L.) Batsch], 'Garnem', 'Felinem' y 'Monegro', seleccionadas en el Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA) cuyas características principales son el vigor, la resistencia a nematodos y la adaptación a suelos calcáreos (Felipe, 2009), así como su tolerancia a la sequía (Bielsa *et al*., 2016, 2018a y 2018b).

En los últimos años, el desarrollo de nuevas técnicas como las *-ómicas* han facilitado la identificación de genes candidatos involucrados en los mecanismos de señalización molecular, permitiendo una mayor comprensión de la respuesta a sequía (Bielsa *et al*., 2018b). Esta información molecular, en su mayoría, está asociada a una respuesta fisiológica, que generalmente se ha obtenido en condiciones experimentales específicas y controladas. Es conocido que los árboles se comportan de forma diferente en condiciones de campo. Corroborando esta afirmación, Arndt *et al*. (2000) descubrieron un grado de tolerancia a la sequía en melocotoneros en condiciones de campo. En cambio, evidenciaron una falta de ajuste osmótico en plantas de melocotonero bajo condiciones controladas de sequía en invernadero. Así pues, comprender la respuesta fisiológica en campo es una cuestión crucial en los programas de mejora de portainjertos.

En este contexto, el objetivo de nuestro estudio fue determinar la respuesta fisiológica y bioquímica en condiciones de campo al estrés hídrico provocado por la sequía, así como, una vez restaurado el aporte hídrico, comprender su comportamiento en el proceso de recuperación de sus funciones homeostáticas. En particular, evaluamos el intercambio gaseoso y el estado hídrico de la planta, teniendo en cuenta la acumulación de ABA foliar en dos cultivares de melocotonero con diferentes épocas de maduración: la variedad de melocotón plano, 'Ufo-3' (maduración a finales de mayo), y el melocotonero de futo amarillo, 'Fergold' (maduración a principios de julio), ambos injertados en el híbrido interespecífico 'Garnem'. El experimento se llevó a cabo en poscosecha debido a que esta fase es clave para mantener la absorción de nutrientes, así como la producción de fotoasimilados que se utilizarán en el cercano período de formación y desarrollo de yemas y en la posterior floración (Timm *et al.*, 2007).

Material y métodos

Material vegetal y diseño experimental en campo

La evaluación de la respuesta a sequía se llevó a cabo en dos cultivares de melocotonero [*Prunus persica* (L.) Batsch] con diferentes necesidades de frío y épocas de maduración de fruto 'Ufo-3' (500 c.u. – maduración a finales de mayo) y 'Fergold' (750 c.u. – madu-

ración a principios de julio), injertados en el verano de 2013 sobre el patrón híbrido interespecífico almendro × melocotonero 'Garnem' [*P. amygdalus* Batsch, syn *P. dulcis* (Mill.) × *P. persica* (L.) Batsch]. En 2014, se establecieron en campo con un marco de plantación de 5 × 2,5 m en una parcela experimental localizada en las instalaciones del IMIDA en El Jimenado (Torre Pacheco, Murcia, 37° 45' 33,5" N, 1° 01' 33,5" W). El sistema de riego era por goteo automatizado, incluyendo dos líneas de irrigación por fila y cuatro goteros (caudal de riego de 2 l h^{-1}) por cada árbol. La cosecha se llevó a cabo en dos fechas distintas para cada año experimental (2015: 'Ufo-3'en los días 25 y 30 de mayo; 'Fergold' en los días 2 y 6 de julio; 2016: 'Ufo-3' en los días 22 y 27 de mayo; 'Fergold' en los días 27 junio y 1 julio) cogiendo los frutos de cada árbol y contando el número de frutos y su peso total; calculando los valores medios de cada bloque experimental de cada variable productiva y el error estándar, además de las medias de cada variedad y año. Tras dicha cosecha, el nivel de riego se redujo al 50% de su capacidad de campo (CC) ya que, una vez realizada la recolección, los requerimientos hídricos disminuyen, pudiendo así controlar el crecimiento vegetativo en poscosecha. El tiempo de riego establecido en el momento del experimento fue en 2015 de 2 h / día y en 2016 de 1,5 h / día desde las 9:00 (UTC +2) en ambos años.

El experimento de sequía se llevó a cabo con un diseño experimental aleatorio de 12 bloques completos (6 por cada experimento) con 10 repeticiones, y dos guardas por cada cultivar y bloque de tratamiento, llegando a un número total de 135 árboles, en dos años consecutivos: en 2015, del 10 al 20 de julio y en 2016, del 16 al 26 de septiembre, con el fin de evaluar si las condiciones climáticas son similares durante todos los meses del año en una zona con aridez muy alta. Se determinaron dos tratamientos de irrigación: control y estresado. Los árboles control mantuvieron el nivel de riego deficitario al 50% de su CC establecido tras la cosecha, con el régimen de riego detallado anteriormente a lo largo del experimento, mientras que los árboles pertenecientes al grupo estrés fueron sometidos a 5 días sin riego. Tras estos 5 días sin suministro de agua, el riego fue reestablecido con el mismo régimen hídrico que los árboles control. Los valores medios climáticos durante los dos periodos experimentales fueron los siguientes: temperatura media de 26,65 °C; humedad relativa de 64,3%; radiación solar de 28,66 MJ m^{-2} $día^{-1}$; sin precipitación; y evapotranspiración de referencia (ETo) de 6,12 mm $día^{-1}$ durante el periodo de 2015; y temperatura media de 21,89 °C; humedad relativa de 63,33%; radiación solar de 19,25 MJ m^{-2} $día^{-1}$; sin precipitación; y ETo de 3,70 mm $día^{-1}$ durante el periodo de 2016.

Evaluación del estado hídrico del suelo y del árbol

La humedad del suelo fue calculada mediante un sensor portátil de capacitancia (Diviner, 200, Sentek Pty. Ltd. Australia). Para ello se colocaron tubos de acceso de 1 m de profundidad a 30 cm del emisor y 20 cm de la línea portagotero, en la zona de influencia del bulbo húmedo y del sistema radicular, para cada uno de los bloques tratamiento. Las medidas se tomaron a intervalos de 10 cm hasta la profundidad máxima de 100 m entre las 12:00 y las 13:00 h (UTC +2) en los 0 y 5 días de tratamiento de estrés y a los 5 días de recuperación del estado hídrico.

El potencial hídrico foliar (PHF) fue calculado en cada bloque: tratamiento en hojas adultas del tercio medio superior de una rama mediante una cámara de presión de Scholander (Soil Moisture Equipment Corp. Santa Barbara, CA, EEUU) (Scholander *et al*., 1964) con tres repeticiones biológicas entre las 12:00 y las 13:00 h (UTC +2) en los días 0 y 5 del periodo de estrés y a los 5 días tras el periodo de recuperación.

El contenido relativo en agua en hoja (CRA) se estimó en cada bloque: tratamiento con dos repeticiones biológicas, según estudios previos (Barrs y Weatherley, 1962), en hojas recogidas a las 9:00 h (UTC +2). Brevemente, tres discos foliares de 1 cm de diámetro se pesaron (P) y, posteriormente se rehidrataron por inmersión en agua desionizada en placas *petri* durante 4 h a temperatura ambiente para alcanzar su peso en turgencia (PT). Finalmente, los discos foliares se sometieron a una temperatura de 80 °C durante 24 h en estufa para obtener el peso seco (PS). El CRA se calculó con la siguiente ecuación:

$$\text{CRA } \% = \frac{P - PS}{PT - PS} \times 100$$

Evaluación del intercambio gaseoso

Se tomaron valores de conductancia estomática (gs), fotosíntesis neta o asimilación de CO_2 (An), transpiración (E) y concentración de CO_2 intracelular (Ci) para evaluar el intercambio gaseoso foliar en cada bloque: tratamiento en hojas del tercio medio superior de la rama mediante el sistema portátil de Li-6400XT (Li-Cor Biosciences, Lincoln, NE, EEUU) teniendo en cuenta dos repeticiones biológicas (dos hojas por árbol). Además, el índice de uso eficiente del agua intrínseco (UEAi) se calculó como la relación. Las medidas se realizaron entre las 12:00 y las 13:00 h (UTC +2) los días 0 y 5 de estrés y a los 5 días de recuperación de riego.

