

**Universidad de Buenos Aires**

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

**Ecofisiología de una palmera arbórea (*Euterpe edulis*,  
Palmito) del Bosque Atlántico en Misiones, Argentina:  
crecimiento, fotosíntesis, arquitectura hidráulica y  
resistencia a bajas temperaturas**

**María Genoveva Gatti**

**Director de Tesis: Guillermo Hernán Goldstein**

Tesis presentada para optar al título de Doctora en Ciencias Biológicas

Lugar de Trabajo: Laboratorio de Ecología Funcional - Departamento de  
Ecología, Genética y Evolución

Buenos Aires, 2005.



# **Ecofisiología de una palmera arbórea (*Euterpe edulis*, Palmito) del Bosque Atlántico en Misiones, Argentina: crecimiento, fotosíntesis, arquitectura hidráulica y resistencia a bajas temperaturas**

## **Resumen**

*Euterpe edulis*, el Palmito, es una palmera endémica del Bosque Atlántico, tolerante a la sombra, que se distribuye de manera agregada. En este trabajo se estudiaron características ecofisiológicas y morfológicas de *E. edulis*, y su relación con los patrones de distribución en el norte de la provincia de Misiones a través de experimentos bajo condiciones controladas en vivero, en laboratorio y en el campo. En vivero se trabajó con cuatro niveles de luz (10, 30, 40 y 65% de la radiación total) y dos de disponibilidad de agua en el sustrato (control y suministro reducido). Se observó que *E. edulis* puede responder a niveles de radiación bajos (10%) modificando el patrón de distribución de la biomasa de manera de maximizar la captación de luz mediante el aumento del área foliar específica y reduciendo el autosombreo. Se observó también que altos niveles de radiación produjeron un desequilibrio entre las pérdidas de agua por transpiración y el suministro de agua a las hojas, posiblemente debido a una alta resistencia al flujo del agua en los pecíolos. Los potenciales hídricos foliares fueron comparativamente más bajos. Para compensar el bajo suministro de agua a las hojas a niveles altos de radiación, las palmeras redujeron la superficie por hoja y el área foliar total por planta y asignaron proporcionalmente más biomasa a las raíces que al vástago. A través del análisis térmico diferencial se observó que bajo condiciones experimentales *E. edulis* puede superenfriar sus tejidos hasta  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$  sin la formación de hielo y sin sufrir daños permanentes. En el campo, esta capacidad de superenfriamiento está limitada por el rocío que se deposita en las hojas durante la noche. A lo largo de un gradiente topográfico se observaron temperaturas congelantes sólo en los sitios más bajos debido a la ocurrencia de inversiones térmicas, coincidente con la ausencia de individuos de *E. edulis*. La arquitectura hidráulica de *E. edulis*, sus características fotosintéticas y su capacidad de superenfriamiento limitada podrían determinar parcialmente su dinámica poblacional y su distribución local y regional en el norte de la provincia de Misiones.

**Palabras clave:** aclimatación a la luz, Bosque Atlántico, fotoinhibición, Palmito, patrones de distribución, relaciones funcionales, tolerancia a la sombra, sotobosque, superenfriamiento.

**Ecophysiology of a palm tree (*Euterpe edulis*, Palm Heart) in the Atlantic Forest of Misiones, Argentine: growth, photosynthesis, hydraulic architecture and low-temperature resistance**

**Abstract**

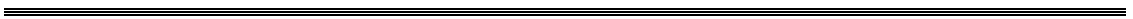
*Euterpe edulis* ("Palmito or Palm Heart") is a shade tolerant palm species endemic to the Atlantic Forest that has a clumped distribution pattern. In this research, several ecophysiological and morphological traits of *E. edulis* were studied in relationship with its pattern of distribution within the north of Misiones province. Experiments were developed in a greenhouse under controlled conditions as well as in the laboratory and in the field. In the greenhouse, four levels of light (10, 30, 40 and 65% of incoming solar radiation) and two levels of soil water availability were applied. *Euterpe edulis* reacts to low light levels by adjusting its pattern of biomass distribution in order to maximize light capture: increasing the leaf specific area and minimizing selfshading between plant parts. High levels of light resulted in an unbalance between water loss by transpiration and water supply to the leaves, probably due to high hydraulic resistance in the leaf petioles. The leaf water potentials were substantially more negative under high light conditions. To compensate for the limited water supply to the leaves, palms reduced the leaf size and the total leaf surface area per individual and allocated relatively more biomass to the root system. Differential thermal analysis in the laboratory indicated that some of the plant's tissues can supercool down to -10 °C without ice formation or tissue damage. However, in the field the supercooling capacity is limited by dew deposition during the night. Within a topographic gradient, freezing temperatures were only observed in the lower zones due to thermal inversions at night, which is consistent with the absence of *E. edulis*. The hydraulic architecture, photosynthetic characteristics and limited supercooling capacity partially determine the population dynamics and the pattern of distribution of *E. edulis* in northern Misiones province.

**Key words:** light acclimation, Atlantic Forest, distribution patterns, palm heart, photoinhibition, functional relationships, shade tolerance, understory, supercooling.

*A mi esposo, Andrés,*

*mis padres, Alejandra y Daniel.*

*A mi familia, desde la raíz a los brotes.*



# Tabla de contenidos

<b>Capítulo 1. Introducción General .....</b>	<b>9</b>
Las condiciones ambientales en el bosque y la distribución de las especies .....	9
El Bosque Atlántico: caracterización climática y florística.....	13
Descripción de <i>Euterpe edulis</i> Martius.....	16
Distribución de <i>Euterpe edulis</i> en el Bosque Atlántico .....	17
Factores económicos involucrados en la conservación de <i>Euterpe edulis</i> y su importancia en la dinámica del bosque.....	18
Las palmeras: características generales de su desarrollo y organización.....	20
Objetivos del estudio.....	23
 <b>Capítulo 2. Dinámica de producción foliar y patrones de asignación de biomasa en <i>Euterpe edulis</i> bajo distintos niveles de radiación y de disponibilidad de agua ...</b>	 <b>27</b>
INTRODUCCIÓN.....	27
MATERIALES Y MÉTODOS.....	31
Germinación .....	33
Producción de hojas y crecimiento.....	34
Patrones de asignación de biomasa.....	35
Análisis de resultados .....	36
RESULTADOS .....	36
Germinación .....	36
Producción de hojas y crecimiento.....	37
Patrones de asignación de biomasa.....	39
DISCUSIÓN.....	49
CONCLUSIONES.....	56
 <b>Capítulo 3. Fotosíntesis, fotoinhibición y crecimiento de <i>Euterpe edulis</i> bajo distintos niveles de radiación .....</b>	 <b>57</b>

INTRODUCCIÓN.....	57
MATERIALES Y MÉTODOS.....	60
Rendimiento cuántico ( $\Delta F/F_m$ ) y tasa de transporte de electrones (TTE) en función de la radiación fotosintéticamente activa.....	60
Cursos diarios de rendimiento cuántico y tasa de transporte de electrones.....	62
Tasa de transporte de electrones máxima y máxima observada.....	62
Área foliar específica.....	62
Fotoinhibición.....	63
RESULTADOS.....	64
Rendimiento cuántico ( $\Delta F/F_m$ ) y tasa de transporte de electrones (TTE) en función de la radiación fotosintéticamente activa.....	64
Cursos diarios de rendimiento cuántico y tasa de transporte de electrones.....	64
Área foliar específica.....	65
Fotoinhibición.....	66
DISCUSIÓN.....	74
CONCLUSIONES.....	79

**Capítulo 4. Arquitectura hidráulica de *Euterpe edulis* y plasticidad bajo diferentes condiciones de luz y humedad del sustrato ..... 80**

INTRODUCCIÓN.....	80
MATERIALES Y MÉTODOS.....	83
Conductividad hidráulica.....	84
Curvas de Presión-Volumen y curva de vulnerabilidad de la conductividad hídrica foliar.....	86
Curso diario de potencial hídrico de <i>Euterpe edulis</i> en el campo bajo dos situaciones de luz.....	90
Potencial hídrico de folíolos en vivero.....	90
RESULTADOS.....	91
Conductividad hidráulica.....	91
Curvas de Presión-Volumen y curva de vulnerabilidad de la conductividad hídrica foliar.....	93

Curso diario de potencial hídrico de <i>Euterpe edulis</i> en el campo bajo dos situaciones de luz .....	93
Potencial hídrico de folíolos en vivero .....	94
DISCUSIÓN.....	101
CONCLUSIONES.....	107
<b>Capítulo 5. Resistencia a bajas temperaturas y distribución espacial de <i>Euterpe edulis</i>.....</b>	<b>109</b>
INTRODUCCIÓN.....	109
MATERIALES Y MÉTODOS.....	114
Descripción y localización del experimento de campo.....	114
Experimento de laboratorio.....	117
RESULTADOS.....	121
Experimento de laboratorio.....	123
DISCUSIÓN.....	130
CONCLUSIONES.....	136
<b>Capítulo 6. Síntesis y conclusiones .....</b>	<b>138</b>
SÍNTESIS.....	138
CONCLUSIONES Y PREGUNTAS PARA FUTUROS TRABAJOS DE INVESTIGACIÓN .....	142
<b>Anexo I .....</b>	<b>149</b>
<b>Referencias.....</b>	<b>152</b>
<b>Agradecimientos .....</b>	<b>160</b>



# Capítulo 1. Introducción General

La distribución, abundancia y dinámica de una especie puede ser explicada por las condiciones ambientales, los requerimientos de recursos, sus características fisiológicas y por las relaciones intra e inter-específicas, incluyendo en estas relaciones las interacciones planta-animal, entre otros factores y procesos. En el caso de especies de importancia económica la intensidad e historia de aprovechamiento también juegan un papel preponderante en su abundancia y distribución. En el presente trabajo se estudia la interacción entre factores ambientales como la luz, el agua y la temperatura con distintos aspectos ecofisiológicos de una palmera arbórea endémica del Bosque Atlántico. A través de experimentos bajo condiciones controladas en vivero, de estudios en laboratorio y en el campo se describen las características ecológicas y fisiológicas más importantes de *Euterpe edulis* Mart., su capacidad para ajustarse a cambios en condiciones ambientales y cómo estos atributos determinan su distribución ecológica y geográfica potencial en el Bosque Atlántico del norte de la provincia de Misiones, Argentina.

## **Las condiciones ambientales en el bosque y la distribución de las especies**

La luz es el factor más importante que determina el desarrollo, supervivencia y distribución de las plantas en bosques húmedos (Chazdon & Montgomery 2002). En bosques húmedos tropicales se ha visto que la luz que llega al suelo en la mayoría de los sitios es apenas cerca del 2% de la radiación que alcanza la parte superior del dosel (Clark *et al.* 1996). Estos bajos niveles de radiación son limitantes para el desarrollo, la reproducción y la supervivencia de las plantas, y podrían ser uno de los factores determinantes de la coexistencia de un gran número especies en el sotobosque (Svenning 2002). La limitación de la radiación en el sotobosque se refleja en el patrón de distribución de muchas especies las cuales se desarrollan preferentemente en los micrositios de mayor radiación (Svenning 2000). Cualquier variación en la radiación que llega al interior, por ejemplo por el movimiento del

sol, de las copas de los árboles o por la caída de ramas y árboles, puede tener gran influencia en la fotosíntesis, el crecimiento y la regeneración de plántulas (Chazdon & Montgomery 2002). La capacidad de aclimatación de las plantas a estos cambios en la disponibilidad de luz es variable entre las especies (Valladares *et al.* 2000), y está relacionada con las condiciones lumínicas de crecimiento (Naumburg & Ellsworth 2000). Algunas especies regeneran y se desarrollan con los bajos niveles de radiación que llega al sotobosque y un aumento drástico en la radiación puede ser perjudicial, resultando en la fotoinhibición del proceso fotosintético (Valladares *et al.* 2000). Otras especies, en cambio, cuyas plántulas sobreviven o incluso crecen bajo el dosel cerrado del bosque, se benefician con la formación de aperturas en el dosel, o las requieren para su establecimiento definitivo (Paulilo 2000).

Si bien la luz es el factor ambiental más importante para el crecimiento, la supervivencia y la reproducción de las plantas de un bosque tropical; el agua y los nutrientes también juegan un papel preponderante en la adquisición y fijación de carbono, tanto a nivel de hojas como de individuos (Chazdon & Montgomery 2002). El agua es un factor limitante de gran importancia y a la vez uno de los determinantes críticos del funcionamiento de los árboles del dosel (Goldstein *et al.* 2002). Las demandas de agua por los árboles pueden llegar a ser muy grandes. Por ejemplo en un bosque estacional de Panamá se cuantificó el uso diario de agua de árboles de 5 especies distintas, y una de ellas, *Anacardium excelsum*, utilizó 379 kg de agua en un día (Andrade *et al.* 1998). Entonces, si bien en los bosques tropicales húmedos la precipitación tiende a ser abundante, cuando se combinan un follaje muy denso que intercepta el agua de lluvia, altas demandas evaporativas y un período de sequía (el cual puede ser estacional o esporádico) se pueden generar desequilibrios importantes entre el suministro y la demanda de agua de los árboles (Goldstein *et al.* 2002). Frente a estas condiciones de estrés hídrico algunos árboles se comportan de forma tal de mantener el estado hídrico (o potencial hídrico) de sus hojas por encima de cierto umbral, para lo cual

regulan las variaciones en la conductancia estomática (Fisher *et al.* 2005). El cierre de los estomas produce entonces una disminución en las tasas de transpiración y al mismo tiempo en la tasa de captación de carbono, por lo cual estos déficit hídricos diarios o estacionales pueden tener un efecto limitante importante en el crecimiento y la fisiología de las plantas en el bosque (Goldstein & Andrade 1998). Uno de los mecanismos que presentan los árboles para mantener sus estomas abiertos durante períodos más largos de tiempo son las reservas de agua en el tronco, las cuales les permiten satisfacer, al menos parcialmente, las demandas transpiratorias diarias (Goldstein & Andrade 1998). Por otro lado, el contenido de agua en el suelo puede variar también en el espacio. Por ejemplo, en general se encuentran gradientes de humedad en el suelo asociados a gradientes topográficos. A escalas espaciales más reducidas la cobertura vegetal también tiene un importante efecto en la cantidad de agua en el suelo. Recientemente se ha visto que en bosques tropicales el contenido de agua del suelo suele ser menor bajo el dosel arbóreo que en un claro vecino, debido a la mayor superficie foliar transpirante (Cavelier & Vargas 2002). Este mismo patrón se encontró en el bosque Atlántico del norte de Misiones, donde luego de una sequía de 29 días se observaron potenciales hídricos del suelo de  $-3,84$  MPa bajo el dosel arbóreo y de  $-2,35$  MPa en los claros (Campanello 2004).

