

**Respuestas morfológico-fisiológicas ante distintos tipos e
intensidades de estrés en dos especies patagónicas del género
Nothofagus con aptitud comercial**

*Tesis presentada para optar al título de Magister de la Universidad de
Buenos Aires,
Área Recursos Naturales*

Santiago Agustín Varela
Lic. en Cs. Biológicas - Universidad Nacional del Comahue - 2005

Lugar de trabajo: INTA EEA Bariloche



Escuela para Graduados Ing. Agr. Alberto Soriano
Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires

COMITÉ CONSEJERO

Director de tesis

Dr. Tomás Miguel Schlichter

Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires)
Doctor en Ciencias Forestales (Universidad Georg-August).

Consejero de Estudios

Dr. Javier Enrique Gyenge

Biólogo (Universidad Nacional de Córdoba)
Doctor en Biología (Universidad Nacional del Comahue).

Consejero de Estudios

Dr. Estéban Gabriel Jobágy Gampel

Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires)
Magíster de la Universidad de Buenos Aires Área Recursos Naturales
(Universidad de Buenos Aires)
Doctor en Biología (Universidad de Duke).

JURADO DE TESIS

Director de tesis

Dr. Tomás Miguel Schlichter

Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires)
Doctor en Ciencias Forestales (Universidad Georg-August).

JURADO

Dra. Sandra Bucci

Doctora en Ciencias Biológicas
Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco
Investigadora adjunta CONICET.

JURADO

Dr. Pedro Insausti

Ingeniero Agrónomo. Facultad de Agronomía.
(Universidad de Buenos Aires)
Magíster de la Universidad de Buenos Aires. Área de Recursos Naturales
(Universidad de Buenos Aires)
Doctor de la Universidad de Buenos Aires.

Fecha de defensa de la tesis: 24 de septiembre de 2010

“Dedico esta tesis a mi familia por tantos años de esfuerzo y paciencia, a Mari por su inmenso amor y compañía”

“El determinismo de las leyes naturales no excluye lo fortuito, lo imprevisible y la fantasía”

Ivar Ekeland, matemático.

AGRADECIMIENTOS

El poder finalizar esta tesis implicó recorrer un largo camino en el que diferentes personas aportaron de distintas formas. A ellas me gustaría darles las gracias. En primer lugar a Tomás, quien como director fomentó a que mi trabajo se convirtiera en un aprendizaje constante, permitiendo un acercamiento a esta disciplina tan amplia como lo es la ecofisiología, dándome en toda instancia una libertad absoluta. A Javier Gyenge, María Elena Fernández y Estéban Jobbágy que supieron orientarme en muchas ocasiones e incentivar preguntas teóricas y discusiones que dieron origen a los resultados del presente trabajo. También quiero agradecer al INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria) quien aportó los fondos y la infraestructura para este trabajo. A Fernando Andrade y Alfredo Cirilo, coordinadores del Área Estratégica de Ecofisiología del INTA, por estar siempre y por el constante aliento. A todos mis compañeros de trabajo que integran los Grupos de Ecología Forestal, Genética Forestal y Ecología de Insectos de la EEA Bariloche los cuales fueron fundamentales en el desarrollo cotidiano de esta tesis (Mariana Weigandt, Gonzalo Caballé, Mauro Sarasola, Mercedes de Urquiza, Inés Bertoldi, Victoria Lantschner, Verónica Rusch, José Villacide, Juan Corley, María Marta Azpilicueta, Leo Gallo y Abel Martínez). A Miriam Gobbi y Rubén Pablos por estar siempre y atender a todos mis pedidos muchas veces sin obtener un resultado a corto plazo. A Diego López Lauenstein, por nuestras provechosas discusiones y por compartir conmigo esta instancia de tesis. A todas aquellas personas que de manera indirecta colaboraron y me motivaron siempre a seguir y finalizar esta tesis. A los docentes de la EPG, a través de los cuales encontré un gran espacio de discusión, aprendizaje y motivación para incursionar en nuevos conocimientos (Roberto Fernández Alduncín, Pedro Insausti, Edy Ploschuk). A los amigos que aunque tal vez no comprendían lo que estaba haciendo siempre me contuvieron en momentos donde todo parecía detenerse. Por último a mi familia y a Mari, compañía de todos los días y los que realmente se bancaron el peso de lo que un trabajo de este estilo impone. A todos ellos de corazón, *gracias*.

ÍNDICE GENERAL	
ÍNDICE DE CUADROS	VII
ÍNDICE DE FIGURAS	VIII
DECLARACIÓN	XVI
ABREVIATURAS	XVII
RESUMEN	XVIII
ABSTRACT	XIX
Capítulo I. Introducción general	1
1.1. Antecedentes y problemática	2
1.2. Características generales e información existente sobre los requerimientos de las especies del género <i>Nothofagus</i> consideradas en el presente trabajo	5
1.3. Aspectos básicos de la fisiología en respuesta a estrés y el clima como condicionante del mismo en plantas	6
1.4. Características climáticas generadoras de estrés del noroeste de la Patagonia Argentina	10
1.5. Justificación del presente trabajo	11
1.6. Objetivos generales y particulares del presente trabajo	12
1.7. Estructura de la presente tesis	12
Capítulo II. Respuestas ecofisiológicas y morfológicas de <i>Nothofagus nervosa</i> y <i>N. obliqua</i> ante estrés hídrico	13
2.1. Estrés hídrico	14
2.2. Estrategias de resistencia al estrés hídrico a nivel celular: Ajuste osmótico y elástico	17
2.3. Vulnerabilidad a la cavitación y su relación con la resistencia al estrés hídrico	18
2.4. Cambios morfométricos en respuesta al estrés hídrico	19
2.5. Estrés hídrico y fotoinhibición. Efecto sobre la fijación del CO ₂ y la fluorescencia de la clorofila a	20
2.6. Plasticidad fenotípica	21
2.7. Objetivos particulares del presente capítulo	22
2.8. Materiales y métodos	22
2.8.1. Experimento preliminar	22
2.8.2. Experimento con orígenes preseleccionados I	23
2.8.3. Experimento con orígenes preseleccionados II	26
2.8.4. Variables registradas	27
2.9. Análisis estadísticos	34
2.10. Resultados	37
2.10.1. Experimento preliminar	37
2.10.2. Experimento con orígenes preseleccionados I	45
2.10.3. Experimento con orígenes preseleccionados II	62
2.11. Discusión	68
Capítulo III. Respuestas ecofisiológicas y morfológicas de <i>Nothofagus nervosa</i> y <i>N. obliqua</i> ante distintas condiciones lumínicas	75
3.1. Radiación y estrés lumínico	76
3.2. Exceso de radiación	77
3.3. Objetivos particulares del presente capítulo	81
3.4. Materiales y métodos	81

3.5. Análisis estadístico	85
3.6. Resultados	87
3.7. Discusión	103
Capitulo IV. Respuesta fotosintética de <i>Nothofagus nervosa</i> y <i>N. obliqua</i> ante distintas temperaturas	108
4.1. Altas y bajas temperaturas como factores de estrés	109
4.2. Objetivos particulares del presente capitulo	111
4.3. Materiales y métodos	111
4.4. Análisis estadístico	112
4.5. Resultados	113
4.6. Discusión	115
Capitulo V. Conclusiones, consideraciones finales y propuestas para futuros trabajos	118
Bibliografía	126

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Características climáticas de los orígenes geográficos en donde fueron colectadas las semillas.

Cuadro 2. Resumen de las variables registradas en los distintos experimentos de respuesta al estrés hídrico. Referencias: CV = contenido volumétrico de humedad en maceta (% vol/vol); IRA= incremento relativo en altura; IRD= incremento relativo en altura; AFE= área foliar específica; BT= biomasa de tallo; BH= biomasa de hoja; BR= biomasa de raíz; Ψ_{H_2O} = potencial hídrico; P-V= curvas presión volumen; kh = conductividad hidráulica, CVC= curvas de vulnerabilidad a la cavitación, IG = intercambio gaseoso, FC= fluorescencia de la clorofila a. Las cruces en las columnas indican en que tipo de experimento se realizó la medición.

Cuadro 3. Valores promedio (\pm d.s.) derivados de las curvas presión volumen y valores de probabilidad de los test ANOVA y Mann-Withney entre tratamientos de una misma especie y para un mismo tratamiento entre especies. Referencias: contenido relativo de agua en el punto de pérdida de turgor (CRA_{ppt}), potencial hídrico en el punto de pérdida de turgencia (Ψ_{ppt} , MPa), potencial osmótico en el punto de turgencia plena ($\Psi_{\pi sat}$, MPa), modulo de elasticidad máximo ϵ_{max} (MPa) y contenido relativo de agua apoplástica (CRA_{apop}). T =testigo; E= estresadas. (ANOVA $p < 0,05$). Letras mayúsculas muestran diferencias entre especies para un mismo tratamiento.

Cuadro 4. Valores promedio de área foliar específica (AFE) de los diferentes tratamientos por especie (\pm d.s.) y valores de probabilidad de los test ANOVA realizados entre los diferentes tratamientos por especie y entre especies (para el tratamiento testigo). Referencias: d.s.= desvío estándar; T =plantas bajo el tratamiento testigo; E = plantas bajo el tratamiento de estrés hídrico; α Transformación cos; ϕ = Valores analizados mediante el test de Mann-Whitney.

Cuadro 5. Valores promedio de los parámetros surgidos del ajuste de la serie de datos de las curvas A vs. RFA de las diferentes especies/tratamientos al modelo de Landsberg en dos fechas (principios y mediados) de la estación de crecimiento 2007-2008. Referencias: T= testigo; E = estresadas. Diferentes letras minúsculas muestran diferencias entre plantas de distintos tratamientos por especie. Letras mayúsculas muestran diferencias para un mismo tratamiento entre especies. La ausencia de letras indican valores similares para distintos tratamientos dentro de cada especie y entre un mismo tratamiento de distintas especies.

Cuadro 6. Índices de plasticidad fenotípica por grupo de variables (morfológicas, fisiológicas) y valores promedio por especies. Sp.= especie, Aérea/Subt. = proporción de biomasa aérea respecto a biomasa subterránea; AFE = área foliar específica; Hüber = proporción de Hüber, %H= porcentaje de hojas; %T = porcentaje de tallo; %R = porcentaje de raíz; Prom. = promedios. Ra = Raulí (*N. nervosa*); Ro = Roble (*N. obliqua*).

Cuadro 7. Índices de plasticidad fenotípica por variable y totales por especie. Sp.= especie, Ra = *N. nervosa*; Ro = *N. obliqua*; Hojas = cantidad de hojas; T+H:R = biomasa tallo+hojas/raíz; AFE = área foliar específica; PCL = punto de compensación lumínico; RC = rendimiento cuántico; A_{max} = fotosíntesis máxima; Rd = respiración en oscuridad.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Relación Crecimiento vs. Variable ambiental generadora de estrés. En la figura los círculos grises representan los valores umbrales mínimos y máximos de sobrevivencia y el espacio entre las líneas negras el rango óptimo de producción (crecimiento) en función de la variable ambiental.

Figura 2. Distribución de *N. nervosa*, *N. obliqua*, *Nothofagus* spp. y bosque mixto en Argentina. (Mapa elaborado por Lucas Oudkerk, tomado de Marchelli & Gallo, 2000).

Figura 3. Esquema básico de los mecanismos de respuesta a estrés en una planta (Modificado a partir de Strasburger et al., 2002).

Figura 4. Esquema conceptual empleado para describir los procesos que ocurren en una planta en condiciones de estrés. P, fase de respuesta proporcional entre la intensidad de estrés y la respuesta vegetal; E, límite de reversibilidad automática de la respuesta; F, límite de la respuesta irreversible (deformación plástica); R, límite de resistencia del vegetal. Modificado a partir de Valladares et al. 2004, elaborado a partir de Levitt (1980); Lichtenthaler (1996); Glaser (2001) y Larcher (2003).

Figura 5. Simplificación del flujo de agua a través del continuo suelo-planta-atmósfera incluyendo las resistencias (R_i) a la circulación hídrica, almacenamiento (capacitancias) y valor del potencial hídrico estimativo en cada compartimiento (Ψ_i). Modificado a partir de Jones, 1992 y Larcher, 2003.

Figura 6 A y B. Población de Raulí (*N. nervosa*) Yuco alto, Parque Nacional Lanín. A: cosecha de semillas de individuos de *N. nervosa*. B. Estado de árboles maduros y sobre maduros. (Fotografías: Leonardo Gallo).

Figura 7. Población de Roble Pellín (*N. obliqua*) a orillas del río Aluminé, Pilolil, Estancia Las Breñas (Fotografía: Santiago Varela).

Figura 8. Imagen satelital mostrando la ubicación y distancia entre la población de *N. obliqua* de Pilolil y la población mas cercana de la misma especie (digitalización de la imagen satelital realizada por el Ing. Ftal. Daniel Bocos).

Figura 9. Distribución geográfica de los orígenes genéticos considerados en el experimento con orígenes preseleccionados II (temporada 2008-2009) en cercanías de los lagos Lacar y Huechulafquen, Prov. De Neuquén. (Mapa confeccionado por José Villacide).

Figura 10. Modificación de la cámara de presión de Schölander realizada para la medición de curvas de vulnerabilidad a la cavitación.

Figura 11. Perfusionador elaborado para la determinación de tasas máximas de conductividad hidráulica (kh_{max}) mediante la eliminación de embolismos.

Figura 12. Contenido volumétrico de agua en maceta (CV, % vol/vol) a lo largo de las sucesivas fechas de la temporada de crecimiento por especie y tratamiento. Referencias: PC = capacidad de campo en macetas ("pot capacity"); CC= capacidad de campo; PMP = punto de marchitez permanente. Los asteriscos sobre los puntos muestran diferencias estadísticas significativas entre tratamientos de una misma especie ($p < 0,05$) por fecha. Las líneas sobre los puntos muestran el desvío estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento). Las diferencias entre especies se comentan en el texto.

Figura 13. Relación entre el potencial hídrico de prealba (Ψ_{pa}) y el contenido volumétrico de agua en maceta (CV, %vol/vol) para ambas especies. En ambos casos se ajustó a un modelo del siguiente tipo ($f(x) = (x < x_1 \ y_1 + B \cdot (x - x_1) : y_1)$). Los valores de cada parámetro así como el valor de CV (%) del punto de inflexión se indican en los gráficos.

Figura 14. Curvas fotosíntesis neta (A_{neta}) en función de la radiación fotosintéticamente activa (RFA) para la especie *N. nervosa* en cuatro fechas a lo largo de la temporada de medición. Las curvas en rojo corresponden a plantas estresadas. Las curvas en negro corresponden a plantas testigo. Referencias: A_{max} = tasa de fotosíntesis máxima, RC = rendimiento cuántico efectivo, PCL = punto de compensación lumínica. Los valores de desvío estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento) se comentan en el texto.

Figura 15. Curvas fotosíntesis neta (A_{neta}) en función de la radiación fotosintéticamente activa (RFA) para la especie *N. obliqua* en cuatro fechas a lo largo de la temporada de medición. Las curvas en rojo corresponden a plantas estresadas. Las curvas en negro corresponden a plantas testigo. Referencias: A_{max} = tasa de fotosíntesis máxima, RC = rendimiento cuántico efectivo, PCL = punto de compensación lumínica. Los valores de desvío estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento) se comentan en el texto.

Figura 16. Curvas de fotosíntesis neta (A_{neta}) en función del nivel de CO_2 en la cámara subestomática (carbono interno, C_i) para ambas especies. Las diferencias entre especies se comentan en el texto.

Figura 17. Porcentaje de humedad en maceta expresado como contenido volumétrico de agua en maceta (CV; % vol/vol) por especie y tratamiento para las diferentes fechas de registro. **A** = *N. nervosa*; **B** = *N. obliqua*; PC = capacidad de campo de los suelos en maceta ("pot capacity"); CC = capacidad de campo; PMP = punto de marchitez permanente. Las líneas verticales negras sobre el gráfico indican las fechas en que se realizó el riego de las plantas bajo el tratamiento de estrés. Los asteriscos muestran fechas en las que existieron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos por especie. Las líneas verticales sobre los puntos muestran los desvíos estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento). Las diferencias entre especies se comentan en el texto.

Figura 18. Cantidad de hojas promedio por planta en función de la especie/tratamiento. Ra = *N. nervosa*; Ro = *N. obliqua*; T = testigo; E = estrés. Diferentes letras minúsculas muestran diferencias entre tratamientos para una misma especie. Diferentes letras mayúsculas entre columnas del mismo tratamiento muestran diferencias entre especies. Las líneas verticales sobre las columnas muestran los desvíos estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

Figura 19. Valores promedio de biomasa total de hojas por planta por especie en función del tratamiento. Ra = *N. nervosa*; Ro = *N. obliqua*; T = testigo; E = estrés. Diferentes letras minúsculas muestran diferencias entre tratamientos para una misma especie. Diferentes letras mayúsculas entre columnas del mismo tratamiento muestran diferencias entre especies. Las líneas verticales sobre las columnas muestran los desvíos estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

Figura 20. Incremento relativo en altura (IRA) por especie en función del tratamiento. Ra = *N. nervosa*, Ro = *N. obliqua*. Diferentes letras minúsculas muestran diferencias entre tratamientos para una misma especie. Diferentes letras mayúsculas entre columnas del mismo tratamiento muestran diferencias entre especies. Las líneas verticales sobre las columnas muestran los desvíos estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

Figura 21. Incremento relativo en diámetro (IRD) por especie en función del tratamiento. Ra = *N. nervosa*, Ro = *N. obliqua*. Diferentes letras minúsculas entre columnas de una misma especie muestran diferencias entre tratamientos. Diferentes letras mayúsculas entre columnas del mismo tratamiento muestran diferencias entre especies. Las líneas verticales sobre las columnas muestran los desvíos estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

Figura 22. Biomasa de raíces (g) por especie en función del tratamiento. Ra = *N. nervosa*, Ro = *N. obliqua*. Diferentes letras minúsculas entre columnas de una misma especie muestran diferencias entre tratamientos. Diferentes letras mayúsculas entre columnas del mismo tratamiento muestran diferencias entre especies. Las líneas verticales sobre las columnas muestran los desvíos estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

Figura 23. Biomasa de tallo (g) por especie en función del tratamiento. Ra = *N. nervosa*, Ro = *N. obliqua*. Diferentes letras minúsculas entre columnas de una misma especie muestran diferencias entre tratamientos. Diferentes letras mayúsculas entre columnas del mismo tratamiento muestran diferencias entre especies. Las líneas verticales sobre las columnas muestran los desvíos estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

Figura 24. Porcentaje de plantas con muerte apical por especie en función del tratamiento. Ra = *N. nervosa*; Ro = *N. obliqua*; T = testigo; E= estrés.

Figura 25. Valores promedio de fotosíntesis neta (A_{neto} ; $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) y desvíos estándar a RFA saturante ($1000 \mu\text{moles fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) en las diferentes fechas de muestreo de la temporada 2007-2008 (Experimento con orígenes preseleccionados I). A= *N. nervosa*; B= *N. obliqua*. Los asteriscos sobre los puntos de la figura indican diferencias significativas entre tratamientos dentro de cada especie ($p < 0,05$). Las diferencias entre especies para un mismo tratamiento se comentan en el texto.

Figura 26. Valores promedio de tasas de transpiración (E; $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) y desvíos estándar a RAF saturante ($1000 \mu\text{moles fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) en las diferentes fechas de muestreo de la temporada 2007-2008 (Experimento con orígenes preseleccionados I). A= *N. nervosa*; B= *N. obliqua*. Los asteriscos sobre los puntos de la figura indican diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$). Las diferencias entre especies para un mismo tratamiento se comentan en el texto.

Figura 27. Eficiencia en el uso del agua instantánea (EUA; $\mu\text{mol CO}_2 / \text{mmol H}_2\text{O}$) y desvíos estándar a RFA saturante ($1000 \mu\text{moles fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) en las diferentes fechas de muestreo de la temporada 2007-2008 (Experimento con orígenes preseleccionados I). A= *N. nervosa*; B= *N. obliqua*. Los asteriscos sobre los puntos de la figura indican diferencias significativas entre tratamientos por especie ($p < 0,05$). Las diferencias entre especies para un mismo tratamiento se comentan en el texto.

Figura 28. Relación entre la tasa de actividad fotosintética neta (A_{neta}) a RFA saturante y la tasa de conductancia estomática (gs) por especie. En el gráfico se muestran las ecuaciones del modelo así como el grado de ajuste del mismo.

Figura 29. A) Tasa de fotosíntesis neta (A_{neta}) en función de la radiación fotosintéticamente activa (RFA.) por especie a comienzos de la temporada de crecimiento 2007-2008 (Experimento con orígenes preseleccionados I). **A)** La línea en negro representa el modelo de ajuste de *N. nervosa*; la línea azul representa el modelo generado para *N. obliqua*. Los asteriscos sobre la figura muestran diferencias entre el modelo de una y otra especie especificándose las diferencias entre parámetros en el Cuadro 5. **B y C)** Tasa de fotosíntesis neta (A_{neta}) en función de la radiación fotosintéticamente activa (RFA) por especie y por tratamiento a mediados de la temporada de crecimiento 2007-2008 (Experimento con orígenes preseleccionados I). (**B** = *N. nervosa*; **C** = *N. obliqua*). En ambas figuras las líneas en color negro muestran los modelos para plantas testigo y las líneas en rojo muestran los modelos de plantas estresadas. Los asteriscos sobre la figura muestran diferencias entre los modelos para plantas testigo y estresadas de una misma especie.

Figura 30. Curvas de vulnerabilidad a la cavitación (PPC = porcentaje de pérdida de la conductividad hidráulica en función de la presión aplicada) en plantas testigo (A, B) y estresadas (C, D) de las especies *N. nervosa* y *N. obliqua*, respectivamente. En cada gráfico se muestra el grado de ajuste de la serie de datos al modelo Pammenter & Vander Willigen, así como también los parámetros estimados del modelo (a y b).

Figura 31. Relación F_v/F_m (eficiencia de transferencia de excitación en tejido adaptado a la oscuridad) y desvíos estándar de dicha variable en las distintas fechas de muestreo por especie por tratamiento. Las columnas blancas representan plantas bajo el tratamiento testigo y las columnas negras plantas bajo el tratamiento de estrés. Los asteriscos sobre las columnas muestran diferencias estadísticas entre tratamientos por fecha ($p = 0,05$). Las diferencias entre especies se comentan en el texto.

Figura 32. Potencial hídrico de prealba (**A**) y mediodía (**B**) en relación al rango de contenido volumétrico de agua en maceta (CV) y (**C**) relación entre el potencial hídrico de prealba (Ψ_{pd} , MPa) y el potencial hídrico de mediodía (Ψ_{md} , MPa) para ambas especies y relación 1:1. Roble = *N. obliqua*; Raúlí = *N. nervosa*. Letras minúsculas diferentes indican diferencias estadísticas en los valores de potencial hídrico entre diferentes rangos de contenido volumétrico de humedad en maceta dentro de cada especie. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias estadísticas entre valores de potencial hídrico entre especies para un mismo rango de contenido volumétrico de humedad en maceta ($p = 0,05$). Las líneas verticales sobre las columnas muestran los desvíos estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

Figura 33. Tasa de fotosíntesis neta (A_{neta}) por especie (Ra = *N. nervosa*; Ro = *N. obliqua*) y tratamiento (T = testigo; E = estresadas). Letras minúsculas diferentes indican diferencias estadísticas entre especies por tratamiento. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos por especie ($p = 0,05$). Las líneas verticales sobre las columnas muestran los desvíos estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

Figura 34. Eficiencia en el uso del agua instantánea (EUA) por origen, tratamiento y especie. Los asteriscos en el gráfico muestran diferencias estadísticas entre tratamientos por origen. Letras minúsculas diferentes indican diferencias estadísticas para un mismo tratamiento entre orígenes de una misma especie. Las líneas verticales sobre las columnas muestran los desvíos estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

Figura 35. Tasa de conductancia estomática (gs) por origen y tratamiento a lo largo de todo el período de estudio. Referencias (A, B, C, D) = orígenes de la especie *N. nervosa*; (E, F, G, H) = orígenes de la especie *N. obliqua*. Los asteriscos en el gráfico muestran diferencias entre tratamientos por origen. Las líneas verticales sobre las columnas muestran los desvíos estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento). Las diferencias entre especies se comentan en el texto.

Figura 36. Espectro de longitudes de onda de la radiación solar detallando el espectro electromagnético, rayos gamma, rayos x, UV, luz visible, Infrarrojo y ondas de radio (extraído y modificado de Taiz & Zeiger, 1998).

Figura 37. Tasa de asimilación fotosintética de CO₂ neta (A_{neta}) vs. RFA absorbida por la hoja, detallando en la curva de respuesta la limitación por luz, limitación por concentración de CO₂, punto de compensación lumínica (PCL), punto de saturación lumínica (PSL) y tasa de respiración en oscuridad (Rd). Esquema confeccionado en función de Taiz & Zeiger, 1998.

Figura 38. Fotografía (A) y Esquema (B) de las parcelas del experimento de estrés lumínico. Los colores negro, gris y blanco en la Fig. B representan las parcelas de 80% de sombra (80%), 50% de sombra (50%) y pleno sol (PS) respectivamente. Los puntos dentro de cada parcela representan las 10 plantas de cada parcela (5 plantas x 2 especies).

Figura 39. Contenido volumétrico de humedad en maceta (CV; % vol/vol) por especie y tratamiento para las diferentes fechas de registro en el experimento de estrés lumínico. Referencias: CC = capacidad de campo del suelo (línea verde); PMP = punto de marchitez permanente del suelo (línea roja). Las líneas verticales sobre los puntos muestran el desvío estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento). Los valores de una y otra especie así como los tratamientos para una misma especie no presentaron diferencias estadísticas significativas ($p > 0,05$).

Figura 40. Incremento relativo en altura (IRA) por especie y tratamiento al final de la temporada de crecimiento 2007-2008. Ra = *N. nervosa*; Ro = *N. obliqua*; 50% = tratamiento de 50% de cobertura; 80% = tratamiento de 80% de cobertura; PS= tratamiento de pleno sol. Las letras mayúsculas en el gráfico muestran diferencias estadísticas significativas entre especies bajo un mismo tratamiento lumínico. Las líneas verticales sobre las columnas muestran el desvío estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

Figura 41. Incremento relativo en diámetro (IRD) por especie y tratamiento al final de la temporada de crecimiento 2007-2008. Ra = *N. nervosa*; Ro = *N. obliqua*; 50% = tratamiento de 50% de cobertura; 80% = tratamiento de 80% de cobertura; PS= tratamiento de sol pleno. Las letras mayúsculas en el gráfico muestran diferencias estadísticas significativas entre especies bajo un mismo tratamiento lumínico. Las líneas verticales sobre las columnas muestran el desvío estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

Figura 42. Cantidad de hojas promedio por planta por especie y tratamiento al final de la temporada de crecimiento 2007-2008. Ra = *N. nervosa*; Ro = *N. obliqua*; 50% = tratamiento de 50% de cobertura; 80% = tratamiento de 80% de cobertura; PS= tratamiento de sol pleno. Las letras minúsculas en el gráfico muestran diferencias estadísticas significativas entre los distintos tratamientos lumínicos por especie. Las letras mayúsculas en el gráfico muestran diferencias estadísticas significativas entre especies bajo un mismo tratamiento lumínico. Las líneas verticales sobre las columnas muestran el desvío estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

Figura 43. Porcentaje de plantas con ápice muerto por especie y tratamiento al final de la temporada de crecimiento 2007-2008. Ra = *N. nervosa*; Ro = *N. obliqua*; 50% = tratamiento de 50% de cobertura; 80% = tratamiento de 80% de cobertura; PS= tratamiento de sol pleno.

Figura 44. Biomasa de raíces (g) por especie y tratamiento al final de la temporada de crecimiento 2007-2008. Ra = *N. nervosa*; Ro = *N. obliqua*; 50% = tratamiento de 50% de cobertura; 80% = tratamiento de 80% de cobertura; PS= tratamiento de sol pleno. Las letras minúsculas en el gráfico muestran diferencias estadísticas entre tratamientos de una misma especie. Las letras mayúsculas en el gráfico indican diferencias estadísticas para un mismo tratamiento entre especies. Las líneas verticales sobre las columnas muestran el desvío estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

Figura 45. Biomasa de tallo (g) por especie y tratamiento al final de la temporada de crecimiento 2007-2008. Ra = *N. nervosa*; Ro = *N. obliqua*; 50% = tratamiento de 50% de cobertura; 80% = tratamiento de 80% de cobertura; PS= tratamiento de sol pleno. Las letras mayúsculas en el gráfico indican diferencias estadísticas para un mismo tratamiento entre especies. Las líneas verticales sobre las columnas muestran el desvío estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

Figura 46. Biomasa total (g) por especie y tratamiento al final de la temporada de crecimiento 2007-2008. Ra = *N. nervosa*; Ro = *N. obliqua*; 50% = tratamiento de 50% de cobertura; 80% = tratamiento de 80% de cobertura; PS= tratamiento de sol pleno. Las letras mayúsculas en el gráfico indican diferencias estadísticas para un mismo tratamiento entre especies. Las líneas verticales sobre las columnas muestran el desvío estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

Figura 47. Relación biomasa aérea:biomasa subterránea (raíces) por especie y tratamiento al final de la temporada de crecimiento 2007-2008. Ra = *N. nervosa*; Ro = *N. obliqua*; 50% = tratamiento de 50% de cobertura; 80% = tratamiento de 80% de cobertura; PS= tratamiento de sol pleno. Las letras minúsculas en el gráfico muestran diferencias estadísticas entre tratamientos de una misma especie. Las letras mayúsculas en el gráfico indican diferencias estadísticas para un mismo tratamiento entre especies. Las líneas verticales sobre las columnas muestran el desvío estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

Figura 48. Área foliar específica (AFE, kg m⁻²) por especie y tratamiento a lo largo de la temporada de crecimiento 2007-2008. Ra = *N. nervosa*; Ro = *N. obliqua*; 50 = tratamiento de 50% de cobertura; 80 = tratamiento de 80% de cobertura; PS= tratamiento de sol pleno. Las letras minúsculas en el gráfico muestran diferencias estadísticas entre tratamientos de una misma especie por fecha. Las diferencias para un mismo tratamiento entre especies se comentan en el texto. Las líneas verticales sobre las columnas muestran el desvío estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

Figura 49. Tasas de actividad fotosintética neta (A_{neta} , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) a RFA saturante por especie y tratamiento durante la temporada de crecimiento 2007-2008. 50 = tratamiento de 50% de cobertura; 80 = tratamiento de 80% de cobertura; PS= tratamiento de sol pleno. Las letras minúsculas en el gráfico muestran diferencias estadísticas entre tratamientos de una misma especie por fecha. Las diferencias para un mismo tratamiento entre especies se comentan en el texto. Las líneas verticales sobre las columnas muestran el desvío estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

Figura 50. Relación Fv/Fm (indicadora del daño en aparato fotosintético, PSII) surgida de las mediciones de fluorescencia de la clorofila a por especie (A = *N. nervosa*; B = *N. obliqua*) y tratamiento durante la temporada de crecimiento 2007-2008. 50 = tratamiento de 50% de cobertura; 80 = tratamiento de 80% de cobertura; PS= tratamiento de sol pleno. Las letras minúsculas en el gráfico muestran diferencias estadísticas entre tratamientos de una misma especie por fecha. Las diferencias para un mismo tratamiento entre especies se comentan en el texto. Las líneas verticales sobre las columnas muestran el desvío estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

Figura 51. Conductancia estomática (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) por especie y tratamiento durante la temporada de crecimiento 2007-2008. 50 = tratamiento de 50% de cobertura; 80 = tratamiento de 80% de cobertura; PS= tratamiento de sol pleno. Las letras minúsculas en el gráfico muestran diferencias estadísticas entre tratamientos de una misma especie por fecha. Los asteriscos en el gráfico muestran diferencias estadísticas significativas entre especies bajo el mismo tratamiento lumínico. Las líneas verticales sobre las columnas muestran el desvío estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

Figura 52. Tasa de transpiración (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) por especie y tratamiento durante la temporada de crecimiento 2007-2008. 50 = tratamiento de 50% de cobertura; 80 = tratamiento de 80% de cobertura; PS= tratamiento de sol pleno. Las letras minúsculas en el gráfico muestran diferencias estadísticas entre tratamientos de una misma especie por fecha. Los asteriscos en el gráfico muestran diferencias estadísticas significativas entre especies bajo el mismo tratamiento lumínico. Las líneas verticales sobre las columnas muestran el desvío estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

Figura 53. Eficiencia instantánea en el uso del agua (EUA, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} / \text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) por especie y tratamiento durante la temporada de crecimiento 2007-2008. 50 = tratamiento de 50% de cobertura; 80 = tratamiento de 80% de cobertura; PS= tratamiento de sol pleno. Las letras minúsculas en el gráfico muestran diferencias estadísticas entre tratamientos de una misma especie por fecha. Los asteriscos en el gráfico muestran diferencias estadísticas significativas entre especies bajo el mismo tratamiento lumínico. Las líneas verticales sobre las columnas muestran el desvío estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

Figura 54. Tasa de fotosíntesis neta (A_{neta}) en función de la radiación fotosintéticamente activa (RFA.) por especie a comienzos (A y B) y mediados (C y D) de la temporada de crecimiento 2007-2008 para las especies *N. nervosa* (A y C) y *N. obliqua* (B y D). Las líneas en los gráficos representan el modelo de ajuste de cada una de las especies/tratamientos al modelo de Landsberg (1974). Las diferencias estadísticas entre tratamientos/ especies se comentan en el texto.

Figura 55. Fotografía mostrando los plantines dentro de las cámaras de cría SAD 9000 utilizadas en el experimento de estrés térmico.

Figura 56. Fotosíntesis relativa (A/A_{max} ; adimensional \pm e. s. = error estándar) en relación a la temperatura de pre-tratamiento ($^{\circ}\text{C}$, 2 horas) para *N. nervosa* y *N. obliqua*. Las curvas azules en el gráfico muestran el ajuste de la serie de datos para una y otra especie a una curva gaussiana ($A_{rel} = \text{Amp} \cdot \exp(-0.5 \cdot ((T^{\circ} - \text{media})/ds)^2)$). La línea roja en cada uno de los gráficos muestra el ajuste de la serie de datos a un modelo del tipo "brocken stick". Los asteriscos sobre el gráfico muestran las diferencias halladas entre las tasas de fotosíntesis de plantas a 18°C y las plantas bajo los diferentes tratamientos térmicos para *N. nervosa*. Las diferencias en los tratamientos de larga duración (4 hs) se detallan en el texto.

Figura 57. Relación existente entre la tasa de fotosíntesis (A_{neta}) y la conductancia estomática (gs) en función de condiciones de luz, temperatura y radiación óptimas (Modelo general, línea negra) y de los diferentes tratamientos de temperatura (T ; $^{\circ}\text{C}$) para *N. nervosa* y *N. obliqua*.

Figura 58. Árbol filogenético para las distintas especies del género *Nothofagus* basado en el análisis conjunto de caracteres morfológicos, rADN, secuencias ITS y ADN de cloroplasto. Tomado de Manos (1997).

DECLARACIÓN

“Declaro que el material incluido en esta tesis es, a mi mejor saber y entender, original, producto de mi propio trabajo (salvo en la medida en que se identifique explícitamente las contribuciones de otros), y que este material no lo he presentado, en forma parcial o total, como una tesis en ésta u otra institución”

Santiago Agustín Varela

ABREVIATURAS

- ADP** = agua disponible para las plantas
AFE = área foliar específica (kg hoja m⁻²)
A_{max} = fotosíntesis máxima (μmol CO₂ m⁻² s⁻¹)
A_{neto} = fotosíntesis neta (μmol CO₂ m⁻² s⁻¹)
BH = biomasa de hojas
BR = biomasa de raíces
BT = biomasa total
CC = capacidad de campo
CRA_{apon} = contenido relativo de agua apoplástica
CRA_{ppt} = contenido relativo de agua a turgencia plena
CV = contenido volumétrico de agua en maceta (%vol/vol)
CVC = curvas de vulnerabilidad a la cavitación
d.s. = desvío estándar
E = tasa de transpiración (mmol H₂O m⁻² s⁻¹)
EEA = Estación Experimental Agropecuaria
EUA = eficiencia en el uso del agua
FC = mediciones de fluorescencia de la clorofila a
Fv/Fm = cociente entre la fluorescencia variable y fluorescencia máxima
gs = conductancia estomática (mol H₂O m⁻² s⁻¹)
IG = mediciones de intercambio gaseoso
INTA = Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria
IRA = incremento relativo en altura
IRD = incremento relativo en diámetro
IRGA = medidor de intercambio gaseoso basado en un analizador de gases infrarrojo, del inglés "infra red gas analyser"
k = conductancia hidráulica
k_h = conductividad hidráulica
k_{h max} = conductividad hidráulica máxima
k_s = conductividad hidráulica específica
msnm = metros sobre el nivel del mar
PC = capacidad de campo en maceta, del inglés "pot capacity"
PCL = punto de compensación lumínico
PMP = punto de marchitez permanente
PPC = porcentaje de pérdida de conductividad hidráulica
PSII = fotosistema dos
PSL = punto de saturación lumínico
P-V = curvas presión-volumen
RC = rendimiento cuántico aparente
RFA = radiación fotosintéticamente activa (μmol de fotones m⁻² s⁻¹)
TDR = del inglés "time domain reflectometry"
ε_{max} = módulo de elasticidad máximo
Ψ_g = potencial gravitatorio (MPa)
Ψ_{H2O} = potencial hídrico (MPa)
Ψ_m = potencial mátrico (MPa)
Ψ_{md} = potencial hídrico de mediodía
Ψ_o = potencial osmótico (MPa)
Ψ_p = potencial de presión (MPa)
Ψ_{pa} = potencial hídrico de perlaba
Ψ_{ppt} = potencial hídrico a turgencia plena
Ψ_{πsat} = potencial osmótico a saturación

RESUMEN

Respuestas morfológico-fisiológicas ante distintos tipos e intensidades de estrés en dos especies patagónicas del género *Nothofagus* con aptitud comercial.

Algunas especies nativas andino-patagónicas poseen alto valor maderero. La utilización de las mismas en cultivo requiere del conocimiento de su respuesta fisiológica y morfológica frente a factores ambientales generadores de estrés (hídrico, lumínico y térmico) en zonas potenciales de plantación. El presente trabajo tuvo como objetivo generar conocimiento acerca de los mecanismos ecofisiológicos en respuesta a dichos factores de estrés en plantines de dos especies nativas: *Nothofagus nervosa* y *N. obliqua*. Los experimentos de estrés hídrico mostraron que ambas especies poseen, a bajos niveles de contenido hídrico, mecanismos anisohídricos de regulación del potencial mínimo, pero con un estricto cierre estomático ante aumentos del déficit de presión de vapor atmosférico. Los mayores valores de conductividad hidráulica máxima y menor vulnerabilidad a la cavitación del tallo sugieren que, ante condiciones de escaso déficit hídrico en suelo, pero alta demanda evaporativa, *N. obliqua* poseería una ventaja comparativa frente a *N. nervosa*. En respuesta a la radiación, ambas especies respondieron mejor a condiciones intermedias de sombra. Se observó una alta incidencia de muerte apical ante condiciones de alta irradiancia. El principal mecanismo de aclimatación ante estas condiciones se relacionaría con la producción de hojas preformadas y neoformadas, presentando estas últimas una ventaja funcional en relación al grado de aclimatación. En relación a la temperatura, *N. obliqua* mostró un mayor rango de temperaturas óptimas para la fotosíntesis, sugiriendo una mayor adaptación a condiciones climáticas variables. El óptimo fotosintético se encuentra por encima de las actuales temperaturas medias, por lo que, las dos especies se verían beneficiadas ante escenarios climáticos con aumento de la misma, siempre que no haya déficit hídrico. Los resultados de esta tesis contribuyen a entender la distribución restringida de ambas especies en el NO de la Patagonia argentina donde la variación ambiental es grande en cortas distancias. Si bien existe aún incertidumbre, con el estado actual del conocimiento, *N. obliqua* parecería poseer una mayor potencialidad de crecimiento que *N. nervosa* en respuesta a los distintos factores de estrés considerados.

PALABRAS CLAVES: ecofisiología, estrés, *Nothofagus*, radiación, temperatura, agua, cambio climático.

ABSTRACT

Morphological and physiological responses to different types and intensities of stress in two Patagonian species of the genus *Nothofagus* with productive aptitude.

Some native Andean-Patagonian species have a high timber value. Its productive use requires knowledge about physiological and morphological responses to environmental stress factors (moisture, radiation and temperature) in potential areas of plantation. The general goal of this study was to generate knowledge about ecophysiological mechanisms in response to stress factors in seedlings of two native species: *Nothofagus nervosa* and *N. obliqua*. The results of water stress essays showed that, at low soil water contents, both species possess an anisohydric mechanism of minimum water potential regulation, but with a strict stomatal closure in response to atmospheric vapor pressure deficit. The highest values of maximum hydraulic conductivity and the lowest vulnerability to cavitation in the stem suggests that, in conditions of low water deficit but high evaporative demand, *N. obliqua* presents an advantage respect to *N. nervosa*. In response to radiation, both species present a better performance under intermediate shade conditions than under very high or very low radiation levels. A high incidence of apical mortality was found under the high irradiance treatment. The main mechanism of acclimation to high radiation conditions would be related to the production of preformed and neoformed leaves, the latter presenting a functional advantage in relation to the degree of acclimatization. In response to temperature, *N. obliqua* showed a wider range of optimum temperatures for photosynthesis, suggesting a greater adaptation to climatic variability. For both species, the optimum temperature for photosynthesis is above the current average temperature of its natural distribution area. For this reason both species could increase carbon fixation under predicted climate change scenarios, if increased temperature is not accompanied with water stress. The results of this study contribute to understand the restricted distribution of both species in NW Patagonia, Argentina, where environmental variation is large at short geographical distances. While there is still uncertainty, with the current state of knowledge, *N. obliqua* seems to have a greater growth potential than *N. nervosa* in response to environmental stress factors.

KEYWORDS: ecophysiology, stress, *Nothofagus*, radiation, temperature, moisture, climate change.



CAPITULO I

Introducción General.

1.1 Antecedentes y problemática.

La reducción continua de los bosques naturales en el mundo, producto del incremento del consumo de madera (a un ritmo de 16 millones de hectáreas por año; FAO 2009), ha generado que las plantaciones forestales cobren relevancia a nivel mundial, aumentando significativamente de 17,8 millones de hectáreas en 1980 a 43,6 millones de hectáreas en 1990 y a 187 millones de hectáreas en el año 2000. Particularmente en países de América del Sur no tropicales (Argentina, Uruguay y Chile), las altas tasas de crecimiento de algunas coníferas y latifoliadas exóticas han generado un incremento de la superficie plantada en el curso de los últimos tres decenios, reemplazando en muchos casos las formaciones forestales naturales (FAO, 2009).

Particularmente para la Argentina, existe una preocupación creciente por la situación de los bosques naturales, los cuales han sido reducidos a menos del 13% de la superficie total del territorio (FAO, 2009). En Patagonia, el importante potencial para el desarrollo de forestaciones con especies exóticas que presentan las provincias de Neuquén, Río Negro y Chubut, generó que desde mediados del siglo pasado se realicen experiencias de plantación con coníferas exóticas, conduciendo al establecimiento de plantaciones por parte de empresas estatales, productores e inversionistas privados que, en su gran mayoría, han hecho uso de los mecanismos de promoción nacional y provinciales (Loguercio & Deccechis, 2006 a y b). En la actualidad sólo tres especies de coníferas son utilizadas en forestaciones masivas en la Patagonia: el pino ponderosa (*Pinus ponderosa* (Dougl. ex Laws.), el pino oregón (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco) y el pino contorta o murrayana (*Pinus contorta* (Dougl.)), estimándose su superficie actual en 68.000 hectáreas aproximadamente (Godoy & Deffosé, 2004; Loguercio & Deccechis, 2006 ay b).

Como se mencionó anteriormente, las causas por las cuales las plantaciones de gran escala se han llevado a cabo con este tipo de especies exóticas radica en sus altas tasas productivas bajo las condiciones medioambientales del norte de la Patagonia, llegando incluso a obtenerse mayores rendimientos a los registrados en sus zonas de origen (e.g. Gonda, 1998; Ryan et al., 2000; Grulke & Retzlaff, 2001). Esta aptitud genera altas tasas de crecimiento en comparación con especies locales sumado al conocimiento previo de producción, manejo y procesamiento de sus maderas obtenido en otros lugares del mundo. Pese a ello se ha visto que siempre se requiere la adaptación del conocimiento a las condiciones locales.

La falta de madera de calidad ha sido vislumbrada como una de las problemáticas claves en la producción forestal a nivel nacional y en esta región (ver documentos institucionales tales como el Plan de Mediano Plazo o el Plan Tecnológico Regional de INTA 2005-2007). A la fecha, la calidad de madera obtenida de los raleos de las plantaciones más antiguas de pino ponderosa no ha cubierto las expectativas deseadas, haciendo imprescindible mejorar este aspecto. Sumado a esto, el escaso desarrollo del eslabón de transformación industrial impacta en la calidad de la madera producida regionalmente y así, sobre el valor agregado generado por la actividad. Como posibles soluciones se han planteado el estudio del manejo de las actuales y futuras plantaciones de pino ponderosa y las restantes especies exóticas de manera de elevar la calidad de su madera, mediante programas de selección y mejora genética, perfeccionando las técnicas de implantación y manejo inicial y/o mediante la plantación de especies que posean intrínsecamente una mayor calidad de madera. Este es el caso de algunas especies nativas del bosque andino-

patagónico (ej. Roble pellín, *Nothofagus obliqua*; Raulí, *Nothofagus nervosa*; Lenga, *Nothofagus pumilio*; Ciprés de la cordillera, *Austrocedrus chilensis*; etc.).

Durante más de un siglo en la región patagónica se ha extraído del bosque natural aquellas especies caracterizadas por poseer madera de alta calidad, cortando aquellos ejemplares con la mejor forma y el mayor tamaño, lo cual ha ocasionado un empobrecimiento del bosque remanente de distinta magnitud de acuerdo al sitio y la especie. En muchas ocasiones, prácticas nocivas adicionales como la introducción de ganado o la quema, han contribuido a la reducción de la superficie ocupada por los bosques nativos (Chauchard et al., 1996; Gallo, 2006).

En relación al precio histórico y actual de la madera de ambos tipos de especies, las nativas han mantenido valores superiores (entre tres y cuatro veces más) a las exóticas; el precio de madera rolliza de Pino ponderosa en corta final y plantaciones bajo manejo silvícola, rondaría hoy los 150 a 170 \$/m³, mientras que los valores actuales de especies nativas por m³ de madera rolliza serían de 450 \$/m³ para el Raulí y de 380 \$/m³ para el Roble pellín (Documento Sectorial Integral Forestoindustria, Ministerio de Desarrollo Territorial, Subsecretaría de Desarrollo Económico de Neuquén).

Por lo expuesto, el poder llevar al cultivo especies nativas podría significar una solución parcial a la creciente demanda de madera de calidad, aprovechando recursos genéticos locales. Asimismo, la utilización de este tipo de especies, debido a su valor diferencial, permitiría su producción en escalas espaciales menores que las plantaciones con coníferas de rápido crecimiento, incluyendo al sector de productor pequeño y mediano, contribuyendo así al desarrollo local y regional. Sin embargo, el norte patagónico se caracteriza por su clima semiárido, con inviernos fríos y húmedos, y veranos cálidos y secos. El estrés ambiental constituye un cuello de botella a considerar en la producción forestal con estas especies, principalmente si se piensa en extender su área de distribución natural por fuera de la actual hacia el ecotono del bosque con la estepa.

El desarrollo de cultivos de especies nativas requiere de conocimientos y tecnología que permitan su establecimiento a escalas compatibles con un aprovechamiento comercial. Entre otros, es necesario generar información acerca de las superficies potenciales de implantación así como de los mecanismos de resistencia/ respuesta a condiciones naturales de estrés ambiental al que las especies estarían sometidas en estas nuevas áreas y la variación existente entre las distintas especies y poblaciones. En referencia al primer punto, una estimación inicial de las áreas potenciales para plantación de estas especies en las provincias de Neuquén, Río Negro y Chubut supera las 270.000 hectáreas (Godoy & Defossé, 2004). Barbero (2008) señala para Río Negro 14.309 hectáreas aptas para *N. obliqua* y 8.220 hectáreas para *N. nervosa* (con una superposición de 3.436 hectáreas), por lo cual existirían en total para ambas especies unas 19.093 hectáreas solo en la mencionada provincia. En referencia al segundo punto, la supervivencia y crecimiento inicial de especies forestales, posteriores a la plantación, pueden estar condicionados por la calidad del plantín, las técnicas de implantación, por procesos de competencia y por condiciones climáticas y edáficas (Andenmatten et al., 2004).

El desarrollo de estrategias adaptativas durante las etapas tempranas de la ontogenia parecerían así determinantes para su supervivencia en ambientes con distintos tipos de estrés (Rose et al., 2009). El crecimiento y desarrollo de las plantas son controlados por reguladores internos que son modificados acorde a las condiciones ambientales, siendo la disponibilidad de agua (mediada por las precipitaciones), la temperatura, y la luz tres de los principales factores

ambientales que afectan el rango de crecimiento de las plantas (Manske, 2000), actuando en muchos casos, por exceso o por defecto, como factores generadores de estrés.

El mantenimiento de la competitividad de un sistema productivo depende no sólo de la sobrevivencia de las especies sino también de que sus tasas de crecimiento sean compatibles con la actividad que se plantea. De esta forma no sólo es importante la identificación de los valores umbrales (máximos y mínimos) de aquellos factores que afecten las tasas de sobrevivencia de las especies, sino también la determinación de rangos óptimos de producción de las variables ambientales relacionadas con el factor de estrés (Fig. 1).

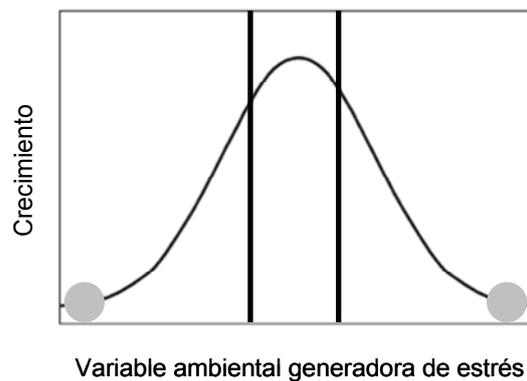


Figura 1. Relación Crecimiento vs. Variable ambiental generadora de estrés. En la figura los círculos grises representan los valores umbrales mínimos y máximos de sobrevivencia y el espacio entre las líneas negras el rango óptimo de producción (crecimiento) en función de la variable ambiental.

Así, el estudio de las respuestas de las plantas frente a factores de estrés es un aspecto fundamental de la fisiología ambiental o ecofisiología, la cual se propone conocer cómo las plantas funcionan en sus ambientes naturales y cuáles son los patrones que determinan su distribución, supervivencia y crecimiento (Kramer & Boyer, 1995; Lambers et al., 1998; Ackerly et al., 2002). Desde el punto de vista productivo, esta información es útil para llevar al cultivo a las especies y para orientar la selección y el manejo optimizando la productividad y/o la calidad del producto primario.

Considerando el conocimiento existente hasta la fecha para las distintas especies del género *Nothofagus* en Argentina, se han hecho grandes esfuerzos en la caracterización genética específica e identificación de híbridos interespecíficos. Esto se ha llevado a cabo a través de marcadores genéticos isoenzimáticos y moleculares y ensayos comparativos de orígenes y procedencias (Donoso et al., 2004; Gallo et al., 2004; Premoli, 2004, entre otros) sobre caracteres no adaptativos, siendo incipiente la realización de estudios referidos a genómica funcional. A la fecha, existen escasos conocimientos de procesos fisiológicos determinantes de la supervivencia y crecimiento y su respuesta ante los distintos tipos de estrés que estas especies experimentan en sus zonas de distribución natural y en potenciales zonas de plantación.

Los principales avances realizados en el marco de la ecofisiología están referidos a especies del mismo género de Nueva Zelanda (*N. solandri*, *N. menziesii*; *N. cunninghamii*, *N. gunni*; Green & Jane, 1983; Körner & Bannister, 1985; Read & Farquhar, 1991; Sun et al., 1995; Hovenden & Brodbribb, 2000;

Kohout & Read, 2006, entre otros) o especies sudamericanas del género (*N. obliqua*, *N. nervosa*, *N. pumilio*, *N. dombeyi*, *N. nitida*) creciendo bajo condiciones de buena disponibilidad de recursos en Argentina y Chile (Huber et al., 1983; Read & Hill, 1985; Alberdi, 1987; Kohout & Read, 2006, Zúñiga et al., 2006; Martínez Pastur et al. 2007; Piper et al., 2007; Premoli et al., 2007; Premoli & Brewer, 2007, Peri et al., 2009; Reyes-Díaz et al., 2009; entre otros).

1.2. Características generales e información existente sobre los requerimientos de las especies del género *Nothofagus* consideradas en el presente trabajo.

Los Bosques Andino-Patagónicos (incluidos dentro de los Bosques Templados de América del Sur) ocupan en Argentina una estrecha faja de no más de 100 km de ancho que se extiende desde el norte de la Provincia del Neuquén hasta la isla de Tierra del Fuego, entre los 36° y los 55 ° de Latitud Sur sobre la vertiente oriental de la Cordillera de los Andes, cubriendo una superficie aproximada de 3 millones de hectáreas. El género *Nothofagus* (Nothofagaceae), formado por especies arbóreas siempreverdes y caducifolias, se destaca por su importancia fisonómica en este tipo de bosques (Veblen et al., 1996), representando el 80 % de la superficie de los mismos. Este género comprende en nuestro país un conjunto de seis especies de gran importancia ecológica y productiva destacándose entre ellas el Raulí (*N. nervosa*), el Roble Pellín (*N. obliqua*) y la Lengua (*N. pumilio*).

En el bosque nativo, estas especies adquieren portes forestales con individuos de hasta 35 m de altura y 2 m de diámetro (Chauchard et al., 1997). Los crecimientos anuales superan en algunos sitios del bosque y en plantaciones experimentales los 20-25 m³/ha año con material sin mejora genética (Donoso et al. 1995), valores que las acercan a las llamadas “especies de rápido crecimiento” comúnmente usadas en plantaciones comerciales.

Nothofagus obliqua (Mirb.) Oersted (Roble, Pellín, Roble Pellín, Hualle o Hualo) es una especie monoica que puede alcanzar 40 m de altura, 2 m de diámetro y en general presenta troncos cilíndricos (aspecto importante desde el punto de vista forestal). Sus hojas son caducas, presenta polinización anemófila y ciclos bianuales de producción de semillas (uno de alta y otro de baja) y un alto porcentaje de semillas vanas (Donoso et al., 2004). En Argentina, esta especie se desarrolla entre los 36° 40', en las lagunas de Epulafquen en el norte de la provincia de Neuquén y los 40° 11' lat S, en la cuenca del lago Lácar, a lo largo de aproximadamente 370 kilómetros a altitudes entre los 630 y los 1200 msnm y regímenes de precipitación entre los 1200 y 3000 mm/año (Fig. 2).

Estudios realizados por Diehl et al. (2003) sobre las estrategias de conservación de nutrientes en bosques nativos de la región andino patagónica indican que esta especie se desarrolla sobre suelos con valores promedio de nutrientes de: 13,6% C; 0,8% N; 24,6 mg kg⁻¹ P; 0,67 cmol kg⁻¹ K; 30,5 cmol kg⁻¹ Ca+Mg. Al ser una especie de hoja caduca, inicia su gasto de agua por transpiración cuando empiezan a abrirse las yemas, durante el mes de septiembre. Este consumo aumenta cuando los principales factores meteorológicos que regulan la transpiración se hacen más efectivos y a medida que aumenta la superficie foliar de los árboles. Como defensa contra la evaporación por acción del viento, sus hojas se disponen de manera plegada, lo que disminuye la pérdida del agua (INFOR-CONAF, 1998).

Estudios realizados en Chile sobre el crecimiento de individuos juveniles de Roble pellín (*N. obliqua*) y Raulí (*N. nervosa*) en plantación bajo distintos niveles

de cobertura de dosel y bajo distintas condiciones de fertilización (Grosse, 1988), concluyen que la primera de las especie presenta mejores tasas de supervivencia y crecimiento bajo condiciones de radiación total (sin cobertura) y cobertura suave (semisombra), mientras que esta última condición es la óptima para *N. nervosa*. En ensayos de plantación de las mismas especies en Cholila, Lago Rosario y El Foyel (Argentina), Davel et al. (2004) destacan como fundamental la protección de cobertura arbórea o arbustiva alta (40 y 60%) y homogénea a fin de evitar un crecimiento diferencial por sectores y para la obtención de un buen prendimiento y supervivencia. Este punto también es señalado por Aguilera & Fehlandt (1981), Gallo et al. (2000) y Peyrou (2002).

La madera del Roble pellín es medianamente pesada, dura, de alta resistencia mecánica y durable, con una vida útil superior a los 15 años. Su putrefacción es lenta debido al alto contenido de sustancias tánicas. Se utiliza en obra gruesa de edificios, tejuelas, puentes, muebles, postes, estacas para minas, durmientes, embarcaciones, etc. (Tortorelli, 1956), siendo también apta para la fabricación de tableros de partículas, tanto para interiores como exteriores (INTI-CITEMA, 2003).

Nothofagus nervosa (Phil.) Dim. et Mil. (Raulí) es una especie monoica, de hasta 40 metros de altura, crecimiento recto, cilíndrico, 2 m o más de diámetro, hojas caducas y dispersión anemófila. En base a estudios realizados por Marchelli & Gallo (1999) se sabe que los eventos de semillación son altamente variables, dándose sucesos de producción “parcial” de semillas cada dos años con una baja ocurrencia de años de semillación máxima. La proporción de semillas dañadas por insectos es muy importante, llegando en algunos casos a sobrepasar el 80 % del total de las producidas en algunas poblaciones.

Esta especie se distribuye en Argentina entre los 39° 24' y los 40° 10' (Fig. 2), mostrando un rango de distribución acotado, con precipitaciones que varían entre 1200 y 3000 mm/año. Se desarrolla en suelos derivados de cenizas volcánicas y rocas metamórficas, con una profundidad media de 0,9 – 2,0 m y más, con texturas que varían de franco arenosas a francos arcillo-limosas, enriquecidos por materia orgánica, bien estructurados, al menos en la parte superior del perfil, con materiales fácilmente meteorizables y las siguientes características promedio en contenido de nutrientes: 8,9 % C; 0,4% N; 11,2 mg kg⁻¹ P; 0,51 cmol kg⁻¹ K; 14,5 cmol kg⁻¹ Ca+Mg (Diehl et al., 2003). Su madera es de peso moderado, con una densidad de aproximadamente 600 kg m⁻³. Es una madera apreciada por sus características físicas y mecánicas, es resistente y de adecuada estabilidad. Se le califica como una madera fácil de secar artificialmente y posee una durabilidad entre 5 y 15 años en usos exteriores. Es fácil de aserrar, cepillar y torneear, lográndose excelentes terminaciones (INTI-CITEMA, 2003).

1.3. Aspectos básicos de la fisiología en respuesta a estrés y el clima como condicionante del mismo en las plantas.

El alto grado de organización de los seres vivos, incluyendo las plantas, supone la presencia de relaciones complejas y múltiples en relación al ambiente. La influencia ambiental sobre una planta estará determinada tanto por la intensidad como por la duración del correspondiente factor en interacción con los rasgos genéticos característicos de la planta. Para cada uno de los numerosos procesos fisiológicos que constituyen un sistema viviente existe siempre un “*limite de estabilidad*” (*sensu* Zlatev et al., 2003) a partir del cual una determinada variable ambiental o factor abiótico generan estrés en un

organismo. El concepto de estrés vegetal es generalmente usado de forma imprecisa y la terminología utilizada confusa, existiendo además una amplia diversidad en cuanto a las definiciones enunciadas en la literatura. Algunas comparaciones entre las diferentes definiciones pueden verse en trabajos como los de Tambussi (2000) y Valladares y colaboradores (2004), entre otros.

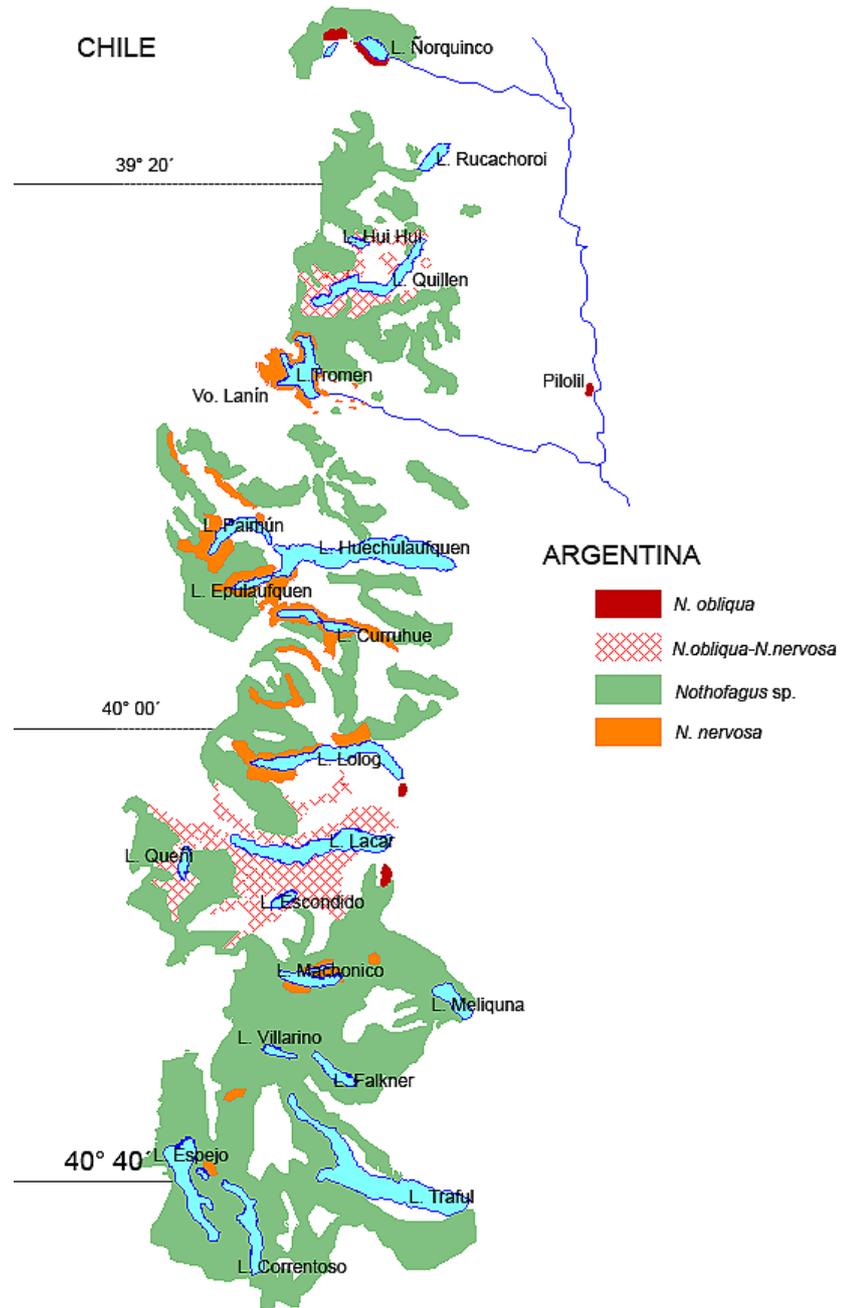


Figura 2. Distribución de *N. nervosa*, *N. obliqua*, *Nothofagus* spp. y bosque mixto en Argentina. (Mapa elaborado por Lucas Oudkerk, tomado de Marchelli & Gallo, 2000).