Determinación del contenido de ácido abscísico foliar

Extracción de ácido abscísico

Las hojas se muestrearon por duplicado al inicio del experimento (día 0) para cada bloque del tratamiento control, tomando su valor como valor inicial y para cada bloque: tratamiento, control y estresado, en los días 5 de estrés y a los 5 días de recuperación, y se almacenaron a -80 °C. Después de liofilizar, se molieron homogéneamente en el triturador criogénico 6875 Freezer/Mill® High Capacity Cryogenic Grinder (SPEX®SamplePrep, INC., Reino Unido) con nitrógeno líquido. Para la extracción 5 mg de muestra pulverizada se trataron con 3 ml de una mezcla de acetona: agua:ácido fórmico (80:19:1, v/v/v) con agitación a 2000 rpm durante 30 min (Multi Reax Shaker, Heidolph Instruments, Schwabach, Alemania) y se centrifugó a 1000 ×*g* durante 15 min a 4 °C (Medifriger, Selecta, Barcelona, España) El proceso se repitió dos veces, se reunieron los extractos y se eliminó la cetona con una corriente de nitrógeno (SBHCONC/1 model; Stuart, Fisher Scientific Bioblock, Illkirch, Francia). Al extracto acuoso se le añadió el mismo volumen de dietil éter, se agitó y se separó. Se repitió dos veces y la capa orgánica se llevó a sequedad con nitrógeno. El extracto seco se redisolvió en 1 ml de metanol al 70% acidificado con 0,1% de ácido fórmico y se filtró (0,45 m, 13 mm Nylon, Sartorius).

Determinación de ácido abscísico por espectrometría de masas

Para la identificación de ácido abscísico (ABA) se utilizó el sistema UPLC-TQD (ACQUITY, Waters, Manchester, Reino Unido) equipado con una columna Excel 2 C18-AR (50 × 2,1 mm, ACE, Reino Unido) estabilizada a 40 °C. La fase móvil utilizada estuvo constituida por metanol 70% (disolvente A) y acetonitrilo 90% (AN) (disolvente B) con 0,1% de ácido fórmico. El gradiente se programó para cambiar linealmente: 0-1 min, 100% A; 1-2,5 min, 100-50% A; 2,5-2,8 min, 50% A; y 2,8-3 min, 100% A, con 2 min de equilibrio antes de la siguiente inyección. El flujo y el volumen de inyección fueron de 0,15 ml min^{-1} y 20 l, respectivamente.

Las condiciones del electrospray fueron las siguientes: modo de ionización negativo, vol-

taje capilar 3,0 kV, temperatura de la fuente 120 °C, temperatura de desolvatación 350 °C. El flujo de gas de cono se ajustó a 90 l h^{-1} y el del gas de desolvatación a 900 l h^{-1}. Como gas auxiliar y nebulizador se utilizó nitrógeno ultrapuro y como gas de colisión, argón. El voltaje del cono (V) y las energías de colisión (eV) se optimizaron para obtener la máxima señal, resultando 20V y 12 eV para [$^2H_6$]-ABA, y 15 V, 10 eV, y 12 eV para ABA.

El análisis se llevó a cabo en modo MRM (*Multiple Reaction Monitoring*), monitorizando la transición para [$^2H_6$]-ABA y ABA en *m/z* 269 → 159, 225; y 263 → 153, 219, respectivamente. Para la obtención de datos y su posterior tratamiento se utilizó el *software* MassLynx 4.1 (Waters).

Cuantificación de ABA

Para la cuantificación se utilizó el método de adición estándar. Para ello, a distintas alícuotas del extracto obtenido se le adicionó patrón de ABA en concentraciones de 0; 0,05; 0,1 y 0,25 ng μl^{-1}. Como patrón interno se adicionó 0,1 ng μl^{-1} [$^2H_6$]-ABA, preparado según Gómez-Cadenas *et al*. (2002).

Análisis estadístico

Los análisis estadísticos de los resultados obtenidos se llevaron a cabo con el paquete estadístico SPSS21 (IBM SPSS Statistics, EEUU). Primeramente, se comprobó la normalidad de todos los datos mediante el test de Kolmogorov-Smirnov. La identificación de las diferencias significativas entre los tratamientos se llevó a cabo mediante dos tipos de pruebas: (i) para los datos que presentaban una distribución normal (datos paramétricos) se realizó un análisis de la variancia de una vía (ANOVA), en el cual las diferencias significativas fueron obtenidas mediante la prueba de Duncan ($p \leq 0,05$); (ii) para los datos en los que la hipótesis de normalidad fuese descartada con un nivel de confianza del 95% (datos no paramétricos), se realizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). En estas pruebas estadísticas se contemplaron cuatro variables independientes y sus interacciones: cultivar, tratamiento, día y año. Por otra parte, las diferencias significativas para las variables estudias entre los dos cultivares y entre los dos tratamientos para cada día del experimento fueron determinadas mediante la prueba *t* de Student ($p \leq 0,05$).

Para determinar la asociación entre los parámetros de intercambio gaseoso (gs, An, E, Ci), así como con el PHF el UEAi y el contenido en ABA se calculó la correlación de Pearson ($p < 0,01$) para datos paramétricos y la correlación de Spearman (Rho) para datos no paramétricos ($p < 0,01$), además de un análisis de regresión.

Resultados

Las condiciones experimentales en los años 2015 y 2016 fueron las típicas del clima Mediterráneo para la región de Murcia. Sin embargo, variables climáticas como la temperatura media, radiación solar y ETo fueron diferentes para cada año. Debido a ello, los parámetros fisiológicos presentaron variaciones significativas entre 2015 y 2016 (Tabla 1). No obstante, los resultados en las interacciones mostraron que no hubo interacción de la variable año con el resto de variables como cultivar, tratamiento y día (Tabla 1). Las únicas interacciones significativas observadas fueron entre tratamiento y día, entre cultivar y día, y entre cultivar, tratamiento y día para los parámetros de respuesta fisiológica (Tabla 1). Por tanto, las diferencias observadas entre años no tuvieron una influencia significativa en la respuesta al estrés por sequía en los dos cultivares evaluados.

Tabla 1. Significancias tras el análisis de varianza para los parámetros de estado hídrico y de intercambio gaseoso medidos a lo largo del experimento de sequía.
Table 1. Significances after analysis of variance for water status and gas exchange parameters measured during the drought experiment.

	Significancias ($p \leq 0,05$)						
	PHF	gs	An	E	Ci	CHS	CRA
Cultivar (c)	ns	*	*	*	ns	ns	ns
Tratamiento (t)	*	*	*	*	*	ns	ns
Día (d)	*	*	*	ns	*	ns	*
Año (a)	*	*	*	*	*	ns	–
t × d	*	*	*	*	*	ns	ns
c × d	ns	*	ns	*	*	ns	ns
d × a	ns	ns	ns	ns	ns	ns	–
c × t	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
t × a	ns	ns	ns	ns	ns	ns	–
c × a	ns	ns	ns	ns	ns	ns	–
c × t × d	ns	*	*	*	*	ns	ns
c × d × a	ns	ns	ns	ns	ns	ns	–
c × t × a	ns	ns	ns	ns	ns	ns	–
d × t × a	ns	ns	ns	ns	ns	ns	–
c × t × d × a	ns	ns	ns	ns	ns	ns	–

PHF = Potencial hídrico foliar, gs = Conductancia estomática; An = Fotosíntesis neta; E = Traspiración; Ci = Concentración de CO_2 intracelular; CHS = Contenido hídrico del suelo; CRA = Contenido relativo de agua. *: significativo ($p \leq 0,05$); ns: no significativo ($p > 0,05$); –: sin dato.

