

PARAMETROS QUIMICOS INDICADORES DE DAÑOS PRODUCIDOS POR FUEGO EN *Pinus pinaster* Ait.: NUTRIENTES, CAPACIDAD BUFFER, IMINOACIDOS Y COMPUESTOS FENOLICOS

M. ALONSO
M.J. ROZADOS
J.A. VEGA
S. BARA
P. CUIÑAS

Centro de Investigaciones Forestales. Consellería de Medio Ambiente. Xunta de Galicia
Apdo. 127, 36080 Pontevedra (ESPAÑA)

RESUMEN

Se evalúan los cambios que producen distintas intensidades de fuego (146 Kw/m, QII; 357 Kw/m, QI y 423 Kw/m, QIII) en el nivel de algunos parámetros químicos en acículas, brotes y raíces de árboles de *P. pinaster* situados en Pontevedra-Galicia.

Las acículas son la parte de la planta donde se detectaron más variaciones en los parámetros analizados, debido al impacto del fuego. En ellas, el ac. protocatéquico libre es el parámetro más sensible, ya que su contenido descende en los tres tratamientos ensayados, en un 48 p. 100 para QII, 40 p. 100 para QI y 68 p. 100 para QIII con relación a los árboles testigo T. El ac. p. hidroxibenzoico libre es también un buen indicador, descendiendo en las parcelas QII y QI en un 61 y 78 p. 100, respectivamente, y se incrementa hasta un 96 p. 100 para la parcela quemada con mayor intensidad (QIII). El contenido de fósforo baja para los fuegos en QI y QIII en un 26 y 47 p. 100, respectivamente.

El fuego de mayor intensidad, QIII, induce cambios en múltiples parámetros en las acículas además de los ya mencionados; así, se hacen menores los valores de potasio, zinc, poder buffer y se incrementan los valores de calcio, cobre, hierro, astringencia, polifenoles totales, taninos condensados, L-prolina libre, ac. gálico libre, ac. protocatéquico y siríngico combinados en forma de éster.

En las raíces, un buen indicador es el zinc, disminuyendo para los tres niveles de intensidad estudiados. El contenido de polifenoles totales también lo hace en QII y QIII, mientras que el ac. p-hidroxibenzoico libre se incrementa sólo en la parcela QIII.

En los brotes, a excepción de la capacidad buffer, que se reduce para QIII, no se encuentran cambios apreciables en ningún otro parámetro.

PALABRAS CLAVE: Fuego
P. pinaster
Daño
Nutrientes
Indicadores
Buffer
Polifenoles

Recibido: 10-2-97

Aceptado para su publicación: 21-10-98

INTRODUCCION

El conocimiento de los cambios biofísicos (Bará *et al.*, 1990) y bioquímicos (Alonso *et al.*, 1993a), (Rozados, Alonso, 1991); (Rozados *et al.*, 1993b) en plantas forestales sometidas a algún tipo de estrés, conjuntamente con el seguimiento de los daños producidos (Vega *et al.*, 1987; Harrington, 1993; Ryan, Steel, 1989; Swezy, Agee, 1991) es de gran utilidad para sentar unas posibles bases en cuanto a los niveles de ciertos parámetros bioquímicos o biofísicos, que puedan indicar el estado de salud de esas especies.

Cambios en ciertos parámetros bioeléctricos han sido detectados por Bará *et al.* (1992); así, un descenso en la conductividad medida en el tronco diferencia árboles de *Pinus radiata* dañados por fuego de los testigo; de la misma manera lo hace el seguimiento por ondas cuadradas, siendo los voltajes de salida mayores en los árboles quemados, pudiendo ayudar a predecir la mortandad postincendio de los árboles al mes siguiente del fuego. A la misma conclusión se llega para la especie *Eucalyptus globulus* (Bará *et al.*, 1994).

Algunos autores han estudiado los niveles de determinadas sustancias en hojas de especies forestales después de haber sido sometidas a fuego. Una reducción en los niveles de nitrógeno y fósforo en hojas de *Eucalyptus marginata* después de un fuego intenso, fue observada por Glossop *et al.* (1980). Nosotros hemos apreciado un descenso en el contenido de ac. protocatéquico y gálico libres y un incremento del ac. gálico ligado en forma de éster en acículas de brinzales de *Pinus pinaster* a las que se le habían producido quemaduras con un soplete en el tronco (Alonso *et al.*, 1993a); también hemos observado en brotes de árboles de *Pinus pinaster*; después de haber sufrido un fuego prescrito o un incendio, descensos en el porcentaje relativo de α -pineno (Alonso *et al.*, 1993b). Después de un incendio, en una masa de *Pinus pinaster* hay una acumulación de L-prolina libre en las acículas (Rozados *et al.*, 1992), y lo mismo ocurre en esta especie después de un fuego prescrito de una cierta intensidad (Rozados *et al.*, 1993a).

Sin embargo, todavía no existe un nivel de información adecuado sobre el efecto del fuego en los cambios bioquímicos del arbolado afectado por este tipo de estrés. El objetivo del presente trabajo es contribuir a esa información determinando cambios en nutrientes, pH, polifenoles, iminoácidos que tienen lugar a corto plazo en la parte aérea y radical de árboles de *P. pinaster* sometidos a fuegos de intensidad moderada pero no tan fuerte como para provocar la muerte del árbol, tratando de discernir el efecto de tres niveles de intensidad lineal del fuego.

MATERIAL Y METODOS

Lugar de la experiencia, tipo de arbolado y niveles del tratamiento

En el monte Castrove (Pontevedra) se seleccionaron cuatro rodales en una masa de *Pinus pinaster* de 19 años.

Las especies más abundantes del sotobosque son: *Pteridium aquilinum*, *Ulex minor*, *Erica cinerea*, *E. umbellata*, *Calluna vulgaris*, *Daboecia polifolia*, *Potentilla erecta*, *Agrostis capillaris*, *A. curtissi*, *Pseudoarrenatherum longifolium* y *Carex* sp.

Para el experimento se establecieron cuatro parcelas de 10 x 25 m, distribuyéndose aleatoriamente entre los siguientes niveles de tratamiento con fuego: nivel 0 (no fuego) para la parcela control (T), nivel 1 (baja), entre 100 y 200 Kw.m⁻¹ de intensidad lineal (par-

cela QII), nivel 2, intensidad suave, entre 200 y 400 Kw.m⁻¹ (parcela QI) y nivel 3, moderado, de 400 a 600 Kw.m⁻¹ (parcela QIII). La parcela QIII se quemó el 22 de mayo y las restantes el 24 de junio, es decir, con algo más de un mes de diferencia, por circunstancias meteorológicas.

La orientación de las parcelas es NO (320°), altitud 425 m, densidad 640 arb/ha. Algunas características dasonómicas y fisiográficas de los sitios se muestran en la Tabla 1.

TABLA 1
CARACTERISTICAS FISIOGRAFICAS Y DASONOMICAS DE LAS PARCELAS
Physiographic and dasonomic characteristics of the plots

	T	QI	QII	QIII
Pendiente (%)	9,4	7,9	7,9	7,9
Diámetro normal arb. (cm)	18,0	18,2	18,4	15,6
Altura media arb. (m)	11,16	10,96	10,23	8,97
Espesor de corteza arb. (cm)	1,4	1,2	1,3	1,4

Caracterización del fuego

En las parcelas destinadas a quemar se acumularon restos de poda del arbolado, dejándolos secar durante varios meses, en cantidades progresivamente crecientes desde QI a QIII. El objetivo fue incrementar la carga inicial en dichas parcelas, favoreciendo una intensidad de quema mayor y también aumentando paulatinamente de QI a QIII. Antes de la adición de los restos, se efectuó un muestreo de la cantidad de combustible inicial presente, recogiendo la vegetación viva y seca presente en el interior de tres cuadrados de un m² distribuidos de forma aleatoria y, respectivamente, dentro de cada una de las tres franjas rectangulares de igual tamaño en que se consideró dividida cada parcela. La carga de restos de poda se pesó en el campo antes de ser añadida a la parcela; se tomaron submuestras para determinar su contenido de agua en el laboratorio y una cantidad equivalente al 10 p. 100 de la carga añadida a la parcela fue utilizada para determinar en el laboratorio la proporción de los distintos tipos de combustibles. Ese material fue clasificado por estratos tipo (mantillo, hojarasca y superficial) y rangos de tamaño (diámetro > 5 mm; comprendido entre 6-25 mm y entre 15 y 25 mm, respectivamente), secándose en estufa a 105° C hasta peso constante. Las submuestras de humus bruto se calcinaron a 450° C para descontar el porcentaje de tierra mineral adherida.

Las parcelas a quemar fueron rodeadas por una faja de varios metros de anchura para atenuar el efecto de borde y, finalmente, circundadas por un cortafuegos perimetral.

Inmediatamente antes de quemar se recogieron muestras de los diferentes componentes de los combustibles y de los 2,5 primeros cm de suelo, que sirvieron para determinar el contenido de agua en el laboratorio, tras secado en estufa como se ha descrito anteriormente.

Durante la quema se tomaron datos de las condiciones meteorológicas. La velocidad media de avance del fuego se determinó midiendo el tiempo empleado por el frente de lla-

mas en recorrer la longitud de la parcela. La longitud de llamas se estimó visualmente en el campo y a través de fotografías comparándolas con una red de jalones de tamaño conocido, situados en la propia parcela.

Después de quemar se tomaron cinco muestras de 1 m² de los combustibles remanentes, en cada parcela siguiendo el mismo procedimiento que antes del fuego; los restos de ramillas y piñas del suelo se rastrillaron y se recogieron, pesándose en el campo; se tomaron submuestras para calcular la humedad y las cargas remanentes por tipo de combustible.