Sin una variabilidad periódica del entorno biológico “óptimo”, la mayoría de los organismos no sobrevivirían a las cargas extremas del ambiente (Strasburger et al., 2002). Así, donde sea que las plantas crezcan están sujetas a una gran variedad de factores de estrés ambiental tendientes a restringir sus chances de supervivencia y desarrollo. La mayor parte del tiempo las plantas no experimentan cantidades o intensidades biológicas óptimas por lo que las condiciones del “*óptimo fisiológico*” son generalmente una excepción y desviación de la regla (Schulze et al., 2005). Estas cargas ambientales estructuran y condicionan a las plantas, constituyendo así un factor constructivo aunque reduzcan en parte la producción de biomasa (Lichtenthaler, 1996). De estas oscilaciones necesarias para la vida se distingue el estrés destructivo (Strasburger et al., 2002). Para dar una definición lo más aproximada posible puede decirse que: *estrés* es el conjunto de respuestas bioquímicas o fisiológicas que definen un estado particular del organismo diferente al observado bajo un rango de condiciones óptimas (*óptimo fisiológico*) en las cuales el *límite de estabilidad* ha sido sobrepasado, y que un *factor de estrés* es cualquier agente que produce un menor crecimiento respecto al óptimo de la planta (Kozłowski & Pallardy, 1997 a y b). Adicionalmente, puede hacerse una segunda división en cuanto a los grados de estrés, definiéndose como eu-estrés a aquel estrés que genera una activación o un estímulo y puede considerarse como un elemento positivo para el desarrollo de la planta, y dis-estrés a un estrés severo y real que causa daño y tiene así un efecto negativo en el desarrollo de la planta (Lichtenthaler, 1988).

En general los factores de estrés pueden ser clasificados en físicos, químicos y bióticos, siendo los dos primeros agrupados bajo el término de abióticos. Ciertos factores, como por ejemplo la temperatura, pueden generar estrés en tan solo unos minutos. Otros como el contenido de agua en el suelo pueden tardar días a semanas y algunos factores como la deficiencia en contenido de minerales del suelo pueden tardar meses en generar estrés. Sumado a las características intrínsecas de cada factor (severidad, duración, etc.) la interacción entre los diferentes factores determinan y/o limitan la distribución y los mecanismos de respuesta de una determinada especie.

La mayor resistencia a un determinado tipo de estrés puede estar ligada no sólo a diferencias en el tipo de estrategias de respuesta utilizadas, sino también por poseer diferentes grados de plasticidad fenotípica en relación con variables que conducen a la resistencia al estrés (Valladares et al., 2002). Así, el concepto de estrés esta asociado con el de los distintos mecanismos de respuesta/resistencia de las plantas. Debido a la diversidad de agentes estresantes y de mecanismos de respuesta de las plantas no existe un esquema general que comprenda todas las combinaciones. Pese a ello, en la Fig. 3 se hace una aproximación general a los mecanismos de respuesta de las plantas clasificándose éstos como mecanismos de escape, evasión y tolerancia, agrupados estos dos últimos dentro de mecanismos de resistencia a estrés.

El primer grupo de mecanismos (*escape*) se presenta en plantas de gran plasticidad, con un desarrollo fenológico rápido, que adaptan su ciclo vegetativo y reproductivo a la disponibilidad de recursos y a las condiciones climáticas. Superan así los periodos desfavorables en forma de semillas, bulbos, rizomas, etc. Esto tiene como consecuencia una alta tasa de supervivencia pero muy baja productividad potencial, que en el caso de cultivos es aún más destacable. Los restantes grupos de mecanismos podrían ser pensados como un gran grupo de *resistencia* ante el estrés. Así el segundo grupo de mecanismos (*evasión*) están destinados a retrasar lo mas posible la acción del factor de estrés, impidiendo llegar a aquellos valores umbrales que comprometan la vida de la planta

(concepto de *límite de estabilidad*). El tercer grupo de mecanismos (*tolerancia*) abarca aquellos que permiten que la planta siga siendo funcional aunque haya un efecto marcado del factor de estrés.

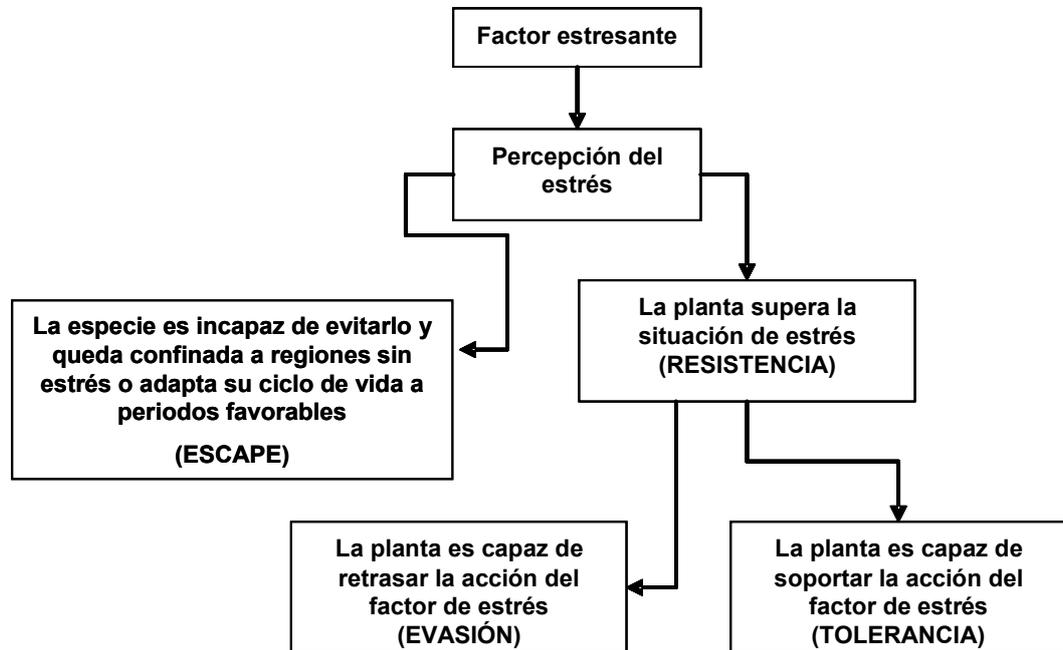


Figura 3. Esquema básico de los mecanismos de respuesta a estrés en una planta (Modificado a partir de Strasburger et al., 2002).

En sistemas biológicos se ha adoptado el concepto físico de tensión-deformación (*stress-strain*) para analizar los procesos que ocurren cuando una planta se encuentra sometida a una situación de estrés. Así, el estrés biológico sería cualquier factor ambiental capaz de producir una deformación (*strain*) potencialmente nociva en un organismo (Levitt, 1980). La deformación o *strain* sería la respuesta a una tensión o *estrés* determinado al que está sometido la planta (Fig. 4). La respuesta del organismo puede ser un cambio físico (e.g. rotura de membranas celulares, flujo citoplasmático, etc.) o químico (e.g. cambios en la síntesis de metabolitos). Según este modelo conceptual, en una primera fase existe una respuesta proporcional que se establece entre el incremento del estrés y la deformación (Punto P, Fig. 4). Más allá del punto P, la respuesta no es proporcional y si el factor de estrés continúa de forma muy acentuada se llega a producir un efecto severo hasta llegar al punto de límite de resistencia o estabilidad (R); una vez traspasado, la planta sufrirá un daño permanente, pudiendo existir compromiso sobre su sobrevivencia. Entre los puntos P y R existen umbrales a partir de los cuales se condiciona la respuesta. Si no se sobrepasa el punto (E) automáticamente se vuelve a las condiciones iniciales cuando el estrés deja de actuar (e.g. cierre estomático ante la falta de agua).

Los cambios estructurales o funcionales como respuesta al continuado incremento del estrés serán así de dos tipos: i) reversibles (hasta el punto E en la Fig. 4), donde se produce un cambio que, en caso de desaparecer recuperará las condiciones iniciales o ii) irreversibles (hasta el punto F de la Fig. 4), donde la

deformación persistirá a pesar de desaparecer el estrés. La reversibilidad produciría la típica respuesta de rustificación de las plantas frente a condiciones ambientales adversas, muy aprovechada en la producción comercial de plantas en viveros, mientras que la irreversibilidad representaría aclimatación, generalmente mediada por rasgos fisiológicos (Valladares et al., 2004). Este concepto difiere del concepto de adaptación ya que no implica la variación de un carácter de forma que afecte al genotipo y pueda transmitirse a la descendencia.

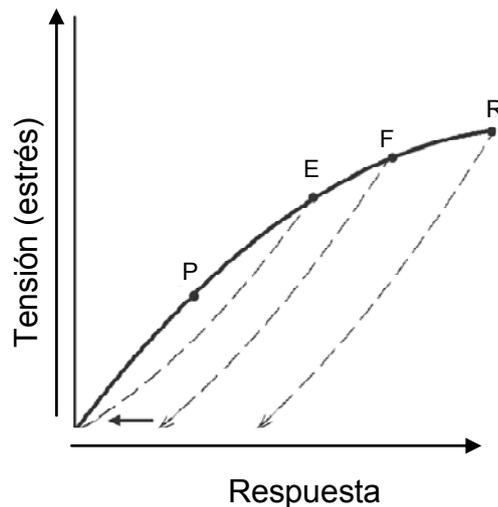


Figura 4. Esquema conceptual empleado para describir los procesos que ocurren en una planta en condiciones de estrés. P, fase de respuesta proporcional entre la intensidad de estrés y la respuesta vegetal; E, límite de reversibilidad automática de la respuesta; F, límite de la respuesta irreversible (deformación plástica); R, límite de resistencia del vegetal. Modificado a partir de Valladares et al. 2004, elaborado a partir de Levitt (1980); Lichtenthaler (1996); Glaser (2001) y Larcher (2003).

La interacción entre factores de estrés genera en muchos casos que la respuesta a un determinado tipo de estrés esté estrechamente correlacionada con la respuesta a otros tipos de estrés (e.g. térmico, lumínico). Esto suele generar un estado de menor susceptibilidad de la planta aún antes de que un determinado tipo de estrés llegue a producirse (Valladares & Pearcy, 1997). La ocurrencia simultánea de estreses hídricos, lumínicos y térmicos y las correlaciones e interacciones encontradas en las respuestas ecofisiológicas correspondientes hacen que sean necesarios estudios experimentales con manipulaciones o diseños factoriales en condiciones naturales o al menos realistas, para disociar los efectos de cada uno de los factores y ver hasta qué punto es la respuesta a un factor específico y no a otros factores o a la combinación de los mismos lo que realmente determina las estrategias funcionales de la planta frente al estrés (Valladares et al., 2004). Frente a un tipo determinado de estrés, los mecanismos de resistencia pueden involucrar estrategias que comprendan a la planta en su totalidad, partes de la misma e incluso, sólo un nivel celular o bioquímico.

1.4 Características climáticas del noroeste de la Patagonia Argentina generadoras de estrés.

En el noroeste de la Patagonia argentina, la presencia de la Cordillera de los Andes determina que la mayor humedad de los vientos provenientes del Pacífico sea descargada sobre las laderas de Chile y las del oeste argentino, generando un gradiente de precipitaciones oeste-este. La variación de la precipitación anual (desvío estándar/promedio) varía desde un 15% en la región húmeda (oeste) hasta un 50% en la parte seca del gradiente, existiendo así en las zonas más secas una alta variabilidad interanual (Jobbágy et al., 1995). Otra

importante característica de la mayor parte de la Patagonia es la aridez. La relación entre precipitación media anual y evapotranspiración potencial se encuentra en el rango entre 0,46 a 0,90 dependiendo de la zona considerada (Paruelo et al., 1998). Adicionalmente, las precipitaciones se concentran fuera de la época de crecimiento y, en consecuencia el déficit hídrico constituye uno de los principales factores de estrés en la región patagónica. La producción vegetal depende así, en gran medida, del agua acumulada en el suelo y de ocasionales lluvias estivales. Tanto la gran variabilidad en las precipitaciones como la escasez de las mismas en relación con la demanda potencial constituyen un cuello de botella para la repoblación o instalación en dichos lugares con especies forestales nativas.

En cuanto a las temperaturas medias anuales, la Patagonia puede ser definida como una región de clima templado a templado frío. Una característica del patrón de temperaturas es la distribución NO-SE de las isotermas. El rango de temperaturas medias varía desde 12° C en el noreste a 3° C hacia el sur, con temperaturas mínimas absolutas para el mes de julio (mes más frío) que pueden ser menores a los -20° C (Paruelo et al., 1998). Dadas estas condiciones y asociado a la disponibilidad de recursos, el período de crecimiento de las plantas en la región NO de la Patagonia se encuentra restringido por la temperatura y humedad del suelo (Jobbágy et al., 2002), siendo esto más crítico aún en especies deciduas. La alternancia de períodos de congelamiento-descongelamiento, situación común en la región patagónica, también puede conducir a pérdidas de conductividad hidráulica por fenómenos de embolia (Sperry & Sullivan 1992, Lo Gullo & Salleo 1993, Yang & Tyree, 1992).

Otro tipo de estrés se relaciona con las cantidades de radiación que reciben las plantas, especialmente cuando niveles altos de este recurso se combinan con deficiencias de agua en el suelo. Debido a la heterogeneidad espacial y temporal de la radiación, las plantas exhiben una capacidad notable de modificar su fisiología y morfología de acuerdo a las condiciones ambientales que prevalezcan (Pigliucci, 2001). En algunos casos la luz funciona como uno de los principales factores determinantes de la secuencia de etapas de sucesión en los bosques de *Nothofagus* y por consiguiente tendría una gran influencia en los patrones de distribución espacial de estas especies (Peyrou, 2002).

1.5. Justificación del presente trabajo.

La creciente demanda de la sociedad por conservar los ecosistemas boscosos nativos y la inconveniencia de su reemplazo, aún en zonas donde el mismo se encuentra degradado, hace que las áreas de forestación con fines productivos deban restringirse a aquellas libres de bosque nativo, al este de su distribución actual, donde estarían sometidas a condiciones ambientales más desfavorables. El conocimiento de los mecanismos de resistencia al estrés permitirían así comprender los procesos evolutivos implicados en la adaptación de las plantas a un ambiente adverso y predecir hasta cierto punto la respuesta vegetal al incremento de la adversidad climática, la cual se cree incrementará a futuro (IPCC, 2008). Además, puede ser aplicado en el mejoramiento de las características de las plantas tanto en su fase de cultivo como en la selección de individuos que se ajusten a requerimientos ambientales determinados o, simplemente, en mejorar la productividad de una especie (Kozlowski et al., 1991; Nilsen & Orcutt, 1996; Valladares et al., 2004). Así, la ecofisiología, como estudio integral del comportamiento de las especies frente a los distintos factores de estrés ambiental, puede proporcionar información objetiva sobre especies o variedades, profundizando en los mecanismos subyacentes y

proporcionando al mejorador herramientas de trabajo que faciliten su tarea (Herralde Traveria, 2000). El poder dilucidar los mecanismos ecofisiológicos mencionados en especies forestales patagónicas es fundamental no sólo desde el punto de vista básico, atendiendo al conocimiento de las especies en sí, su plasticidad fenotípica y grado de control genético de la variación ecofisiológica, sino también, como herramienta para el desarrollo de tecnologías de cría en vivero tendientes a producir plantines con adaptabilidades diferenciales (idiotipos) en función de las distintas condiciones hídricas, lumínicas y térmicas ambientales.

Adicionalmente, tal como ocurre en otras partes del mundo, la asistencia a la regeneración natural del bosque nativo y la recuperación de ecosistemas boscosos degradados comienza a formar una importante actividad de la cadena productiva forestal, por el impacto que posee en demanda de plantines en viveros comerciales y la mayor rentabilidad del manejo productivo del bosque al acortar sensiblemente el tiempo de corta final. El interés en el cultivo de estas especies se ha ido incrementando en los últimos años existiendo en la actualidad incipientes programas de plantación con fines productivos y de restauración ecosistémica (e.g. Peri 2003).

1.6. Objetivos generales del presente trabajo.

El presente trabajo tiene como objetivo general la obtención de conocimiento acerca de los mecanismos o estrategias ecofisiológicas en respuesta a los principales factores ambientales generadores de estrés en el noroeste patagónico en dos especies del género *Nothofagus* con aptitud comercial. Los objetivos específicos son:

1. Conocer el rango de requerimientos hídricos, lumínicos y térmicos para la sobrevivencia y el óptimo crecimiento de *N. obliqua* y *N. nervosa* en la fase de plantín, considerada como clave en el proceso de instalación y supervivencia.
2. Conocer algunos de los mecanismos involucrados en la respuesta a distintas intensidades de estrés hídrico, lumínico y térmico en plantines de distintos orígenes de *N. obliqua* y *N. nervosa*, considerando variables morfológico-alométricas y fisiológicas.
3. Verificar a nivel específico la existencia de plasticidad fenotípica en relación con las respuestas fisiológicas y morfológicas a distintos tipos e intensidades de estrés.
4. Determinar la existencia de diferencias fisiológicas inter e intra específicas bajo condiciones óptimas-sub óptimas y bajo condiciones de estrés.

1.7. Estructura de la presente tesis.

Adicionalmente a los objetivos detallados anteriormente, esta tesis pretende realizar una revisión y sistematización de aspectos básicos sobre fisiología de estrés hídrico, lumínico y térmico, habiéndose por lo tanto estructurado en capítulos referentes a cada uno de los factores de estrés mencionados.



CAPITULO II

Respuestas ecofisiológicas y morfológicas de *Nothofagus nervosa* y *N. obliqua* ante estrés hídrico.

2.1. Estrés hídrico.

En términos biológicos y aplicados a la ecofisiología de plantas, el término sequía puede ser definido como el conjunto de circunstancias bajo las cuales las plantas sufren una reducción del crecimiento o producción por causa de insuficientes recursos hídricos o, porque a pesar de que aparentemente hay suficiente agua en el suelo, el déficit hídrico es demasiado elevado (la demanda evaporativa es muy alta y supera la capacidad de la planta de suministrar agua a las hojas) o bien el agua no está físicamente disponible (por ej. por estar congelada o fuertemente retenida por sales o partículas de suelo muy finas) (Passioura, 1996; Savé et al., 1999).

Para describir el estado de un material o una forma de energía, como lo es el agua, hacen falta dos tipos de variables. Un tipo describe la cantidad mientras que el otro describe la intensidad (Campbell & Norman, 1998). La variable extensiva que describe la cantidad de agua presente en el suelo es llamada "contenido hídrico". Esta variable no informa acerca de la dirección o la velocidad en que el agua fluirá hacia o desde el medio circundante, mientras que la que sí lo hace es la variable intensiva, que da una idea de la energía libre que posee dicha sustancia (Trillo & Fernández, 2005). La magnitud más empleada para expresar y medir el estado de energía libre del agua es el potencial hídrico (Ψ_{H_2O}) que da una idea de la disponibilidad de esta sustancia en una determinada muestra. Como toda energía potencial, se define en relación a un nivel de energía arbitrario o estado de referencia. En el caso del potencial hídrico el estado de referencia es el agua pura ($\Psi_{H_2O} = 0$), a una presión de 1 atmósfera y a una elevación (generalmente nivel del mar) y temperatura (generalmente 25 °C) que pueden especificarse. El potencial hídrico se puede expresar en: atmósferas, bares o $J\ kg^{-1}$. Tiene dimensiones de energía por unidad de masa o volumen ($J\ kg^{-1}$) que son equivalentes a las de presión, pudiendo expresarse en unidades del SI como Pascal (Pa): $Pa = 1\ N\ m^{-2} = 1\ J\ m^{-3} = 10^{-5}$ bares. Los valores en la célula son del orden de megapascuales (MPa = 10 bares = 9,87 atm). Para el caso de los distintos compartimentos de las plantas, el valor del Ψ_{H_2O} es negativo.

Dicha magnitud es la suma de cuatro componentes: potencial osmótico, de presión, mátrico y gravitacional ($\Psi_{H_2O} = \Psi_o + \Psi_p + \Psi_m + \Psi_g$). El potencial osmótico (Ψ_o ó π) representa el potencial derivado de la presencia de solutos y así con la osmolaridad de la disolución acuosa (nunca es superior a 0, por lo que toma valores negativos); el potencial de presión está relacionado con la presión que ejercen las paredes celulares vegetales contra la célula, siendo máximo cuando alcanza la turgencia plena y mínimo cuando alcanza el valor de plasmolisis incipiente; el potencial matricial o mátrico está relacionado con la adsorción por capilaridad del agua (asume valores negativos de importancia en células jóvenes y se hace despreciable en células maduras) y el potencial gravitacional (Ψ_g) representa la influencia del campo gravitatorio (es de sólo $0,01\ MPa\ m^{-1}$ por lo que puede despreciarse, excepto en árboles de gran altura).

Dado que la planta constantemente está perdiendo o ganando agua, los componentes del potencial agua pueden diferir en los compartimentos celulares. En la vacuola, el potencial agua se debe principalmente a las fuerzas osmóticas y de turgencia; mientras que en la pared se debe a las fuerzas mátricas y en pequeño grado a las osmóticas. En el citoplasma de una célula turgente son importantes tanto el potencial osmótico como el de presión, y en menor escala el mátrico. Sin embargo, dado que el potencial mátrico toma mayor importancia

relativa cuando la planta no está en buenas condiciones hídricas y el gravitacional sólo en árboles de gran altura, podemos simplificar la ecuación.

En aquellos casos en los que se quieren describir los componentes del potencial hídrico en términos generales válidos para cualquier sistema de estudio, los términos Ψ_p y Ψ_m pueden ser eliminados y agrupados en un único término, el de "presión hidrostática". Esto se debe a que el Ψ_p es solo positivo y ejercido contra las paredes celulares en las células vivas o por el peso del agua en suelos saturados o acuíferos, mientras que el Ψ_m es negativo y se usa en general solo para suelos (también para la atracción con la pared celular pero esta no es significativa). El término presión hidrostática la cual puede ser positiva o negativa puede ser usado tanto para la presión positiva si estamos en un sistema vivo o para la tensión en el xilema o para la fuerza con que el agua es absorbida por las partículas del suelo.

Desde que es absorbida en las raíces hasta que es perdida por transpiración en las hojas, el transporte de agua en las plantas se realiza a través del xilema (el potencial osmótico de la savia xilemática resulta despreciable en la mayoría de las plantas y el potencial de presión no se considera debido a que en el xilema no existen células vivas por lo que el único componente que aporta al potencial hídrico es el potencial mátrico). El ascenso del agua a través de estos conductos se explica mediante la teoría coheso-tenso-transpiratoria del agua (Dixon & Joly, 1894), que postula que la pérdida de agua por transpiración genera tensiones suficientemente grandes como para producir el movimiento de agua de la raíz a las hojas, y que la cohesión entre moléculas de agua es más que suficiente para mantener la continuidad de las columnas de agua que circulan en este trayecto siendo la fuerza motora el gradiente de presión hidrostática negativa existente entre las raíces y la superficie foliar. Bajo condiciones que permitan la manifestación de presión radical, el agua en el xilema puede hallarse bajo presión hidrostática positiva, y se mueve siguiendo gradientes de presión positiva. Este último fenómeno se da en casos muy especiales y se denomina con el término gutación.

El continuo suelo-planta-atmósfera (modelo *SPAC*; Huber, 1928; Van den Honert, 1948; Jones, 1992) puede pensarse como un modelo análogo a la ley de Ohm (Fig. 5) que describe cuantitativamente el flujo hídrico a lo largo de todo el sistema, relacionándolo con la fuerza motriz (Ψ_{H_2O}) y las resistencias y capacitancias al flujo en cada uno de los compartimentos que son atravesados. El flujo de agua a través de los tallos generalmente sigue la ley de Darcy donde la tasa de flujo volumétrico es función de la conductancia hidráulica (k ; inversa de la resistencia) y de la diferencia de presión entre los extremos de la ruta de flujo.

La pérdida de agua desde las hojas hacia la atmósfera (transpiración) esta asociada al intercambio de CO_2 necesario para el crecimiento y desarrollo de la planta, siendo los estomas la principal vía de intercambio de carbono y agua. Así, la transpiración tiene efectos positivos y negativos. Dicho proceso proporciona la energía capaz de transportar agua y nutrientes a las hojas en la parte superior de la planta, mientras que al mismo tiempo es la mayor fuente de pérdida de agua. Esta pérdida puede amenazar la supervivencia de la planta, especialmente en climas muy secos y cálidos. Casi toda el agua se transpira por los estomas de las hojas, por lo tanto una planta al abrir y cerrar los mismos debe lograr un equilibrio entre la absorción de dióxido de carbono para la fotosíntesis y la pérdida de agua por transpiración. De esta manera, se logra un flujo unidireccional desde el sistema de absorción de agua hasta las superficies por las cuales los individuos transpiran.

A través de la apertura y cierre de sus estomas, las plantas regulan la tasa de transpiración y la diferencia de presión hidrostática negativa entre las distintas partes del xilema (Sperry & Pockman, 1993; Cochard et al., 1996; Salleo et al., 2000). Así, las especies isohídricas (*sensu* Tardieu & Simoneau, 1998), ante condiciones de sequía mantienen un grado de apertura estomática tal que se evite caer por debajo de valores umbrales de potencial agua relacionados con pérdidas significativas de conductividad hidráulica (Sperry et al., 2002) o turgencia de las células (Cochard et al., 2002).

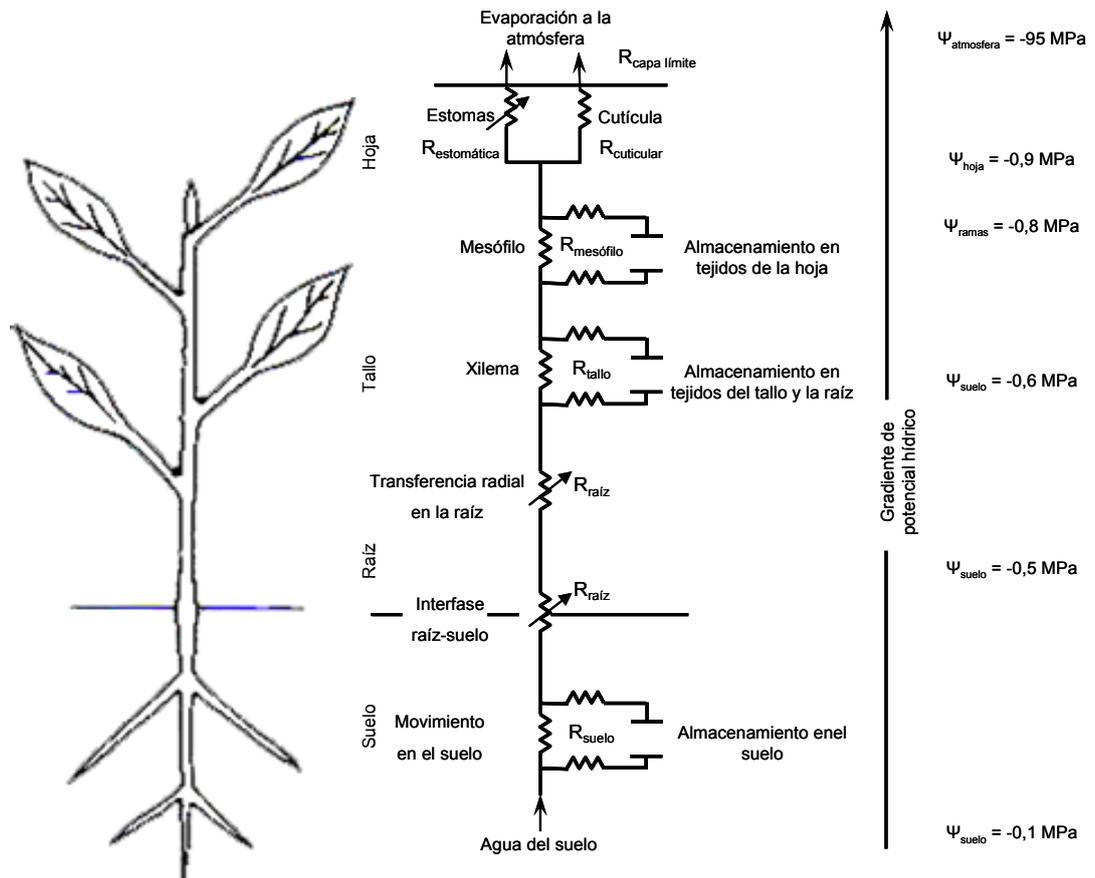


Figura 5. Simplificación del flujo de agua a través del continuo suelo-planta-atmósfera incluyendo las resistencias (R_i) a la circulación hídrica, almacenamiento (capacitancias) y valor del potencial hídrico estimativo en cada compartimiento (Ψ_i). Modificado a partir de Jones, 1992 y Larcher, 2003.

Aunque el cierre estomático suponga una gran ventaja a la hora de evitar pérdidas de agua, tiene como contrapartida una reducción en la captación de CO_2 y el calentamiento de la hoja, que pueden conducir a la debilidad de la planta, a daños en la estructura celular e incluso a la muerte del individuo (Bohnert & Jensen, 1996). Gracias a la liberación de energía durante el proceso de evaporación del agua de los tejidos se produce la reducción del calentamiento de la hoja. Así, su temperatura puede ser de 10 a 15 °C menor que la del aire circundante.

Dependiendo del valor umbral en el cual se produce el cierre estomático y otras variables o mecanismos relacionados con la capacidad de suministrar agua a las hojas, Jones & Sutherland (1991) proponen la siguiente clasificación:

- i) plantas *ahorradoras* (water savers), cuya estrategia se define por un fuerte control estomático de las pérdidas de agua, alta capacidad de evitar la transpiración cuticular, superficies transpiratorias bajas, relativamente altos valores de resistencia hidráulica de las raíces y/o alta capacidad de acumulación de agua. Estas plantas, en general mantienen un estricto control estomático del potencial hídrico foliar, de manera de evitar toda pérdida de conductividad hidráulica. Estas plantas son, por lo tanto, isohídricas, llegando siempre a valores similares de potencial hídrico mínimo (Tardieu & Simoneau, 1998).
- ii) plantas *derrochadoras* (water spenders) cuya estrategia se basa en poseer sistemas eficientes de absorción de agua con el fin de poder mantener tasas de crecimiento y fotosíntesis elevadas, además de poseer elevados contenidos relativos de agua en los tejidos. Esto se logra gracias a una amplia superficie radicular y una reducción de la resistencia hidráulica total. Dentro de este grupo hay especies que pueden ser isohídricas (llegan siempre al mismo potencial mínimo), y otras anisohídricas (Tardieu & Simoneau, 1998). En este último caso, el potencial mínimo al que llegan al mediodía puede variar dependiendo del contenido de agua en el suelo. En estas especies pueden verificarse pérdidas de conductividad hidráulica a medida que desciende el potencial mínimo diario. Las plantas derrochadoras de agua pueden agotar los recursos hídricos, por lo que esta estrategia sólo puede mantenerse por períodos de sequía moderada o de corta duración. Cuando los recursos hídricos del suelo se agotan, muchas especies derrochadoras se convierten en ahorradoras. En cualquier caso existen muchas situaciones intermedias a estos dos extremos.

2.2. Estrategias de resistencia al estrés hídrico a nivel celular: Ajuste osmótico y elástico.

En términos generales, las perspectivas de sobrevivencia y desarrollo de una planta bajo estrés hídrico serán mejores cuanto más tiempo pueda ser retrasada una reducción en el contenido relativo de agua del protoplasma (evasión de la desecación) y/o cuanto más sea posible desecar este protoplasma (tolerancia a la sequía), existiendo así diferentes mecanismos de respuesta (Herralde Travería, 2000). Así, los mecanismos pueden ser clasificados en dos grupos (Turner, 1986): los destinados al mantenimiento de la turgencia celular (ajuste osmótico y ajuste elástico) y los que permiten la tolerancia a la deshidratación (tolerancia protoplasmática).

Como se mencionó anteriormente, el potencial osmótico (ψ_o) depende de la concentración de sustancias disueltas en el agua (Alarcon & Díaz, 1993; Sen & Metha, 1998). El ajuste osmótico es un proceso que consiste en la acumulación activa de solutos en tejidos de la planta en respuesta a una disminución de la disponibilidad de agua. Con ello disminuye el potencial osmótico y el potencial hídrico total de tallos, hojas, y raíces (Girma & Krieg 1992). Como resultado, las plantas pueden absorber agua a potenciales hídricos del suelo menores y mantener la presión de turgor y la actividad fisiológica relacionada al contenido hídrico en los tejidos (Turner & Jones 1980; Schonfeld et al., 1988; Acevedo et al. 1999). El potencial osmótico puede disminuir porque se reduce el volumen de agua simplástica originando una mayor concentración de los solutos existentes en proporción a la cantidad de agua perdida, este proceso es el que se conoce como osmoregulación. Los solutos que se acumulan activamente son básicamente azúcares solubles y aminoácidos, aunque en algunos casos también el potasio juega un papel importante (Morgan, 1992).

Bajo condiciones de estrés hídrico se ha demostrado una fuerte asociación entre la capacidad de ajuste osmótico y una mayor supervivencia y/o crecimiento en distintas especies (Clifford et al., 1998; Corcuera et al., 2002; Nguyen-Queyrens & Bouchet-Lannat, 2003; Aranda et al., 2004). Dentro de una misma especie o variedad pueden existir diferentes capacidades de ajuste osmótico, pudiendo también cambiar a lo largo del ciclo ontogénico. Así, la capacidad de ajuste osmótico depende tanto de factores inherentes a la planta (diferencias entre poblaciones, tipo de tejido estudiado y su edad, el grado y la velocidad de desarrollo del estrés y la historia previa de la planta), como de factores ambientales (principalmente precipitaciones, Herralde Travería, 2000).

Por otro lado, las paredes de las células vegetales presentan propiedades plásticas y elásticas y son estas últimas las que generan el potencial de turgencia (presión) en células vivas. La plasticidad de las paredes celulares vegetales posibilita la extensión permanente de las células en crecimiento. El módulo de elasticidad máximo (ϵ_{\max}) describe los cambios del potencial de turgencia en función de las variaciones de volumen celular. Valores bajos de módulo de elasticidad indican una mayor elasticidad de las paredes celulares. El incremento de la elasticidad tisular permite el mantenimiento de la turgencia a contenidos relativos de agua bajos, pudiéndose considerar así como un mecanismo de tolerancia. Asimismo, la disminución de la elasticidad permite el desarrollo de potenciales hídricos foliares menores para una determinada disminución del contenido relativo de agua; ello permite una mayor capacidad de extracción de agua del suelo en condiciones de desecación, pudiendo así considerarse como un mecanismo de evasión (Savé et al., 1994).

Por todo lo antes mencionado, el valor adaptativo del ajuste osmótico ha sido señalado por distintos autores en diferentes especies. Así, por ejemplo, estudios desarrollados por Aranda et al. (2004) sobre el comportamiento adaptativo ante la sequía de dos especies de roble (*Quercus petraea* y *Q. pyrenaica*) mostraron disminuciones significativas en los valores de potencial osmótico a plena turgencia y en plasmólisis conjuntamente con un aumento en el módulo de elasticidad. Al comparar plantines bien regados y estresados, *Q. pyrenaica* mostró una disminución de 0,8 MPa en el potencial osmótico en turgencia plena respecto a 0,3 MPa en *Q. petraea*. Estos resultados ponen de manifiesto la presencia de ajuste osmótico en ambas especies. Sin embargo estos autores destacan que la capacidad de osmorregulación fue superior en *Q. pyrenaica*, lo cual señala una mayor capacidad de puesta en marcha de mecanismos de tolerancia al estrés hídrico.

2.3. Vulnerabilidad a la cavitación y su relación con la resistencia al estrés hídrico

En situaciones de estrés hídrico, el estado hídrico foliar se ve afectado a causa de las limitaciones físicas en el transporte xilemático. Según la teoría coheso-tenso-transpiratoria, el agua es extraída del suelo y conducida hacia las hojas renovando la que se evapora a través de los estomas. Esto sitúa al agua que hay en los conductos xilemáticos bajo presiones negativas. A presiones por debajo de la presión de vapor, el agua líquida está en un estado "metaestable" (Zimmermann, 1983) y es vulnerable a un rápido paso a la fase estable (vapor), es decir, al fenómeno de cavitación. La hipótesis más comúnmente aceptada para explicar el mecanismo por el cual el estrés hídrico produce cavitación en las plantas es la de sembrado de aire o "air-seeding" (Zimmermann, 1983). Según esta teoría, la cavitación tiene lugar cuando el aire del exterior es aspirado a través de los poros de la pared de los conductos xilemáticos, siendo necesaria

una diferencia de presión mínima entre el agua xilemática y el aire para que se produzca el desplazamiento del menisco gas-agua a través de los poros (Zimmermann, 1983; Sperry 1995). La vulnerabilidad a la cavitación de una planta limita, sin duda alguna, el rango de presiones xilemáticas a las cuales el transporte de agua es posible, influyendo así sobre el rango de distribución de las especies en diferentes ambientes.

Estudios como los de Maherali et al. (2004) o Pockman & Sperry (2000) destacan el hecho de que existe una asociación adaptativa entre la resistencia a la cavitación y la disponibilidad de agua. La resistencia a la cavitación es creciente al aumentar la aridez de un determinado sitio (disminución en los valores de la precipitación media anual) y ocurre a lo largo de distintos grupos funcionales aún cuando existen marcadas diferencias en la anatomía del xilema. La vulnerabilidad a la cavitación limita así la distribución de una determinada especie a un determinado gradiente de condiciones ambientales, definiendo un valor máximo de tolerancia e influenciando la habilidad competitiva de las especies tolerantes en hábitats méxicos.

2.4. Cambios morfométricos en respuesta al estrés hídrico

Las características xeromórficas son todas aquellas características morfológicas que permiten que las plantas resistan la sequía. Este carácter cuantitativo puede estar fijado de forma hereditaria o desarrollarse como respuesta de aclimatación a las condiciones ambientales (Herralde Travería, 2000). El cómo las plantas pueden modificar su morfología y fisiología en respuesta a cambios ambientales (plasticidad fenotípica) ha sido un punto de interés en la ciencia en general y en la ciencia forestal en particular por los últimos doscientos años (Herralde Travería, 2000). En este contexto se han hecho grandes esfuerzos en el estudio de la habilidad de un determinado genotipo, en el sentido más amplio de la palabra, de alterar dichos atributos (Monserrat-Martí et al., 2009). De acuerdo a la teoría de partición óptima, las plantas responden a las condiciones de un ambiente estresante a través de la asignación o translocación del carbono a aquel órgano que colecte el recurso más limitante. Asimismo, diferentes trabajos han mostrado que el estrés por sequía puede afectar el crecimiento de los órganos de la planta diferencialmente (e.g. Spollen et al., 1993) pudiendo alterar rasgos morfológicos de las mismas.

Como se mencionó anteriormente, el efecto de desecamiento es retrasado por todos aquellos mecanismos que permitan a la planta mantener contenidos favorables de agua en los tejidos el mayor tiempo posible a pesar de la aridez del aire y el suelo (Blum, 1996). Este retraso puede lograrse 1) aumentando la absorción de agua del suelo, 2) a través de la reducción de la pérdida de agua (incremento temprano y efectivo en la resistencia a la difusión, reducción de la superficie transpiratoria), o 3) por una alta capacidad de conducción de agua o almacenado de la misma en tejidos (capacitancia). Estas medidas funcionales para evitar la desecación se ven reflejadas también en la morfología de la planta (Larcher, 2003). Así los ajustes estructurales tendientes a la reducción de la superficie transpiratoria con respecto al área de absorción y elementos conductivos, entre otros, establecen un buen control de las pérdidas de agua (Bréda et al., 2006).

La modificación estructural hacia un sistema de raíces profundas y el desarrollo de un amplio gradiente de potencial agua entre el suelo y las hojas permite maximizar la capacidad de absorción de agua (e.g. Bachelard 1986; Li & Wang, 2003; Serrano & Pañuelas, 2005; Susiluoto & Berninger, 2007). Los

plantines de especies arbóreas en regiones secas, por ejemplo, (dependiendo de su plasticidad fenotípica, ver a continuación) pueden desarrollar raíces diez veces más largas que el tallo, incrementando la absorción de agua a través de un sistema de raíces extensivo, con un área activa, alcanzado a través de un crecimiento rápido horizontes mas profundos del suelo (Larcher, 2003). Adicionalmente, muchas plantas de zonas semiáridas tienen sistemas radicales muy extendidos lateralmente y no tanto en profundidad. Esto les permitiría captar mucha mas agua ante eventos de precipitación y competir mejor con sus vecinos, sumado a una alta capacitancia (Fowler, 1986).

Asimismo, la capacidad de conducción de agua es incrementada a través del incremento del área de xilema activo y una mayor densidad de venación en las hojas (sistema conductivo), reduciendo además la distancia de conducción (internodos más cortos). Si la superficie transpiratoria se reduce al mismo tiempo, el área relativa del sistema conductivo es incrementada incluso considerando que el área absoluta (sección transversal conductiva) no cambia.

A nivel foliar el enrollamiento o pliegue para reducir la superficie expuesta, la abscisión foliar y la reorientación de las hojas y brotes para reducir la captación de energía implican una menor tasa de transpiración por unidad de superficie (Elheringer & Werk, 1986). Otra de las modificaciones observadas ante la sequía es la reducción del área foliar específica (AFE), un indicador de la densidad de la hoja. La reducción en el AFE en plantas bajo sequía puede deberse a sensibilidades diferenciales en los procesos de fotosíntesis y expansión del área foliar, afectando este fenómeno la expansión foliar antes que la fotosíntesis (Tardieu et al., 1999). Se asume que la reducción en el AFE es una forma de mejorar la eficiencia en el uso del agua (EUA; Craufurd, 1999). Esto se debe a que hojas más densas usualmente poseen una mayor densidad de clorofila y proteínas por unidad de área, por ende, poseen una mayor capacidad fotosintética (por unidad de área foliar) que hojas más delgadas.

2.5. Estrés hídrico y fotoinhibición. Efecto sobre la fijación de CO₂ y la fluorescencia de la clorofila a

El impacto negativo del déficit hídrico sobre la productividad de plantas ha sido estudiado extensivamente (Zahner, 1968; Kozłowski, 1982; Jones, 1998). En muchos casos, a medida que el déficit hídrico se incrementa durante la sequía la limitación del crecimiento es primero ejercida a través de una reducción en el crecimiento de la superficie asimilatoria y luego a través de la inhibición de la fotosíntesis (Ephrath & Hesketh, 1991). La fotosíntesis es el proceso más importante en la productividad vegetal y la habilidad para mantener la tasa de asimilación de CO₂ en condiciones de estrés ambiental es fundamental para el crecimiento y la producción de la planta (Lawlor, 2002). Dicha tasa de asimilación se ve reducida por el déficit hídrico, principalmente y como se mencionó anteriormente, por su efecto sobre el cierre estomático. En condiciones de déficit hídrico, dependiendo de la especie y la intensidad del estrés, la tasa de asimilación puede disminuir hasta valores cercanos a cero, sin que se detecte daño de la maquinaria fotosintética del mesófilo (Chaves, 1991). Los daños permanentes en dicha capacidad suelen desarrollarse cuando además se superponen a éste otros factores de estrés, como por ejemplo excesos de radiación y altas temperaturas, que se traducen en procesos inhibitorios de las enzimas fotosintéticas y en la cadena de transporte de electrones (Boyer et al., 1987).

Las hojas deben disipar o utilizar toda la energía absorbida de alguna manera evitándose así el daño que esta puede generar en exceso. Existen tres

procesos principales por las cuales se disipa la energía absorbida por la clorofila (principal pigmento del aparato fotosintético de una planta). Un primer proceso, definido como mitigación fotoquímica (qP , del inglés “photochemical quenching”), consiste en convertir la energía lumínica a energía química, que posteriormente es utilizada para la fotosíntesis. Dado que los requerimientos lumínicos de una planta para la fotosíntesis son usualmente bajos en relación a la luz absorbida, mucha de esta energía extra es disipada como calor. Este segundo proceso es denominado como mitigación no fotoquímica (qN , del inglés “non photochemical quenching”). Finalmente, una baja pero importante porción del exceso de energía es mitigada (emitida) como fluorescencia desde las moléculas de clorofila (qF , del inglés “fluorescent quenching”). Algunas veces, bajo condiciones de alta radiación, la planta puede ser incapaz de mitigar toda la energía que absorbe. Cuando esto ocurre, la energía en exceso actúa como combustible de reacciones metabólicas que generan radicales libres como peróxidos y otras especies reactivas del oxígeno (Björkman & Demmig-Adams, 1994; Ritchie, 2006). Estos tres procesos compiten simultáneamente, con lo cual el incremento de uno da como resultado la disminución de los dos restantes. Una alteración en cualquiera de las tasas que gobiernan la relajación o mitigación de los estados individuales de excitación de las clorofilas modifica el rendimiento de la fluorescencia de la clorofila *a* y, de esta forma, su intensidad. Este es el principio básico para utilizar la fluorescencia de la clorofila *a* para el monitoreo de procesos fisiológicos *in vivo*. Por este motivo esta variable puede ser utilizada para obtener información de los cambios en la eficiencia fotoquímica y en la disipación de calor (Maxwell & Johnson, 2000). A mayor intensidad de fluorescencia de la clorofila menor actividad de disipación por procesos de mitigación fotoquímica (qP) y mitigación no fotoquímica (qN). De esta forma la fluorescencia puede dar valiosa información respecto al daño que se produce sobre el aparato fotosintético (PSII) y a su tolerancia ante el estrés ambiental (Bilger et al., 1995). En aquellos casos en los que pueden llegar a conjugarse todos los factores ambientales promotores de estrés al mismo tiempo, en función de mantener una buena asimilación de CO_2 la planta debe establecer un compromiso entre el gasto hídrico, la fijación de materia y energía y la disipación de la energía excesiva, aplicando todos estos mecanismos para poder mantener la productividad de la especie.

2.6. Plasticidad fenotípica

La plasticidad fenotípica se define como la capacidad de un organismo de producir fenotipos diferentes en respuesta a cambios en el ambiente. Este concepto se visualiza en la norma de reacción, que es el rango de respuestas fenotípicas de un genotipo expresado en un gradiente ambiental. El significado funcional de un cambio particular en la morfología, fisiología o patrones de asignación de biomasa puede estimarse a partir del conocimiento de la ecofisiología de la adquisición de recursos de la planta. La plasticidad fenotípica también tiene un significado evolutivo, dado que actúa modulando la selección natural y tiene consecuencias en el desempeño y éxito reproductivo, afectando las generaciones siguientes. En los últimos años la plasticidad fenotípica ha sido de gran interés en el estudio para predecir la respuesta de las especies o poblaciones al cambio climático y en la variación de su distribución natural. Para su estimación, existen numerosos índices, cada uno con distintos grados de dificultad para su cálculo y con ventajas y desventajas que depende del sistema que se quiera evaluar (Valladares et al., 2006). Por ejemplo, uno de los índices de plasticidad fenotípica utilizados (P/IV) en la bibliografía y en éste trabajo se

basa en las medias máximas y mínimas de los diferentes tratamientos considerados (Valladares et al, 2006).

2. 7. Objetivos particulares del presente capítulo

Como objetivos del presente capítulo se plantearon conocer: a) el rango de requerimientos hídricos para la sobrevivencia y óptimo crecimiento, b) los mecanismos involucrados en la respuesta a distintas intensidades de estrés hídrico y c) la existencia de plasticidad fenotípica a nivel específico en plantines de *Nothofagus obliqua* y *N. nervosa*.

2. 8. Materiales y métodos

2.8.1. Experimento preliminar

Durante una primera temporada de medición, correspondiente al verano-otoño 2006-2007, se realizó una caracterización ecofisiológica general de la respuesta potencial de plantines de cada una de las especies (*N. nervosa* y *N. obliqua*) bajo condiciones de buena disponibilidad hídrica así como también una determinación preliminar de la respuesta a condiciones de estrés hídrico. Para ello se trabajó con un conjunto de individuos de distintos orígenes geográficos de cada especie, sin realizarse distinción entre los mismos. Este experimento permitió la puesta a punto de metodologías y el establecimiento del patrón general de respuesta de cada especie. Así, se trabajó con plantines de entre tres y cuatro años de edad creciendo en macetas, seleccionándose plantines de similar tamaño, estandarizándose el tipo de contenedor (maceta) y sustrato a utilizar. El criterio utilizado para la selección del tamaño de las macetas fue el de asegurar una disponibilidad de agua útil para las plantas (ver explicación a continuación) al menos por una semana desde el momento de riego a saturación sin riegos intermedios. En base a este criterio se utilizaron macetas de 28 cm x 30 cm equivalentes a un volumen de 18,5 litros. El tipo de sustrato correspondió a un suelo franco arcillo arenoso (54% de arena, 24% de limo y 22% arcilla) de similares características a las de los sitios de distribución natural de las especies.

En referencia a la humedad del suelo, el agua disponible para las plantas (ADP) se define como la diferencia entre el contenido de agua a capacidad de campo (CC) y el punto de marchitez permanente (PMP). La CC del suelo se define como aquel valor o contenido de agua que permanece en el mismo luego de que éste ha sido saturado y permitido drenar libremente, por lo general, durante dos días (bajo una presión de entre -0,01 y -0,03 MPa). El PMP es el contenido de agua al cual las plantas se marchitan y no recuperan turgencia al ser rehidratadas (en este caso se utiliza un valor convencional de PMP, punto en el que el potencial agua del suelo es de -1,5 MPa). Ahora bien, en ensayos o prácticas agrícolas con plantas cultivadas en maceta, el concepto de "pot capacity" (PC) es análogo al de capacidad de campo. Así puede ser definido como el contenido hídrico que entrega una distribución uniforme de agua dentro de la maceta (Passioura, 2006; Casaroli & de Jong van Lier, 2008).

En el presente trabajo, con el objetivo de determinar el valor de PC, las macetas con el suelo a utilizar se regaron hasta saturación, se cubrieron con plástico para evitar la evaporación desde el suelo superficial y se dejaron drenar libremente, pesándose al tiempo 0, 24, 48, 72 y 96 horas hasta registrar peso y humedad volumétrica constante. Este último valor (constante) fue considerado como el de PC. Para obtener el valor de PMP del suelo utilizado así como el

valor de CC se realizó en el Laboratorio de Suelos de la EEA INTA Bariloche una curva de retención hídrica (0,03; 0,1; 0,15; 0,7 y 1,5 MPa) permitiendo conocer dichos valores.

Para la medición de la curva de retención hídrica se utilizó el método del recipiente de tensión hídrica combinado con el de membrana a presión. Este método se basa en el principio del medio poroso que consiste en la aplicación de una succión al suelo a través de un medio poroso variable en función de la tensión ejercida (Baver *et al.*, 1972; Hillel, 1984). Se fundamenta en la equiparación de la tensión de la humedad del suelo a una presión (negativa o positiva) aplicada a un medio poroso saturado en agua, con el que se encuentra en estrecho contacto (Stackman, 1980).

En función de lo planteado anteriormente se consideraron dos tratamientos de riego, 1) plantas con buena disponibilidad hídrica (llamadas de aquí en adelante “*testigo*”) regadas día por medio mediante sistema automatizado (riego por goteo) a lo largo de todo el período de estudio, manteniéndose con contenidos volumétricos de agua en maceta entre PC y PMP, y 2) plantas mantenidas con niveles de riego inferiores a los mencionados anteriormente de forma de contar con individuos bajo un gradiente de niveles de contenido volumétrico de agua en maceta (en algunos casos inferiores al valor de PMP). A estas plantas se las denomina de aquí en adelante “*estresadas*”.

Los plantines se mantuvieron en invernáculo bajo condiciones de humedad en maceta, radiación y temperatura semicontroladas. Particularmente en referencia a la segunda variable, se aseguró una condición mínima de radiación fotosintéticamente activa (RFA) de $200 \mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y un fotoperíodo mínimo de 16 horas mediante un dispositivo de control automático provisto de tubos del tipo Grolux. Esto permitió contar con una respuesta rápida de las tasas de fijación de CO_2 ante mayores valores de RFA.

Así se distribuyeron 180 plantas (90 plantas por especie) asignándose a la mitad de plantas de cada especie uno de los dos tratamientos (testigo, estrés). En general, se realizaron mediciones sobre 5 plantas en el caso de *N. nervosa* y de 6 plantas en el caso de *N. obliqua* en cada fecha. Las variables de respuesta medidas se detallan posteriormente en forma conjunta a todos los experimentos.

2.8.2. Experimento con orígenes preseleccionados I

A fin de realizar una caracterización ecofisiológica más detallada de la respuesta a estrés hídrico, durante la estación de crecimiento 2007-2008 (octubre de 2007 a abril de 2008) se trabajó con plantines de un origen preseleccionado para cada una de las especies, evaluándose la respuesta a estrés y el grado de plasticidad fenotípica de estos orígenes particulares. A continuación se detallan las características de los orígenes considerados:

“**Yuco Alto**” (*N. nervosa*) (40° 07'48" S y 71° 34' 48" O): Esta población representa una masa boscosa compuesta por un bosque mixto de Coihue (*N. dombeyi*)-Roble pellín y Raulí (Fig. 6. A y B) ubicada a 930 msnm bajo un régimen de precipitación de 2500 mm año^{-1} . Posee árboles de entre 120-150 años de edad con diámetros que oscilan entre los 50 y 120 cm y alturas que superan en algunos casos los 30 metros (Gallo, com. pers.). Esta población fue elegida como área productora de semillas (APS) y actualmente se tramita su registro en el INASE como tal, en la categoría “ensayado”. La elección como APS se realizó por su fácil accesibilidad, por constituir una masa pura de *N. nervosa* que cubre unas 6 has, por el buen desempeño de su descendencia en ensayos comparativos de orígenes instalados en sitios húmedos (1800 mm) bajo dosel de bosque nativo así como también en sitios mésicos (800 mm) bajo

plantaciones de pino, por la regularidad en la producción de semillas y por la calidad de la misma (Gallo, com. pers.).



Figura 6 A y B. Población de Raulí (*N. nervosa*) Yuco alto, Parque Nacional Lanín. A: cosecha de semillas de individuos de *N. nervosa*. B. Estado de árboles maduros y sobre maduros. (Fotografías: Leonardo Gallo).

“**Pilolil**” (*N. obliqua*) (39° 30′ 05″ S y 70° 57′ 44″ O): Esta población presenta una singular importancia debida tanto a características de localización como ecológicas (Figs. 7 y 8). Está constituida en gran medida por una masa de *N. obliqua* con *Austrocedrus chilensis* (ciprés de la cordillera) formando un sistema mixto Roble/Ciprés poco común ubicado a lo largo del río Aluminé a una altitud de 836 msnm. Sobre la zona alta de las laderas también está presente la especie *Araucaria araucana*. Esta masa boscosa constituye la población argentina de *N. obliqua* de ubicación más ecotonal, límite entre el bosque cordillerano y la estepa patagónica, con un promedio anual de precipitaciones de 682 mm (fuente AIC), lo que resulta marcadamente xérico en comparación con el régimen pluviométrico del resto de la distribución continua (1200 a 3000 mm año⁻¹) (Azpilicueta et al., 2007; Azpilicueta & Gallo, en revisión). Los resultados de los estudios isoenzimáticos desarrollados por el Grupo de Genética Forestal del INTA EEA Bariloche muestran a esta población como una de las más variables desde el punto de vista genético, siendo altamente diferente en su constitución genética al resto de las poblaciones argentinas de la especie.

Para el monitoreo específico de la respuesta ante estrés hídrico de los orígenes preseleccionados se utilizaron dos tratamientos que consistieron en diferentes regímenes de riego bajo condiciones controladas de oscilación de contenido de agua disponible para las plantas (ADP). En este caso, al igual que en el experimento de la temporada 2006-2007 se utilizó el valor de PC para la realización del cálculo de agua disponible. Al igual que en la temporada anterior, dado que los valores obtenidos de la curva de retención hídrica de los suelos se calcularon por el método gravimétrico y las mediciones periódicas de humedad en maceta mediante el método volumétrico, se calculó la densidad aparente del suelo de las macetas de manera de poder expresarse todos los valores en contenido volumétrico.



Figura 7. Población de Roble Pellín (*N. obliqua*) a orillas del río Aluminé, Pilolil, Estancia Las Breñas (Fotografía: Santiago Varela).

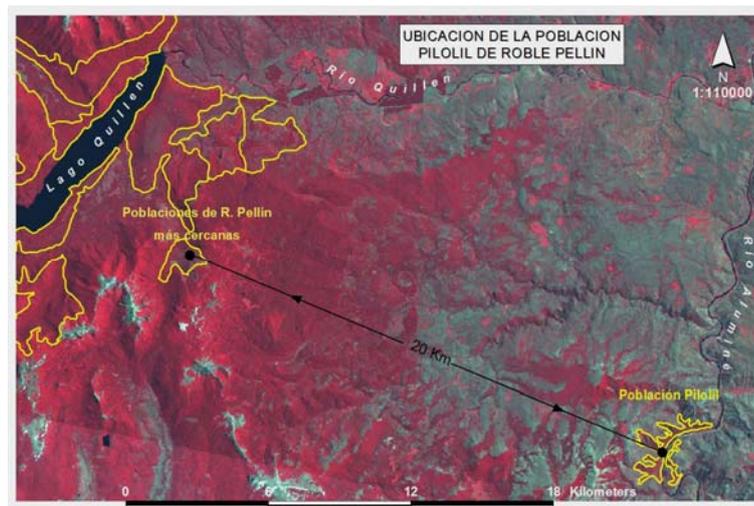


Figura 8. Imagen satelital mostrando la ubicación y distancia entre la población de *N. obliqua* de Pilolil y la población más cercana de la misma especie (digitalización de la imagen satelital realizada por el Ing. Ftal. Daniel Bocos).

Los niveles de riego utilizados fueron:

a) Testigo: Sin déficit hídrico, regándose a capacidad de campo de maceta (PC) día por medio y manteniéndose por encima del PMP.

b) Estrés: Se dejó que el agua en suelo decreciera desde PC hasta no registrar variación en la actividad fotosintética y conductancia estomática por períodos de no más de tres días.

De un grupo de 20 plantas de cada especie, se distribuyeron al azar en grupos de diez que conformaron los tratamientos testigo y estrés. Se consideraron dos estadios fenológicos relacionados con el patrón de producción de hojas presente en estas especies (hojas preformadas y neoformadas). En

referencia a este último punto, se define como hoja preformada a aquella que es formada en la temporada anterior a la brotación y hoja neoformada a aquella que es formada en la misma temporada de brotación (ver Guédon et al., 2006 para más detalle). El riego de los plantines se realizó en forma manual. Al igual que en la temporada anterior se estandarizaron las condiciones de tipo de contenedor (utilizándose el mismo tipo de contenedor que en el experimento preliminar) y un suelo franco arenoso (52% arena, 42% limo, 7% arcilla).

2.8.3. Experimento con orígenes preseleccionados II

Durante la temporada de crecimiento 2008-2009 y a fin de analizar la magnitud de la variación genética intraespecífica en la respuesta a estrés hídrico, se trabajó con plantines de cuatro orígenes preseleccionados para cada especie, tratando de cubrirse la mayor variación geográfica (gradiente norte-sur, en el caso de *N. nervosa* y oeste-este en el caso de *N. obliqua*, ver Cuadro 1 y Fig. 9). Sobre estos se evaluó el efecto del genotipo sobre la respuesta a estrés hídrico y el grado de plasticidad fenotípica del mismo. Particularmente en este experimento, por tratarse de un experimento corto (octubre de 2008 a diciembre de 2008) se utilizaron macetas con un volumen de 3 litros y el mismo suelo que en el experimento preliminar.

Cuadro 1. Características climáticas de los orígenes geográficos en donde las semillas fueron colectadas.

Especie	Origen geográfico	Latitud (S)	Longitud (O)	Altitud (m)	Precipitación (mm año ⁻¹)
<i>N. nervosa</i>	Tromen	39° 34' 32''	71° 25' 48''	1040	3000
	Curruhue	39° 51' 00''	71° 29' 24''	970	970
	Paimún	39° 42' 00''	71° 34' 12''	970	970
	Queñi	40° 10' 12''	71° 46' 12''	900	900
<i>N. obliqua</i>	Yuco	40° 09' 07''	71° 30' 39''	930	1600-1800
	Pío Proto	40° 06' 48''	71° 14' 31''	980	1200-1400
	Quillén	39° 22' 16''	71° 17' 31''	1140	1800-2000
	Pilolil	39° 30' 05''	70° 57' 44''	836	680

Nota: Los datos de latitud y longitud fueron registrados mediante el uso de un GPS, los datos de altitud mediante el uso de un altímetro y la precipitación media anual fue estimada en función de los mapas de isoyetas (Martínez, com. pers.).

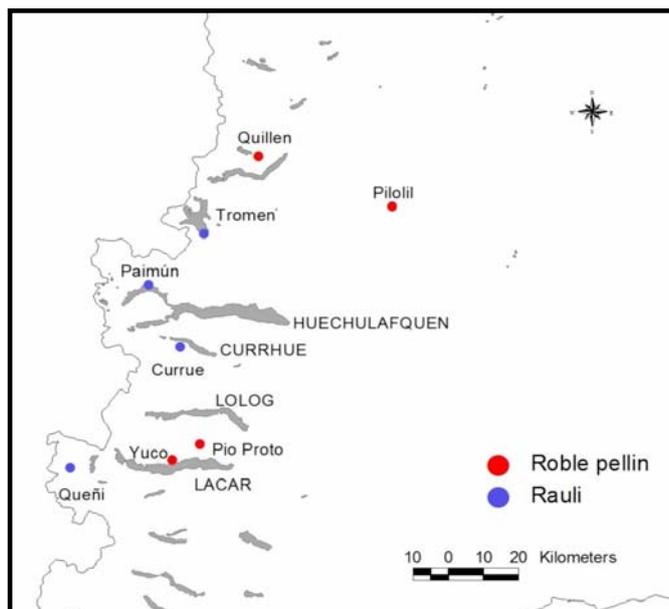


Figura 9. Distribución geográfica de los orígenes genéticos considerados en el experimento con orígenes preseleccionados II (temporada 2008-2009) en cercanías de los lagos Lacar y Huechulafquen, Prov. De Neuquén. (Mapa confeccionado por Jose Villacide).

2.8.4. Variables registradas (ver Cuadro 2 a modo de resumen al final del Cap.).

a) Contenido volumétrico de humedad en maceta

Periódicamente (aproximadamente cada 3 días) y sobre todos los plantines de todos los experimentos descritos, se registró el contenido volumétrico de agua en maceta (CV, % vol/vol) utilizando un equipo del tipo TDR (Time Domain Reflectometry, sensor tipo tridente T3 de la firma Imko GMBH, Alemania). En función de poder estimarse un porcentaje de agua disponible para cada planta en cada fecha de medición y testearse la efectividad de los distintos tratamientos hídricos impuestos y, dado que los resultados de las curvas de retención hídrica de los suelos utilizados se encontraban expresados en contenido gravimétrico de humedad (% peso/peso), fue necesario convertir dichas unidades a valores de contenido volumétrico. Para ello, mediante el pesado de las macetas, el cálculo de su volumen y el nivel de humedad de las mismas pudo calcularse la “densidad aparente” del suelo en maceta, permitiéndose realizar el pasaje de unidades de humedad de contenido gravimétrico a volumétrico.

b) Variables morfológico alométricas

Finalizado cada uno de los experimentos descritos, sobre los plantines de las distintas especies/orígenes/tratamientos, se registró la tasa de sobrevivencia de los mismos. Al inicio, en algunos casos en fechas intermedias y fin del período de estudio se midió la altura total y diámetro a la base del tallo de cada plantín. Estas últimas mediciones no se realizaron en el experimento con orígenes preseleccionados II por considerarse poco significativo el efecto del

tratamiento de estrés sobre las mencionadas variables dado al corto período de estudio (oct-dic 2008).