Otro factor ambiental que tiene efectos importantes en la distribución de las especies son las bajas temperaturas (Pearce 2001), las cuales no son frecuentes en los bosques tropicales pero sí ocurren en los bosques subtropicales como los que se estudian en esta investigación. Las plantas pueden tener dos tipos de mecanismos principales para resistir las temperaturas congelantes: pueden evitar el congelamiento (mecanismos de evasión) o tolerar la formación de hielo extracelular en sus tejidos (mecanismos de tolerancia). La capacidad para evadir o tolerar el congelamiento es altamente variable entre las especies y está relacionado con el ambiente en el cual se desarrollan. La mayoría de las especies de ambientes donde la ocurrencia de heladas es poco frecuente (por ejemplo, a bajas altitudes en regiones

subtropicales) tienden a poseer mecanismos de evasión, mientras que las plantas que crecen en ambientes mucho más extremos, por ejemplo cerca del límite de distribución altitudinal de las plantas en regiones tropicales, pueden tolerar la formación de hielo en algunos o en todos sus tejidos (Squeo *et al.* 1991). Dentro de los mecanismos de evasión del congelamiento hay dos tipos principales: aislar térmicamente los tejidos para evitar que su temperatura descienda por debajo del punto de congelamiento, o superenfriarlos, lo que implica un aumento de solutos de forma tal de disminuir el punto de nucleación de hielo. Ambos mecanismos pueden presentarse en una misma especie, como sucede con las rosetas gigantes del género *Espeletia* de los Andes Venezolanos, donde el tallo y la yema se encuentran térmicamente aislados por las hojas de la roseta y las hojas marescentes que rodean al tallo principal respectivamente, y por otro lado las hojas expuestas de la roseta que pueden experimentar temperaturas por debajo del punto de congelamiento tienden a superenfriar hasta temperaturas de  $-15^{\circ}\text{C}$  (Rada *et al.* 1985). Se ha sugerido que la inversión de recursos en características fisiológicas y anatómicas que otorgan resistencia al frío (tanto evasión como tolerancia) tiene un costo alto para la planta, el cual se traduciría en una disminución de la tasa de crecimiento (Loehle 1998). De esta manera para especies que se desarrollan en climas cálidos constituiría una desventaja poseer mecanismos de resistencia al frío. Sin embargo, dentro de los mecanismos que otorgan resistencia al frío, los mecanismos de evasión serían relativamente menos costosos para la planta que los mecanismos que otorgan tolerancia a la formación de hielo en los tejidos (Goldstein *et al.* 1985). La mayoría de los géneros de palmeras de América se desarrollan dentro de los trópicos, el área entre el trópico de Cáncer ( $23^{\circ}27' \text{N}$ ) y el trópico de Capricornio ( $23^{\circ}27' \text{S}$ ), pero algunas especies como *Sabal palmetto* y *Jubaea chilensis* crecen hasta los  $34^{\circ} \text{N}$  y  $36^{\circ} \text{S}$  (Henderson *et al.* 1995). Es posible entonces, que las especies de palmera que crecen en regiones subtropicales o de climas templados donde existe la probabilidad de que ocurran temperaturas congelantes presenten algún mecanismo para resistir el frío. De hecho se ha

observado que las hojas de algunas palmeras son capaces de superenfriar hasta temperaturas relativamente bajas (Sakai & Larcher 1987 en: Pearce 2001).

### **El Bosque Atlántico: caracterización climática y florística**

El Bosque Atlántico es la segunda área boscosa de mayor superficie en sudamérica, precedido únicamente por el bosque Amazónico. Se distribuye a lo largo de 3300 km por la costa este de sudamérica desde los 6 hasta los 30° de latitud sur. La parte norte es más angosta y en el sector sur se ensancha e ingresa hacia el interior del continente alcanzando el norte de Argentina (provincia de Misiones) y el este de Paraguay (Figura 1) (Galindo-Leal & Gusmao Camara 2003). Está separado de la Amazonia por la llamada "Diagonal de las Formaciones Abiertas" constituida por la Caatinga (Brasil), el Cerrado (Brasil), y el Chaco de Paraguay, Bolivia y norte de Argentina (Prado 1993). Tanto de norte a sur, como desde la costa hacia el interior del continente se observan gradientes florísticos, los cuales estarían principalmente asociados a un aumento en la estacionalidad de las precipitaciones y a una disminución de las temperaturas medias (Oliveira Filho & Fontes 2000). A partir de estas diferencias florísticas el bosque Atlántico (BA) se divide en dos sub-unidades, el BA Lluvioso y el BA Semideciduo, éste último tiene un número menor de especies y una mayor proporción de especies caducifolias que el BA Lluvioso (Oliveira Filho & Fontes 2000).

La provincia de Misiones (Argentina) está incluida en el BA semideciduo. El bosque que allí se desarrolla ha sido comúnmente llamado Selva Paranaense (Cabrera & Willink 1973) o Selva Misionera. El clima de la provincia ha sido definido como subtropical sin estación seca marcada, cálido, con una importante amplitud térmica y pluviométrica que está en relación con las diferencias de altitud, lo que habla de su carácter "continental". Las lluvias oscilan desde 1600 mm en el sur a 1900 – 2100 mm en el noreste, en los sectores más altos. Se considera que el invierno es la estación menos lluviosa, aunque hacia las zonas de sierras y al norte (Puerto Iguazú), no existirían diferencias importantes a lo largo del año. La

temperatura media anual es de 20°C y disminuye hacia el este-noreste por su mayor altitud. La amplitud térmica media anual es de 11°C y se registran 1,7 a 3,9 heladas por año en las áreas cercanas a los grandes ríos y de 9,1, y aún más, heladas por año en las zonas más altas (Ligier 1999). En la Figura 2 se muestra un diagrama climático para la ciudad de Iguazú, la cual fue la localidad con datos más próxima al área de estudio, en este diagrama puede observarse la ausencia de estacionalidad en las precipitaciones. Las temperaturas mínimas extremas registradas entre 1961 y 1990 fueron de -5 °C para la localidad de Iguazú.

La topografía de la región comprende desde áreas relativamente planas cerca de los ríos principales, con altitudes de 150-250 m sobre el nivel del mar (snm), hasta una meseta con altitudes entre 550-800 m snm. Las áreas que se ubican entre los principales ríos y la meseta, con altitudes entre 300-600 m snm, tienen pendientes relativamente pronunciadas. Los suelos son rojos, medianamente ricos en nutrientes, del tipo laterítico (ultisoles), profundos cerca de los ríos y más superficiales y rocosos hacia las serranías (Ligier 1999).

El bosque Atlántico de la provincia de Misiones está compuesto principalmente por tres estratos arbóreos: un estrato bajo (5-10 m) con especies características como *Sorocea ilicifolia* (Moraceae) y *Trichilia elegans* (Meliaceae), un estrato medio (10-20 m) donde es abundante *Chrysophyllum gonocarpum* (Sapotaceae), y un estrato alto (20-30m) donde pueden encontrarse *Balfourodendron riedelianum* (Rutaceae), *Cedrela fissilis* (Meliaceae) y varias especies de la familia Lauraceae. En algunos sectores se observa también un estrato arbóreo emergente (> 30m) constituido principalmente por *Aspidosperma polyneuron* (Apocynaceae). Una alta proporción de las especies del estrato alto son caducifolias. Por debajo del estrato arbóreo pueden encontrarse helechos, arbustos del género *Piper* y *Miconia* así como renovales de las especies arbóreas y lianas. En lugares más abiertos, puede ser muy abundante la Bambusoidea *Chusquea ramossisima*. Además de *Euterpe edulis* también es frecuente la palmera *Syagrus romanzoffianum* (Cabrera & Willink 1973;

Dimitri 1974; Malmierca *et al.* 1994). En los árboles se observa una marcada estacionalidad en la expansión de hojas y en la producción de frutos, los cuales son más abundantes entre septiembre y diciembre. Por lo tanto, también existe una estacionalidad en la disponibilidad de alimento para los animales (Placci *et al.* 1994). Para un área cercana en Brasil, se observó que estos patrones fenológicos están asociados a la estacionalidad en las temperaturas y a la longitud del día, y no estarían relacionados con las precipitaciones ya que las sequías en esta región son esporádicas e impredecibles (Marques *et al.* 2004).

La región del bosque Atlántico (BA lluvioso y BA semideciduo) tenía una extensión de 1,1 millones de km<sup>2</sup>. Pero actualmente, este ecosistema encabeza la lista de los ecosistemas con mayor pérdida de hábitat en el mundo. Los bosques remanentes alcanzan sólo el 7% de su superficie original. Únicamente quedan 2 áreas en donde se encuentra un remanente de bosque continuo que cubre más de 10000 km<sup>2</sup>, una de ellas es la región de Serra do Mar, al sur de Río de Janeiro, y la otra es la provincia de Misiones en Argentina (Galindo-Leal & Gusmao Camara 2003). Si bien en el contexto del Bosque Atlántico Misiones se encuentra en un lugar privilegiado, ya que posee uno de los dos remanentes de bosque continuo más extensos (aproximadamente 11303,04 Km<sup>2</sup>) esta provincia ha perdido el 49,1% de su superficie original de bosques y esta superficie remanente es un gran mosaico de parches en distinto estado de conservación (Holz & Placci 2003). Muchos sitios se encuentran altamente degradados por la extracción selectiva de madera, la cual altera significativamente la dinámica de formación de claros y favorece la invasión de especies de rápido crecimiento como lianas y bambúceas, tal como la especie *Chusquea ramosissima*. Estas especies nativas tienen un gran impacto en el ecosistema, modificando las condiciones microclimáticas e inhibiendo el crecimiento de los renovales arbóreos (Campanello 2004).

## Descripción de *Euterpe edulis* Martius

Se considera que en el género *Euterpe* se encuentran las palmeras más bonitas de toda América. De hecho, el nombre "Euterpe" proviene de la mitología griega, es la musa de la música y la poesía. Este género comprende 7 especies distribuidas desde América Central hasta el norte y centro de Sudamérica. Estas palmeras son fáciles de identificar por sus tallos delgados y grises, su corona prominente y sus folíolos angostos y péndulos. La especie *Euterpe edulis* es endémica del Bosque Atlántico de Brasil, Argentina y Paraguay. Su área de distribución natural coincide con la del Bosque Atlántico, pero además se presenta en los alrededores de Brasilia (Henderson *et al.* 1995). En los sitios donde se desarrolla puede llegar a ser muy abundante siendo la especie dominante. En una hectárea del Parque Nacional Iguazú, del total de 683 individuos de más de 10 cm de diámetro a altura del pecho (1,3 m de altura, DAP) 406 correspondieron a *E. edulis*, es decir el 59% de los tallos presentes pertenecían a esta palmera; la siguiente especie más abundante fue *Nectandra megapotamica*, una Lauraceae, que apenas sumó el 5%, con un total de 38 individuos (S. Chediack, datos no publicados).

Los individuos adultos de *E. edulis* forman parte del estrato medio del bosque, con un estípote simple y derecho que alcanza hasta los 8-12 m de altura. Sus hojas presentan una vaina cerrada y tubular en su base que encierra la sección apical tallo, son pinnadas y sus folíolos se distribuyen horizontalmente a ambos lados del raquis (Henderson *et al.* 1995). Tiene una inflorescencia en espádice visitada por una gran variedad de insectos (Sedrez dos Reis *et al.* 2000). En la provincia de Misiones florece en primavera, entre septiembre y diciembre, y sus frutos comienzan a madurar en junio y pueden permanecer hasta septiembre (Placci *et al.* 1992). Los individuos reproductivos en bosques naturales producen entre 1500 a 4800 frutos, los cuales son altamente consumidos por aves y mamíferos medianos y grandes. Las semillas están listas para germinar inmediatamente, pero si esto no ocurre la mayoría de ellas perderá su viabilidad después de 3 o 4 meses de estar en el suelo



(Silva Matos & Watkinson 1998). Debido a la imposibilidad de formar un banco de semillas permanente, la estrategia reproductiva de esta especie es el mantenimiento de un gran banco de plántulas (Sedrez dos Reis *et al.* 2000). Las reservas de la semilla se agotan cuando las plantas presentan dos hojas fotosintetizantes expandidas. Esta podría ser la razón de la gran mortalidad observada en plántulas durante el desarrollo de su tercer hoja fotosintetizante (Venturi & Paulilo 1998). Los individuos inmaduros de esta palmera tienen un crecimiento lento, con un alto tiempo medio de producción de hojas (aproximadamente 5 meses) y sus hojas son de vida media larga (> a 28 meses en algunos estadios) (Carvalho *et al.* 1999). En Argentina, al igual que en Brasil y Paraguay, *Euterpe edulis* es llamado comúnmente "Palmito", si bien esta palabra también puede ser usada para nombrar otras especies de palmeras.

### **Distribución de *Euterpe edulis* en el Bosque Atlántico**

Dentro del bosque *E. edulis* presenta una distribución agregada, formando parches de alta densidad característicos llamados "palmitales" (Aguilar & Fuguet 1988). Este patrón de distribución parece estar relacionado con características ambientales que aún no están bien determinadas. La luz parece ser un importante factor, si bien la mortalidad de las plántulas en sitios con luz solar directa o alta radiación puede alcanzar el 100% (Dias *et al.* 1987), dentro del bosque se ha visto que, luego del agotamiento de las reservas contenidas en la semilla, el surgimiento de una pequeña apertura en el dosel sería clave para el aumento de la tasa de sobrevivencia de los individuos (Paulilo 2000). También el agua parece estar relacionada con esta distribución agrupada de *E. edulis*, debido a que algunos autores han encontrado mayor densidad de individuos en lugares más húmedos (Bovi *et al.* 1987). Por un lado, la humedad del suelo favorecería la descomposición del tejido oleaginoso de la semilla, el cual normalmente dificulta la germinación (Bovi *et al.* 1987), por otra parte, las semillas de frutos recién caídos presentan un alto tenor de humedad (cercano al 50%), y su deshidratación sería la principal causa de la pérdida de la viabilidad (Reis *et al.* 1999;

Negreiros & Peres 2004). Por esta razón las semillas de *E. edulis* se consideran del tipo recalcitrantes, es decir que son semillas que requieren mantener un alto contenido de humedad para no perder la viabilidad, las cuales en general no tienen período de dormancia y se vuelven inviables si no germinan en poco tiempo (Queiroz & Cavalcante 1986; Reis *et al.* 1999). Además, se ha visto que los individuos creciendo en lugares más húmedos tienen una mayor sobrevivencia y tasa de crecimiento comparados con individuos de sitios más secos (Rodrigues Nogueira Junior *et al.* 2003).

El patrón de distribución agregado de *Euterpe edulis* se hace mucho más evidente en el Bosque Atlántico del norte de la provincia de Misiones, que en las áreas más cercanas al Ecuador. En algunos sitios esta especie es muy abundante, se pueden encontrar entre 200 y 400 individuos adultos reproductivos en una hectárea (Gatti 1999, S. Chediack datos no publicados), mientras que en otros está completamente ausente (Dimitri 1974). De acuerdo con Costas y colaboradores (1987) si bien no se han realizado estudios científicos, ellos sugieren que esta distribución localizada se debería especialmente a aspectos microclimáticos, por ejemplo, en micrositios donde la probabilidad de heladas es baja (Aguilar y Fuguet, 1988).