La intensidad de fuego se determinó por tres sistemas. Se empleó la fórmula de Byram (1959), en adelante descrito por Int B, utilizando la carga consumida de las acículas de la capa L+F, más las fracciones de vegetación en pie menor de 6 mm de diámetro, así como porciones de los restos de poda de ese mismo grosor. En este caso, el calor desprendido por unidad de área fue hallado sumando los productos del poder calorífico inferior de cada combustible por la correspondiente carga consumida. También se emplearon las fórmulas de Byram (1959), en adelante descrita por Int LLB y la de Nelson, Adkins (1986), en adelante descrita como IntLLN, que relacionan la longitud de llama con la intensidad lineal del fuego. En la parcela QIII el fuego no se desplazó con uniformidad, estableciéndose dos áreas bien diferenciadas en cuanto a la velocidad de propagación del fuego e intensidad lineal. Por ello, se ponderaron estos parámetros en función de esas dos superficies (Por sup., Tabla 6) y también de la proporción de árboles presentes (Por arb., Tabla 6) en cada una de las citadas áreas.

Toma de muestras

En la Tabla 2 se muestran las fechas de quema de las parcelas, así como de la recogida de las muestras.

En mayo de 1992 se recogieron acículas del año anterior y brotes, ambas muestras del 4.º verticilo (Fig. 1), orientación sur en cinco árboles de cada parcela. Debido a la cantidad de muestras a analizar y a la pérdida de algunas de ellas, no siempre se analizaron cinco para cada tratamiento (el número de ellas está indicado en las Tablas de resultados más adelante). Las acículas, por ser del año anterior, estaban totalmente desarrolladas, los brotes en el momento de la recogida tenían 3-4 cm de longitud; los individuos fueron elegidos aleatoriamente dentro de las parcelas. Para extraer las muestras de raíces, se eligió una zona fuera de la parcela, en un extremo, que también fue sometido posteriormente a fuego, se apartó la hojarasca y se extrajeron muestras de raíces contenidas en una superficie de 30 x 30 cm, entre 0 y 10 cm de profundidad. Después del fuego, y en las fechas indicadas en la Tabla 2, se cogieron de igual forma nuevas muestras de acículas, brotes (ya prácticamente acículas formadas) y raíces. Las acículas y los brotes se tomaron de los mismos árboles y en la misma posición que las muestradas en Mayo. Hay que indicar que antes de aplicar los tratamientos de fuego, los árboles poseían 6-7 verticilos con ramas verdes. Después del tratamiento de fuego las acículas y los brotes muestrados del 4.º verticilo no estaban directamente dañados por el fuego.

Las muestras, una vez en el laboratorio, se limpiaron y congelaron para luego liofilizarlas, pulverizarlas y almacenarlas en frascos de vidrio herméticos color topacio.

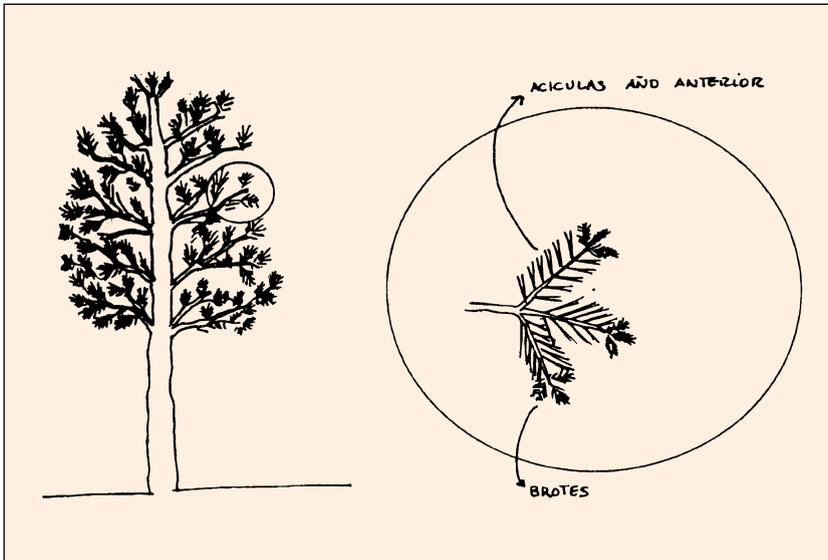


Fig. 1.—Posición de las acículas y brotes muestreadas en el árbol: rama orientada al sur, correspondiente al 4.º verticilo contado desde el ápice
Needles and juvenile needles sampled position on the tree

TABLA 2

**FECHA DE LA QUEMA DE LAS PARCELAS Y DE TOMA DE MUESTRAS,
 ANTES Y DESPUES DE QUEMAR**

Experimental fires and samples collection dates

Parcela	Muestreo de acículas, brotes y raíces	Fuego experimental	Muestreo después de quemar acículas y brotes	Muestreo después de quemar raíces
T	18-5-92	—	13-8-92	2-9-92
QI	”	24-6-92	”	”
QII	”	25-6-92	”	”
QIII	”	22-5-92	6-7-92	28-7-92

Procedimiento analítico

Las determinaciones analíticas efectuadas en las distintas partes de la planta fueron:

- Macro y micronutrientes. Se determinaron en acículas, brotes y raíces.
- pH y poder de amortiguación en acículas y brotes.
- Polifenoles totales, taninos condensados y astringencia en acículas y raíces.
- L-prolina y L-hidroxiprolina libres en acículas, brotes y raíces.
- Ac. fenólicos libres y ligados en forma de éster en acículas y raíces.

Macro y micronutrientes

- Determinación de nitrógeno: Por el método semimicro Kjeldhal
- Determinación de fósforo, potasio, calcio, magnesio, hierro, cobre, zinc y manganeso.

La extracción se lleva a cabo por digestión húmeda, con ac. nítrico y ac. perclórico, calentando en campana de humos hasta total mineralización. Se macera 1 g de muestra liofilizada con 5 ml de ac. nítrico 18 h, luego se adicionan 2 ml de ac. perclórico y se digiere en una placa calefactora hasta total mineralización. Se lleva hasta sequedad y se trasvasa a un matraz aforado, completando un 10 p. 100 del volumen con HCl 2N y el resto con agua. De esta disolución se tomarán las alícuotas necesarias para las determinaciones.

El fósforo se determina colorimétricamente en un espectrofotómetro uv-vis con reactivo sulfito-hidroquinona (A.O.A.C, 1975); calcio, magnesio, hierro, cobre, manganeso y zinc por absorción atómica y potasio por emisión, medidos en un Perkin Elmer 603.

pH y poder de amortiguación

Se siguió el método descrito por Garrec (1989), con algunas modificaciones. Se homogeneiza 1 g de muestra con 5 ml de agua ultrapura en un tubo con Ultraturrax, a velocidad 7 durante 10 s; luego se añaden otros 5 ml de agua y se homogeneiza de nuevo. A continuación se lava el vástago del homogeneizador con un tubo que contiene 10 ml de agua a velocidad 7, 10 s. Se filtra a través de papel Albet 242, vertiendo primero el contenido del tubo con la muestra y luego el agua de lavado. Del filtrado se toma una alícuota de 10 ml en la que se determina el pH y a continuación se adiciona OHNa, de normalidad conocida (centinormal) hasta incrementar una unidad de pH. Las mediciones se hicieron en un potenciómetro Beckman, calibrado con disolución buffer a pH 4 y a pH 7. Los meq de OHNa /100g de muestra representan el poder de amortiguación al pH de la muestra. También se determinó el poder de amortiguación a pH 5,5; para ello se llevó a pH 5,5, y luego se midió la cantidad necesaria de OHNa para incrementar el pH en una unidad.

Astringencia, polifenoles totales y taninos condensados

Obtención del extracto: Se maceran 0,5 g de muestra liofilizada con 25 ml de éter de petróleo durante 18 h con el objeto de eliminar grasas, ceras y otros compuestos liposolubles. Se filtra, desechando el filtrado y secando el residuo al aire; una vez seco (unos minutos), se trasvasa a un matraz de fondo redondo de 100 ml, adicionando 50 ml de disolución de metabisulfito potásico al 0,1 p. 100 en metanol/agua 50/50 v/v (el uso del metabisulfito es para evitar oxidaciones de los compuestos fenólicos durante la extracción (Peng, 1991)). Se le conecta un refrigerante y se mantiene a reflujo 5 min (78° C), contados desde la caída de la primera gota de destilado. Pasado este tiempo, se enfría rápidamente sumergiendo el matraz en un baño de hielo y se filtra a otro matraz, que se pasa al rotavapor y se elimina el metanol a 30° C y presión reducida. La fase acuosa residual se trasvasa a un matraz aforado de 50 ml y se completa a volumen con agua, dejándolo en nevera hasta el día siguiente en que se centrifuga si existe turbidez y se guarda en nevera (no más de una semana), en un frasco de vidrio color topacio, para su utilización en las siguientes determinaciones.

Determinación de la astringencia (Taninos totales): Se determina por la medida de la precipitación de la hemoglobina (Bate Smith, 1973); la ventaja de esta proteína sobre otras es su cromóforo, que permite una medida directa espectrofotométrica en la región roja del visible, donde otras sustancias presentes en el extracto de la planta no interfieren. El principio básico del ensayo es mezclar el extracto de la planta con una solución de hemoglobina, el precipitado es removido por centrifugación y se mide la pérdida relativa de absorbancia frente a un control sin precipitado.