Las mediciones de altura y diámetro se utilizaron para calcular los incrementos relativos de cada variable como:

$$\frac{(\text{variable al inicio de la temporada} - \text{variable al final de la temporada})}{\text{variable al inicio de la temporada}}$$

considerándose de todas formas en el análisis de los mismos los incrementos absolutos. Las mediciones de altura total (mediciones lineales) se realizaron con cinta métrica. Las mediciones de diámetro se realizaron mediante calibre digital marca Mitutoyo, realizando marcas en sitios específicos del tallo a fin de registrar el incremento periódico sobre el mismo punto.

Asimismo, sobre algunos de los experimentos detallados (ver Cuadro 2 al final del presente capítulo), se realizaron mediciones de área foliar específica (AFE) mediante la extracción de hojas de los distintos individuos (testigo, estresados), “escaneo” de las mismas y cálculo del área mediante la utilización del programa HOJA 1.0 (Verga, 2000). Posteriormente las hojas se secaron en estufa a 70 °C durante 48 horas pesándose mediante la utilización de una balanza digital con precisión de 1 mg (Scientech SA 510, Scientech Inc., Boulder, EE. UU.). Dichas mediciones se realizaron en forma conjunta con las mediciones de intercambio gaseoso (ver pág. 52).

Sobre los plantines del experimento preliminar y orígenes preseleccionados I, al final de la temporada y antes de su caída, se recolectaron todas las hojas de cada uno de los individuos muestreados con el fin de contar con la biomasa foliar total, utilizándose en el segundo caso dicho registro para el cálculo de biomasa total. En este último experimento, al momento de la finalización de las restantes mediciones se evaluó la producción de biomasa de raíces, tallo y total, estableciéndose relaciones alométricas entre éstas y otras variables tales como: biomasa aérea/radical, área foliar/diámetro del tallo, área foliar/peso de raíces.

Sobre los experimentos desarrollados con orígenes preseleccionados (I y II), al finalizarse con la medición de las demás variables (fin de cada una de las temporadas de crecimiento), se registró también el porcentaje de mortalidad apical de los plantines por especie y tratamiento considerándose éste como un punto importante a tener en cuenta si se piensa en actividades productivas con este tipo de especies (pérdida de calidad de la madera por formas de fuste defectuosas).

En función de los registros obtenidos de los diferentes experimentos se calculó un índice de plasticidad fenotípica basado en la fórmula de Valladares et al. (2006):

$$PI_v = \frac{(\text{media máxima variable}_i - \text{media mínima variable}_i)}{\text{media máxima variable}_i}$$

Para su cálculo se consideraron aquellas variables/relaciones morfológicas y fisiológicas y relaciones que representasen caracteres adaptativos en función de la respuesta a estrés hídrico (Valladares, com. pers.). Así dentro de las variables morfológicas se consideraron: la proporción de Hüber

(diámetro del tallo/biomasa de hojas), el porcentaje de biomasa promedio de hojas respecto de la biomasa total de plantín, el porcentaje de biomasa promedio de tallo respecto de la biomasa total del plantín, el porcentaje de biomasa promedio de raíces respecto de la biomasa total del plantín, la relación tallo raíz y el área foliar específica.

c) Variables ecofisiológicas

-Relación entre potencial hídrico de prealba (Ψ_{pa}) y contenido volumétrico (CV) de agua en suelo

En el experimento preliminar (temporada 2006-2007) el seguimiento del estado hídrico de las plantas bajo los dos regímenes hídricos considerados se llevó a cabo mediante medidas del potencial hídrico de prealba (Ψ_{pa} ; MPa) de las plantas, midiéndose en cada fecha entre 11 y 25 plantas de cada especie entre las 05:00 AM y las 07:00 AM. Esta variable se midió mediante una cámara de presión tipo Schölander (PMS, Corvallis, Oregón). Para la realización de este tipo de medición se utilizaron ramitas colectadas de cada una de las plantas, posibilitándose así la medición de una misma planta en más de una fecha. Como se mencionó anteriormente, las mediciones del contenido volumétrico de agua en maceta se realizaron mediante la utilización de un equipo TDR (Time Domain Reflectometry, marca Imko GmbH, Alemania). Particularmente para la interpretación de la relación entre las dos variables antes mencionadas se utilizó la serie de datos completa (plantines "*testigo*" + "*estresados*") para cada especie, comparándose la respuesta a nivel interespecífico. Este tipo de medición fue también realizada sobre los plantines utilizados en el experimento con orígenes preseleccionados II a fin de cuantificar el efecto del estrés hídrico sobre el estatus hídrico de los diferentes orígenes considerados por especie, así como para establecer la existencia de mecanismos de tipo iso- o anisohídrico de las especies en estudio. Para tal fin no sólo se realizaron mediciones de potencial hídrico de prealba sino también mediciones de potencial hídrico al mediodía (Ψ_{md} ; MPa) sobre al menos 5 plantines de cada origen/tratamiento por especie en dos fechas al final del ciclo de estrés hídrico impuesto.

-Curvas presión- volumen (ajuste osmótico)

Sobre las plantas del experimento preliminar se desarrollaron curvas presión-volumen (P-V) mediante el método de transpiración libre, siguiendo el protocolo especificado por Corcuera et al. (2003), evaluándose la existencia de diferencias a nivel inter- e intraespecíficas (tratamientos). Los puntos para desarrollar las curvas se obtuvieron mediante utilización de la cámara o bomba de Schölander. Para ello se cortaron entre 3 y 6 esquejes con hojas completamente desarrolladas (expandidas) por especie por nivel de estatus hídrico ("*testigo*", "*estresadas*"). Para su rehidratación se mantuvo a los mismos bajo una temperatura de laboratorio (20 °C aproximadamente), en oscuridad, sumergiéndose su porción basal en agua pura por 24 horas. Una vez rehidratado se obtuvo el peso de cada esqueje con una balanza de 1 mg de precisión (Scientech SA 510, Scientech Inc., Boulder, EE. UU.), posteriormente se introdujo en la cámara de Schölander y se determinó la presión de equilibrio, se despresurizó la cámara y se dejó el esqueje fuera de la misma. Cada esqueje se dejó secar bajo las condiciones ambientales del laboratorio, registrándose su peso fresco y potencial hídrico a intervalos regulares, deduciéndose mediante las sucesivas pesadas las reducciones en el contenido relativo de agua. El proceso concluyó con la determinación del peso seco de cada esqueje. Los datos obtenidos permitieron construir las curvas P-V, es decir, la representación

gráfica de la inversa del potencial hídrico de la muestra frente al volumen de agua simplástica.

En función de las mencionadas curvas P-V se estimaron los siguientes parámetros: el potencial osmótico a saturación ($\Psi_{\pi\text{sat}}$), el potencial hídrico a turgencia plena (Ψ_{ppt}), el contenido relativo de agua en el punto de pérdida del turgor (CRA_{ppt}), el módulo de elasticidad máximo (ε_{max}) y el contenido relativo de agua apoplástica ($\text{CRA}_{\text{apop.}}$). El Ψ_{ppt} se obtuvo mediante la extrapolación del punto de la curva en que ésta comienza a ser lineal hasta $\text{CRA} = 1$ mediante una recta paralela al eje de las X. El $\Psi_{\pi\text{sat}}$ se estimó extrapolando la parte de la curva que es lineal hasta el eje de las Y. El ε_{max} se obtuvo a partir de la siguiente fórmula:

$$\varepsilon_{\text{max}} = (\Delta P / \Delta R) * (R' - R_{\text{apop}})$$

donde ΔP y ΔR son los cambios en el potencial de turgencia y contenido relativo de agua en un intervalo dado, R' es el valor promedio de contenido relativo de agua en el intervalo calculado y R_{apop} , el contenido relativo de agua apoplástica. El cálculo de R en un determinado momento fue realizado mediante la siguiente ecuación:

$$R = (P_f - P_s) / (P_t - P_s)$$

donde P_f es el peso fresco, P_s es el peso seco y P_t es el peso en el punto de turgencia plena (Pearcy et al., 1991). La capacidad de ajuste osmótico y/o elástico de los distintos grupos se obtuvo mediante la comparación de los parámetros de la curva de plantas con y sin estrés hídrico.

-Conductividad hidráulica y vulnerabilidad a la cavitación

Se puede decir que la conductividad hidráulica (kh) de una porción de planta es una medida de su capacidad de conducción de agua, variable crucial que determina en última instancia la capacidad de la planta de mantener sus estomas abiertos (y fijar CO_2). La kh se define como el flujo de agua que pasa por un material considerado por unidad de presión (diferencia de presión entre los extremos de un gradiente), dividido por el largo de la porción respectiva. Cuando a la kh se la divide también por el área transversal del segmento, se obtiene la conductividad hidráulica específica ks . Distintos niveles de estrés pueden provocar pérdidas de conductividad, y por lo tanto, de rendimiento. En el presente trabajo el cálculo de conductividad hidráulica y conductividad hidráulica específica se realizaron en forma conjunta con la medición de curvas de vulnerabilidad a la cavitación. Para la medición de éstas últimas, sobre las plantas del experimento con orígenes preseleccionados I, se siguió el procedimiento descrito por Maherali & de Lucia (2000). Posteriormente a la estimación del largo máximo de vasos en los plantines, se cortaron los mismos en la porción más basal del tallo de forma de contar con segmentos de aproximadamente 40 cm de longitud o el respectivo largo máximo del plantín. Se realizaron así mediciones sobre 4 ó 5 individuos de ambas especies bajo cada una de los tratamientos ("*testigo*"-"*estresadas*"). Durante la manipulación del material vegetal se tomaron los recaudos necesarios para evitar al máximo su desecación. La vulnerabilidad a cavitación inducida por desecamiento fue estimada a través de la reducción en la conductividad hidráulica de tallos en función de la presión xilemática creada por la inyección de nitrógeno en un collar de presión (Salleo et al., 1992) o cámara de doble entrada (Sperry & Saliendra, 1994) a partir de una cámara de presión de Schölander modificada (PMS Instrument, Corvallis, Oregon, EE. UU.; Fig. 10). Una porción de 10 cm de cada

segmento cortado fue descortezado quitándose también todas las pequeñas ramificaciones. El descortezado se realizó con el fin de eliminar en parte los flujos no xilemáticos. Este procedimiento se realizó bajo agua para evitar la generación de embolismos. Para determinar la máxima conductividad hidráulica (kh_{max}) antes de inducir la cavitación se eliminaron los embolismos de aire haciendo circular agua filtrada por el segmento de rama a 120 kPa de presión por períodos de 15 minutos mediante la construcción y uso de un perfusionador (Figs. 10 y 11).

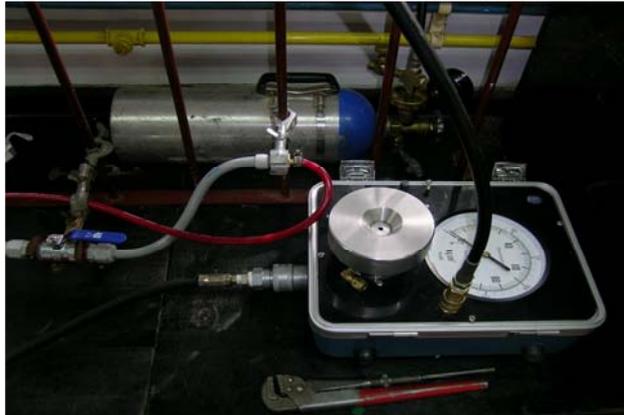


Figura 10. Modificación de la cámara de presión de Schölander realizada para la medición de curvas de vulnerabilidad a la cavitación.

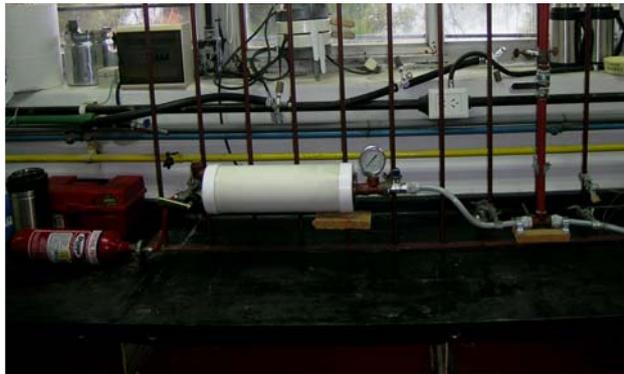


Figura 11. Perfusionador elaborado para la determinación de tasas máximas de conductividad hidráulica (kh_{max}) mediante la eliminación de embolismos.

Luego de cada evento de presurización (15 minutos bajo una determinada presión y con una secuencia creciente de 0,5 MPa) se determinaron la k_h , $k_{s\ max}$ y el porcentaje de pérdida de conductividad hidráulica (PPC, %) en función de las siguiente ecuación:

$$kh = k * l \text{ (ml cm s}^{-1} \text{ MPa}^{-1}\text{)}$$

$$k_{s\ max} = kh_{max} / \pi * (d / 2)^2 \text{ (ml s}^{-1} \text{ MPa}^{-1} \text{ cm}^{-1}\text{)}$$

$$PPC = 100 * (kh_{max} - kh / kh_{max}) \text{ (\%)}$$

donde l y d son la longitud y el diámetro externo de cada segmento, respectivamente. Las curvas de vulnerabilidad se construyeron a partir de la relación entre potencial hídrico y PPC, ajustándose una curva sigmoidea siguiendo la metodología descrita por Pammenter & Vander Willigen (1998):

$$PPC = 100 / (1 + \exp(\alpha(\Psi - b)))$$

donde Ψ es el valor de presión de presurización, α es una medida del grado de respuesta de la conductividad a la inyección de presión (forma de la curva) y b representa el Ψ al cual se reduce la conductividad en un 50% (desplazamiento de la curva en el eje de las x).

-Intercambio gaseoso de CO₂ y H₂O

La tasa de fotosíntesis neta (fotosíntesis bruta – fotorespiración - respiración) fue registrada mediante un medidor de intercambio de gases basado en un analizador infrarrojo (IRGA, Li-cor 6400; Li-cor, Lincoln, Nebraska, EE. UU.) sobre todos los experimentos detallados. Se obtuvieron curvas de respuesta de la tasa de actividad fotosintética neta (A_{neta}) a la radiación fotosintéticamente activa (RFA) para las especies/orígenes/tratamientos mediante la imposición de distintos niveles de RFA al segmento de hoja colocado en una cámara con lámpara de LEDs (del inglés "light emitting diode", diodo emisor de luz, 6400-02B LED; Li-cor, Lincoln, Nebraska, EE. UU.) o, en su defecto, las tasas de A_{neta} a RFA saturante.

A partir de las curvas A_{neta} -RFA se determinaron los puntos de compensación lumínica (PCL), el rendimiento cuántico aparente (RC) y la tasa máxima de fotosíntesis (A_{max}) para cada especie y tratamiento sobre los experimentos "preliminar" y "orígenes preseleccionados I" (para más detalle del significado de cada uno de los parámetros estimados ver Cáp. 3 Sección 2). Los valores de intercambio de CO₂ ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) se ajustaron a un modelo de hipérbola rectangular mediante el método de mínimos cuadrados comúnmente utilizado para describir la respuesta de la fotosíntesis (Landsberg, 1977):

$$A_{\text{neta}} = A_{\text{max}} * \Phi * (RFA - PCL) / (A_{\text{max}} + RC * (RFA - PCL))$$

donde A_{neta} = fotosíntesis neta; A_{max} = tasa de asimilación máxima; RC = rendimiento cuántico aparente; PCL = punto de compensación lumínica; RFA = nivel de radiación fotosintéticamente activa (variable independiente). El ajuste se realizó mediante la utilización del programa Table Curve 2D (Jandel Scientific AISN Software).

Asimismo, durante los experimentos con orígenes preseleccionados I y II se utilizó el protocolo de auto-registro (autolog) del equipamiento Li-cor 6400, efectuándose, en el primero de los experimentos, mediciones semanales y en el segundo una medición puntual de A_{neta} a RFA saturante al finalizar el ciclo de estrés. Adicionalmente, sobre este último experimento se realizaron en forma periódica mediciones de conductancia estomática (gs) con un porómetro EGM-4 (PP Systems) a la mañana-mediodía (entre las 09:00 y las 13:00 hs) y a la tarde, (entre las 14:00 y las 18:00 hs) en función de cuantificar el grado de cierre estomático generado por los distintos tratamientos hídricos. Las mediciones de gs realizadas con el equipo Li-6400 y con el porómetro EGM-4 nunca fueron comparadas entre sí.

Para las mediciones realizadas en el experimento preliminar la concentración de CO₂ (provista mediante una fuente pura de CO₂) se mantuvo en 400 ppm y la tasa de flujo de aire en 500 mL min⁻¹. Los valores promedio de humedad relativa en la atmósfera de la cámara fueron de 40 % (± 8). La temperatura promedio se mantuvo en 27° C (± 4). El tiempo mínimo de espera para cada valor de RFA fue de tres minutos. En este experimento, las mediciones se realizaron con una frecuencia semanal a fin de caracterizar el efecto de la fenología de hoja sobre la actividad fotosintética, evaluándose

conjuntamente si los valores programados de las distintas variables ambientales eran los adecuados para las especies en estudio. Los valores de RFA utilizados fueron: 0, 50, 100, 250, 500, 750, 1000, 1200, 1800 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Para determinar la respuesta potencial por especie de A_{neta} en respuesta a la RFA y en función de los registros de temperatura de hoja, contenido volumétrico de agua en maceta, déficit de presión de vapor (DPV) y potencial hídrico de prealba al momento de la medición, se seleccionaron por especie aquellas curvas (seis por especie) donde se registraron los mayores valores de la variable dependiente (A_{neta}). Se utilizaron plantines con temperaturas de hoja entre 18 y 25° C, contenidos volumétricos de agua en maceta promedio de 30%, bajo un déficit de presión de vapor menor a 2 KPa y potenciales hídricos de prealba mayores a -0,5 MPa.

En función de poder distinguir claramente entre la limitación estomática y la limitación metabólica de la tasa de fotosíntesis de las distintas especies, se realizaron durante el experimento preliminar curvas de respuesta a la concentración interna de CO_2 (curvas A-Ci), mediante el equipo Li-cor 6400, utilizando concentraciones de CO_2 de 50, 100, 200, 300, 400, 600, 800 y 1000 ppm, una temperatura de cámara de 20 °C y una RFA de 1500 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Los parámetros de la curva A-Ci ajustada fueron estimados a partir de la metodología descrita por Sharkey et al. (2007). Esta permitió la estimación de: la tasa máxima de carboxilación debida a Rubisco (V_{cmax} ; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), tasa de transporte de electrones fotosintéticos basados en el requerimiento de NADPH (J ; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), uso de la enzima triosa fosfato (TPU), tasa de respiración de día (R_d , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y conductancia del mesofilo (g_m , $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Adicionalmente, sobre los plantines del experimento con orígenes preseleccionados I, se realizaron mediciones semanales de A_{neta} a RFA saturante mediante el procedimiento de auto registro detallado anteriormente y curvas A_{neta} vs. RFA en dos momentos (principios y mediados) de la temporada de crecimiento. Para las mediciones de A_{neta} vs. RFA se utilizó la misma concentración de CO_2 que en el experimento preliminar, una tasa de flujo de 300 mL min^{-1} , una temperatura de hoja de 18°C (temperatura cercana a la planteada como óptima por Zúñiga et al. (2006) para especies cercanas a las del presente trabajo), y un tiempo mínimo de espera de 3 minutos por nivel de RFA. El valor de humedad relativa del aire promedio utilizado fue de 50%. Los valores de RFA utilizados fueron: 0, 50, 100, 500, 750, 1000 y 1200 $\mu\text{moles de fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Dicha medición fue realizada con el fin de registrar la variación existente entre los distintos estadios fenológicos de hojas preformadas (oct-dic de 2007) y hojas neoformadas (dic de 2007- abril de 2008) (ver Guédon et al., 2006). En todos los casos, para las mediciones de A_{neta} a RFA saturante (auto registro), el nivel de RFA utilizado fue de 1000 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Todas las mediciones de intercambio gaseoso se realizaron sobre hojas apicales y/o subapicales completamente expandidas del tercio superior de cada una de las plantas evaluadas. Los resultados obtenidos de todas las mediciones de intercambios gaseoso permitieron también estudiar la relación entre las tasas de fotosíntesis (A_{neta}) y la conductancia estomática (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), las tasas de transpiración (E , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la eficiencia instantánea en el uso del agua: cociente entre la tasa de A_{neta} y E ($\text{EUA} = \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{s}^{-1} / \text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), entre otros factores, tanto a nivel intra (distintos tratamientos) como interespecífico.

-Fluorescencia de la clorofila

Se midió la fluorescencia no modulada de la clorofila expresándose el resultado en forma del cociente entre la fluorescencia variable y la fluorescencia máxima (Fv/Fm) en forma periódica en plantas creciendo bajo los distintos tratamientos. Este cociente está aceptado como un buen índice del grado de estrés (daño del fotosistema dos; PSII) (Börjkmán & Demmig, 1987; Araus & Hogan, 1994; Herralde Travería et al., 1998; Savé et al., 2000). Las mediciones fueron realizadas mediante el uso del equipamiento Li-6400 y fluorómetro Li-6400-40. Siete plantas por especie y tratamiento fueron previamente oscurecidas por un periodo de 30 minutos registrándose, posteriormente y ante la aplicación de un pulso de radiación de baja intensidad, la tasa mínima de fluorescencia (F0) cuando el centro de reacción del fotosistema dos (PSII) estuviera “abierto” (para más detalle ver DeEll & Toivonen, 2003). Luego de la aplicación de un pulso de luz saturante de alta intensidad (flash) para inducir el “cierre” temporario del PSII, se registro la tasa máxima de fluorescencia (Fm). Se estimó así el rendimiento cuántico máximo de la reacción inicial en el PSII (Fv/Fm), relación indicadora del estado de salud del PSII.

-Cálculo de plasticidad fenotípica

En función de los registros obtenidos de los diferentes experimentos y las diferentes variables fisiológicas (junto a las variables morfológicas antes descriptas) se calculó el índice *P/v* de plasticidad fenotípica (Valladares et al., 2006). Las variables fisiológicas utilizadas para su cálculo fueron: parámetros de las curvas P-V (Ψ_{π} , Ψ_{ppt} , CRA_{ppt} , ϵ_{max}), parámetros de las curvas de vulnerabilidad ($PPC_{50\%}$ y k_h) y en función de las mediciones de intercambio gaseoso un promedio de los valores obtenidos en el experimento con orígenes preseleccionados I de EUA por tratamiento y la relación Fv/Fm de las mediciones de fluorescencia de la clorofila *a*.

2.9. Análisis estadísticos

Los valores de CV en maceta por fecha, los valores de altura total, IRA, diámetro, IRD, AFE, cantidad de hojas promedio por planta, biomasa foliar, biomasa de raíces, biomasa de tallo, relación tallo raíz, valores de A_{neta} a RFA saturante (así como las diferentes variables asociadas a esta medición: E, gs y EUA) y valores de la relación Fv/Fm (fluorescencia de la clorofila *a*) fueron comparados por fecha entre distintos tratamientos por especie y para un mismo tratamiento entre especies mediante análisis de variancia (ANOVA) de una vía. En todos los casos los supuestos de normalidad y homocedasticidad fueron puestos a prueba antes de aplicar el ANOVA. Se utilizó un nivel de significancia de 0,05 ($p < 0,05$). En aquellos casos donde no se cumplieron los supuestos estadísticos se utilizaron tests no paramétricos de Mann-Whitney o Kruskal-Wallis (Sokal & Rohlf, 1995).

Los modelos empíricos de regresión de la relación entre CV- Ψ_{pa} , curvas P-V, curvas de vulnerabilidad a la cavitación y A_{neta} vs. RFA se compararon mediante el test *F* de Fisher (Neter & Wasserman, 1974):

$$F_{obs} = [(SSE(R) - SSE(F)) / 2] / (SSE(F) / (n_1 + n_2 - 4))$$

donde SSE(R) = suma de cuadrados del error de la recta de todos los datos juntos (e.g. datos de plantas estresadas + datos de plantas testigo); SSE(F) = suma de cuadrados del error de una recta + suma de cuadrados del error de la otra recta; n_1 y n_2 = número de datos de cada recta. Si el $F_{obs} > F_{crit. (0,05; 2; n_1+n_2-4)}$ se rechaza la hipótesis nula de igualdad entre ambas rectas.

Los parámetros estimados de cada uno de los modelos (a nivel de tratamientos por especie y para un mismo tratamiento entre especies) se compararon mediante el test t de Student (Sokal & Rohlf, 1995). El valor de t observado se calculó según la siguiente ecuación:

$$t = \frac{\bar{X}_T - \bar{X}_C}{\sqrt{\frac{\text{var}_T}{n_T} + \frac{\text{var}_C}{n_C}}}$$

donde $\bar{X}_{(T \text{ o } C)}$ son las medias de una y otra serie de datos, var su varianza y n el numero de muestras. Se trabajó con un α de 0,05.

Cuadro 2. Resumen de las variables registradas en los distintos experimentos de respuesta al estrés hídrico. Referencias: CV = contenido volumétrico de humedad en maceta (% vol/vol); IRA= incremento relativo en altura; IRD= incremento relativo en altura; AFE= área foliar específica; BT= biomasa de tallo; BH= biomasa de hoja; BR= biomasa de raíz; Ψ_{H_2O} = potencial hídrico; P-V= curvas presión volumen; *kh*= conductividad hidráulica, CVC= curvas de vulnerabilidad a la cavitación, IG = intercambio gaseoso, FC= fluorescencia de la clorofila a. Las cruces en las columnas indican en que tipo de experimento se realizó la medición.

Experimento	CV	IRA	IRD	AFE	BT	BH	BR	Ψ_{H_2O} vs. CV	P-V	<i>kh</i>	CVC	IG	FC
Preliminar	X	X	X	X		X		X				X	
Orígenes preseleccionados I	X	X	X	X	X	X	X		X	X	X	X	X
Orígenes preseleccionados II	X							X				X	

2.10. Resultados

2.10.1 Experimento preliminar

Contenido volumétrico de humedad en maceta

En la Figura 12 se muestran los valores de humedad en maceta expresada como contenido volumétrico (%vol/vol) por especie y tratamiento y se señalan también los valores de "pot capacity" (PC = 54,3% vol/vol), capacidad de campo (CC = 54,1 %vol/vol) y punto de marchitez permanente (PMP = 27,6 % vol/vol) surgidos a partir del análisis de la curva de retención hídrica del suelo utilizado en las macetas.

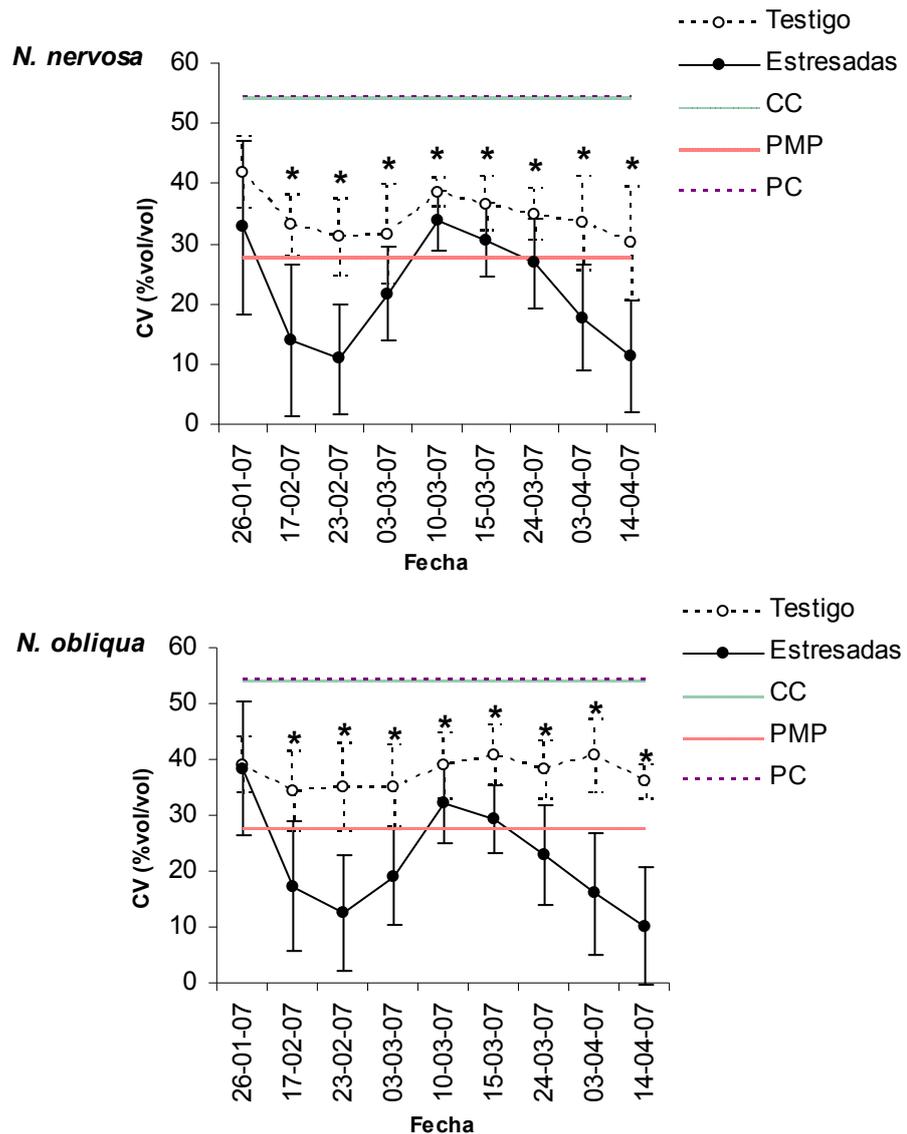


Figura 12. Contenido volumétrico de agua en maceta (CV, % vol/vol) a lo largo de las sucesivas fechas de la temporada de crecimiento por especie y tratamiento. Referencias: PC = capacidad de campo en macetas ("pot capacity"); CC= capacidad de campo; PMP = punto de marchitez permanente. Los asteriscos sobre los puntos muestran diferencias estadísticas significativas entre tratamientos de una misma especie ($p < 0,05$) por fecha. Las líneas sobre los puntos muestran el desvío estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento). Las diferencias entre especies se comentan en el texto.

En promedio los valores de contenido volumétrico de agua en maceta fueron de $34,5 \pm 3,9$ y $37,5 \pm 2,5$ % vol/vol para plantas testigo de *N. nervosa* y *N. obliqua* respectivamente y de $22,2 \pm 9,2$ y $22,0 \pm 9,5$ % vol/vol para plantas estresadas de *N. nervosa* y *N. obliqua* respectivamente. Los valores de contenido volumétrico de agua en maceta de los diferentes tratamientos presentaron diferencias estadísticas significativas en todas las fechas de muestreo a excepción de la primera fecha de registro ($p < 0,05$). En la mencionada figura pueden verse también los dos ciclos de déficit hídrico gradual generados en las plantas bajo el tratamiento de estrés. Las plantas bajo este último tratamiento presentaron en algunas fechas valores inferiores al detectado como PMP. Las plantas de *N. nervosa* bajo la condición testigo presentaron en promedio un porcentaje de agua disponible para las plantas (ADP) de 13 ± 7 % mientras que las plantas bajo la condición estresadas presentaron en promedio un porcentaje de -10 ± 17 %. Las plantas de *N. obliqua* presentaron valores de 18 ± 5 % vol/vol (condición testigo) y -10 ± 17 % (plantas estresadas). Si bien los valores de ADP para plantas testigo parecerían ser bajos se corresponden incluso con los de otros estudios en los cuales plantas testigo registraron valores de humedad a campo y en macetas similares.

Variables morfológico alométricas

Durante toda la temporada de crecimiento, independientemente de la especie y/o el tratamiento, no se registró mortalidad de ningún plantín. Los plantines de *N. nervosa* bajo los diferentes tratamientos presentaron similares valores de altura inicial ($0,93 \pm 0,05$ m para los plantines bajo la condición testigo y $0,99 \pm 0,06$ m para las plantas bajo el tratamiento estresadas), final ($1,08 \pm 0,05$ m para los plantines bajo la condición testigo y $1,11 \pm 0,05$ m para las plantas bajo el tratamiento estresadas) e incremento relativo ($0,17 \pm 0,03$ para los plantines bajo la condición testigo y $0,15 \pm 0,03$ para las plantas bajo el tratamiento estresadas) ($p > 0,05$). Tampoco se evidenciaron diferencias en los diámetros iniciales ($7,31 \pm 0,33$ mm para los plantines testigo y $7,31 \pm 0,36$ mm para los plantines estresados), finales ($10,04 \pm 0,31$ mm en plantines testigo y $9,62 \pm 0,34$ mm en plantines estresados) e incrementos relativos ($0,42 \pm 0,05$ en plantines testigo y $0,34 \pm 0,05$ en plantines estresados) ($p > 0,05$). Así los incrementos en altura variaron entre $14,7 \pm 0,11$ cm y $12,2 \pm 0,12$ cm y los incrementos en diámetro entre $2,7 \pm 1,27$ mm y $2,3 \pm 1,09$ mm en plantines testigo y estresados, respectivamente.

En referencia al registro de biomasa foliar tomado al final del experimento las plantas de *N. nervosa* bajo ambos tratamientos presentaron valores similares de dicha variable ($p > 0,05$), notándose al igual que para la variables diámetro final una leve tendencia a menores valores en los plantines estresados ($3,86 \pm 2,36$ g para plantines testigo y $3,07 \pm 1,23$ para plantines estresados).

Nothofagus obliqua mostró al igual que *N. nervosa* valores iniciales similares de altura entre los plantines de los distintos tratamientos ($0,97 \pm 0,06$ m bajo el tratamiento testigo y $0,97 \pm 0,04$ bajo el tratamiento de estrés). Así también los valores finales ($1,11 \pm 0,05$ m bajo el tratamiento testigo y $1,15 \pm 0,03$ m bajo el tratamiento de estrés) y el incremento relativo fueron similares entre tratamientos ($0,18 \pm 0,05$ bajo el tratamiento testigo y $0,22 \pm 0,03$ bajo el tratamiento de estrés) ($p > 0,05$). En referencia al diámetro, tampoco existieron diferencias en los valores iniciales ($7,18 \pm 0,50$ mm testigo y $7,60 \pm 0,33$ mm estrés), finales ($9,28 \pm 0,52$ mm testigo y $9,90 \pm 0,34$ mm estrés) e incrementos relativos ($0,30 \pm 0,05$ testigo y $0,33 \pm 0,03$ estrés). Los incrementos en altura variaron de esta forma ente $14,8 \pm 0,11$ y $18,2 \pm 0,12$ cm y los de diámetro entre $2,1 \pm 1,08$ y $2,3 \pm 1,11$ mm para plantines testigo y estresados, respectivamente.

En referencia al registro de biomasa foliar tomado al final del experimento en *N. obliqua*, ambos tratamientos presentaron valores similares de dicha variable, notándose al igual que para la variables altura y diámetro final una leve tendencia a mayores valores en los plantines estresados ($2,69 \pm 1,52$ g para plantines testigo y $3,48 \pm 2,24$ para plantines estresados).

Comparando ambas especies, no se registraron diferencias en altura inicial, final e incremento relativo en altura, diámetro inicial, final e incremento relativo en diámetro así como tampoco en la cantidad de hojas promedio por planta (test ANOVA, $p > 0,05$).

Los valores promedio de área foliar específica (AFE) por especie registrados a lo largo de la temporada fueron similares. Los valores promedio de AFE registrados durante la estación de crecimiento para *N. nervosa* fueron de 172,9 y 181,8 g cm⁻² para plantas testigo y estresadas, mientras que para *N. obliqua* fueron de 175 y 166,3 g cm⁻² para plantas testigo y estresadas, respectivamente. La forma en que se realizaron los registros de esta última variable (muestras compuestas) imposibilitó el análisis estadístico de los mismos, de forma que este dato se presenta sólo a modo descriptivo-cualitativo.

Variables ecofisiológicas

La relación entre el contenido volumétrico de humedad en maceta (CV) y el potencial hídrico de prealba (Ψ_{prealba}) mostró que *N. nervosa* y *N. obliqua* respondieron de manera similar (caída en el estatus hídrico de las plantas) a la reducción en contenido volumétrico de agua en maceta (Test F, $p > 0,05$), presentando una reducción marcada en su estado hídrico a valores de contenido volumétrico inferiores al 11% (% vol/vol; Fig. 13). La selección de este valor como umbral de caída en el estado hídrico de las plantas se basó en la determinación del punto de inflexión entre las dos rectas del modelo de regresión entre Ψ_{prealba} - CV. Bajo valores de contenido volumétrico superiores al mencionado, las plantas de *N. nervosa* presentaron un valor promedio de $-0,56 \pm 0,17$ MPa mientras *N. obliqua* presentó valores de $-0,51 \pm 0,20$ MPa. En función de la determinación de la relación entre el contenido volumétrico (determinado mediante equipo TDR) y contenido gravimétrico de agua en suelo pudo verse que tanto las plantas de *N. nervosa* como las de *N. obliqua* comenzaron a registrar un efecto marcado sobre su estado hídrico a valores menores al del punto de marchitez permanente estándar, registrándose valores umbrales de 11,0% y 9,6 % (%vol/vol) para *N. nervosa* y *N. obliqua*, respectivamente.

Las curvas presión-volumen de los distintos tratamientos revelaron que, independientemente de la especie/tratamiento, no existió capacidad de generar ajuste osmótico en respuesta al nivel de estrés hídrico impuesto en este experimento (Cuadro 3). Tanto a nivel de tratamientos (dentro de una misma especie) como entre especies existieron similitudes en los valores de CRA_{apop} y ϵ_{max} ($p > 0,05$). A nivel de especie y bajo la condición testigo (T), *N. nervosa* presentó menores valores de CRA_{ppt} ($p = 0,0084$) y mayores de Ψ_{tsat} ($p = 0,0167$) en relación a *N. obliqua*.

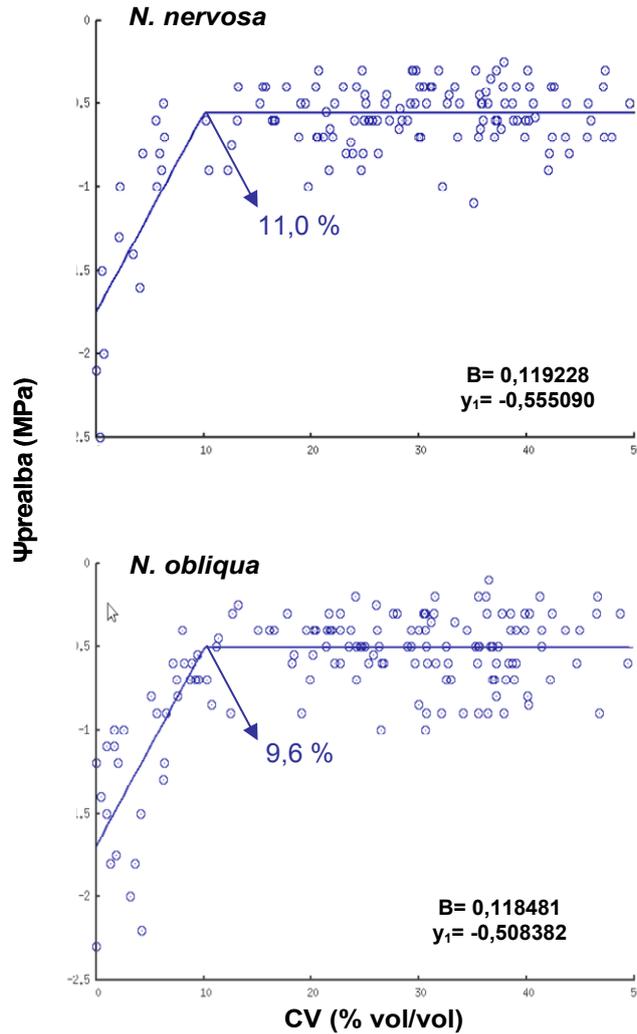


Figura 13. Relación entre el potencial hídrico de prealba (Ψ_{pa}) y el contenido volumétrico de agua en maceta (CV, %vol/vol) para ambas especies. En ambos casos se ajusto a un modelo del siguiente tipo ($f(x) = (x < x_1 \ y_1 + B*(x-x_1):y_1)$). Los valores de cada parámetro así como el valor de CV (% vol/vol) del punto de inflexión se indican en los gráficos.

Cuadro 3. Valores promedio (\pm d. s.) derivados de las curvas presión volumen y valores de probabilidad de los test ANOVA y Mann-Withney entre tratamientos de una misma especie y para un mismo tratamiento entre especies. Referencias: contenido relativo de agua en el punto de pérdida de turgor (CRA_{ppt}), potencial hídrico en el punto de pérdida de turgencia (Ψ_{ppt} , MPa), potencial osmótico en el punto de turgencia plena ($\Psi_{\pi sat}$, MPa), modulo de elasticidad máximo ϵ_{max} (MPa) y contenido relativo de agua apoplástica (CRA_{apop}). T = testigo; E= estresadas. (ANOVA $p < 0,05$). Letras mayúsculas muestran diferencias entre especies para un mismo tratamiento.

Especie	Trat.	CRA_{ppt}	Ψ_{ppt}	$\Psi_{\pi sat}$	ϵ_{max} (MPa)	CRA_{apop}	
<i>N. obliqua</i>	T	0,92 (\pm 0,03)	-1,71 (\pm 0,12)	-1,52 (\pm 0,92) B	2,17 (\pm 1,16)	0,54 (\pm 0,08)	
	E	0,90 (\pm 0,02) A	-1,61 (\pm 0,25)	-1,19 (\pm 0,90)	2,82 (\pm 2,04)	0,65 (\pm 0,07)	
ANOVA p		0,4007	0,4167	0,0867	0,6796	0,0658	
<i>N. nervosa</i>	T	0,87 (\pm 0,06)	-1,35 (\pm 0,27)	-0,99 (\pm 0,22) A	2,55 (\pm 2,24)	0,58 (\pm 0,15)	
	E	0,80 (\pm 0,17) B	-1,40 (\pm 0,22)	-1,48 (\pm 1,35)	3,29 (\pm 1,99)	0,56 (\pm 0,12)	
ANOVA p		0,3438	0,7534	0,3555	0,5781	0,7462	
Comparación entre especies							
ANOVA p		T	0,3122	0,0829	0,0167	0,8297	0,7411
		E	0,0084	0,0903	0,2416	0,7086	0,0524

Las tasas netas de fotosíntesis (A_{neta}) promedio de los plantines de los distintos tratamientos por especie bajo una condición de radiación fotosintéticamente activa (RFA) saturante de $1311 \pm 446 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ fueron similares y no presentaron diferencias a lo largo de las sucesivas fechas de muestreo, exceptuando los mayores valores encontrados el 08-03-07 en plantas estresadas respecto a las testigo de *N. nervosa* ($p < 0,05$). A nivel de especie tanto *N. nervosa* como *N. obliqua* presentaron, independientemente del tratamiento, las mismas tasas de actividad fotosintética neta promedio (de $6,3 \pm 3,0$; $6,3 \pm 3,0$; $5,8 \pm 2,8$ y $7,6 \pm 3,8 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para plantas de *N. nervosa* y *N. obliqua* bajo la condición testigo y estresadas, respectivamente). Las tasas máximas de actividad fotosintética alcanzadas por estas especies fueron de $13,1$ y $19,0 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para *N. nervosa* y *N. obliqua*, respectivamente.

Los valores (promedio y desvío estándar) de conductancia estomática (gs) registrados fueron de $0,134 \pm 0,076$; $0,113 \pm 0,071$; $0,146 \pm 0,102$; $0,179 \pm 0,123 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para los tratamientos testigo y estresadas de *N. nervosa* y *N. obliqua*, respectivamente. Los valores máximos de esta variable registrados por especie fueron de $0,423$ y $0,557 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para *N. nervosa* y *N. obliqua*, respectivamente. Los plantines de *N. nervosa* bajo la condición estresada mostraron una reducción en dicha variable en la última fecha de registro de la temporada ($p = 0,0242$) en relación a las plantas testigo ($0,131 \pm 0,0176$ y $0,071 \pm 0,0153 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ plantas testigo y estresadas, respectivamente). Esta diferencia no se observó en *N. obliqua*. Ambas especies presentaron valores similares de gs bajo la condición testigo y estresadas en las sucesivas fechas de muestreo ($p > 0,05$).

Las tasas de transpiración (E, promedio y desvío estándar) fueron de $2,8 \pm 1,3$; $2,4 \pm 1,4$; $2,8 \pm 1,7$ y $3,1 \pm 1,9 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para los tratamientos testigo y estresadas de *N. nervosa* y *N. obliqua* respectivamente. Los valores máximos de esta variable registrados por especie fueron de $6,8$ y $10,2 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para *N. nervosa* y *N. obliqua* respectivamente. Los plantines de esta última especie bajo la condición de estrés presentaron en la última fecha de registro diferencias significativas respecto a los plantines testigo ($p = 0,0282$), presentando valores de $2,7$ y $1,4 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ respectivamente. Ambas especies presentaron valores similares de E bajo la condición testigo y estresadas en las sucesivas fechas de muestreo, exceptuando una única fecha en que los plantines bajo la condición de estrés de la especie *N. obliqua* presentaron valores mayores a los de *N. nervosa* (fecha: 11-02-2007; *N. nervosa* = $2,4 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ y *N. obliqua* = $5,7 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$; $p = 0,0289$).

En relación a la EUA instantánea, los valores promedio registrados fueron de $2,34 \pm 0,87$; $2,94 \pm 1,23$; $2,14 \pm 1,67$ y $2,73 \pm 1,22 \mu\text{mol CO}_2 / \text{mmol H}_2\text{O}$ para los tratamientos testigo y estresadas de *N. nervosa* y *N. obliqua*, respectivamente. Los valores máximos de esta variable registrados por especie fueron de $5,93$ y $6,34$ para *N. nervosa* y *N. obliqua*, respectivamente. La primera de estas especies mostró menores valores de EUA en los plantines estresados en relación a las plantas testigo en dos de las fechas de registro al final del segundo ciclo de estrés ($p = 0,0116$ y $0,0372$ para las fechas 15 y 23- 03-07, respectivamente). Por su parte, *N. obliqua* presentó sólo diferencias el 13-04-07 ($p = 0,0446$) con valores de $2,03 \pm 0,49$ y $3,34 \pm 0,31 \mu\text{mol CO}_2 / \text{mmol H}_2\text{O}$ para plantines testigo y estresados, respectivamente. Exceptuando la primer fecha de registro donde los plantines testigo de *N. nervosa* presentaron mayores valores en EUA que los plantines de *N. obliqua* ($p = 0,0332$), los valores de EUA fueron similares para ambas especies bajo buena disponibilidad hídrica. Los plantines bajo la condición de estrés presentaron valores similares de EUA en todas las fechas de registro ($p > 0,05$).

Los valores promedio de tasa de respiración en oscuridad de los plantines de los diferentes tratamientos (RFA $0 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$) fueron de $0,67 \pm 0,48$ y $0,81 \pm 0,60 \mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para plantas de *N. nervosa* y $0,66 \pm 0,49$ y $0,84 \pm 0,57 \mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para plantas de *N. obliqua* bajo la condición testigo y estrés, respectivamente. Los valores máximos registrados para dicha variable fueron de $2,95 \mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para *N. nervosa* y $2,85 \mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para *N. obliqua*. Dicha variable solo se vio modificada durante el primer ciclo de estrés o en la primera fecha luego de éste. Las diferencias para *N. nervosa* se registraron el 18-02-07 con valores de $0,31 \pm 0,07$ y $0,75 \pm 0,09 \mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ($p = 0,0010$) y para la fecha 03-03-07 en *N. obliqua* ($p = 0,0110$) con valores de $0,23 \pm 0,20$ y $0,89 \pm 0,12 \mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para las plantas testigo y estresadas, respectivamente. A nivel de comparación entre especies, sólo existieron diferencias el 03-03-07 en las plantas del tratamiento testigo ($p = 0,0312$) con valores de $1,00 \pm 0,20$ y $0,23 \pm 0,23 \mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para *N. nervosa* y *N. obliqua*, respectivamente.

En referencia a las curvas A_{neta} vs. RFA (Figs. 14 y 15) a modo de resumen y mostrando la tendencia general encontrada, se presentan las curvas para ambas especies/tratamientos en cuatro fechas a lo largo de la temporada (principios, mediados y fines de temporada: 01-02-07, 18-02-07, 15-03-07 y 13-04-07). Para cada especie y tratamiento, en estas fechas, se seleccionaron aquellas curvas que presentaran las mayores tasas de A_{neta} a fin de presentar la máxima potencialidad por especie/tratamiento. A partir de dichas curvas pudo observarse que no existieron diferencias entre los modelos y sus parámetros a nivel de tratamiento por especie y para un mismo tratamiento entre especies (Test F; $F_{\text{obs}} < F_{\text{crit}}$). Ambas especies, independientemente del tratamiento mostraron una tendencia marcada de reducción en las tasas máximas de A_{neta} a finales de la temporada, evidenciando probablemente un efecto fenológico (hojas pre-senescentes).

En relación a las curvas A-Ci (Fig. 16) y considerándose solo las plantas bajo la condición testigo (potencialidad a nivel de especie), *N. obliqua* mostró mayores valores de V_{cmax} ($46,89 \pm 21,66$ vs. $28,91 \pm 12,57 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), J ($80,52 \pm 13,00$ vs. $47,88 \pm 9,57 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), TPU ($7,20 \pm 1,34$ vs. $3,94 \pm 0,87$) y R_d ($2,07 \pm 1,42$ vs. $1,80 \pm 1,31 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) en comparación a *N. nervosa* (test t, $p < 0,05$). Los valores de conductancia del mesófilo (g_m ; $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) fueron similares para ambas especies.

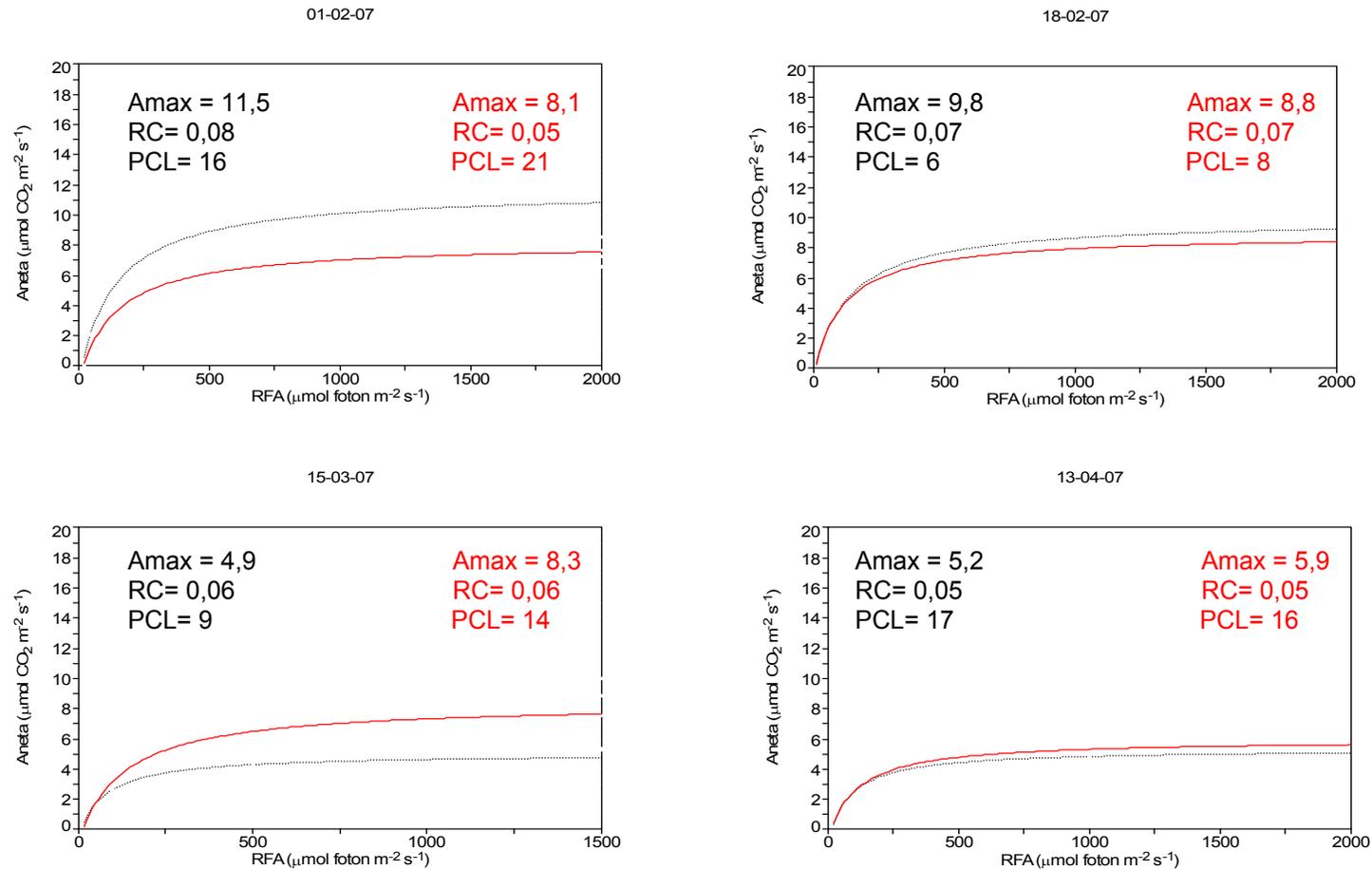


Figura 14. Curvas fotosíntesis neta (A_{neta}) en función de la radiación fotosintéticamente activa (RFA) para la especie *N. nervosa* en cuatro fechas a lo largo de la temporada de medición. Las curvas en rojo corresponden a plantas estresadas. Las curvas en negro corresponden a plantas testigo. Referencias: A_{max} = tasa de fotosíntesis máxima, RC = rendimiento cuántico efectivo, PCL = punto de compensación lumínica. Los valores de desvío estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento) se comentan en el texto.

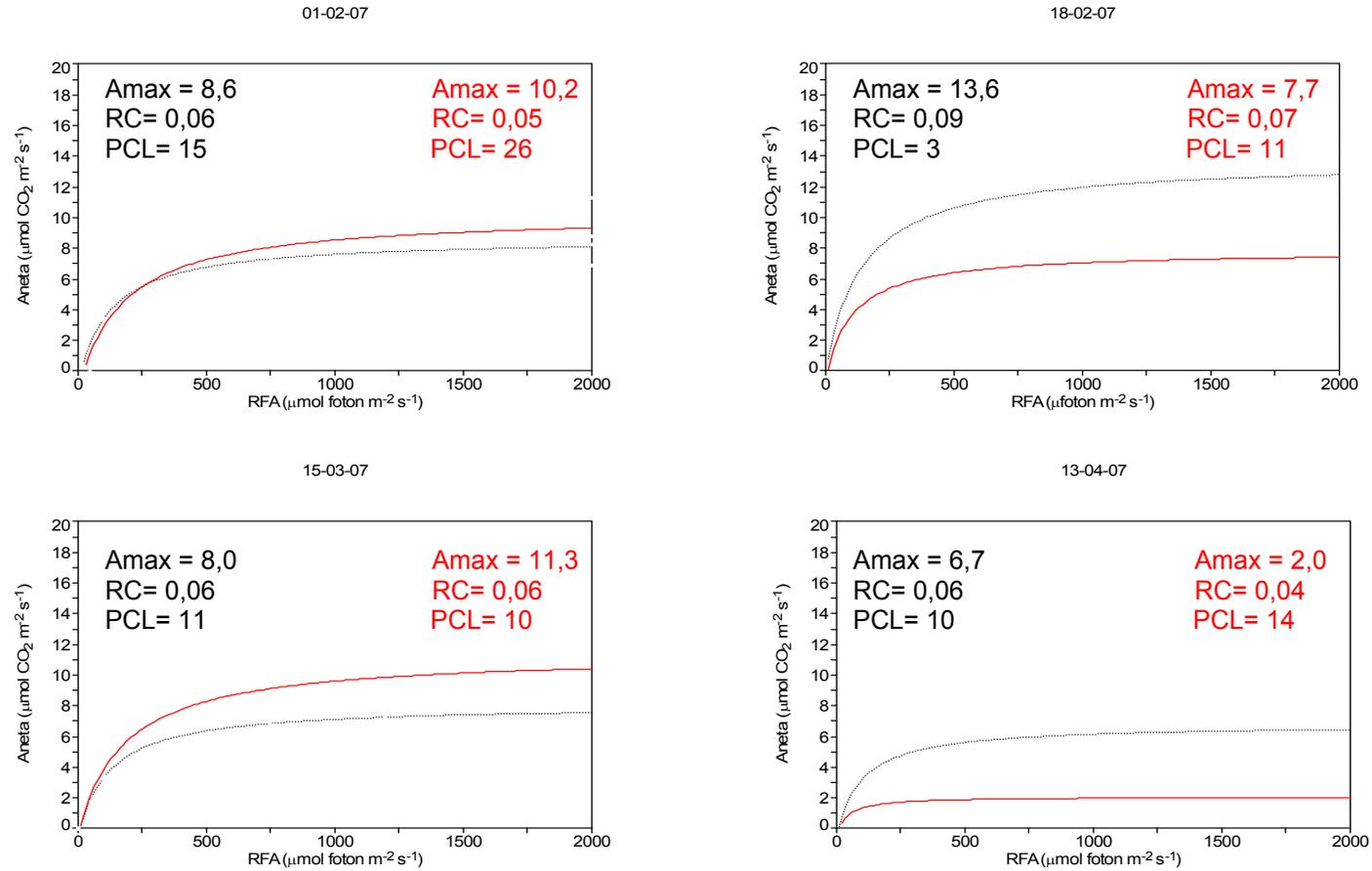


Figura 15. Curvas fotosíntesis neta (A_{neta}) en función de la radiación fotosintéticamente activa (RFA) para la especie *N. obliqua* en cuatro fechas a lo largo de la temporada de medición. Las curvas en rojo corresponden a plantas estresadas. Las curvas en negro corresponden a plantas testigo. Referencias: A_{max} = tasa de fotosíntesis máxima, RC = rendimiento cuántico efectivo, PCL = punto de compensación lumínica. Los valores de desvío estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento) se comentan en el texto.

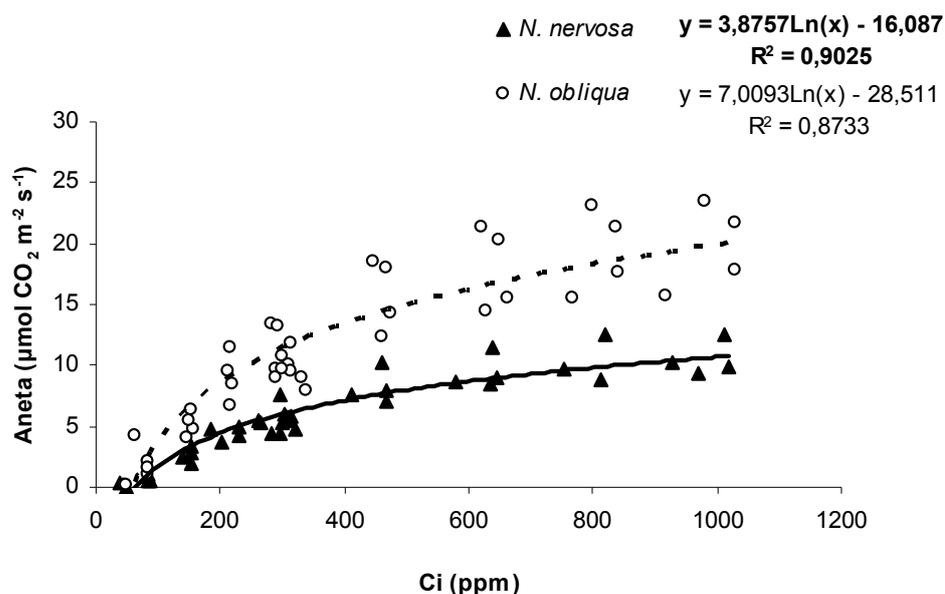


Figura 16. Curvas de fotosíntesis neta (A_{neta}) en función del nivel de CO_2 en la cámara subestomática (carbono interno, C_i) para ambas especies. Las diferencias entre especies se comentan en el texto.

2.10.2. Experimento con orígenes preseleccionados I

Contenido volumétrico de agua en maceta

Los niveles de riego y sequía impuestos a los diferentes grupos de plantas (*testigo* y *estrés*) fueron efectivos, presentando diferencias significativas en la totalidad de las fechas en las cuales se realizó el registro, exceptuando las fechas posteriores a los eventos de riego (Fig. 17; $p < 0,05$). Las plantas bajo la condición *testigo* presentaron siempre valores situados entre PC (54,8 % vol / vol) y PMP (26,4 % vol / vol). Por otro lado, los valores de las plantas bajo *estrés* estuvieron mayoritariamente por debajo de los valores de PMP (Fig. 17), imponiendo de este modo, un mayor grado de *estrés* al del experimento preliminar (que fue leve a moderado, de acuerdo a los resultados fisiológicos). Así, durante todo el período de estudio el porcentaje de agua disponible en las macetas de las plantas *testigo* de *N. nervosa* fue de $51 \pm 17\%$ mientras que el de las plantas *estresadas* fue de $-38 \pm 33\%$. Del mismo modo, el porcentaje de agua disponible en las macetas de las plantas *testigo* de *N. obliqua* fue de $38 \pm 19\%$ mientras que el de las plantas *estresadas* fue de $-46 \pm 37\%$. Durante dicho período los valores de temperatura promedio y humedad relativa fueron de $14 \pm 6\text{ }^\circ\text{C}$ y $51 \pm 14\%$, respectivamente.

Variables morfológico alométricas

La cantidad de hojas promedio por plantín presentó una disminución en las plantas bajo el tratamiento de *estrés* independientemente de la especie ($p = 0,0019$ para *N. nervosa* y $p = 0,0023$ para *N. obliqua*; Fig. 18). Las plantas de *N. obliqua* presentaron, tanto bajo la condición *testigo* como bajo la condición de *estrés*, mayores valores de esta variable en comparación a *N. nervosa* ($p < 0,05$).

Los valores de biomasa total de hojas por planta entre tratamientos de una misma especie presentaron diferencias sólo para *N. nervosa* ($p = 0,0042$), no así para las plantas de *N. obliqua* ($p = 0,1141$) (Fig. 19). Al analizarse la existencia de diferencias en biomasa total promedio de hojas por planta entre especies bajo la condición de buena disponibilidad hídrica (plantas testigo, Fig. 19) se vio que *N. nervosa* presentó similares valores respecto a *N. obliqua* ($p = 0,7513$), al igual que para plantas estresadas ($p = 0,0588$).