Efectos del estrés por sequía en el contenido de humedad del suelo y el estado hídrico del árbol

El contenido hídrico del suelo (CHS) descendió conforme avanzó el tiempo sin riego, aunque sin diferencias significativas entre tratamientos y entre cultivares (Figura 1). A los 5 días de estrés, el porcentaje de CHS acumulado en los primeros 30 cm de profundidad de suelo, en los árboles estresados del cultivar 'Ufo-3', llegó a valores mínimos del 27% en 2015 y del 26% en 2016 (Figura 1A y B). En 'Fergold', el descenso fue ligeramente superior llegando a un CHS de 30% y un 28% para el primer y segundo año, respectivamente (Figura 1A y B). La restauración del riego en los árboles estresados aumentó el CHS en ambos años (Figura 1).

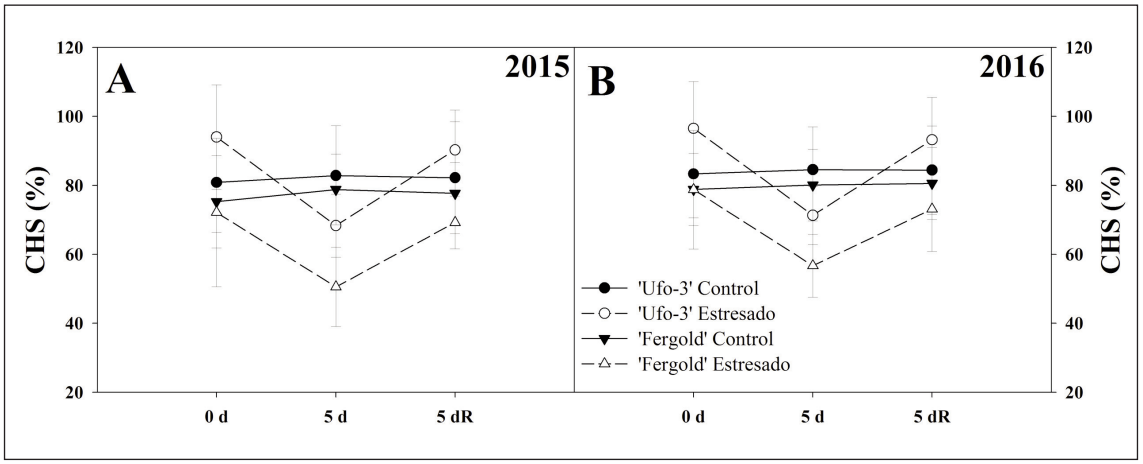


Figura 1. Evolución del contenido hídrico del suelo (CHS) acumulado en los primeros 30 cm de profundidad (A) en 2015 y (B) en 2016 a lo largo del experimento de sequía. Las barras de error representan el error estándar de la media (d = día; R = recuperación).
Figure 1. Evolution of soil water content (CHS) accumulated in the first 30 cm of depth (A) in 2015 and (B) in 2016 throughout drought experiment. Error bars represent the standard error of the mean. (d = days, R = recovery).

La sequía redujo significativamente los valores del potencial hídrico foliar (PHF) en ambos años, llegando a un mínimo de -2,3 MPa en los árboles estresados (Figura 1A y B). A los 5 días de recuperación, el PHF de los árboles estresados alcanzó valores semejantes a los registrados por su control en ambos años (Figura 1A y B). Por otra parte, dentro de cada grupo de tratamiento (control y sequía) y en cada uno de los tiempos de tratamiento (0 días, 5 días y 5 días recuperación), no se observaron diferencias significativas entre los cultivares 'Ufo-3' y 'Fergold' (Figura 1A y B).

En 2015, el contenido relativo de agua (CRA) en las hojas aumentó durante el experimento de forma similar para los tratamientos y los cultivares (Tabla 2). Sin embargo, el CRA en 'Ufo-3' fue significativamente diferente a los 5 días de recuperación con respecto a los días 0 y 5 de estrés tanto en el grupo control como estresado (Tabla 2). Mientras que en 'Fergold' se encontraron diferencias significativas entre cada uno de los tres puntos temporales (0 días, 5 días y 5 días de recuperación) del experimento en los dos tratamientos de riego (Tabla 2).

Efectos del estrés por sequía en el intercambio gaseoso

La ausencia de riego provocó diferencias en el intercambio gaseoso de los árboles. Las respuestas al estrés hídrico fueron distintas para los cultivares y el periodo de evaluación (Figura 2). Se observó un descenso significativo en los valores de conductancia estomática (gs), fotosíntesis neta (An), transpiración (E) y concentración de CO_2 intercelular (Ci) a los 5 días de estrés hídrico (Figura 2). Una vez restaurado el riego, el ascenso de estos valores en los árboles estresados fue heterogéneo. Así, los parámetros de gs y An aumentaron en ambos años, pero con diferencias significativas entre tratamientos para 2015 (Figura 2C-F). La respuesta en la tasa de E fue la más heterogénea tras 5 días de suministro

Tabla 2. Valores medios y errores estándar del contenido relativo de agua en hoja (CRA) medido en 2015 y sus diferencias estadísticas observadas entre los días del experimento (0 días, 5 días y 5 días de recuperación), dentro de cada tratamiento (control y estresado) y para cada cultivar ('Ufo-3' y 'Fergold').
Table 2. Mean values and standard errors from relative water content in leaf (RWC) measured in 2015 and its statistical differences showed among the days of the experiment (0 day, 5 days and 5 days after recovery), within each treatment (control and stressed) and within each cultivar ('Ufo-3' and 'Fergold').

Tratamiento	Cultivar	Contenido relativo de agua (CRA) (%)		
		0 d	5 d	5 dR
Control	'UFO 3'	64,50 ± 1,28 a	66,94 ± 2,11 a	91,20 ± 1,82 b
	'Fergold'	61,42 ± 1,80 a	68,07 ± 0,88 b	92,12 ± 3,71 c
Estresado	'UFO 3'	61,64 ± 1,50 a	66,84 ± 1,50 a	92,88 ± 1,46 b
	'Fergold'	65,24 ± 1,50 a	71,02 ± 1,76 b	96,69 ± 1,71 c

d = día; R = recuperación. Medias seguidas por la misma letra no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$) según la prueba de rango múltiple de Duncan.

de agua. Los árboles estresados de 'Ufo-3' alcanzaron valores de E incluso mayores significativamente que su control en ambos años (Figura 2G y H). En cambio, en los de 'Fergold' la tasa de transpiración se mantuvo en valores mínimos en 2015 y con un ligero ascenso en 2016, pero sin llegar a valores control (Figura 2G y H). Por ello, los valores de E presentaron diferencias significativas entre cultivares, además de entre tratamientos a los 5 días de recuperación (Figura 2E). Finalmente, los valores de Ci aumentaron en el periodo de recuperación tanto en 2015 como en 2016, pero sin alcanzar valores semejantes a los obtenidos el día 0 (Figura 2I y J). Se observó una alta correlación positiva entre An y gs ($r = 0,83$ en ambos años, $p < 0,01$), entre An y E ($r = 0,79$ en 2015; $r = 0,77$ en 2016, $p < 0,01$), y entre gs y Ci ($r = 0,94$ en 2015, $r = 0,91$ en 2016, $p < 0,01$) (Figura 3B-D).