### **Factores económicos involucrados en la conservación de *Euterpe edulis* y su importancia en la dinámica del bosque**

*Euterpe edulis* es la única especie de palmera productora de palmito comestible a nivel comercial en Argentina (Aguilar & Fuguet 1988) y se la considera la de mejor sabor y calidad entre todas las palmeras de América (Henderson *et al.* 1995). La parte comestible está formada por la parte interna superior del tallo que consiste en el meristema apical, los primordios florales y las vainas foliares en crecimiento (Ferreira & Paschoalino 1987). Esta palmera requiere aproximadamente 10 años para alcanzar el tamaño de aprovechamiento (Gaiotto *et al.* 2003) y como presenta un estípote único con un solo meristema apical, la

cosecha implica la muerte del individuo (Aguilar & Fuguet 1988). La intensa extracción del palmito y la degradación del Bosque Atlántico han resultado en una disminución importante en abundancia y densidad de las poblaciones de *Euterpe edulis* (Chediack & Franco Baqueiro 2003). Varios factores económicos, sociales y ecológicos se suman a este proceso de deterioro, teniendo como consecuencia final la desaparición de *Euterpe edulis* en muchas áreas del Bosque Atlántico: su aprovechamiento indiscriminado, la imposibilidad de realizar monocultivos, la falta de vigilancia en áreas protegidas, la baja aplicación de prácticas de manejo en áreas privadas, así como la conversión del bosque nativo a otros usos (Burkart 1994; Galetti & Fernandez 1998; Paulilo 2000; Sedrez dos Reis *et al.* 2000; Tsukamoto Filho *et al.* 2001). En Brasil, por ejemplo, poblaciones importantes de esta especie actualmente sólo pueden encontrarse dentro de áreas protegidas (Calzavara 1987; Galetti & Fernandez 1998).

La sobreexplotación de *Euterpe edulis* no sólo representa una pérdida del palmito como recurso comercial y como especie en sí misma, sino que tiene también implicancias ecológicas muy importantes (Galetti & Fernandez 1998). *Euterpe edulis* produce una gran cantidad de frutos carnosos ricos en grasas y azúcares (Galetti & Aleixo 1998). Estos frutos representan un recurso alimenticio importante para la comunidad de frugívoros, especialmente durante el invierno, cuando la disponibilidad de otros frutos es baja. Por esta razón *Euterpe edulis* ha sido considerado una especie clave en el Bosque Atlántico (Placci *et al.* 1992). Además, durante el proceso de aprovechamiento del palmito la destrucción de las plantas de sotobosque alrededor de los individuos cosechados tiene un efecto negativo sobre especies de aves frugívoras (Galetti & Aleixo 1998). En la provincia de Misiones uno de los problemas que se presentan para preservar remanentes de bosque nativo fuera de áreas protegidas es la falta de beneficios económicos para los pequeños propietarios de estos bosques. El desafío está en encontrar alternativas a las prácticas de manejo comunes (como la tala rasa y quema con el reemplazo total del bosque nativo por pasturas y ganado) que

preserven la estructura y el funcionamiento del ecosistema forestal nativo. El palmito tiene un gran potencial para convertirse en una práctica alternativa económica sustentable ya que actualmente significa un ingreso económico importante para los pequeños propietarios (Moreno 2003), y puede contribuir a la conservación de los remanentes de bosque nativo ya que la regeneración de esta especie y su desarrollo inicial requieren de una cobertura boscosa (Sedrez dos Reis *et al.* 2000).

Son necesarios estudios experimentales que indiquen de qué forma los factores abióticos están influenciando el crecimiento de plántulas de individuos jóvenes de *Euterpe edulis*, no sólo para comprender la biología de esta especie sino para su mejor manejo en áreas naturales y su cultivo. Conocer las variables capaces de explicar o predecir la distribución de una especie es esencial para distintos tipos de estudios tanto básicos como aplicados y para el diseño de planes de manejo tendientes a su desarrollo y/o conservación (Skov & Borchsenius 1997).

### **Las palmeras: características generales de su desarrollo y organización**

Las palmeras presentan características particulares que gobiernan o restringen su desarrollo, las cuales deben ser consideradas al realizar estudios sobre su crecimiento y demografía. De acuerdo a Tomlinson (1990) algunas de estas reglas o atributos son:

- 1- cada eje es el producto de un meristema apical único
- 2- el crecimiento de cada eje es continuo
- 3- no hay producción de tejidos vasculares secundarios
- 4- las hojas se producen una a la vez
- 5- como resultado de 2 y 4, la estructura de la corona es altamente constante

A partir de estas características, es posible describir el desarrollo de un individuo en términos de fases discretas, si bien es claro que el desarrollo es continuo y el pasaje de una fase a la

siguiente es gradual. En la Figura 3 se muestran las etapas del desarrollo determinadas por Tomlinson (1990), que se describen brevemente a continuación: *embrión*: al igual que en otras plantas se caracteriza por inactividad en el crecimiento; *plántula*: es la fase que involucra el comienzo de actividad del embrión, su emergencia de la semilla, y el desarrollo de un sistema de nutrición independiente de la semilla; *establecimiento*: es el período donde el individuo se independiza de la semilla, y hay un crecimiento gradual del eje hasta alcanzar el diámetro del tallo máximo que tendrá el individuo; *fase adulta vegetativa*: es la extensión continua del eje a través del agregado de segmentos de tallo de un diámetro fijo y hojas de tamaño constante; y *fase reproductiva*: es la aparición de flores, y por lo tanto el comienzo de la producción de frutos.

La fase de establecimiento tiene una gran relevancia para el futuro de la palmera ya que al carecer de crecimiento secundario es en esta etapa cuando se alcanza el diámetro final del estípote lo cual impone una limitante importante para el desarrollo futuro del individuo.

Asociado a esto, las hojas que se producen muestran una transición morfológica desde las típicas hojas de la plántula hasta su forma adulta, aumentando de tamaño y complejidad gradualmente (Belin-Depoux & Hering de Queiroz 1971; Tomlinson 1990). Por ejemplo, en *Iriarte deltoidea* las primeras hojas que desarrollan son simples y prácticamente redondas.

Luego de producir aproximadamente 6 hojas de este tipo, los individuos comienzan a expandir hojas más elaboradas, con una lámina terminal muy parecida a las primeras hojas, y algunos folíolos distribuidos a lo largo del raquis. En esta etapa *I. deltoidea* comienza a desarrollar un pequeño tallo y luego a crecer en altura, mientras que sus hojas son sucesivamente más largas y poseen más pinnas. El tallo se sigue desarrollando y las hojas aumentando de tamaño hasta que finalmente aparecen las hojas adultas muy elaboradas, con folíolos que se expanden en todos los ángulos, de aproximadamente 6 m de largo y con un peso de varios kg cada una (Terborgh & Davenport 2001). En *Euterpe edulis* las primeras 3 hojas son palmadas (Carvalho *et al.* 1999). La cuarta hoja es pinnada, pero con muy pocos

segmentos (5-7), y en general coincide con la independencia de las reservas de la semilla (Nakazono *et al.* 2001), lo que indicaría el comienzo de la fase de establecimiento de acuerdo a Tomlinson (1990). Posteriormente las hojas van aumentando gradualmente de tamaño y número de folíolos. Cuando aparece una hoja nueva en el centro de la corona, es una estructura semejante a una lanza (compuesta por todos los folíolos plegados) que primero crece en longitud y la apertura de la hoja recién ocurre una vez que esta "lanza" se ha elongado por completo. Una vez expandida, la hoja ya no cambia de tamaño, sin embargo, el pecíolo continúa elongándose por algún tiempo que puede llegar a 6 meses (Carvalho *et al.* 1999).

Otra característica relevante de las palmeras según Tomlinson (1990) es que la corona o copa está compuesta por hojas visibles, o expuestas, y hojas invisibles internas. En el centro de la copa se puede encontrar la hoja visible más joven. Cuando una hoja nueva aparece, el resto de las hojas cambia su posición relativa en la corona, es decir, la hoja que era la hoja visible más joven pasa de la posición 1 a la posición 2, la de la posición 2 pasa a la 3, y así sucesivamente. Este intervalo de desarrollo representado por el cambio de posición de una hoja a su posición siguiente se llama "plastocrón". En términos dinámicos, el plastocrón es el intervalo de tiempo que le toma a una hoja cambiar de una posición a la siguiente más vieja. La hoja del centro de la corona es un marcador excelente para una gran cantidad de estudios. En algunos sistemas de numeración de las hojas, esta empieza por dicha hoja, y las hojas más viejas se numeran a partir de ella en el orden de sucesión.

Al considerarse esta aparición gradual de las hojas, puede obtenerse mucha información sobre el desarrollo del individuo. Cada hoja en la secuencia se interpreta como representante de un paso en el desarrollo de las hojas, y el intervalo entre ellas como el plastocrón. El intervalo del plastocrón es fácilmente cuantificable marcando una hoja dada (a menudo la hoja 1 en expansión) y registrando el tiempo necesario para que la hoja cambie a la posición relativa siguiente. Un valor puede ser obtenido por observación durante un período de

tiempo limitado. Estos simples parámetros nos permiten conocer características básicas del crecimiento de las palmeras como la longitud de vida de las hojas:

$$A = Pn$$

donde A es el ciclo de vida de una hoja, P: es el intervalo de plastocrón, y n: es el número de hojas en la corona.

Otra característica a tener en cuenta es que únicamente las hojas expuestas más viejas que la hoja central en expansión son fotosintéticamente independientes. El hecho de que la lámina sea visible no implica la completa extensión de la hoja ya que la maduración de las partes basales (como pecíolo y vaina) puede continuar por varios plastocrones desde que la lámina aparece (Tomlinson 1990).

## **Objetivos del estudio**

El objetivo principal de esta investigación fue estudiar las adaptaciones fisiológicas, ecológicas y morfológicas de *Euterpe edulis* al medio ambiente físico del norte de la provincia de Misiones y la capacidad de aclimatación de esta especie a cambios en condiciones ambientales significativas, así como determinar en qué medida las características de desarrollo propias de plantas monocotiledóneas de crecimiento arbóreo (es decir con un estípote central pero sin crecimiento secundario) como las palmeras, imponen restricciones en la capacidad de los individuos para ajustar en forma reversible su morfología y/o fisiología. Asimismo se relacionó esta plasticidad potencial con la distribución de la especie a diferentes escalas espaciales en el Bosque Atlántico del norte de la provincia de Misiones, Argentina. El estudio se realizó bajo condiciones controladas de radiación y disponibilidad de agua en vivero, en el laboratorio donde se estudiaron aspectos de la arquitectura hidráulica de las plantas y su resistencia a temperaturas congelantes, y en el campo donde se analizaron los efectos de la radiación sobre las relaciones hídricas, y los efectos de la topografía y las temperaturas mínimas sobre el crecimiento y supervivencia de las plantas.

Varios enfoques metodológicos y técnicas de análisis diferentes se utilizaron para poder comprender la ecología, dinámica y crecimiento de *E. edulis* en un ambiente caracterizado por marcadas variaciones espacio-temporales de factores críticos para la supervivencia de las palmeras, como la luz, el agua y las bajas temperaturas.

Los objetivos específicos estuvieron relacionados con: a) crecimiento, dinámica foliar y asignación de recursos de *Euterpe edulis* bajo distintos niveles de radiación y disponibilidad de agua en el sustrato, b) fotosíntesis y fotoinhibición bajo distintos niveles de radiación, c) características de la arquitectura hidráulica y relaciones hídricas, d) efecto de bajas temperaturas sobre la fisiología y distribución de poblaciones de *Euterpe edulis*. Cada uno de estos aspectos serán desarrollados a continuación en capítulos separados.





Figura 1: Distribución original del bosque Atlántico en Sudamérica, indicada en gris oscuro. Obtenido de Galindo-Leal & Gusmao Camara (2003). La flecha color blanco indica el sitio donde se realizaron la mayor parte de los estudios de campo.

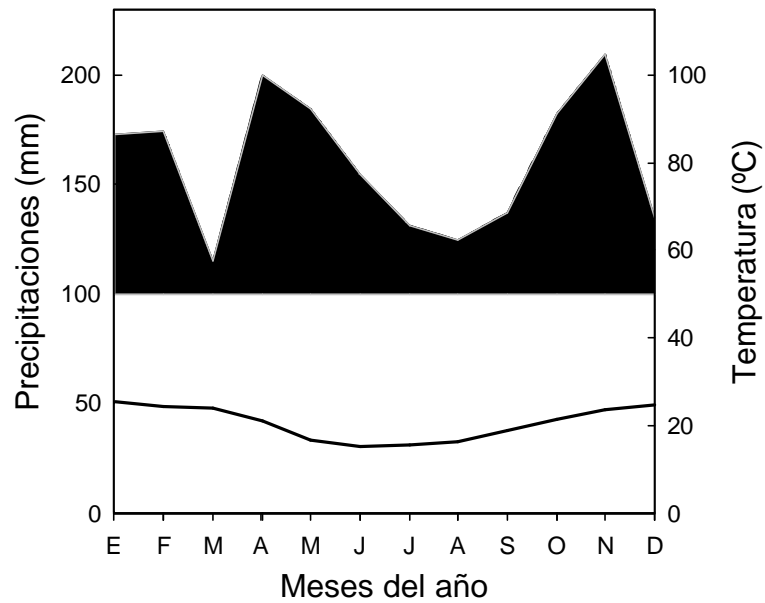


Figura 2: Climodiagrama de la localidad de Puerto Iguazú, Misiones, Argentina. Se muestran las temperaturas medias a lo largo del año (línea continua negra) y las precipitaciones promedio que superan los 100 mm (área negra), las cuales corresponden a promedios mensuales del periodo 1981-1990. Datos obtenidos del Servicio Meteorológico Nacional, 2005.

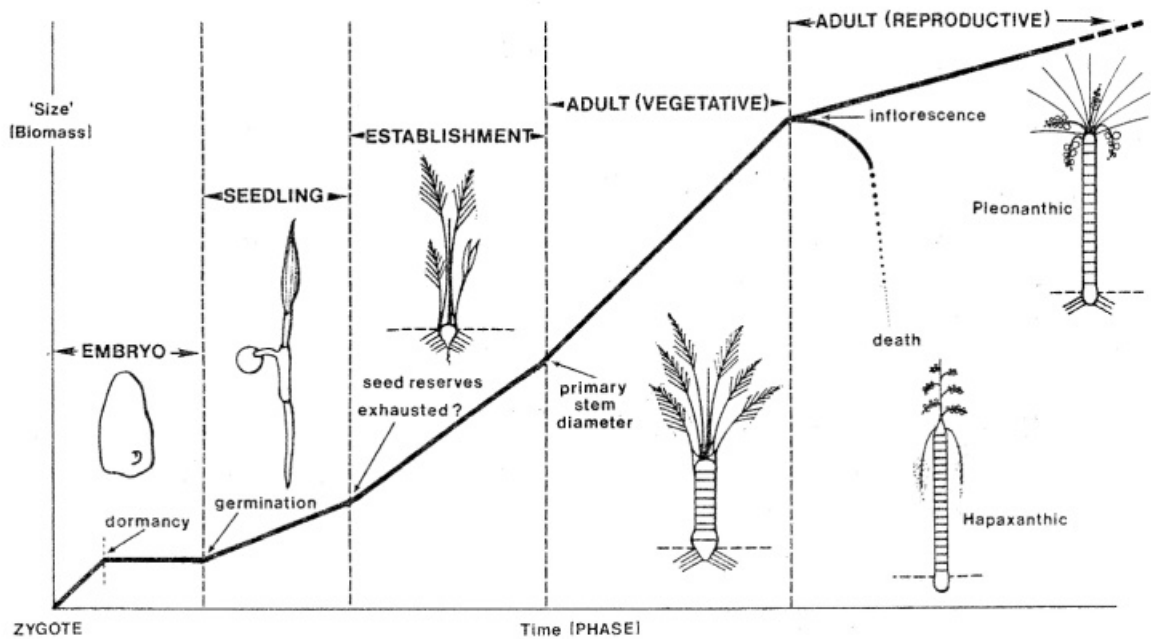


Figura 3: Desarrollo en fases de las palmeras representado esquemáticamente. Las dimensiones de los ejes son arbitrarias, y las articulaciones entre las fases son en realidad menos abruptas de lo que está simbolizado en el esquema (Tomlinson 1990). Las etapas son las siguientes: embryo: embrión; seedling: plántula; establishment: establecimiento; adult (vegetative): adulto vegetativo; adult (reproductive): adulto reproductivo.