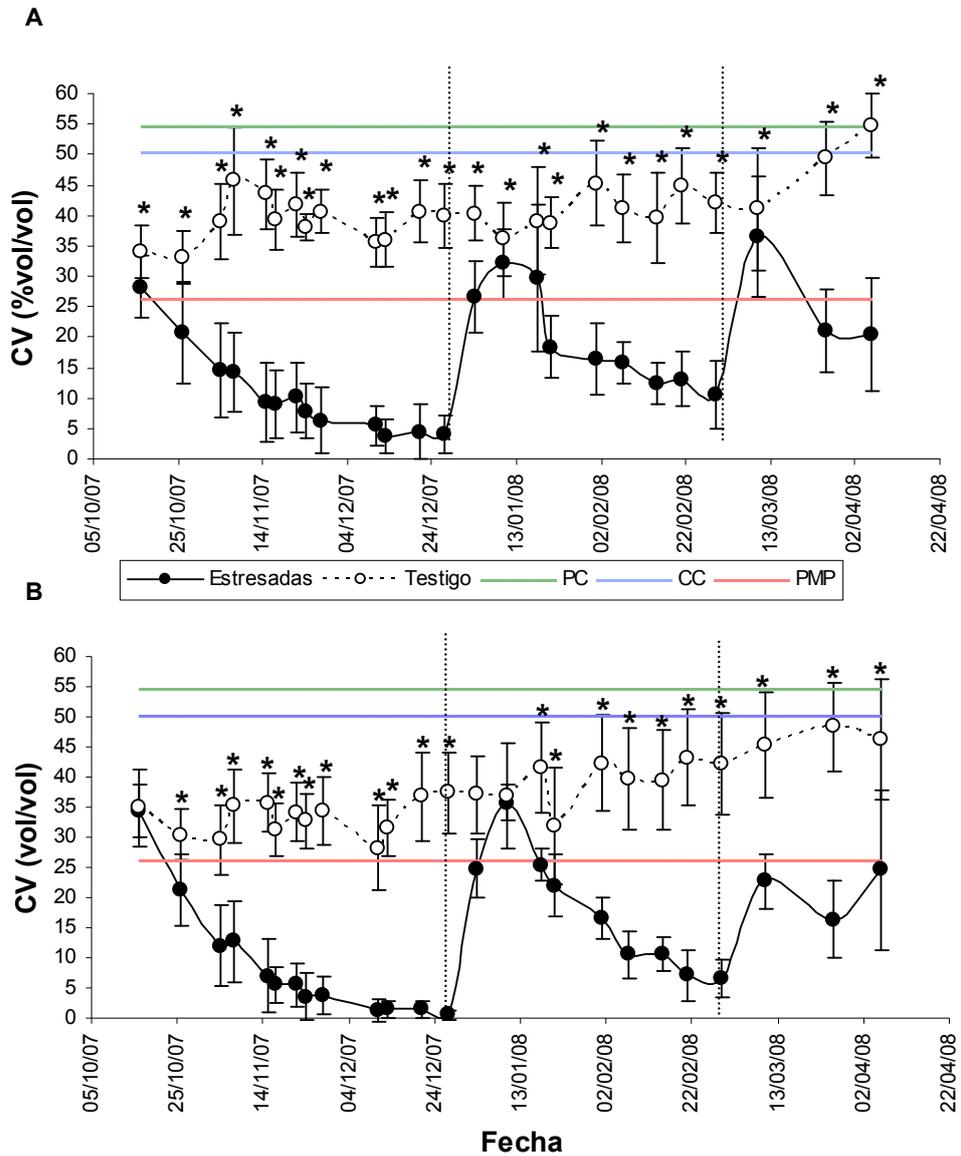


Figura 17. Porcentaje de humedad en maceta expresado como contenido volumétrico de agua en maceta (CV; % vol/vol) por especie y tratamiento para las diferentes fechas de registro. **A** = *N. nervosa*; **B** = *N. obliqua*; PC = capacidad de campo de los suelos en maceta ("pot capacity"); CC = capacidad de campo; PMP = punto de marchitez permanente. Las líneas verticales negras sobre el gráfico indican las fechas en que se realizó el riego de las plantas bajo el tratamiento de estrés. Los asteriscos muestran fechas en las que existieron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos por especie. Las líneas verticales sobre los puntos muestran los desvíos estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento). Las diferencias entre especies se comentan en el texto.

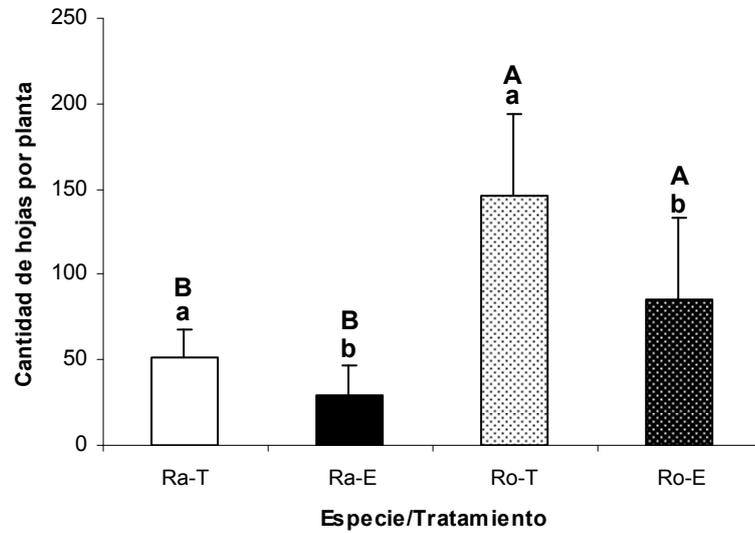


Figura 18. Cantidad de hojas promedio por planta en función de la especie/ tratamiento. Ra = *N. nervosa*; Ro = *N. obliqua*; T= testigo; E = estrés. Diferentes letras minúsculas muestran diferencias entre tratamientos para una misma especie. Diferentes letras mayúsculas entre columnas del mismo tratamiento muestran diferencias entre especies. Las líneas verticales sobre las columnas muestran los desvíos estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

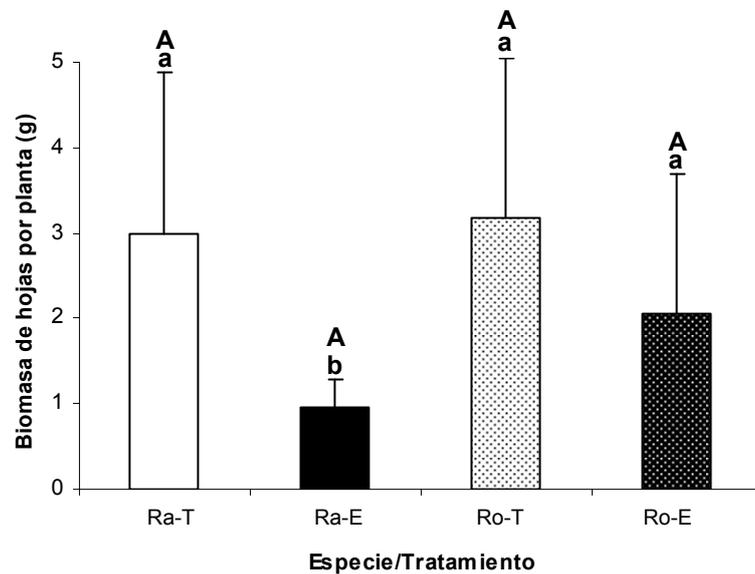


Figura 19. Valores promedio de biomasa total de hojas por planta por especie en función del tratamiento. Ra = *N. nervosa*; Ro = *N. obliqua*; T= testigo; E = estrés. Diferentes letras minúsculas muestran diferencias entre tratamientos para una misma especie. Diferentes letras mayúsculas entre columnas del mismo tratamiento muestran diferencias entre especies. Las líneas verticales sobre las columnas muestran los desvíos estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

A comienzos de la temporada de crecimiento e independientemente de la especie, los grupos de plántulas de los tratamientos testigo y estrés presentaron valores similares en altura total ($p = 0,5649$ y $0,3875$) y diámetro a la base del tallo ($p = 0,4274$ y $0,5582$) para *N. nervosa* y *N. obliqua*, respectivamente. Al finalizar el experimento las plantas sometidas a estrés presentaron menores valores de altura total ($p = 0,0059$ y $p = 0,0121$, para *N. nervosa* y *N. obliqua* respectivamente) y menores incrementos relativos en altura (Fig. 20, $p = 0,0011$ y $p = 0,0222$, para *N. nervosa* y *N. obliqua* respectivamente) en relación a plantas testigo. En relación al diámetro, para ambas especies, tanto los valores absolutos ($p = 0,0009$ y $p = 0,0002$, para *N. nervosa* y *N. obliqua* respectivamente), como los incrementos relativos de plantas estresadas (Fig. 21, $p = 0,0013$ y $p = 0,0002$, para *N. nervosa* y *N. obliqua* respectivamente) presentaron menores valores en relación al de las plantas testigo. La comparación entre especies bajo el tratamiento testigo (buena disponibilidad hídrica) reflejó diferentes valores de altura total al final de la temporada de muestreo (*N. nervosa* < *N. obliqua*; $p = 0,0011$), similares valores de diámetro ($p = 0,8391$) y similares incrementos relativos de altura y diámetro ($p = 0,1850$ y $p = 0,4818$, respectivamente). La misma tendencia fue observada en plantas estresadas ($p = 0,0011$; $p = 0,0671$; $p = 0,6782$; $p = 0,0821$, respectivamente).

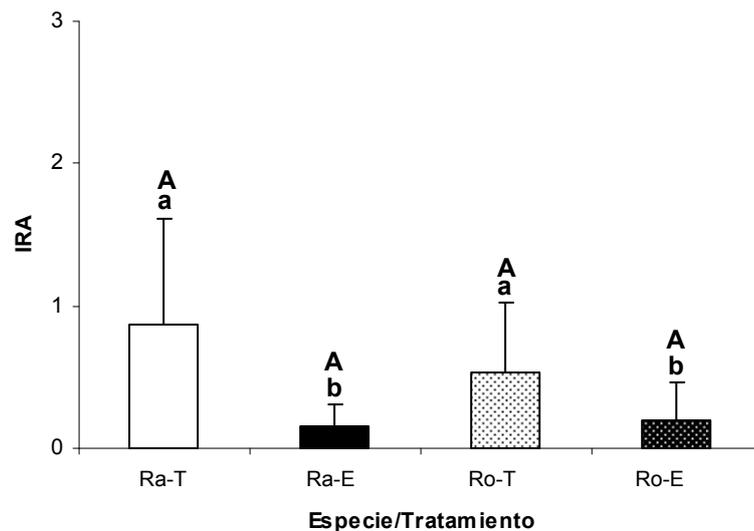


Figura 20. Incremento relativo en altura (IRA) por especie en función del tratamiento. Ra = *N. nervosa*, Ro = *N. obliqua*. Diferentes letras minúsculas muestran diferencias entre tratamientos para una misma especie. Diferentes letras mayúsculas entre columnas del mismo tratamiento muestran diferencias entre especies. Las líneas verticales sobre las columnas muestran los desvíos estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

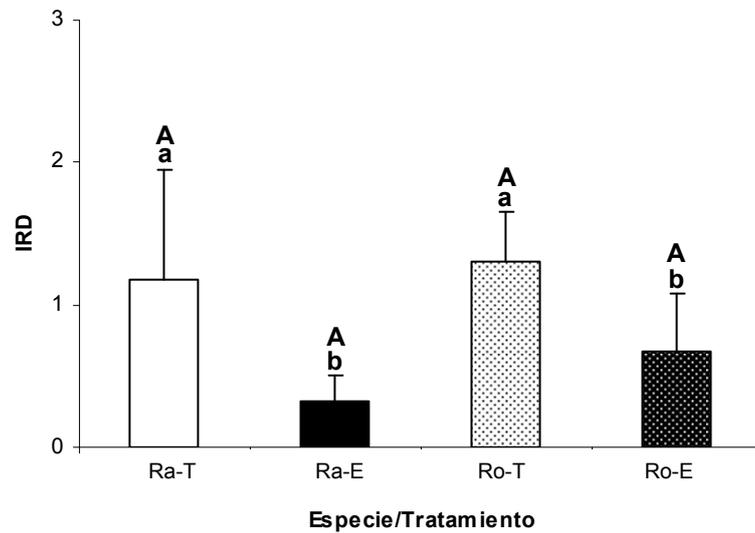


Figura 21. Incremento relativo en diámetro (IRD) por especie en función del tratamiento. Ra = *N. nervosa*, Ro = *N. obliqua*. Diferentes letras minúsculas entre columnas de una misma especie muestran diferencias entre tratamientos. Diferentes letras mayúsculas entre columnas del mismo tratamiento muestran diferencias entre especies. Las líneas verticales sobre las columnas muestran los desvíos estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

Los plantines de ambas especies presentaron una reducción significativa en la producción de biomasa de raíces (Fig. 22, $p = 0,0285$ y $p = 0,0116$ para *N. nervosa* y *N. obliqua* respectivamente), tallo (Fig. 23; $p = 0,0477$ y $p = 0,0203$ para *N. nervosa* y *N. obliqua* respectivamente), biomasa total ($p = 0,0155$ y $p = 0,0014$ para *N. nervosa* y *N. obliqua* respectivamente) y similares valores de relación tallo:raíz ($p = 0,2194$ y $p = 0,3518$ para *N. nervosa* y *N. obliqua* respectivamente) luego de ser sometidos a estrés hídrico. Comparando dentro de cada tratamiento de disponibilidad hídrica la biomasa asignada a las diferentes porciones de la planta así como la relación entre éstas presentaron similares valores entre especies ($p > 0,05$).

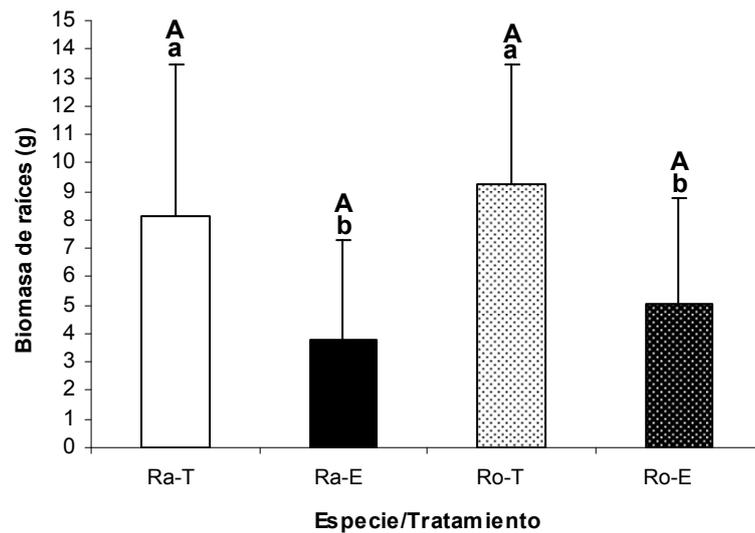


Figura 22. Biomasa de raíces (g) por especie en función del tratamiento. Ra = *N. nervosa*, Ro = *N. obliqua*. Diferentes letras minúsculas entre columnas de una misma especie muestran diferencias entre tratamientos. Diferentes letras mayúsculas entre columnas del mismo tratamiento muestran diferencias entre especies. Las líneas verticales sobre las columnas muestran los desvíos estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

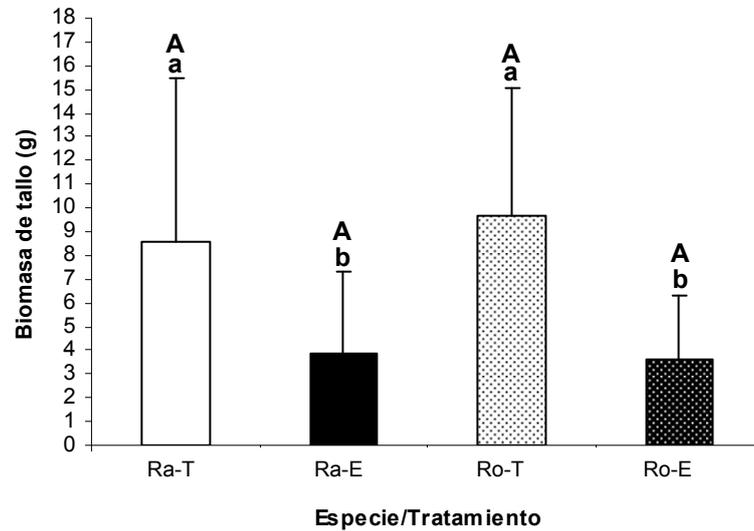


Figura 23. Biomasa de tallo (g) por especie en función del tratamiento. Ra = *N. nervosa*, Ro = *N. obliqua*. Diferentes letras minúsculas entre columnas de una misma especie muestran diferencias entre tratamientos. Diferentes letras mayúsculas entre columnas del mismo tratamiento muestran diferencias entre especies. Las líneas verticales sobre las columnas muestran los desvíos estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

Independientemente de la especie y el tratamiento considerado, el porcentaje de mortalidad apical fue alto para ambas especies (Fig. 24). Bajo la condición testigo *N. nervosa* presentó un 80% de mortalidad apical, sólo un 10% menos que en la condición de estrés hídrico. En comparación, el porcentaje de muerte apical fue menor bajo la condición testigo para *N. obliqua* (un 30% en comparación a *N. nervosa*) y un 40% menos en comparación a plantas de la misma especie bajo la condición de estrés hídrico.

Los valores de área foliar específica registrados a lo largo de la temporada no mostraron diferencias entre las plantas sometidas a estrés y testigo para *N. nervosa* ($p > 0,05$) y en algunas fechas para *N. obliqua* (ver Cuadro 4). El Cuadro 4 muestra el valor promedio de área foliar específica para ambas especies a lo largo de las sucesivas fechas de muestreo. En el análisis comparativo realizado entre especies con las plantas bajo el tratamiento testigo, pudieron verse mayores valores de área foliar específica para las plantas de *N. nervosa* a partir de mediados del mes de enero de 2008 (Cuadro 4).

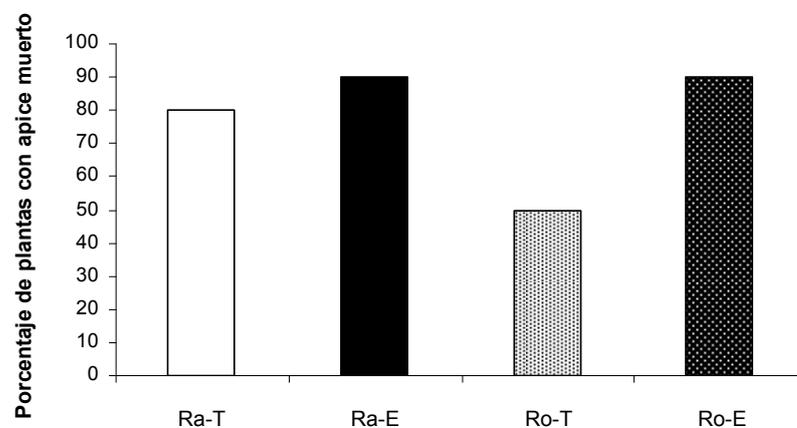


Figura 24. Porcentaje de plantas con muerte apical por especie en función del tratamiento. Ra = *N. nervosa*; Ro = *N. obliqua*; T= testigo; E= estrés.

Los valores de actividad fotosintética neta (A_{neta}) a RFA saturante de plantas bajo la condición de déficit hídrico (estresadas) mostró menores valores en comparación a las plantas testigo desde mediados del mes de noviembre (Fig. 25, $p < 0,05$). En aquellas fechas donde existieron diferencias significativas, las plantas estresadas redujeron su actividad fotosintética un 55 y 47% respecto de los valores promedio en plantas testigo y un 77 y 66% respecto de los valores máximos alcanzados en cada especie para *N. nervosa* y *N. obliqua*. Bajo la condición de buena disponibilidad hídrica *N. obliqua* presentó mayores tasas de A_{neta} a RFA saturante en comparación a *N. nervosa* (Fig. 25).

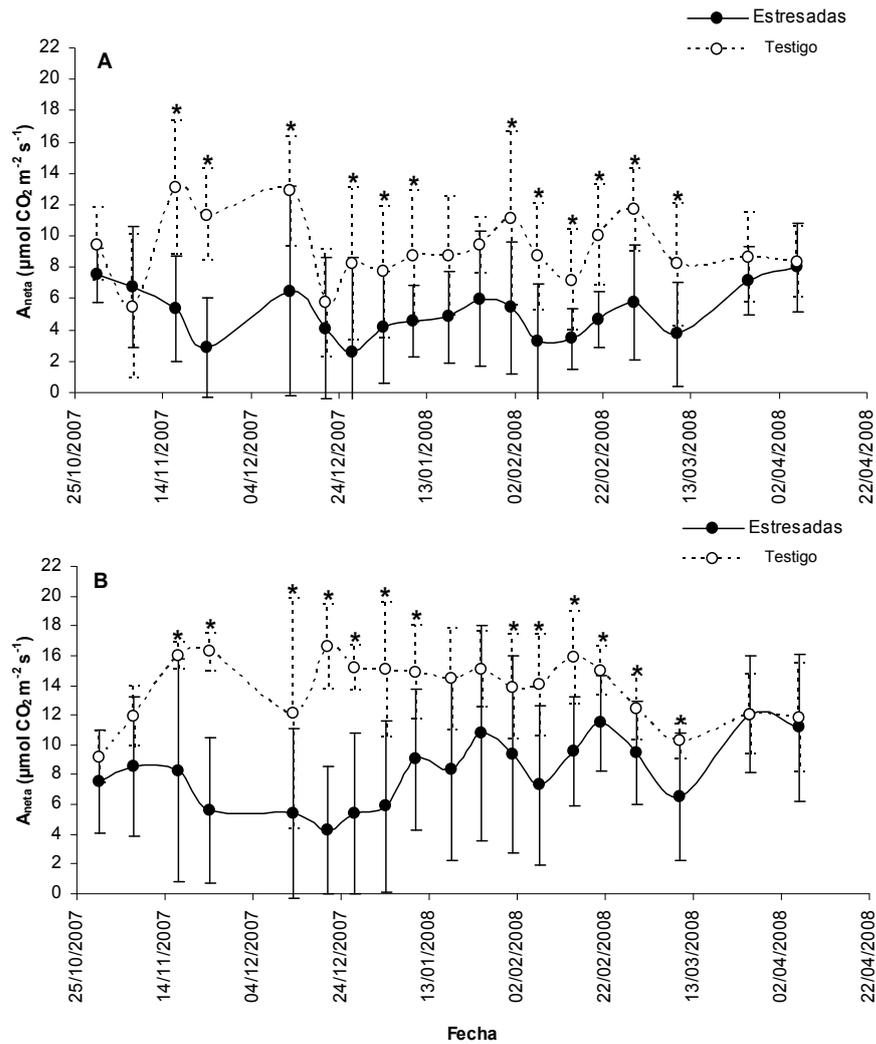


Figura 25. Valores promedio de fotosíntesis neta (A_{net} ; $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) y desvíos estándar a RFA saturante ($1000 \mu\text{moles fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) en las diferentes fechas de muestreo de la temporada 2007-2008 (Experimento con orígenes preseleccionados I). A= *N. nervosa*; B= *N. obliqua*. Los asteriscos sobre los puntos de la figura indican diferencias significativas entre tratamientos dentro de cada especie ($p < 0,05$). Las diferencias entre especies para un mismo tratamiento se comentan en el texto.

Las tasas de transpiración (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) a lo largo de la temporada presentaron, al igual que las tasas de actividad fotosintética, modificaciones en función del tratamiento de estrés hídrico (Fig. 26). Los valores mínimos y máximos promedio de E fueron $0,82$ - $3,50$ y $0,72$ - $3,68$ $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ en plantas estresadas y de $1,52$ - $4,87$ y $2,36$ - $4,30$ $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ en plantas testigo para *N. nervosa* y *N. obliqua*, respectivamente. En aquellas fechas en las que existieron diferencias entre tratamientos, estas disminuciones representaron porcentajes de entre el 24-72% para *N. nervosa* y 6-80% para *N. obliqua*, respectivamente ($p < 0,05$).

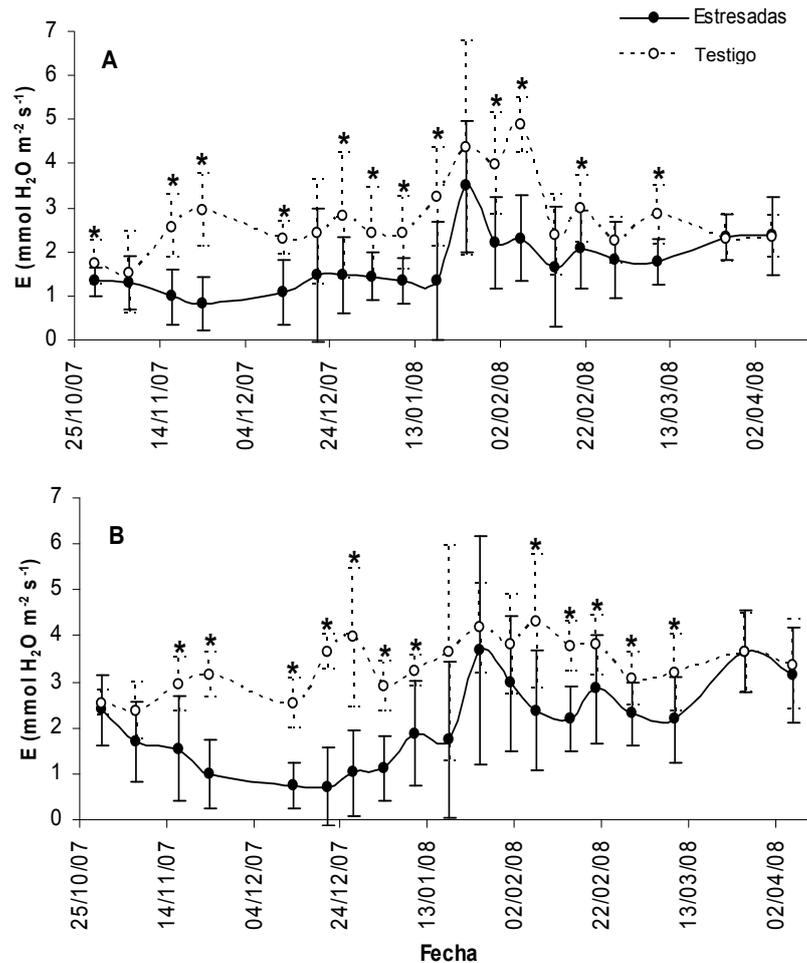


Figura 26. Valores promedio de tasas de transpiración (E ; $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y desvíos estándar a RAF saturante ($1000 \mu\text{moles fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$) en las diferentes fechas de muestreo de la temporada 2007-2008 (Experimento con orígenes preseleccionados I). A= *N. nervosa*; B= *N. obliqua*. Los asteriscos sobre los puntos de la figura indican diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$). Las diferencias entre especies para un mismo tratamiento se comentan en el texto.

La eficiencia instantánea en el uso del agua instantánea ($\text{EUA} = \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} / \text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$; Fig. 27) de plantas de *N. nervosa* sometidas a estrés y plantas bajo la condición testigo en general no mostraron diferencias significativas, excepto en cuatro fechas (24-11-07; 27-12-07; 21-02-08 y 29-02-08; $p < 0,05$). En el caso de *N. obliqua*, pudo verse que los valores de EUA fueron muy similares entre las plantas testigo y estresadas a lo largo de toda la temporada exceptuando la fecha 13-12-07 en la que las plantas estresadas presentaron un mayor valor que las plantas testigo ($p = 0,0101$). En referencia a la comparación entre especies, pudo observarse que bajo la condición testigo, exceptuando una fecha a principios de la temporada de crecimiento (30-10-07), posteriormente y en reiteradas fechas de registro a lo largo de la temporada, *N. obliqua* presentó mayores valores de EUA que *N. nervosa*. En referencia a las plantas estresadas pudo observarse el mismo patrón, registrándose en una gran cantidad de fechas mayores valores de EUA para las plantas de *N. obliqua* respecto a *N. nervosa*.

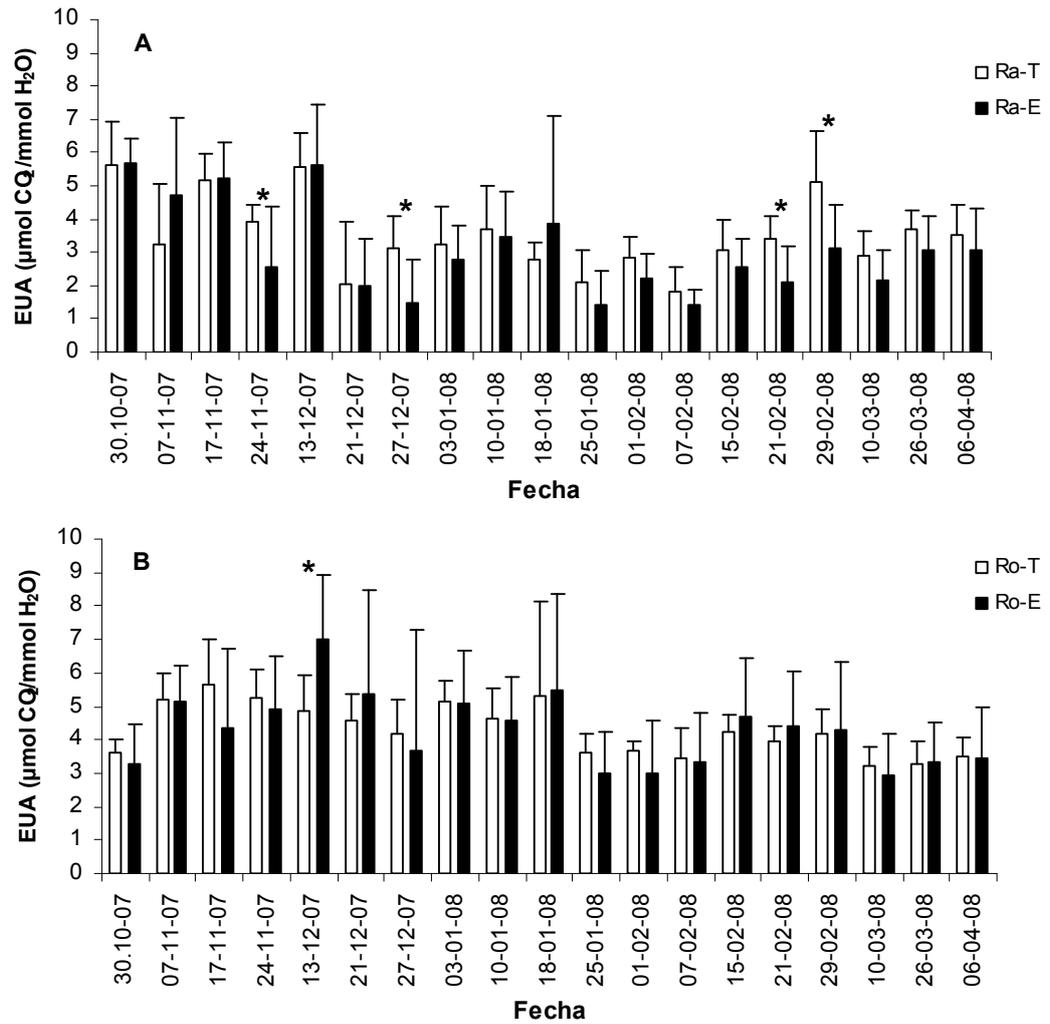


Figura 27. Eficiencia en el uso del agua instantánea (EUA; $\mu\text{mol CO}_2 / \text{mmol H}_2\text{O}$) y desvíos estándar a RFA saturante ($1000 \mu\text{moles fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$) en las diferentes fechas de muestreo de la temporada 2007-2008 (Experimento con orígenes preseleccionados I). A= *N. nervosa*; B= *N. obliqua*. Los asteriscos sobre los puntos de la figura indican diferencias significativas entre tratamientos por especie ($p < 0,05$). Las diferencias entre especies para un mismo tratamiento se comentan en el texto.

En la Figura 28 se muestra la relación existente entre la tasa de actividad fotosintética neta (A_{neta}) a RFA saturante y la conductancia estomática (gs). Para el establecimiento de la relación entre variables se utilizaron los valores registrados tanto para plantas testigo como para plantas estresadas.

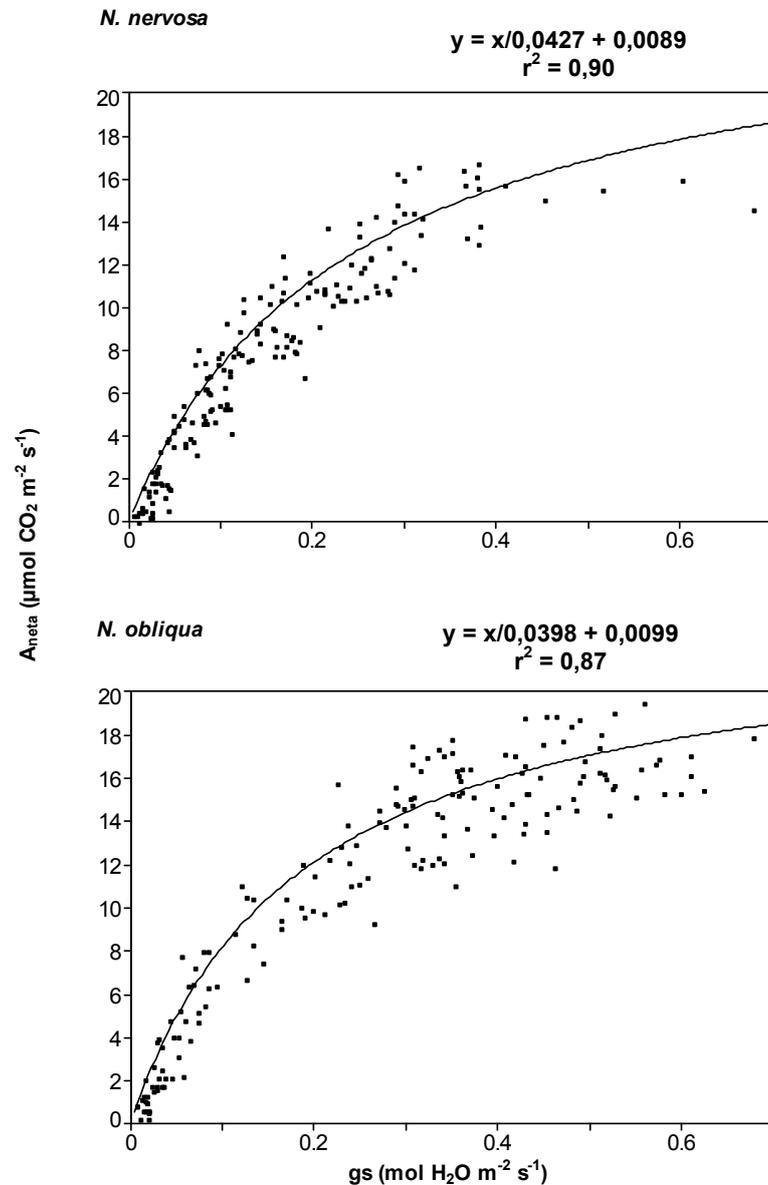


Figura 28. Relación entre la tasa de actividad fotosintética neta (A_{neto}) a RFA saturante y la tasa de conductancia estomática (g_s) por especie. En el gráfico se muestran las ecuaciones del modelo así como el grado de ajuste del mismo.

Puede notarse que para ambas especies la g_s se correlaciona altamente con la A_{neto} hasta valores de g_s de aproximadamente $0,3 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Por encima de este grado de apertura estomática, no se producen aumentos proporcionales de la fotosíntesis, indicando otro tipo de limitaciones. *Nothofagus obliqua* alcanzó a lo largo de la temporada valores mayores de A_{neto} a valores de g_s similares y superiores a $0,35 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ en comparación a *N. nervosa*.

En referencia a la respuesta de la actividad fotosintética neta en función de los distintos niveles de RFA, pudo observarse que a comienzos de la temporada de muestreo (mes de octubre; Fig. 29 A) existieron diferencias entre los modelos de una y otra especie ($F_{\text{crit.}} = 1,804 > F_{\text{obs.}} = 0,010$). *Nothofagus*

nervosa presentó, al igual que *N. obliqua* un grado de ajuste del modelo de regresión aceptable ($r^2 = 0,84$ y $r^2 = 0,73$, respectivamente). Ahora bien, al analizar la diferencia entre parámetros de los modelos no existieron diferencias significativas entre especies ($p_{A_{\max}} = 0,0772$; $p_{RC} = 0,8934$; $p_{PCL} = 0,9753$). La primera especie presentó una tendencia a mayores valores de A_{\max} , sin diferir en los valores de rendimiento cuántico aparente (RC) y similares puntos de compensación lumínica (PCL) en comparación a *N. obliqua* (Fig. 29, Cuadro 5). A mediados de la temporada, luego de ser sometidas al tratamiento de estrés hídrico, los modelos de plantas testigo y estresadas por especie mostraron diferencias significativas tanto para *N. nervosa* ($F_{\text{crit.}} = 1,927 > F_{\text{obs.}} = 0,058$) como para *N. obliqua* ($F_{\text{crit.}} = 2,183 > F_{\text{obs.}} = 0,123$). La primera especie redujo su A_{\max} en un 70% ($p < 0,05$), presentando similares valores de RC ($p = 0,0636$) y PCL ($p = 0,8279$) respecto a plantas bajo buena disponibilidad hídrica (Fig. 29, Cuadro 5). De igual manera, en el caso de *N. obliqua* sólo existieron diferencias entre plantas testigo y estresadas en las tasas de A_{\max} ($p < 0,05$), con una reducción de un 80% en plantas estresadas respecto a plantas testigo. Nuevamente para esta especie, al igual que para *N. nervosa* los valores de RC y PCL fueron similares entre tratamientos ($p = 0,1008$ y $p = 0,9963$, respectivamente). Bajo condiciones de buena disponibilidad hídrica (plantas testigo), *N. nervosa* presentó una menor actividad fotosintética (reducción de 8 unidades) en comparación a *N. obliqua* y un menor RC ($p < 0,05$; Cuadro 5), sin presentar diferencias en el PCL ($p = 0,6575$). Bajo condiciones de estrés, los valores de los tres parámetros fueron similares entre especies.

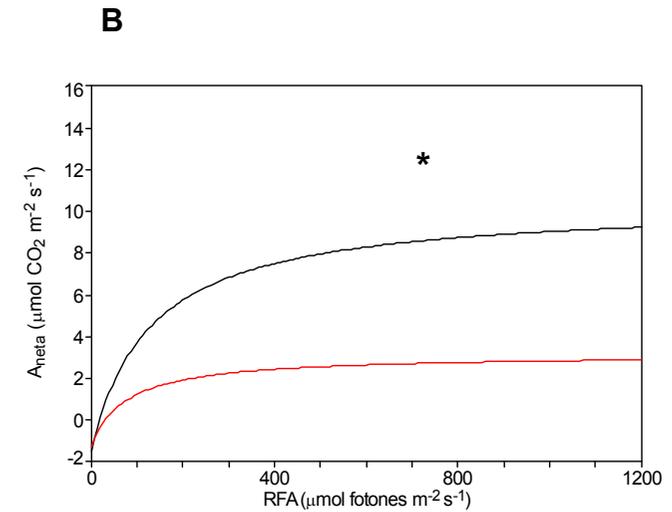
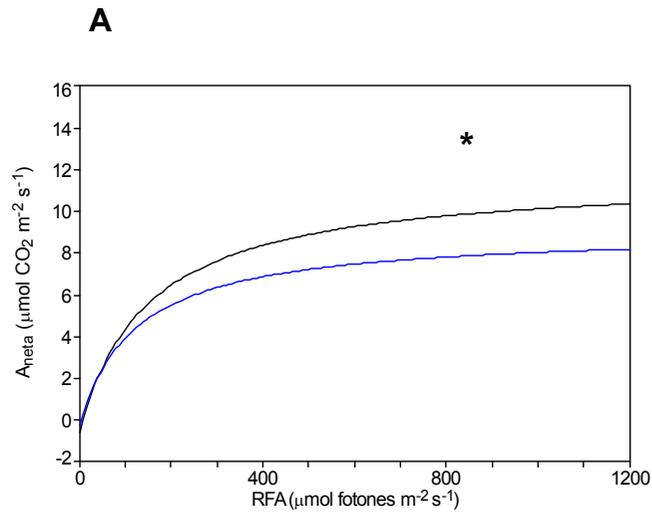
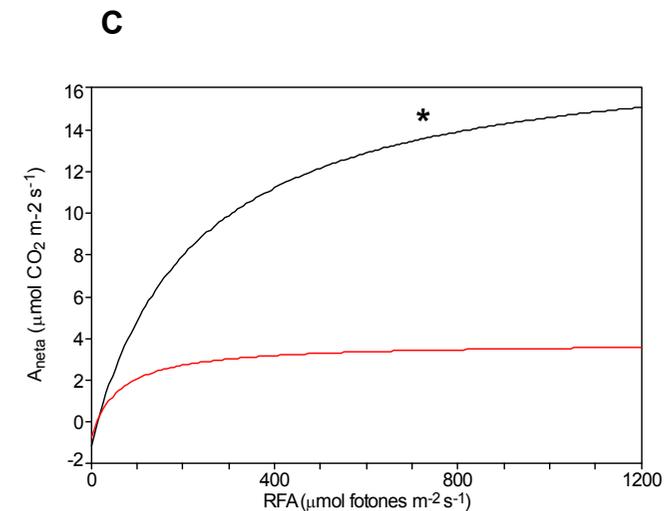


Figura 29. A) Tasa de fotosíntesis neta (A_{neta}) en función de la radiación fotosintéticamente activa (RFA.) por especie a comienzos de la temporada de crecimiento 2007-2008 (Experimento con orígenes preseleccionados I). **A)** La línea en negro representa el modelo de ajuste de *N. nervosa*; la línea azul representa el modelo generado para *N. obliqua*. Los asteriscos sobre la figura muestran diferencias entre el modelo de una y otra especie especificándose las diferencias entre parámetros en el Cuadro 5. **B y C)** Tasa de fotosíntesis neta (A_{neta}) en función de la radiación fotosintéticamente activa (RFA) por especie y por tratamiento a mediados de la temporada de crecimiento 2007-2008 (Experimento con orígenes preseleccionados I). (**B** = *N. nervosa*; **C** = *N. obliqua*). En ambas figuras las líneas en color negro muestran los modelos para plantas testigo y las líneas en rojo muestran los modelos de plantas estresadas. Los asteriscos sobre la figura muestran diferencias entre los modelos para plantas testigo y estresadas de una misma especie.



Cuadro 5. Valores promedio de los parámetros surgidos del ajuste de la serie de datos de las curvas A vs. RFA de las diferentes especies/tratamientos al modelo de Landsberg en dos fechas (principios y mediados) de la estación de crecimiento 2007-2008. Referencias: T= testigo; E = estresadas. Diferentes letras minúsculas muestran diferencias entre plantas de distintos tratamientos por especie. Letras mayúsculas muestran diferencias para un mismo tratamiento entre especies. La ausencia de letras indican valores similares para distintos tratamientos dentro de cada especie y entre un mismo tratamiento de distintas especies.

Especie	Tratamiento	Fecha	Amax ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	RC ($\mu\text{mol C m mol fotones}^{-1}$)	PCL ($\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
<i>N. nervosa</i>	T	Oct-07	9	0,07	5
<i>N. obliqua</i>	T	Oct-07	11,7	0,07	8
<i>N. nervosa</i>	T	Ene-08	10,3 a B	0,07 B	19
	E	Ene-08	3,1 b	0,03	33
<i>N. obliqua</i>	T	Ene-08	18,0 a A	0,08 A	15
	E	Ene-08	3,7 b	0,05	13

Curvas de vulnerabilidad a la cavitación

En referencia a las curvas de vulnerabilidad a la cavitación (Fig. 30; A, B, C y D), pudo verse que ambas especies presentaron una mayor vulnerabilidad a la formación de embolias luego de ser sometidas a estrés hídrico (test F, $F_{\text{obs.}} = 0,027 < F_{\text{crit.}} = 1,59$ para *N. nervosa* y $F_{\text{obs.}} = 0,076 < F_{\text{crit.}} = 1,85$ para *N. obliqua*). Ambas especies presentaron valores de potencial hídrico al cual se pierde el 50% de conductividad ($\text{PPC}_{50\%}$) mas bajos en la condición testigo respecto a plantas estresadas (test t; $p < 0,05$). En referencia al factor de curvatura pudieron observarse diferencias entre plantas estresadas y testigo para ambas especies (test t; $p = 0,0401$ para *N. nervosa* y $p = 0,0002$ para *N. obliqua*). La comparación entre modelos para plantas testigo y estresadas dentro de cada especie (test F) también mostró diferencias (para plantas testigo: $F_{\text{obs.}} = 0,012 < F_{\text{crit.}} = 1,61$; para plantas estresadas: $F_{\text{obs.}} = 0,005 < F_{\text{crit.}} = 1,71$). Los plantines bajo la condición testigo se diferenciaron en el valor de $\text{PPC}_{50\%}$ (parámetro b en la ecuación del modelo; $-1,13$ MPa para *N. nervosa* y $-1,53$ MPa para *N. obliqua*), presentando similares valores de curvatura (parámetro a en la ecuación del modelo, $p = 0,4325$). Para las plantas testigo, fue mayor la pérdida de conductividad hidráulica a presiones crecientes generadoras de embolismos en *N. nervosa*.

Bajo la condición de estrés las plantas de una y otra especie no presentaron diferencias en ninguno de los dos parámetros del modelo ($p_{\text{PPC}_{50\%}} = 0,0904$; $p_{\text{curvatura}} = 0,5228$). Los valores de conductividad hidráulica máxima (previo a la imposición de presión para generar cavitación) (ks_{max} , ml de $\text{H}_2\text{O cm MPa seg}^{-1}$) fueron de $1,88 \pm 1,10$ y $1,61 \pm 1,74$ en plantas testigo y estresadas de *N. nervosa* y de $5,24 \pm 2,50$ y $2,25 \pm 0,19$ en plantines testigo y estresados de *N. obliqua*. En ninguno de estos casos existieron diferencias entre tratamientos por especie. Considerando el tratamiento testigo, ambas especies presentaron diferencias entre sí en el valor de ks_{max} ($p = 0,0422$). Bajo el tratamiento de estrés, los valores tanto de kh_{max} como de ks_{max} fueron similares entre especies.

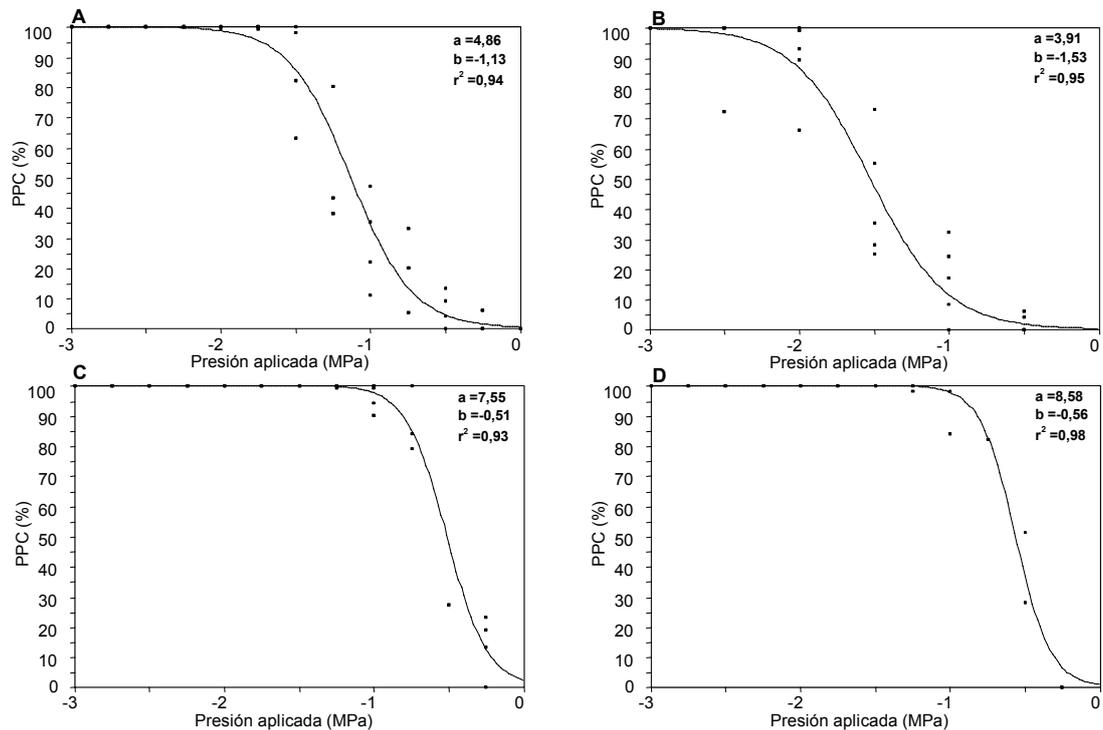


Figura 30. Curvas de vulnerabilidad a la cavitación (PPC = porcentaje de pérdida de la conductividad hidráulica en función de la presión aplicada) en plantas testigo (A, B) y estresadas (C, D) de las especies *N. nervosa* y *N. obliqua*, respectivamente. En cada gráfico se muestra el grado de ajuste de la serie de datos al modelo Pammenter & Vander Willigen, así como también los parámetros estimados del modelo (a y b).

Fluorescencia de la clorofila a

En relación a los valores de la variable F_v/F_m registrada a partir de las mediciones de fluorescencia de la clorofila a (Fig. 31), pudo observarse una reducción en la eficiencia de transferencia de excitación en tejido adaptado a la oscuridad (relación F_v/F_m) en plantas bajo la condición de estrés en comparación a plantas bajo la condición testigo. Dichas diferencias se evidenciaron durante los meses de noviembre y diciembre en la especie *N. nervosa* y recién hacia fines de diciembre en el caso de *N. obliqua* ($p < 0,05$; Fig. 31). A partir de esta fecha y por desperfectos técnicos no se pudo continuar con las mediciones de fluorescencia de la clorofila. La reducción de la eficiencia de transferencia de electrones fue comparativamente mayor en *N. nervosa* encontrándose dicho valor (en algunas fechas de registro) dentro de los citados como de “daño severo” en la bibliografía ($F_v/F_m = 0,49$; $\leq 0,49$). Por su parte *N. obliqua* presentó valores considerados como de buen estado de salud del aparato fotosintético ($F_v/F_m = 0,66$).

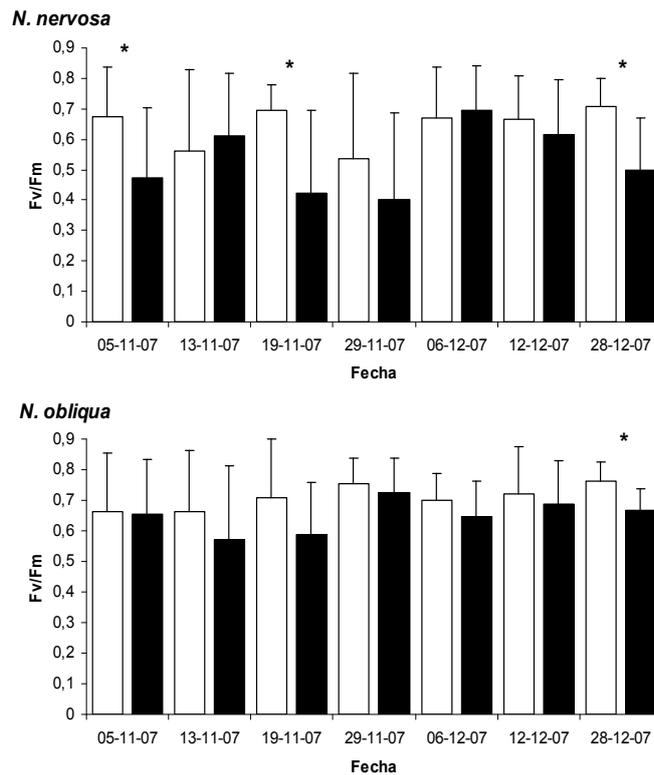


Figura 31. Relación Fv/Fm (eficiencia de transferencia de excitación en tejido adaptado a la oscuridad) y desvíos estándar de dicha variable en las distintas fechas de muestreo por especie por tratamiento. Las columnas blancas representan plantas bajo el tratamiento testigo y las columnas negras plantas bajo el tratamiento de estrés. Los asteriscos sobre las columnas muestran diferencias estadísticas entre tratamientos por fecha ($p = 0,05$). Las diferencias entre especies se comentan en el texto.

En base a la información presentada en los apartados anteriores, se estimó el grado de plasticidad fenotípica para ambas especies en función de aquellos parámetros o variables con valor adaptativo frente a la sequía. En el Cuadro 6 se puede observar que *N. obliqua* presentó un Índice de plasticidad fenotípica promedio levemente más alto que *N. nervosa*. Al analizarse por separado los dos tipos de parámetros (morfológicos y fisiológicos), se observó que *N. nervosa* fue levemente más plástico en los parámetros morfológicos, mientras que en los parámetros fisiológicos estuvo por debajo de *N. obliqua*.

Cuadro 6. Índices de plasticidad fenotípica por grupo de variables (morfológicas, fisiológicas) y valores promedio por especies. Sp.= especie, Aérea/Subt. = proporción de biomasa aérea respecto a biomasa subterránea; AFE = área foliar específica; Hüber = proporción de Hüber, %H= porcentaje de hojas; %T = porcentaje de tallo; %R = porcentaje de raíz; Prom. = promedios. Ra= Raulí (*N. nervosa*); Ro = Roble (*N. obliqua*).

Variables morfológicas		Sp.	Aérea/Subt.	AFE	Hüber	%H/Total	%T/Total	%R/Total	Prom.		
		Ra	0,3011	0,338	0,406	0,1085	0,0655	0,120	0,22		
		Ro	0,2018	0,280	0,150	0,2739	0,2018	0,068	0,20		
Variables fisiológicas		Sp.	Ψ_{π}	CRA _{ppt}	Ψ_{ppt}	ϵ_{max}	PPC _{50%}	ks _{max}	EUA	Fv/Fm	Prom.
		Ra	0,22	0,080	0,058	0,230	0,549	0,168	0,109	0,296	0,21
		Ro	0,49	0,022	0,036	0,225	0,634	0,578	0,002	0,267	0,28
Piv Ra										0,22	
Piv Ro										0,24	

2.10.3. Experimento con orígenes preseleccionados II

Contenido volumétrico de agua en maceta

Los valores promedio de humedad en maceta (contenido volumétrico) durante todo el período de estudio fueron de $34,0 \pm 3,5$ % vol/vol y $31,9 \pm 5,3$ % vol/vol para plantines bajo la condición testigo y de $9,9 \pm 8,1$ % vol/vol y $13,1 \pm 8,4$ % vol/vol para plantines estresados de *N. nervosa* y *N. obliqua*, respectivamente. Los valores promedio registrados en los plantines bajo la condición testigo se mantuvieron siempre por encima del punto de marchitez permanente (PMP = 22,0 % vol/vol) y cercanos al valor de capacidad de campo (CC = 36,8 % vol/vol), mientras que los plantines bajo la condición de estrés alcanzaron y se mantuvieron por debajo del PMP. Se pudieron observar diferencias en los niveles de humedad en maceta entre tratamientos luego de una semana de comenzados los registros y hasta el final del experimento ($p < 0,05$). La temperatura media durante el período de estudio varió entre 12 y 27° C y la humedad relativa media varió entre 22 y 54%. Durante el período de estudio el déficit de presión de vapor varió entre 1,8 y 5,3 kPa en las mediciones de media mañana y entre 1,6 y 6,0 kPa en las mediciones de la tarde.

Dentro de cada especie, todos los plantines mostraron una relación similar entre el potencial hídrico (prealba y medio día) y el contenido volumétrico de agua en maceta (CV), independientemente de la procedencia. Particularmente comparando los valores de potencial hídrico de prealba a diferentes valores de CV (Fig. 32), *N. nervosa* mostró diferencias entre el estatus hídrico de plantines bajo una condición de humedad de 0-10% en comparación con 10-20 ó > 20, los que fueron iguales entre sí (test de Kruskal-Wallis, $p = 0,0001$), con valores medios de -0,68; -0,32 y -0,32 MPa, respectivamente. *Nothofagus obliqua* mostró un patrón diferente, presentando diferencias entre los rangos 0-10 y > 20 y valores similares entre 0-10 y 10-20 ó 10-20 y > 20 % vol/vol (test de Kruskal-Wallis, $p = 0,0015$; Figura 32 A). Para esta especie, los valores de potencial hídrico de prealba registrados en los diferentes rangos de humedad fueron de: -0,45; -0,86 y -1,29 MPa para los rangos > 20, 10-20 y 10-0 % vol/vol respectivamente.

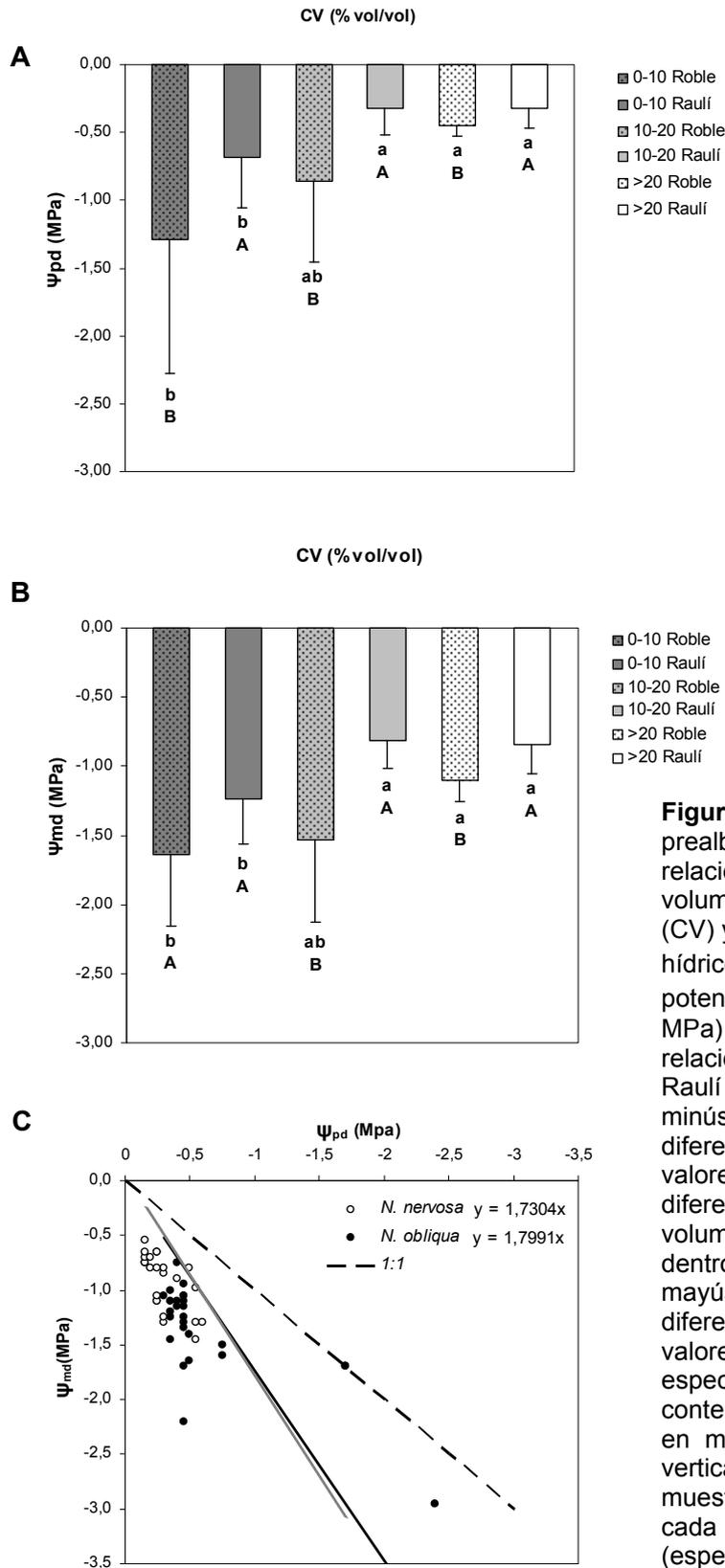


Figura 32. Potencial hídrico de prealba (A) y mediodía (B) en relación al rango de contenido volumétrico de agua en maceta (CV) y (C) relación entre el potencial hídrico de prealba (Ψ_{pd} , MPa) y el potencial hídrico de mediodía (Ψ_{md} , MPa) para ambas especies y relación 1:1. Roble = *N. obliqua*; Raulí = *N. nervosa*. Letras minúsculas diferentes indican diferencias estadísticas en los valores de potencial hídrico entre diferentes rangos de contenido volumétrico de humedad en maceta dentro de cada especie. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias estadísticas entre valores de potencial hídrico entre especies para un mismo rango de contenido volumétrico de humedad en maceta ($p = 0,05$). Las líneas verticales sobre las columnas muestran los desvíos estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

Comparativamente, considerando un mismo rango de CV, *N. obliqua* mostró menores valores de potencial de prealba a cualquier valor que *N. nervosa* (test de Mann-Whitney; 0-10; $p = 0,0016$; 10-20; $p = 0,0263$; 10-0, $p =$

0,0334). Ambas especies, al igual que en temporadas anteriores, mostraron una reducción marcada del estatus hídrico a valores de CV cercanos e inferiores al 10% (Fig. 32 A y B). Adicionalmente, ambas especies redujeron su potencial hídrico mínimo en hoja (medido a mediodía) cuando el potencial hídrico de prealba se redujo, revelando valores umbrales diferenciales dependiendo del estatus hídrico de la planta (comportamiento anisohídrico, Fig. 32 C).

Los plantines de ambas especies, independientemente del origen considerado, mostraron reducciones significativas ($p < 0,05$) en las tasas netas de fijación de CO_2 (A_{neta}) luego de ser sometidas al tratamiento de estrés hídrico ($p < 0,05$). De todas formas, dentro de cada especie, todos los orígenes bajo un mismo tratamiento (testigo o estrés) mostraron similares valores de A_{neta} . Como en los experimentos anteriores, bajo la condición testigo, *N. obliqua* mostró mayores valores de A_{neta} que *N. nervosa* ($11,7 \pm 3,1$ vs. $9,2 \pm 4,2 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ respectivamente; $p = 0,0387$), y similares valores bajo la condición de estrés ($1,6 \pm 2,2 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para *N. obliqua* y $1,3 \pm 2,0 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para *N. nervosa*; Fig. 33). Pese a no existir diferencias entre los distintos orígenes para un mismo tipo de tratamiento (testigo o estresadas), considerando el porcentaje de reducción en las tasas de A_{neta} en plantines estresados respecto a plantines testigo, los orígenes Tromen para *N. nervosa* y Pilolil para *N. obliqua* mostraron tendencias a reducciones marcadas (95 y 94%, respectivamente) en comparación a los restantes orígenes (83%). El origen Yuco para *N. obliqua* mostró el menor porcentaje de reducción respecto del tratamiento testigo (71%).

Eficiencia instantánea en el uso del agua

Algunos de los orígenes considerados presentaron modificaciones en la eficiencia instantánea en el uso del agua (EUA) en respuesta al estrés hídrico (Fig. 34). El origen Tromen para *N. nervosa* y Pilolil para *N. obliqua* redujeron su EUA bajo condiciones de estrés en comparación a plantas testigo ($p < 0,05$). Considerando las plantas testigo, los orígenes Paimún y Queñi para la especie *N. nervosa* presentaron mayores valores de EUA que Curruhue y similares valores que Tromen (Fig. 34; $p < 0,05$). Bajo la condición de estrés todos los orígenes de esta especie mostraron valores similares de EUA ($p > 0,05$). Para los plantines de *N. obliqua* bajo la condición testigo, pudo observarse que el origen Yuco presentó mayores valores de EUA que los restantes orígenes. Nuevamente y al igual que para *N. nervosa*, no existieron diferencias en los valores de EUA de los diferentes orígenes bajo la condición de estrés ($p > 0,05$). Ambas especies presentaron similares valores de EUA independientemente del tratamiento considerado. En todos los casos, las diferencias en EUA se debieron principalmente a reducciones en A_{neta} (con porcentajes de reducción promedio de $86 \pm 8 \%$).