El uso eficiente del agua intrínseco (UEAi) visto como la relación entre An y gs (*An/gs*), fue significativamente mayor en los árboles estresados (97,13%) que en los árboles control (74,13%) tras 5 días de exposición a la sequía en 2015 (Figura 4A). Sin embargo, en 2016 no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos después de 5 días sin riego, momento en que el ratio de UEAi alcanzó valores de 76,19% en los árboles control y de 80,69% en los árboles estresados (Figura 4B). En cambio, entre tratamientos y cultivares sí fueron encontradas diferencias significativas el día 0 en el año 2016, mostrando un valor de UEAi más bajo en 'Ufo-3' (43,04%) que en 'Fergold' (55,51%) (Figura 4B). Los árboles de ambos tratamientos, una vez reestablecido el riego en los estresados, mostraron valores de UEAi más altos que los encontrados para el día 0 en los dos años del experimento. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre cultivares o tratamientos en ese punto temporal (Figura 4). Al analizar la relación entre los valores de UEAi y PHF, se observó que cuanto más negativos eran los valores de PHF, más altos eran los valores de UEAi (Figura 3A). Estos dos parámetros fisiológicos mostraron una correlación negativa significativa ($r = –0,91$; $p < 0,01$) en 2015. En cambio, esta asociación negativa, aunque significativa, fue moderada en el segundo año ($r = –0,47$; $p < 0,01$) (Figura 3A).

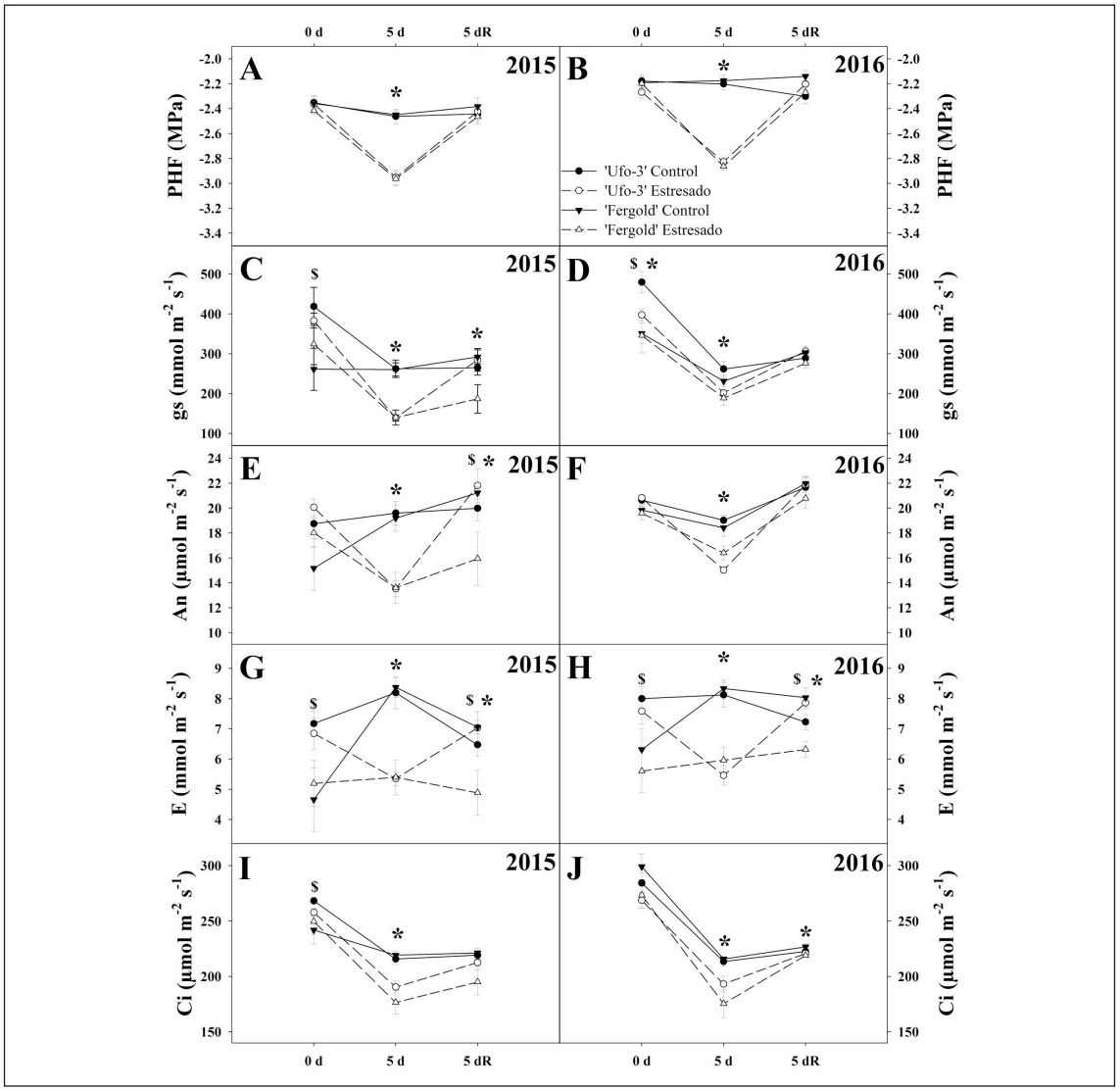


Figura 2. Evolución del (A y B) potencial hídrico foliar al mediodía (PHF), (C y D) conductancia estomática (gs), (E y F) fotosíntesis neta (An), (G y H) transpiración (E) e (I y J) concentración de CO_2 intracelular (Ci) durante el experimento de sequía en los años 2015 y 2016. Las barras de error representan el error estándar de la media. *: diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre tratamientos para cada punto temporal del experimento según la prueba *t* de Student; $: diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre cultivares para cada punto temporal del experimento según la prueba *t* de Student. d = día; R = recuperación.

*Figure 2. Evolution of (A and B) midday leaf water potential (PHF), (C and D) stomatal conductance (gs), (E and F) net photosynthesis (An), (G and H) transpiration (E) and (I and J) intracellular CO_2 concentration (Ci) during the drought experiment in the years 2015 and 2016. Error bars represent the standard error of the mean. *: significant differences ($p \leq 0.05$) between treatments for each time point of the experiment following the Student's t-test; $: significant differences ($p \leq 0.05$) between cultivars for each time point of the experiment following the Student's t-test. d = day; R = recovery.*