## **Capítulo 2. Dinámica de producción foliar y patrones de asignación de biomasa en *Euterpe edulis* bajo distintos niveles de radiación y de disponibilidad de agua**

### **INTRODUCCIÓN**

Muchas características de una planta como su morfología, fisiología y patrones de asignación de recursos, varían de acuerdo al nivel de radiación en el cual las plantas se han desarrollado (Givnish, 1988). En bosques húmedos tropicales la luz que llega al suelo en la mayoría de los sitios es menor al 2% de la radiación que alcanza la parte superior del dosel (Clark *et al.* 1996). Estos bajos niveles de radiación son limitantes para el desarrollo, la reproducción y la supervivencia de las plantas, y podrían ser un importante determinante de la coexistencia de muchas especies en el sotobosque (Svenning 2002). Distintos factores alteran la cantidad de luz que llega a un sitio dado en el sotobosque, como la cantidad y orientación de las hojas de las plantas circundantes, el curso del sol (diario y estacional) y el movimiento de hojas y ramas producido por el viento. Debido a esto, la radiación directa en el sotobosque es uno de los recursos más dinámicos en el tiempo y en el espacio. Los períodos cortos de radiación directa en el sotobosque se llaman haces de luz (o flecos de su traducción del inglés), son de muy corta duración y pueden desempeñar un importante papel en el presupuesto de carbono de las plantas del sotobosque (Lambers *et al.* 1998). La radiación difusa en el sotobosque está además empobrecida en ciertas longitudes de onda, en particular los azules y los rojos. Los cambios espectrales en la radiación también pueden jugar un papel importante en el desarrollo de las plantas (Hogan & Machado 2002). Pequeños cambios espacio-temporales en la apertura del dosel (y por lo tanto en la luz que penetra hasta el suelo del bosque) juegan un papel preponderante en la tasa de crecimiento poblacional de especies tolerantes a la sombra como algunas palmeras (Svenning 2002). Si bien en los

estudios bajo condiciones controladas en general no se pueden reproducir estas características dinámicas de la luz, los experimentos de plantas bajo condiciones de radiación controlada (donde se realizan tratamientos de diferente nivel de radiación pero esta es relativamente constante en el tiempo dentro de cada tratamiento y no está empobrecida espectralmente) aportan información fundamental para comprender el comportamiento de las especies en condiciones naturales. Por otra parte, los estudios bajo condiciones controladas permiten establecer relaciones de causa-efecto entre los factores considerados y las respuestas obtenidas en las plantas.

La capacidad de una planta para responder a cambios en la disponibilidad de luz puede tener importantes consecuencias para su crecimiento y supervivencia. Ante un aumento en los niveles de radiación, los cambios pueden operar a nivel de la hoja, e involucrar la aclimatación del aparato fotosintético, o a nivel de la planta dando como resultado cambios en el crecimiento, en los patrones de asignación de recursos y en el desarrollo ontogenético (Givnish 1988; Kursar & Coley 1999; Terborgh & Davenport 2001). Cuando se pretende evaluar el crecimiento de una planta y su habilidad competitiva bajo ciertas condiciones, no basta con describir la tasa fotosintética individual de sus hojas. También es necesario conocer la geometría de la copa, la dinámica foliar y los patrones de asignación de recursos a los distintos órganos ya que muchas características de la aclimatación de las plantas a la luz involucran costos energéticos de órganos no fotosintéticos. Por lo tanto el significado de estos cambios en respuesta a la luz serían muy difíciles de interpretar si sólo se analizan fenómenos a nivel de las hojas (Givnish 1988).

Si los recursos disponibles para el crecimiento son limitantes, los procesos de aclimatación producen modificaciones en la fisiología, morfología y dinámica de la planta tendientes a maximizar su ganancia total de carbono (Givnish 1988; Anten & Ackerly 2001). Por ejemplo, en *Metrosideros polymorpha* se vió que el balance entre el costo de construcción y la fijación de carbono es un determinante principal de la longitud de vida de sus hojas: a medida que

umentaba el costo de construcción y disminuía la tasa de asimilación, la longitud de vida de las hojas se hacía más larga (Cordell *et al.* 2001). Otro aspecto que les permite a las plantas mejorar la ganancia de carbono es optimizar la cantidad de luz interceptada por las hojas, la cual está determinada por la disposición espacial de las hojas y por la distribución de biomasa dentro de la planta misma (Chazdon & Montgomery 2002). En general, las plantas del sotobosque producen ramas horizontales para distribuir mejor sus hojas en el espacio y de esta manera minimizar el grado de autosombreo. Anten y Ackerly (2001) sugieren que las palmeras de tallo único al no tener ramas no podrían evitar cierto grado de superposición entre sus hojas. Sin embargo, Takenaka y colaboradores (2001) sugieren que en las palmeras los pecíolos de las hojas podrían funcionar de una forma similar a la de las ramas de los árboles, distribuyendo las hojas en el espacio para evitar la superposición, y además, podrían ajustar los patrones de asignación de biomasa a las distintas partes de la hoja (raquis, folíolos y pecíolos) de tal manera de maximizar la captación total de luz de la planta, orientando las hojas y evitando el autosombreo.

El desarrollo de las palmeras tiene características particulares que es necesario tener en cuenta en el momento de realizar estudios de crecimiento y dinámica foliar (Tomlinson 1990). La corona de las palmeras está compuesta por hojas visibles (expuestas) y hojas invisibles (internas), la hoja visible más joven está siempre en el centro de la corona. Las hojas se desarrollan de una a la vez y a medida que van apareciendo hojas nuevas, el resto de las hojas cambia su posición relativa en la corona. El tiempo necesario para que una hoja cambie de una posición relativa a la siguiente posición más vieja se denomina plastocrón y puede ser utilizado para conocer la longitud de vida de las hojas (Tomlinson 1990). Además, en la fase del desarrollo de las palmeras las hojas muestran una transición morfológica desde las hojas características de las plántulas a las hojas con la morfología de los individuos adultos. En general esta transición implica un aumento paulatino en el tamaño y en la

complejidad de la hoja (Belin-Depoux & Hering de Queiroz 1971; Carvalho *et al.* 1999; Terborgh & Davenport 2001).

Los individuos de *E. edulis* regeneran en el sotobosque, donde puede encontrarse una alta densidad de plántulas bajo las palmeras reproductivas. La disponibilidad de luz parece ser determinante para el establecimiento y desarrollo de estos individuos jóvenes de *E. edulis*, así como el alto contenido de humedad del suelo. Si bien es una especie tolerante a la sombra que regenera bajo el dosel arbóreo, se ha sugerido que llegados a cierto tamaño los individuos de *E. edulis* dependerían de un aumento en la llegada de luz para su establecimiento definitivo (Paulilo 2000). Sin embargo, se ha visto que niveles muy altos de radiación pueden causar una alta tasa de mortalidad o inhibir su crecimiento (Bovi *et al.* 1987; Sedrez dos Reis *et al.* 1987; Paulilo 2000). Por otra parte, el alto contenido de humedad en el suelo parece estimular la germinación, la supervivencia y el crecimiento de las plántulas (Bovi *et al.* 1987).

En este capítulo se describen algunas características generales de la germinación de *Euterpe edulis* y a través de experimentos bajo condiciones controladas de radiación y disponibilidad de agua se estudia el desarrollo, la dinámica foliar y los patrones de asignación de biomasa de individuos jóvenes de *E. edulis*. El **objetivo general** de este capítulo es el de determinar experimentalmente las condiciones óptimas de luz y humedad del sustrato para el crecimiento de *Euterpe edulis*, así como evaluar el crecimiento y los patrones de asignación de biomasa entre las distintas partes de la planta en respuesta a cambios en las condiciones ambientales. Los objetivos específicos fueron los siguientes:

1. Describir el patrón de germinación de semillas provenientes de distintos individuos adultos bajo condiciones controladas
2. Estudiar la respuesta de individuos jóvenes de *E. edulis* a distintos niveles de radiación y de disponibilidad de agua en el sustrato en cuanto a:

- a. fenología foliar: producción y longitud de vida de las hojas
- b. crecimiento: incremento en altura, diámetro del tallo y área foliar
- c. patrón de asignación de recursos a los distintos órganos.

La **hipótesis general** de este capítulo es que *E. edulis* es una especie tolerante a la sombra, por lo tanto, bajo condiciones controladas de luz y disponibilidad de agua se espera que:

1. Las tasas de crecimiento sean mayores a intensidades de luz intermedia y con abundante disponibilidad de agua en el sustrato, y se vea inhibido a altas intensidades de luz, aún con alta disponibilidad de agua
2. A muy bajas intensidades de radiación, las plantas puedan sobrevivir y crecer, y si bien el crecimiento será relativamente lento se producirán cambios en los patrones de asignación de biomasa y en la utilización de los recursos para compensar los bajos niveles de radiación. Por ejemplo, se favorecerá la construcción de superficie foliar y se prolongará la longitud de vida de las hojas.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

En el mes de julio de 2000 se colectaron semillas de 10 individuos adultos de *E. edulis* (parentales) pertenecientes a dos poblaciones distintas del norte de la provincia de Misiones. Se seleccionaron al azar 90 semillas de cada palmera parental (900 en total) las cuales se colocaron en agua durante 24 h. y luego se despulparon para acelerar la germinación (Queiroz 2000). Posteriormente, cada semilla se colocó en una maceta individual identificada con una chapa metálica numerada para seguir su desarrollo a través del tiempo. Las macetas se colocaron bajo condiciones de luz baja y con riego abundante en un vivero perteneciente a la empresa DKM S.A., el cual se encuentra localizado a 6 km de la ciudad de Eldorado, provincia de Misiones. Una vez germinadas las semillas, los individuos resultantes

se dejaron crecer durante 7 meses (diciembre de 2000 a julio de 2001) en el vivero bajo las mismas condiciones de luz y riego antes mencionadas, hasta que todos presentaron al menos 3 hojas, lo cual indica que la plántula se ha establecido (Venturi & Paulilo 1998). Del total de *E. edulis* sanos (aproximadamente 600), se seleccionaron al azar 400 individuos que se transplantaron a macetas de 20 litros en el mes de julio de 2001.

Dentro del mismo predio de la empresa DKM S.A., se construyeron 4 invernáculos contiguos entre sí, cada uno de ellos con una intensidad de luz diferente y dos intensidades de riego. Los niveles de radiación se fijaron de manera de reproducir en los experimentos de vivero las condiciones de luz que se producen naturalmente en el bosque, para lo cual se tomaron mediciones de luz con sensores cuánticos y con fotografías hemisféricas en diferentes sitios y situaciones de un bosque nativo (Campanello 2004). Se establecieron los siguientes tratamientos: 4 niveles de radiación: 10, 30, 40 y 65% de la radiación total incidente; y dos niveles de riego: control y sequía, este último determinado por la misma frecuencia de riego que el tratamiento control, pero con el 50% del volumen de agua. Todas las naves se cubrieron con un plástico transparente para evitar la llegada al suelo del agua proveniente de la lluvia. Los niveles de radiación se obtuvieron utilizando tela de mediasombra neutra de distinta densidad para los tratamientos de 10, 30 y 40 % de la radiación total, el tratamiento de 65% sólo presentaba el plástico transparente. Las condiciones ambientales en los distintos tratamientos de luz fueron descritas por Campanello (2004), quien observó homogeneidad entre los tratamientos en cuanto a temperatura máxima, humedad relativa mínima y déficit máximo de saturación del aire. La temperatura promedio fue de 37 °C, la humedad relativa mínima estuvo por encima del 35% y los valores máximos de déficit de saturación del aire fueron elevados, superando los 4 KPa en todos los tratamientos.

En el mes diciembre de 2001, cuando las palmeras tenían entre 12 y 14 meses de edad, 270 individuos se asignaron al azar a 9 categorías diferentes: 8 tratamientos (resultantes de la combinación de los 4 niveles de radiación y los dos niveles de disponibilidad de agua en el



sustrato) y "cosecha inicial", que permitió conocer el tamaño y el patrón de asignación de la biomasa al inicio del experimento. De esta manera, a los 30 individuos asignados a la cosecha inicial se les midió la altura del tallo (desde su base hasta la inserción de la hoja más joven), el diámetro del tallo en la base del mismo y se determinó el número de hojas verdes y totales. Posteriormente, estos 30 individuos se cosecharon para estimar área foliar total, área foliar específica y la biomasa seca de raíces, hojas y tallo. En las hojas se diferenció entre lámina (correspondiente a los folíolos) y raquis. Para estimar el área foliar se separaron los folíolos del raquis correspondiente, se escanearon y se calculó el área foliar total por individuo utilizando el software Scion Image para Windows 2000 4.0.2. El material se clasificó fresco y luego se secó en estufa a 60° C hasta peso constante. Con el peso seco se calcularon las razones: biomasa aérea/ biomasa subterránea, biomasa lámina/ biomasa vástago, y biomasa lámina/ biomasa raíces.

## **Germinación**

Desde la siembra de las semillas de *E. edulis* y hasta 200 días posteriores a la misma se registró periódicamente el número de plántulas emergidas. Para conocer si existían diferencias en algunos parámetros de la germinación entre las semillas provenientes de los distintos individuos parentales se calculó para cada uno de ellos: a) el número total y b) el porcentaje de semillas germinadas; c) el tiempo medio de germinación, es decir el número de días en el que germinó el 50% del total de las semillas germinadas; y d) el retardo en la germinación, es decir el número de días transcurridos desde la siembra hasta la germinación de la primera semilla. Para estimar los parámetros c y d se ajustó una función no lineal a la germinación acumulada a través del tiempo. Los valores obtenidos se compararon de a pares con la prueba G para conocer si existían diferencias entre los parentales (Zar 1996).