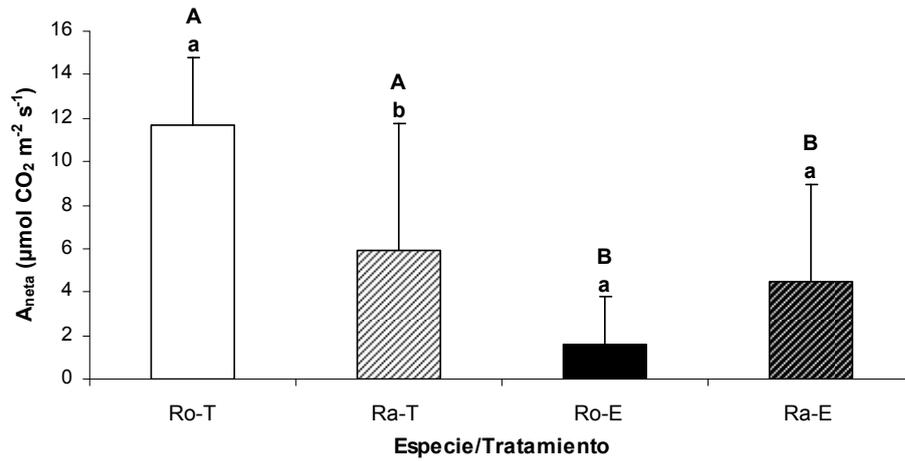


Figura 33. Tasa de fotosíntesis neta (A_{net}) por especie (Ra = *N. nervosa*; Ro = *N. obliqua*) y tratamiento (T = testigo; E = estresadas). Letras minúsculas diferentes indican diferencias estadísticas entre especies por tratamiento. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos por especie ($p = 0,05$). Las líneas verticales sobre las columnas muestran los desvíos estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

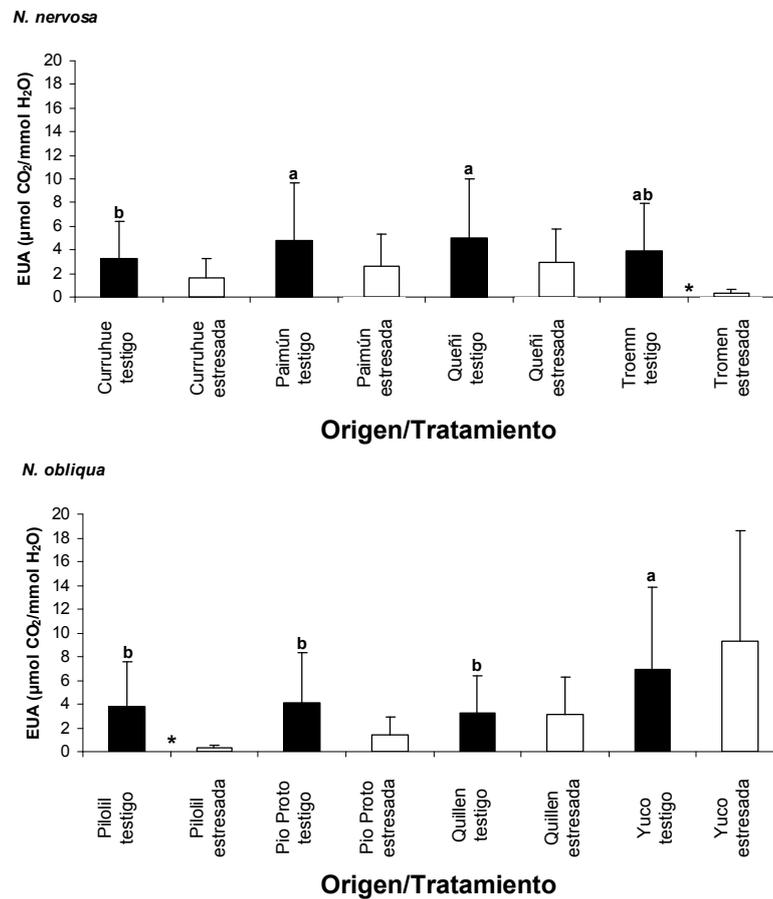


Figura 34. Eficiencia en el uso del agua instantánea (EUA) por origen, tratamiento y especie. Los asteriscos en el gráfico muestran diferencias estadísticas entre tratamientos por origen. Letras minúsculas diferentes indican diferencias estadísticas para un mismo tratamiento entre orígenes de una misma especie. Las líneas verticales sobre las columnas muestran los desvíos estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

Conductancia estomática

Independientemente de la especie considerada, todos los orígenes presentaron diferencias en las tasas de conductancia estomática (gs) entre plantas testigo y estresadas en alguna de las fechas durante el ciclo de estrés (Fig. 35, $p < 0,05$). Sorprendentemente, en algunas fechas, en algunos orígenes de *N. nervosa* los valores de gs de las plantas estresadas fueron mayores que los de las plantas testigo (e.g. Curruhue y Paimún; Fig. 35 A y B). Para los restantes orígenes de esta especie, en aquellas fechas en que existieron diferencias, los valores de gs de las plantas testigo fueron mayores que los de las plantas estresadas. Las gs máximas registradas a media mañana para el origen Curruhue de esta especie fueron mayores que para los restantes orígenes (Tromen, Paimún y Queñi; $p < 0,05$). Considerando los orígenes de la especie *N. obliqua*, el origen Pio Proto tuvo siempre menores valores de gs máxima que los orígenes Pilolil y Quillen. En cuanto a las mediciones realizadas por la tarde, *N. nervosa* mostró un patrón similar al de la mañana mientras que para *N. obliqua* las diferencias se restringieron sólo a Pio Proto y Pilolil. A nivel de especie, *N. obliqua* presentó mayores valores de gs que *N. nervosa* tanto en los plantines testigo como en los plantines estresados en las mediciones de media mañana y mayores valores en plantines testigo en las mediciones de la tarde. Ambas especies presentaron una alta sensibilidad estomática en respuesta al déficit de presión de vapor atmosférico (DPV, kPa), incluso bajo condiciones de buena disponibilidad hídrica (altos valores de CV, plantas testigo). Así las gs se redujeron desde valores máximos a DPV de 1 kPa hasta un 10-20% de dicho valor a DPV de 1,8 kPa. Cuando valores relativamente altos de DPV (cerca de 2 kPa) se combinaron con bajos CV, ambas especies cerraron sus estomas completamente.

No se registró mortalidad de plantines durante el período de estudio bajo la condición testigo (supervivencia del 100%). Bajo la condición de estrés, considerando los distintos orígenes de la especie *N. nervosa*, Tromen presentó la mayor tasa de supervivencia (80% de plantas vivas) seguido de Paimún (70%), Curruhue (60%) y Queñi (50%). Dentro de los orígenes de *N. obliqua*, Quillen presentó las mayores tasas de supervivencia (100%) seguido de Yuco y Pilolil (80%) y Pio Proto (50%).

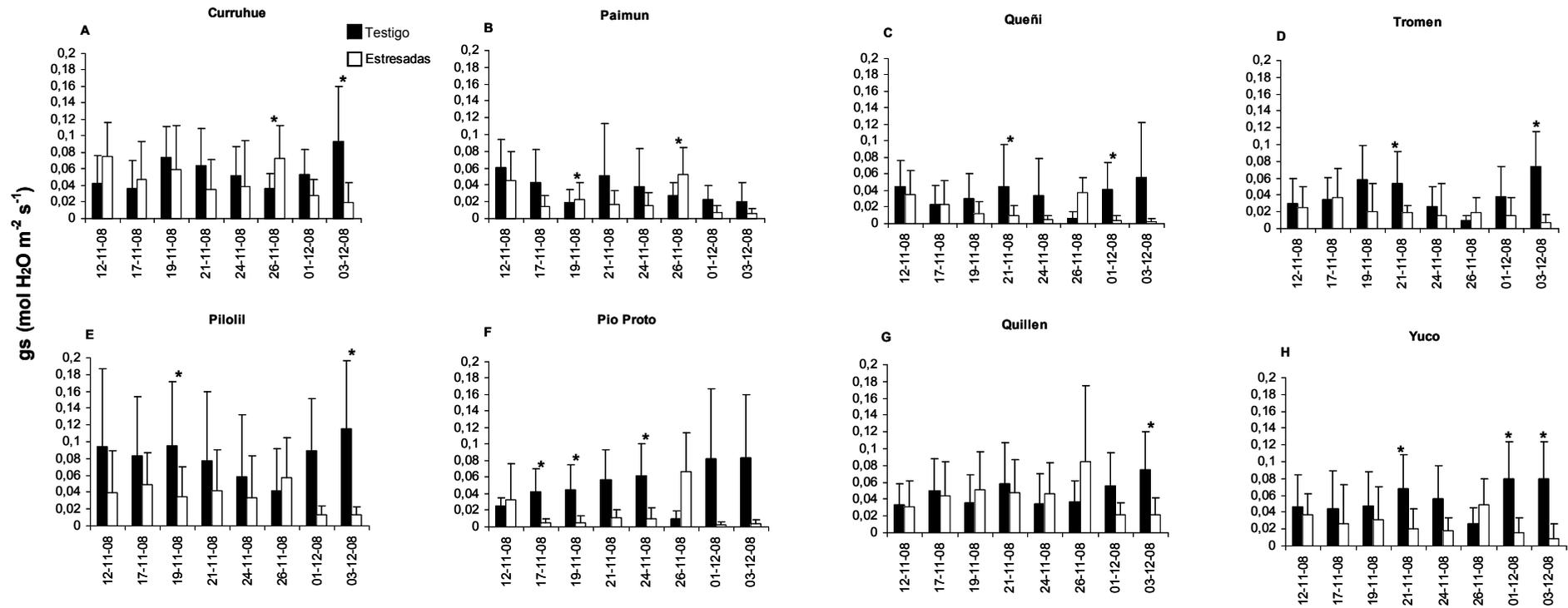


Figura 35. Tasa de conductancia estomática (gs) por origen y tratamiento a lo largo de todo el período de estudio. Referencias (A, B, C, D) = orígenes de la especie *N. nervosa*; (E, F, G, H) = orígenes de la especie *N. obliqua*. Los asteriscos en el gráfico muestran diferencias entre tratamientos por origen. Las líneas verticales sobre las columnas muestran los desvíos estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento). Las diferencias entre especies se comentan en el texto.

2.11. Discusión general respecto a los experimentos de estrés hídrico

A modo de resumen y en función de los distintos experimentos realizados pueden destacarse los siguientes tópicos:

En referencia al experimento preliminar de estrés hídrico pudo verse que los niveles de disponibilidad hídrica impuestos en el tratamiento "estrés" no causaron efectos marcados sobre la tasa de supervivencia de plántulas ni en las variables morfológicas-alométricas estudiadas en ninguna de las dos especies. Este comportamiento probablemente se relacione con las similares tasas de actividad fotosintética detectadas a lo largo de toda la temporada de registro entre plantas testigo y estresadas, demostrando que el intercambio gaseoso no se vio alterado bajo estos niveles de contenido hídrico en el suelo. Cabe destacar que bajo condiciones óptimas de agua en suelo, *N. obliqua* presentó una tendencia a mayores tasas de fotosíntesis (por unidad de área foliar) relacionados tanto con mayores valores de gs como con una mayor potencialidad a nivel bioquímico (curvas A-Ci). Estas diferencias, sin embargo no se vieron reflejadas en la tasa de crecimiento de las plantas testigo. Una posible explicación sería la menor área foliar total de *N. obliqua*. Esta puede deducirse de la similar biomasa foliar total de ambas especies y la mayor AFE de *N. nervosa* (Cuadro 4) indicando que la misma biomasa se distribuyó en una mayor superficie en el caso de la última especie. Este punto en particular es destacado también en trabajos como los de Davel et al., 2001. Esta mayor superficie foliar, bajo condiciones de sequía más pronunciada, podrían perjudicar a *N. nervosa*, incrementando sus tasas transpiratorias y generando un mayor daño por fotoinhibición del aparato fotosintético de dicha especie. A corto plazo, un mecanismo alternativo que esta especie podría poseer es el de una mayor senescencia y abscisión de hojas (Veblen, 1996). La senescencia foliar inducida por sequía, especialmente cuando se acompaña de abscisión, evita grandes pérdidas de agua a través de la transpiración, contribuyendo así al mantenimiento de balances hídricos favorables a nivel de planta completa (Munné-Bosch & Alegre, 2004) con la consecuencia asociada de una reducción en la superficie fotosintética. La abscisión prematura de hojas ha sido observada en especies deciduas de este género en respuesta a sequías de verano (Veblen et al., 1996).

Así, el crecimiento de estas especies parecería verse afectado más allá de un valor umbral de déficit hídrico en el suelo que serviría como disparador de respuestas de tolerancia a la sequía. Es sabido para otras especies que niveles de estrés hídrico moderado no afectan fuertemente las tasas de crecimiento neto (e.g. arce colorado (*Acer rubrum*) L., Klos et al., 2006). Así, dependiendo de la especie o genotipo considerado, la tasa de plasticidad y por ende la tasa de respuesta en parámetros morfológicos y fisiológicos pueden presentar diferentes umbrales ante los que una determinada variable ambiental dispare los mismos, pudiendo un determinado grado de estrés afectar diferencialmente a unos y otros mecanismos (Valladares et al., 2006).

Durante el experimento preliminar, ambas especies presentaron una disminución marcada en su potencial hídrico a valores de humedad en suelo menores a aproximadamente 10% vol/vol. Cabe destacarse que las caídas en el estatus hídrico de las plantas se correspondieron con las fechas finales de cada uno de los ciclos de estrés impuestos lo que explicaría parte de la baja afección que se observó en las restantes variables registradas. De la misma manera, estudios en plántulas de *Quercus petraea* y *Q. robur* detectaron caídas importantes en los valores de potencial hídrico de prealba y aumentos en el déficit hídrico foliar sin registrarse modificaciones sobre parámetros morfológicos

(biomasa de tallo, hojas y raíces) o fisiológicos (tasas de conductancia estomática, eficiencia en el uso del agua; Thomas & Gausling, 2000).

Esta información proporciona una herramienta para el manejo de estas especies en vivero ya que, tratamientos de riego que establezcan valores de agua en sustrato inferiores al valor de 10% vol/vol (equivalente de acuerdo a la textura utilizada a valores menores a -0,6 MPa), comenzarían a generar un efecto sobre el funcionamiento, al menos en plantines de esta edad en este tipo de contenedores y con este tipo de suelo. El efecto de contenedores de menor tamaño aún (que son utilizados frecuentemente para el desarrollo inicial de plantines, ej. tubetes) debería ser considerado en futuros trabajos debido a que imponen tasas de desecación del suelo muy rápidas, alternado posiblemente las respuestas de los plantines en comparación con los resultados del presente trabajo.

En estudios desarrollados por Aranda et al. (2004) en plantas de *Quercus pyrenaica* y *Q. petraea* creciendo en macetas y sometidas a sucesivos ciclos de estrés, la humedad volumétrica del suelo se redujo en promedio a 5%, llegando incluso a valores de 3,5% vol/vol. Los valores promedio de potencial hídrico de prealba en ambas especies disminuyeron a valores menores a -3 MPa bajo contenidos de agua del sustrato inferiores al 5%. Los valores de potencial de prealba registrados por estos autores luego de la imposición de tres ciclos de sequía consecutivos fueron de $-1,80 \pm 0,52$; $-1,52 \pm 0,49$ y $-1,83 \pm 0,36$ MPa, respectivamente. *Quercus petraea* y *Q. pyrenaica* mostraron un patrón similar de disminución del potencial hídrico de prealba de manera similar a lo ocurrido en el presente trabajo con *N. nervosa* y *N. obliqua*.

En el presente trabajo, las curvas de presión-volumen de los distintos tratamientos revelaron que, independientemente de la especie/tratamiento, no existió capacidad de generar ajuste osmótico en respuesta al tratamiento de sequía impuesto contrariamente a lo planteado para otras especies del género *Nothofagus* (Korner & Bannister, 1985; Read & Farquhar, 1991). Restaría analizar si este tipo de mecanismo (ajuste osmótico) aparece como respuesta ante un estrés hídrico más severo. En el trabajo de Aranda et al. (2004) las plantas sometidas a estrés presentaron modificaciones en los parámetros de las curvas presión-volumen. Una gran disminución en el potencial osmótico a plena turgencia y en el punto de plasmólisis junto con un aumento en el módulo de elasticidad máximo fueron registrados en ambas especies tras un segundo ciclo de estrés hídrico. Resultados similares fueron encontrados para *Q. robur* y *Q. petraea* bajo condiciones de estrés hídrico moderado (Thomas & Gausling, 2000), para las especies *Q. lobata* y *Q. agrifolia* (Mahall et al., 2009) y para la especie *Fagus sylvatica* (Backes & Leuschner, 2000). Adicionalmente, en estudios llevados a cabo en plantines de robles sésiles pudo observarse que el grado de ajuste osmótico fue menos pronunciado luego de una sequía intensa pero de imposición rápida en relación al grado desarrollado ante una sequía gradual (Collet & Guehl, 1997). En este sentido, y como se mencionó anteriormente, cabe destacarse que en el estudio desarrollado por Aranda et al. (2004) las respuestas de ajuste osmótico para ambas especies fueron registradas luego de la imposición de un segundo ciclo de estrés hídrico y no luego del primero, indicando la necesidad de sobrepasar un determinado umbral de sensibilidad para que se desencadene el ajuste osmótico. En el presente trabajo, pese a la falta de ajuste osmótico y elástico, a nivel de especie y bajo la condición testigo, *N. nervosa* presentó mayores valores de potencial osmótico a saturación (Ψ_{msat} ; $p = 0,0167$) en relación a *N. obliqua*. Esto le conferiría a esta última especie una ventaja frente a condiciones de estrés hídrico moderado, ya

que le permitiría mantener la turgencia celular a menores potenciales hídricos en comparación a *N. nervosa*.

Durante el segundo experimento de estrés hídrico, el tratamiento de estrés hídrico impuesto fue más severo, alcanzándose valores de contenido volumétrico de agua en maceta inferiores a los de la primera temporada. Si bien, nuevamente no se generó mortalidad alguna de los plantines, sí se registraron, a diferencia de la primera temporada, efectos sobre variables morfológicas-alométricas y fisiológicas, indicando probablemente un traspaso del umbral antes mencionado. Las plantas estresadas mostraron altos niveles de mortalidad apical en comparación con las plantas testigo. Estudios donde se evaluaron distintas plantaciones a campo con las especies en estudio (Davel et al., 2001), observaron que este es un fenómeno que se registra en las distintas situaciones evaluadas. Según estos autores, la mortalidad apical se evidenció con más intensidad en *N. obliqua* que en *N. nervosa* a diferencia de lo registrado en el presente trabajo. Los valores de porcentaje de mortalidad de brote apical en las parcelas de *N. obliqua* relevadas por Davel et al (2001) fueron las siguientes: macizo bajo cobertura arbórea 9,72%, plantación en fajas 9,82%; plantación en bosquetes 18,89% y plantación en macizo a cielo abierto 80,1%. Como se mencionó, en el presente trabajo, la mortalidad apical fue más marcada en *N. nervosa* que en *N. obliqua*, y se dio tanto en la condición testigo como bajo estrés hídrico (siendo mayor en el segundo caso). Si bien la mortalidad del ápice es un fenómeno normal de los *Nothofagus* decíduos (Barthélémy et al.1999, Puntieri et al., 2007), éste es seguido por el relevo desde yemas próximas al ápice, alterando en bajo grado la forma general del fuste. Sin embargo, en el experimento de estrés severo, el relevo se produjo desde yemas próximas a la base del tallo, afectando seriamente la forma del mismo. La inversión del patrón de mayor y menor ocurrencia de muerte apical en los robles y raulíes a campo (Davel et al, 2001) y el presente trabajo, podría deberse a algún factor extra que afecta diferencialmente al roble pellín bajo condiciones de campo. El dilucidar las causas y grados de ocurrencia de este fenómeno es importante ya que es reconocido que la buena forma y el fuste recto son caracteres determinantes de la calidad posterior de la madera. La mortalidad apical ocasiona en estas especies un retardo importante del crecimiento en altura y bifurcaciones apicales. En plantaciones de raulí teóricamente bien ejecutadas en las que se observó un 4% de las plantas con daños en yemas apicales, la tasa de crecimiento en altura se redujo un 37% luego de transcurridos dos años (Basso, 1997). Este fenómeno es mencionado por Danby (1991) al describir las plantaciones de *Nothofagus* en Gales. Este autor menciona que tanto el roble como el raulí, en vivero o en plantaciones jóvenes, pueden sufrir daños en ápices, lo que al repetirse varios años origina plantas de mala forma.

Ambas especies presentaron disminuciones en incrementos de altura y diámetro (tanto en términos absolutos como en términos de incrementos relativos); modificándose también el número total de hojas y su biomasa, la biomasa de tallo, raíces y total, sin darse modificaciones en la relación tallo:raíz. Independientemente de la respuesta a nivel intra-específico (plantas testigo vs. estresadas) al compararse plantas bajo un mismo tratamiento de las dos especies pudo verse que las diferencias fueron mínimas, respondiendo así de manera similar a dicho grado de estrés hídrico. Las diferencias en parámetros morfológicos entre plantas testigo y estresadas estarían debidas principalmente a las diferencias en las tasas de A_{neta} registradas a lo largo de toda la temporada así como también de sus variables asociadas (gs, E y EUA) al igual que lo encontrado para otras especies de árboles y para otras especies del genero *Nothofagus* (Martinez Pastur et al., 2007; Peri et al., 2009). Nuevamente, al igual

que en la primera temporada, bajo la condición de buena disponibilidad hídrica *N. obliqua* presentó mayores tasas de actividad fotosintética (por unidad de área foliar) a RFA saturante que *N. nervosa*. No se evidenciaron diferencias a lo largo de la temporada en las tasas fotosintéticas de hojas preformadas y neoformadas (pese a existir en hojas neoformadas de plantas estresadas de *N. obliqua* una leve tendencia a incrementarse en el tiempo), indicando probablemente que los niveles de pigmentos accesorios y mecanismos de disipación de exceso de energía fueron suficientes para evitar daños sobre la maquinaria fotosintética en todos los casos (punto que puede verificarse en función de la relación Fv/Fm surgida de las mediciones de fluorescencia de la clorofila a). Esto no dejaría de lado que las hojas neoformadas puedan responder de manera diferencial a otros tipos de estrés o a mayores intensidades de este mismo factor (Guédon et al., 2006; Puntieri et al., 2007), dado que estos dos tipos de hojas se diferencian y/o extienden en diferentes momentos de la estación de crecimiento bajo condiciones medioambientales también distintas. Dentro del contexto de la tolerancia a la sequía, la tasa de recuperación puede ser de suma importancia para la aclimatación de la planta y su supervivencia en un determinado hábitat (Gallé & Feller, 2007).

En referencia a la conductividad hidráulica de la madera cabe destacarse que, comparando especies, *N. obliqua* presentó una conductividad hidráulica específica máxima (k_{smax}) con valores superiores al doble de la observada en *N. nervosa*. Esto está indicando diferencias intrínsecas en propiedades hidráulicas de la madera entre especies. Diversos autores encontraron una relación positiva entre la conductividad hidráulica de la madera y la capacidad de asimilación de carbono (Bucci et al., 2004; Santiago et al., 2004; Brodribb et al., 2005). En este sentido, la mayor k_{smax} del roble se correlacionaría probablemente con las mayores tasas de fotosíntesis y gs observadas en esta especie debido a una mayor capacidad de aprovisionamiento de agua desde la raíz hasta las hojas, al menos a través del xilema del tallo. Asimismo, y contrariamente al compromiso postulado entre conductividad hidráulica-vulnerabilidad a la cavitación, las plantas de *N. obliqua* no fueron más vulnerables a la cavitación que las de *N. nervosa*, siendo incluso levemente menos vulnerables (menor potencial al 50% de cavitación). Más allá de las diferencias mencionadas entre especies, ambas presentaron parámetros de la curva de vulnerabilidad a la cavitación similares a las descritas para especies poco resistentes a la cavitación tanto de zonas con clima mediterráneo como de bosques templados (Maherali et al., 2004). Sin embargo, las mayores k_s de *N. obliqua* retrasarían el desarrollo de altas tensiones (potenciales más negativos) en el xilema, disminuyendo la probabilidad de llegar a potenciales que provocan importantes pérdidas de conductividad hidráulica. En este sentido, combinando la información de $k_{smáx}$ y curvas de vulnerabilidad a la cavitación, *N. obliqua* mostraría ventajas con respecto a *N. nervosa* si consideramos condiciones de crecimiento con alta disponibilidad hídrica y altos niveles de demanda evaporativa en la atmósfera, condición que podría darse en el límite este de su distribución actual.

Contrariamente a lo esperado, se verificó un aumento en la vulnerabilidad a la cavitación en individuos de ambas especies que fueron mantenidos bajo condiciones de estrés severo. A la vez, no se observaron diferencias en la vulnerabilidad a la cavitación ni en la k_{smax} entre especies, perdiéndose la ventaja comparativa del roble en la disminución del desarrollo de altas tensiones. Si bien no se tiene aún información de aspectos anatómicos, esta modificación en las curvas y sus parámetros, estaría indicando probablemente una falta de crecimiento de leño tardío por parte de los plantines estresados hacia fines de la temporada, funcionando sólo con aquel leño producido a comienzos de la misma

(leño temprano). Este, al presentar un mayor diámetro de lumen y un menor grosor de pared en los vasos del sistema de conducción (aspecto ligado con el tamaño y resistencia a embolia de las punteduras), le representaría a ambas especies una menor resistencia a eventos causantes de embolia (Wang et al., 2003). Si bien esta hipótesis es plausible, la disminución o el mantenimiento de la $k_{sm\acute{a}x}$ en el raulí y el roble estresados, respectivamente, con respecto a los valores de las plantas testigo sugiere que las diferencias también estarían ligadas a variables más allá de cambios en el tamaño medio de los vasos, ya que si sólo se hubiese producido leño temprano con vasos grandes (pero vulnerables) las $k_{sm\acute{a}x}$ deberían haber aumentado.

Los resultados del tercer experimento (orígenes preseleccionados II) muestran que en ambas especies existiría una similar tasa de respuesta en las distintas variables estudiadas en respuesta al estrés hídrico, entre los diferentes orígenes geográficos considerados. Sin embargo, las diferencias observadas en supervivencia entre orígenes, si bien deben ser tomadas con suma cautela debido al bajo número de repeticiones que dificulta un análisis estadísticamente estricto, sugiere la necesidad de profundizar el conocimiento realizando nuevas mediciones. En este sentido, bajo el contexto actual de cambio climático, donde se prevé un aumento de eventos extremos de precipitación, menores precipitaciones y mayor sequía, el poder seleccionar genotipos/orígenes más aptos es de suma importancia y deberá ahondarse sobre este punto en futuras investigaciones. Pese a ello nuevamente los resultados de esta última temporada indicarían una mayor potencialidad bajo condiciones de estrés moderado en la especie *N. obliqua*. Los menores valores de potencial de prealba de *N. obliqua* en comparación a *N. nervosa* bajo los diferentes rangos de humedad en maceta considerados, los mayores valores de A_{neta} bajo la condición de buena disponibilidad hídrica, los mayores valores de g_s tanto en los plantines testigo como en los plantines estresados en las mediciones de media mañana y los mayores valores en plantines testigo en las mediciones de la tarde apoyarían esta hipótesis.

Ambas especies presentaron un comportamiento anisohídrico en función de la reducción en los valores de contenido hídrico de los suelos. Ahora bien, este mecanismo no respondería al anisohidrismo típico *sensu* Tardie & Simonneau (1998). En estas especies, este mecanismo estaría probablemente asociado con una falta de respuesta a nivel estomático en función del déficit hídrico, ligada probablemente a la falta de estrés hídrico severo que estas especies poseen dentro de los rangos de distribución geográfica actual y pasada durante la estación de crecimiento, aprovechando así al máximo el recurso hídrico durante la mencionada estación. En relación a este punto en particular, Davel et al. (2001) destacan que los suelos bajo los cuales ambas especies se desarrollan actualmente pertenecen al régimen de humedad denominado como údico, es decir con nulo o escaso déficit hídrico (Ferrer et al., 1990) en parte debido al origen volcánico de los suelos donde habitan (suelos muy profundos, con mucha capacidad de almacenamiento de agua). Estudios desarrollados por Sun et al. (1995), en *N. solandri* y *N. menziesii* mostraron que las tasas de actividad fotosintética estuvieron más correlacionadas con conductancias no estomáticas o residuales a la difusión de CO_2 más que con la g_s . Adicionalmente, el anisohidrismo como patrón de comportamiento ligado a especies tolerantes a la sequía, se ve asociado con bajas vulnerabilidades a la cavitación. Esta conjunción de factores hace que la caída del potencial por el poco cierre estomático no redunde en una pérdida total de la capacidad de conducción de agua de la planta (e.g. McDowell et al, 2008). En las especies estudiadas, el anisohidrismo fue acompañado con una alta vulnerabilidad a la

cavitación, sugiriendo que más que un mecanismo de tolerancia a la sequía, es una consecuencia de no haber evolucionado en ambientes con déficit hídrico severo en el suelo, resultando en una incapacidad de regulación estomática cuando la señal ambiental proviene desde el suelo. Por el contrario, ambas especies presentaron una alta sensibilidad estomática en respuesta al DPV incluso bajo condiciones de buena disponibilidad hídrica, punto que indicaría que este último factor (demanda atmosférica) y no el déficit hídrico en el suelo es el disparador del cierre estomático. Un comportamiento similar ha sido observado en plantines de *Fagus sylvatica* (Lendzion & Leuchner, 2008) y la especie subtropical *Pinus taeda* (Bulfe com. pers.). El déficit de presión de vapor es un factor ampliamente ignorado que influencia el crecimiento y la viabilidad y posiblemente la distribución de las especies, por lo que esquemas de manejo forestal a futuro bajo climas alterados deberían tomar en cuenta dicho factor (Leudzion & Leuchner, 2008). Como se mencionó anteriormente la posibilidad de mantener la estrategia de anisohidrismo a largo plazo es acotada en el tiempo, convirtiéndose posteriormente y ante un mayor grado de estrés en un mecanismo de tipo isohídrico (Schultz, 2003; Maseda & Fernandez, 2006).

Dada la acotada distribución geográfica que ambas especies poseen en el N.O. de la Patagonia Argentina, la que se caracteriza por tener elevados niveles de precipitación media anual, no se esperaba *a priori* que una población en particular mostrase estar adaptada al estrés hídrico severo de manera particular, patrón al que frecuentemente no están expuestas. A modo de ejemplo y en referencia a este último punto, la adaptabilidad de las diferentes especies de roble europeo (*Quercus* spp.) al estrés hídrico varía ampliamente dado, en parte, al amplio gradiente de distribución geográfica y climática que ocupan (Abrams, 1990; Dickson & Tomlinson, 1996). Este mismo punto fue observado por Sun et al., (1995) para especies neozelandesas del genero *Nothofagus*. Ante el contexto de escenarios climáticos globales con riesgos de incremento en los eventos climáticos extremos (Gallé & Feller, 2007; IPCC 2008) la capacidad de recuperación y supervivencia a eventos de sequía necesita una mayor atención.

En resumen, los resultados de los experimentos de estrés hídrico sugieren que:

-Niveles leves de déficit hídrico en suelo (ver Fig. 11 en donde se detallan los valores de CV que se corresponden con niveles de déficit) no afectan la capacidad de intercambio gaseoso y el crecimiento de ninguna de las dos especies. Valores de conductividad hidráulica máxima y vulnerabilidad a la cavitación sugieren que ante condiciones de poco déficit hídrico en suelo pero alta demanda evaporativa, N. obliqua poseería una ventaja comparativa frente a N. nervosa.

-Niveles moderados a severos de déficit hídrico poseen un importante impacto sobre la capacidad de fijación de C de ambas especies, y consecuentemente en su crecimiento. No se detectaron respuestas plásticas en relaciones alométricas de las plantas, sugiriendo un bajo grado de aclimatación por parte de ambas especies. Los valores de vulnerabilidad a la cavitación de ambas especies se corresponden con aquellos reportados para especies muy vulnerables, aumentando aún más esta vulnerabilidad en individuos previamente sometidos a estrés hídrico. Nuevamente se vislumbra una nula aclimatación de las especies al estrés hídrico.

-La variabilidad intraespecífica de respuestas ante el estrés fue baja en ambas especies, mostrándose en general comportamientos similares entre los distintos orígenes. Sin embargo, la supervivencia diferencial observada entre orígenes, sugiere la necesidad de estudios futuros en este sentido, aumentando el número

de individuos y buscando las causas en variables no analizadas en este trabajo (por ejemplo, tolerancia a fotoinhibición).



CAPITULO III

Respuestas ecofisiológicas y morfológicas de *Nothofagus nervosa* y *N. obliqua* ante distintas condiciones lumínicas.

3.1. Radiación y estrés lumínico

La radiación solar es la principal fuente de energía para la fotosíntesis, siendo esencial para todas las plantas y en última instancia para la vida de los animales. A la vez, esta fuente de energía puede pasar de ser un factor limitante a bajas intensidades a un factor de estrés cuando es excesiva (Gómez-Aparicio et al.; 2006). Existen cuatro procesos principales en los cuales la radiación juega un importante rol para la vida vegetal:

1) fotosíntesis: parte de la radiación absorbida por las plantas es usada para la síntesis de compuestos carbonados ricos en energía química. Este proceso es característico de las plantas y provee la principal entrada de energía libre en la biosfera.

2) flujos térmicos: son el mayor modo de intercambio de energía entre las plantas y el ambiente aéreo. La radiación solar provee la principal entrada de energía a las plantas. Mucha de esa energía se convierte en calor, conduciendo a otros intercambios y procesos como por ejemplo la transpiración, determinando la temperatura de la hoja y así las tasas de procesos metabólicos y el balance entre ellos.

3) fotomorfogénesis: la calidad de luz juega un rol importante en la regulación del crecimiento y desarrollo vegetal, principalmente mediada por la distribución espectral de radiación de onda corta (ver Fig. 36).

4) mutagénesis: mucha de la radiación de alta energía (radiación de onda corta), incluyendo los rayos ultravioletas, radiación X y γ pueden generar daño en las células vivas, afectando particularmente la estructura del material genético y causando mutaciones.

Como se mencionó, la radiación puede ser perjudicial para los vegetales cuando alcanza niveles excesivos, dañando el aparato fotosintético hasta puntos extremos de causar la fotooxidación de las clorofilas (Jones, 1992). Existe así un compromiso entre optimizar la interceptación de la radiación para la fotosíntesis y reducir el daño potencial que ésta puede causar. Evolutivamente las plantas han desarrollado un amplio número de estrategias para combinar la absorción de luz con la capacidad para utilizar ésta en el proceso fotosintético.

La luz es probablemente la más heterogénea espacial y temporalmente de todas las variables ambientales que afectan a las plantas (Osmond, 1994; Pearcy et al., 1996). Por ejemplo, existen diferencias espaciales debidas a la latitud, elevación, niveles de contaminación del aire, sombreado, así como debidas a cambios temporales tanto a nivel diario como a nivel estacional. Esta gran variabilidad permite la segregación de nichos y la coexistencia de especies vegetales en distintos momentos o en distintos micrositios (Nicotra et al., 1999; Beckage et al., 2000, Beckage & Clark 2003). La heterogeneidad espacial de radiación crea variación en la disponibilidad de este recurso, afectando los niveles de fotosíntesis y la tasa de crecimiento (Percy, 1999).

Aproximadamente sólo un 5% de la radiación solar que llega a la Tierra es del tipo fotosintéticamente activa (RFA) comprendida en el espectro visible (380-680 nm; Fig. 36.). Alrededor de un 85 a 90% de la RAF es absorbida por la hoja, siendo la restante reflejada por su superficie o transmitida a través de la misma (Taiz & Zeiger, 1998). La radiación solar también contiene longitudes de onda del rango ultravioleta (UV), las que son absorbidas por las plantas y pueden resultar nocivas, especialmente a nivel molecular (Jansen et al., 1998).

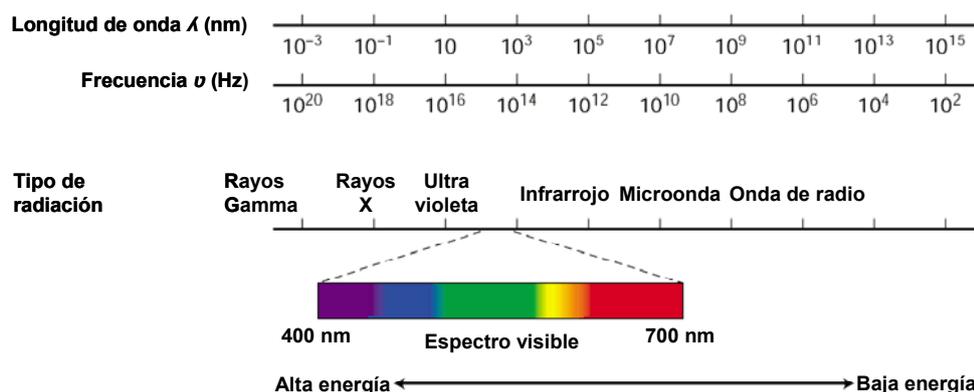


Figura 36. Espectro de longitudes de onda de la radiación solar detallando el espectro electromagnético, rayos gamma, rayos x, UV, luz visible, Infrarrojo y ondas de radio (extraído y modificado de Taiz & Zeiger, 1998).

3.2. Exceso de radiación

El exceso de radiación está determinado por la energía que sobrepasa los requerimientos fotoquímicos de la planta y que debe ser disipada en forma segura para evitar el daño (Osmond, 1994; Adir et al., 2003). Por lo tanto, la cantidad absoluta del exceso de radiación dependerá de la capacidad fotosintética de la planta. En términos generales podría decirse que las plantas adaptadas a crecer en ambientes con altos niveles de radiación poseen una alta capacidad fotosintética y los umbrales de exceso de energía son mayores a los de las adaptadas a crecer en ambientes de baja radiación, correspondiéndose con capacidades fotosintéticas menores (Wright et al., 2003). Por lo tanto, en términos generales, es normal que una planta tenga que soportar excesos de energía. Por ejemplo, la mayoría de las plantas C_3 se saturan aproximadamente con un 25% de los valores de radiación solar total (exposición total) sugiriendo que aún ante condiciones normales, las plantas experimentan períodos con excesos de radiación (Larcher, 2003).

Las plantas poseen en general, mecanismos para afrontar fluctuaciones diurnas de los niveles de radiación, pudiéndose aclimatar a cambios estacionales en el tiempo. Pese a ello, los incrementos repentinos en los niveles de radiación presentan grandes desafíos para las plantas (e.g. la transición de bajos a altos niveles de radiación que ocurren cuando se crea un claro frente a la caída de un árbol en el bosque o en función de niveles de luz variables o "sunflecks"; Pearcy et al., 1996). También se ha observado que las plantas experimentan exceso de luz en los momentos en que un estrés medioambiental o biótico reduce su capacidad fotosintética (por ejemplo, momentos de estrés hídrico), y por consiguiente, se reduce el umbral de radiación a partir del cual la energía recibida pasa a constituir un exceso de radiación (Osmond, 1994; Mullieaux & Karpinski, 2002).

Siempre que la cantidad de radiación absorbida por las plantas sobrepase los niveles requeridos para la fotosíntesis, es necesario que existan estrategias de protección en la planta para reducir el fotodaño potencial. Estas estrategias pueden dividirse en a) aquellas que operan reduciendo la absorción lumínica de la hoja (*mecanismos de protección externa*) y b) aquellas que actúan dentro de la hoja previniendo el daño dentro del cloroplasto (*mecanismos de protección interna*) (Larcher et al., 2003).

Los **mecanismos de protección externa** son la primera línea de defensa contra el exceso de luz, reduciendo la absorción de fotones hasta equipararse con los valores requeridos para una actividad fotosintética adecuada. Este tipo de mecanismos es empleado en plantas creciendo bajo una condición continua de alta irradiancia; poseen hojas con un área foliar reducida (hojas pequeñas y estrechas) y pueden disminuir la interceptación de radiación mediante la orientación vertical de las hojas. Otra estrategia posible es la de incrementar la reflectancia mediante la producción de ceras o pelos. Estos mecanismos reducen la absorción de luz de todo el espectro lumínico, protegiendo así los tejidos del exceso de la energía por radiación visible junto a los UV, rayos X, etc. La reducción del área foliar y el incremento en la reflectancia también reducen el sobrecalentamiento y la pérdida de agua de las plantas siendo rasgos comunes en plantas xerófitas. Pese a que estos mecanismos son muy efectivos en reducir la interceptación de luz, usualmente son determinados durante el desarrollo de la hoja y no son reversibles. Esta permanencia significa que son sólo adecuados en plantas bajo ambientes constantes de alta irradiancia. En plantas expuestas a niveles de luz fluctuantes es necesaria una respuesta más rápida y reversible de protección. También pueden observarse otros mecanismos, tales como la posibilidad de mover sus hojas para evitar períodos intensos de radiación (Taiz & Zeiger, 1998).

Los **mecanismos de protección interna** están en estrecha relación al proceso de fotosíntesis. En dicho proceso el oxígeno es generado como producto de la fotólisis del agua, esto ocurre cuando el complejo hidrolítico asociado a la cara luminal del fotosistema dos (producto de la absorción de luz), adquiere un potencial redox capaz de oxidar a la molécula de agua. El metabolismo de las plantas debe estar altamente regulado de manera de permitir una integración efectiva de un espectro diverso de pasos biosintéticos. Esta regulación no evade completamente la activación del oxígeno molecular y la formación de especies reactivas de oxígeno, particularmente el superóxido, el peróxido (H_2O_2) y el oxígeno molecular (Foyer & Noctor, 2005) causantes de daño oxidativo en las plantas.

La liberación de oxígeno es proporcional a la velocidad de transporte de electrones, la cual está asociada a la fijación de CO_2 mediante la reducción del NADP a NADPH y la síntesis de ATP. La fotosíntesis involucra procesos fotofísicos y fotoquímicos, que dependen de la intensidad lumínica, concentración de CO_2 , y de la temperatura. Una planta mantenida a temperatura óptima y CO_2 atmosférico (380 ppm) en oscuridad presentará una tasa negativa de balance de oxígeno equivalente al consumo de oxígeno en el proceso respiratorio. Si paulatinamente se ilumina una superficie foliar determinada con intensidad lumínica creciente, la A_{neta} aumentará linealmente con la intensidad lumínica hasta alcanzar una meseta (Fig. 37) (Taiz & Zeiger, 1998). El punto en que A_{neta} es igual a 0 (cero), es decir, la intensidad lumínica a la cual la respiración y la fotosíntesis bruta se igualan se denomina punto de compensación lumínico (PCL). Por otro lado, la intensidad lumínica a la que se alcanza la meseta (valor máximo) en la tasa de fotosíntesis neta (A_{max}) se conoce como punto de saturación lumínica (PSL). La pendiente de la región lineal indica el rendimiento cuántico de la fotosíntesis (RC). La declinación en el incremento de la tasa de A_{neta} y su mantenimiento en valores constantes con el aumento de la intensidad lumínica por sobre el PSL se atribuye a que la velocidad de carboxilación a nivel enzimático (Rubisco) se torna limitante. Tanto el PSL como el PCL dependen fundamentalmente del grado de sensibilidad de cada planta a la luz, como se mencionó anteriormente. Es así como las plantas

adaptadas a la sombra presentan PSL y PCL más bajos que aquellas adaptadas a pleno sol.

Una vez que la energía provista por la radiación solar penetra en la hoja puede ser absorbida por los pigmentos fotosintéticos en las membranas tilacoidales del cloroplasto, alterando su estado de excitación. Las plantas superiores contienen dos tipos de pigmentos fotosintéticos: clorofilas a y b y un rango de pigmentos carotenoides (xantofilas, carotenos, etc.). Estos últimos, en caso de mantenerse un buen estado del fotosistema dos (PSII), transfieren la energía absorbida a las moléculas de clorofila. Una vez que la energía lumínica alcanza el centro de reacción de la clorofila es utilizada por uno de tres procesos competitivos: 1) procesos fotoquímicos asimilatorios y no asimilatorios, 2) disipación como calor y 3) fluorescencia de la clorofila a.

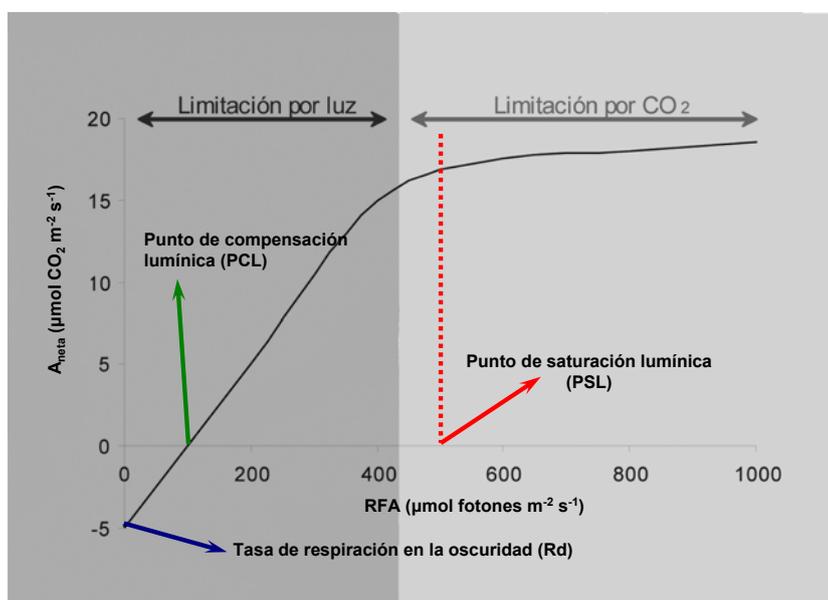


Figura 37. Tasa de asimilación fotosintética de CO_2 neta (A_{neta}) vs. RFA absorbida por la hoja, detallando en la curva de respuesta la limitación por luz, limitación por concentración de CO_2 , punto de compensación lumínica (PCL), punto de saturación lumínica (PSL) y tasa de respiración en oscuridad (Rd). Esquema confeccionado en función de Taiz & Zeiger, 1998.

Como se mencionó anteriormente, el aumento de energía utilizado en procesos fotoquímicos asimilatorios y no asimilatorios varía dependiendo de la disponibilidad de luz y dióxido de carbono. Las reacciones de foto-respiración permiten que el transporte de electrones proceda y los fotones sean utilizados bajo condiciones donde el CO_2 limite la asimilación fotoquímica. Ha sido sugerido que estas reacciones fotoquímicas no asimilatorias pueden canalizar una gran porción del exceso de energía lumínica absorbido por las plantas (Osmond & Grace, 1995; Grace & Logan, 1996).

Toda la energía lumínica por sobre el punto de saturación lumínica (PSL) se considera en exceso, lo que resulta en la regulación negativa y disipación de este exceso por parte de la planta. Esto generalmente conduce a un descenso en el rendimiento cuántico (*fotoinhibición dinámica*) o en casos extremos puede llegar a dañar al aparato fotosintético causando *fotoinhibición crónica* (Adir et al., 2003). Este fenómeno se manifiesta a través de una baja tasa de fijación de CO_2 .

y un bajo rendimiento cuántico de la fotosíntesis. La fotoinhibición crónica involucra la formación de centros de reacción no funcionales en los PSII, que se acumulan en la membrana y promueven la disipación de calor.

Las especies que están genéticamente adaptadas a la sombra tienen una capacidad restringida para aclimatarse a altas irradiancias. Las plantas no aclimatadas a altos niveles de radiación tienden a ser dañadas por los altos niveles de irradiancia cuando la energía absorbida por los fotosistemas excede la energía que puede ser usada en procesos fotoquímicos (fotodaño). Contrariamente, las especies evolutivamente adaptadas a altos niveles de luz poseen un mecanismo que evita el fotodaño. Existen especies que generan los mecanismos fotoprotectores en un corto plazo (ej. *Quercus suber*, Faria et al., 1996), aclimatando sus hojas en función del nuevo ambiente lumínico mientras que en otras especies se da la muerte y abscisión de las hojas (Addicott, 1968), generándose nuevas hojas aclimatadas al nuevo medio (Guédon et al., 2006; Puntieri et al., 2007).

La energía es disipada en el sistema de captación lumínica del PSII, involucrando el ciclo de las xantofilas. La fuerte acidificación del lumen induce una conversión enzimática de los carotenoides violaxantina a zeaxantina. El exceso de energía es transferido desde la clorofila a las zeaxantinas que pierden dicho exceso como calor. Esta disipación de energía puede ser medida por la fluorescencia de la clorofila a. La presencia del ciclo de las xantofilas dentro de la membrana tilacoidal y su sensibilidad provee una rápida y efectiva respuesta a las condiciones de exceso de luz. El mecanismo exacto por el cual la zeaxantina disipa la energía es aún discutido pero existe un amplio consenso de que esta molécula está involucrada en la mitigación de exceso de energía dentro de la membrana tilacoidal, tanto directa como indirectamente (Owens, 1994; Horton, 1996).

Es sabido que en ambientes con bajos niveles de déficit hídrico, los niveles de radiación son el principal factor determinante de la composición de especies en las distintas etapas sucesionales de los sistemas boscosos (Good & Good, 1972; Pacala & Tilman, 1994; Gómez-Aparicio et al., 2006; Rodríguez-Calcerrada et al., 2008). Debido al porte de las especies arbustivas y arbóreas, que en algunos casos forman estratos de diversas alturas dentro de los bosques, la heterogeneidad en la disponibilidad de radiación es muy amplia, tanto a nivel vertical como horizontal (Percy, 1999; Valladares, 2003). Por ello, durante la ontogenia de una especie arbórea que regenera en el sotobosque debe variar su tolerancia a niveles de radiación bajos y altos. A su vez, existen diferencias intrínsecas en la tolerancia a la sombra y excesos de radiación de las distintas especies, determinando en gran medida su comportamiento como pioneras o especies que aparecen en las etapas tardías de la sucesión (King, 2003). Son escasos los estudios donde se evalúe el crecimiento en relación a la radiación para el género *Nothofagus* y los que existen están referidos principalmente al desarrollo bajo condiciones naturales en el bosque. Rosenfeld (1972) analizó el desarrollo natural de *N. nervosa* y *N. dombeyi* durante los primeros treinta años de vida en terrenos parcial y totalmente explotados (penumbra y plena luz). Sus resultados indicaron que *N. nervosa* soporta mejor la condición de sombra que *N. dombeyi*. Espinosa (1972) amplió este estudio a mayor cantidad de sitios e incluyó a *N. obliqua*. De acuerdo a sus resultados, *N. dombeyi* posee mayores requerimientos de luz que *N. nervosa*, mientras que *N. obliqua* presentaría un nivel de exigencia mínimo. Aguilera & Fehlandt (1981) evaluaron el crecimiento, por dos períodos vegetativos, de *N. dombeyi* y *N. obliqua* en condiciones experimentales, cubriendo las plántulas con distintos materiales, logrando tres niveles de sombra. *Nothofagus nervosa* y *N. obliqua*

presentaron desarrollos similares entre sí, presentando un mayor desarrollo bajo 40 % de luminosidad. En los trabajos mencionados, se estimó el crecimiento en términos de biomasa, altura o peso seco en relación a la luz incidente. Entre los trabajos que tienen en cuenta procesos fisiológicos como método para evaluar la respuesta de la regeneración a las condiciones lumínicas, se encuentra el de Read & Hill (1985) quienes colocaron plántulas de diversas especies del género *Nothofagus* durante los 5 meses anteriores a las mediciones de fotosíntesis, bajo condiciones semi controladas de intensidad lumínica, humedad y nutrientes. En dicho trabajo se analizaron las respuestas de plántulas crecidas al sol (recibiendo el 80 % de la radiación fotosintéticamente activa) y crecidas a la sombra (recibiendo sólo luz difusa). Como resultado se observó que *Nothofagus nervosa* resultó la especie más tolerante a la sombra. En lo que se refiere a *N. dombeyi* y *N. obliqua*, no se observaron diferencias significativas en cuanto a su patrón de fotosíntesis. Por otro lado, Kitzberger (1994), obtuvo valores de punto de compensación y saturación lumínica para *N. dombeyi* muy semejantes a los obtenidos por Read y Hill (1985).

En resumen, para el caso de las especies del género *Nothofagus* analizadas en el presente trabajo, el conocimiento existente sobre la respuesta a la radiación destaca el rol fundamental de protección que generan los estratos arbustivos y arbóreos en el establecimiento a campo de las mismas (e.g. Davel et al., 2001; Peyrou, 2002). Lo mismo ocurre con otras especies arbóreas conspicuas de la región Patagónica, aunque de sitios más xéricos, como *Austrocedrus chilensis* (ciprés de la cordillera, Gobbi & Schlichter, 1998; Kitzberger et al., 2000; Gyenge et al., 2007), que requiere de la protección de plantas nodrizas para evitar los excesos de radiación durante su establecimiento. Pese a lo expuesto para las primeras etapas de instalación, tanto *N. nervosa* como *N. obliqua* han sido caracterizadas como especies poco tolerantes a la sombra, siendo necesarias posteriormente a la etapa de instalación, liberaciones de copa que permitan la llegada de radiación para un normal desarrollo (Davel et al., 2003).

3. 3. Objetivos particulares del presente capítulo

Las actividades del presente capítulo tuvieron como objetivo:

- 1) Aportar al conocimiento del rango lumínico en el cual se da la sobrevivencia y el óptimo crecimiento de *N. obliqua* y *N. nervosa* en la fase de plantín, conociendo algunos de los mecanismos involucrados en la respuesta a distintas intensidades lumínicas de *N. obliqua* y *N. nervosa*, considerándose: variables morfológico-alométricas y fisiológicas.
- 2) Verificar a nivel específico la existencia de plasticidad fenotípica en relación con las respuestas fisiológicas y morfológicas a distintos tipos e intensidades de estrés lumínico.
- 3) Determinar la existencia de diferencias en los patrones de respuesta fisiológica y morfológica a nivel inter-específico bajo distintas condiciones de radiación.

3. 4. Materiales y métodos

En función de los objetivos antes planteados se trabajó durante la temporada noviembre de 2007 a abril del 2008 en un experimento en el cual se sometió a plantines de cuatro años de edad de las especies *N. nervosa* y *N. obliqua* a crecer bajo tres niveles de radiación lumínica (intensidad lumínica). Para la selección de los plantines se utilizó el mismo criterio que el detallado en

el Cáp. 2, considerándose los mismos orígenes geográficos que en el experimento de estrés hídrico con orígenes preseleccionados I (ver Cáp. 2 para detalle de los mismos), estandarizándose las condiciones de altura inicial y diámetro de los plantines.

En el predio de la EEA INTA Bariloche, se establecieron aleatoriamente 9 parcelas de 8 x 2,5 m, distribuyéndose dentro de éstas, al azar, 10 plantas en un esquema de dos hileras (5 plantas de cada una de las especies; ver Fig. 38). Cada planta se ubicó a 50 cm de la planta más cercana de forma de evitar un efecto de sombreo entre plantas. Los diferentes tratamientos lumínicos se establecieron en función de la utilización de tela mediasombra de diferente trama (correspondientes a las vendidas comercialmente como 50 y 80% de cobertura). Las intensidades de luz a las cuales se sometió a los plantines se definieron en base a estudios previos (e.g. Peyrou, 2002; Davel et al., 2003). Se establecieron tres condiciones lumínicas: 1) pleno sol (PS, sin cobertura de media-sombra, equivalente en promedio a 1011 ± 742 $\mu\text{moles de fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condición de luz saturante en estas especies, 2) 50% de cobertura (50%, equivalente a 566 ± 366 $\mu\text{moles de fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) y 3) 80% de cobertura (80%, equivalente a 313 ± 227 $\mu\text{moles de fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Aleatoriamente se asignó a cada una de las parcelas un tratamiento, cubriéndose así las asignadas a los tratamientos de 50% y 80% de cobertura con un techo de tela mediasombra montada sobre estructuras de tubo de polipropileno (Fig 38). De esta forma quedaron definidas 3 parcelas de cada uno de los 3 tratamientos (PS, 50% y 80%). Las parcelas fueron ubicadas desfasadas en el espacio de forma tal de que no existiera un sombreo entre ellas (Fig. 38), disminuyéndose particularmente la influencia de las parcelas con mediasombra sobre las de la condiciones de sol pleno y lográndose la mayor estandarización posible de las condiciones microclimáticas de cada parcela.

El tipo de contenedor (maceta) y sustrato fueron estandarizados previamente al montado de las plantas en las parcelas, trabajándose con macetas de un volumen de 3 litros y el mismo tipo de suelo utilizado en el experimento de estrés hídrico con orígenes preseleccionados I (ver Cáp. 2 para detalle del mismo). A lo largo de todo el experimento, la humedad del suelo de las macetas se mantuvo cercana al punto de capacidad de campo (CC) mediante riego automatizado a través de goteros individuales. El efecto de los distintos tratamientos lumínicos se evaluó a lo largo de toda la estación de crecimiento (2007-2008), monitoreándose las siguientes variables:

a) Variables micro ambientales

Periódicamente, con una frecuencia semanal y sobre todos los plantines se registró el contenido volumétrico de agua (CV, % vol/vol) en maceta mediante TDR (Time Domain Reflectometry, sensor tipo tridente T3 de la firma Imko GMBH, Alemania) monitoreándose y asegurándose un buen suministro hídrico a las macetas durante todo el período de duración del experimento.

A lo largo de la temporada de muestreo en tres fechas puntuales se registró la temperatura ($^{\circ}\text{C}$) y la humedad relativa atmosférica en tres puntos bajo cada una de las 9 parcelas de forma tal de poder comparar las condiciones microclimáticas bajo cada tratamiento.

La radiación fotosintéticamente activa (RFA, $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) se registro mediante el sensor de RFA externo del equipamiento Li-6400 (Licor, Lincoln, Nebraska, EE. UU).

b) Variables morfológico alométricas

Al inicio, fechas intermedias y fin del período de estudio se midió la altura total y diámetro a la base del tallo de cada plantín. Al igual que en los experimentos referidos a las respuestas a estrés hídrico, las mediciones de altura y diámetro se utilizaron para calcular los incrementos relativos de cada variable como:

$$\frac{(\text{variable al inicio de la temporada} - \text{variable al final de la temporada})}{\text{variable al inicio de la temporada}}$$

considerándose también los incrementos absolutos de las distintas variables morfológicas. Las mediciones de altura total (mediciones lineales) se realizaron con cinta métrica. Las mediciones de diámetro se realizaron con un calibre digital marca Mitutoyo, realizando marcas en sitios específicos del tallo a fin de registrar el incremento en el mismo punto.

Semanalmente se cosecharon hojas a las que se les realizaron mediciones de área foliar específica, escaneándose dichas hojas y registrándose el área mediante la utilización del programa HOJA 1.0 (Verga, 2000). Posteriormente las hojas se secaron en estufa a 70 °C durante 48 horas pesándose mediante la utilización de una balanza digital con precisión de 1 mg (Scintech SA 510, Scientech Inc., Boulder, EE. UU.).

Al final de la temporada de muestreo sobre todos los plantines del experimento de estrés lumínico se evaluó la biomasa de raíces, tallo+hojas y total y la cantidad de hojas por planta. Dichos registros fueron utilizados adicionalmente para establecer relaciones alométricas entre éstas y otras variables (e.g. biomasa aérea/radical, área foliar/diámetro del tallo, área foliar/peso de raíces, etc.).

Durante el mes de Abril de 2008, sobre los plantines de las distintas especies/ orígenes/ tratamientos, se registró la tasa de supervivencia de plantines y la tasa de mortalidad apical (porcentaje de plantas con ápice muerto) por tratamiento.

c) Variables ecofisiológicas

Intercambio gaseoso de CO₂ y H₂O

La tasa de fotosíntesis neta (A_{neta} ; $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ = fotosíntesis bruta-fotorespiración-respiración) fue registrada mediante el uso de un medidor de intercambio de gases basado en un analizador infrarrojo (IRGA, Li-cor 6400; Li-cor, Lincoln, Nebraska, EEUU). Al igual que para las mediciones realizadas en los experimentos referentes a la respuesta a estrés hídrico, en el presente experimento se midió la respuesta de la tasa neta de fijación de CO₂ ante condiciones de luz saturante mediante el procedimiento de auto registro (A_{neta} a RFA saturante), utilizándose el mismo procedimiento descrito en el Cáp. 2 y curvas de respuesta de A_{neta} ante distintas condiciones lumínicas (A_{neta} vs. RFA).

Las mediciones de A_{neta} a RFA saturante se realizaron con una frecuencia semanal en 5 a 7 individuos por especie y tratamiento. Las mediciones de A_{neta} vs. RFA se realizaron dos veces a lo largo de la temporada de muestreo en fechas contrastantes (principios y mediados de la temporada de crecimiento). Dicha medición fue realizada con el fin de registrar la variación existente entre distintos estadios fenológicos de hojas preformadas (nov.-dic. de

2007) y hojas neoformadas (dic. de 2007- abril de 2008). En todos los casos para las mediciones de A_{neta} a RFA saturante realizadas, el nivel de RFA utilizado fue de $1000 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Para las mediciones de curvas de A_{neta} vs. RFA realizadas en el presente experimento se utilizó la misma concentración de CO_2 que en los experimentos de respuesta a estrés hídrico (400 ppm), una tasa de flujo de 300 mL min^{-1} , una temperatura de hoja de 18°C , y un tiempo mínimo de espera de 3 minutos por nivel de RFA. Los valores de RFA utilizados fueron: 0, 50, 100, 500, 750, 1000 y $1200 \mu\text{moles de fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Los registros de cada especie y tratamiento se ajustaron al modelo de hipérbola rectangular de Lansberg (1977) descrito en el capítulo dos.

Adicionalmente se registraron periódicamente las tasas de conductancia estomática mediante la utilización del equipo Li-Cor 6400 (Li-cor, Nebraska, EEUU). Todas las mediciones de intercambio gaseoso realizadas se efectuaron sobre hojas apicales y/o hojas subapicales completamente expandidas del tercio superior de cada una de las plantas evaluadas.

Los resultados obtenidos de todas las mediciones de intercambio gaseoso permitieron también estudiar la relación entre las tasas de fotosíntesis neta (A_{neta}) y la conductancia estomática (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), las tasas de transpiración (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la eficiencia en el uso del agua a nivel instantáneo (EUA) calculada como el cociente entre la tasa de A_{neta} y E ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{s}^{-1} / \text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) a nivel intra- e interespecifico.

Fluorescencia de la clorofila

Se midió la fluorescencia no modulada de la clorofila expresándose el resultado en forma del cociente entre la fluorescencia variable y la fluorescencia máxima (F_v/F_m) en forma periódica (semanal) en plantas creciendo bajo los distintos tratamientos durante los meses de noviembre y diciembre de 2007. Las mediciones se discontinuaron posteriormente por desperfectos técnicos del equipo de medición de fluorescencia. Las mediciones fueron realizadas mediante el uso del equipamiento Li-6400 y fluorómetro Li-6400-40. Siete plantas por especie y tratamiento fueron previamente sometidas a un ambiente sin radiación solar (oscuridad total) por un periodo de 30 minutos, registrándose posteriormente y ante la aplicación de un pulso de radiación de baja intensidad la tasa mínima de fluorescencia (F_0) cuando el centro de reacción del fotosistema dos (PSII) estuviera abierto. Luego de la aplicación de un pulso de luz saturante de alta intensidad (flash) para inducir el cierre temporario del PSII, se registro la tasa máxima de fluorescencia (F_m). Se estimó así el rendimiento cuántico máximo de la reacción inicial en el PSII (F_v/F_m), relación indicadora del estado de salud del PSII.

Plasticidad fenotípica

La plasticidad fenotípica (ver definición en el capítulo dos, sección 2.6) se calculo mediante el índice P/v basado en las medias máximas y mínimas de los diferentes tratamientos considerados (Valladares et al, 2006). Las variables utilizadas para su cálculo fueron: cantidad de hojas, relación tallo+hojas:raiz, área foliar específica (AFE), punto de compensación lumínica (PCL), rendimiento cuántico (RC), fotosíntesis máxima (A_{max}), eficiencia instantánea en el uso del agua (EUA) y respiración en la oscuridad (R_d) (Valladares, com. pers.). Dicho cálculo se realizo tanto para hojas preformadas como para hojas neoformadas en ambas especies.