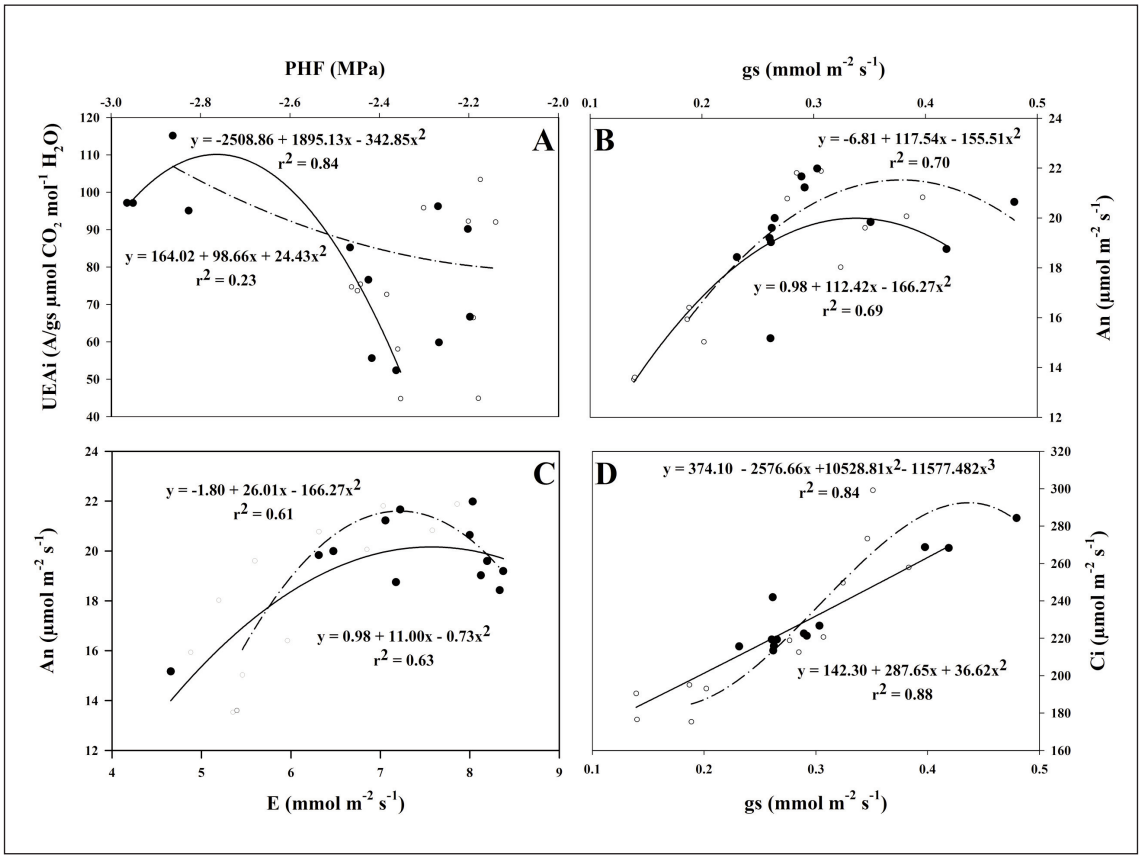


Figura 3. (A) Relación entre el uso eficiente de agua intrínseco (UEAi) y el potencial hídrico foliar (PHF); (B) relación entre fotosíntesis neta (An) y conductancia estomática (gs); (C) relación entre An y transpiración (E); y (D) relación entre la concentración de CO_2 intracelular (Ci) y gs en 2015 y 2016. Cada valor es una medida unitaria. Puntos negros: valores del grupo control; puntos blancos: valores del grupo estresado; línea sólida: curva de regresión en el año 2015; línea quebrada con puntos: curva de regresión en 2016.

Figure 3. (A) Relationship between intrinsic water use efficiency (iUEA) and leaf water potential (PHF); (B) Relationship between net photosynthesis (An) and stomatal conductance (gs); (C) Relationship between An and transpiration (E); and (D) Relationship between intracellular CO_2 concentration (Ci) and gs in both years 2015 and 2016. Each value is a single measurement. Black dots: well-watered trees; white dots: stressed trees; solid line: regression curve for year 2015; dash-dot line: regression curve for year 2016.

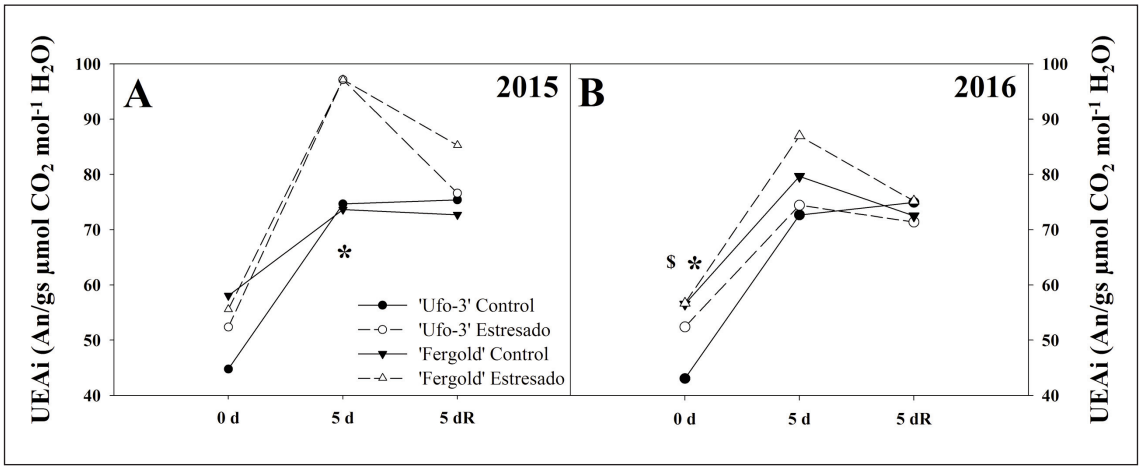


Figura 4. Evolución del uso eficiente del agua intrínseco (UEAi) en (A) 2015 y (B) 2016 durante el experimento de sequía. *: diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre tratamientos para cada punto temporal del experimento según la prueba *t* de Student; $: diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre cultivares para cada punto temporal del experimento según la prueba *t* de Student. d = día; R = recuperación.
Figure 4. Evolution of intrinsic water use efficiency (UEAi) in (A) 2015 and (B) 2016 during the drought experiment.: significant differences ($p \leq 0.05$) between treatments for each time point of the experiment following the Student's t-test; $: significant differences ($p \leq 0.05$) between cultivars for each time point of the experiment following the Student's t-test. d = day; R = recovery.*

Acumulación de ácido abscísico foliar durante el estrés

El contenido en ácido abscísico (ABA) en hojas de los árboles estudiados reveló que no existían diferencias significativas entre los tratamientos de riego (Figura 5). En los árboles control el rango de los niveles de acumulación de ABA fue entre 414,62 y 632 ng g^{-1} en 'Ufo-3', y de 450,40 y 553,49 ng g^{-1} en 'Fergold' (Figura 5). En cambio, en los árboles estresados, el contenido de ABA en 'Ufo-3' alcanzó el valor máximo de 698,11 ng g^{-1} (Figura 5), mientras que en 'Fergold' los niveles de ABA fueron menores que los valores control de 'Fergold' a los 5 días sin suministro de agua (Figura 5). Ya en el periodo de recuperación, los dos cultivares estresados mostraron niveles de ABA similares a los alcanzados en el tratamiento control (Figura 5). Al evaluar la posible correlación entre la acumulación de ABA en hojas y la respuesta fisiológica, no se encontró correlación alguna con ningún parámetro.

Discusión

Debido a que el comportamiento frente a un estrés abiótico como la sequía es diferente en función del tipo de material (plantas *vs.* árboles) y de las condiciones experimentales (controladas *vs.* campo) (Arndt *et al.,* 2000), en este estudio se evaluó la respuesta fisiológica de dos cultivares de melocotonero con diferentes necesidades de frío injertados sobre el híbrido 'Garnem' bajo condiciones de sequía durante 5 días y un periodo posterior de recuperación de 5 días, cultivados en una de las

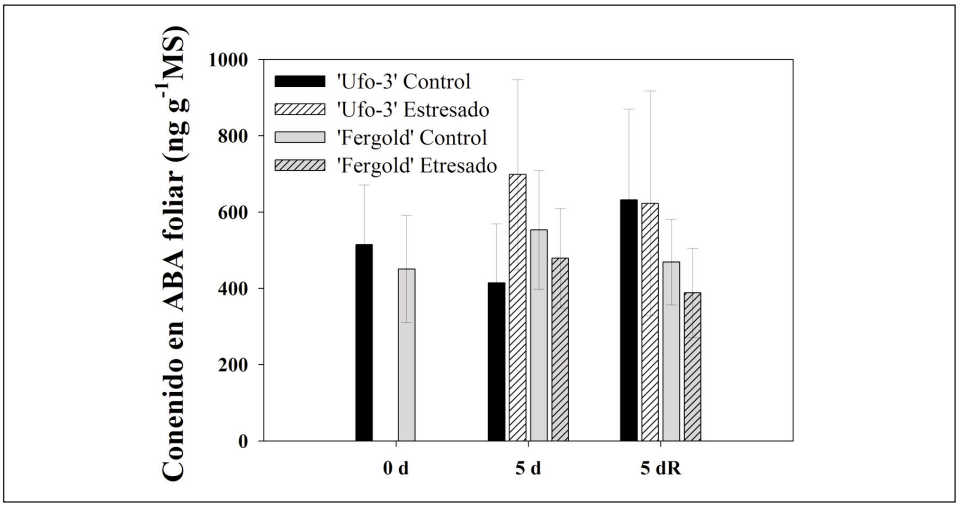


Figura 5. Contenido en ácido abscísico (ABA) foliar al inicio del experimento (0 d), a los 5 días de sequía (5 d) y al final de la fase de recuperación del estrés hídrico (5 dR) en 2015. Las barras de error representan el error estándar de la media. MS = materia seca.
Figure 5. Abscisic acid (ABA) content at the beginning of the experiment (0 d), at 5 days of drought (5 d), and at the ending of the water-stress recovery step (5 dR) 2015. Error bars represent the standard error of the mean. MS = dried weight.

regiones más áridas de España en dos años diferentes. También se analizó el papel de una de las fitohormonas más importantes en la respuesta a estrés, el ácido abscísico (ABA), y su relación con la respuesta fisiológica bajo nuestras condiciones experimentales.