## Producción de hojas y crecimiento

Inmediatamente después de colocar los individuos de *E. edulis* bajo los distintos tratamientos se marcó la hoja más joven totalmente expandida de cada individuo para identificar las hojas nuevas que se produjeran bajo los tratamientos. A los 12 meses de tratamiento (diciembre de 2002) se registró en cada individuo y para todos los tratamientos: a) la posición de la hoja marcada, dando el valor 1 a la hoja visible más joven, b) el número total de hojas expandidas durante este período; y c) el número de hojas verdes completamente expandidas presentes en ese momento. Para estimar la longitud de vida de las hojas visibles se procedió de acuerdo a Tomlinson (1990) donde a partir del cambio relativo en la posición de la hoja marcada se calculó el período de tiempo del plastocrón para cada individuo y con esa información se estimó la longitud de vida de las hojas, utilizando la siguiente ecuación:

$$L = P * n \quad [2.1]$$

donde "L" es la longitud de vida, "P" es la duración del plastocrón y "n" es el número total de hojas visibles presentes.

A los 26 meses de tratamiento (febrero de 2003) se registró: a) el número de hojas verdes completamente expandidas presentes en ese momento, b) la altura a la inserción de la hoja más joven, y c) el diámetro del tallo en la base del mismo. Se estimó el crecimiento (C) a partir del incremento en diámetro del tallo ( $\emptyset$ ):

$$C = (\emptyset_{\text{final}} - \emptyset_{\text{inicial}}) / \emptyset_{\text{inicial}}$$

utilizando como diámetro del tallo inicial ( $\emptyset_{\text{inicial}}$ ) el promedio del diámetro del tallo de los 30 individuos de la cosecha inicial.

Al final del experimento (abril-mayo de 2003) se realizó una cosecha final. En función de la respuesta observada a los distintos tratamientos, y al gran volumen de biomasa por individuo, se consideró adecuado cosechar individuos de los 4 tratamientos de niveles de

radiación y sólo del tratamiento de riego normal. En esta cosecha se estimaron las mismas variables que en la cosecha inicial, procediéndose de igual manera (ver más arriba), excepto para estimar el área foliar total. En este caso, debido a la gran superficie de lámina, se procedió a realizar un muestreo: se separaron y se seleccionaron al azar folíolos correspondientes aproximadamente al 10% de la superficie de cada hoja. Para estos folíolos se calculó el área de la misma manera que en la cosecha inicial. Luego, se secaron en estufa a 60° C hasta peso constante. El resto de los folíolos también se secaron en estufa y se pesaron. El área foliar total por hoja se calculó utilizando la relación peso/área calculada para la muestra. Para estimar el área foliar total de todos los individuos en los 8 tratamientos, se utilizaron los individuos de la cosecha final como una muestra. De acuerdo a datos previos de hojas cosechadas para los experimentos de conductividad hidráulica, se supuso que no había diferencias en el tamaño de las hojas entre los tratamientos de control y sequía en individuos que estaban creciendo en un mismo tratamiento de luz (ver capítulo 4; ANOVA dos factores, luz (DFFF) y disponibilidad de agua (agua), DFFF:  $F_{3,40} = 2,69$ ,  $p = 0,059$ ; agua  $F_{1,40} = 0,31$   $p = 0,58$ ; DFFF\*agua  $F_{3,40} = 0,11$ ,  $p = 0,96$ ). Se calculó el área foliar promedio por hoja para cada posición en la planta y por tratamiento de nivel de radiación. El área foliar de cada individuo se calculó en función del número de hojas que poseía cada uno como una sumatoria del promedio de área foliar correspondiente a cada hoja.

### **Patrones de asignación de biomasa**

Se estudió el patrón de asignación de biomasa entre las distintas partes de la planta en respuesta a los distintos niveles de radiación y de disponibilidad de agua, esto último únicamente para algunas características de las hojas. Para ello se utilizó el peso seco obtenido a partir de hojas cosechadas para estudios de conductividad hidráulica (ver capítulo 4) y en la cosecha final. Se calcularon distintos cocientes los cuales se describen a continuación:

$PS_{pc}/PS_h$ : como un indicador de la cantidad de recursos que invierte la planta para sostener y orientar sus hojas en relación a la biomasa invertida en la hoja

$PS_{lam} / PS_a$  : como un indicador de la cantidad de biomasa invertida en la formación de superficie fotosintética en función del total de la biomasa invertida en la parte aérea de la planta

$PS_r / PS_{total}$  : como un indicador de cuánta biomasa invirtió en tejidos de absorción de agua y nutrientes en función de la biomasa total de la planta

Donde: PS: peso seco, pc: pecíolo, lam: lámina, h:hoja (lámina + raquis), r: raíz, a: parte aérea de la planta (lámina + raquis + tallo), total: biomasa total de la planta.

## **Análisis de resultados**

Los datos se analizaron con el programa de computación Sigma Plot 7.0 y Statistica 6.0 para windows. En general se realizaron análisis de varianza para comparar las medias entre los distintos tratamientos en aquellos datos donde no se rechazaron los supuestos del análisis, homogeneidad de varianza y distribución normal. Para los contrastes *a posteriori* se utilizó la prueba de Tukey. Para otros datos, donde no pudo ponerse a prueba los supuestos para el análisis debido a un número de muestras reducido, se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis (Zar 1996).

## **RESULTADOS**

### **Germinación**

Los patrones de germinación no fueron diferentes entre los distintos individuos parentales. En total germinaron 725 semillas de las 900 sembradas (80,5 %). El tiempo medio de germinación tampoco difirió entre los parentales germinando el 50% de las semillas en 74

días en promedio (Tabla 1). El porcentaje acumulado de semillas germinadas a lo largo del tiempo se ajustó a una función logística de 3 parámetros (Figura 4).

## **Producción de hojas y crecimiento**

La tasa anual de producción de hojas registrada en el primer año de estudio (diciembre 2001- diciembre 2002), fue diferente para las plantas que crecieron en los distintos tratamientos de luz (o DFFF, densidad de flujo fotónico fotosintético) pero no para aquellas que crecieron bajo distintos niveles de disponibilidad de agua en el sustrato (ANOVA a dos factores, DFFF  $F_{3, 195} = 29,39$ ,  $p < 0,001$ ; agua  $F_{1, 195} = 0,79$ ,  $p = 0,37$ ; DFFF\*agua  $F_{3, 195} = 1,21$ ,  $p = 0,31$ ). Los individuos que se desarrollaron a niveles de radiación bajos expandieron menor cantidad de hojas que aquellos que se desarrollaron en los tratamientos de mayor disponibilidad de luz (Figura 5). El número de hojas verdes y completamente expandidas presentes en los individuos no fue diferente entre los tratamientos a los 12 meses de iniciado el experimento (diciembre 2002) (ANOVA a dos factores, DFFF  $F_{3, 195} = 1,41$ ,  $p = 0,24$ ; agua  $F_{1, 195} = 0,14$ ,  $p = 0,71$ ; DFFF\*agua  $F_{3, 195} = 2,14$ ,  $p = 0,10$ ), pero sí se encontraron diferencias en el número de hojas verdes presentes por individuos a los 26 meses (febrero 2003) para los distintos tratamientos de luz (ANOVA dos factores, DFFF  $F_{3, 186} = 9,56$ ,  $p < 0,001$ ; agua  $F_{1, 186} = 0,64$ ,  $p = 0,42$ ; DFFF\*agua,  $F_{3, 186} = 0,97$ ,  $p = 0,41$ ), siendo mayor en el tratamiento de 10% de luz con respecto a los tratamientos de 40 y 65% (Figura 6). El número total de hojas expandidas por individuo durante los 26 meses del experimento en los distintos tratamientos fue un 25% menor a 10% de luz con respecto a los tratamientos de mayor disponibilidad de luz ( $F_{3, 212} = 34,39$ ,  $p < 0,001$ ), no se detectaron efectos de la disponibilidad de agua en el sustrato sobre el número total de hojas expandidas en 26 meses por cada individuo ( $F_{1, 212} = 1,04$ ,  $p < 0,308$ ; DFFF\*Agua  $F_{3, 212} = 0,93$ ,  $p = 0,426$ ; Figura 7).

La longitud de vida de las hojas fue diferente entre los distintos niveles de radiación, siendo más corta en el tratamiento de 65% y más extendida en el tratamiento de 10%. Los

tratamientos de 30 y 40% tuvieron una longitud de vida intermedia. La reducción de la disponibilidad de agua en el sustrato tendió a prolongar la vida de las hojas, si bien no se observaron efectos significativos (ANOVA a dos factores, DFFF  $F_{3, 212} = 40,28$   $p < 0,001$ ; agua  $F_{1, 212} = 2,73$   $p = 0,099$ ; DFFF\*agua  $F_{3, 212} = 0,98$   $p = 0,40$ , Figura 8). El área foliar específica fue más alta en el tratamiento de 10% de radiación, con un promedio de  $260 \text{ cm}^2/\text{g}$ , con respecto a los tratamientos 30, 40 y 65%, cuyo promedio fue de  $210 \text{ cm}^2/\text{g}$  (el análisis y el gráfico correspondiente se muestran en el capítulo 2).

A los 26 meses de tratamiento la altura a la inserción de la hoja más joven y el diámetro del tallo medido en la base, estaban fuertemente correlacionados en todos los tratamientos (Figura 9). Para comparar la relación entre estas dos variables se creó una nueva variable a partir del cociente entre altura y diámetro, de esta manera se vió que los individuos fueron consistentemente más bajos en relación a su diámetro a medida que el nivel de radiación del tratamiento fue mayor (ANOVA a dos factores, DFFF  $F_{3, 219} = 15,39$   $p < 0,001$ ; agua  $F_{1, 219} = 0,02$   $p = 0,88$ ; DFFF\*agua  $F_{3, 219} = 3,31$   $p = 0,02$ ).

Para evaluar el crecimiento entre los distintos tratamientos se utilizó el incremento relativo en diámetro y se observó un efecto significativo del nivel de radiación (Figura 10). El crecimiento fue significativamente menor en el tratamiento de menor disponibilidad de luz (10%) con respecto al resto de los tratamientos (ANOVA a dos factores, DFFF  $F_{3, 219} = 8,07$ ,  $p < 0,001$ ; agua  $F_{1, 219} = 0,09$ ,  $p = 0,75$ ; DFFF\*agua  $F_{3, 219} = 1,51$ ,  $p = 0,21$ ).

El área foliar total por individuo fue diferente entre los distintos tratamientos de luz, pero no de disponibilidad de agua (ANOVA a dos factores, DFFF  $F_{3, 218} = 71,84$ ,  $p < 0,001$ ; agua:  $F_{1, 218} = 0,19$ ,  $p = 0,66$ ; DFFF\*agua:  $F_{3, 218} = 0,32$ ,  $p = 0,81$ ), siendo mayor en el tratamiento de disponibilidad de 30% y cerca de un 40% más reducida en el de luz baja (10%), los tratamientos de 40 y 65% mostraron un área foliar intermedia (Figura 11).

Al comparar las hojas presentes en los individuos se observó que a medida que éstos expandían hojas nuevas, éstas eran cada vez más grandes, independientemente del tratamiento de luz (Figura 12). Cuando se comparó el tamaño de las hojas presentes en los individuos entre los distintos tratamientos se vió que fue diferente entre los distintos niveles de radiación (fueron más pequeñas en el tratamiento de 10%)(Figura 12). Sin embargo, estos resultados fueron diferentes cuando se consideró el orden en el cual se expandió la hoja en la ontogenia de la planta; es decir, cuando se graficó la superficie por hoja en función de la posición que ocupaba esta hoja en toda la vida de la planta (y no en función de la posición que tenía actualmente en el individuo). Al considerarse la posición de las hojas en la vida de la planta pudo observarse que el tamaño de las hojas para una misma posición ontogenética fue similar entre los 3 tratamientos de menor nivel de radiación (10, 30 y 40%)(Figura 13) y considerablemente menor en el tratamiento de 65% de luz. A la relación entre superficie foliar y posición de la hoja en la vida de la planta se ajustó una función exponencial, poniendo como punto inicial el tamaño promedio de las hojas de los individuos de la cosecha inicial. Para los tratamientos de 10, 30 y 40% de luz se ajustó una única función, pero para el tratamiento de 65%, en cambio, se ajustó a una función distinta (Figura 13).

### **Patrones de asignación de biomasa**

Los distintos niveles de radiación tuvieron un efecto sobre la asignación de biomasa entre los distintos órganos de las palmeras (hojas, pecíolos, tallo y raíces). Las plantas que se desarrollaron a bajas intensidades de luz (10%), ya sea para el tratamiento de suministro de agua normal o reducida, invirtieron más biomasa en pecíolos por unidad de hoja formada que los individuos de los otros tratamientos de mayor disponibilidad de luz (30, 40 y 65%), los cuales mostraron asignaciones de biomasa similares (Figura 14) (ANOVA a dos factores, DFFF:  $F_{3, 35} = 9,91$ ,  $p < 0,001$ ; humedad:  $F_{1, 35} = 0,19$ ,  $p = 0,66$ ; DFFF \* humedad:  $F_{3,35} = 0,61$ ,  $p = 0,61$ ). Por otra parte, estos pecíolos fueron de menor diámetro en el tratamiento

de 10% de radiación con respecto al tratamiento de 40%, donde se observaron los peciolos más anchos (Figura 15)(ANOVA a dos factores, DFFF  $F_{3, 44} = 3,59$ , agua  $p = 0,02$ ;  $F_{1, 44} = 0,83$ ,  $p = 0,37$ ; DFFF\*agua  $F_{3, 44} = 0,30$ ,  $p < 0,83$ ). Asimismo las palmeras que se desarrollaron a 10% de luz asignaron proporcionalmente un 34% más de biomasa a la superficie foliar (con respecto a la biomasa de toda la parte aérea de la planta) que los individuos creciendo a niveles más altos de radiación (30, 40 y 65%) los cuales no difirieron significativamente entre si (Figura 16) (prueba no paramétrica de Kruskal Wallis,  $H_{3,19} = 11,71$ ,  $p = 0,008$ ). Por otra parte, a medida que aumentó el nivel de radiación del tratamiento, las plantas tendieron a asignar proporcionalmente más biomasa a las raíces (Figura 17).

Tabla 1. Número total de semillas germinadas (número), porcentaje de germinación (%), número de días transcurridos desde la siembra hasta que germinó la primera semilla (retardo) y número de días en el cual germinó el 50% de las semillas (tiempo medio de germinación) por Parental y promedio (lote por parental: 90 semillas). a: no significativo,  $G = 1,97$ ,  $p = 0,16$ ; b: no significativo,  $G = 2,22$ ,  $p = 0,14$ ; c: no significativo,  $G = 2,57$ ,  $p = 0,11$ ; d: no significativo,  $G = 2,04$ ,  $p = 0,15$ .