3.5. Análisis estadísticos

Los valores de CV en maceta por fecha, los valores de altura total (valor absoluto), incremento relativo en altura (IRA), diámetro (valor absoluto), incremento relativo en diámetro (IRD), área foliar específica (AFE), biomasa de cada una de las partes seleccionadas, cantidad de hojas, relación tallo+hojas:raíz, valores de A_{neta} a RFA saturante y valores de la relación Fv/Fm (fluorescencia de la clorofila a) fueron comparados por fecha entre distintos tratamientos por especie y para un mismo tratamiento entre especies mediante análisis de variancia (ANOVA) de una vía. En todos los casos los supuestos de normalidad y homocedasticidad fueron puestos a prueba antes de aplicar ANOVA. Se utilizó un nivel de significancia del 0,05 ($p < 0,05$). En aquellos casos donde no se cumplieron los supuestos estadísticos se utilizaron tests no paramétricos de Mann-Whitney y Kruskal-Wallis. Los modelos empíricos de regresión de la relación entre A_{neta} vs. RFA se compararon mediante el test F de Fisher (Neter & Wasserman, 1974; ver descripción en el capítulo dos). Los parámetros estimados de cada uno de los modelos (a nivel de tratamientos por especie y para un mismo tratamiento entre especies) se compararon mediante el test t de Student (Sokal & Rohlf, 1995; ver descripción en capítulo dos).



B

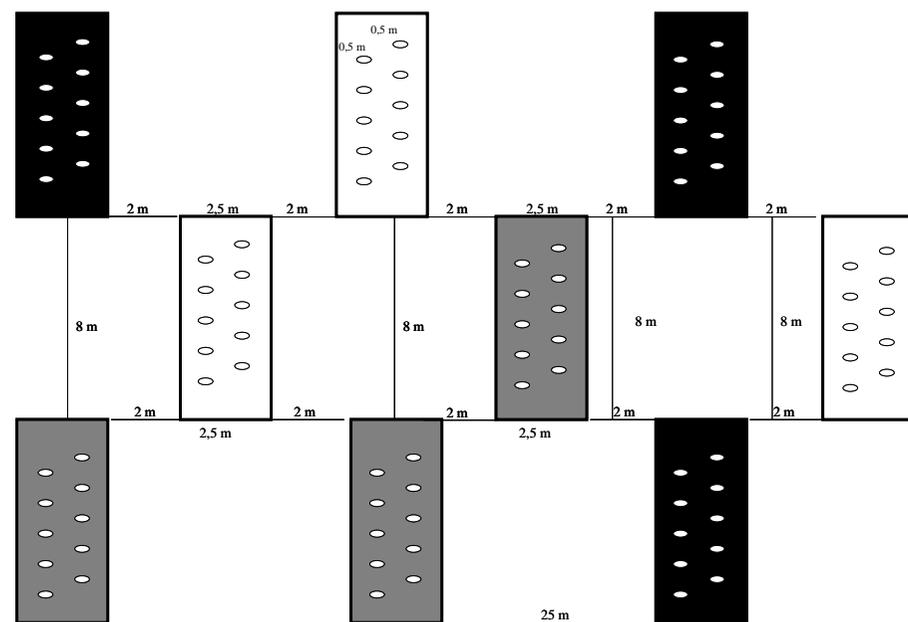


Figura 38. Fotografía (A) y Esquema (B) de las parcelas del experimento de estrés lumínico. Los colores negro, gris y blanco en la Fig. B representan las parcelas de 80% de sombra (80%), 50% de sombra (50%) y pleno sol (PS) respectivamente. Los puntos dentro de cada parcela representan las 10 plantas de cada parcela (5 plantas x 2 especies).

3.6. Resultados

Contenido volumétrico de agua en maceta, temperatura media y humedad relativa del aire

Los contenidos volumétricos de agua en maceta registrados bajo los tres tratamientos de intensidad lumínica en ambas especies fueron similares en todas las fechas de registro ($p > 0,05$), evidenciando un buen control de las condiciones de riego (Fig. 39). En función de los valores obtenidos de la curva de retención hídrica del suelo utilizado, pudo verse que dichos valores estuvieron siempre muy por encima del punto de marchitez permanente (PMP = 26,4 % vol/vol). Durante el período de estudio la temperatura media registrada fue de $15,7 \pm 8,6$ °C sin evidenciarse diferencias bajo los diferentes tratamientos impuestos (carpas de mediasombra, pleno sol) al igual que la humedad relativa promedio, que presentó un valor medio de $59,8 \pm 23,2$ %.

Variables morfológico-alométricas

Al inicio de la temporada de registro 2007-2008 los plantines designados a cada uno de los diferentes tratamientos lumínicos por especie no presentaron diferencias en la altura total ($p = 0,5925$ para *N. nervosa* y $p = 0,6018$ para *N. obliqua*), existiendo sí diferencias en esta variable entre especies (*N. nervosa* = 21 cm < *N. obliqua* = 43 cm; $p = 0,0001$). Este hecho hizo que la comparación a nivel de especie realizada para esta variable se limitase solo a los incrementos relativos (IRA). Así también en función de este punto y al no contar con un registro de los valores iniciales de las distintas porciones de biomasa, el análisis de estas últimas se limitó a los distintos tratamientos por especie no así entre especies.

En referencia a los valores de diámetro inicial pudo verse que no existieron diferencias entre los valores de esta variable en los plantines designados a los diferentes tratamientos por especie ($p = 0,1276$ para *N. nervosa* y $p = 0,8806$ para *N. nervosa*) ni entre especies ($p = 0,2240$).

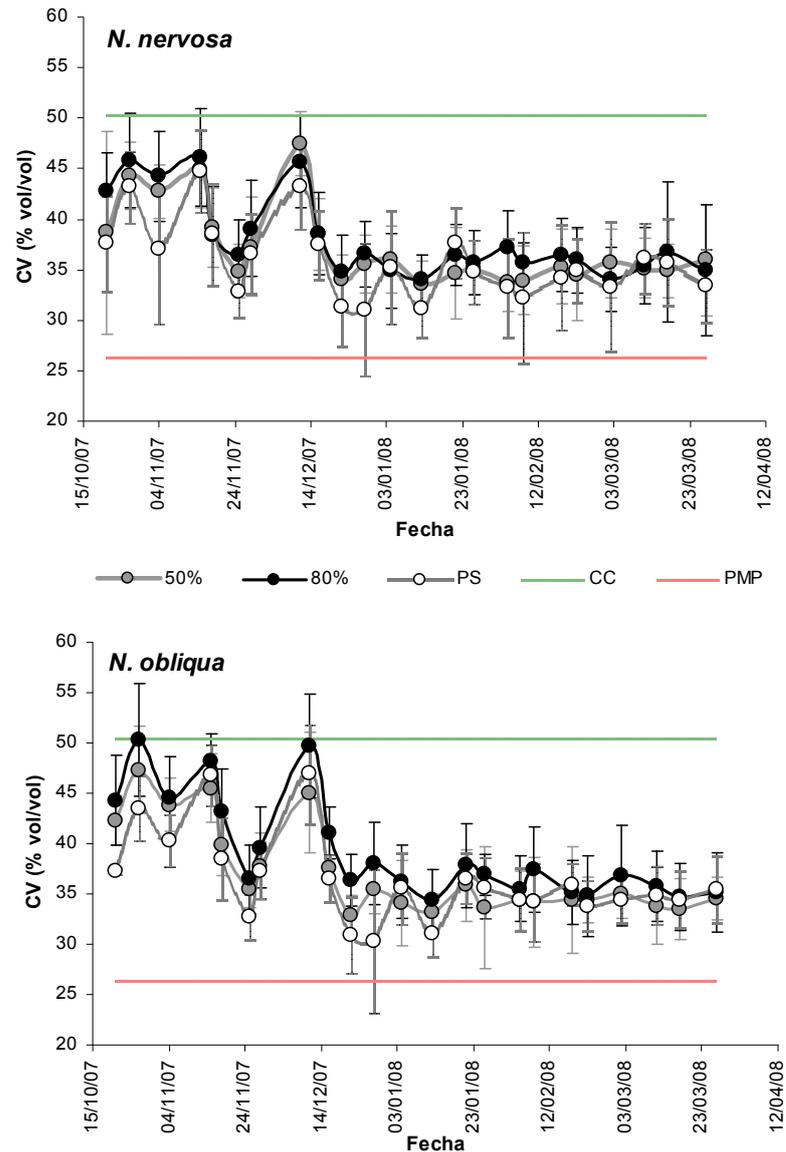


Figura 39. Contenido volumétrico de humedad en maceta (CV; % vol/vol) por especie y tratamiento para las diferentes fechas de registro en el experimento de estrés lumínico. Referencias: CC = capacidad de campo del suelo (línea verde); PMP = punto de marchitez permanente del suelo (línea roja). Las líneas verticales sobre los puntos muestran el desvío estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento). Los valores de una y otra especie así como los tratamientos para una misma especie no presentaron diferencias estadísticas significativas ($p > 0,05$).

Al considerarse los registros de fines de la temporada de crecimiento pudo verse que no existieron diferencias entre los valores absolutos y los incrementos relativos en altura (Fig. 40) y diámetro (Fig. 41) entre tratamientos por especie ($p > 0,05$). En términos absolutos, los incrementos promedio en altura fueron de 2,0; 2,7 y 1,5 cm para los tratamientos 50%, 80% y PS en *N. nervosa* y de 3,6; 1,8 y 2,5 cm para los tratamientos 50%, 80% y PS de *N. obliqua*. En referencia a los incrementos en diámetro, los valores promedio fueron de 1,7; 1,3 y 1,3 mm para los tratamientos 50%, 80% y PS en *N. nervosa* y de 2,2; 1,6 y 2,3 mm para los tratamientos 50%, 80% y PS de *N. obliqua*. Comparativamente, *N. nervosa* presentó un mayor incremento relativo en altura en comparación a *N. obliqua* bajo el tratamiento de 80% de cobertura ($p =$

0,0419). En términos absolutos si bien los valores iniciales de altura de una y otra especie fueron diferentes, el incremento fue similar (2,1 cm para *N. nervosa* y 2,6 cm para *N. obliqua*). En relación al diámetro del tallo, esta última especie presentó en comparación a *N. nervosa* un mayor incremento relativo ($p = 0,0152$) bajo el tratamiento PS (Figs. 40 y 41).

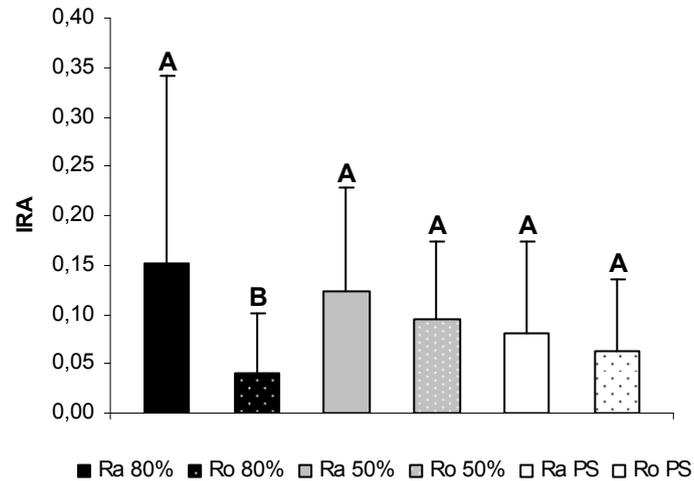


Figura 40. Incremento relativo en altura (IRA) por especie y tratamiento al final de la temporada de crecimiento 2007-2008. Ra = *N. nervosa*; Ro = *N. obliqua*; 50% = tratamiento de 50% de cobertura; 80% = tratamiento de 80% de cobertura; PS= tratamiento de pleno sol. Las letras mayúsculas en el gráfico muestran diferencias estadísticas significativas entre especies bajo un mismo tratamiento lumínico. Las líneas verticales sobre las columnas muestran el desvío estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

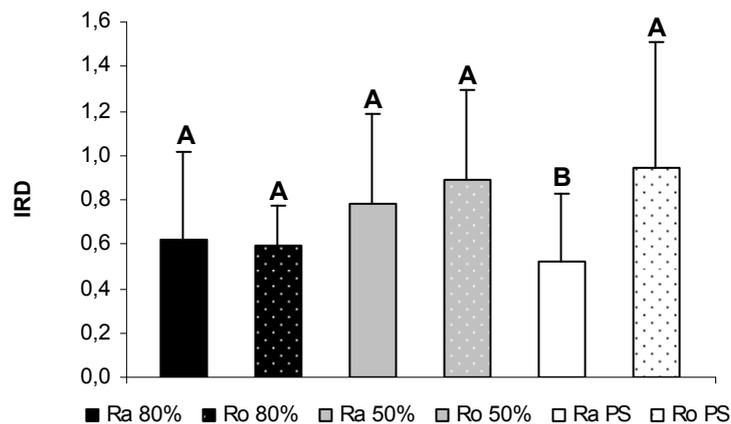


Figura 41. Incremento relativo en diámetro (IRD) por especie y tratamiento al final de la temporada de crecimiento 2007-2008. Ra = *N. nervosa*; Ro = *N. obliqua*; 50% = tratamiento de 50% de cobertura; 80% = tratamiento de 80% de cobertura; PS= tratamiento de sol pleno. Las letras mayúsculas en el gráfico muestran diferencias estadísticas significativas entre especies bajo un mismo tratamiento lumínico. Las líneas verticales sobre las columnas muestran el desvío estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

En cuanto a la cantidad de hojas promedio por planta (Fig. 42), *N. nervosa* presentó una mayor cantidad bajo el tratamiento PS diferenciándose de las plantas bajo 50 y 80% de cobertura ($p = 0,0467$). *Nothofagus obliqua* presentó una mayor cantidad de hojas por planta bajo el tratamiento 50%, diferenciándose de las plantas bajo el tratamiento PS y 80% de cobertura.

No se registró mortalidad de plantines bajo ninguno de los tratamientos lumínicos, independientemente de la especie considerada. La mortalidad de ápices siguió el orden: PS>80%>50% en ambas especies (Fig. 43).

En relación a los incrementos de biomasa, *N. nervosa* presentó similares valores de biomasa aérea (tallo+hojas) y biomasa total entre tratamientos al final de la temporada y mayores valores de biomasa de raíces bajo el tratamiento de 80% en comparación al tratamiento de PS (Figs. 44; 45; 46). Adicionalmente fue bajo este último tratamiento donde se registró una mayor asignación a tallo en comparación a los restantes tratamientos ($p = 0,0001$; Fig. 47). Los plantines de *N. obliqua* mostraron similares incrementos en biomasa aérea, raíces, total y relación biomasa aérea: raíz para los diferentes tratamientos lumínicos (Figs. 44; 45; 46 y 47).

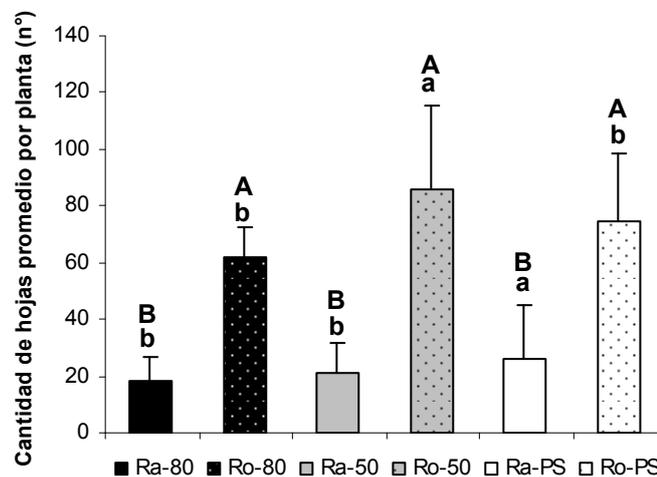


Figura 42. Cantidad de hojas promedio por planta por especie y tratamiento al final de la temporada de crecimiento 2007-2008. Ra = *N. nervosa*; Ro = *N. obliqua*; 50% = tratamiento de 50% de cobertura; 80% = tratamiento de 80% de cobertura; PS= tratamiento de sol pleno. Las letras minúsculas en el gráfico muestran diferencias estadísticas significativas entre los distintos tratamientos lumínicos por especie. Las letras mayúsculas en el gráfico muestran diferencias estadísticas significativas entre especies bajo un mismo tratamiento lumínico. Las líneas verticales sobre las columnas muestran el desvío estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

La relación parte aérea (tallo+hojas): subterránea (raíz) mostró diferencias entre especies en función del tratamiento considerado, siendo similares bajo la condición de 80% de cobertura y mayor para *N. nervosa* bajo la condición de 50% de cobertura y PS respecto de *N. obliqua* (Fig. 47).

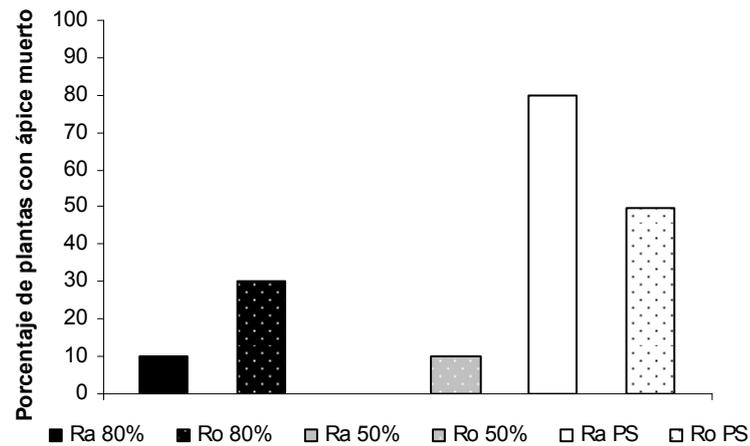


Figura 43. Porcentaje de plantas con ápice muerto por especie y tratamiento al final de la temporada de crecimiento 2007-2008. Ra = *N. nervosa*; Ro = *N. obliqua*; 50% = tratamiento de 50% de cobertura; 80% = tratamiento de 80% de cobertura; PS= tratamiento de sol pleno.

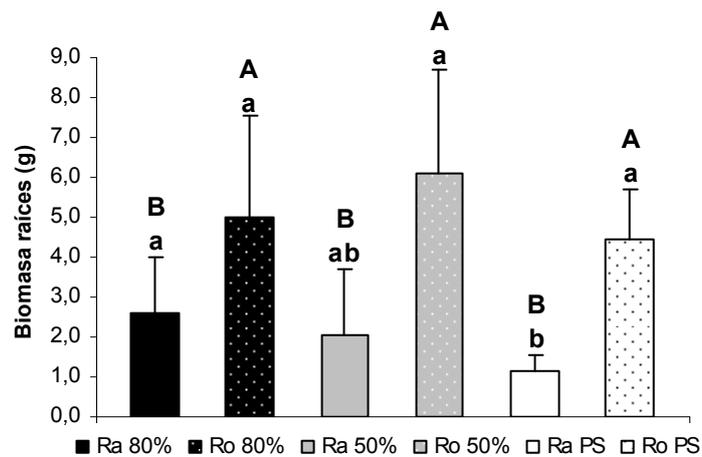


Figura 44. Biomasa de raíces (g) por especie y tratamiento al final de la temporada de crecimiento 2007-2008. Ra = *N. nervosa*; Ro = *N. obliqua*; 50% = tratamiento de 50% de cobertura; 80% = tratamiento de 80% de cobertura; PS= tratamiento de sol pleno. Las letras minúsculas en el gráfico muestran diferencias estadísticas entre tratamientos de una misma especie. Las letras mayúsculas en el gráfico indican diferencias estadísticas para un mismo tratamiento entre especies. Las líneas verticales sobre las columnas muestran el desvío estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

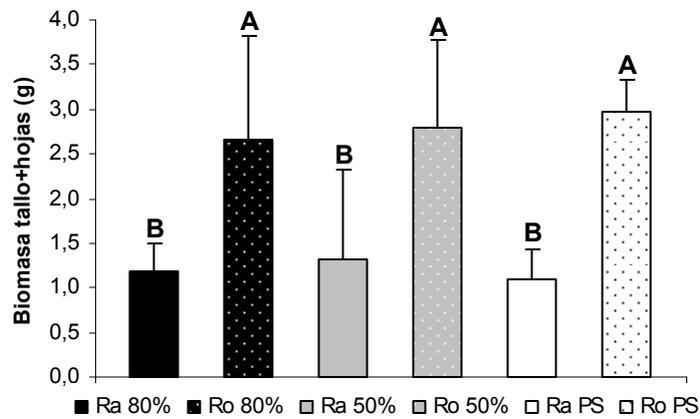


Figura 45. Biomasa de tallo (g) por especie y tratamiento al final de la temporada de crecimiento 2007-2008. Ra = *N. nervosa*; Ro = *N. obliqua*; 50% = tratamiento de 50% de cobertura; 80% = tratamiento de 80% de cobertura; PS= tratamiento de sol pleno. Las letras mayúsculas en el gráfico indican diferencias estadísticas para un mismo tratamiento entre especies. Las líneas verticales sobre las columnas muestran el desvío estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

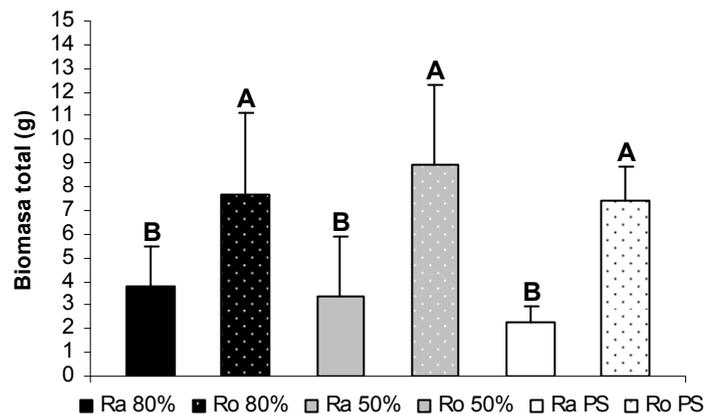


Figura 46. Biomasa total (g) por especie y tratamiento al final de la temporada de crecimiento 2007-2008. Ra = *N. nervosa*; Ro = *N. obliqua*; 50% = tratamiento de 50% de cobertura; 80% = tratamiento de 80% de cobertura; PS= tratamiento de sol pleno. Las letras mayúsculas en el gráfico indican diferencias estadísticas para un mismo tratamiento entre especies. Las líneas verticales sobre las columnas muestran el desvío estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

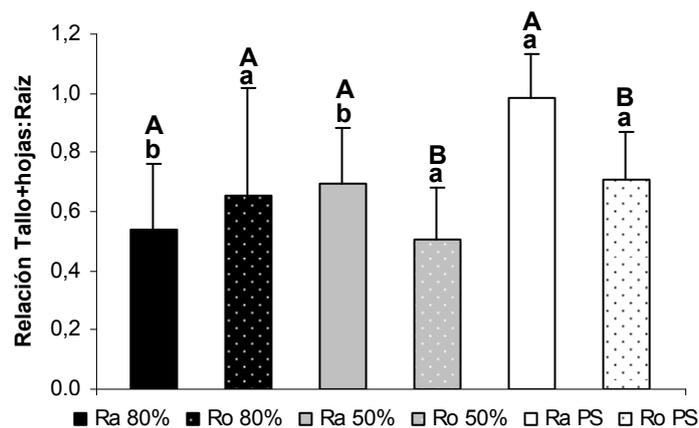


Figura 47. Relación biomasa aérea:biomasa subterránea (raíces) por especie y tratamiento al final de la temporada de crecimiento 2007-2008. Ra = *N. nervosa*; Ro = *N. obliqua*; 50% = tratamiento de 50% de cobertura; 80% = tratamiento de 80% de cobertura; PS= tratamiento de sol pleno. Las letras minúsculas en el gráfico muestran diferencias estadísticas entre tratamientos de una misma especie. Las letras mayúsculas en el gráfico indican diferencias estadísticas para un mismo tratamiento entre especies. Las líneas verticales sobre las columnas muestran el desvío estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

En referencia a los valores de área foliar específica (AFE, kg m^{-2} ; Fig. 48) en *N. nervosa* pudo verse que aquellas plantas bajo el tratamiento de PS presentaron hacia fines de la temporada de crecimiento (mes de febrero en adelante) menores valores de AFE en relación, principalmente, a las plantas bajo el tratamiento de 50% de cobertura ($p < 0,05$). Por su parte *N. obliqua* presentó diferencias en los valores de AFE entre tratamientos tanto a principios como a fines de la temporada de crecimiento. Al inicio de la temporada el menor valor de AFE registrado se presentó en plantas bajo el tratamiento de 80% de cobertura diferenciándose de aquellas plantas bajo el tratamiento de PS ($p < 0,05$). Hacia fines de la temporada este patrón se invirtió, presentando tanto las plantas bajo el tratamiento de 50% como de 80% de cobertura mayores valores de AFE que las plantas bajo PS. A nivel de especie, considerando las plantas bajo el tratamiento de 50% de cobertura, *N. nervosa* presentó sólo en una fecha a principios de la temporada de crecimiento mayores valores de AFE que *N. obliqua* mientras que esta última especie, en más de una fecha hacia fines de la temporada (04-02-08; 03-03-08; 11-03-08; 13-04-08) mostró mayores valores que *N. nervosa*. El mismo patrón fue observado en los plantines bajo el tratamiento de 80% de cobertura, existiendo una menor cantidad de fechas en las que las diferencias fueron estadísticamente significativas (11-11-07; 26-01-08; $p < 0,05$). En referencia al tratamiento de PS pudo observarse una tendencia completamente opuesta al patrón antes descrito, las plantas de *N. nervosa* presentaron hacia fines de la temporada de crecimiento (03-03-08; 11-03-08; 30-03-08; 13-04-08) mayores valores de AFE que *N. obliqua*.

Variables ecofisiológicas

Ambas especies presentaron una menor A_{neta} a RFA saturante bajo el tratamiento PS a principios de la temporada (Fig. 49, ANOVA, $p < 0,05$; valores menores al 0,85 para la relación Fv/Fm surgida de las mediciones de fluorescencia de la clorofila; Fig. 50). Posteriormente, hacia el mes de febrero dichas tasas se incrementaron en hojas neoformadas. En referencia a las

mediciones de la relación F_v/F_m cabe destacarse que, comparativamente, las plantas de una y otra especie bajo el mismo tratamiento presentaron similares valores de la mencionada variable ($p > 0,05$). Considerándose las tasas fotosintéticas para un mismo tratamiento entre especies pudo notarse que al comienzo de la temporada, independientemente del tratamiento considerado, las tasas de A_{neta} de una y otra especie fueron similares existiendo diferencias entre especies a partir del mes de febrero ($N. obliqua > N. nervosa$; $p < 0,05$).

Los valores de conductancia estomática (gs) de *N. nervosa* sólo presentaron diferencias entre tratamientos a comienzos de la temporada de crecimiento (durante los meses de noviembre y diciembre), en donde las plantas bajo el tratamiento 80% presentaron mayores tasas de gs ($p < 0,05$). *Nothofagus obliqua* presentó una menor diferencia entre tratamientos, mostrando sólo hacia fines de la temporada (30/03/2008) mayores valores de gs en las plantas bajo los tratamientos 50% y PS ($p = 0,0354$) en comparación a 80%. A nivel de especie, independientemente del tratamiento considerado, las mayores gs se registraron en *N. obliqua*, presentándose diferencias estadísticamente significativas con respecto a *N. nervosa* desde mediados y hacia fines de la temporada de crecimiento (Fig. 51).

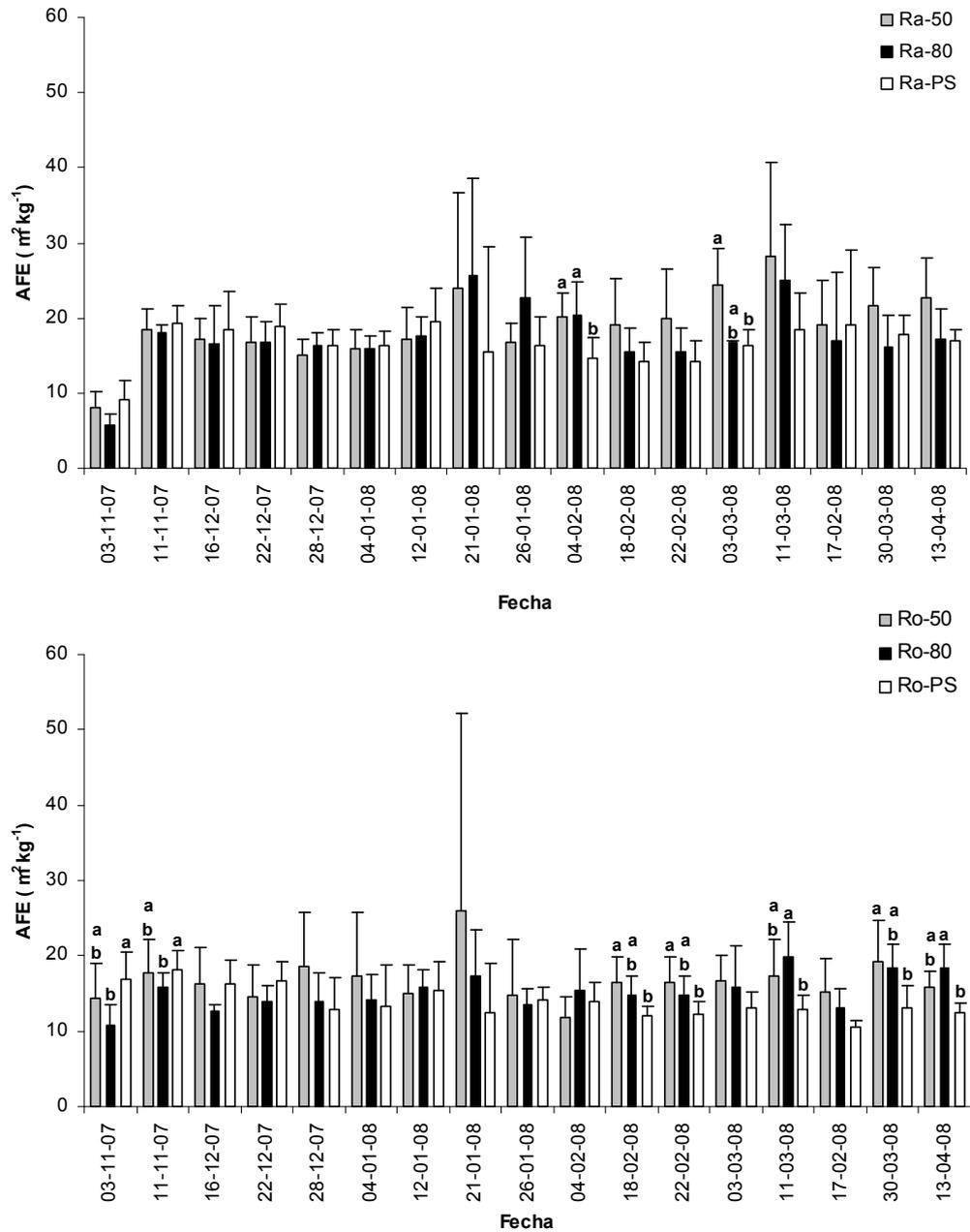


Figura 48. Área foliar específica (AFE, kg m⁻²) por especie y tratamiento a lo largo de la temporada de crecimiento 2007-2008. Ra = *N. nervosa*; Ro = *N. obliqua*; 50 = tratamiento de 50% de cobertura; 80 = tratamiento de 80% de cobertura; PS= tratamiento de sol pleno. Las letras minúsculas en el gráfico muestran diferencias estadísticas entre tratamientos de una misma especie por fecha. Las diferencias para un mismo tratamiento entre especies se comentan en el texto. Las líneas verticales sobre las columnas muestran el desvío estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

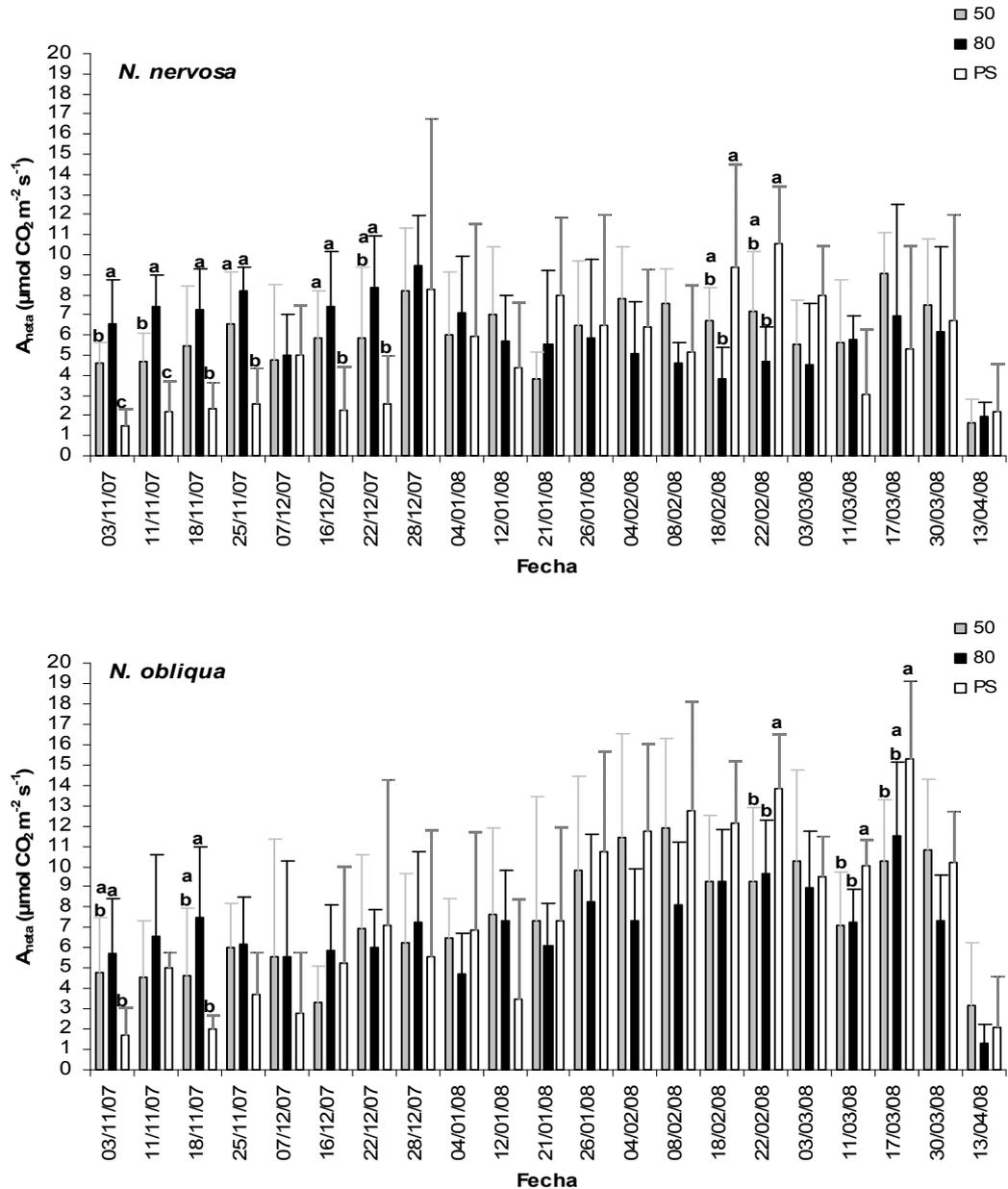


Figura 49. Tasas de actividad fotosintética neta (A_{net} , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) a RFA saturante por especie y tratamiento durante la temporada de crecimiento 2007-2008. 50 = tratamiento de 50% de cobertura; 80 = tratamiento de 80% de cobertura; PS= tratamiento de sol pleno. Las letras minúsculas en el gráfico muestran diferencias estadísticas entre tratamientos de una misma especie por fecha. Las diferencias para un mismo tratamiento entre especies se comentan en el texto. Las líneas verticales sobre las columnas muestran el desvío estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

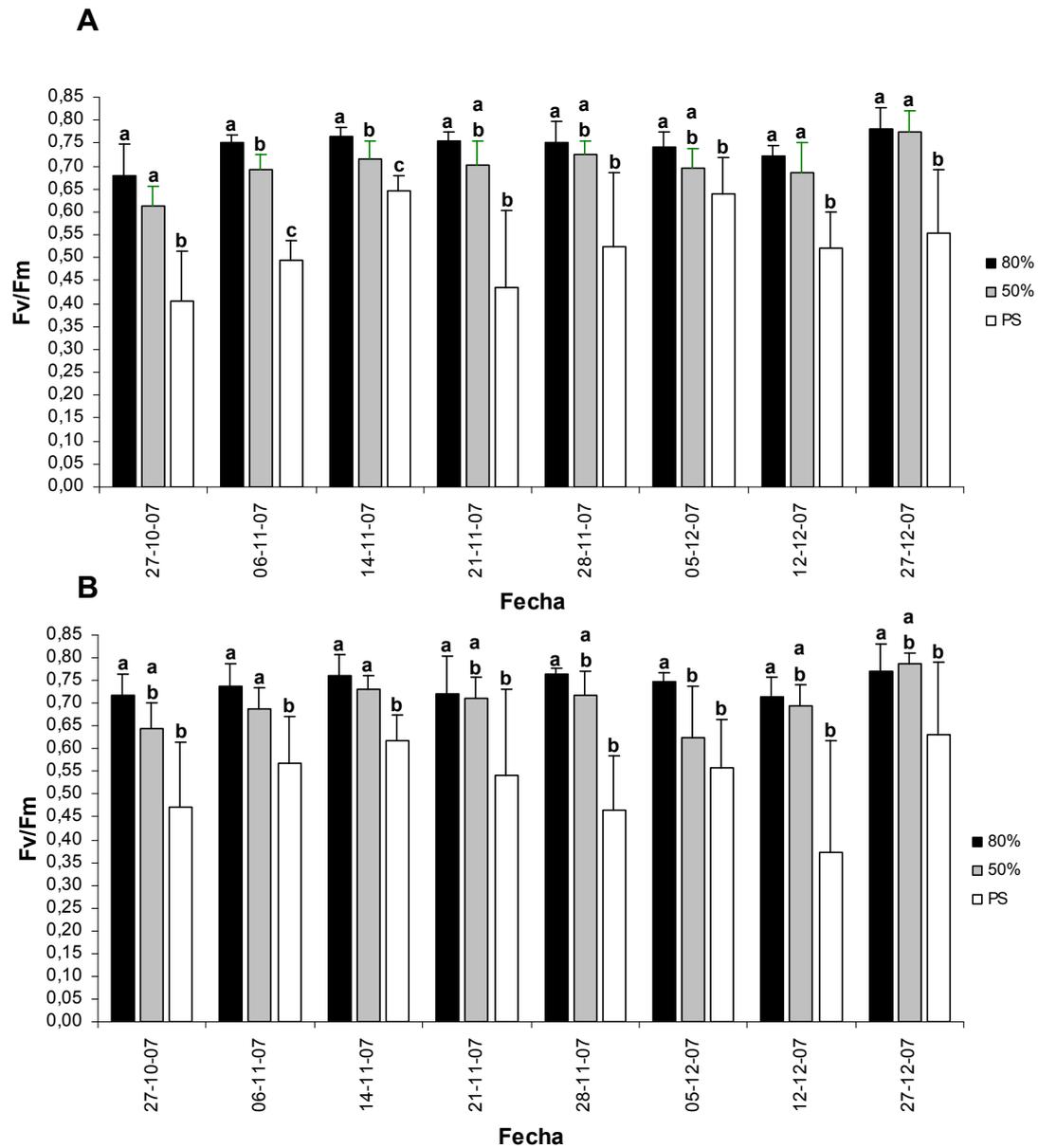


Figura 50. Relación Fv/Fm (indicadora del daño en aparato fotosintético, PSII) surgida de las mediciones de fluorescencia de la clorofila a por especie (A = *N. nervosa*; B = *N. obliqua*) y tratamiento durante la temporada de crecimiento 2007-2008. 50 = tratamiento de 50% de cobertura; 80 = tratamiento de 80% de cobertura; PS= tratamiento de sol pleno. Las letras minúsculas en el gráfico muestran diferencias estadísticas entre tratamientos de una misma especie por fecha. Las diferencias para un mismo tratamiento entre especies se comentan en el texto. Las líneas verticales sobre las columnas muestran el desvío estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

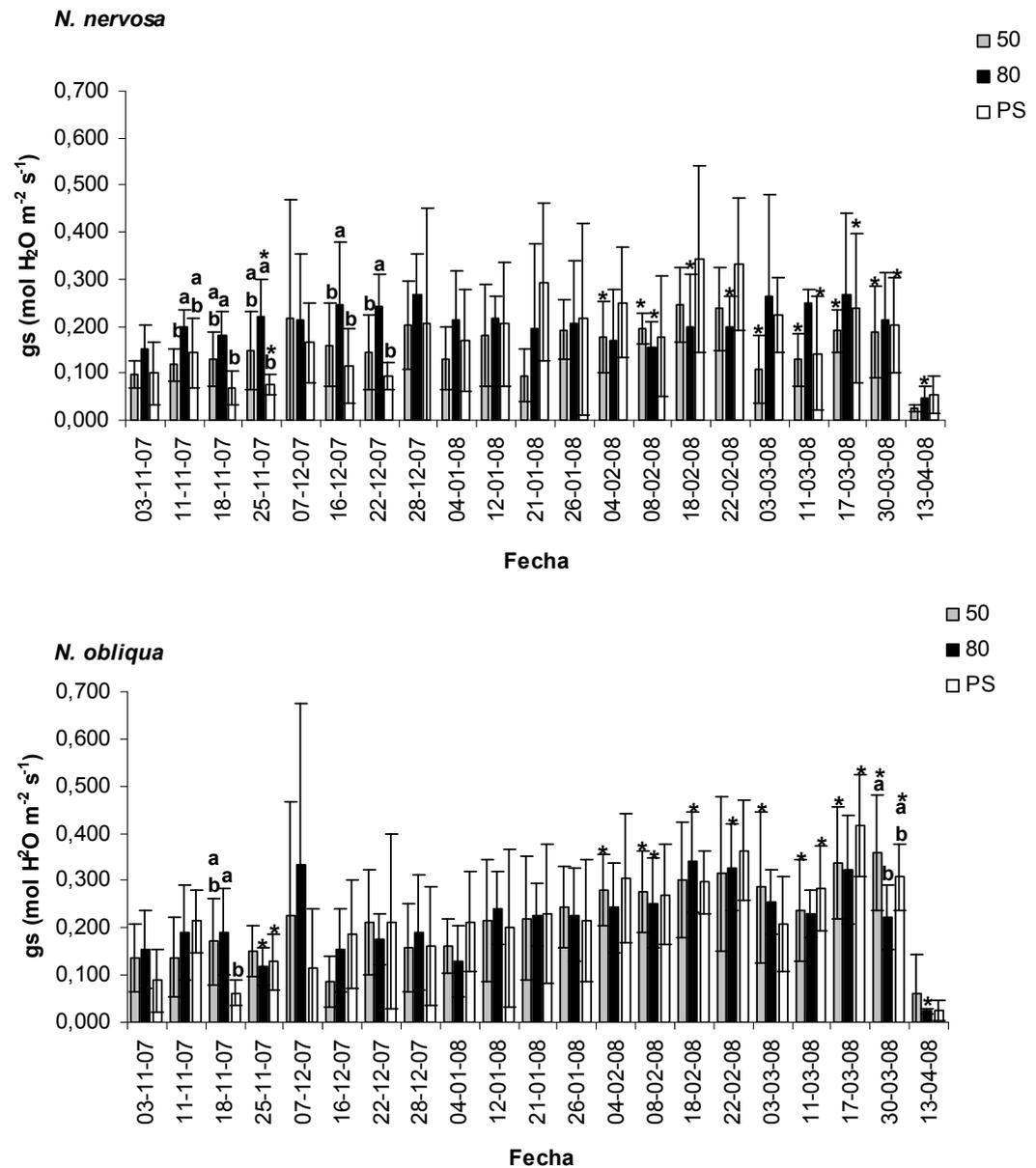


Figura 51. Conductancia estomática ($\text{gs, mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) por especie y tratamiento durante la temporada de crecimiento 2007-2008. 50 = tratamiento de 50% de cobertura; 80 = tratamiento de 80% de cobertura; PS= tratamiento de sol pleno. Las letras minúsculas en el gráfico muestran diferencias estadísticas entre tratamientos de una misma especie por fecha. Los asteriscos en el gráfico muestran diferencias estadísticas significativas entre especies bajo el mismo tratamiento lumínico. Las líneas verticales sobre las columnas muestran el desvío estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

En referencia a las tasas de transpiración (E, Fig. 52), durante las primeras fechas de la temporada las plantas de *N. nervosa* bajo el tratamiento de PS presentaron menores tasas en comparación a las plantas bajo los tratamientos 50 y 80%, coincidiendo con las mayores gs en los tratamientos sombreados ($p < 0,05$). Esta tendencia se revirtió hacia fines de la temporada en

las que el primer tratamiento presentó tasas similares a las registradas bajo el tratamiento 80% (03-03-2008, ANOVA $p = 0,0227$). Las tasas de transpiración de los diferentes tratamientos de la especie *N. obliqua* no presentaron diferencias a lo largo de la temporada exceptuando el 18-11-2007, fecha en la que las plantas del tratamiento PS presentaron menores valores que 50 y 80% ($p = 0,0019$). A nivel de especie, no se observó una tendencia clara de mayores valores para una u otra especie.

La EUA instantánea (Fig. 53) de las plantas tanto de *N. nervosa* como de *N. obliqua* bajo el tratamiento de PS fue significativamente menor que para las plantas bajo los tratamientos 50 y 80% de cobertura, tanto a inicios como a mediados de la temporada ($p < 0,05$), presentando similares valores hacia fines de la misma. A nivel de especie, bajo los tratamientos de 80% y PS, las plantas de *N. obliqua* presentaron una mayor EUA que las plantas de *N. nervosa*.

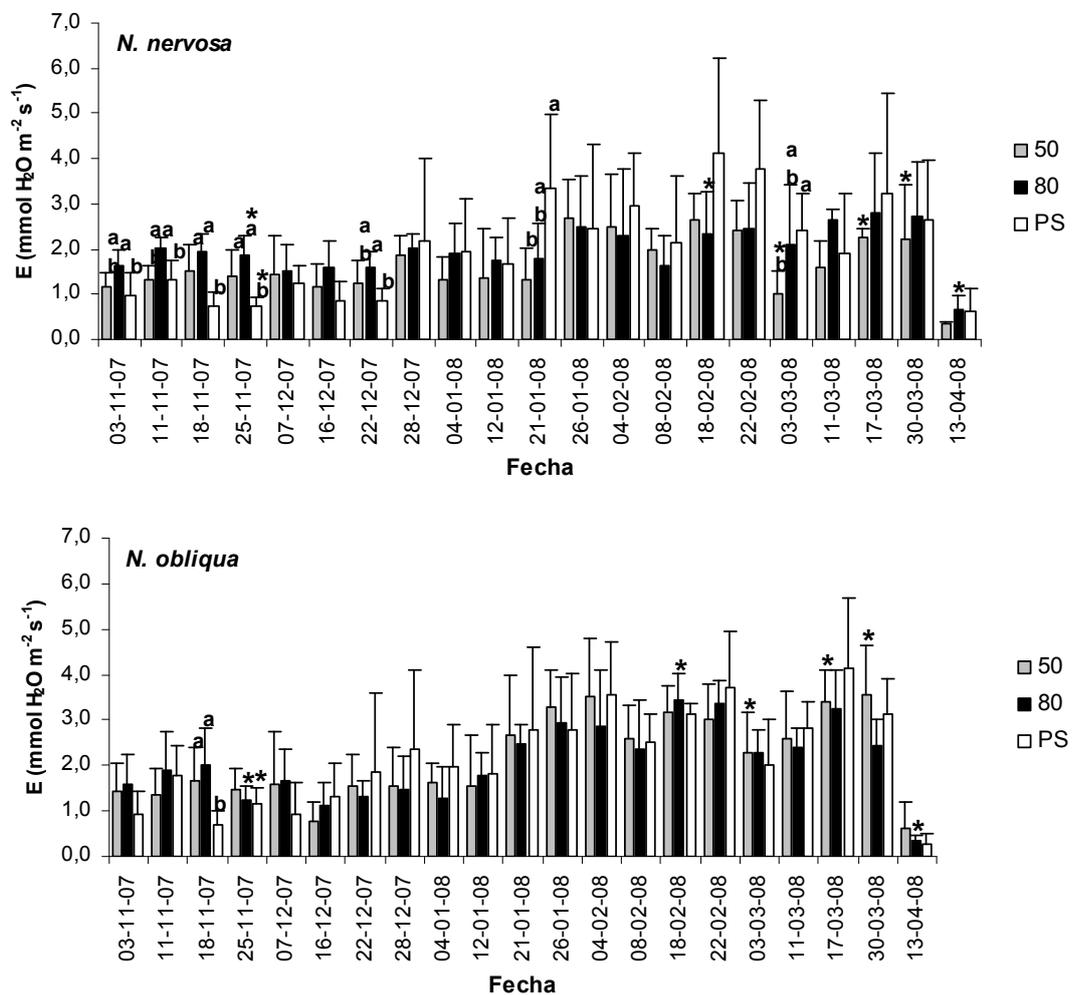


Figura 52. Tasa de transpiración (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) por especie y tratamiento durante la temporada de crecimiento 2007-2008. 50 = tratamiento de 50% de cobertura; 80 = tratamiento de 80% de cobertura; PS= tratamiento de sol pleno. Las letras minúsculas en el gráfico muestran diferencias estadísticas entre tratamientos de una misma especie por fecha. Los asteriscos en el gráfico muestran diferencias estadísticas significativas entre especies bajo el mismo tratamiento lumínico. Las líneas verticales sobre las columnas muestran el desvío estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

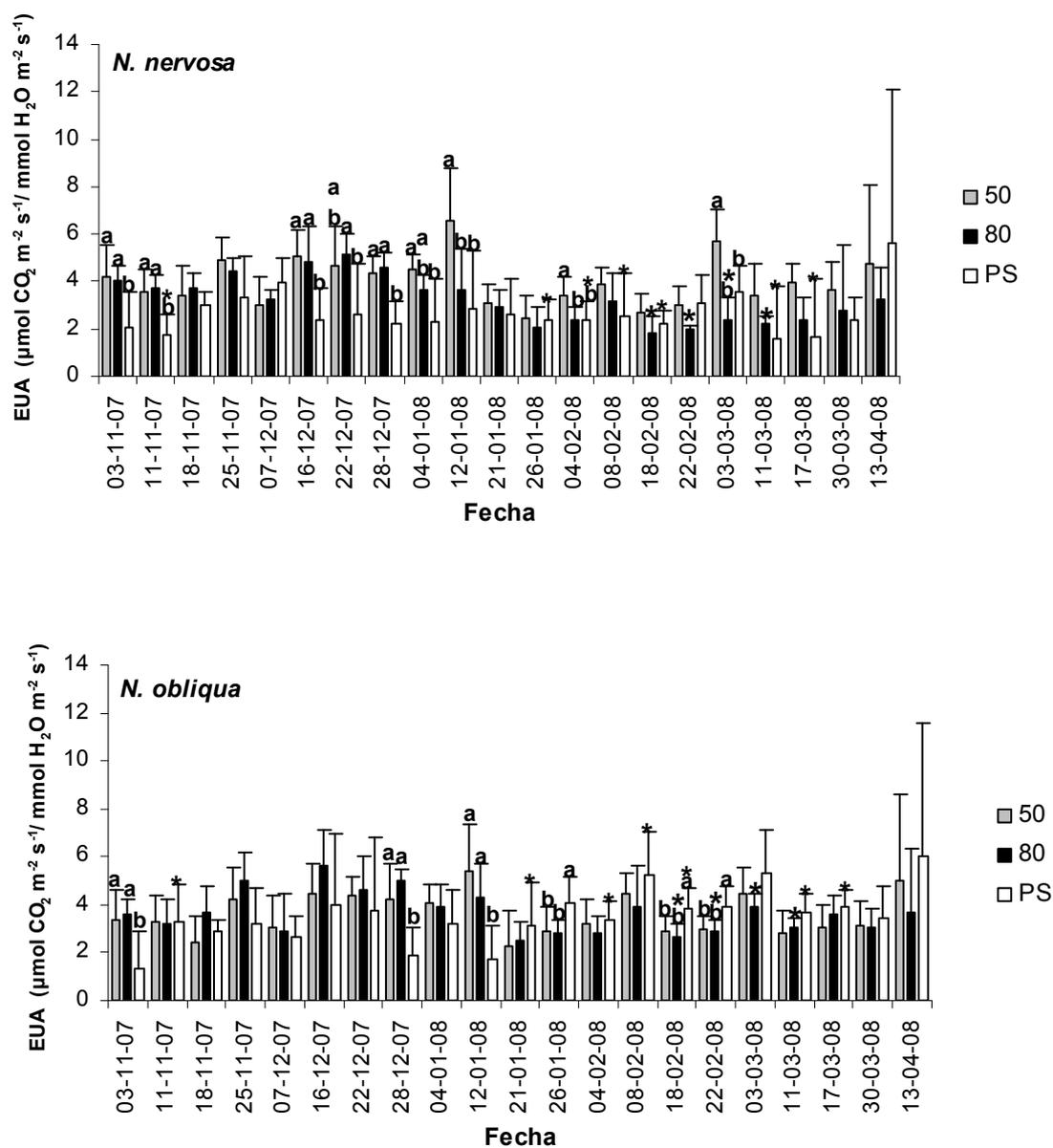


Figura 53. Eficiencia instantánea en el uso del agua (EUA, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} / \text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) por especie y tratamiento durante la temporada de crecimiento 2007-2008. 50 = tratamiento de 50% de cobertura; 80 = tratamiento de 80% de cobertura; PS= tratamiento de sol pleno. Las letras minúsculas en el gráfico muestran diferencias estadísticas entre tratamientos de una misma especie por fecha. Los asteriscos en el gráfico muestran diferencias estadísticas significativas entre especies bajo el mismo tratamiento lumínico. Las líneas verticales sobre las columnas muestran el desvío estándar para cada grupo de datos (especie/tratamiento).

En referencia a las curvas de A_{neta} vs. RFA (Fig. 54), los modelos de los diferentes tratamientos de una misma especie, así como también un mismo tratamiento entre especies, presentaron diferencias tanto a principios de la

temporada de crecimiento como a mediados de la misma ($F_{obs} < F_{crit.}$). En relación a la comparación de los parámetros de las curvas, pudo verse que las plantas de ambas especies bajo el tratamiento lumínico PS presentaron menores valores de A_{max} a principios de la temporada en comparación a los tratamientos 50% y 80%, siendo significativa esta diferencia solo para *N. nervosa* (tests T, $p < 0,05$). Para esta misma especie, a principios de la temporada no existieron diferencias estadísticamente significativas en los valores de RC y PCL entre los plantines bajo los distintos tratamientos lumínicos ($p > 0,05$). En el caso de *N. obliqua* las plantas del tratamiento PS presentaron un menor RC en comparación a las plantas bajo el tratamiento 80% (test T; $p = 0,0159$). Los plantines de una y otra especie bajo un mismo tipo de tratamiento presentaron similares valores de A_{max} , RC y PCL.

Los bajos valores de A_{max} observados a principios de la temporada bajo el tratamiento PS se revirtieron en las mediciones de mediados de la temporada, alcanzando las plantas del tratamiento PS de *N. nervosa* valores similares a los del tratamiento 80% y mayores a los del tratamiento 50% sin existir variación en el RC y los PCL de cada uno de los tratamientos. En referencia a *N. obliqua*, los valores de A_{max} en esta fecha no presentaron diferencias entre tratamientos al igual que los valores de RC y PCL (test T). En esta fecha las plantas bajo los tratamientos 80% y PS de una y otra especie presentaron similares valores de A_{max} , mientras que las plantas de *N. nervosa* presentaron mayores valores de dicha variable en comparación a *N. obliqua* bajo el tratamiento lumínico de 50% de cobertura. Los restantes parámetros de las curvas A-RFA de una y otra especie bajo un mismo tratamiento presentaron similares valores.

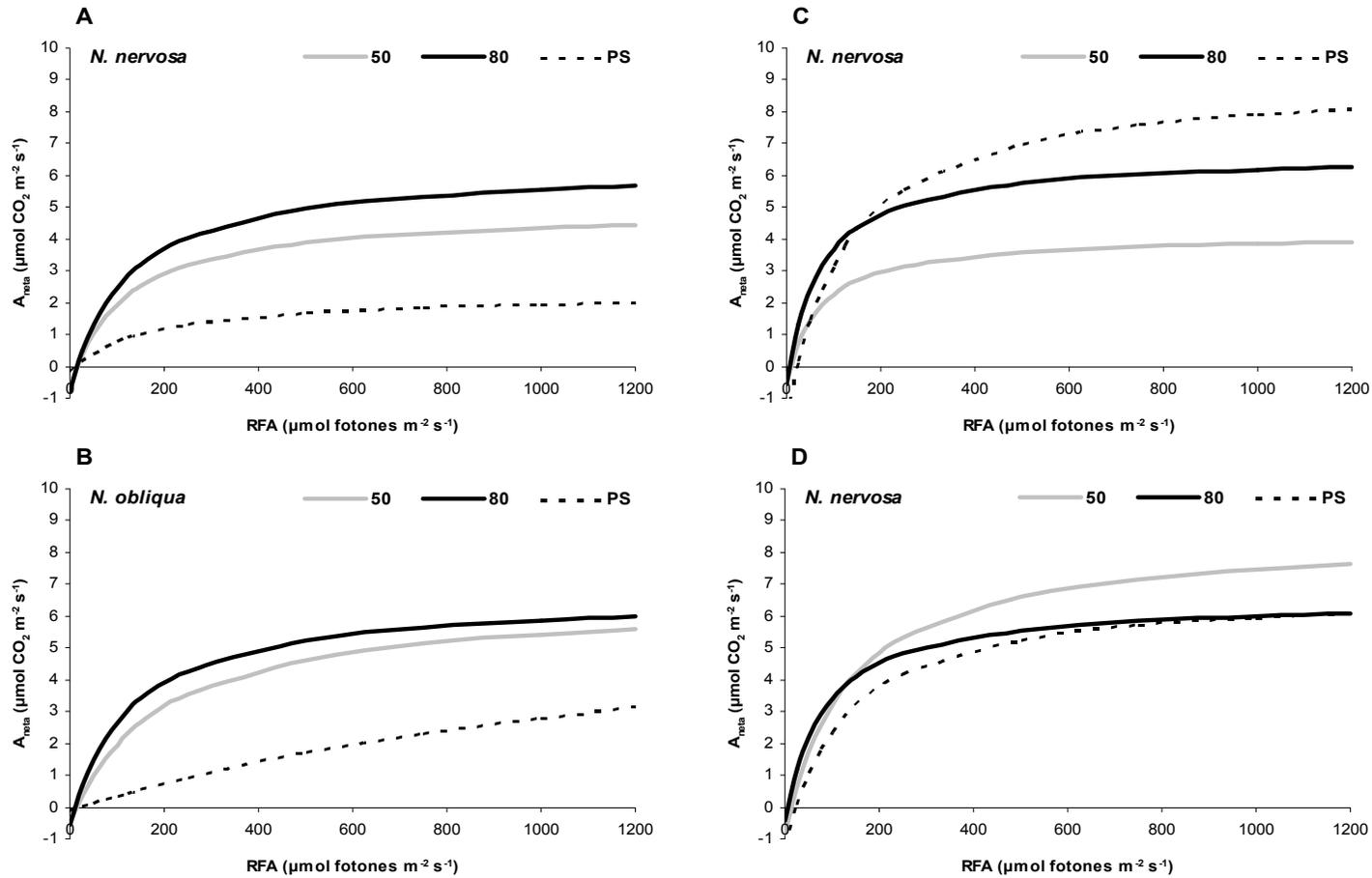


Figura 54. Tasa de fotosíntesis neta (A_{net}) en función de la radiación fotosintéticamente activa (RFA.) por especie a comienzos (A y B) y mediados (C y D) de la temporada de crecimiento 2007-2008 para las especies *N. nervosa* (A y C) y *N. obliqua* (B y D). Las líneas en los gráficos representan el modelo de ajuste de cada una de las especies/tratamientos al modelo de Landsberg (1974). Las diferencias estadísticas entre tratamientos/ especies se comentan en el texto.

Plasticidad fenotípica

En referencia a la plasticidad fenotípica tanto de hojas preformadas como de hojas neoformadas pudo verse que en términos generales ambas especies presentaron similares índices de plasticidad fenotípica tanto en hojas preformadas como en hojas neoformadas. Cabe destacarse la baja plasticidad fenotípica registrada en el AFE de *N. nervosa* en hojas preformadas así como en el PCL. Por su parte *N. obliqua* presenta una muy baja variación en los valores de A_{max} y respiración en oscuridad (Rd) en este tipo de hojas (Cuadro 7). En referencia a las hojas neoformadas los valores registrados para una y otra especie fueron similares, presentando *N. obliqua* valores levemente menores de variación en el A_{max} y la asignación de biomasa aérea:subterránea (tallo+hojas:raíz).

Cuadro 7. Índices de plasticidad fenotípica por variable y totales por especie. Sp.= especie, Ra = *N. nervosa*; Ro = *N. obliqua*; Hojas = cantidad de hojas; T+H: R = biomasa tallo+hojas/raíz; AFE = área foliar específica; PCL = punto de compensación lumínico; RC = rendimiento cuántico; Amax= fotosíntesis máxima; Rd = respiración en oscuridad.

Tipo de hoja	Sp.	Hojas	T+H:R	AFE	PCL	RC	A_{max}	EUA	Rd	Total
Preformada	Ra	-	-	0,09	0,10	0,71	0,64	0,54	0,75	0,47
	Ro	-	-	0,46	0,54	0,91	0,10	0,62	0,18	0,47
Neoformada	Ra	0,31	0,45	0,26	0,74	0,37	0,54	0,42	0,68	0,47
	Ro	0,28	0,29	0,32	0,77	0,38	0,24	0,39	0,69	0,42

3.7. Discusión

Bajo determinadas circunstancias, una condición de sol pleno (radiación excesiva) puede reducir para la fotosíntesis mientras que una condición de sombra marcada limita también el crecimiento y la supervivencia de las plantas (Valladares et al., 2002). Dado que los mecanismos para hacer frente a la condición de sol pleno difieren significativamente de aquellos para hacer frente a la sombra, las plantas deben especializarse hacia uno de ambos lados de este gradiente ambiental o incrementar su capacidad para aclimatar sus fenotipos a la luz disponible en un sitio en particular (Valladares & Pugnaire, 1999; Valladares; 2000). Así, la aclimatación a una condición de luz disponible es alcanzada a través de repuestas a nivel integral de la planta (Rodríguez-Calcerrada et al., 2007). La aclimatación de las plantas al ambiente, como por ejemplo la respuesta fenotípica a diferentes combinaciones de condiciones ambientales, es crítica para su productividad y supervivencia determinando fuertemente su distribución y abundancia (Sultan, 2001; Valladares, 2003).