Se siguió el método descrito por Schultz, Baldwin (1981): 2 ml de sangre fresca, en este caso humana, se diluyen con agua a 5° C para hemolizar las células; esta solución se mantiene en nevera hasta llegar al laboratorio en que se trasvasa a un matraz aforado y se completa a 50 ml con agua, se centrifuga, y la solución sobrenadante se mantiene en la nevera hasta su utilización para el ensayo (no más de 90 h).

En un tubo de centrífuga se mezclan 2 ml de la solución de sangre y 2 ml de extracto acuoso de la planta, se agita unos segundos y se centrifuga 30 min y posteriormente se lee la absorbancia a 578 nm.

Una recta de calibrado es elaborada con ac. tánico como patrón con 0,8, 1, 1,2, 1,4 y 1,6 mg/ml procediendo igual que con las muestras, 2 ml de sangre y 2 ml de cada disolución patrón; también se lleva un control (2 ml de disolución de sangre y 2 ml de agua). Se representa la diferencia de la absorbancia del control menos la de las disoluciones patrón frente a la concentración de éstos. La absorbancia se mide en un espectrofotómetro de absorción uv-vis Beckman modelo DU-60.

Determinación de taninos condensados. Por condensación con la vanillina en ácido sulfúrico, según describe Scalbert *et al.* (1989), haciendo reaccionar 1 ml del extracto y 2 ml de reactivo (1 g de vanillina en 100 ml de ac. sulfúrico al 70 p. 100). La reacción se lleva a cabo en un baño de agua a 20° C y se lee la absorbancia del complejo formado a 500 nm. Como patrón se utiliza catequina, elaborando una recta de calibrado con patrones de 0,02, 0,04, 0,08, 0,12 y 0,16 mg. La medida de absorbancia fue realizada en el espectrofotómetro uv-vis ya citado.

Determinación de polifenoles totales: Según la técnica de Folin Ciocalteu, adicionando polivinilpirrolidona (PVP) para evitar la interferencia de otras sustancias reductoras, tal y como describe Domínguez (1987). Se hacen dos determinaciones, una sin PVP y otra con PVP. La lectura de la que contiene PVP es sustraída de la que no lo lleva:

- Determinaciones sin PVP: 1 ml de extracto diluido por 25 + 1 ml de metanol (al 10 p. 100, pH 3,5)+ 5 ml de agua + 1 ml de reactivo Folin Ciocalteu diluido (1:1), se agita y después de 3 min se adiciona 1 ml de Na₂CO₃ saturado, se deja en reposo en la oscuridad 1 h para que se desarrolle el color y se lee la absorbancia a 725 nm en cubeta de 1 cm.
- Determinaciones con PVP: 10 ml del extracto diluido se agitan 30 min con 0,25 g de PVP, se filtra y del filtrado se toma 1 ml al que se le adicionan los reactivos y se lee la absorbancia de igual manera que en el caso anterior.

La diferencia de las lecturas (sin PVP-con PVP), se lleva a una recta de calibrado elaborada usando como patrón la catequina en un rango de 0-100 µg/ml. La medida de la absorbancia fue realizada en el mismo instrumento utilizado para la determinación de la astringencia.

L-prolina y L-hidroxiprolina libres

Obtención del extracto: Se sigue el procedimiento descrito por Bates *et al.* (1973). Se extrae 0,5-2 g de muestra liofilizada en un homogeneizador con 10 ml de ácido sulfosalicílico al 3 p. 100 durante 15 s, para precipitar las proteínas y péptidos que interfieren en la reacción. Se filtra tras 30 min de reposo.

Determinación de L-prolina: Se sigue el procedimiento descrito por Bates *et al.* (1973). Se hacen reaccionar 2 ml del extracto filtrado con 2 ml de ninhidrina ácida y 2 ml de ac. acético glacial durante 1 h en B^oM^a a 100° C. La reacción se detiene por inmersión de los tubos en un baño de hielo. Se añaden 4 ml de tolueno y se agita durante 15-20 s. La fase orgánica que contiene el cromóforo se separa de la fase acuosa y se lee mediante espectrofotometría visible a 520 nm. Las lecturas obtenidas se llevan a una recta de calibrado elaborada con L-prolina patrón en el rango 2,0-12,5 µg/ml.

Determinación de L-hidroxiprolina: Se realiza en el mismo extracto mediante la técnica descrita por Stegeman, Stalder (1967). Se toman 2 ml del extracto y se añade 1 ml de Cloramina T 0,017 M que actúa como agente oxidante. Transcurridos 20 min, se añade 1 ml de p-dimetilaminobenzaldehído (aldehído de Ehrlich) a cada tubo, se agitan y se introducen en B^oM^a a 40° C durante 15 min. Se enfrían a temperatura ambiente y se centrifugan 10 min a 3500 r.p.m. La lectura se realiza a 550 nm. Se calculan las concentraciones mediante una curva de calibrado de L-hidroxiprolina patrón en el rango 0,25-10 µg/ml.

Ácidos fenólicos libres y ligados en forma de éster

La extracción se lleva a cabo en 1 g de muestra liofilizada, que se macera con 25 ml de éter de petróleo durante 18 h; para eliminar sustancias liposolubles posteriormente se filtra, se lava con éter de petróleo y el residuo, una vez secado al aire (unos minutos), se trasvasa a un tubo de vidrio, añadiéndole 10 ml de disolución acuosa de metabisulfito potásico al 0,1 p. 100. La extracción se lleva a cabo en un homogeneizador de alta velocidad Politron 20 s, posición 8 a continuación, y para lavar el posible residuo que pudiera quedar, se homogeniza otro tubo paralelo con 10 ml de disolución de metabisulfito 20 seg, posición 8. Después de dejar en reposo los tubos 30 min en la oscuridad, se trasvasa el contenido de los dos tubos a uno de centrífuga, se centrifuga 10 min. El sobrenadante se trasvasa a un vaso de 100 ml y el residuo se vuelve a centrifugar con otra porción de 10 ml de disolución para lavar, adicionándolo posteriormente al contenido del vaso. A continuación se sigue el procedimiento descrito en otra ocasión (Alonso *et al.* 1993 a).

El análisis de los distintos componentes se llevó a cabo mediante cromatografía líquida, en un Perkin Elmer serie 2, con detector uv-vis, de longitud de onda variable, modelo LC 75, y con un software para tratamiento de datos sistema 1020 de PE-Nelson. La separación de los ac. fenólicos: gálico, protocatéquico, p-hidroxibenzoico, vanílico, siríngico, p-cumárico y ferúlico fue por elución isocrática a 254 nm con agua/ac. acético/metanol 70/0, 1/30 v/v a 30° C y con una columna C₁₈ 5 µm, de 25 x 0,46 cm.

Tratamiento estadístico de los resultados

Como el objetivo principal del trabajo es saber el efecto del tratamiento (fuegos de intensidad creciente) sobre cada parámetro, se hizo un análisis mediante el procedimiento

GLM, del paquete estadístico SAS (SAS, 1987). Para cada posición (acículas, brotes, raíces) se estudia la diferencia o similitud de los niveles medios de los diversos parámetros químicos en QI, QII y QIII con respecto a T, antes y después del fuego. Se consideró que la quema indicaba la variación del nivel de los distintos parámetros estudiados cuando el análisis estadístico antes de quemar no mostraba diferencias significativas entre las medias de los diferentes tratamientos y sí lo hacía después de la quema.

Chamuscado y decoloraciones foliares en el arbolado

Se evaluó ocularmente el porcentaje de superficie foliar marchita en cada copa de los árboles de las parcelas tratadas y testigo.

Estas determinaciones se efectuaron inmediatamente antes del tratamiento y en cuatro fechas posteriores a aquel (Fig. 2).

RESULTADOS Y DISCUSION

Comportamiento del fuego

Las cargas de combustible superficial antes de quemar (Tabla 3) fueron moderadas y muy semejantes en el caso de QI y QII, y moderadamente altas en la QIII. La cantidad de vegetación en pie en el sotobosque era bastante pequeña en las tres quemas, siendo el combustible formado por las hojarasca, tanto fresca (L) como parcialmente meteorizada (F) y los restos de corta con acículas adheridas a las ramillas, el estrato principal conductor del fuego.

Las condiciones meteorológicas durante la quema (Tabla 4) pueden clasificarse de suaves. Los contenidos de agua de los combustibles más superficiales fueron de moderados a moderadamente altos (Tabla 5), estando la hojarasca F algo seca; por el contrario el humus (H) mantenía una cantidad apreciable de agua y el suelo estaba así mismo bastante saturado de agua. La reducción de los combustibles superficiales fue muy alta (Tabla 3) especialmente para la vegetación y la mezcla de hojarasca y restos de poda. En el caso del humus hubo diferencias apreciables en la consunción.

TABLA 3
CARGAS INICIALES DE COMBUSTIBLE (T/HA) Y PORCENTAJES DE REDUCCION RESPECTO A LA CARGA INICIAL

Prefire fuel loading and fuel reduction (percentage)

Parcela	Vegetación sotobosque	Reducc. %	Hojarasca y ramillas <75mm	Reducc. %	Humus bruto	Reducc %	Total	Reducc. %
QI	2,1	98,5	24,3	89,8	12,6	21,3	39,0	68,1
QII	0,9	100	27,2	84,8	9,4	59,4	37,5	79,5
QIII	1,8	100	50,6	88,1	14,1	39,7	66,5	78,0

TABLA 4
CONDICIONES METEREOLÓGICAS PREVIAS A LA QUEMA (ADQ)
Y DURANTE LOS EXPERIMENTOS

Meteorological conditions before and during the experiment.