La disminución de la disponibilidad de agua en el periodo de sequía revelada por el menor contenido hídrico del suelo (CHS) acumulado en los primeros 30 cm de profundidad, junto con los valores significativamente inferiores de potencial hídrico foliar (PHF) presentes en los árboles estresados ponen de manifiesto el estrés hídrico al que fueron sometidos (Figuras 1, 2A y 2B). Una tendencia similar de disminución en los valores de PHF también ha sido descrita en estudios anteriores llevados a cabo tanto en almendro, como en especies híbridas de *Prunus* (Isaakidis *et al.*, 2004; Yadollahi *et al.*, 2011), así como en melocotonero injertado sobre 'GF-677' (Mellisho *et al.*, 2011). Mientras que el mantenimiento del bulbo húmedo en el grupo control confirmó que estos árboles control conservaron su suministro hídrico durante el experimento, aunque deficitario, para controlar el crecimiento vegetativo en postcosecha. Este hecho provocó que los árboles control se comportaran como plantas derrochadoras de agua (Levitt, 1980). Es decir, con PHFs al mediodía cercanos a -2 MPa, mantuvieron sus estomas abiertos, conservando la actividad fotosintética, lo que evitó que sus funciones homeostáticas se viesen mermadas (Figuras 1 y 2). Valores similares de PHF al mediodía para el tratamiento control fueron también recogidos en un estudio anterior realizado en árboles de melocotonero injertado en el híbrido 'GF-677' sometidos a sequía en condiciones de campo (Mellisho *et al*., 2011).

El descenso del CHS en los árboles estresados fue diferente en función del cultivar. En 'Fergold' (cultivar con época de maduración de fruto más tardía) este descenso fue mayor

que en 'Ufo-3' (cultivar con época de maduración de fruto más temprana) tanto en 2015, como 2016 (Figura 1). Las diferencias en la demanda hídrica de cada cultivar, basado en sus distintas fechas de maduración de fruto, y el grado de adaptación al ambiente estresante de la zona del experimento, podrían explicar las diferencias encontradas en el CHS. 'Ufo-3' madura un mes antes que 'Fergold'. Por tanto, el consumo de agua por parte de 'Ufo-3' sería menor que por parte de 'Fergold' en el momento del experimento. Como consecuencia, el descenso en CHS sería menos pronunciado en 'Fergold'.

En cuanto al intercambio gaseoso, las diferencias significativas observadas en los árboles control en ambos años, pero más evidentes en el primer año (Figura 2), sugieren que existen otros factores que afectan al estado hídrico de la planta. Entre ellos destacan condiciones ambientales como temperatura, luz, humedad y CO_2, además del papel de diferentes fitohormonas en la regulación de procesos como el cierre estomático, generando cambios en los mecanismos de transpiración y fotosíntesis (Assmann y Shimazaki, 1999), y de aspectos morfológicos como la dimensión de la copa del árbol y la carga de frutos de cada cultivar. Sin embargo, aunque las tasas de intercambio gaseoso de estos árboles control no se mantuvieron estables durante el experimento, sí permanecieron por encima de los valores alcanzados por los árboles estresados (Figura 2). Por otra parte, cabe destacar que al evaluar el posible efecto del año (posible efecto debido a la distinta fecha de realización del experimento en cada año) en las diferentes variables analizadas, se comprobó que este no fue significativo y, por tanto, no explicaría las diferencias encontradas en el intercambio gaseoso de los árboles control.

La caída del PHF por la escasez de agua provoca un fallo hidráulico como consecuencia de un probable embolismo inducido en vasos de xilema (Brodribb *et al.,* 2016). Para evitar este fallo, la planta es capaz de regular el cierre estomático, provocando cambios en el intercambio gaseoso, controlando así las pérdidas de agua y llevando a la planta a un ajuste osmótico (Jones y Sutherland, 1991). Por tanto, la planta es capaz de adaptarse a las nuevas condiciones desfavorables de estrés. Este efecto pudo ser comprobado en nuestro experimento a través del descenso observado en los distintos parámetros relacionados con el intercambio gaseoso estudiados a los 5 días de estrés (Figura 2C-J). Los árboles estresados, para mantener sus reservas hídricas, cerraron sus estomas, provocando la caída de la conductancia estomática (gs) (Figura 2C y D). De la misma manera, el flujo de CO_2 se vio restringido, causando una reducción en la transpiración (E) (Figura 2G y H) y limitando también los procesos fotosintéticos, reflejados en el descenso de la fotosíntesis neta (An) (Figura 2E y F) (Verslues *et al.*, 2006). Resultados similares han sido encontrados en estudios anteriores en los que diferentes especies de *Prunus* como almendro (Isaakidis *et al.*, 2004; Romero *et al*., 2004; Espadafor *et al*., 2017), melocotonero (Mellisho *et al*., 2011; Rickes *et al.*, 2017) y patrones híbridos de *Prunus* (Martinazzo *et al.,* 2011; Jiménez *et al*., 2013) sometidos a estrés hídrico a largo plazo han mostrado un descenso significativo en los parámetros estudiados relacionados con el intercambio gaseoso. La relación existente entre el cierre de estomas y la caída de las tasas de intercambio gaseoso quedó confirmada en la alta correlación encontrada entre los valores de gs, An, E y Ci (Figura 3B-D), al igual que en estudios anteriores realizados en almendro para diferentes déficits de riego (Romero *et al*., 2004; Romero y Botía, 2006).

Pasados los 5 días tras el restablecimiento del sistema de riego en el grupo estresado, tanto el estado hídrico como las tasas de intercambio gaseoso alcanzaron valores similares que los árboles del grupo control, a excepción de los valores de gs, An y E en 'Fergold'

(Figura 2C, E, G y H). Las diferencias encontradas en los valores de gs, An y E en el día 5 de recuperación entre los árboles control y estresados de 'Fergold' podría indicar un daño irreversible en el aparato fotosintético durante el periodo de estrés, el cual no le permitiría recuperar la absorción de CO_2 de la misma manera que a 'Ufo-3' (Romero *et al.*, 2004). La mejor recuperación del estado hídrico, así como de sus funciones fotosintéticas en el cultivar 'Ufo-3' injertado sobre 'Garnem' con respecto a 'Fergold', representaría una estrategia de tolerancia al estrés seguida por este cultivar como respuesta a sequía (Romero *et al*., 2004). Estudios previos han demostrado una tendencia similar en las tasas de intercambio gaseoso una vez restaurado el régimen de riego. Así, Rickes *et al.* (2017) observaron que las plantas de melocotonero injertado en diferentes patrones de *Prunus* ya alcanzaba valores similares a los de las plantas control, salvo para una de las combinaciones de patrón/variedad en la que el valor de An se mantuvo un 25% por debajo de los valores control. Esta falta de recuperación inmediata en las tasas de intercambio gaseoso también fue observada en almendro sometido a sequía en condiciones de campo, donde a los 15 días de recuperación los valores de gs, E y An seguían por debajo de los control (Romero *et al.*, 2004).