En el presente trabajo, en respuesta a los diferentes tratamientos lumínicos, bajo una condición de buena disponibilidad hídrica (humedad en maceta), independientemente de la especie considerada, los plantines presentaron similares incrementos en altura y diámetro (tanto en términos absolutos como en términos de incrementos relativos), indicando la falta de respuesta diferencial en función del tratamiento lumínico. Este punto en particular representaría una ventaja en términos productivos dado que plantas de uno y otro tratamiento presentarían el mismo tipo de crecimiento independientemente de la condición lumínica del sitio de plantación. Ahora bien,

la alta mortalidad apical encontrada principalmente bajo el tratamiento de PS, registrada también en los restantes tratamientos, indicaría una posible pérdida en la calidad de producto final (calidad de la madera) e iría en contra de la primera afirmación. A nivel de especie cabe destacarse que bajo el tratamiento de menor intensidad lumínica (80%), *N. nervosa* presentó un mayor incremento relativo en altura en comparación a *N. obliqua*. Pokorny (1995) constató que plantines de esta especie privilegian el crecimiento en longitud, mientras que los de *N. obliqua* y *N. dombeyi* privilegian el crecimiento en grosor. El acelerado crecimiento de elongación en *N. nervosa* es una propiedad típica de las plantas umbrofilas (tolerantes a la sombra), la que les permite sobreponerse a otras especies menos adaptadas a los habitats sombríos. El carácter de especie umbrófila para *N. nervosa* ha sido destacado anteriormente por otros autores (Aguilera & Fehlandt, 1981; Read & Hill, 1985; Grosse, 1988; Veblen et al., 1989; Ramirez et al., 1997; Weinberg & Ramirez, 2001; Peyrou, 2002). Por otra parte, bajo el tratamiento de mayor intensidad de radiación (PS) el incremento en diámetro fue mayor para *N. obliqua*. Según la información ecológica existente, tanto *N. nervosa* como *N. obliqua* presentarían un modo general equivalente de regeneración dependiente de claros de tamaño pequeño, siendo la primera más tolerante a la sombra (Dezzotti, 2008).

Nothofagus nervosa presentó un mayor número de hojas bajo la condición de pleno sol (PS), evidenciándose simultáneamente una reducción en los valores del área foliar específica (AFE). Por un lado la reducción en el AFE es un mecanismo de respuesta normalmente observado ante las altas irradiancias en diferentes especies de plantas (Boardman, 1977; Björkman & Demmig-Adams, 1987; Anderson & Osmond, 1987; Le Roux et al., 2001, entre otros), reduciéndose de esa forma la superficie transpiratoria y evitando el daño por fotoinhibición. Adicionalmente, el aumento en el número de hojas hacia el fin de la temporada en esta especie podría explicarse por un aumento en la capacidad de evitar el mencionado fotodaño (por ejemplo, mediante una mayor producción y acumulación de pigmentos accesorios como lo son los carotenos, mayor producción de violaxantina, anteroxantina, etc.) o simplemente por el hecho de distribuir diferencialmente la biomasa en una mayor cantidad de hojas de menor área foliar específica. De esta forma, la pérdida de una hoja por abscisión representaría una menor superficie en relación a la pérdida de una hoja a principios de temporada. Este comportamiento iría en contra de lo registrado por el estudio de Read & Hill (1985) en el que plantas de *N. nervosa* presentaron una baja posibilidad de aclimatación a altas intensidades lumínicas, indicando adicionalmente un probable efecto de sinergia entre factores de estrés (radiación+agua). Adicionalmente el patrón de mayor AFE en esta especie bajo la condición de PS, en comparación con *N. obliqua*, podría balancearse al menos en parte, con la mayor asignación a biomasa en tallo que también desarrolla en esta condición lumínica, pudiendo proveer con agua una relativamente alta superficie foliar transpirante.

Por su parte *N. obliqua* presentó una mayor cantidad de hojas bajo el tratamiento de 50% de cobertura, tratamiento que hacia fines de la temporada presentó adicionalmente los mayores valores de AFE. La tolerancia a la sombra de *N. obliqua* ha sido mencionada previamente en la bibliografía (Rosenfeld, 1972), al igual que el hecho de que al ser colocadas a plena luz las plantas de esta especie pueden sufrir fotoinhibición (Peyrou, 2002). Para plántulas de *N. obliqua* este último autor no registró supervivencia de la especie a plena luz, punto que no se evidenció en el presente trabajo, probablemente ligado al hecho de haber generado una buena disponibilidad hídrica (junto a una condición ambiental de buenas temperaturas y humedades relativas) a lo largo de toda la

temporada de crecimiento. En el estudio de Peyrou (2002), las mayores tasas máximas de fijación de CO_2 (A_{max}), los mayores rendimientos cuánticos (RC) y la máxima supervivencia, se dio bajo un tratamiento de 30% de cobertura, lo que estaría mostrando una elevada aptitud de esta especie para sobrevivir y crecer en ambientes de sombra media. En el presente trabajo y bajo una condición de luz intermedia (50% de cobertura) *N. obliqua* presentó adicionalmente mayores valores de AFE en relación a *N. nervosa*, punto que se revirtió bajo la condición de pleno sol (PS). En función de lo planteado, si bien el mecanismo de reducción del AFE bajo la condición de máximo estrés lumínico constituiría un mecanismo de plasticidad ante el factor radiación, evitándose de esta forma el daño por exceso de radiación, parecería no ser del todo eficiente en el mantenimiento de una buena eficiencia instantánea en el uso del agua (EUA) variable sobre la cual se registraron reducciones considerables en ambas especies bajo el tratamiento PS.

En relación a la asignación diferencial de biomasa a las distintas porciones de la planta, Thornley (1969) propuso el modelo de "asignación óptima de biomasa", que asume que los recursos críticos para el crecimiento y desarrollo, por un lado, existen en cantidades limitantes, y por otro lado, que deben asignarse a funciones mutuamente excluyentes. En consecuencia se produciría un intercambio por el cual la asignación a una estructura y función disminuye necesariamente la asignación a otras (Mc Connagughay & Coleman, 1999). Según este modelo, una planta expuesta a luz escasa durante un determinado tiempo desviarán los asimilados preferentemente hacia la producción de tallos y hojas, y en consecuencia el cociente biomasa aérea/biomasa de raíces (A/R) aumentará, mientras que, sometida a insuficiente cantidad de nutrientes, por ejemplo, producirá proporcionalmente más raíces, y en consecuencia el cociente A/R disminuirá (McConnagughay & Coleman, 1999). En el presente trabajo dicho cociente presentó mayores valores bajo el tratamiento de PS en comparación a los tratamientos de 50% y 80% para *N. nervosa* y no presentó diferencias en *N. obliqua*. El comportamiento evidenciado así en *N. nervosa* podría indicar que la condición lumínica de PS no fue suficiente como para generar una reasignación de biomasa hacia raíces, probablemente ligado a la condición de buena disponibilidad hídrica impuesta o, en función del modelo antes planteado, una falta de mecanismos de respuesta a nivel morfológico (plasticidad en la asignación de biomasa a distintas porciones de la planta) tanto a bajas como a altas intensidades, indicando el carácter umbrófilo destacado previamente por diferentes autores (Aguilera & Fehlandt, 1981; Read & Hill, 1985; Grosse, 1988; Veblen et al., 1989; Ramirez et al., 1997; Weinberg & Ramirez, 2001; Peyrou, 2002). La falta de modificación en la asignación diferencial de biomasa ante distintas condiciones para *N. obliqua* ha sido mencionada en estudios previos (Dezzotti, 2008) al igual que para *N. dombeyi*.

En referencia a los parámetros fisiológicos registrados, pudieron verse modificaciones marcadas en A_{neta} a RFA saturante bajo el tratamiento PS a principios de la temporada generada por daño del fotosistema dos (PSII). En referencia a este punto en particular la eficiencia fotoquímica del PSII (relación Fv/Fm surgida de las mediciones de fluorescencia de la clorofila a) en función de diferentes tratamientos lumínicos ha sido estudiada en diferentes especies de los géneros *Quercus* y *Fagus* (géneros cercanos filogenéticamente al del presente trabajo). Así, por ejemplo Valladares et al. (2000) no encontraron diferencias en dicha relación en respuesta a diferentes tratamientos lumínicos en *Quercus ilex* y *Q. coccifera*, al igual que para *Q. pyrenaica* y *Q. robur* (Valladares et al., 2002), mientras que Matsuki et al. (2003) en *Q. crispula*, Valladares et al.

(2002) en *Fagus sylvatica*, Wang & Bauerle (2006) en *Q. alba* y Gomez-Aparicio et al. (2006) en *Q. pyrenaica* y *Q. ilex* registraron modificaciones marcadas en los valores de dicha relación entre tratamientos lumínicos. En estos últimos estudios, las plantas sometidas a una condición de sol pleno presentaron fotoinhibición (valores de F_v/F_m por debajo del óptimo teórico de 0,85; Björman & Demmig-Adams, 1987) al igual que el encontrado en el presente trabajo, al menos en hojas preformadas (período en el cual pudieron realizarse las mediciones de fluorometría).

La caracterización de dicha relación en hojas preformadas conjuntamente a la de actividad fotosintética realizada tanto en hojas preformadas como neoformadas permitió registrar la recuperación de la segunda variable en hojas neoformadas de ambas especies bajo la condición de PS a mediados y fines de la temporada de crecimiento. Como en otras especies deciduas, en las especies del presente trabajo los brotes de una temporada emergen desde yemas producidas la temporada anterior que contienen un número de primordios de hojas preformadas (Puntieri et al., 2007). Posteriormente a la elongación del brote y a la expansión de las hojas, cierto tipo de brotes continúan produciendo hojas hasta el fin de la temporada de crecimiento. Estos brotes producen así un número de hojas que excede el número de primordios foliares preformados. En función de los resultados encontrados en el presente trabajo, los brotes parecerían aclimatarse a las condiciones de PS, produciendo hojas nuevas (neoformadas) mejor provistas para las condiciones imperantes que las hojas preformadas. Estos resultados sugerirían que para ambas especies el recambio de hojas a lo largo de la temporada puede funcionar como un mecanismo de aclimatación ante condiciones lumínicas estresantes (alta radiación). Por otra parte este mecanismo de aclimatación pudo verse reflejado en los mayores valores del parámetro A_{max} surgido de las curvas A_{neta} -RFA en el mes de enero. Las plantas bajo el tratamiento PS retornaron a valores cercanos e incluso mayores a los de plantas bajo los tratamientos de 50% y 80%.

La plasticidad morfológica (AFE, asignación de biomasa) fue en general baja en ambas especies, impidiendo explicar las similares tasas de crecimiento en los diferentes tratamientos lumínicos. Por el contrario, la información surgida de las curvas de fotosíntesis vs. RFA serviría también (si bien no se presentaron diferencias significativas marcadas) para explicar, al menos en parte, las similares tasas de crecimiento en altura y diámetro entre tratamientos por especie a pesar de la distinta disponibilidad lumínica. Así, las bajas tasas de A_{max} en las plantas de pleno sol a causa de la fotoinhibición, al menos a principios de la temporada, permitirían entender por que los plantines bajo este tratamiento crecen igual que los sometidos a menor disponibilidad de radiación. A su vez, en éstos últimos, las plantas del tratamiento de 80% de cobertura presentaron comparativamente menores puntos de compensación lumínica (PCL) y mayores rendimientos cuánticos (RC) en comparación a las plantas de 50% de cobertura, permitiendo suponer similares tasas de fijación de C neto a pesar de la menor disponibilidad de fotones bajo el tratamiento de mayor cobertura.

Comparando especies, si bien no existieron diferencias significativas marcadas entre parámetros de las curvas A-RFA de los diferentes tratamientos, pudo verse una modificación en A_{max} , RC y PCL en respuesta a la sombra de mayor magnitud en *N. nervosa*.

En relación a las demás variables asociadas a las mediciones de intercambio gaseoso, pudo verse que la tasa de conductancia estomática no presentó una modificación marcada en función del tratamiento lumínico independientemente de la especie considerada, registrándose en general mayores valores de esta variable en plantas de *N. obliqua*. Las plantas de una y

otra especie presentaron hacia fines de la temporada mayores tasas de transpiración bajo la condición de sombreado (50% y 80%), situación que, sin embargo, no resultó en una menor EUA en comparación con las plantas de PS. Hacia principios y mediado de la temporada la EUA fue menor en el tratamiento de PS en comparación con ambos tratamientos de sombreado, posiblemente debido a las bajas tasas de fotosíntesis por fotoinhibición. Hacia fines de la temporada y a nivel intra-específico, las EUA fueron similares entre tratamientos de luz, debido a la recuperación de la capacidad fotosintética de las plantas creciendo a pleno sol.

En relación a la plasticidad fenotípica a nivel de especie, pudo verse que tanto para hojas preformadas como para hojas neoformadas los índices de plasticidad calculados mostraron una variación similar en ambas especies.

A modo de resumen y en función de los objetivos planteados inicialmente pudo verse que:

-En relación al objetivo de contribuir al conocimiento del rango lumínico en el cual sobreviven y el óptimo crecimiento de estas especies en la fase de plantín, podría decirse que las dos responden mejor a condiciones intermedias de sombra, produciéndose daños leves o reversibles en el aparato fotosintético por exceso de luz, caídas en EUA, y A_{neta} a lo largo de la temporada de crecimiento. Si bien las diferencias fisiológicas en cada tratamiento se tradujeron en similares crecimientos netos en diámetro y altura, compensándose el daño con la mayor disponibilidad de radiación, la incidencia de muerte apical diferencial entre tratamientos sugiere nuevamente que la mejor condición es la de media sombra.

-En relación al conocimiento de algunos de los mecanismos involucrados en la respuesta a distintas intensidades lumínicas, considerándose: variables morfológico-alométricas y fisiológicas, pudo verse que el principal mecanismo de aclimatación a condiciones de alta irradiancia en ambas especies es el hecho de poder producir tanto hojas preformadas como neoformadas. Estas últimas presentarían una ventaja desde el punto de vista de aclimatación en ambas especies, probablemente debido al hecho de poseer un mayor contenido de sustancias de protección contra el exceso de energía, promoviendo así menores tasas de fotoinhibición y mayores tasas de actividad fotosintética. Si bien no se registraron diferencias significativas, las tendencias encontradas en los parámetros estimados de las curvas A_{neta} -RFA indicarían una leve respuesta ecofisiológica a la sombra a través de modificaciones en los valores de A_{max} , RC y PCL. Las reducciones en los valores de AFE bajo la condición de PS también constituirían una respuesta a altos valores de irradiancia.

-En relación a verificar a nivel específico la existencia de plasticidad fenotípica en relación con las respuestas fisiológicas y morfológicas a distintos tipos e intensidades de estrés lumínico, ambas especies parecen tener mecanismos similares en respuesta a la radiación, estando estos principalmente relacionados con la respuesta a alta irradiancia más que a baja irradiancia. Adicionalmente, las tasas de variación registradas tanto en variables morfológicas como variables fisiológicas adaptativas muestran similares tasas de plasticidad para ambas especies.



CAPITULO IV

Respuesta fotosintética de *Nothofagus nervosa* y *N. obliqua* en respuesta a la temperatura.

4.1. Altas y bajas temperaturas como factores de estrés

En términos generales, el crecimiento de una planta es promovido por un aumento de temperatura y es inhibido si la temperatura cae o supera un valor óptimo (ver definición de óptimo fisiológico en el Capítulo 1, sección 1.3). Es por ello que el incremento en la tasa de crecimiento no puede seguir indefinidamente con el aumento de la temperatura (Kositsup et al., 2009), ya que, a partir de un cierto valor o a partir de un rango de temperaturas, el aumento de esta variable puede generar lesiones sobre la planta (Falk et al., 1996). Ello se debe a diversos factores que pueden ocurrir al mismo tiempo como la deshidratación de los tejidos y/o la inhibición de enzimas claves que producen una reducción de la tasa metabólica de la planta, modificando procesos tales como la fijación de CO₂, la translocación, la respiración, y la construcción de nuevas células, entre otros.

Cada especie tiene un umbral de temperatura mínima, por debajo del cual el crecimiento cesa, un rango de temperaturas óptimo en el que la tasa de crecimiento es la más alta, y un umbral máximo, por encima del cual, el crecimiento llega a su fin. A la vez, el rango de temperaturas óptimas también puede variar en cada etapa del desarrollo, así como la duración en que esa temperatura prevalece. La temperatura óptima para la fotosíntesis de una planta es generalmente mayor a aquella en la que las plantas crecen (Li, 1980). Este óptimo refleja el rango de temperaturas ambientales al cual la planta se aclimata (Berry & Björkman, 1980; Falk et al., 1996). Por ejemplo, especies arbóreas de climas tropicales muestran un menor rango de temperaturas óptimas que aquellas de ambientes templados, en donde la fluctuación de temperaturas es mayor (Cunningham & Read, 2003).

La temperatura afecta no sólo la tasa sino también el tipo de crecimiento, jugando un papel importante en el ciclo de actividad y de inactividad conocido como latencia en las plantas de climas templados. La latencia es especialmente notoria en las plantas leñosas deciduas, donde se da la caída de las hojas en otoño y el árbol permanece inactivo durante el invierno, renovando su actividad y crecimiento con la llegada de la primavera. La longitud del período de latencia es variable, y para muchas especies un período de bajas temperaturas es necesario para romper el letargo permitiendo reanudar el crecimiento (Perry, 1971).

La aclimatación de la planta a cualquier variable que cause alteraciones fenotípicas representa una integración temporal a fluctuaciones ambientales de corto y largo plazo, como lo pueden ser los cambios de temperatura (Ensminger et al., 2006). La fotosíntesis representa una integración de procesos fotoquímicos y bioquímicos dependientes de reacciones catalizadas y procesos a nivel de membrana (Taiz & Zeiger, 1998). Dado que la energía de activación de diferentes reacciones difiere entre plantas aclimatadas o adaptadas a diferentes regímenes de temperatura, la fotosíntesis puede ser afectada acorde a ello (Atkin et al., 2006). Así las fluctuaciones de la temperatura ambiental pueden tener un amplio impacto en las tasas de actividad fotosintética, debido a la sensibilidad de los procesos en los que se divide, incluyendo : a) la reducción fotosintética del carbono, b) la síntesis de sacarosa, c) la partición del carbono y d) el funcionamiento del inter-sistema (PSI y PSII) del transporte de electrones debido al efecto sobre la actividad de las enzimas transportadoras de electrones, como son la plastoquinona y la plastocianina (Falk et al., 1996). Los efectos combinados de la luz y la sensibilidad diferencial a la temperatura en procesos foto y termoquímicos de la fotosíntesis pueden conducir así a desbalances metabólicos que, en definitiva, pueden resultar en significativos deterioros como

resultado de la fotoinhibición (Savitch et al., 2000). Finalmente, la temperatura a la cual una planta crezca puede inducir aclimatación de la fotosíntesis gracias a la plasticidad de algunos de los procesos mencionados (Bunce, 2000; Sage & Kubien, 2007).

Los organismos autótrofos exhiben en general un amplio grado de plasticidad con respecto a la respuesta a la temperatura a corto plazo, dependiendo tanto de la especie vegetal en sí como del tiempo de exposición al nuevo régimen térmico (Öquist & Huner, 2003). Como se mencionó anteriormente, muchas plantas muestran una temperatura óptima para la fotosíntesis cercana a la de la temperatura normal de crecimiento, con hojas activamente transpirantes a temperaturas menores a la temperatura del aire. Las altas temperaturas afectan adversamente el crecimiento y supervivencia de las plantas de varias maneras, pero el impacto de las altas temperaturas sobre el aparato fotosintético es considerado como particularmente significativo debido a que la fotosíntesis es a menudo inhibida antes que cualquier otra función celular sea dañada (Berry & Björkman, 1980; Haldimann & Feller, 2004).

En general, bajo condiciones de alta irradiancia solar, la temperatura de la hoja puede incrementarse varios grados centígrados por sobre la temperatura del aire (Leaky et al., 2003), pudiendo afectar la asimilación de carbono. A temperaturas altas las reacciones de oxigenación de la Rubisco se incrementan más que las de carboxilación, por lo que la foto-respiración se vuelve proporcionalmente más importante. Esto es, en cierto modo, debido a que la solubilidad del CO₂ se reduce con el incremento de la temperatura más marcadamente que lo que lo hace el O₂. Adicionalmente, la temperatura actúa sobre las propiedades cinéticas de la enzima Rubisco. Este efecto combinado causa reducciones en las tasas de fotosíntesis neta a altas temperaturas (Loveys et al., 2002). A la vez, estas enzimas asociadas con las reacciones de la etapa oscura también se encuentran limitadas cuando la temperatura disminuye por debajo de cierto umbral. Muchas plantas crecen pobremente o son dañadas por temperaturas levemente por sobre los 0° C (daño por enfriamiento), mientras que otras lo son a temperaturas aún menores (< 0° C, daño por congelamiento).

Parte del daño por enfriamiento está asociado al aparato fotosintético (disminución en la fluidez de las membranas, cambios en la actividad de los procesos mediados por enzimas asociadas a membrana y pérdida de la actividad de enzimas sensibles al frío, entre otros) mientras que el daño por congelamiento esta asociado principalmente a la formación de cristales de hielo dentro de las células y órganos. La resistencia al congelamiento en ciertas especies se debe a que: 1) se limita el crecimiento de los cristales en espacios extracelulares, mediante ajuste osmótico y reduciendo el contenido de agua celular reduciéndose el punto de congelamiento (Levitt, 1980; Griffitt & Antikainen, 1996), 2) pueden acumular sustancias crioprotectoras y cambiar la composición de lípidos estabilizando las membranas a contenidos hídricos celulares bajos (Santarius, 1982; Lynch & Steponkus, 1987; Hinch et al., 1989) y 3) generando ajustes en el metabolismo celular para optimizar su habilidad para fotosintetizar y funcionar bajo condiciones de ciclos de congelamiento y descongelamiento (Hällgren & Öquist, 1990; Huner et al., 1993).

Nothofagus es un genero característico de regiones de bosque templado frío en Sur América, Nueva Zelanda y Australia, con un grupo taxonómico distintivo que ocupa latitudes tropicales en Nueva Guinea y Nueva Caledonia (Read, 1990). Las variaciones intragenéricas en la ecofisiología de este género son de particular interés debido a que se expande aproximadamente 55° de latitud, abarcando un amplio rango de altitudes y topografías. Así también

experimentan una amplia variedad de climas que varían en humedad, temperatura y fotoperíodo (Read, 1990).

A la fecha son pocos los trabajos que analicen el efecto tanto de altas como de bajas temperaturas sobre distintas especies del género *Nothofagus* y su efecto sobre la fijación de carbono y resistencia a eventos extremos de temperatura. Los antecedentes existentes se relacionan principalmente con la resistencia a sucesos de bajas temperaturas, causantes tanto de daño por enfriamiento como por congelamiento (Sakai et al., 1981; Alberdi et al., 1985, Alberdi, 1987; Greer et al., 1989; Neuner & Bannister, 1995). En este género, la mayor resistencia a congelamiento fue observada en dos especies deciduas subalpinas (*N. antarctica*, en Sudamérica y *N. gunnii* en Tasmania; Sakai et al., 1981). Las temperaturas a las cuales se dieron los congelamientos de hojas (en especies siempre verdes) fueron de entre -5 y -13°C, mientras que las de yemas, corteza y xilema (tanto para siempreverdes como para deciduas) oscilaron entre -8 a -22 °C (Sakai, 1981; Alberdi, 1987).

En relación a las temperaturas bajo las cuales las especies del género se regeneran espontáneamente, Alberdi (1987) destaca el carácter termófilo de *N. obliqua* seguido de *N. nervosa*, siendo este último sobrepasado en las temperaturas del mediodía por *N. antarctica*. En relación a las temperaturas mínimas Weinberger & Ramirez (2001) destacan que, de una serie de variables microclimáticas indicadoras de sitios de regeneración en estas especies, la temperatura mínima entregó el más alto valor explicativo de la variación vegetal estudiada. *Nothofagus nervosa* presentó en la mayoría de los biotipos temperaturas nocturnas estables en el rango -5,5 a aproximadamente 8°C. De esta forma evitaría estrictamente sitios donde las temperaturas nocturnas estivales pueden descender al punto de congelación. *Nothofagus obliqua* ocupó generalmente los sectores de temperaturas mínimas más bajas. Según estos autores, sumado a los resultados de Sakai 1981, Murray et al. (1986) y Deans et al. (1992) la resistencia al frío de estas especies sería similar, ya que ambas especies soportan temperaturas inferiores hasta -14°C (cabe destacarse que estas temperaturas involucran mediciones en invierno en las que no hay presencia de hojas, midiéndose la resistencia a frío y congelamiento en otros órganos).

4.2. Objetivos del presente capítulo

Las actividades del presente capítulo tuvieron como objetivo:

- 1) Conocer los umbrales de temperaturas que determinan los rangos óptimos, subóptimos y letales para la fijación de carbono de *N. obliqua* y *N. nervosa*.
- 2) Determinar la plasticidad fenotípica a nivel específico de la fijación de CO₂ en relación a la temperatura.
- 3) Determinar el efecto del tiempo de exposición a distintas temperaturas sub-óptimas sobre la tasa de fijación de carbono de ambas especies.

4.3. Materiales y métodos

Se trabajó con plantines de dos años de edad de ambas especies, los cuales fueron sometidos a temperaturas de -5, 0, 5, 10, 18, 25, 30, 35 y 40° C por períodos de 2 horas en una cámara de cría (SAD-9000 CC, Grupo Consultar; Fig. 55). Particularmente para las temperaturas de 0 y 40°C se trabajó también con tiempos de tratamiento de 4 horas, a fin de identificar un efecto debido a la duración del período de tratamiento. Un segundo grupo de plantas se mantuvieron en una segunda cámara de cría de plantas a una temperatura de

18° C (cercana a la considerada como óptima para otras especies del género, Zuñiga et al., 2006), con el fin de comparar las tasas de fijación de C de éstas y las sometidas a los diferentes tratamientos térmicos.



Figura 55. Fotografía mostrando los plantines dentro de las cámaras de cría SAD-9000 utilizadas en el experimento de estrés térmico.

Posteriormente a cada uno de los períodos de tratamiento térmico se cuantificó la tasa neta de fijación de carbono (A_{neta}) mediante la utilización de un equipo medidor infrarrojo del intercambio gaseoso (Li-Cor 6400; Li-Cor, Lincoln, Nebraska, EEUU), utilizándose la metodología de auto registro que este equipo posee, dejándose estabilizar la hoja dentro de la cámara bajo condiciones de RFA cercanos al saturante ($1000 \mu\text{moles fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y un flujo de CO_2 de 400 ppm durante tres minutos. Posteriormente se registró la tasa de respiración de hojas de cada una de las plantas bajo un nivel de radiación cero (respiración en oscuridad). Con los datos obtenidos se generaron curvas de respuesta de la A_{neta} (a RFA saturante) a la temperatura, contrastándose las tasas de plantas tratadas contra las de las plantas testigo (18° C), para separar posibles efectos fenológicos. Adicionalmente, se analizaron las variables asociadas a la fijación de C (tasas de conductancia estomática, transpiración y eficiencia instantánea en el uso del agua, tasas de respiración en oscuridad) en función de la temperatura.

4.4. Análisis estadístico

Para la comparación dentro de una misma especie entre tratamientos de temperatura se utilizaron test de análisis de varianza (ANOVA) de una vía. Los supuestos relevantes fueron testeados en cada caso, utilizándose en su defecto tests no paramétricos de Mann-Withney. En todos los casos se utilizó un nivel de

significancia (α) de 0,05. Adicionalmente y para analizar la respuesta integral a nivel de especie se realizaron ajustes a curvas gaussianas ($y = A_0 + \text{amplitud} \cdot \exp(-0.5 \cdot ((x - \text{media}) / \text{desvío standard})^2)$) entre las tasas de fotosíntesis relativa (fotosíntesis a una temperatura dada de pre-tratamiento/fotosíntesis máxima promedio) y los valores de temperatura de tratamiento.

Adicionalmente y para simplificar el modelado, los datos de fotosíntesis/temperatura se analizaron utilizando la metodología de segmentos de línea recta descrita Draper & Smith (1998) denominada "bastón roto" (del inglés "brocken stick"). Este tipo de modelo permitió la determinación de la amplitud térmica óptima para la actividad fotosintética de ambas especies como el rango de temperaturas en que los valores de la fotosíntesis representan el 90% del valor máximo registrado para cada especie. Dicho modelado se realizó mediante el uso del programa Gnuplot 4.4 (Williams et al., 2009).

4.5. Resultados

La mayor actividad fotosintética promedio se registró a 25° C para *N. nervosa* (13,2 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) y a 18° C para *N. obliqua* (8,8 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) (Fig. 4.56). Ahora bien, cabe destacar, por un lado, que al ajustarse la serie de datos de una y otra especie al modelo gaussiano, las temperaturas óptimas para una y otra especie fueron similares (21,4°C para *N. nervosa* y 21,2°C para *N. obliqua*). En ambas especies los mayores valores absolutos registrados en esta variable se midieron a 25°C (16,0 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ y 12,7 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para *N. nervosa* y *N. obliqua*, respectivamente). La segunda especie mostró un rango más amplio de temperaturas en el cual mantuvo tasas máximas de fotosíntesis (de 18,9 a 22,0° C) mientras que en la segunda especie dicho rango fue menor (de 24,0 a 25,1° C, modelo "brocken stick" en la Fig. 56). Ambas especies presentaron reducciones marcadas en los valores de A_{neta} a -5°C, (94% para *N. nervosa* y 80% para *N. obliqua*), siendo estas reducciones significativas para *N. nervosa* ($p = 0,0209$) y marginalmente significativas para *N. obliqua* ($p = 0,0816$; Fig. 56). Bajo el tratamiento de 0°C por un periodo de 4 horas esta última especie presentó una marcada tendencia en reducción de los valores de A_{neta} (53% de la A_{neta} bajo el tratamiento de 18°C; tendencia marginalmente significativa, $p = 0,0580$), no así *N. nervosa*. A mayores temperaturas, pudo observarse que *N. nervosa* mostró mayores valores de A_{neta} y mayores valores de conductancia estomática ($g_s = 0,324 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, 67% más que las plantas bajo el tratamiento de 18°C) bajo el tratamiento de 25°C en comparación a las plantas bajo el tratamiento testigo ($p = 0,0295$), no así en *N. obliqua*. Las altas temperaturas (40°C) tuvieron un efecto negativo sobre la A_{neta} solo en el tratamiento de larga duración (4 horas), presentando diferencias significativas en el caso de *N. nervosa* ($p = 0,0309$; 48% de la A_{neta} bajo el tratamiento de 18°C) y marginalmente significativa en *N. obliqua* ($p = 0,0815$, 51% de la A_{neta} bajo el tratamiento de 18°C). En aquellos casos en que existieron reducciones en A_{neta} a altas temperaturas (> 18°C) estas diferencias se registraron conjuntamente con reducciones en las tasas de conductancia estomática (g_s ; $p < 0,05$), principalmente en *N. nervosa*. Ahora bien, estas reducciones en todos los casos fueron mayores al compararlas con los modelos g_s - A_{neta} registradas en los capítulos anteriores (estrés hídrico, Cáp. 2 y estrés lumínico, Cáp. 3; Fig. 57).

A bajas temperaturas, cuando existieron diferencias en las tasas de conductancia estomática, las plantas bajo el tratamiento testigo presentaron menores valores que las plantas los distintos tratamientos térmicos (-5, 0 y 5°C para *N. nervosa* y 5°C para *N. obliqua*).

Bajo altas temperaturas (mayores a 18°C), exceptuando el caso de *N. nervosa* a 25°C en donde las tasas de transpiración fueron un 37% más altas que en el tratamiento de 18°C, tanto *N. nervosa* como *N. obliqua* redujeron las tasas de dicha variable. Bajo temperaturas bajas, exceptuando el tratamiento de 0°C por 4 horas en *N. obliqua* y el de -5°C para *N. nervosa* la tendencia observada fue la de incrementar dicha variable en relación a las plantas bajo el tratamiento de 18°C.

Los valores de respiración en la oscuridad (Rd) fueron similares entre los plantines testigo (18°C) y los de los diferentes tratamientos térmicos ($p > 0.05$), variando entre 0,6 y 1,6 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para *N. nervosa* y entre 0,9 y 1,6 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para *N. obliqua*.

En referencia a la EUA, solo existieron diferencias entre tratamientos para *N. nervosa* ($p_{18,-5^\circ\text{C}} = 0,0034$; $p_{18,35^\circ\text{C}} = 0,0020$) disminuyendo un 92% en el primero de los casos y aumentando un 33% en el segundo en relación a las plantas bajo el tratamiento de 18°C.

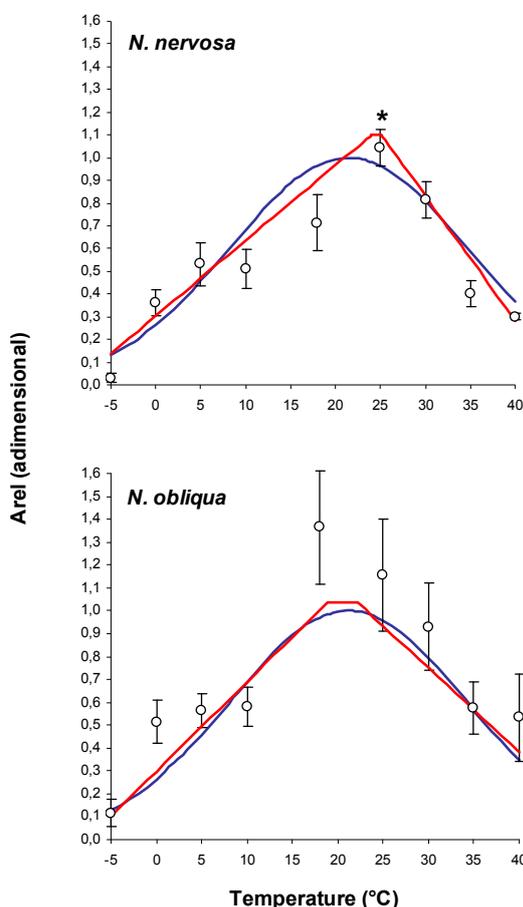


Figura 56. Fotosíntesis relativa (A/A_{max} ; adimensional \pm e. s. = error estándar) en relación a la temperatura de pre-tratamiento (°C, 2 horas) para *N. nervosa* y *N. obliqua*. Las curvas azules en el gráfico muestran el ajuste de la serie de datos para una y otra especie a una curva gaussiana ($A_{\text{rel}} = \text{Amp} \cdot \exp(-0.5 \cdot ((T^\circ - \text{media})/ds)^2)$). La línea roja en cada uno de los gráficos muestra el ajuste de la serie de datos a un modelo del tipo "brocken stick". Los asteriscos sobre el gráfico muestran las diferencias halladas entre las tasas de fotosíntesis de plantas a 18°C y las plantas bajo los diferentes tratamientos térmicos para *N. nervosa*. Las diferencias en los tratamientos de larga duración (4 hs) se detallan en el texto.

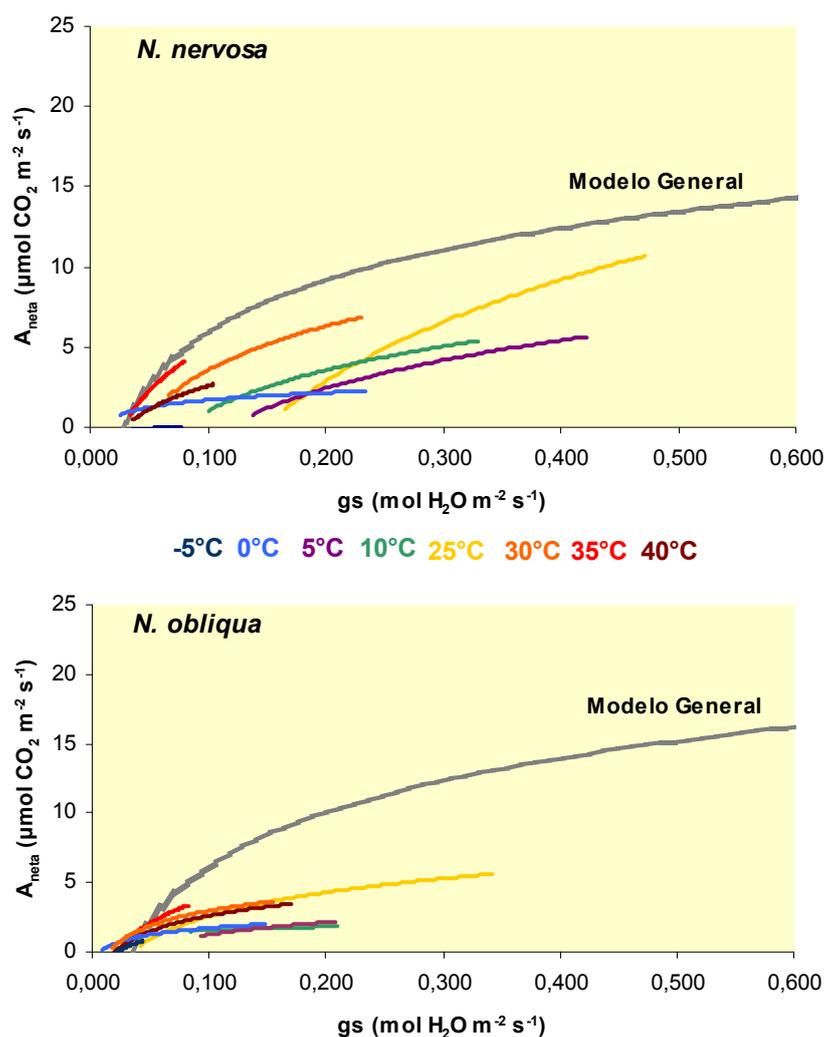


Figura 57. Relación existente entre la tasa de fotosíntesis (A_{net}) y la conductancia estomática (g_s) en función de condiciones de luz, temperatura y radiación óptimas (Modelo general, línea negra) y de los diferentes tratamientos de temperatura (T ; °C) para *N. nervosa* y *N. obliqua*.

4.6. Discusión

La fotosíntesis es un proceso dependiente de la temperatura, existiendo para cada especie vegetal una temperatura óptima. En respuesta a pequeños y cortos cambios en la temperatura ambiente (distintas de la óptima), la actividad fotosintética se reduce. Bajo las condiciones climáticas actuales a las que las especies del presente trabajo están sometidas en sus habitats de distribución natural el estrés hídrico y térmico (heladas en invierno, primavera e incluso en verano) constituyen factores determinantes de la instalación y supervivencia de las fases iniciales del desarrollo como también sobre otras propiedades fisiológicas relacionadas con el balance hídrico y resistencia a los factores

ambientales (Alberdi, 1987). Adicionalmente, bajo un escenario de cambio climático donde la severidad de eventos extremos se incrementa a futuro (IPCC, 2008) el conocimiento de la respuesta de estas especies ante distintos factores ambientales cobra importancia. Adicionalmente, la tolerancia fisiológica de las plantas a la temperatura es a menudo utilizada para modelar su distribución geográfica (Box, 1981; Cunningham & Read, 2006).

En el presente experimento pudo observarse que las mayores tasas de A_{neta} promedio se dieron en plantas pre-tratadas a 18°C para *N. obliqua* y 25°C para *N. nervosa*, a pesar de que los plantines de ambas especies habían crecido en un ambiente común, pudiendo eliminar así el efecto de aclimatación a condiciones previas de desarrollo foliar. Pese a ello la temperatura óptima estimada por el modelo gaussiano fue similar para ambas especies (21°C). Es sabido que la aclimatación previa que pueda tener una determinada especie a una determinada temperatura condiciona su respuesta ante una nueva temperatura (Haldimann & Feller, 2004). Estudios previos desarrollados por Weinberger & Ramirez (2001) señalaron para *N. nervosa* una alta plasticidad en relación a la temperatura, encontrándose su óptimo en 16° mientras que *N. obliqua* tuvo, de acuerdo a su rango de luminosidad preferido, un óptimo térmico más alto (19°C).

Adicionalmente, en estudios desarrollados por Kohout & Read (2006) los valores de fotosíntesis máxima y temperaturas óptimas para *N. nervosa* concuerdan con las encontradas en el presente trabajo así como también con las de *N. gunni* la única especie decidua del género que no está presente en Sud América. Weinberger & Ramirez (2001) señalan que en ciertos sitios con presencia tanto de *N. nervosa* como de *N. obliqua* se registraron temperaturas máximas semejantes entre especies. Como se registró en el presente trabajo, esta última especie mostró adicionalmente un amplio rango de temperaturas en el cual mantuvo tasas constantes de fotosíntesis (90% de la A_{neta} promedio máxima registrada). Esta posibilidad en *N. obliqua* de mantener tasas de fotosíntesis constantes en un mayor rango de temperaturas indicaría probablemente una mayor adaptación a condiciones climáticas variables en comparación a *N. nervosa*.

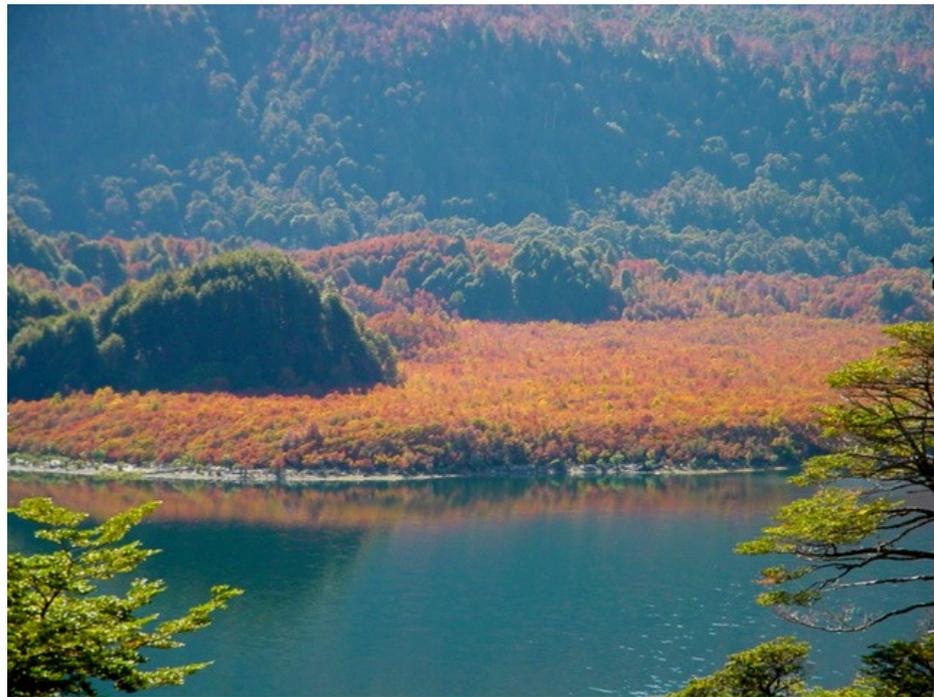
Ambas especies mostraron una alta susceptibilidad al tratamiento de -5 °C, punto térmico luego del cual se registró adicionalmente una alta mortalidad de hojas. Similares resultados fueron registrados por Greer y colaboradores (1989) para plantines de *N. solandri*. Según Weinberger & Ramirez (2001), durante el invierno, la resistencia al frío de ambas especies sería similar, mientras que durante el verano *N. obliqua* mantendría un grado considerablemente más alto de resistencia al frío que *N. nervosa* y que los tejidos de esta última son fácilmente lesionados en forma irreparable si se producen temperaturas de congelamiento (Alberdi, 1996). Esto explicaría en parte el rango de mayores temperaturas a las cuales se da una fotosíntesis máxima para *N. nervosa* en comparación a *N. obliqua*.

Por otra parte, las altas temperaturas (40°C) tuvieron un efecto negativo sobre la A_{neta} solo en el tratamiento de larga duración (4 horas). Este resultado indicaría particularmente que los tiempos de duración de los eventos de temperatura extrema influirían sobre el grado de daño de la planta y así sobre las reducciones en las tasas de fijación de CO₂. Las reducciones en A_{neta} a altas temperaturas se relacionaron adicionalmente con reducciones en las tasas de conductancia estomática (gs; $p < 0,05$), principalmente en *N. nervosa* concordando con los resultados reportados para la especie *Quercus pubescens* por Haldimann & Feller (2004). El incremento gradual en temperatura no generó en este caso alteraciones en la respuesta de la fotosíntesis neta (A_{neta}) al estrés

térmico mostrando que, a corto plazo, no existió en ninguna de las dos especies una aclimatación que permitiese disminuir la inhibición de A_{neta} tanto por bajas como por altas temperaturas.

Uno de los factores ambientales que más afectan el crecimiento (fotosíntesis) y la tasa de respiración de las plantas es la temperatura (Berry & Raison, 1981; Atkin et al., 2005). Es asumido que la relación entre la respiración y la temperatura es exponencial con un Q_{10} constante (es decir, que hay un cambio proporcional de 2 unidades cada 10°C). En el presente trabajo, los valores de respiración en la oscuridad (R_d) fueron similares entre los plantines testigo (18°C) y los de los diferentes tratamientos térmicos ($p > 0,05$), variando entre 0,6 y 1,6 para *N. nervosa* y entre 0,9 y 1,6 para *N. obliqua*. Probablemente la aclimatación por periodos de 2 y 4 horas a una determinada temperatura realizados en este trabajo representen tiempos cortos como para poder observarse variaciones en los valores de dicha variable.

Como se mencionó anteriormente, los escenarios futuros planteados por los modelos de cambio climático predicen aumentos en la temperatura media a nivel global. En función de los resultados obtenidos en el presente trabajo, estos aumentos predecirían un aumento en las tasa de fijación de CO_2 en ambas especies dentro de los rangos de su distribución geográfica actual. Ahora bien, considerándose un espectro más amplio de condiciones de estrés, cabe destacarse que en el experimento realizado en el presente trabajo no se analizó la interacción entre factores de estrés. Es posible que exista una sinergia entre déficit hídrico y alta radiación, o entre déficit hídrico y baja radiación (“sombra seca”) bajo condiciones naturales de campo. Sobre este punto en particular se requieren estudios específicos para poder predecir el funcionamiento de las especies estudiadas ante dichas condiciones.



CAPITULO V

Conclusiones, consideraciones finales y propuestas de trabajos futuros.

El presente trabajo tuvo como objetivo principal el generar conocimiento acerca de los mecanismos o estrategias ecofisiológicas en respuesta a los principales factores ambientales generadores de estrés en el noroeste patagónico en *Nothofagus nervosa* y *N. obliqua*. Estas son dos de las especies nativas que poseen una alta aptitud comercial dada la alta calidad de su madera. Por dicho motivo son actualmente objeto de estudio en programas de domesticación desarrollados por el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) de Argentina. Los objetivos específicos planteados en este trabajo fueron los de : **a)** conocer el rango de requerimientos hídricos, lumínicos y térmicos para la sobrevivencia y el óptimo crecimiento de *N. obliqua* y *N. nervosa* en la fase de plantín, considerada esta última como clave en el proceso de instalación natural o en plantación, **b)** conocer algunos de los mecanismos involucrados en la respuesta a distintas intensidades de estrés hídrico, lumínico y térmico en plantines de distintos orígenes de *N. obliqua* y *N. nervosa*, considerando variables morfológico-alométricas y fisiológicas, **c)** verificar a nivel específico el grado de plasticidad fenotípica que estas especies poseen en relación con las respuestas fisiológicas y morfológicas a distintos tipos e intensidades de estrés y **e)** determinar la existencia de diferencias fisiológicas inter e intra específicas bajo condiciones óptimas, sub óptimas y bajo condiciones de estrés.

En función de estos objetivos y de los resultados encontrados en el presente trabajo pudo verse que niveles leves (ver Cáp. 2) de déficit hídrico en maceta no afectan la capacidad de intercambio gaseoso y el crecimiento de ninguna de las dos especies mientras que niveles de déficit hídrico severos (ver Cáp. 2), poseen un importante impacto sobre la capacidad de fijación de C de ambas especies, y consecuentemente, sobre su crecimiento. Los mayores valores de conductividad hidráulica máxima y menor vulnerabilidad a la cavitación del tallo sugieren que, ante condiciones de escaso déficit hídrico en suelo, pero alta demanda evaporativa, *N. obliqua* poseería una ventaja comparativa frente a *N. nervosa*. Sobre este aspecto, los resultados del presente trabajo están de acuerdo con los mayores valores de conductancia hidráulica a nivel de hoja y la alta correlación encontrada entre ésta y la tasa de conductancia estomática para *N. obliqua* con respecto a *N. nervosa* (Brodbribb et al., 2005). Los aspectos destacados harían pensar que, considerando las características fisiológicas detalladas, los esfuerzos en tareas de plantación, independientemente de los fines posteriores de las mismas, deberían concentrarse en *N. obliqua* dado su mayor potencial de crecimiento en esta etapa juvenil.

Ambas especies presentaron reducciones en la conductancia estomática en respuesta al estrés hídrico severo, pero las diferencias entre plantas testigo y estresadas se dieron siempre en días de altos valores de DPV. Este punto indicaría una sinergia entre los bajos contenidos hídricos en maceta y la alta demanda evaporativa, actuando esta última, como una señal para el cierre estomático. El mecanismo anhisohídrico observado en estas especies sugeriría que más que un mecanismo de tolerancia a sequía, sería una consecuencia de la evolución en ambientes sin escasez de agua en suelo, resultando en una inhabilidad de regulación estomática cuando la señal proviene del mismo.

En ambas especies y en relación a este factor de estrés (hídrico), no se generaron modificaciones marcadas en variables morfológico-alométricas, evidenciándose así un bajo grado de plasticidad y por ende de aclimatación. Esta baja plasticidad al estrés hídrico también se verificó en relación a otras variables fisiológicas (ej. respuesta a embolia / vulnerabilidad a la cavitación). Si se intenta clasificar a ambas especies en base a su respuesta general a estrés

hídrico, es evidente que no poseen ningún mecanismo marcado de tolerancia a la sequía. Por el contrario, son especies en general evitadoras (el cierre estomático se produce a valores relativamente bajos de demanda atmosférica), si bien tampoco puede considerarse que poseen un estricto control estomático capaz de impedir cualquier disfunción del sistema hidráulico. En este sentido, el análisis de sensibilidad estomática mostró que son menos sensibles que lo esperado de acuerdo al grado de vulnerabilidad a la cavitación estudiada en estas especies. Desde el punto de vista de la dicotomía ahorradora-derrochadora, podría clasificarse a las mismas como especies derrochadoras ante condiciones de alta disponibilidad hídrica en el suelo, pasando a ser especies ahorradoras (o evitadoras) cuando el déficit hídrico es marcado, como consecuencia tanto del cierre estomático como por posibles fallas en el sistema de conducción.

La variabilidad intraespecífica registrada en respuesta ante estrés hídrico fue baja en ambas especies, existiendo solo diferencias entre las tasas de supervivencia entre los distintos orígenes por especie. Este último punto sugeriría la necesidad de trabajos futuros en este sentido, aumentando el número de individuos y buscando las causas en variables no analizadas.

En respuesta a la radiación, ambas especies respondieron mejor a condiciones intermedias de sombra (50% de cobertura), produciéndose daños leves o reversibles en el aparato fotosintético por exceso de luz bajo esta condición. Ahora bien, cabe destacar que estos resultados están referidos a la etapa de plantín existiendo probablemente diferencias en la respuesta de individuos adultos, las cuales deben analizarse en el futuro. Si bien las diferencias fisiológicas en cada tratamiento se tradujeron en similares crecimientos netos en diámetro y altura, la incidencia de muerte apical diferencial entre tratamientos sugiere nuevamente que la mejor condición lumínica es la de media sombra. En ambas especies el principal mecanismo de aclimatación a condiciones de alta irradiancia se relacionaría con el hecho de poder producir tanto hojas preformadas como neoformadas (ver Cáp. 3 para definición de las mismas). Estas últimas presentarían una ventaja funcional en relación a las hojas preformadas debido, probablemente, al hecho de poseer un mayor contenido de sustancias de protección contra el exceso de energía, promoviendo así menores tasas de fotoinhibición y mayores tasas de actividad fotosintética. La formación de los dos tipos de hojas otorgaría una ventaja adaptativa siendo las hojas preformadas las que soportarían las condiciones ambientales a comienzos de la temporada de crecimiento y las hojas neoformadas, mediante una transmisión de un ajuste por aclimatación que realizaron otros tejidos (brote), poseerían la capacidad de aclimatación a las condiciones medioambientales desde mitades y hacia fines de la temporada de crecimiento. En referencia a las curvas $A_{\text{neto}} - \text{RFA}$, si bien no se registraron diferencias significativas, se observó una leve tendencia de respuesta a la sombra, modificándose los valores de A_{max} , rendimiento cuántico aparente (RC) y punto de compensación lumínico (PCL). Sin embargo, tanto la *performance* de las hojas neoformadas con respecto a las preformadas, así como las reducciones en los valores de AFE, en ambos casos bajo la condición de pleno sol, sugieren que los mayores cambios (mayor plasticidad) en respuesta a la radiación estarían principalmente relacionados con la respuesta a alta irradiancia más que a baja irradiancia.

En relación a la respuesta a temperatura, en el presente trabajo pudo observarse que las mayores tasas de fotosíntesis neta promedio se dieron a 18°C para *N. obliqua* y 25°C para *N. nervosa*. Pese a ello, la temperatura óptima estimada por el modelo gaussiano fue similar para ambas especies (21°C). En

relación al modelo del tipo “broken stick”, *N. obliqua* mostró un amplio rango de temperaturas en el cual mantuvo tasas constantes de fotosíntesis, punto que indicaría una mayor adaptación a condiciones climáticas variables en comparación a *N. nervosa* (rango más acotado). Debido a las altas tasas fotosintéticas registradas a temperaturas mayores a la temperatura media que experimentan estas especies en sus sitios de distribución natural y ante escenarios climáticos que predicen incrementos en la temperatura media, las dos especies se verían beneficiadas por el efecto de este factor ambiental. Pese a ello, nuevamente, la consideración de sinergia de factores de estrés bajo condiciones ambientales debe ser considerada en futuros trabajos. Las bajas temperaturas (-5°C) generaron un efecto marcado sobre las tasas de fijación de ambas especies, registrándose adicionalmente una alta mortalidad de hojas. Por otro lado, las altas temperaturas (40°C) tuvieron un efecto negativo sobre la A_{neta} sólo en el tratamiento de larga duración (4 horas). Este resultado indicaría particularmente que tanto la intensidad como los tiempos de duración de los eventos de temperatura extrema influirían sobre el grado de daño de la planta y así sobre las reducciones en las tasas de fijación de CO_2 . A corto plazo, no existió en ninguna de las dos especies una aclimatación que permitiese disminuir la inhibición de A_{neta} tanto por bajas como por altas temperaturas.

En parte, el comportamiento no muy tolerante a estrés detectado en estas especies se condice con la acotada distribución geográfica actual que poseen. De esta manera, la conservación de las poblaciones naturales de ambas especies podría verse amenazada en función de los escenarios climáticos predichos por los modelos de cambio climático. En este sentido y si bien existe aún incertidumbre al respecto, con el estado actual del conocimiento, *N. obliqua* parecería poseer una mayor potencialidad en respuesta a los distintos factores de estrés considerados, siendo necesarios mayores esfuerzos de investigación en esta especie en relación a *N. nervosa* así como en aspectos relacionados con la tolerancia en estados más avanzados de crecimiento en ambas especies.

En función de seleccionarse aquellas condiciones de sitio favorables para la plantación con dichas especies, los resultados obtenidos por Davel et al. (2003) en ensayos de plantación en un sitio con una precipitación media de 800 mm/año indican que éste no fue adecuado para *N. nervosa*, presentando una alta mortalidad apical y un alto grado de rebrote desde la base, no así *N. obliqua*, resultados que concuerdan adicionalmente con la mayor aptitud hidráulica y de maquinaria fotosintética del presente trabajo. Estos mismos autores señalan el hecho de que en años secos, con altas temperaturas, aquellos plantines que poseían cobertura de árboles y/o arbustos presentaron mayores prendimientos (87% de supervivencia) en relación a los plantines plantados a cielo abierto (5,5% de supervivencia). Asimismo, en sitios con mayores precipitaciones (1200 mm/año) o suelos de textura más fina (franco-limoso) los prendimientos y crecimientos de una y otra especie fueron similares entre sí. Nuevamente en relación al aspecto antes mencionado de baja tolerancia a estrés registrado para estas especies, los patrones de distribución actual muestran que la textura, la profundidad efectiva del suelo y la exposición del terreno aparecen también como aspectos a considerar en la elección de sitios de plantación. En general se observan buenos comportamientos de las pocas plantaciones experimentales en suelos de textura franca y profundos en laderas protegidas (S-SE), no así en suelos predominantemente arenosos (baja retención hídrica), poco profundos y en exposiciones O-NO. Sumado a esto, Wardle (1984) sugiere que las especies del género *Nothofagus* son capaces de tolerar condiciones más severas que muchas otras especies de los bosques, pero sus plantines poseen una baja habilidad competitiva por lo cual el factor de competencia con las restantes

especies de sotobosque debería ser considerado a futuro. Los resultados de respuesta estomática observados en el presente trabajo permiten entender, al menos en parte, los patrones encontrados en los experimentos mencionados.

Desde el punto de vista evolutivo, en trabajos como el de Manos (1997) se presentan análisis filogenéticos del género *Nothofagus* en base a caracteres morfológicos y moleculares que podrían servir de base para la comparación, bajo un marco teórico filogenético, de la respuesta a estrés de las especies estudiadas en la presente tesis en relación con el resto de las especies del género. Así también este marco posibilita la comparación entre especies siempreverdes y deciduas dentro del género. Un primer estudio comparativo en relación a potencialidad fotosintética y respuesta a luz es el realizado por Read & Hill (1985) para las especies *N. gunnii*, *N. cunninghamii*, *N. nervosa*, *N. obliqua* y *N. dombeyi*, que se corresponden con los resultados posteriores para *N. gunnii* reportados por Tausz et al. (2004). Estos autores sostienen que la principal diferencia entre especies sudamericanas del género y las especies del sudeste de Australia y Tasmania radica en las condiciones ecológicas bajo las cuales regeneran, especialmente la presencia de distintos grupos de especies competidoras. Así, las especies sudamericanas quedarían relegadas a ambientes más sombreados que en el caso de las especies de Oceanía, debido principalmente a su peor *performance* frente a especies pioneras presentes en el primer caso.

Las diferencias encontradas entre especies en respuesta a la luz parecerían no tener un correlato directo con la cercanía o lejanía a nivel filogenético entre las mismas. Tanto las especies deciduas como las especies siempreverdes presentan respuestas similares pese a pertenecer a subgéneros diferentes (ver Fig. 58), presentando adicionalmente las primeras mayores valores de A_{max} (Kohout & Read, 2006).

Estudios comparativos de la discriminación isotópica de carbono a nivel de hoja (variable indicadora de la eficiencia en el uso del agua) en 22 especies del género colectadas en Sudamérica, Nueva Zelanda, Australia, Nueva Guinea y Nueva Caledonia creciendo bajo condiciones comunes semi-controladas (Read & Farquhar, 1991), muestran que la variación genéticamente determinada en la eficiencia en el uso del agua entre las diferentes especies provenientes de bajas y altas latitudes se correlacionaría fuertemente con las diferencias en las condiciones climáticas de origen de cada especie y, particularmente, con las precipitaciones de verano. En función del registro fósil (polen, Pleistoceno), Auer (1958) destaca que *N. nervosa* tendría un origen más údico, mientras que *N. obliqua* se habría también desarrollado bajo condiciones más xéricas. Consideramos que los resultados obtenidos en el presente trabajo concuerdan con los registros previos para especies deciduas, siendo importante a futuro la evaluación de la sinergia entre distintos tipos de estrés ambiental, punto que no ha sido considerado en detalle en los estudios existentes hasta la fecha.

En general, considerando la fase de plantín, crucial para el establecimiento de la regeneración natural o de una plantación, nuestros resultados sugieren, como se mencionó anteriormente, una ventaja adaptativa de *N. obliqua* en comparación a *N. nervosa*, tanto en condiciones de temperatura como de disponibilidad hídrica variables. Nuevamente, si bien existe incertidumbre al respecto, el estado actual del conocimiento serviría de base para la decisión de ahondar en aspectos ligados a la domesticación y tareas de plantación con *N. obliqua*. Adicionalmente, las características ecofisiológicas observadas en ambas especies se corresponden con aquellas mencionadas para especies leñosas con relativamente baja resistencia al estrés, sugiriendo la necesidad de reforzar los esfuerzos en investigaciones de sinergia entre factores

de estrés si se piensa en el cultivo de las mismas fuera de su zona de distribución natural, o en su respuesta potencial ante el cambio climático.

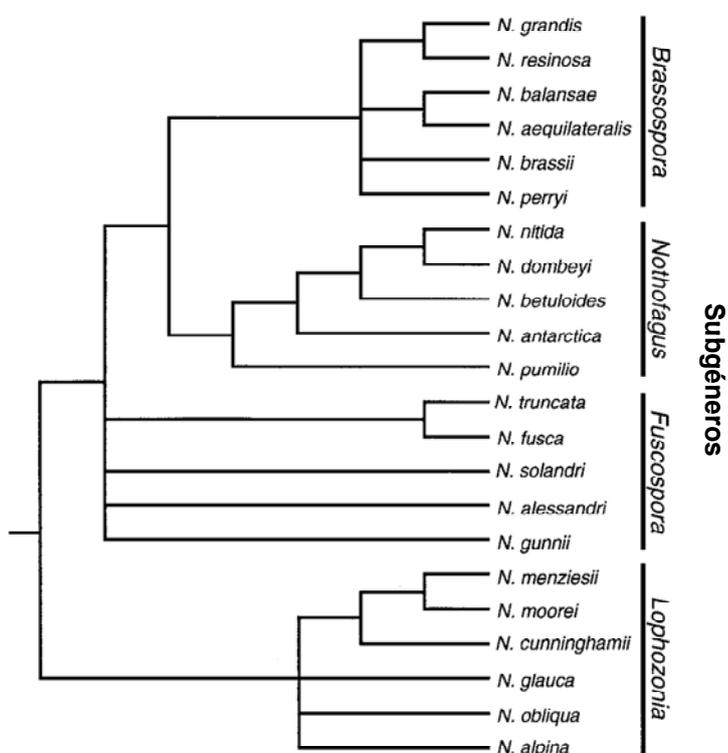


Figura 58. Árbol filogenético para las distintas especies del género *Nothofagus* basado en el análisis conjunto de caracteres morfológicos, rADN, secuencias ITS y ADN de cloroplasto. Tomado de Manos (1997). En la figura *N. nervosa* aparece con su denominación anterior, *N. alpina*.

Como material de estudio en la presente tesis se utilizaron plantines, lo cual limita hasta cierto punto la interpretación de los resultados y la extrapolación de las respuestas a niveles de desarrollo distintos a éstos. Pese a ello, el estudio de caracteres fisiológicos y morfológicos en individuos juveniles estudiados en el presente trabajo junto al proveniente de individuos maduros podría permitir el desarrollo de modelos de fijación de C (crecimiento).

Para especies como las analizadas en el presente trabajo, limitadas en su rango de distribución natural (rango en el que además no experimentan grandes efectos de estrés ambiental) este punto cobra aún más importancia, apuntando al mantenimiento de las especies independientemente del objetivo ulterior (fines productivos, paisajísticos, conservación, etc.). Otro aspecto a considerar a la hora de extraer conclusiones del presente trabajo, es el hecho de que, para tener un mayor control del efecto de los factores de estrés ambiental por separado, los experimentos deberían realizarse bajo condiciones de campo o al menos bajo condiciones de cantero común, adicionándose al conocimiento de la respuesta en macetas. Es sabido que el comportamiento de las plantas en condiciones de suelo (campo) puede variar con respecto al de las mismas plantas en maceta. Principalmente el poco área de exploración que las raíces tienen en la maceta condiciona mucho la tasa de respuesta de las mismas. De acuerdo al tamaño-edad de los plantines y el tamaño de las macetas con que se

trabajó en este estudio, consideramos que este factor no fue limitante desde el punto de vista de condicionar la respuesta de los plantines frente a los diferentes factores de estrés. Ahora bien, futuros estudios deben contemplar este aspecto. Como se mencionó anteriormente, considerándose un espectro más amplio de condiciones de estrés, cabe destacar que el presente trabajo no contempló la interacción entre factores de estrés. Es posible que exista una sinergia entre déficit hídrico y alta radiación, o entre déficit hídrico y baja radiación (“sombra seca”) bajo condiciones naturales de campo, que requiere estudios específicos para poder predecir el funcionamiento de las especies estudiadas ante dichas condiciones. *A priori* es posible esperar efectos más marcados aún que los observados en el presente trabajo. En función de obtener a futuro plantines con mayor adaptabilidad a las condiciones de campo, aspectos tales como diferentes suplementos dietarios bajo la técnica de fertirriego, tipos de contenedores, sustratos, etc. deben ser evaluados a futuro, atendiendo a analizar si su uso diferencial impacta en posibles modificaciones morfo-fisiológicas que confieran ventajas frente a condiciones de estrés.