Parcela	Días sin lluvia	Última lluvia (mm)	Duración horas	Última lluvia apreciable (mm)	N.º días adq	HR (%)	T aire (° C)	V. viento a 1,20 m (m/s)
QI	10	0,5	0,5	15,6	17	61	21,5	1,10
QII	11	0,5	3,5	15,6	18	69	18,4	0,70
QIII	7	0,8	2,0	13,9	38	58	18,7	1,40

TABLA 5
CONTENIDO DE AGUA DE COMBUSTIBLES. PORCENTAJE REFERIDO A PESO SECO

Water content of fuels and soil. Percentage referred to dry matter

Parcela	Capa L	Capa F	Hojas restos	Restos leñosos <25 mm	Restos leñosos 25-75 mm	Restos leñosos >75 mm	Veg. fina	Humus bruto	suelo adq	suelo ddq
QI	13,0	43,5	15,9	13,6	29,4	34,9	112,0	90,3	35,6	31,4
QII	19,5	43,7	23,0	17,6	38,8	37,2	135,3	83,2	32,0	27,2
QIII	17,3	48,6	19,4	16,9	20,6	28,6	108,0	102,1	37,0	23,6

En contra de lo esperado, la intensidad lineal del fuego fue mayor en QI (Tabla 6) que en QII. La velocidad del viento en el primer caso fue mayor (Tabla 4) y menor la humedad de los combustibles superficiales (Tabla 5) lo que propició una velocidad del fuego superior en QI a QII. Por otro lado, la carga consumida de combustible superficial fue en ambos casos similar (Tabla 3). Todo ello explica ese resultado. De cualquier forma, en los fuegos experimentales se consiguieron niveles de intensidad dentro de los rangos previstos.

La intensidad lineal que afectó a los árboles en QIII superó la de las otras dos parcelas. Es de destacar el buen ajuste entre las predicciones basadas en la relación hallada por Byram para longitud de llama e intensidad lineal y el valor obtenido para esta última variable mediante la contribución de la carga consumida y la velocidad del fuego. Se aprecia que los valores obtenidos por la fórmula de Nelson son mayores que los hallados por la ecuación de Byram relativa a la longitud de llama.

TABLA 6
COMPORTAMIENTO DEL FUEGO DURANTE LOS EXPERIMENTOS

Fire behaviour during the experiments

Parcela		Veloc. Avan. (m/min)	Longitud de llama (m)	Int. LL B Kw/m	Int. LL N Kw/m	Int. B Kw/m
QI		0,65	1,15	351	645	357
QII		0,33	0,80	160	309	146
	Por sup.	0,35	1,10	318	590	298
QIII	Por arb.	0,66	1,20	385	704	423

El calentamiento de la capa de humus parece que fue mayor en QII no sólo en cuanto a los valores máximos de temperaturas alcanzados (Tabla 7), sino también por la mayor duración de las temperaturas letales (Tabla 8). Quizá la menor velocidad de propagación propició ese mayor calentamiento junto con un contenido de agua ligeramente más bajo para el humus bruto y el suelo superficial (Tabla 5).

TABLA 7**MEDIAS DE LAS TEMPERATURAS MAXIMAS (°C) SEGUN POSICIONES**

Mean values of maximum temperatures (°C) reached at different locations

Parcela	Tronco (1,30) Cambium Barlovento	Tronco (1,30) Cambium Sotavento	Copa H = 4 m	Superficie Capa de humus	Suelo mineral (2,5 cm)
QI	28 ± 2	31 ± 2	68 ± 16	396 ± 253	38 ± 26
QII	37 ± 15	42 ± 16	76 ± 14	566 ± 273	51 ± 43
QIII	51 ± 12	42 ± 10	106 ± 34	465 ± 142	30 ± 15

TABLA 8**TIEMPO (MIN) CON TEMPERATURA SUPERIOR A 60° C**

Duration of temperature > 60° C at different locations

Parcela	Tronco (1,30) Barlovento	Tronco (1,30) Sotavento	Copa H = 4 m	Superficie Capa de humus	Suelo mineral (2,5 cm)
QI	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	1,7 ± 1,4	5,3 ± 4,0	0,3 ± 0,5
QII	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	1,7 ± 1,1	28,0 ± 31,2	6,0 ± 7,2
QIII	3,3 ± 3,5	1,7 ± 2,1	7,7 ± 3,6	16,0 ± 6,8	0,0 ± 0,0

Evolución de los daños en la copa

Observando la Figura 2, se aprecia un cierto nivel de decoloración foliar en las cuatro parcelas antes del fuego (May). En QIII, un mes después del fuego (Jun), el chamuscado alcanza casi el 80 p. 100 de la superficie foliar y mientras tanto las copas de QI y QII muestran un crecimiento de la decoloración previa al fuego. Comparando la evolución de los daños de las cuatro parcelas, puede observarse que QI y QII presentan daños en la copa semejantes con un máximo poco después del fuego. Por su parte QIII mostró un nivel más alto que las otras dos y con tendencia a mantenerse.

Resultados del análisis estadístico para cada parámetro analizado antes y después de quemar

La significación del efecto del tratamiento (fuegos de intensidad creciente) sobre cada parámetro en las diversas partes del árbol (acículas, brotes y raíces) se muestra en la Tabla 9.

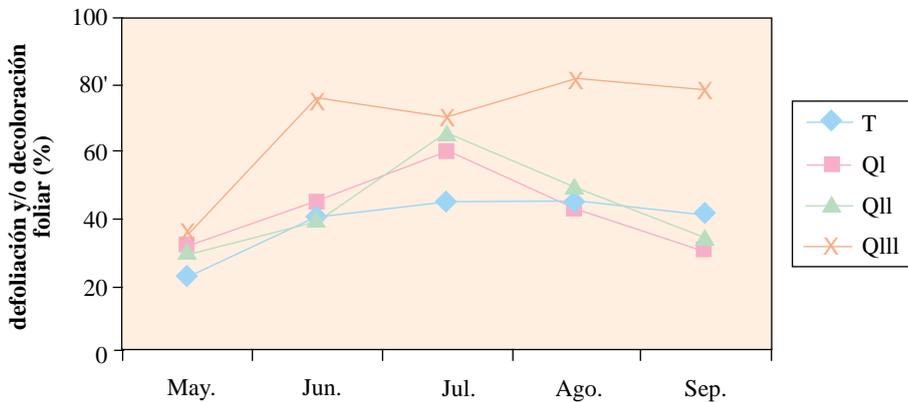


Fig. 2.—Evolución del porcentaje medio de superficie foliar de la copa afectada en los árboles analizados de QI, QII, QIII y T durante el período de estudio
Percentage of crown volume affected

Parámetros químicos determinados en las acículas

Los resultados del análisis de macro y micronutrientes, pH, capacidad buffer, astringencia, polifenoles totales, taninos condensados, prolina e hidroxiprolina en las acículas, antes y después del fuego, se muestran en la Tabla 10. Los niveles foliares de N y K son del mismo orden que los valores promedio (1,034 p. 100 para N, 0,435 p. 100 para K) que dan Bará, Toval (1983) para esta especie en Galicia, no ocurriendo así para el P, un poco por debajo de la media (0,084 p. 100), y menos para el Ca y Mg, cuyos niveles son muy inferiores a la media que dan estos autores (0,115 p. 100 para Ca y 0,151 p. 100 para Mg).

Antes de los tratamientos por fuego, los contenidos de nutrientes en acículas no muestran diferencias significativas entre las parcelas elegidas para el experimento, a excepción del Mn que es superior en los árboles de la parcela QI. Después de quemar sí se aprecian diferencias para la mayor parte de los nutrientes analizados.

El tratamiento estadístico de los resultados de nuestro experimento, después de quemar, indica que un fuego de intensidad suave (QI) induce en los árboles un descenso de un 26 p. 100 en los niveles de fósforo con respecto a los de la parcela testigo, y un fuego de intensidad moderada (QIII) provoca un descenso de un 47 p. 100, así como una bajada en el nivel de potasio en un 62 p. 100. El contenido de calcio se incrementa en un 124 p. 100 en la parcela quemada con mayor intensidad. Los micronutrientes se comportan de manera diversa; así el cobre se incrementa en las parcelas quemadas, aunque aparentemente no guarde relación con la intensidad de la quema, ya que los valores más altos se dan en la parcela QII quemada con la menor intensidad. El contenido de zinc sólo desciende significativamente (50 p. 100) en la parcela quemada con mayor intensidad. En esta misma parcela el contenido de hierro incrementa en un 61 p. 100 con respecto a la testigo.

El pH de las acículas no cambia con el impacto del fuego; sí lo hace en cambio la capacidad buffer, que al pH de las acículas, desciende en un 32 p. 100 en la QIII con respecto a la testigo. Este descenso en la capacidad de la hoja para regular el pH interno también es indicado por otros autores en algunas situaciones de estrés para el arbolado; así, Aprajita (1989) dice que es inferior en árboles cercanos a una central térmica en Delhi (contamina-

dos) con relación a otros alejados de ella (no contaminados). Wolfenden (1988) lo observa también en acículas de *Picea abies* en doce lugares expuestos a contaminación. Una baja capacidad buffer en acículas de *P. sylvestris* en relación a *P. nigra* y *P. contorta* fue relacionado con la mayor susceptibilidad a “needle cast” en el *P. sylvestris* según Schachler (1986). Scholz, Stephan (1981) también encuentran una capacidad buffer menor en clones de *P. sylvestris* susceptibles a *Lophodermium pinastri* que en los resistentes.