	Parental										Total	Media (ES)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
<b>Número</b>	80	72	66	65 <sup>a</sup>	82 <sup>a</sup>	65	75	74	76	70	725	72,5 (1,9)
<b>%</b>	89	80	73	72 <sup>b</sup>	91 <sup>b</sup>	72	83	82	84	78	--	80,5 (2,1)
<b>Retardo</b>	44,3	47,2	56,1 <sup>c</sup>	44,4	42,1	46,8	40,4 <sup>c</sup>	51,3	50,0	48,4	--	47,0 (1,4)
<b>Tiempo medio (días)</b>	67,6 <sup>d</sup>	79,2	85,2 <sup>d</sup>	71,2	79,1	69,9	68,8	71,2	76,6	72,6	--	74,1 (1,8)



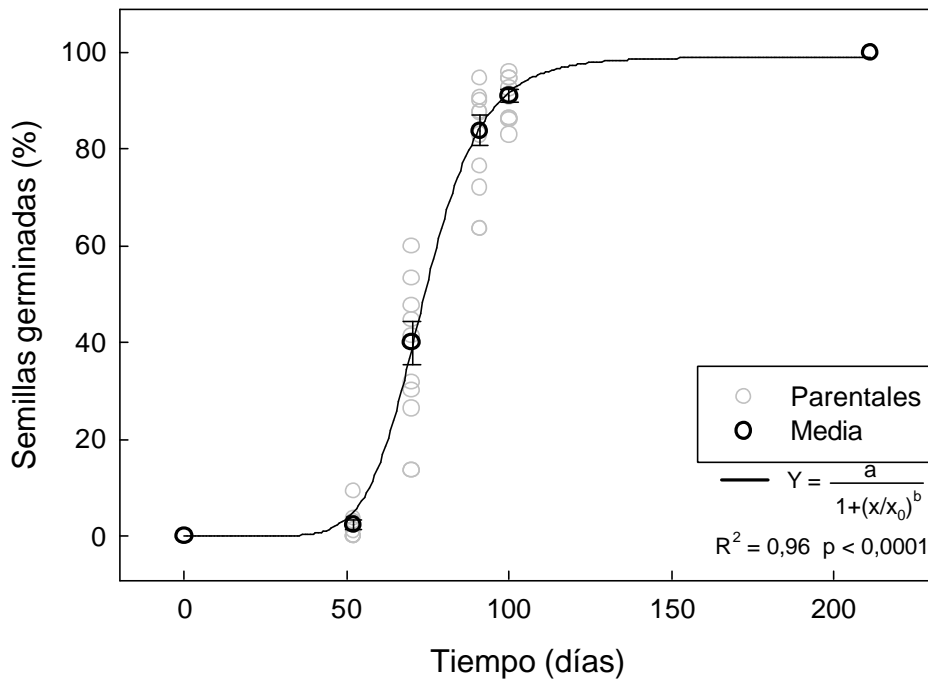


Figura 4. Porcentaje acumulado de las semillas germinadas a lo largo del tiempo para individuos y media de individuos  $\pm$  error estándar. Porcentaje calculado considerando como 100% el total de semillas germinadas en cada individuo parental. Puntos grises significan individuos parentales, puntos negros medias por fecha  $\pm$  error estándar

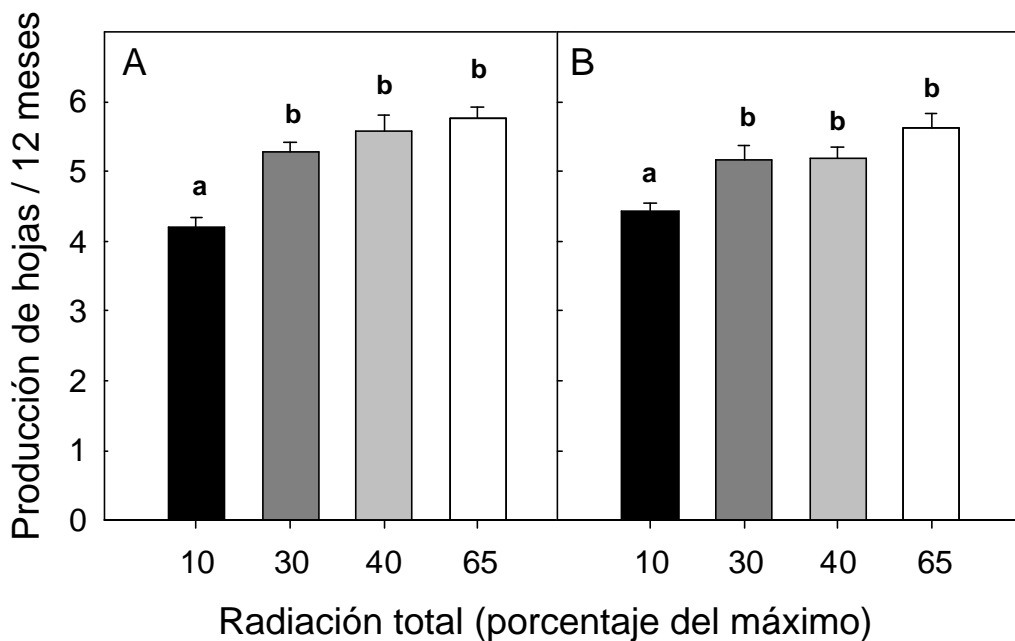


Figura 5. Tasa anual de producción de hojas (media + error estándar,  $n = 19-30$ ; diciembre 01-diciembre 02) por individuo de *Euterpe edulis* creciendo bajo distintos niveles de radiación (porcentaje de la radiación total incidente) y de disponibilidad de agua en el sustrato (A: riego normal, B: suministro de agua reducido). Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos dentro de cada panel,  $p < 0,05$ .

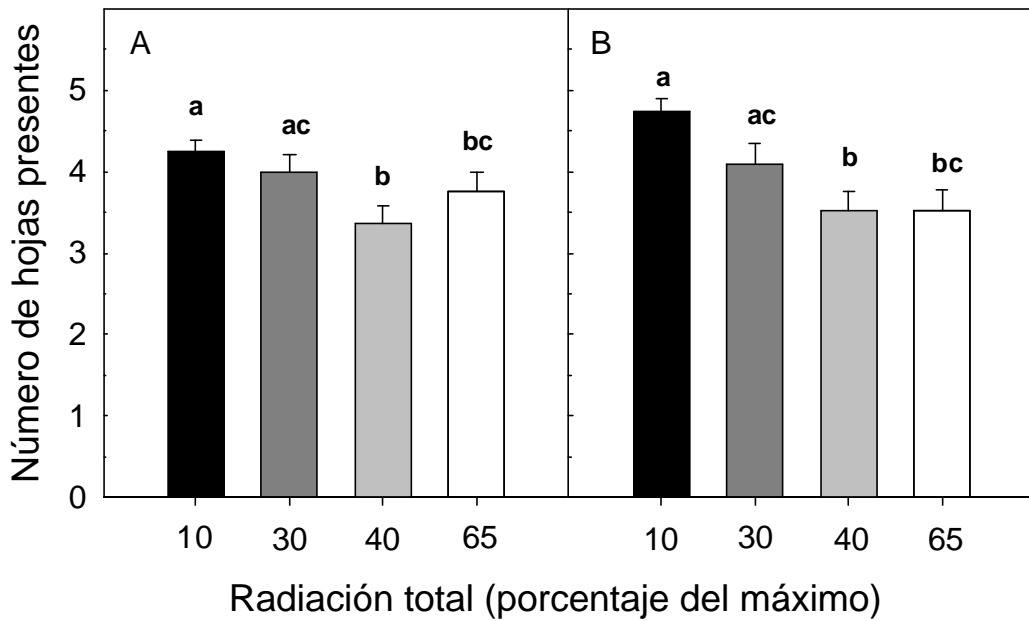


Figura 6. Número de hojas expandidas presentes por individuo (media + error estándar, n= 19-26) en *Euterpe edulis* a los 26 meses del tratamiento (febrero 03) bajo distintos niveles de radiación (porcentaje de la radiación total incidente) y de disponibilidad de agua en el sustrato (A: riego normal, B: suministro de agua reducido). Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos dentro de cada panel,  $p < 0,05$ .

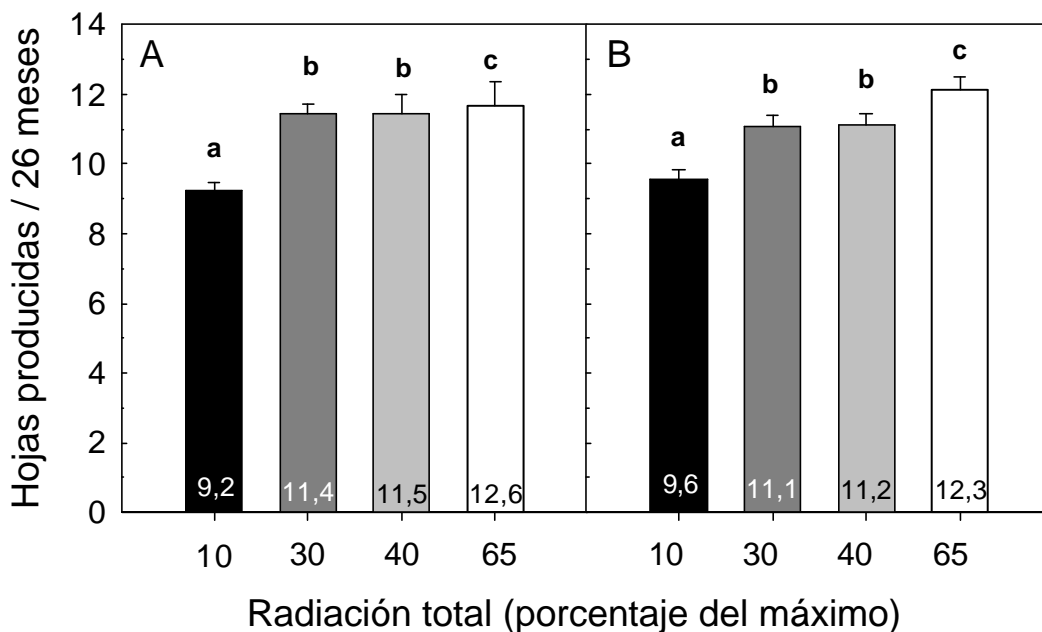


Figura 7: Número total de hojas producidas por individuo en 26 meses (diciembre 2001-febrero 2003) bajo distintos niveles de radiación (porcentaje de la radiación total incidente) y de disponibilidad de agua en el sustrato (A: riego normal, B: suministro de agua reducido). Los números al pie de las barras corresponden al valor de las medias de cada tratamiento. Letras distintas indican diferencias significativas dentro de cada panel,  $p < 0,05$ .

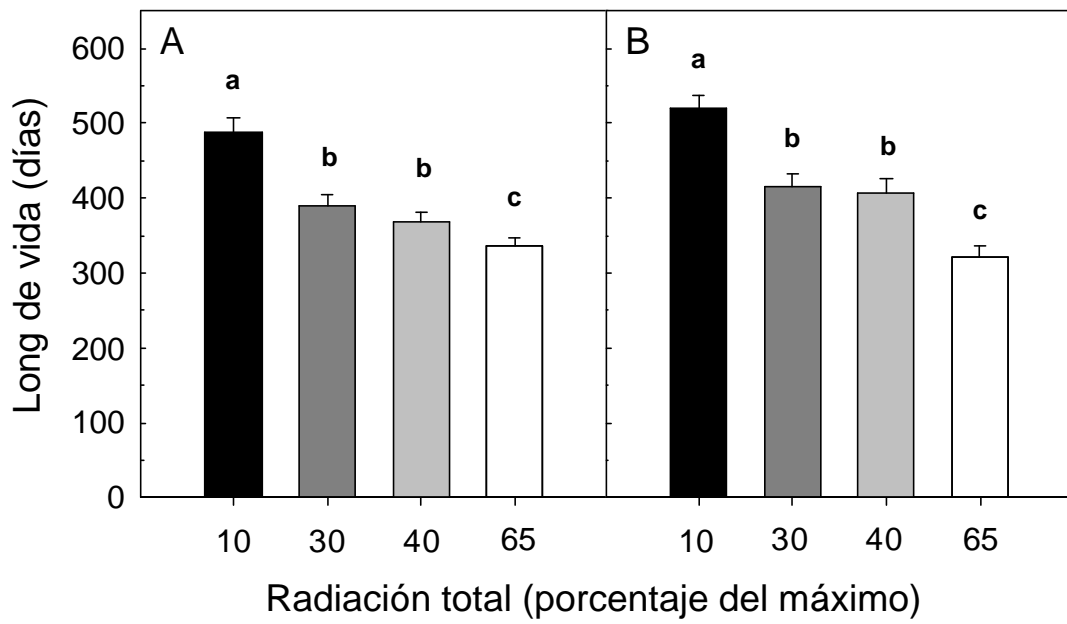


Figura 8. Longitud de vida (media + error estándar, n =24-31) de hojas de *Euterpe edulis* desarrolladas bajo distintas condiciones de luz (porcentaje de la radiación total incidente) y de disponibilidad de agua en el sustrato (A: riego normal, B: suministro de agua reducido). Letras distintas indican diferencias significativas dentro de cada panel,  $p < 0,05$ .

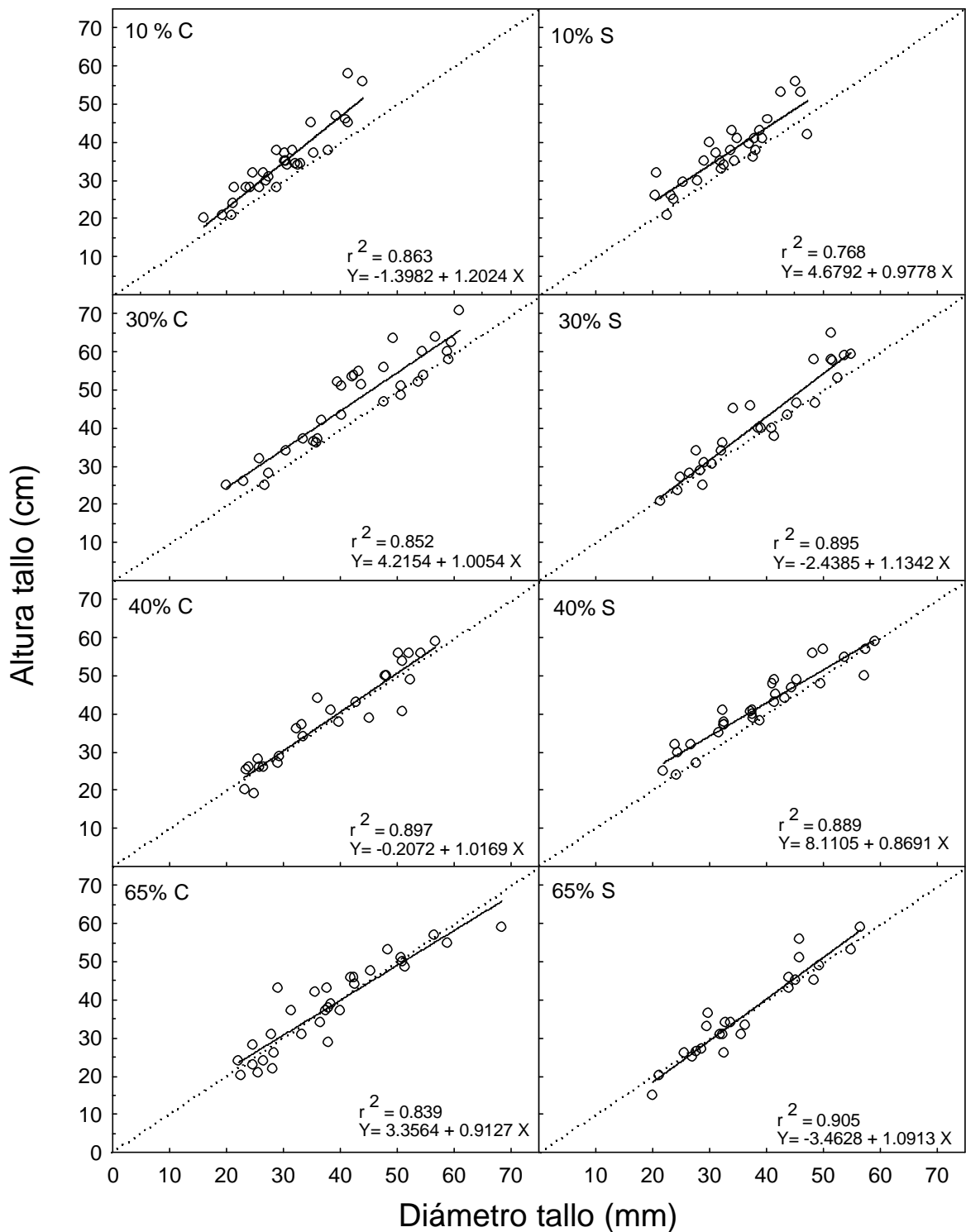


Figura 9. Altura a la inserción de la última hoja en función del diámetro del tallo para *Euterpe edulis* bajo distintas condiciones de luz (porcentaje de la radiación total incidente) y de disponibilidad de agua en el sustrato (C: riego normal, S: suministro de agua reducido). Cada punto corresponde a un individuo, n = 26-31.