Al analizar la relación entendida como uso eficiente del agua intrínseco (UEAi), se observó que el UEAi fue significativamente mayor en los árboles estresados que en los control a los 5 días de estrés (Figura 4). Los árboles con disponibilidad de agua no necesitan regular sus recursos. Por tanto, en condiciones ambientales adversas, en lugar de cerrar sus estomas para conservar sus reservas hídricas, los mantienen abiertos continuando con su actividad fotosintética, a expensas del gasto hídrico en la transpiración, lo que se traduce en un efecto negativo en su UEA. En cambio, los árboles sin recursos hídricos en este estudio, a pesar de disminuir su PHF, trataron de hacer más eficiente su reserva hídrica mediante el cierre de estomas y evitar las pérdidas por transpiración, a costa de reducir su capacidad fotosintética (Figuras 1 y 2) y, por tanto, aumentado su UEAi (Figura 4). Este tipo de comportamiento es propio de plantas con una estrategia de tolerancia a la sequía (Blum, 2009). La correlación negativa encontrada entre el UEAi y el PHF (Figura 3A) corroboraría este comportamiento en nuestro estudio. Estos resultados coinciden con estudios previos en vid (Medrano *et al.*, 2015) y en diferentes patrones de *Prunus* (Jiménez *et al.*, 2013). En el primer año, se observó un aumento progresivo del contenido relativo de agua (CRA) en los árboles estresados (Tabla 2), al contrario que en estudios anteriores donde el porcentaje de CRA se ve reducido en plantas sometidas a sequía (Romero *et al.*, 2004; Bolat *et al.*, 2014). Al no poseer datos de CRA en el segundo año, este comportamiento no pudo ser corroborado en nuestro estudio. Aunque bien es cierto que existen estudios anteriores donde al evaluar la respuesta a sequía en cultivares de melocotonero injertados sobre el híbrido 'GF-677', encontraron niveles de CRA en los árboles estresados superiores a su control (Mellisho *et al.*, 2011). Resultados similares se obtuvieron en el almendro 'Ramillete' injertado sobre 'Atocha' (Torrecillas *et al.*, 1996), sugiriendo que este comportamiento es una característica de plantas xerofíticas como el almendro. En nuestro experimento, los cultivares estudiados injertados sobre el híbrido almendro × melocotonero 'Garnem' podrían compensar su absorción de agua y evitar la pérdida como estrategia de evitación de la sequía por efecto del patrón sobre la variedad. Esto permitiría un mejor ajuste osmótico y el mantenimiento de un alto contenido de agua a pesar de los bajos valores de PHF observados en los árboles estresados en nuestro estudio (Verslues *et al.*, 2006). Aunque, como ya se ha mencionado, es una hipótesis que tendría que ser corroborada en estudios posteriores.

En nuestro estudio, observamos niveles de ABA altos en los árboles control a lo largo de todo el experimento (Figura 5), los cuales podrían deberse a los bajos valores de PHF presentes en estos árboles control (Figura 2A y B). Sin embargo, este contenido en ABA foliar no estaría implicado en la regulación del cierre estomático ya que este no se dio. Hecho confirmado con los valores encontrados en las tasas de intercambio gaseoso (Figura 2C-J). Las diferencias entre las concentraciones de ABA entre los árboles control y los estresados no fueron significativas (Figura 5), sugiriendo que el nivel de estrés experimentado durante los 5 días sin riego no fue percibido como severo por los árboles estresados. Son numerosos los estudios realizados hasta el momento en cuanto a la relación entre el contenido en ABA y la respuesta a estrés por sequía en diferentes especies (Forner-Giner *et al.*, 2011; de Ollas *et al.*, 2013; Seiler *et al.*, 2014; Zandalinas *et al.*, 2016). Sin embargo, la mayoría de ellos se han llevado a cabo con plantas en maceta y condiciones controladas en invernadero, no en campo. Los resultados obtenidos en nuestro estudio en relación al contenido de ABA, junto con la falta de correlación entre la respuesta bioquímica y la fisiológica, sugieren una clara diferencia en el comportamiento en función de las condiciones de cultivo y ambientales, maceta en invernadero frente a árboles en campo. Un entorno seco y árido como la región de Murcia, donde los árboles con suministro de agua alcanzaron valores de PHF ya cercanos a -2 MPa (Figura 2A y B), crea una respuesta fisiológica rápida en árboles sin disponibilidad de agua, pero un periodo de 5 días sin riego no es suficiente para desencadenar una respuesta bioquímica en la que esté implicado el ABA.

Conclusiones

Los dos cultivares de melocotonero, 'Ufo-3' y 'Fergold' injertados sobre el híbrido 'Garnem', bajo condiciones de campo y sin suministro de agua durante 5 días, pusieron en marcha diversos mecanismos de respuesta fisiológica que permitieron realizar una estrategia de evitación a la sequía. Esta respuesta se ve reflejada en los bajos valores de potencial hídrico foliar (PHF) y las bajas tasas de intercambio gaseoso encontradas, que conllevan a la conservación del contenido relativo de agua en hoja (CRA). Todo ello tiene como consecuencia que estos árboles estresados sean capaces de realizar un ajuste osmótico, que permitió preservar la homeostasis de las células. Así, los árboles estresados fueron capaces de dar un uso más eficiente a la escasa reserva hídrica que poseía el suelo. Con todo ello, se puede afirmar que los dos cultivares mostraron adaptabilidad a la sequía resultante de su estrategia de evitación. Cabe señalar que debido a la menor capacidad fotosintética observada en 'Fergold' una vez restaurado el riego, se puede considerar que esta adaptabilidad es mayor en el cultivar 'Ufo-3'. La falta de variabilidad encontrada en el contenido de ácido abscísico (ABA) foliar de los árboles estresados frente al contenido de ABA en los árboles control, ponen de manifiesto que el ABA no estuvo implicado en la regulación estomática llevada a cabo por los árboles estresados.

Agradecimientos

Este estudio ha sido subvencionado por el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (RTA2014-00062). B. Bielsa es beneficiaria de una beca predoctoral FPI-INIA. También, agradecer al Dr. Pascual Romero Azorín (IMIDA – Murcia) su contribución en la toma de datos fisiológicos durante el experimento.

Referencias bibliográficas

Arndt SK, Wanek W, Clifford SC, Popp M (2000). Contrasting adaptations to drought stress in field-grown *Ziziphus mauritiana* and *Prunus persica* trees: water relations, osmotic adjustment and carbon isotope composition. Australian Journal of Plant Phisiology 27: 985-996. https://doi.org/10.1071/PP00022

Assmann SM, Shimazaki K (1999). The multisensory guard cell. Stomatal responses to blue light and abscisic acid. Plant Physiology 119(3): 809-815. https://doi.org/10.1104/pp.119.3.809

Barradas VL, Nicolás E, Torrecillas A, Alarcón JJ (2005). Transpiration and canopy conductance in young apricot (*Prunus armenica* L.) trees subjected to different PAR levels and water stress. Agricultural Water Management 77(1-3): 323-333. https://doi.org/10.1016/j.agwat.2004.09.035

Barrs HD, Weatherley PE (1962). A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. Australian Journal of Biological Sciences 15(3): 413-428. https://doi.org/10.1071/BI9620413

Bielsa B, Leida C, Rubio-Cabetas MJ (2016). Physiological characterization of drought stress response and expression of two transcription factors and two LEA genes in three *Prunus* genotypes. Scientia Horticulturae 213: 260-269. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.11.006

Bielsa B, Bassett C, Glenn DM, Rubio-Cabetas MJ (2018a). Assessing field *Prunus* genotypes for drought responsive potential by carbon isotope discrimination and promoter analysis. Agronomy 8:42. https://doi.org/10.3390/agronomy8040042

Bielsa B, Hewitt S, Reyes-chin-wo S, Dhingra A, Rubio-Cabetas MJ (2018b). Identification of water use efficiency related genes in 'Garnem' almond-peach rootstock using time-course transcriptome analysis. PLoS One 13(10): e0205493. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205493.