TABLA 9

SIGNIFICACION ESTADISTICA DEL EFECTO DEL TRATAMIENTO SOBRE LOS DIVRSOS PARAMETROS ANALIZADOS

Treatment effect, statistical signification in the analyzed parameters

	Antes de quemar			Después de quemar		
	Acículas	Brotos	Raíces	Acículas	Brotos	Raíces
N	ns	ns	**	ns	ns	***
P	ns	*	ns	***	ns	ns
K	ns	ns	*	**	ns	**
Ca	ns	**	ns	*	ns	ns
Mg	ns	ns	*	ns	ns	**
Cu	ns	ns	ns	**	ns	ns
Zn	ns	ns	ns	*	ns	***
Mn	**	**	ns	**	*	*
Fe	ns	ns	ns	**	ns	ns
pH	*	ns	—	**	ns	—
BUFFM	ns	ns	—	**	**	—
BUFF4	ns	ns	—	*	*	—
Astringencia	ns	—	ns	**	—	ns
Polifenoles tot.	ns	—	ns	***	—	**
Taninos cond.	ns	—	ns	***	—	ns
L-prolina	ns	ns	*	***	ns	ns
L-hidroxiprolina	ns	ns	ns	*	ns	ns
Ac. gálico libre	ns	—	ns	***	—	ns
Ac. protocatéuico libre	ns	—	ns	***	—	*
Ac. p-hidroxibenzoico libre	ns	—	ns	***	—	*
Ac. vanílico libre	ns	—	ns	ns	—	ns
Ac. siríngico libre	ns	—	ns	ns	—	ns
Ac. p-cumárico libre	ns	—	ns	**	—	ns
Ac. ferúlico libre	ns	—	ns	ns	—	ns
Ac. gálico esterificado	ns	—	*	*	—	ns
Ac. protocatéuico esterificado	ns	—	ns	*	—	*
Ac. p-hidroxibenzoico esterific.	ns	—	*	ns	—	ns
Ac. vanílico esterificado	ns	—	ns	*	—	ns
Ac. siríngico esterificado	ns	—	ns	*	—	ns
Ac. p-cumárico esterificado	ns	—	*	ns	—	ns
Ac. ferúlico esterificado	ns	—	ns	ns	—	ns

— = no analizado en esa parte de la planta; n.s = no significativo; * = 0,05; ** = 0,01; *** = 0,001.

Antes de los tratamientos por el fuego no hay diferencias significativas en el valor de astringencia, polifenoles totales y taninos condensados en las acículas. Después de quemar, la astringencia de las acículas, que refleja el contenido total de taninos, incrementa en un 23 p. 100 en la parcela quemada con más intensidad (QIII); el nivel total de polifenoles tam-

TABLA 10

VALORES MEDIOS (OBTENIDOS DE CUATRO MUESTRAS) DE NUTRIENTES (N, P, K, Ca, Mg, Cu, Zn, Mn, Fe), pH, CAPACIDAD BUFFER A pH FOLIAR (BUFFM) Y A pH 4 (BUFF4) EN mg. OHNa/UNIDAD pH, ASTRINGENCIA (AST.) EN mg AC. TANICO/g, POLIFENÓLES TOTALES (POL. TOT.) EN mg CATEQUINA/g, TANINOS CONDENSADOS (TAN. COND.) EN mg CATEQUINA/g, L-PROLINA Y L-HIDROXIPROLINA LIBRES ($\mu\text{mol/g}$) EN ACICULAS DE *P. pinaster* EN LAS PARCELAS T (TESTIGO) Y QI, QII, QIII, QIII (TRATADAS CON FUEGO) ANTES Y DESPUÉS DE QUEMAR

Mean values of different parameters in needles of P. pinaster before and after fire. Different letters mean significant differences between plots, according to the level 0,05 as Duncan test

	Antes de quemar				Después de quemar			
	T	QII	QI	QIII	T	QII	QI	QIII
% N	1,086±0,098	1,314±0,097	1,217±0,128	1,225±0,150	0,887±0,057	1,054±0,160	0,998±0,174	1,173±0,248
% P	0,055±0,008	0,045±0,004	0,044±0,009	0,047±0,005	0,068±0,010 a	0,061±0,004 ab	0,050±0,005 b	0,036±0,009 c
% K	0,241±0,027	0,212±0,018	0,289±0,045	0,221±0,078	0,469±0,099 a	0,454±0,149 a	0,503±0,169 a	0,176±0,035 b
% Ca	0,055±0,022	0,078±0,018	0,095±0,025	0,068±0,007	0,042±0,017 b	0,048±0,019 b	0,065±0,027 ab	0,094±0,016 a
% Mg	0,058±0,016	0,064±0,009	0,073±0,022	0,060±0,007	0,066±0,020	0,072±0,025	0,069±0,013	0,075±0,019
ppm Cu	0,7±0,3	0,5±0,4	0,5±0,6	0,4±0,5	1,1±1,3 c	5,7±2,0 a	2,9±0,8 cb	3,5±1,1 b
ppm Zn	6,5±1,3	7,1±1,3	8,9±2,6	7,2±0,9	13,5±2,9 a	16,3±5,3 a	15,6±3,7 a	6,7±1,8 b
ppm Mn	125,0±57,6 b	60,1±12,0 b	425,7±186,3 a	182,9±72,0 b	117,8±34,9 bc	54,6±18,5 c	234,5±121,0 a	215,2±49,5 ab
ppm Fe	42,5±8,9	51,0±6,7	43,5±7,5	54,5±8,8	28,4±4,4 b	31,1±3,0 b	37,4±11,0 ab	46,2±10,5 a
pH	3,35±0,05 b	3,50±0,13 a	3,48±0,06 a	3,52±0,06 a	3,23±0,10 b	3,28±0,11 b	3,33±0,14 b	3,53±0,05 a
BUFFM	38,43±3,36	30,93±5,33	32,84±4,46	34,17±4,75	42,28±2,45 a	44,51±2,49 a	43,97±10,10 a	27,41±3,96 b
BUFF4	20,48±0,66	18,24±2,11	19,34±2,20	8,93±3,87	22,02±1,98 a	23,05±0,63 a	21,35±2,36 a	17,06±3,12 b
Ast.	79±3	78±5	75±9	87±8	47±8 b	38±1 b	46±7 b	58±3 a
Polif. Tot.	32±8	30±8	28±6	32±8	16±3 b	16±2 b	20±9 b	43±5 a
Tan. Cond.	24±5	23±6	21±6	27±7	7±2 b	7±1 b	13±7 b	28±4 a
L-prolina	1,34±0,65	1,18±0,36	1,21±0,50	1,10±0,39	0,42±0,14 b	0,71±0,60 b	0,77±0,51 b	2,06±0,51 a
L-hidroxi prolina	0,092±0,007	0,117±0,044	0,177±0,070	0,190±0,102	0,194±0,065 ab	0,246±0,024 a	0,215±0,072 a	0,139±0,037 b

Distinta letra para cada parámetro analizado indica diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos al nivel 0,05 según el test de Duncan.

bién se incrementa en esta parcela y lo hace en un 169 p. 100. Los taninos condensados lo hacen hasta en un 300 p. 100. Estos aumentos son detectados por algunos autores en árboles que han sufrido algún tipo de daño. En experimentos con *Populus* y *Acer saccharum* en macetas, Balwin y Schultz (1983) observaron que plantas a las que se le había reducido su área foliar en un 7 p. 100, mostraban al cabo de unos días un incremento en el contenido de polifenoles totales y taninos. Kleiner *et al.* (1989) encuentran mayores concentraciones de taninos condensados en hojas de *Quercus prinus* susceptibles al ataque de *Lymantria dispar* (insecto defoliador) que en las de los resistentes. Pendleton *et al.* (1992), estudiando el valor nutricional de los brotes de *Quercus gambelii* para los ciervos, encuentran que los contenidos de taninos en los rebrotes de esta especie en áreas quemadas son más altos.

Antes de los tratamientos por fuego, los contenidos de L-prolina y L-hidroxiprolina libres no muestran diferencias significativas entre las parcelas elegidas para el experimento, mientras que después de los tratamientos, el fuego de mayor intensidad (QIII) induce en los árboles un incremento de un 300 p. 100 en el nivel de L-prolina libre, con relación a los árboles de la parcela testigo. En acículas de *Picea abies* de 90 años, Schmeink, Wild (1990) observaron valores de prolina libre significativamente mayores en árboles visiblemente afectados por contaminación ambiental frente a árboles sin daño. Karolewski, Pukacki (1995) encontraron tendencias similares en el contenido de prolina de plantas de *Picea abies* sometidas a bajas temperaturas. Nuestros resultados también concuerdan con los obtenidos por Karolewski (1996) en estudios de distintos tipos de estrés abiótico, donde atribuye las variaciones producidas a cambios metabólicos desfavorables en las fases iniciales tras el daño.