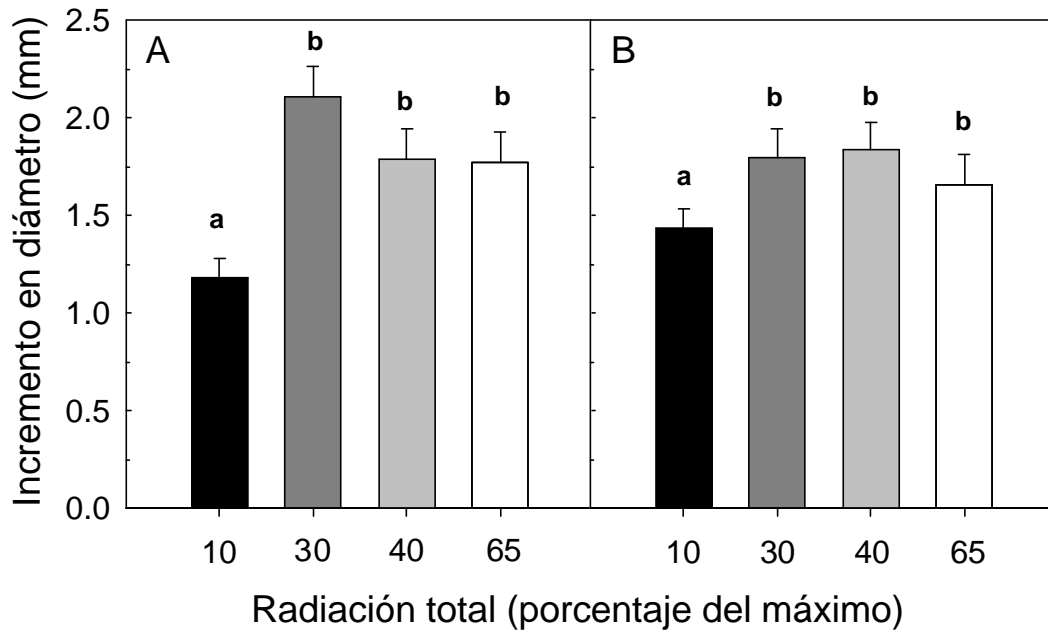


Figura 10. Incremento relativo en diámetro del tallo (media + error estándar, n = 24-31) de *Euterpe edulis* luego de desarrollarse durante 26 meses bajo distintos niveles de radiación (porcentaje de la radiación total incidente) y de disponibilidad de agua en el sustrato (A: riego normal, B: suministro de agua reducido). Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos dentro de cada panel,  $p < 0.05$

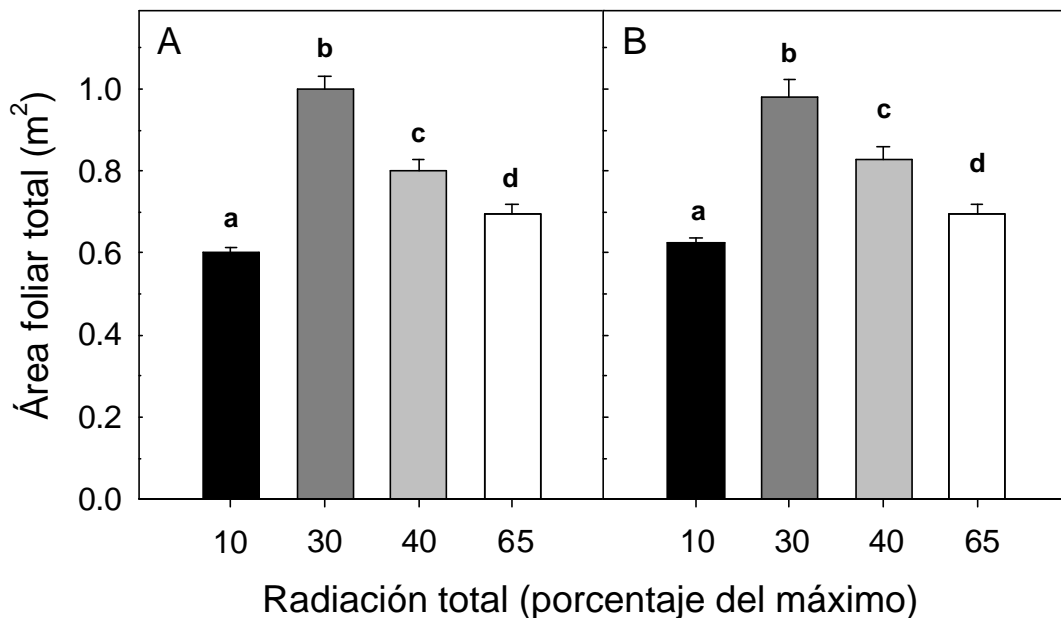


Figura 11. Área foliar total por individuo de *Euterpe edulis* (promedio + error estándar, n= 24-31) luego de desarrollarse durante 26 meses bajo diferentes condiciones de luz (porcentaje de la radiación total incidente) y de disponibilidad de agua en el sustrato (A: riego normal, B: suministro de agua reducido). Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos dentro de cada panel,  $p < 0,05$

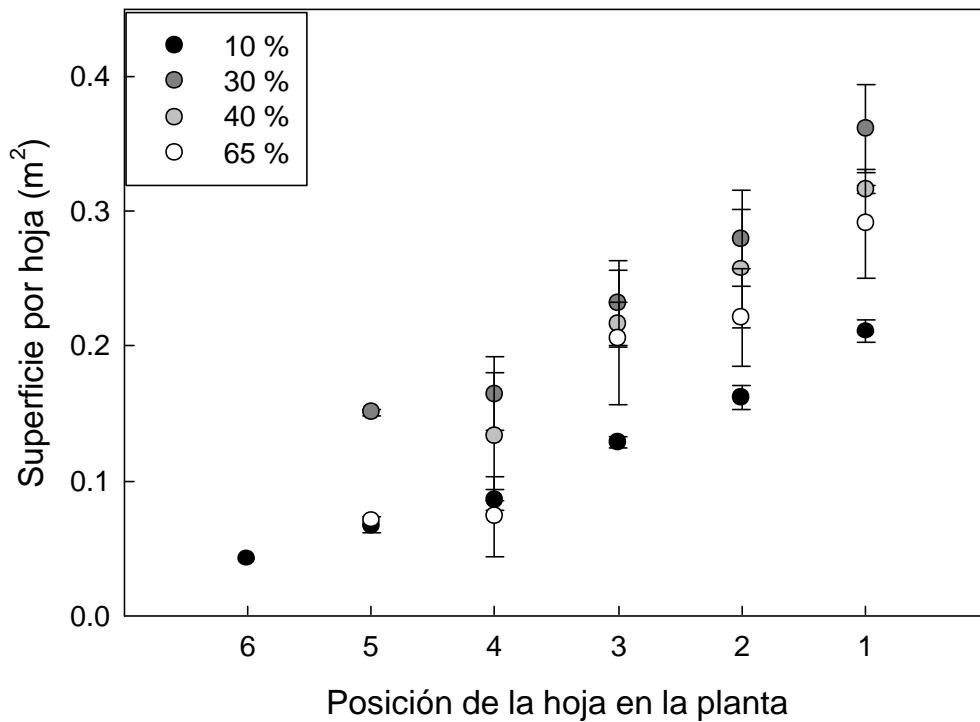


Figura 12: Superficie por hoja de *Euterpe edulis* (media  $\pm$  error estándar, n =3-7) de acuerdo a su posición en el individuo para los distintos tratamientos de disponibilidad de luz (10, 30, 40 y 65, porcentaje de la radiación total incidente). Posición 1: hoja más joven expandida, posición 6: hoja más vieja. Los puntos sin barras de error corresponden al promedio de dos valores.

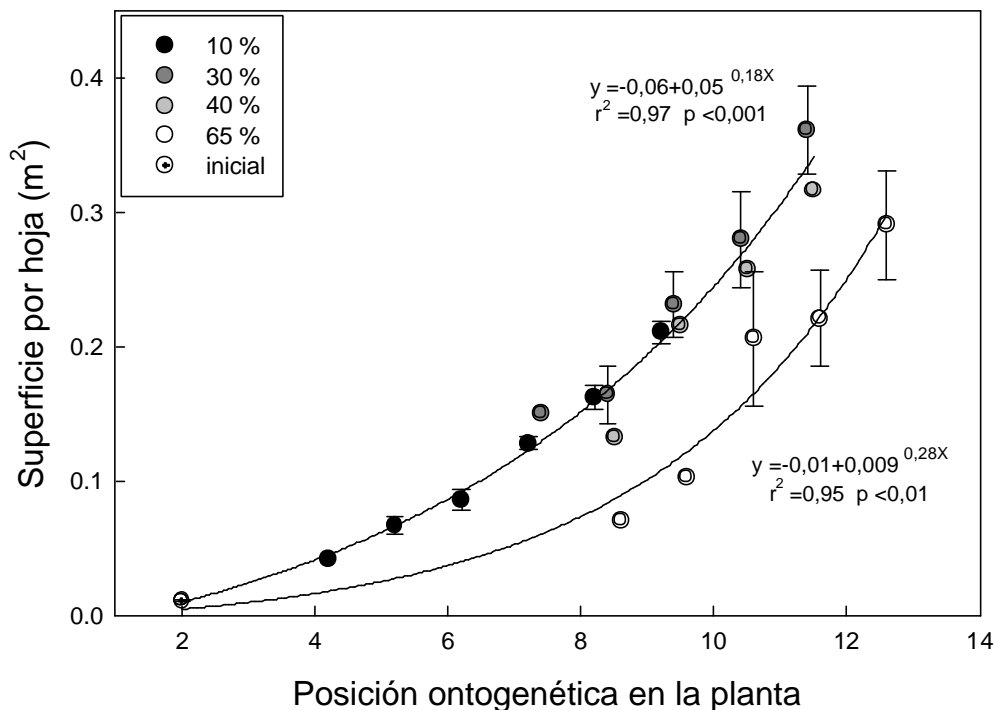


Figura 13: superficie por hoja (media  $\pm$  error estándar, n =3-8) de acuerdo al orden de desarrollo en la ontogenia del individuo para plantas de *Euterpe edulis* desarrolladas durante 26 meses bajo distintos tratamientos de disponibilidad de luz (10, 30, 40 y 65, porcentaje de la radiación total incidente). En este caso: número más bajos indican hojas que se expandieron antes que las de número altos.

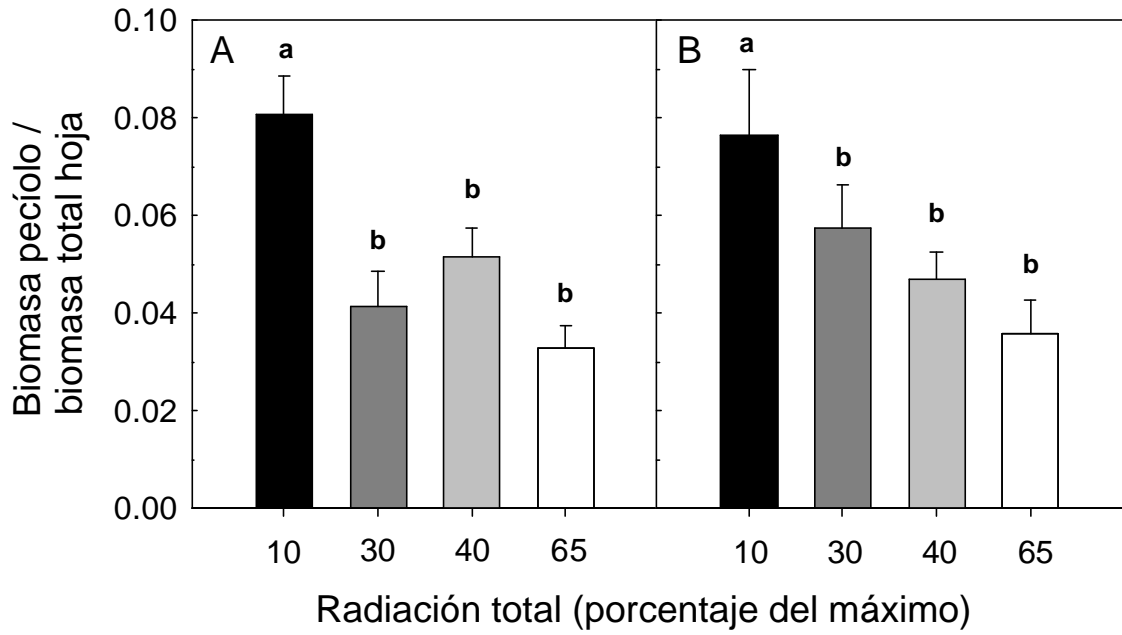


Figura 14: Cociente entre biomasa de peciolo y biomasa total de la hoja en *Euterpe edulis* bajo distintos niveles de radiación (porcentaje de la radiación total incidente) y de disponibilidad de agua en el sustrato (A: riego normal, B: suministro de agua reducido). Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos dentro de cada panel,  $p < 0,05$ .