Blum A (2009). Effective use of water (EUW) and not water-use efficiency (WUE) is the target of crop yield improvement under drought stress. Field Crops Research 112(2-3): 119-123. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2009.03.009

Blum A (2016). Stress, strain, signaling, and adaptation - Not just a matter of definition. Journal of Experimental Botany 67(3): 562-565. https://doi.org/10.1093/jxb/erv497

Bolat I, Dikilitas,M, Ercisli S, Ikinci A, Tonkaz T (2014). The effect of water stress on some morphological, physiological, and biochemical characteristics and bud success on apple and quince rootstocks. Scientific World Journal. 2014: 769732. http://dx.doi.org/10.1155/2014/769732

Brodribb TJ, Bienaimé D, Marmottant P (2016). Revealing catastrophic failure of leaf networks under stress. Proceedings of the National Academy of Sciences 113(17): 4865-4869. https://doi.org/10.1073/pnas.1522569113

Chaves MM, Flexas J, Pinheiro C (2009). Photosynthesis under drought and salt stress: Regulation mechanisms from whole plant to cell. Annals of Botany 103(4): 551-560. https://doi.org/10.1093/aob/mcn125

Espadafor M, González-Dugo V, Orgaz F, Testi L, López M, Fereres E (2017). Water relations in almond trees under moderate water deficits. Acta Horticulturae 1150: 113-118. https://doi.org/10.1093/aob/mcn125

FAOSTAT (2018). Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics Division. Disponible en: http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC (Consultado: 4 junio 2018)

Felipe AJ (2009). 'Felinem', 'Garnem', and 'Monegro' almond × peach hybrid rootstocks. HortScience 44(1): 196-197. https://doi.org/10.21273/HORTSCI.44.1.196

Forner-Giner MA, Rodríguez-Gamir J, Primo-Millo E, Iglesias DJ (2011). Hydraulic and Chemical Responses of Citrus Seedlings to Drought and Osmotic Stress. Journal of Plant Growth Regulation 30(3): 353-366. https://doi.org/10.1007/s00344-011-9197-9

García Brunton J, Rincón L, Sáez J (2004). The response of 'Catherine' cultivar peach trees grafted on sixteen rootstocks under four irrigation levels. Acta Horticulturae 658: 145-150. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2004.658.20

Gómez-Cadenas A, Pozo OJ, García-Augustín P, Sancho JV (2002). Direct analysis of abscisic acid

in crude plant extracts by liquid chromatography-electrospray/tandem mass spectrometry. Phytochemical analysis 13(4): 228-234. https://doi.org/10.1002/pca.640

Isaakidis A, Sotiropoulos T, Almaliotis D, Therios I, Stylianidis D (2004). Response to severe water stress of the almond (*Prunus amygdalus*) 'Ferragnès' grafted on eight rootstocks. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science 32(4): 355-362. https://doi.org/10.1080/01140671.2004.9514316

Jiménez S, Dridi J, Gutiérrez D, Moret D, Irigoyen JJ, Moreno MA, Gogorcena Y (2013). Physiological, biochemical and molecular responses in four *Prunus* rootstocks submitted to drought stress. Tree physiology 33(10): 1061-1075. https://doi.org/10.1093/treephys/tpt074

Jones HG, Sutherland RA (1991). Stomatal control of xylem embolism. Plant, Cell and Environment 14(6): 607-612. https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1991.tb01532.x

Kim T-H, Böhmer M, Hu H, Nishimura N, Schroeder JI (2010). Guard cell signal transduction network: advances in understanding abscisic acid, CO_2, and Ca^{2+} signaling. Annual Review of Plant Biology 61(1): 561-591. https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042809-112226

Levitt J (1980). Responses of Plants to Environmental Stresses. Vol. II. Water, Radiation, Salt and Others Stresses. Academic Press, New York, pp. 395-434.

MAPAMA (2018). Anuario de Estadística. Avance 2017. Disponible en: http://www.mapama.gob.es/estadistica/pags/anuario/2016-Avance/avance/AvAE16.pdf (Consultado: 4 junio 2018).

Martinazzo EG, Perboni AT, Farias ME, Bianchi VJ, Bacarin MA (2011). Photosynthetic activity in the rootstock of hybrid peach trees submitted to water restriction and flooding. Brazilian Journal of Plant Physiology 23(3): 231-236. http://dx.doi.org/10.1590/S1677-04202011000300007

Medrano H, Tomás M, Martorell S, Flexas J, Hernández E, Rosselló J, Pou A, Escalona JM, Bota J (2015). From leaf to whole-plant water use efficiency (WUE) in complex canopies: Limitations of leaf WUE as a selection target. The Crop Journal 3(3): 220-228. https://doi.org/10.1016/j.cj.2015.04.002

Mellisho CD, Cruz ZN, Conejero W, Ortuño MF, Rodríguez P (2011). Mechanisms for drought resistance in early maturing cvar Flordastar peach trees. The Journal of Agricultural Science 149(5): 609-616. https://doi.org/10.1017/S0021859611000141

de Ollas C, Hernando B, Arbona V, Gómez-Cadenas A (2013). Jasmonic acid transient accumulation is needed for abscisic acid increase in citrus roots under drought stress conditions. Physiologia Plantarum 147: 296-306. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2012.01659.x

Rickes LN, Klumb EK, Silva CDS, Bacarin MA, Bianchi VJ (2017). Water deficit affects gas exchange in peach trees cultivar 'Chimarrita' grafted onto different rootstocks. Irriga 22(1): 140-153. https://doi.org/10.15809/irriga.2017v22n1p140-153

Romero P, Navarro JM, García F, Botía Ordaz P (2004). Effects of regulated deficit irrigation during the pre-harvest period on gas exchange, leaf development and crop yield of mature almond trees. Tree Physiology 24(3): 303-312. https://doi.org/10.1093/treephys/24.3.303

Romero P, Botía P (2006). Daily and seasonal patterns of leaf water relations and gas exchange of regulated deficit-irrigated almond trees under semiarid conditions. Environmental and Experimental Botany 56(2): 158-173. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2005.01.012

Scholander PF, Hammel HT, Hemmingsen EA, Bradstreet ED (1964). Hydrostatic Pressure and Osmotic Potential in Leaves of Mangroves and Some Other Plants. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 52(1): 119-25.

Seiler C, Harshavardhan VT, Reddy PS, Hensel G, Kumlehn J, Eschen-Lippold L, Rajesh K, Korzun V, Wobus U, Lee J, Selvaraj G, Sreenivasulu N (2014). Abscisic acid flux alterations result in differential abscisic acid signaling responses and impact assimilation efficiency in barley under terminal drought stress. Plant Physiology 164(4): 1677-16796. https://doi.org/10.1104/pp.113.229062

Timm LC, Tavares VEQ, Reisser C, Moro M (2007). Manejo de irrigação na cultura de pessegueiro: manual técnico. Ed. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, Brazil. 110 pp.

Tombesi S, Nardini A, Frioni T, Soccolini M, Zadra C, Farinelli D, Poni S, Palliotti A (2015). Stomatal closure is induced by hydraulic signals and maintained by ABA in drought-stressed grapevine. Scientific Reports 5: 12449. https://doi.org/10.1038/srep12449

Torrecillas A, Alarcón J, Domingo R, Planes J, Sánchez-Blanco M (1996). Strategies for drought resistance in leaves of two almond cultivars. Plant Science 118: 135-143. https://doi.org/10.1016/0168-9452(96)04434-2

Verslues PE, Agarwal M, Katiyar-Agarwal S, Zhu J, Zhu J-K (2006). Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. The Plant Journal 45(4): 523-39. https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2005.02593.x

Yadollahi A, Arzani K, Ebadi A, Wirthensohn M, Karimi S (2011). The response of different almond genotypes to moderate and severe water stress in order to screen for drought tolerance. Scientia Horticulturae 129: 403-413. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.04.007

Zandalinas SI, Rivero RM, Martínez V, Gómez-Cadenas A, ArbonaV (2016). Tolerance of citrus plants to the combination of high temperatures and drought is associated to the increase in transpiration modulated by a reduction in abscisic acid levels. BMC Plant Biology 16(1): 105. https://doi.org/10.1186/s12870-016-0791-7

(Aceptado para publicación el 8 de abril de 2019)