Los niveles de ac. fenólicos libres y esterificados antes y después del fuego se muestran en la Tabla 11. Antes de quemar, no hay diferencias significativas en el valor de estos parámetros en las parcelas estudiadas. De los ac. fenólicos libres analizados, el protocatéquico es el que se encuentra en mayor concentración en las acículas; observamos esto en otra ocasión para la misma especie aunque en árboles de más edad (Alonso *et al.*, 1989). En general, los contenidos son superiores a los descritos allí; la edad puede influir en este hecho, aunque también la época del año en que se tomaron las muestras y la preparación de éstas, que en este caso fue por liofilización, proceso más adecuado para evitar la degradación de estos compuestos. Después de quemar, sí aparecen diferencias entre las parcelas y con notable significación estadística. El incremento en un 275 p. 100 de ac. gálico libre en las acículas de los árboles quemados con mayor intensidad (QIII) es muy significativo. Este hecho fue también apuntado por Schultz y Balwin (1983) en hojas de *Quercus rubra* defoliados en más de un 80 p. 100 (simulando un ataque de insectos); nótese que el aumento de ac.gálico también está en concordancia con la subida de los taninos totales (astringencia), ya que este componente es un precursor de los galotaninos. El contenido de ac. protocatéquico libre desciende de forma muy significativa en todas las intensidades de fuego ensayadas, en un 48 p. 100 en QII, 40 p. 100 en QI y 68 p. 100 en QIII. Este descenso también lo hemos observado en plantas de vivero de *Pinus pinaster* sometidas a calor (quemaduras con soplete en el tronco) y a otros tipos de estrés, a los tres meses de haberse producido (Alonso *et al.*, 1993a). Los niveles de ac. p-hidroxibenzoico libre descienden así mismo en las parcelas quemadas con menor intensidad, en un 61 p. 100 en QII y un 78 p. 100 en QI; por el contrario incrementan en la quemada con mayor intensidad, QIII en un 96 p. 100.

Después de quemar, el nivel de ac. gálico combinado en forma de éster incrementa en más de un 600 p. 100 para la QIII, y el de ac. protocatéquico en un 65 p. 100 en esta misma parcela. El valor de ac. siríngico ligado se multiplica casi por 12 en la parcela quemada con

TABLA 11
VALORES MEDIOS (OBTENIDOS DE TRES MUESTRAS) DE AC. FENOLICOS LIBRES Y ESTERIFICADOS
($\mu\text{mol/kg}$) EN ACICULAS DE *P. pinaster* EN LAS PARCELAS T (TESTIGO) Y QI, QII, QIII (TRATADAS CON FUEGO)
ANTES Y DESPUES DE QUEMAR

*Mean values of free and esterified phenolic acids in needles of *P. pinaster*. Different letters mean significant differences between plots, according to the level 0.05 by Duncan test*

	Antes de quemar				Después de quemar			
	T	QII	QI	QIII	T	QII	QI	QIII
Ac. gálico libre	465±88	488±97	388±79	446±36	197±37 b	203±6 b	189±72 b	738±105 a
Ac. protocatéquico libre	1.937±565	1.037±712	1.272±838	474±61	1.770±76 a	916±71 b	1.058±286 b	566±79 c
Ac. p-hidroxibenzoico libre	35±7	31±5	23±9	57±56	28±2 b	11±2 c	6±11 c	55±14 a
Ac. vanílico libre	41±8	33±12	33±6	51±46	43±7	22±5	31±1	43±17
Ac. p-cumárico libre	63±9	55±17	49±14	54±4	106±29 b	73±43 b	171±23 a	76±10 b
Ac. gálico esterificado	100±16	72±20	70±42	68±19	18±13 b	37±13 b	60±60 b	132±39 a
Ac. protocatéquico esterificado	725±85	571±174	588±203	623±60	317±117 b	362±28 b	397±38 ab	525±92 a
Ac. p-hidroxibenzoico esterificado	52±18	43±13	51±21	33±13	44±34	33±2	36±4	55±14
Ac. vanílico esterificado	42±10	30±8	33±3	24±4	72±30 a	31±6 b	33±3 b	34±6 b
Ac. siríngico esterificado	51±5	43±14	47±5	31±9	5±8 b	26±4 ab	28±30 b	58±20 a
Ac. p-cumárico esterificado	778±273	756±339	1.021±504	1.110±129	1.734±592	1.961±796	1.570±533	1.440±97
Ac. ferúlico esterificado	21±3	21±8	24±4	24±3	29±18	33±17	31±8	32±3

Distinta letra para cada parámetro analizado indica diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos al nivel 0,05 según el test de Duncan.

TABLA 12

VALORES MEDIOS (OBTENIDOS DE CUATRO MUESTRAS) DE NUTRIENTES (N, P, K, Ca, Mg, Cu, Zn, Mn, Fe), pH, CAPACIDAD BUFFERA pH FOLIAR (BUFFM) Y A pH 4 (BUFF4) EN meq. OHNa/UNID pH, L-PROLINA Y L-HIDROXIPROLINA LIBRES ($\mu\text{mol/g}$) EN BROTES DE *P. pinaster* EN LAS PARCELAS T (TESTIGO) Y QI, QII, QIII (TRATADAS CON FUEGO) ANTES Y DESPUES DE QUEMAR

Mean values of parameters analyzed in juvenile needles of *P. pinaster* before and after fire. Different letters mean significant differences between plots, according to the level 0.05 as Duncan test

	Antes de quemar				Después de quemar			
	T	QII	QI	QIII	T	QII	QI	QIII
% N	1,160±0,117	1,196±0,057	1,228±0,122	1,204±0,131	0,953±0,114	1,055±0,119	0,984±0,054	0,975±0,219
% P	0,123±0,015 a	0,096±0,009 b	0,098±0,018 b	0,100±0,006 b	0,081±0,011	0,065±0,012	0,061±0,006	0,063±0,011
% K	0,627±0,235	0,662±0,116	0,826±0,162	0,652±0,144	0,479±0,117	0,452±0,085	0,454±0,146	0,328±0,094
% Ca	0,036±0,015 b	0,044±0,010 b	0,075±0,014 a	0,034±0,011 b	0,049±0,021	0,050±0,020	0,052±0,011	0,072±0,033
% Mg	0,078±0,019	0,089±0,004	0,092±0,04	0,073±0,010	0,084±0,024	0,081±0,032	0,076±0,013	0,086±0,0014
opm Cu	3,4±1,5	1,6±1,3	2,5±1,4	1,4±0,5	3,4±1,5	1,6±1,3	2,5±1,4	1,4±0,5
ppm Zn	22,1±6,2	26,3±2,2	29,0±1,9	22,9±4,2	17,2±3,9	17,8±4,7	18,2±2,0	17,2±4,2
ppm Mn	123,7±53,6 b	73,5±16,1 b	245,0±56,0 a	111,4±56,2 b	181,8±67,4 ab	87,5±25,7 b	233,7±83,4 a	228,4±76,2 a
ppm Fe	36,2±12,2	67,4±48,4	31,3±9,2	81,1±60,5	88,8±70,3	29,5±3,5	26,5±5,8	36,6±8,7
pH	3,31±0,08	3,32±0,06	3,36±0,10	3,33±0,14	3,20±0,08	3,30±0,12	3,24±0,05	3,30±0,09
BUFFM	33,37±5,42	32,53±3,89	34,92±1,56	33,74±9,45	38,34±2,44 ab	38,55±5,33 b	39,22±7,40 a	29,86±1,49 c
BUFF4	20,09±2,58	21,23±2,35	22,04±1,54	20,52±5,14	24,93±0,95 ab	24,24±2,99 b	27,62±1,04 a	20,30±5,17 b
L-prolina	1,66±0,71	1,94±0,62	2,00±0,30	2,55±0,66	0,54±0,17	0,73±0,28	0,78±0,25	0,67±0,35
L-hidroxi prolina	0,132±0,071	0,150±0,071	0,193±0,061	0,171±0,079	0,171±0,059	0,256±0,60	0,181±0,032	0,204±0,063

Distinta letra para cada parámetro analizado indica diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos al nivel 0,05 según el test de Duncan.

TABLA 13

VALORES MEDIOS (OBTENIDOS DE TRES MUESTRAS) DE NUTRIENTES (N, P, K, Ca, Mg, Cu, Zn, Mn, Fe), ASTRINGENCIA (AST), EN mg AC. TANICO/g, POLIFENOLIOS TOTALES (POL. TOT.) EN mg CATEQUINA/g, TANINOS CONDENSADOS (TAN. COND.) EN mg CATEQUINA/g, L-PROLINA Y L-HIDROXIPROLINA LIBRES ($\mu\text{mol/g}$) EN RAICES DE *P. pinaster* EN LAS PARCELAS T (TESTIGO) Y QI, QII, QIII (TRATADAS CON FUEGO) ANTES Y DESPUES DE QUEMAR

Mean values of nutrients, astringency, total polyphenols, condensed tannin, proline and hydroxyproline in roots of *P. pinaster* before and after fire. Different letters mean significant differences between plots, according to the level 0.05 as Duncan test

	Antes de quemar				Después de quemar			
	T	QI	QII	QIII	T	QI	QII	QIII
% N	0,660±0,063 b	0,536±0,003 b	0,997±0,169 a	0,901±0,170 a	0,707±0,041 b	0,589±0,031 c	0,830±0,024 a	0,739±0,055 b
% P	0,027±0,006	0,022±0,003	0,033±0,005	0,023±0,008	0,025±0,004	0,021±0,002	0,024±0,004	0,026±0,004
% K	0,152±0,041 b	0,218±0,045 a	0,114±0,021 b	0,117±0,020 b	0,175±0,051 b	0,281±0,035 a	0,139±0,014 b	0,158±0,023 b
% Ca	0,074±0,015	0,077±0,015	0,073±0,009	0,080±0,014	0,062±0,010	0,069±0,020	0,073±0,024	0,066±0,012
% Mg	0,106±0,032 ab	0,130±0,015 a	0,087±0,017 b	0,065±0,019 b	0,105±0,023 a	0,122±0,007 a	0,071±0,012 b	0,075±0,013 b
opm Cu	5,0±1,0	4,2±0,7	5,9±2,6	5,4±3,0	5,2±2,9	4,2±0,6	4,2±1,5	4,3±1,2
ppm Zn	31,7±12,1	25,2±2,2	16,2±4,6	25,8±10,3	29,1±2,2 a	21,8±2,9 b	14,2±1,5 c	15,0±1,4 c
ppm Mn	78,7±20,6	106,3±11,1	39,2±1,7	127,0±66,7	57,2±6,3 b	192,1±74,5 a	45,0±11,0 b	124,7±47,3 ab
ppm Fe	1.563,0±1.002,9	1.265,9±301,0	1.405,4±601,1	1.635,7±843,3	1.934,0±1.084,4	2.086±589,0	1.795,5±658,6	2.119,5±317,3
Ast	56±8	60±10	43±3	48±13	60±10	55±2	46±2	40±13
Polif. Tot.	47±3	49±10	43±9	46±6	58±14 a	46±6 ab	31±2 bc	23±10 c
Tan. Cond.	16±1	15±4	12±1	16±9	17±5	18±4	14±2	11±4
L-prolina	0,42±0,07 b	0,31±0,14 b	0,70±0,14 a	0,70±0,20 a	0,62±0,17	0,43±0,16	0,67±0,07	0,73±0,23
L-hidroxirolina	0,285±0,116	0,350±0,236	0,421±0,284	0,397±0,193	0,564±0,236	0,340±0,200	0,296±0,148	0,360±0,131

Distinta letra para cada parámetro analizado indica diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos al nivel 0,05 según el test de Duncan.