En función de establecer líneas de trabajo a futuro y a partir de los resultados del presente trabajo de tesis, se plantean a continuación hipótesis y predicciones a ser consideradas:

A) En relación a estrés hídrico:

Hipótesis 1) La falta de sensibilidad estomática ante bajos contenidos de agua en suelo (maceta) y bajos valores de DPV, así como la respuesta estomática (cierre estomático) ante la combinación de bajos contenidos de agua y altos valores de DPV establecen tanto en N. nervosa como en N. obliqua un cambio de mecanismo de “especie derrochadora” a “especie ahorradora” dependiente de las condiciones climáticas imperantes.

Predicción 1) Ambas especies poseerán mayores valores de conductancia estomática bajo condiciones de baja disponibilidad hídrica y bajos valores de DPV y viceversa, es decir, presencia de cierre estomático bajo la combinación de altos valores de DPV y bajos contenidos de humedad en suelo.

Hipótesis 2) El carácter údico de los suelos en sitios de distribución actual de las especies N. nervosa y N. obliqua, (es decir con nulo o escaso déficit hídrico debido, en parte, al origen volcánico de los suelos muy profundos, con mucha capacidad de almacenamiento de agua) condiciona la cantidad y el tipo de mecanismos de respuesta a estrés hídrico.

Predicción 2) Se espera para las especies N. nervosa y N. obliqua creciendo en suelos méxicos y xéricos una menor productividad y supervivencia en comparación a suelos údicos.

B) En relación a estrés lumínico:

Hipótesis 3) La posibilidad de formación de hojas del tipo neoformadas, con la capacidad de poseer un mayor contenido de sustancias de protección contra el exceso de energía en relación a hojas preformadas, otorga tanto a N. obliqua como a N. nervosa un mecanismo de aclimatación ante condiciones de alta irradiancia a lo largo de la temporada de crecimiento.

Predicción 3.1) Las hojas neoformadas de ambas especies poseerán un mayor contenido de sustancias de protección contra el exceso de energía (e. g. violaxantofilas, anteroxantinas, zeaxantinas) en comparación a hojas preformadas.

Predicción 3.2) A largo plazo y en ambas especies se esperan valores similares de supervivencia en sitios con diferentes niveles de cobertura bajo similares niveles de humedad en suelo.

C) En relación a estrés térmico, hídrico y lumínico:

Hipótesis 4) La capacidad de mantenimiento de mayores tasas de fotosíntesis máximas en un rango mas amplio de temperaturas, sumado a la mayor conductividad hidráulica que N. obliqua posee en relación a N. nervosa junto a la respuesta a condiciones de alta irradiancia que esta especie posee, indican una mayor potencialidad de adaptación de la primer especie ante las condiciones climáticas futuras predichas por los modelos de cambio climático para Patagonia.

Predicción 4.1) N. obliqua poseerá mayores tasas de supervivencia y crecimiento ante condiciones de sinergia entre factores de estrés (altas temperaturas, estrés hídrico y alta irradiancia) en comparación a N. nervosa.

Predicción 4.2) N. obliqua presentara mayores tasas de supervivencia y crecimiento bajo condiciones de plantación en sitios de alta demanda ambiental en comparación a N. nervosa.

D) En función de explicar el patrón de distribución actual y futuro de distribución de las especies de estudio:

Hipótesis 5) La baja habilidad competitiva de las especies N. nervosa y N. obliqua por sobre otras especies del bosque andino patagónico, incluso menos tolerantes a estrés ambiental, condiciona la ocupación diferencial de nichos entre estas especies y especies altamente competidoras.

Predicción 5) En sitios con una mayor exclusión competitiva y con un estrés ambiental leve a moderado el establecimiento, supervivencia y crecimiento de N. nervosa y N. obliqua será mayor en comparación a sitios sin exclusión.

Bibliografía.

- Abrams**, M. D. 1990. Adaptations and responses to drought in *Quercus* species of North America. *Tree Physiology*. 7: 227-238.
- Acevedo**, E.; Silva, P. & Silva. H. 1999. Wheat production in mediterranean environments. En: Satorre EH & GA Slafer (Eds.) *Wheat ecology and physiology of yield determination*: 295-331. The Haworth Press, New York, New York, USA.
- Ackerly**, D.; Knight, C.; Weiss, S.; Barton, K & Starmer, K. 2002. Leaf size, specific leaf area and microhabitat distribution of chaparral woody plants: contrasting patterns in species level and community level analyses. *Oecologia* 130: 449-457.
- Addicott**, F. T. 1968. Environmental factors in the physiology of abscission. *Plant Physiol.* 43: 1471-1479.
- Adir**, N.; Zer, H.; Shochat, S. & Ohad, I. 2003. Photoinhibition - a historical perspective. *Photosynthesis Research* 76:343-370.
- Aguilera**, F. & Fehlandt, A. 1981. Desarrollo inicial de *Nothofagus alpina* (Poepp. et Endl.) Oerst. *Nothofagus obliqua* (Mirb.) Bl., y *Nothofagus dombeyi* (Mirb.) Bl., bajo tres grados de sombra. Tesis de grado. Universidad Austral de Chile. Facultad de ingeniería Forestal. 101 pp.
- Alarcón**, C. & Díaz, M. 1993. Hydric and nutritional relation of *Prosopis juliflora* DC (Fabaceae, Mimosoideae) in Semiarid parts of Falcon state, Venezuela. *Revista De Biología Tropical* 41: 433-441.
- Alberdi**, L. M. 1987. Ecofisiología de especies Chilenas del genero *Nothofagus*. *Bosque* 8(2):77-84
- Alberdi**, M. 1996. Ecofisiología de especies leñosas de los bosques higrófilos templados de Chile: Resistencia a la sequía y bajas temperaturas. En: Armesto, J. J; Villagrán, C.; Arroyo, M. (Eds.) *Ecología de los bosques nativos de Chile*. Editorial Universitaria, Santiago, pp 279-299.
- Andenmatten**, E. & Letourneau, F. 2004. Establecimiento y crecimiento inicial de "pino ponderosa" en la zona subhúmeda a seca de los andes patagónicos. PIA 12/98. Investigación forestal al servicio de la producción II. SAGPyA, Proyecto Forestal de desarrollo. 260 pp.
- Anderson**, J. M. & Osmond, C. B. 1987. Shade-sun responses: compromises between acclimation and photoinhibition. En: Kyle, D. M.; Osmond, C. B.; Arntzen, C. J. (Eds.) *Photoinhibition*. Elsevier, Amsterdam, 1544 pp.
- Anderson**, J. M.; Youn-II, P. & Wah Soon Chow, W. 1998. Unifying model for the photoinactivation of Photosystem II *in vivo* under steady-state photosynthesis. *Photosynthesis Research* 56: 1-13.
- Aranda**, I.; Gil, L. & Pardos, J. A. 2004. Osmotic adjustment in two temperate oak species [*Quercus pyrenaica* Willd and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl] of the Iberian Peninsula in response to drought. *Invest. Agrar.: Sist. Recur. For.* 13 (2): 339-345.
- Araus**, J. L. & Hogan, K. P. 1994. Comparative leaf structure and patterns of photoinhibition of the neotropical palms *Scheelea zonensis* and *Socratea durissima* growing in clearings and forest understory during the dry season in Panama. *American Journal of Botany* 81: 726-738
- Atkin**, O. K.; Scheurwater, I. & Pons, T. L. 2006. High thermal acclimation potential of both photosynthesis and respiration in two lowland *Plantago* species in contrast to an alpine congeneric. *Global Change Biology* 12: 500-515
- Atkin**, O. K.; Bruhn, D.; Hurrey, V. M. & Tjoelker, M. G. 2005. The hot and the cold: unraveling the variable response of plant respiration to temperature, *Functional Plant Biology*, 32: 87-105
- Auer**, V. 1958. The Pleistocene of Fuego-Patagonia. Part II. The history of the flora and vegetation. *Annales Academiae Scientiarum A III*, 50: 1-239.
- Azpilicueta**, M. M.; Lozano, L.; González Peñalba, M. & Gallo, L. 2007. La importancia de los estudios genéticos en la conservación y el manejo de nuestros recursos forestales. El caso del Roble estepario. *Revista Presencia*. Ediciones Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. XVII-51 36-38.

- Azpilicueta**, M. M. & Gallo, L. 2009. Evidence for a recent genetic bottleneck in a marginal population of a Southern Beech in Patagonia, Argentina. Enviado a la revista *New Forests*.
- Bachelard**, E. P. 1986. Effects of soil moisture stress on the growth of seedlings of three eucalypt species. II Growth effects. *Australian Forest Research* 16:51-61.
- Backes**, K. & Leuschner, C. 2000. Leaf water relations of competitive *Fagus sylvatica* and *Quercus petraea* trees during 4 years differing in soil drought. *Can. J. For. Res.* 30: 335-346.
- Barbero**, F. 2008. Desarrollo de un Sistema de Información Geográfica (SIG) para determinar áreas potenciales de cultivo de *Nothofagus nervosa* ("Raulí") y *Nothofagus obliqua* ("Roble Pellín") en la Provincia de Río Negro a nivel de pre-factibilidad. Informe de Trabajo Final. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales Universidad Nacional de La Plata. 27 pp.
- Barthélémy**, D.; Puntieri, J. G.; C. Brion, C.; Raffaele, E.; Marino, J. & Martínez, P. 1999. Morfología de las unidades estructurales y modo de desarrollo básico de especies patagónicas de *Nothofagus* (Fagaceae). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 34: 29-38.
- Basso**, I. 1997. Establecimiento de raulí (*Nothofagus alpina*): factores de éxito. *Chile Forestal*, año XXII, N° 255. 22-27.
- Baver**, L. D.; Gardner, W. H. & Gardner, W. R. 1972. *Soil Physics*. Ed. J. Wiley & Sons. 495 pp.
- Beckage**, B. & Clark, J. S. 2003. Seedling survival and growth of three forest tree species: The role of spatial heterogeneity. *Ecology* 84:7 1849-1861.
- Beckage**, B.; Clark, J. S.; Barton, D. & Haines, B. L. 2000. A long-term study of tree seedling recruitment in southern Appalachian forests: the effects of canopy gaps and shrub understories. *Can. J. For. Res.* 30(10):1617-1631
- Berry**, J. A. & Björkman, O. 1980. Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. *Annu Rev Plant Physiol* 31:491-543.
- Berry**, J. & Raison, J. J. 1981. Responses of macrophytes to temperature. En: Lange, O. L.; Nobel, P. S. & Osmond, C. B.; Ziegler, H. (Eds.) *Physiological plant ecology I. Responses to the physical environment*, Vol. 12A. Springer-Verlag, Berlin, 277-338 pp.
- Bilger**, W.; Schreiber, U. & Bock, M. 1995. Determination of the quantum efficiency of photosystem II and of non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence in the field. *Oecologia* 102:4 425-432.
- Björkman**, O. & Demmig-Adams, B. 1987. Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta* 170:489-504.
- Björkman**, O. & Demmig-Adams, B. 1994. Regulation of photosynthetic light energy capture, conversion, and dissipation in leaves of higher plants. En: Schulze E-D and Caldwell MM (Eds.) *Ecophysiology of Photosynthesis*, Springer, Berlin. 17-47 pp.
- Blum**, A. 1996. Crop responses to drought and the interpretation of adaptation. *Plant Growth Regulation* 20:135-148.
- Boardman**, N. K. 1977. Comparative photosynthesis of sun and shade plants. *Annual Review Plant Physiology* 28:355-377.
- Bohnert**, H. J. & Jensen, R. G. 1996. Strategies for engineering water-stress tolerance in plants. *Trends Biotechnol* 14:89-96.
- Box**, E. O. 1981. *Macroclimate and Plant Forms: An Introduction to Predictive Modeling in Phytogeography*, Dr. W. Junk Publishers, The Hague, Netherlands.
- Boyer**, J. S.; Armond, P.A. & Sharp, R. E. 1987. Light stress and leaf water relations. En: Kyle, D. J.; Osmond, C. B. & Arntzen, C. J. *Photoinhibition* (Eds.), Elsevier Science Publishers, Amsterdam. 25-37 pp.
- Bréda**, N.; Huc, R.; Granier, A. & Dreyer, E. 2006. Temperate forest trees and stands under severe drought: a review of ecophysiological responses, adaptation processes and long-term consequences. *Ann. For. Sci.* 63, 625-644.
- Broker**, H. B.; Campbell, J.; Cunningham, R.; Denholm, D.; Elber, G.; Fearick, R.; Grammes, C.; Hart, L.; Hecking, L.; Koenig, T.; Kotz, D.; Kubaitis, E.; Lang, R.; Lecomte, T.; Lehmann, A.; Mai, A.; Merritt E.; Mikulík, P.; Steger, C.; Tkacik, T.; Van

der Woude, J.; Woo, A.; Van Zandt, J. & Zellne, J. 2009. Gnuplot 4.4 Manual. An Interactive Plotting Program. 224 pp.

- Brodribb**, T. J.; Holbrook, N.M.; Zwieniecki, M. A. & Palma, B. 2005. Leaf hydraulic capacity in ferns, conifers and angiosperms: impacts on photosynthetic maxima. *New Phytologist* 165:839-846.
- Bucci**, S. J.; Goldstein, G.; Meinzer, F. C.; Scholz, F. G.; Franco, A. C. & Bustamante, M. 2004. Functional convergence in hydraulic architecture and water relations of tropical savanna trees: from leaf to whole plant. *Tree Physiology* 24:891–899.
- Bunce**, J. A. 2000. Acclimation to temperature of the response of photosynthesis to increased carbon dioxide concentration in *Taraxacum officinale*. *Photosyn. Res.* 64:89-94
- Campbell**, G. S. & Norman, J. M. 1998. An introduction to Environmental Biophysics. Springer-Verlag, New York.
- Casaroli**, D. & Jong Van Lier, Q. 2008. Criteria for pot capacity determination. *R. Bras. Cie. Solo.* 32: 1 59-66.
- Chauchard**, L.; Gonzalez Peñalba, M.; Maresca, L.; Rabino, A. & Sbrancia, R. 1996. Informe Final Proyecto Dinámica y manejo de bosque de *Nothofagus*. San Martín de los Andes. UNC-INTA-APN. 93 pp.
- Chauchard**, L.; Sbrancia, R.; González Peñalba, M.; Rabino, A.; Maresca, L. & Blacher, C. 1997. Dinámica y manejo del bosque de *Nothofagus*. Informe final de Proyecto. Universidad Nacional del Comahue-Administración de Parques Nacionales-Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. 93 pp.
- Chaves**, M. M. 1991. Effects of water deficits on carbon assimilation. *J. Exp. Bot.* 42:1-16.
- Clifford**, S. C.; Arndt, S. K.; Corlett, J. E.; Joshi, S.; Sankhla, N.; Popp, M. & Jones, H. G. 1998. The role of solute accumulation, osmotic adjustment and changes in cell wall elasticity in drought tolerance in *Ziziphus mauritiana* (Lamk.), *J. Exp. Bot.* 49: 967–977
- Cochard**, H.; Breda, N. & Granier, A. 1996. Whole tree hydraulic conductance and water loss regulation in *Quercus* during drought: evidence for stomatal control of embolism? *Annales des Sciences Forestieres.* 53, 197-206.
- Cochard**, H.; Coll, L.; Le Roux, X. & Améglio, T. 2002. Unraveling the effects of plant hydraulics on stomatal closure during water stress in walnut. *Plant Physiol* 128:282-290.
- Collet**, C. & Guehl, J. M. 1997. Osmotic adjustment in sessile oak seedlings in response to drought. *Ann Sci For* 54:389-394.
- Coopman**, R.; Reyez-Díaz, M., Briceño, V. F.; Corchera, L. J., Cabrera H. M. & Bravo, L. 2008. Changes during early development in photosynthetic light acclimation capacity explain the shade to sun transition in *Nothofagus nitida*. *Tree Physiology* 28:1561-1571.
- Corcuera**, L.; Camarero, J. J. & Gil-Pelegrín, E. 2002. Functional groups in *Quercus* species derived from the analysis of pressure–volume curves. *Trees* 16:465–472.
- Corcuera**, L. 2003. Respuesta al clima de distintas especies del género *Quercus*: Estructura y funcionamiento comparado. PhD Thesis, University of Lérida, Spain.
- Craufurd**, P. Q.; Wheeler, T. R.; Ellis, R. H.; Summerfield, R.J. & Williams, J. H. 1999. Effect of temperature and water deficit on water-use efficiency, carbon isotope discrimination, and specific leaf area in peanut. *Crop Science* 39:136-142.
- Cunningham**, S. & Read, J. 2003. Comparison of temperate and tropical rainforest tree species: growth responses to temperature. *Journal of Biogeography* 30 (1):143-153.
- Cunningham**, S. C. & Read, J. 2006. Foliar temperature tolerance of temperate and tropical evergreen rain forest trees of Australia. *Tree Physiology* 26:1435-1443.
- Danby**, N.P. 1991. *Nothofagus* in Wales. *Quart. J. Forestry* 2:103–116.
- Davel**, M.; Urretavizcaya, M. F.; Contardi, L.; De María, G.; Lugano, L. & Mondino, V. 2001. Establecimiento y evaluación de plantaciones de especies nativas de madera de calidad en el noroeste de la provincia de Chubut. Informe final del PIA 05/98. SAGPyA, CIEFAP, INTA y UNPSJB. 47 pp.

- Davel**, M.; Urretavizcaya, M. F.; Contardi, L.; De María, G.; Lugano, L. & Mondino, V. 2003. Establecimiento de Plantaciones de Raulí y Roble Pellín en Chubut y Río Negro. Ficha Técnica. CIEFAP, Patagonia Forestal IX, N°2, 9-12.
- Davel**, M.; Urretavizcaya, M. F.; Contardi, L. & De María, G. 2004. Establecimiento de plantaciones de especies nativas de madera de calidad en el noroeste de la provincia de Chubut. Investigación Forestal al Servicio de la Producción II. Resultados aplicables al cultivo de bosques y la producción de madera en Argentina. SAGPyA-Proyecto Forestal de Desarrollo. 260 pp
- Deans**, J.D.; Billington, H. L. & Harvey, F. J. 1992. Winter frost hardiness of two Chilean Provenances of *Nothofagus procera* in Scotland. *Forestry* 65(2):205-212.
- Demmig-Adams**, B.; Adams, W. W.; Barker, D. H.; Logan, B. A.; Bowling, D. R. & Verhoeven, A. S. 1996. Using chlorophyll fluorescence to assess the fraction of absorbed light allocated to thermal dissipation of excess excitation. *Physiologia Plantarum* 98:253-264.
- Dezzotti**, A. 2008. Acumulación y asignación de biomasa en renovales de tres especies de *Nothofagus* en los extremos de un gradiente de luz en claros de un bosque subtártico. *Investigación Agraria: Sistemas y Recursos Forestales* 17(1):18-30.
- Dickson**, R. E. & Tomlinson, P. T. 1996. Oak growth, development and carbon metabolism in response to water stress. *Annales des Sciences Forestieres* 53:181-196.
- Diehl**, P.; Mazzarino, M. J.; Funes, F.; Fontenla, S.; Gobbi, M. & Ferrari, J. 2003. Nutrient conservation strategies in native Andean-Patagonian forests. *Journal of Vegetation Science* 14:63-70.
- Dixon**, H. H. & Joly, J. 1894. On the ascent of sap. *Annals of Botany* 8:468-470.
- Documento Sectorial Integral Forestoindustria**, Ministerio de Desarrollo Territorial, Subsecretaría de Desarrollo Económico de Neuquén. 45 pp.
- Donoso**, P.; Maureria, C.; Barría, P. & Hernández, E. 1995. Desarrollo inicial de plantaciones de *Nothofagus* en la provincia de Valdivia. IV Jornadas Forestales Patagónicas. SM de los Andes, octubre 1995. Tomo IV.
- Donoso**, C.; Gallo, L.; Donoso, P. & Azpilicueta, M. M. 2004. Variación en *Nothofagus obliqua* (Mirb.) Oerst. En: Variación intraespecífica en las especies arbóreas de los bosques templado de Chile y Argentina. Editorial Universitaria. 420 pp.
- Draper**, N.R. & Smith, H. 1998. Applied Regression Analysis. 3rd edn. John Wiley & Sons, Inc. New York.
- Elheringer**, J. R. & Werk, K. S. 1986. Modifications of solar-radiation absorption patterns and implications for carbon gain at the leaf level. pp. 57-81. En: Givnish T. J. (Ed.). On the Economy of Plant Form and Function. Cambridge University Press, London.
- Ensminger**, I.; Busch, F. & Huner, N. P. A. 2006. Photostasis and cold acclimation: sensing low temperature through photosynthesis. *Physiol Plant* 126:28-44.
- Ephrath**, J. E. & Hesketh, J. D. 1991. The thermal-photoperiod requirement for floral bud growth. *Biotronics* 20:1-8.
- Espinoza**, M. 1972. Alcances sobre las condiciones de luz como factor importante en la regeneración natural del bosque tipo raulí (*Nothofagus alpina* Poepp. et Endl., Kasser) y coigüe (*Nothofagus dombeyi* (Mirb.) Oerst.). Tesis de grado, Facultad de Ingeniería Forestal, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. 76 pp.
- Falk**, S.; Maxwell, D. P.; Laudenbach, D. E. & Huner, N. P. A. 1996. Photosynthetic adjustment to temperature. pp 367-385. En: Baker N. R. (Ed) Photosynthesis and Environment, Advances in Photosynthesis. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- FAO**. 2009. Situación de los Bosques del Mundo. Roma, 2009. 158 pp.
- Faria**, T.; García-Plazaola, J. I.; Abadía, A.; Cerasoli, S.; Pereira, J. S. & Chaves, M.M. 1996. Diurnal changes in photoprotective mechanisms in leaves of cork oak (*Quercus suber*) during summer. *Tree Physiol.* 16:115-123.
- Ferrer**, J. A.; Irizarri, J. A. & Mendía, J. M. 1990. Estudio regional de suelos de la provincia de Neuquén. Consejo Federal de Inversiones, Consejo de Planificación y Acción para el Desarrollo, Neuquén, Argentina. 159 pp.

- Ferrer**, J.; Irisarri, J. & Mendía, J. 2006. Suelos de la Provincia de Neuquén. INTA Buenos Aires. 224 pp.
- Fowler**, N. 1986. The Role of Competition in Plant Communities in Arid and Semiarid Regions. *Annual Review of Ecology and Systematics* 17:89-110.
- Foyer**, C. H. & Noctor, G. 2005. Oxidant and antioxidant signaling in plants: a re evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. *Plant, Cell and Environment* 28:1056–1071.
- Gallé**, A. & Feller, U. 2007. Changes of photosynthetic traits in beech saplings (*Fagus sylvatica*) under severe drought stress and during recovery. *Physiologia Plantarum* 131 (3): 412-421.
- Gallo**, L.; Marchelli, P. & Crego, P. 2000. Variación genética en poblaciones y progenies de Raulí en Argentina. III. Dinámica de hibridación interespecífica entre Raulí y Roble Pellín. En: Domesticación y Mejora Genética de raulí y roble. R. Ipinza, R.; Gutierrez, B. & Emhart, V. (Eds.). pp. 181-196.
- Gallo**, L.; Donoso, C. & Donoso, P. 2004. Variación en *Nothofagus nervosa* (Phil.) Dim. et Mil. (*N. alpina*, *N. procera*). En: Variación intraespecífica en las especies arbóreas de los bosques templado de Chile y Argentina. Editorial Universitaria. 420 pp.
- Gallo**, L.; Marchelli, P.; Pastorino, M.; Izquierdo, F. & Azpilicueta, M. M. 2005. Programa de conservación y utilización de los recursos genéticos en especies forestales nativas patagónicas. Revista IDIA Forestal, Año 5, N° 8.
- Gallo**, L. A.; Marchelli, P.; Azpilicueta, M. M. & Crego, P. 2006. El uso de marcadores genéticos en el género *Nothofagus* con especial referencia a Raulí y Roble Pellín. *Bosque* 27: 3-15
- Girma**, F. S. & Krieg, D. R. 1992. Osmotic Adjustment in Sorghum I. Mechanisms of Diurnal Osmotic Potential Changes. *Plant Physiology* 99:577-582.
- Glaser**, R. 2001. Biophysics. Springer-Verlag, Berlin.
- Gobbi**, M. & Schlichter, T. 1998. Survival of *Austrocedrus chilensis* seedlings in relation to microsite conditions and forest thinning. *Forest Ecology and Management* 111:137-146
- Godoy**, M. M. & Defossé, G. 2004. Introducción de especies forestales para la diversificación de forestaciones y la rehabilitación de sitios degradados en la Patagonia Argentina. Informe final PIA 05/00 SAGPyA-BIRF. 97 pp.
- Gómez-Aparicio**, L.; Valladares, F. & Zamora, R. 2006. Differential light responses of Mediterranean tree saplings: linking ecophysiology with regeneration niche in four co-occurring species. *Tree Physiology* 26(7):947-958.
- Gonda**, H.E. 1998. Height–diameter and volume equations, growth intercept and needle length site quality indicators, and yield equations for young ponderosa pine plantations in Neuquén, Patagonia, Argentina. Doctoral Thesis. Oregon State University, 198 pp.
- Grace**, S. C. & Logan, B. A. 1996. Acclimation of Foliar Antioxidant Systems to Growth Irradiance in Three Broad-Leaved Evergreen Species. *Plant Physiol.* 112:1631-1640.
- Green**, T. G. A. & Jane, G.T. 1983. Changes in osmotic potential during bud break and leaf development of *Nothofagus meziesii*, *Weinmannia racemosa*, *Quintinia acutifolia*, and *Ixerba brexioides*. *New Zealand Journal of Botany* 21:391-395.
- Greer**, D. H.; Wardle, P. & Buxton, R. P. 1989. Seasonal frost hardiness of *Nothofagus solandri* seedlings from two altitudinally diverse sites in Canterbury, New Zealand. 27:299-304.
- Griffit**, M. & Antikainen, M. 1996. Extracellular ice formation in freezing-tolerant plants. En: Advances in low-temperature Biology. Volume 3. Steponkus, P. L. (Ed.). Elsevier Science. 336 pp.
- Grosse**, H. 1988. Crecimiento de plantaciones de Raulí y Roble bajo dosel en dependencia del grado de luminosidad y fertilización. *Ciencia e Investigación Forestal* 2(3):13-80.
- Grukke**, N. E. & Retzlaff, W. A. 2001. Changes in physiological attributes from seedlings to mature ponderosa pine. *Tree Physiology* 21:275-286.
- Guédon**, Y.; Puntieri, J. G.; Sabatier, S. & Barthélémy, D. 2006. Relative Extents of Preformation and Neof ormation in Tree Shoots: Analysis by a Deconvolution Method. *Annals of Botany* 98: 835–844.

- Gyenge**, J. E. 2005. Uso de agua y resistencia a la sequía de las principales especies forestales del noroeste patagónico, pino ponderosa y ciprés de la cordillera. Tesis Doctoral. Universidad Nacional del Comahue, Río Negro, Argentina, 364 pp.
- Gyenge**, J. E.; Fernández, M. E. & Schlichter, T. 2007. Influence of radiation and drought on gas exchange of *Austrocedrus chilensis* seedlings. *Bosque* 28:220-225.
- Haldimann**, P. & Feller, U. 2005. Growth at moderately elevated temperature alters the physiological response of the photosynthetic apparatus to heat stress in pea (*Pisum sativum* L.) leaves. *Plant Cell Environment* 28(3):302-317.
- Hällgren**, J. E. & Öquist, G. 1990. Adaptations to low temperatures. En: Stress Responses in Plants: Adaptation and Acclimation Mechanisms. Alscher, R. G.; Cumming J. R. (Eds.) Wiley-Liss, New York, pp 265-293
- Herralde Traveria**, F.; Biel, C.; Savé, R.; Torrecillas, A.; Alarcón, J. J. & Sánchez Blanco, M. J. 1998. Effect of water and salt stresses on the growth, gas exchange and water relations in *Argyranthemum coronopifolium* plants. *Plant and Soil* 139: 9-17.
- Herralde Traveria**, F. 2000. Estudio integral de las respuestas ecofisiológicas al estrés hídrico: Caracterización de variedades de almendro. Tesis Doctoral. Universidad de Barcelona. 140 pp.
- Hillel**, D. 1984. L'Eau et le Sol. Principes et Processus Physiques. Ed. Cabay. 288p.
- Hincha**, D. K.; Heber, U. & Schmitt, J. M. 1989. Freezing ruptures thylakoid membranes in leaves, and rupture can be prevented in vitro by cryoprotective proteins. *Plant Physiol Biochem* 27:795-801.
- Horton**, P. 1996. Nonphotochemical quenching of chlorophyll fluorescence. En: Light as an Energy Source and Information Carrier in Plant Physiology. Jennings, R. C.; Zuchelli, G.; Getti, F. & Colombetti, G. (Eds.). Plenum Publishing, New York, pp 99-111.
- Hovenden**, M. J. & Brodbribb, T. 2000. Altitude of origin influences stomatal conductance and therefore maximum assimilation rate in Southern Beech, *Nothofagus cunninghamii*. *Australian Journal of Plant Physiology* 27(5):451-456.
- Huber**, B. 1928. Weitere quantitative Untersuchungen über das Wasserleitungssystem der Pflanzen. *Jahrb. Wiss. Bot.* 67:877-959.
- Huber**, A.; Oyarzun, C.; Ramirez, M. & Figueroa, H. 1983. Influencia de algunos factores meteorológicos en el consumo de agua por transpiración de *Nothofagus obliqua* (Mirb.) Oerst, y *Nothofagus dombeyi* (Mirb.) Oerst.
- INFOR-CONAF**. 1998. Potencialidad de Especies y Sitios para la Diversificación Silvícola Nacional. Monografía. *Nothofagus obliqua*, Roble. 90 pp.
- INTI-CITEMA**. 2003. Densidad de maderas. 8 pp.
- IPCC** (Intergovernmental Panel on Climate). 2008. Climatic change and water. Intergovernmental Panel on Climate Change. IPCC Technical Paper VI. Bates, B.; Kundzewicz, Z.; Wu, S. & Palutikof, J. (Eds.). WMO y UNEP.
- Jansen**, M. A. K.; Gabab, V. & Greenberg, B. M. 1998. Higher plants and UV-B radiation: balancing damage, repair and acclimation. *Trends in Plant Science* 3: 4 131-135.
- Jobbágy**, E. G.; Sala, O. E. & Paruelo, J. M. 1995. Patterns and controls of primary production in the Patagonian steppe: a remote sensing approach. *Ecology* 83(2):307-319.
- Jobbágy**, E. G.; Sala, O. E. & Paruelo, J. M. 2002. Patterns and controls of primary production in the Patagonian steppe: A remote sensing approach. *Ecology* 83: 307-319
- Jones**, H. & Sutherland, R. 1991. Stomatal control of xylem embolism. *Plan, Cell and environment*. 14, 607-612.
- Jones**, H. G. 1992. Plants and Microclimate: A quantitative approach to environmental plant physiology. Cambridge University Press. Melbourne. 438 pp.
- Jones**, H. G. 1998. Stomatal control of photosynthesis and transpiration. *J. Expt. Bot.* 49:387-398.
- King**, D. A. 2003. Allocation of above-ground growth is related to light in temperate deciduous saplings. *Functional Ecology* 17:482-488.

- Kitzberger**, T. 1994. Fire regime variation along a northern Patagonian forest-steppe-ecotone: stand and landscape response, Ph.D. thesis, Department of Geography, University of Colorado, Boulder, Colorado,
- Kitzberger**, T.; Steinaker, D. F. & Veblen, T. T. 2000. Effects of climatic variability on facilitation of tree establishment in northern Patagonia, *Ecol.* 81:1914–1924.
- Klos**, R.J.; Wang, G.G. & Bauerle, W.L. 2006. Evaluation of 1998-2001 drought impacts on forest health in the southeastern US. The 91st Annual Meeting of Ecological Society of America. August 6-11. Memphis, TN.
- Kohout**, M. & Read, J. 2006. Instantaneous photosynthetic responses to temperature of deciduous and evergreen *Nothofagus* species. *Australian Journal of Botany* 54:249-259.
- Körner**, C. H. & Bannister, P. 1985. Stomatal responses to humidity in *Nothofagus menziesii*. *New Zealand Journal of Botany* 23:425-429.
- Kositsup**, B.; Montpied, P.; Kasemsap, P.; Thaler, P. & Améglio, E. 2009. Photosynthetic capacity and temperature responses of photosynthesis of rubber trees (*Hevea brasiliensis* Müll.Arg.) acclimate to changes in ambient temperatures. *Trees Structure and Function* 23:357-365.
- Kozlowski**, T. T. 1982. Water supply and tree growth. Part I. Water deficits. *For. Abstr.* 43:57-95.
- Kozlowski**, T. T.; Kramer, P. J. & Pallardy, S. G. 1991. *Physiological Ecology of Woody Plants*. Academic Press, New York. 796 pp.
- Kozlowski**, T. T. & Pallardy, S. G. 1997 a. *Physiology of Woody Plants*. Second Edition. Academic Press, San Diego. 411 pp.
- Kozlowski**, T. T. & Pallardy, S. G. 1997 b. *Growth Control in Woody Plants*. Academic Press, San Diego. 641 pp.
- Kramer**, P. J. & Boyer, J. S. 1995. *Water relations of Plants and Soils*. Academic Press, San Diego.
- Lambers**, H.; Stuart Chapin III, F. & Pons, T. L. 1998. *Plant Physiological Ecology*. Springer Verlag, Berlin. 540 pp.
- Landsberg**, J.J. 1977. Some useful equations for biological studies *Experimental Agriculture* 13:273-286
- Larcher**, W. 2003. *Physiological Plant Ecology. Ecophysiology and Stress Physiology of Functional Groups*. 4ta Edición. Springer Verlag, Berlin. 513 pp.
- Lawlor**, D. W. 2002. Limitation to Photosynthesis in Water-stressed Leaves: Stomata vs. Metabolism and the Role of ATP. *Annals of Botany* 89:871-885.
- Le Roux**, X.; Walcroft, A. S.; Daudet, F. A.; Sinoquet, H.; Chaves, M. M.; Rodrigues, A. & Osorio, L. 2001. Photosynthetic light acclimation in peach leaves: importance of changes in mass:area ratio, nitrogen concentration, and leaf nitrogen partitioning. *Tree Physiology* 21(6):377-386.
- Leakey**, A. D. B.; Press, M. C. & Scholes, J. D. 2003. High-temperature inhibition of photosynthesis is greater under sunflecks than uniform irradiance in a tropical rain forest tree seedling. *Plant Cell Environ* 26:1681–1690.
- Lendzion**, J. & Leuschner, C. 2008. Growth of European beech (*Fagus sylvatica* L.) saplings is limited by elevated atmospheric vapor deficits. *For. Ecol. Manage.* 256:648-655.
- Levitt**, J. 1980. *Responses of plants to environmental stresses*. 2^{da} Edn. Academic Press, Orlando, Florida, 497 pp.
- Li**, C. & Wang, K. 2003. Differences in drought responses of three contrasting *Eucalyptus microtheca* F. Muell. populations. *For. Ecol. Manage.* 179:377–385.
- Li**, W. K. W. 1980. Temperature adaptation in phytoplankton: cellular and photosynthetic characteristics. En: *Primary Productivity in the Sea*. Falkouski, P. G. (Ed.). Plenum Press, New York, 259-279 pp.
- Lichtenthaler**, H. K. 1988. *In vivo* chlorophyll fluorescence as a tool for stress detection in plants: En: *Applications of Chlorophyll Fluorescence*. Lichtenthaler, H. K. (Ed.). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. 129-142 pp.
- Lichtenthaler**, H. K. 1996. Vegetation stress: an introduction to the stress concept in plants. *Journal of plant physiology* 148:4-14.

- Lo Gullo**, M. A. & Salleo, S. 1993. Different vulnerabilities of *Quercus ilex* L. to freeze- and summer drought-induced xylem embolism: an ecological interpretation. *Plant Cell and Environment* 16:511-519.
- Loguercio**, G. A. & Deccechis, F. 2006 a. Forestaciones en la patagonia andina: potencial y desarrollo alcanzado. Parte 1. *Patagonia Forestal* 4-6.
- Loguercio**, G. A. & Deccechis, F. 2006 b. Forestaciones en la patagonia andina: potencial y desarrollo alcanzado. Parte 2 *Patagonia Forestal* 23-25.
- Loveys**, B. R.; Scheurwater, I.; Pons, T. L.; Fitter, A. H. & Atkin, O. K. 2002. Growth temperature influences the underlying components of relative growth rate: an investigation using inherently fast- and slow-growing plant species. *Plant Cell and Environment* 25:975-987.
- Lynch**, D. V. & Steponkus, P. L. 1987. Plasma Membrane Lipid Alterations Associated with Cold Acclimation of Winter Rye Seedlings (*Secale cereale* L. cv Puma). *Plant Physiology* 83:761-767.
- Mahall**, B. E.; Tyler, C. M.; Cole E. S. & Mata, C. 2009. A comparative study of oak (*Quercus*, Fagaceae) seedling physiology during summer drought in southern California. *American Journal of Botany* 96:751-761.
- Maherali**, H. & DeLucia, E. H. 2000. Interactive effects of elevated CO₂ and temperature on the water transport of ponderosa pine. *American Journal of Botany* 87: 243-249.
- Maherali**, H.; Pockman, W. T. & Jackson, R. B. 2004. Adaptive variation in the vulnerability of woody plants to xylem cavitation. *Ecology* 85: 2184-2199.
- Manos**, P. S. 1997. Systematics of *Nothofagus* (Nothofagaceae) based on rDNA spacer sequences (ITS): Taxonomic congruence with morphology and plastid sequences. *American Journal of Botany* 84(9):1137-1155.
- Manske**, L. L. 2000. Environmental factors to consider during planning of management for range plants in the Dickinson, North Dakota, region 1892-1999. NDSU Dickinson Research Extension Center. Range Research Report DREC 00-1018c. Dickinson, ND. 36 pp.
- Marchelli**, P. & Gallo, L. 1999. Annual and geographic variation in seeds traits of Argentinean populations of southern beach "*Nothofagus nervosa*" (Phil.) dim et Mil. *Forest Ecology and Management*. 121: 239:250.
- Martínez Pastur**, G.; Lencinas, M. V.; Peri, P. & Arena, M. 2007. Photosynthetic plasticity of *Nothofagus pumilio* seedlings to light intensity and soil moisture. *Forest Ecology and Management* 243:274-282.
- Maseda**, P. H. & Fernandez, R. J. 2006. Stay wet or else: three ways in which plants can adjust hydraulically to their environment. *Journal of Experimental Botany* 57(15):3963-3977.
- Matsuki**, S.; Ogawa, K.; Tanaka, A. & Hara, T. 2003. Morphological and photosynthetic responses of *Quercus crispula* seedlings to high-light conditions. *Tree Physiology* 23:769-775.
- Maxwell**, K. & Jonhson, G. N. 2000. Chlorophyll fluorescence-a practical guide. *J Exp Bot.* 51(345):659-668.
- McDowell**, N.; Pockman, W. T.; Allen, C. D.; Breshears, D. D.; Cobb, N.; Kolb, T.; Plaut, J.; Sperry, J.; West, A.; Williams, D. G. & Yezpez, E. A. 2008. Mechanisms of plant survival and mortality during drought: why do some plants survive while others succumb to drought? *New Phytologist* 178:719-739.
- Mc Connagughay**, K. & Coleman, J. 1999. Biomass allocation in plants: ontogeny or optimality? A test along three resource gradients. *Ecology* 80:2581-2593.
- Monserrat-Martí**, G.; Camarero, J. J.; Palacio, S.; Pérez-Rontomé, C.; Milla, R.; Albuixech, J. & Maestro, M. 2009. Summer-drought constrains the phenology and growth of two coexisting Mediterranean oaks with contrasting leaf habit: implications for their persistence and reproduction. *Tress* 23:787-799.
- Morgan**, J. M. 1992. Osmotic components and properties associated with genotypic differences in osmoregulation in wheat. *Aust. J. Plant Physiol.* 19:67-76.
- Mullieaux**, P. & Karpinski, S. 2002. Signal transduction to excess light: getting out of the chloroplast. *Current opinion in Plant Biology* 5:43-48.
- Munné-Bosch**, S. & Alegre, L. 2004. Die and let live: leaf senescence contributes to plant survival under drought stress. *Functional Plant Biology* 31:203-216.

- Murray**, M. B.; Cannell, M. & Scheppard, L. J. 1986. Frost hardiness of *Nothofagus procera* and *Nothofagus obliqua* in Britain. *Forestry* 59:209-222.
- Neter**, J. & Wasserman, W. 1974. Applied Linear Statistical Models. Regression, Analysis of Variance and Experimental Design. R. D. Irwin Inc., Illinois, EEUU.
- Neuner**, G. & Bannister, P. 1995. Frost resistance and susceptibility to ice formation during natural hardening in relation to leaf anatomy in three evergreen tree species from New Zealand. *Tree Physiology* 15:371-377.
- Nguyen-Queyrens**, A. & Bouchet-Lannat, F. 2003. Osmotic adjustment in three-year-old seedlings of five provenances of maritime pine (*Pinus pinaster*) in response to drought. *Tree Physiology* 23:397-404.
- Nicotra**, A. B.; Chazdon, R. L. & Iriarte, S. V. B. 1999. Spatial heterogeneity of light and woody seedling regeneration in tropical wet forests. *Ecology* 80:1908-1926.
- Nielsen**, E. T. & Orcutt, D. M. 1996. Physiology of Plants Under Stress: Soil and abiotic factors. John Wiley and Sons, New York. 689 pp.
- Öquist**, G. & Huner, N. P. A. 2003. Photosynthesis of overwintering evergreen plants. *Annual Review of Plant Biology* 54:329-355.
- Osmond**, C. B. 1994. What is photoinhibition? Some insights from comparisons of shade and sun plants. En: Photoinhibition of Photosynthesis: from Molecular Mechanisms to the Field. Baker, N. R. & Bowyer, J. R. (Eds.). BioScientific Publishers, Oxford. 1-24 pp.
- Osmond**, C. B. & Grace, S. C. 1995. Perspectives on photoinhibition and photorespiration in the field: quintessential inefficiencies of the light and dark reactions of photosynthesis? *Journal of Experimental Botany* 46: 1351–1362.
- Owens**, T. G. 1994. In vivo chlorophyll fluorescence as a probe of photosynthetic physiology. En: Plant Responses to the Gaseous Environment. Alscher, R. G. & Wellburn, A. R. (Eds.). Chapman and Hall, London. 195–217 pp.
- Pacala**, S. W. & Tilman, D. 1994. Limiting similarity in mechanistic and spatial models of plant competition in heterogeneous environments. *American Naturalist* 143:222-257.
- Pammenter**, N. W. & Vander Willigen, C. 1998. A mathematical and statistical analysis of the curves illustrating vulnerability of xylem to cavitation. *Tree Physiology* 18:589-593.
- Paruelo**, J. M.; Beltrán, A.; Jobbágy, E.; Sala, O. E. & Golluscio, R. A. 1998. The climate of Patagonia: general patterns and control on biotic processes. *Ecología Austral* 8:85-101.
- Passioura**, J. B. 1996. Drought and drought tolerance. *Plant Growth Regulation* 20:79-83.
- Passioura**, J. B. 2006. The perils of pot experiments. *Functional Plant Biology* 33(12):1075–1079.
- Pearcy**, R. W.; Ehleringer, J. R.; Mooney, H. A. & Rundel, P. W. 1991. Plant Physiology Ecology. Field Methods and Instrumentation. Chapman & Hall Company. New York. 457 pp.
- Pearcy**, R. W.; Sassenrath-Cole, G. F. & Krall, J. P. 1996. Photosynthesis in fluctuating light environments. En: Environmental Stress and Photosynthesis. Baker, N. R. (Ed.). The Hague: Flower Academic. 321-346 pp.
- Pearcy**, R. W. 1999. Responses of plants to heterogeneous light environments. En: Handbook of functional plant ecology. Pugnaire, F. I. & Valladares, F. (Eds.). Marcel Dekker, New York. 901 pp.
- Peri**, P. 2003. Proyecto "Planeamiento para la restauración de las áreas degradadas de bosque nativo de *Nothofagus* pertenecientes al ejido municipal de Río Turbio. Municipalidad de Río Turbio. 28 pp.
- Peri**, P.; Martínez Pastur, G. & Lencinas, M. V. 2009. Photosynthetic response to different Light intensities and water status of two main *Nothofagus* species of southern Patagonian forest, Argentina. *Journal of Forest Science* 55(3):101-111.
- Perry**, T.O. 1971. Dormancy of trees in winter. *Science* 171:29–36.
- Peyrou**, M. C. 2002. Capacidad fotosintética de plántulas de tres especies del bosque mixto de *Nothofagus* y su relación con el manejo silvícola. Tesis de licenciatura en Ciencias Biológicas. U.N.C.-C.R.U.B. 73 pp

- Pigliucci**, M. 2001. Phenotypic plasticity. Beyond nature and nurture. Jhon Hopkins University Press. Baltimore.
- Piper**, F.; Corcuera, L.; Alberdi, M. & Lusk, C. 2007. Differential photosynthetic and survival responses to soil drought in two evergreen *Nothofagus* species. *Ann. For. Sci.* 64:447-452.
- Plan Institucional de Mediano Plazo 2009-2011**. 2009. INTA, 71 pp.
- Plan Tecnológico Regional 2005-2007**, Centro Regional Patagonia Norte. 2005. INTA, 63 pp.
- Pockman**, W. T. & Sperry, J. S. 2000. Vulnerability to cavitation and the distribution of Sonoran Desert vegetation. *American Journal of Botany* 87:1287-1299.
- Pokorny**, B. 1995. Zur Überführung von mittelchilenischen *Nothofagus*-Renovalesbeständen in Wirtschaftswälder (Aportes para la conversión de Renovales del género *Nothofagus* en bosque manejado en el Sur de Chile). Diss. Forstl. Fak. der Univ. Freiburg, Alemania. 199 pp.
- Premoli**, A. 2004. Variación en *Nothofagus pumilio* (Poepp. et Endl.) Krasser. En: Variación intraespecífica en las especies arbóreas de los bosques templado de Chile y Argentina. Donoso, C.; Premoli, A.; Gallo, L. & Ipinza, R. (Eds.). Editorial Universitaria. 420 pp.
- Premoli**, A. & Brewer, C. 2007. Environmental vs. genetically driven variation in ecophysiological traits of *Nothofagus pumilio* from contrasting elevations. *Australian Journal of Botany* 55:585-591.
- Premoli**, A.; Raffaele, E. & Mathiasen, P. 2007. Morphological and phenological differences in *Nothofagus pumilio* from contrasting elevations: Evidence from a common garden. *Austral Ecology* 32:515-523.
- Puntieri**, J. G.; Grosfeld, J.E.; Stecconi, M.; Brion, C. & Barthélémy, D. 2007. Bud and growth unit structure in seedlings and saplings of *Nothofagus alpina* (Nothofagaceae). *Amer. J. Bot.* 94: 1382-1390.
- Ramirez**, C.; San Martín, C., A. Oyarzun, A. & H.; Figueroa, H. 1997. Morpho-ecological study on the South American species of the genus *Nothofagus*. *Plant Ecology* 130:101-109.
- Read**, J. & Hill, R. 1985. Photosynthetic responses to light of Australian and Chilean species of *Nothofagus* and their relevance to the rainforest dynamics. *New Phytol.* 101:731-742.
- Read**, J. 1990. Some effects of acclimatation temperature on net photosynthesis in some tropical and extra-tropical Australasian *Nothofagus* species. *Journal of Ecology* 78:100-112.
- Read**, J. & Farquhar, G. 1991. Comparative studies in *Nothofagus* (Fagaceae).I. Leaf carbon isotope discrimination. *Functional Ecology* 5:684-695
- Reyes-Díaz**, M.; Ivanov, A. G.; Hüner, N. P. A.; Alberdi, M.; Corcuera, L. & Bravo, L. 2009) Thermal energy dissipation and its components in two developmental stages of a shade-tolerant species *Nothofagus nitida*, and a shade-intolerant species, *Nothofagus dombeyi*. *Tree Physiology* 29(5):651-662
- Ritchie**, G.A. 2006. Chlorophyll Fluorescence: What Is It and What Do the Numbers Mean?. En: Riley, L. E.; Dumroese, R. K.; Landis, T. D. (Eds.). National Proceedings: Forest and Conservation Nursery Associations—2005. Proc. RMRS-P-43. Fort Collins, CO: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station. 160 pp.
- Rodríguez-Calcerrada**, J.; Pardos, J. A.; Gil, L. & Aranda, I. 2007. Acclimatation to Light in seedlings of *Quercus petraea* (Mattuschka) Liebl. and *Quercus pyrenaica* Willd. planted along a forest-edge gradient. *Trees* 21:45-54.
- Rodríguez-Calcerrada**, J.; Pardos, J. A.; Gil, L.; Reich, P. B. & Aranda, I. 2008. Light response in seedlings of a temperate (*Quercus petraea*) and a sub-Mediterranean species (*Quercus pyrenaica*): contrasting ecological strategies as potential keys to regeneration performance in mixed marginal populations. *Plant Ecol.* 195:273-285.
- Rose**, L.; Leushner, C.; Köckemann, B. & Buschmann, H. 2009. Are marginal beech (*Fagus sylvatica* L.) provenances a source for drought tolerant ecotypes?. *Eur. J. Forest. Res.* 128:335-343.

- Rosenfeld**, J. M. 1972. Desarrollo de la regeneración de raulí (*Nothofagus alpina*) y coigüe (*Nothofagus dombeyi*) bajo diferentes grados de luminosidad. Tesis de grado, Facultad de Ingeniería Forestal, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. 63 pp.
- Ryan**, M. G.; Bond, B. J.; Law, B. E.; Hubbard, R. M.; Woodruff, D.; Cienciala, E. & Kucera, J. 2000. Transpiration and whole-tree conductance in ponderosa pine trees of different heights. *Oecologia* 124, 553–560.
- Stackman**, W. P. 1980. Measuring soil moisture. In: Drainage Principles and Applications. Vol. III. Wageningen 221–251.
- Sage**, R. F. & Kubien, D. 2007. The temperature response of C₃ and C₄ photosynthesis. *Plant Cell Environ* 30:1086–1106.
- Sakai**, A.; Paton, D.M. & Wardle, P. 1981. Freezing resistance of trees of the south temperate zone, especially subalpine species of Australia. *Ecology* 62: 563–570.
- Salleo**, S.; Hinckley, T. M.; Kikuta, S. B.; Lo Gullo, M. A.; Weilgony, P.; Yoon, T. M. & Richter, H. 1992. A method for inducing xylem embolism in situ: experiments with a field grown tree. *Plant Cell Environ* 15: 491–497.
- Salleo**, S.; Nardini, A.; Pitt, F. & LoGullo, M. 2000. Xylem cavitation and hydraulic control of stomatal conductance in laurel (*Laurus nobilis* L.). *Plan Cell Environ* 23, 71–79.
- Santarius**, K. A. 1982. The mechanism of cryoprotection of biomembrane systems by carbohydrates. En: Plant Cold Hardiness and Freezing Stress Li, P. H. & Sakai, A. (Eds.). Academic Press, New York. 475–486 pp.
- Santiago**, L. S.; Goldstein, G.; Meinzer, F. C.; Fisher, J. B.; Machado, K.; Woodruff, D. & Jones, T. 2004. Leaf photosynthetic traits scale with hydraulic conductivity and wood density in Panamanian forest canopy trees. *Oecologia* 140:543–550.
- Savé**, R.; Olivella, C.; Biel, C.; Adillón, J. & Rabella, R. 1994. Seasonal patterns of water relationships, photosynthetic pigments and morphology of *Actinidia deliciosa* plants of the Hayward and Tomuri cultivars. *Agronomie* 2:121–126.
- Savé**, R.; Castell, C. & Terradas, J. 1999. Gas exchange and water relations. En: Ecology of Mediterranean evergreen oak forests. Rodà, F.; Retana, J.; Gracia, C. A. & Bellot, J. (Eds.) Springer-Verlag. Berlin.
- Savé**, R.; Biel, C. & de Herralde, F. 2000. Leaf pubescence, water relations and chlorophyll fluorescence in two subspecies of *Lotus creticus* L. *Biologia Plantarum* 43 (2):239–244.
- Savitch**, L. V.; Massacci, A.; Gray, G. R. & Huner N. P. A. 2000. Acclimation to low temperature or high light mitigates sensitivity to photoinhibition: roles of the Calvin cycle and the Mehler reaction. *Australian Journal of Plant Physiology* 27(3): 253–264.
- Schonfeld**, M. A.; Johnson, R. C.; Carver, B. F. & Mornhinweg, D.W. 1988. Water relations in winter wheat as drought resistance indicators. *Crop Science* 28:526–531.
- Schultz**, H. R. 2003. Differences in hydraulic architecture account for near-isohydric and anisohydric behaviour of two field-grown *Vitis vinifera* L. cultivars during drought. *Plant, Cell and Environment* 26:1393–1405.
- Schulze**, E. D.; Beck, E. & Müller-Hohenstein, K. 2005. Plant Ecology, Springer Verlag, Berlin, Germany.
- Sen**, D. & Mehta, M. 1998. Seasonal variations of metabolic status of *Prosopis juliflora*. pp 35–37. En: Prosopis Species in the Arid and Semi-Arid Zones of India. Tewari, J.; Pasiecznik, N.; Harsh, L. & Doubleday, H. (Eds.). Research Association, Coventry, U.K.
- Serrano**, L. & Peñuelas, J. 2005. Assessing forest structure and function from spectral transmittance measurements: a case study in a Mediterranean holm oak forest. *Tree Physiology* 25: 67–74.
- Sharkey**, T. D.; Bernacchi, C.J.; Farquhar, G.O. & Singaas, E. L. 2007. Fitting photosynthetic carbon dioxide response curves for C₃ leaves. *Plant Cell and Environ* 30:1035–1040.
- Sokal**, R. R. & Rohlf F. J. 1995. Biometry: the principles and practice of statistics in biological research. 3rd edition. W. H. Freeman & Co. New York. 887 pp.
- Sperry**, J. S. & Sullivan, J. E. M. 1992. Xylem embolism in response to freeze-thaw cycles and water stress in ring-porous, diffuse-porous, and conifer species. *Plant Physiology* 100:605–613.

- Sperry, J.** & Pockman, W. 1993. Limitation of transpiration by hydraulic conductance and xylem cavitation in *Betula occidentalis*. *Plant, Cell and Environ* 16:279-287.
- Sperry, J. S.** & Saliendra, N. Z. 1994. Intra- and inter-plant variation in xylem cavitation in *Betula occidentalis*. *Plant, Cell and Environ* 17(11): 1233-1241.
- Sperry, J. S.** 1995. Limitations on stem water transport and their consequences. En: *Plant Stems: Physiology and Functional Morphology*. Gartner, B. L. (Ed.). Physiological Ecology Series. Academic Press. San Diego. 105-124 pp.
- Sperry, J.**; Hacke, U.; Oren, R. & Comstock, J. 2002. Water deficits and hydraulic limits to leaf water supply. *Plant, Cell and Environment* 25:251-263.
- Spollen, W. G.**; Sharp, R. E.; Saab, I. N. & Wu, Y. 1993. Regulation of cell expansion in roots and shoots at low water potentials. En: *Water deficits. Plant responses from cell to community*. Smith, J. A. C. & Griffiths, H. (Eds.). Oxford: Bios Scientific Publishers, 37–52 pp.
- Strasburger, E.**; Noll, F.; Schenck, H. & Schimper, A. F. W. 2002. *Tratado de Botánica*. Ediciones Omega, Barcelona. 1134 pp.
- Sultan, S. E.** 2001. Phenotypic plasticity for fitness components in *Polygonum* species of contrasting ecological breadth. *Ecology* 82:328– 343.
- Sun, O. J.**; Sweet, G. B. & Whitehead, D. 1995. Physiological responses to water stress and waterlogging in *Nothofagus* species. *Tree Physiol.* 15:629-638.
- Susiluoto, S.** & Berninger, F. 2007. Interactions between morphological and physiological drought responses in *Eucalyptus microtheca*. *Silva Fennica* 41(2): 221–233.
- Taiz, L.** & Zeiger, E. 1998. *Plant Physiology*. Second Edition. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts. 792 pp.
- Tambussi, E. A.**; Bartoli, C. G.; Beltrano, J.; Guiamet, J. J. & Araus, J. L. 2000. Oxidative damage to thylakoid proteins in water-stressed leaves of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Physiologia Plantarum* 108:398-404.
- Tardieu, F.** & Simoneau, T. 1998. Variability among species of stomatal control under fluctuating soil water status and evaporative demand: modeling isohydric and anisohydric behaviors. *Journal of Experimental Botany*. 49:419-432.
- Tardieu, F.**; Granier, C. & Muller, B. 1999. Modelling leaf expansion in a fluctuating environment: are changes in specific leaf area a consequence of changes in expansion rate?. *New Phytol.* 143:33–43.
- Tausz, M.**; Warren, C. R. & Adams, M. A. 2004. Dynamic light use and protection from excess light in upper canopy and coppice leaves of *Nothofagus cunninghamii* in an old growth, cool temperate rainforest in Victoria, Australia. *New Phytologist* 165:143-156.
- Thomas, F. M.** & Gausling, T. 2000. Morphological and physiological responses of oak seedlings (*Quercus petraea* and *Q. robur*) to moderate drought. *Ann. For. Sci.* 57:325–333.
- Thornley, J. H. M.** 1972. A balanced quantitative model for root: shoot ratios in vegetative plants. *Annals of Botany* 36:431–441.
- Tortorelli, L.** 1956. *Maderas y Bosques Argentinos*. Ed. Acme. S.A.I. Buenos Aires.
- Trillo, N.** & Fernández, R. 2005. Wheat plant hydraulic properties under prolonged experimental drought: Stronger decline in root-system conductance than in leaf area. *Plant and Soil* 277:277–284
- Turner, N. C.** & Jones, H. G. 1980. Turgor maintenance by osmotic adjustment: a review and evaluation. En: *Adaptation of Plants to Water and High Temperature Stress*. Turner, N. C. & Kramer, P. J (Eds.). John Wiley & Sons, Chichester. 87-103 pp.
- Turner, N. C.** 1986. Adaptation to water deficits: a changing in perspective. *Australian Journal of Plant Physiology* 13:175-190.
- Valladares, F.** & Pearcy, R. 1997. Interactions between water stress, sun-shade acclimatation, heat tolerance and photoinhibition in the sclerophyll *Heteromeles abutilifolia*. *Plant Cell and Environment* 20:25-36.
- Valladares, F.** & Pugnaire, F. 1999. Tradeoffs Between Irradiance Capture and Avoidance in Semi-arid Environments. Assessed with a Crown Architecture Model. *Annals of Botany* 83:459-469.

- Valladares**, F.; Martínez-Ferri, E.; Balaguer, L.; Pérez Coronas, E. & Manrique, E. 2000. Low leaf-level response to light and nutrients in Mediterranean evergreen oaks: a conservative resource-use strategy? *New Phytol.* 148:79-91.
- Valladares**, F.; Chico, J. M.; Aranda, I.; Balaguer, L.; Dizengremel, P., Manrique, E. & Dreyer, E. 2002. The greater seedling high-light tolerance of *Quercus robur* over *Fagus sylvatica* is linked to a greater physiological plasticity. *Trees* 16: 395-403.
- Valladares**, F. 2003. Light Heterogeneity and Plants: from Ecophysiology to Species Coexistence and Biodiversity. En: *Progress in Botany*. Beyschlag, W. (Ed.). Vol 64. Springer Verlag, Heidelberg. 439-471 pp.
- Valladares**, F.; Vilagrosa, A.; Peñuelas, J.; Ogaya, R.; Camarero, J. J.; Corchera, L.; Sisó S. & Gil-Pelegrín, E. 2004. Estrés hídrico: ecofisiología y escalas de la sequía. En: *Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante*. Valladares, F. (Ed.). Naturaleza y Parques Nacionales. Madrid: Ministerio de Medio Ambiente.
- Valladares**, F.; Sanchez-Gomez, D. & Zavala, M. A. 2006. Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *Journal of Ecology* 94:1103–1116.
- Van den Honert**, T. H. 1948. Water transport in plants as a catenary process. *Discussions of the Farady Soc.* 3:1.
- Veblen**, T.T.; Mermoz, M.; Martin, C. & Ramilo, E. 1989. Effects of exotic deer on forest regeneration and composition in Northern Patagonia. *Journal of Applied Ecology* 26:711-724.
- Veblen**, T. T.; Donoso, C.; Kitzberger, T. & Rebertus, A. J. 1996. Ecology of southern Chilean and Argentinean *Nothofagus* forest. En: *The Ecology and Biogeography of Nothofagus forests*. Veblen, T. T.; Hill, R. S. & Read, J. (Eds.). Yale University. 293-353 pp.
- Verga**, 2000. Programa HOJA para la medición de áreas foliares. INTA-IFIVE.
- Wang**, T.; Aitken, S. N. & Kavanagh, K. L. 2003. Selection for improved growth and wood quality in lodgepole pine: effects on phenology, hydraulic architecture and growth of seedlings. *Trees* 17:269-277.
- Wang**, G. G. & Bauerle, W. L.. 2006. Effects of light intensity on the growth and energy balance of Photosystem II electron transport in *Quercus alba* seedlings. *Annals of Forest Science* 63:111-118.
- Wardle**, J. A. 1984. *The New Zealand beeches: Ecology, utilization and management*. New Zealand Forest Service, Wellington, N.Z. 447 pp.
- Watling**, J. R.; Robinson, S. A.; Woodrow, I. E. & Osmond, C. B. 1997. Responses of rainforest understorey plants to excess light during sunflecks. *Aust J Plant Physiol* 24: 17–25.
- Weinbeger**, P. & Ramírez, C. 2001. Microclima y regeneración natural de Raulí, Roble y Coigüe (*Nothofagus alpina*, *N. obliqua* y *N. dombeyi*). *Bosque* 22(1):11-26.
- Wright**, S. J.; Muller-Landau, H. C.; Condit, R. & Hubbell, S. P. 2003. Gap-dependent recruitment, realized vital rates, and size distributions of tropical trees. *Ecology* 84:3174-3185.
- Yang**, S. & Tyree, M. T. 1992. A theoretical model of hydraulic conductivity recovery from embolism with comparison to experimental data on *Acer saccharum*. *Plant Cell Environ* 15:633-643.
- Zahner**, M. 1968. Water deficits and growth of trees. En: *Water Deficits and Plant Growth*. Kozlowski, T. T. (Ed.). Vol. 2. Academic Press: New York. 191-254 pp.
- Zimmermann**, M. H. 1983. *Xylem Structure and the Ascent of Sap*. Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- Zlatev**, Z.; Berova, M. & Vassilev, A. 2003. Use of physiological parameters as stress indicators. *Journal of Experimental Protection and Ecology* 4(4):841-849.
- Zúñiga**, R.; Alberdi, M.; Reyes-Díaz, M.; Olivares, E.; Hess, S.; Bravo, L. A. & Corcuera, L. J. 2006. Seasonal changes in xanthophyll composition and photosynthetic performance in leaves of two evergreen *Nothofagus* species growing under Mediterranean-Humid climate in south central Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 79(4):489-504.