TABLA 14
VALORES MEDIOS (OBTENIDOS DE TRES MUESTRAS) DE AC. FENÓLICOS LIBRES Y ESTERIFICADOS
($\mu\text{mol/kg}$) EN RAICES DE *P. pinaster* EN LAS PARCELAS T (TESTIGO) Y QI, QII, QIII (TRATADAS
CON FUEGO) ANTES Y DESPUES DE QUEMAR

*Mean values of free and esterified phenolic acids in roots of *P. pinaster*. Different letters mean significant differences between plots, according to the level 0,05 as Duncan test*

	Antes de quemar			Después de quemar		
	T	QII	QI	T	QII	QIII
Ac. gálico libre	286±156	399±114	172±40	481±280	469±350	282±153
Ac. protocatéquico libre	231±64	207±130	530±241	165±95 b	176±44 b	200±54 b
Ac. p-hidroxibenzoico libre	87±14	46±16	191±35	29±12 b	57±54 ab	110±49 a
Ac. vanílico libre	165±55	88±38	322±61	56±19	92±85	115±13
Ac. siríngico libre	17±6	23±6	47±6	35±29	22±12	18±1
Ac. p-cumárico libre	46±17	35±42	115±67	120±148	39±25	39±11
Ac. ferúlico libre	13±4 b	39±17 a	23±4 ab	10±1	19±7	34±25
Ac. gálico esterificado	46±41	82±100	39±68	181±153	82±81	41±33
Ac. protocatéquico esterificado	29±2 b	23±13 b	33±4 ab	42±12 ab	53±9 a	28±14 bc
Ac. p-hidroxibenzoico esterificado	30±15	21±9	42±6	25±10	33±4	25±21
Ac. vanílico esterificado	13±2	14±4	17±6	14±6	13±6	14±3
Ac. siríngico esterificado	46±32	31±27	74±9	52±20	37±21	53±15
Ac. p-cumárico esterificado	23±8	16±6	69±30	22±6	25±5	48±6
Ac. ferúlico esterificado	21±15	1±2	7±2	5±1	4±4	6±1

Distinta letra para cada parámetro analizado indica diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos al nivel 0,05 según el test de Duncan.

mayor intensidad QIII; en plantas de vivero también se observaron incrementos con relación a los testigos (Alonso *et al.*, 1993a). El contenido de ac. vanílico ligado, disminuye para los tres grados de intensidad de fuego, en un 57 p. 100 para QII, 54 p. 100 para QI y en un 53 p. 100 para QIII.

Parámetros químicos determinados en los brotes

Los resultados del análisis de los parámetros determinados en los brotes antes y después de quemar se muestran en la Tabla 12. No se observan diferencias estadísticamente significativas en los contenidos de nutrientes entre las distintas parcelas antes o después de quemar; esto parece indicar que las hojas ya formadas sufren el impacto del fuego de una forma mucho más acusada que los nuevos brotes. De todos los parámetros analizados, sólo el poder buffer al pH de la muestra o a pH 4, cambia con el fuego, así al pH de la muestra desciende en un 23 p. 100 para los brotes en la parcela QIII, con relación a los árboles de la parcela testigo.

Parámetros químicos determinados en las raíces

El análisis de macro y micronutrientes, astringencia, polifenoles totales, taninos condensados, prolina e hidroxiprolina en raíces antes y después de quemar aparece en la Tabla 13. Después de quemar se observan cambios en el contenido de Zn en las raíces, que desciende para todas las intensidades de fuego, un 24 p. 100 para QI, un 52 p. 100 para QII y un 48 p. 100 para QIII. El contenido de polifenoles totales diferencia las parcelas QII y QIII de la testigo, se produce un descenso de un 46 p. 100 en el nivel de estos componentes en la QII y de un 60 p. 100 en la QIII. Esto es contrario a lo que ocurría en las acículas, en donde el nivel de estos compuestos se incrementaba con relación al testigo. El contenido de ácidos fenólicos libres y esterificados se muestra en la Tabla 14. El contenido de ac. protocatéuico libre aumenta en las raíces de los árboles de la parcela QIII en un 109 p. 100, en contra de lo que ocurre en las acículas, en donde disminuye; los niveles de ac. p-hidroxibenzoico libre también incrementan en un 279 p. 100 en QII y en un 348 p. 100 en QIII. Es interesante resaltar que en estos parámetros la pauta de variación es la misma: el cambio de QII y QIII respecto al testigo T es más marcado que el de QI respecto a T. Esto está aparentemente en contra de los niveles de intensidad lineal alcanzados por el fuego en esas parcelas (Tabla 6); sin embargo, está en consonancia con las temperaturas máximas (Tabla 7) y la duración de las temperaturas letales (Tabla 9) alcanzadas en el humus y suelo mineral.

CONCLUSIONES

Acículas

- De las tres posiciones, las acículas reflejan mejor los cambios producidos por el impacto del fuego en el nivel de los parámetros químicos ensayados.
- El ac. protocatéuico libre presenta descensos estadísticamente muy significativos para las tres intensidades de fuego ensayadas, discriminando además el fuego de mayor intensidad de los otros dos.

- El ac. p-hidroxibenzoico libre presenta descensos para las dos menores intensidades de fuego e incrementos para el fuego de mayor intensidad.
- El fósforo muestra un descenso sólo para las dos intensidades de fuego mayores, en las que discrimina uno de otro; en cambio no varía para el fuego de menor intensidad.
- El fuego más intenso ensayado (423 Kw/m), induce cambios en múltiples parámetros, aparte de los ya mencionados; así descende el valor de potasio, zinc y poder buffer y se incrementa el valor de calcio, cobre, hierro, astringencia, polifenoles totales, taninos condensados, L-prolina libre, ac. gálico libre, así como ácido protocaté- quico y siríngico combinados en forma de éster.

Raíces

- En esta parte de la planta, el zinc es también un buen indicador, descendiendo su contenido para todas las intensidades de fuego ensayadas, discriminando las parcelas con mayor daño en las raíces de las que sufren un impacto menor.
- El contenido de polifenoles totales diferencia los niveles más bajo y más alto de intensidad estudiados respecto del testigo; esto está de acuerdo con los valores de las temperaturas máximas alcanzadas en el humus de esas parcelas, así como con los tiempos en que esas temperaturas fueron superiores a los 60° C.

Brotos

- Sólo observamos cambios en el poder buffer; igual que ocurría en las acículas, se produce un descenso en el caso del fuego de mayor intensidad.

Los anteriores cambios podrían reflejar alteraciones notables en el metabolismo de las plantas sometidas a un estrés, en este caso el fuego.

La intensidad lineal del frente del fuego, por sí solo y dentro del rango de los experimentos, no parece explicar suficientemente los efectos del fuego en el arbolado. El daño a las raíces puede ser considerable aún con valores bajos de la intensidad lineal (146 Kw.m⁻¹) y tener una fuerte influencia en las posibilidades de supervivencia del arbolado afectado por el fuego. Desde el punto de vista práctico esto confirma que en la ejecución del fuego prescrito, generalmente realizado de reposo vegetativo, debe prestarse una especial atención al calentamiento del mantillo inferior y suelo, particularmente en las quemas de primavera.

AGRADECIMIENTOS

A M.^a del Carmen Ignacio, por el trabajo de laboratorio; a Juan Antonio de los Santos, Antonio Arellano y José María Mendaña, por el trabajo de campo y a Guillermo Vega por el asesoramiento en el análisis estadístico de los resultados.

SUMMARY

Nutrients, buffer capacity, iminoacids and phenolic compounds as chemical parameters to indicate fire damages in *Pinus pinaster* trees

Changes in the level of some chemical parameters are researched in needles, juvenile needles and roots of *P. pinaster* trees caused by fire impact of three fire front linear intensities: 146 Kw.m⁻¹ (QII), 357 (QI), and 423 (QIII) Kw.m⁻¹, in Pontevedra, Galicia, NW of Spain.

The most important variations are observed in needles. The free protocatechuic acid is a very sensitive parameter; it decreases to 48 p. 100 in QII, 40 p. 100 in QI and 68 p. 100 in QIII in relation to the control plot. Other good indicator is the free p-hydroxybenzoic acid, that falls in QII and QI to 61 p. 100 and 78 p. 100 respectively, and increases to 96% in the most intensity burned plot, QIII. The phosphorus level decreases in QII and QIII a 26 and 47 p. 100 respectively.

The highest intensity fire (QIII) induces changes in a lot of parameters, other different from those in needles. The values of potassium, zinc and buffer capacity decrease and the values of calcium, copper, iron, astringency, total polyphenols, condensed tannins, free L-proline, free gallic acid, esterified protocatechuic and syringic acid increase.

In roots, zinc is a good indicator. It descends in all cases researched. The level of total polyphenols falls in QII and QIII and free protocatechuic acid increases in QIII.

In juvenile needles, except buffer capacity that decreases in QIII, we do not observe significative changes in other parameters.

KEY WORDS: Fire

P. pinaster
Damage
Indicators
Nutrients
Buffer
Polyphenols

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ALONSO M., BARA S., 1989. Análisis comparativo del contenido de ác. fenólicos libres en hojas y horizonte Ao de suelo de *Eucalyptus globulus*, *Pinus pinaster* y *Quercus robur*. *Comunicaciones INIA serie: Recursos Naturales n.º 49*.
- ALONSO M., BARA S., VEGA J. A., 1993A. Acidos fenólicos como parámetros bioquímicos indicadores de estrés en viveros de *Pinus pinaster*. *Invest. Agr., Sist. Recur. For.* vol. 2(2), 185-196.
- ALONSO M., BARA S., VEGA J. A., 1993b. Efecto del Incendio y Fuego Prescrito sobre el porcentaje relativo de terpenos en *Pinus pinaster*. *Congreso Forestal Español. Lourizan 1993. Ponencias y comunicaciones* tomo III, 167-172.
- AOAC. 1975. Método colorimétrico de la sulfito-hidroquinona para la determinación de fósforo. *Official Methods of Analysis. A.O.A.C. twelfth ed.* 3.061.
- APRAJITA-CHAVHAN, VARSHNEY-C:K;CHAVHAN A., 1989. Alteration in the buffering capacity of leaves of tree species growing near a coal fired thermal power station, New Delhi. *Internatinal J. of Ecol. and Enviroment Sci.*, 15:2,117-124.
- BALDWIN I.T., SCHULTZ J. C., 1983. Rapid changes in tree leaf chemistry induced by damage: evidence for communication between plants. *Science, USA*, 221: 4607, 277-279.
- BARA S., TOVAL G., 1983. Calidad de estación del *Pinus pinaster* Ait en Galicia. *Comunicaciones INIA serie: Recursos Naturales n.º 24*.
- BARA S., ALONSO M., VEGA J. A., 1990. Métodos biofísicos para establecer el estado fisiológico de especies forestales. *Comunicaciones INIA Serie: Recursos Naturales n.º 56*.
- BARA S., VEGA J. A., ALONSO, M., 1992. Estudio de los daños producidos por el fuego en árboles utilizando métodos bioeléctricos. I. *Pinus radiata*. *Invest. Agrar., Sist. Recur. For.* vol. 1(1), 21-40.
- BARA S., VEGA J. A., ROZADOS M. J., 1994. Estudio de los daños producidos por el fuego en árboles, utilizando métodos bioeléctricos.II. *Eucalyptus globulus*. *Invest. Agr., Sist. Recur. For.* Vol. 3(2)
- BATE-SMITH E. C., 1973. Haemanalysis of tannins: The concept of relative astringency. *Phytochemistry*, 12, 907-912.
- BATES L. S., WALDREN R. P., TEARE, J. D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress. *Plant and Soil* 39:205-207.
- BYRAM G. M., 1959. Combustion of forest fuels: 61-90 in Forest fire, control and use. *Kenneth P. Davis. McGraw Hill*.
- DOMINGUEZ M. T., 1987. Influencia de nutrientes y polifenoles vegetales en la humificación de la hojarasca de especies autóctonas e introducidas en la provincia de Huelva. *Colecc. Tesis Doctorales INIA nº 69*.
- GARREC J. P., RICHARDIN I., Le MAOUT L., ROSE C., GERARD B., MATHIEU Y., 1989. Etude du pH et du pouvoir tampon des aiguilles de sapins (*Abies alba* L.) et d'epiceas (*Picea abies* L.) deperissants. Applications en symptomatologie. *Ann. Sci. For.* 46: 55-69.

- GLOSSOP B. L., BELL D. T., SHEA S. R., 1980. Changes in the Nitrogen and Phosphorus levels in Foliage and Connecting Branches of Jarrah (*Eucalyptus marginata* Donn ex Sm) after intense Fire. *Aust. For. Res.* 10, 105-111.
- HARRINGTON M. G., 1993. Predicting *Pinus ponderosa* mortality from dormant season and growing season fire injury. *International Journal of Wildland Fire* 3:2, 65-72.
- KAROLEWSKI P., PUKACKI, P. M., 1995. Free proline as an indicator of the sensitivity of Norway spruce (*Picea abies* (L) Karst) to low temperature. *Arboretum Kornickie* 40: 159-167.
- KAROLEWSKI P., 1996. Role of proline in higher plants under conditions of abiotic stress. *Wiadomości-Botaniczne* 40: 3-4, 67-81.
- KLEINER K. W., MONTGOMERY M. E., SCHULTZ J. C., 1989: Variation in leaf quality of two oak species: implications for stand susceptibility to gipsy moth defoliation. *Canadian Journal of Forest Research* 19:11, 1445-1450.
- NELSON P. M., ADKINS C. W., 1986. Flame characteristics of wind-driven surface fires. *Canadian Journal of For. Res.* 16, 1293-1300.
- PENDLETON R. L., WAGSTAFF F. J., WELCH B. L., 1992. Winter nutrient content and deer use of Gambel oak twigs in north central Utah. *Great Basin Naturalist*, 52: 4, 293-299.
- PENG S., JAY-ALLEMAND C., 1991. Utilisation d'antioxydants dans l'straction des tannins du noyer/ use of antioxidant in extraction of tannin from walnut plants. *Journal of Chemical Ecology (USA)* vol 17 n.º 5, 887-896.
- ROZADOS M. J., ALONSO M., 1991. L-prolina libre, indicador bioquímico de stress en especies forestales. V *Encontro Galego-portugues de Química*. La Coruña, Nov.1991, 351-352.
- ROZADOS M. J., ALONSO M., VEGA J. A., 1992: The role of free proline as a biochemical indicator in *P. pinaster* stands affected by fire in SW Spain. *6th European Ecological Congress*. Marseille 7-12 Sept 1992.
- ROZADOS M. J., ALONSO M., BARA S., CUIÑAS P., VEGA J. A., 1993a. Variaciones en el contenido de iminoácidos libres en masas de *P. pinaster* afectadas por el fuego. *Congreso Forestal Español. Lourizán 1993. Ponencias y Comunicaciones*. Tomo III, 245-250.
- ROZADOS M. J., ALONSO M., BARA S., GONZALEZ M. P., 1993b. Estudio de la prolina libre en plantas de vivero de *E. globulus* sometidas a distintos tipos de stress. *IV Jornadas de la Asociación Española de Ecología Terrestre*. Alicante, septiembre 1993.
- RYAN K. C., STEELE B. M., 1989. Cambium mortality resulting from broadcast burning in mixed conifer shelter woods. Proceedings of the 10th Conference on Fire and Forestry Meteorology. 108-116. Canada. Patawa National Forestry Institute.
- SAS Institute Inc. SAS/STAT 1987. *Guide for personal computers*. /ª ed. Cary N.C. SAS Institute Inc. 1.028 pp.
- SCALBERT A., MONTIES B., JANIN G., 1989. Tannins in wood: comparison of different stimation methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 37:5, 1324-1329.
- SCHACHLER G., BOLLAND G., 1986. Relations between resistance of pines to *Lophodermium pinastri* and the buffering capacity of needle homogenates. *Beitrag-fur-die-Forstwirtschaft*, 2, 81-87.
- SCHMEINK B., WILD A., 1990. Studies on the content of free aminoacids in needles of undamaged and damaged spruce trees at a natural habitat. *J. Plant Physiol.* 136: 66-71.
- SCHOLZ F., STEPHAN B. R., 1981. Physiological studies on variation in resistance of *Pinus sylvestris* to *Lophodermium pinastri* II. Variation of buffering capacity in needles of different age with relation to resistance. *European Journal of Forest Pathology*, 11: 4, 221-233.
- SCHULTZ J. C., BALWIN I. T., 1981. Hemoglobin as a binding substrate in the Quantitative Analysis of Plant Tannins. *J. Agric. Food Chem.* 29, 823-826.
- SCHULTZ, J. C; BALWIN, I.T. 1983. Changes in the tree quality in response to defoliation. *General-Technical-Report, Northeastern-Forest and Range Experimental Station-USDA-Forest Service NO,NE-85, 83-86.*
- STEGEMANN H., STALDER K., 1967. Determination of Hydroxiproline. *Clin. Chem. Acta* 18: 267-273.
- SWEZY D. M., AGEE J. K., 1991. Prescribed fire effects on fine-roots and tree mortality in old-growth ponderosa pine. *Canadian Journal of Forest-Research*, 21:5, 626-634.
- VEGA J. A., BARA S., ALONSO M., FONTURBEL M. T., GARCIA P., 1987. Preliminary results of a study on short term effects of prescribed fire in pine stands in NW of Spain. *Ecologia Medit.* 13: 177-188.
- WOLFENDEN J., ROBINSON D. C., CAPE J. N., PATERSON I. S., FRANCIS B. J., MEHLHORN H., WELL-BURN R., 1988. Use of carotenoid ratios, ethylene emissions and buffer capacities for the early diagnosis of forest decline. *New Phytologist*, 109: 1, 85-95.