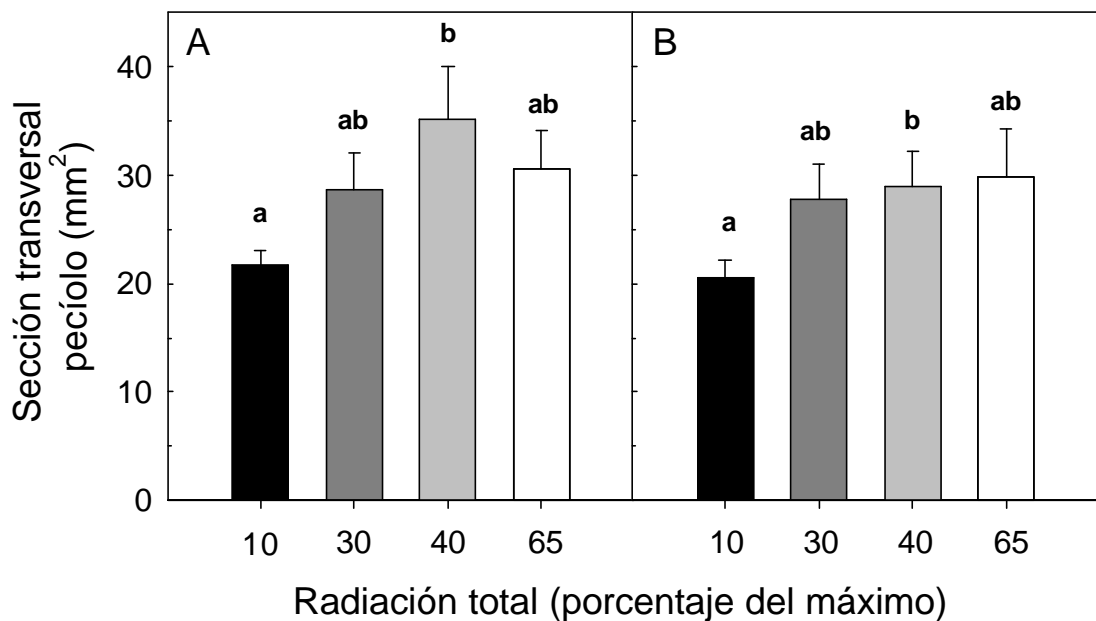


Figura 15: Área de la sección transversal de peciolos de *Euterpe edulis* bajo distintos niveles de radiación (porcentaje de la radiación total incidente) y de disponibilidad de agua en el sustrato (A: riego normal, B: suministro de agua reducido). Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos dentro de cada panel,  $p < 0,05$ .

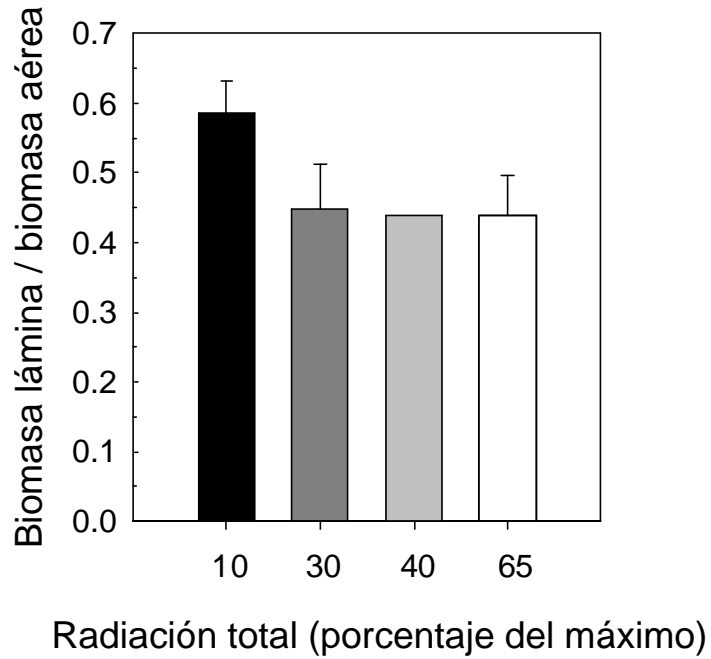


Figura 16: Cociente entre la biomasa de la lámina (folíolos más raquis) y la biomasa de la parte aérea (folíolos, raquis, pecíolos y tallo) (mediana + cuartil 75%; n =4-6, excepto para 40% cuyo n =2) en plantas de *Euterpe edulis* desarrolladas durante 26 meses (diciembre 01-febrero 03) bajo distintos niveles de radiación (porcentaje de la radiación solar incidente).

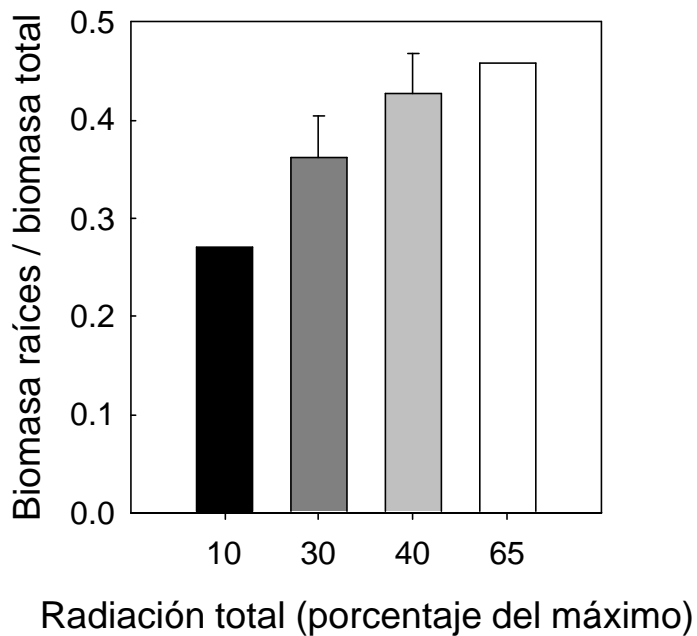


Figura 17: Cociente entre la biomasa de raíces y la biomasa total del individuo (media + error estándar, n =2-4) para *E. edulis* desarrollado bajo distintos bajo distintos niveles de radiación (porcentaje de la radiación solar incidente). Las barras sin error corresponden al valor promedio de 2 individuos.



## DISCUSIÓN

Los niveles de radiación afectaron significativamente la tasa de expansión de hojas, la longitud de vida de las mismas, el crecimiento en diámetro y altura de las plantas, el área foliar total por individuo y los patrones de asignación de biomasa entre las distintas partes de las palmeras. Los niveles de luz intermedios y relativamente bajos y en particular niveles de 30% de la radiación solar incidente fueron óptimos para su desarrollo y crecimiento. Esta especie está bien adaptada a crecer en condiciones de sombra siendo capaz de modificar su morfología (y posiblemente su fisiología) como respuesta a variaciones en niveles de radiación dentro del bosque. Sin embargo bajo las condiciones de bajos niveles de radiación solar (10%) la tasa de crecimiento fue aproximadamente un 25% menor que en los otros 3 tratamientos que recibían mayor radiación. Esto se puede explicar no sólo por los niveles de radiación subóptimos para el proceso fotosintético en estas condiciones de luz (ver capítulo 3) sino también por los valores bajos de área foliar total por individuo alcanzados después de 26 meses de crecimiento (originalmente el área foliar total por planta fue similar entre tratamientos).

En el tratamiento de menor cantidad de luz (10%) la longitud de vida de la hoja aumentó aproximadamente un 40% y la tasa de expansión foliar fue significativamente menor. Además, la capacidad fotosintética de estas hojas también fue menor con respecto a las hojas desarrolladas en los otros tratamientos con mayor cantidad de luz (ver capítulo 3). Los bajos niveles de radiación (10%) produjeron una disminución en la tasa de expansión foliar, así como en el incremento relativo en diámetro y en el área foliar total por individuo alcanzada luego de los 26 meses de tratamiento. Pero, a bajos niveles de radiación (10%) donde la tasa de producción de hojas fue menor, las palmeras extendieron substancialmente la longitud de vida de las mismas y produjeron hojas con alta área foliar específica (AFE). De esta manera las plantas compensaron parcialmente las condiciones desfavorables para el crecimiento, al producir hojas de alta AFE, las cuales tendrían un costo menor de producción

y mantenimiento, y extendiendo su longitud de vida. Este cambio en la longitud de vida de las hojas fue consistente con la hipótesis de que la regulación de la longevidad foliar le permite a la planta maximizar la ganancia de carbono bajo condiciones ambientales limitantes (Cordell *et al.* 2001).

A bajos niveles de radiación las plantas tienden a maximizar la captación de luz de diferentes maneras. Una de las formas es disminuir el efecto del autosombreo entre las hojas de la planta. En las plantas en general el autosombreo se puede reducir distribuyendo las hojas en un volumen mayor de espacio desarrollando ramas más largas y de diferente tamaño para evitar la superposición entre las hojas (Anten & Ackerly 2001). En el caso de las palmeras que no se ramifican, los pecíolos podrían jugar el mismo papel en la organización de las hojas en la copa que las ramas en las plantas leñosas. En la palmera de sotobosque *Licuala arbuscula* se observó que se evitaría el efecto de autosombreo mediante pecíolos de diferente tamaño, los cuales le permitirían distribuir las hojas en un espacio más grande de la copa. Esto último podría ayudar a tener acceso a mayor cantidad de luz para cada unidad foliar, especialmente cuando existen gradientes verticales en la distribución de la radiación solar (Takenaka *et al.* 2001). En el presente trabajo se observó que *E. edulis* creciendo en la sombra (tratamiento del 10%) aparentemente disminuye el efecto del autosombreo de las hojas, no solamente disminuyendo el tamaño de las mismas sino también distribuyéndolas mejor en el espacio al asignar relativamente más biomasa a los pecíolos, disminuir su diámetro y en consecuencia, aumentar en forma diferencial su largo. Si bien no se muestran datos, también se observó que los folíolos estaban más separados entre sí a bajos niveles de radiación, mientras que en el tratamiento de 65% se encontraban contiguos o incluso superpuestos.

*Euterpe edulis* es una especie plástica en términos de los cambios que se producen en la asignación de biomasa a los distintos componentes de la planta cuando varían los niveles de radiación solar. A bajos niveles de radiación las plantas asignaron recursos de manera de

maximizar la superficie fotosintética, aumentando la proporción de biomasa asignada a la construcción de superficie foliar, sobre el total de biomasa de la parte aérea, y disminuyendo la proporción de biomasa asignada a la parte subterránea, sobre el total de la biomasa de la planta. Los resultados obtenidos en esta parte del estudio son consistentes con los reportados por Illenseer y Paulilo (2002) quienes observaron cambios en la asignación de biomasa entre la parte aérea y subterránea de *E. edulis* de manera de maximizar la superficie para la captación de luz.

Bajo condiciones de bajos niveles de radiación las tasas de crecimiento son menores que a radiaciones más altas pero la disminución de estas tasas no son proporcionales a la disminución en la radiación solar incidente. La disminución de radiación fue al menos del 66%, mientras que la disminución en la tasa de crecimiento fue sólo del 30% en promedio. Esto ocurre debido a que, a bajo niveles de luz, *E. edulis* extiende la longitud de vida de las hojas y reduce la tasa de producción de hojas, produce hojas con mayor área foliar específica (de costo menor), y disminuye el autosombreo con pecíolos más largos. Además la distribución de la biomasa entre los distintos componentes de la planta es tal que bajo condiciones de poca radiación se favorece la producción de lámina foliar a expensas de la asignación de biomasa a los tallos y a las raíces, ya que en el tratamiento de 10% la relación lámina/biomasa aérea es mayor y la relación raíz/biomasa total es menor. Esto refleja una alta capacidad para aumentar la eficiencia en la captura de luz, la cual es importante para mantener el crecimiento y la supervivencia de plantas a bajos niveles de radiación. Illenseer y Paulilo (2002) sugieren que la capacidad de los *E. edulis* de mantener una tasa de crecimiento positiva en condiciones de luz limitantes se debe probablemente a su capacidad para ajustar su morfología de manera de maximizar la intercepción y absorción de luz.

Esta especie también puede crecer bien con niveles relativamente altos de radiación bajo condiciones controladas en el vivero, sin embargo tienden a ser muy escasos en los claros y lugares abiertos. En un experimento donde se colocaron plántulas de *E. edulis* en claros y

bajo el dosel arbóreo en el bosque se observó que la mortalidad fue significativamente mayor en los claros, donde sobrevivieron sólo el 18% de los *E. edulis* mientras que bajo el dosel la supervivencia alcanzó el 62%. Además, se observó que los individuos que sobrevivieron en los claros se encontraban en general cerca del borde del mismo, donde la radiación solar incidente suele ser menor, o sombreados por alguna planta o tronco caído cercano (M. Villagra, resultados no publicados). En condiciones naturales en el bosque otros factores podrían influir sobre la distribución del *E. edulis*, por ejemplo la presencia de especies de crecimiento muy rápido tal como *Celtis iguanea* y *Chusquea ramosissima* que se hacen dominantes en sitios con altos niveles de radiación. Estas especies son consideradas invasoras nativas que podrían inhibir la regeneración de otras especies vegetales del bosque (Campanello Montti & Gatti 2005). Otros factores pueden determinar la distribución y abundancia local de *E. edulis* dentro del bosque. Se ha visto que la supervivencia de individuos pequeños de *E. edulis* es altamente afectada por la defoliación causada por herbivoría, especialmente en el período de establecimiento cuando se agotan las reservas de la semilla y la planta debe alcanzar una superficie fotosintética mínima para garantizar su supervivencia (Carvalho *et al.* 1999). Además, en sitios donde se ha realizado la cosecha de *E. edulis* aumenta el ataque del curculiónido *Rhynchophorus palmarum*, cuyas larvas se desarrollan alimentándose de los tejidos internos del *E. edulis* y causan la muerte de los individuos jóvenes al consumir el meristema apical (Gatti 1999).

Si bien se observó un efecto significativo de la luz en el crecimiento, dinámica foliar y distribución de la biomasa entre distintas partes de la planta, no se detectaron efectos de la disponibilidad de agua sobre estas características. Los datos obtenidos en este estudio sugieren que *E. edulis* no tendría alta plasticidad para aclimatar su morfología en función de la disponibilidad de agua. Sin embargo, en un estudio realizado por Rodrigues Nogueira y colaboradores (2003) se observó que una disminución en el contenido de agua del suelo reduce el crecimiento y la supervivencia de las plántulas. Asimismo, estos autores observan

que estos requerimientos de humedad cambian con el estadio ontogenético del individuo, ya que en individuos juveniles la mayor tasa de crecimiento se observó a contenidos menores de agua en el suelo. Por lo tanto, es posible que el tratamiento de suministro de agua reducido simplemente no haya producido estrés hídrico y por esta razón no se observaron efectos del tratamiento de sequía en la dinámica foliar, el crecimiento y los patrones de asignación de biomasa entre las distintas parte de la planta. Por otra parte, si bien en Misiones no hay estacionalidad en las precipitaciones, las cuales en general se distribuyen de manera homogénea a lo largo del año, pueden ocurrir sequías excepcionalmente intensas pero de poca duración, en las cuales se han registrado potenciales hídricos menores a  $-3$  MPa en el suelo (L. Montti, datos no publicados). Entonces, otra posibilidad es que el tratamiento de suministro de agua reducido no indujo un déficit hídrico tan importante como el que podría encontrarse durante dichas sequías y debido a esto no se observó un efecto del tratamiento en los aspectos estudiados. Sin embargo, como se verá en el capítulo 3, el balance hídrico de la planta podría ser un factor limitante de la distribución ecológica y espacial de esta especie.

Durante el período de estudio a medida que se produjeron hojas nuevas éstas fueron consistentemente cada vez más grandes (mayor superficie foliar por hoja, Figura 12) y con mayor número de folíolos. La superficie foliar promedio por hoja, para niveles de posición relativa similar dentro de la planta, fue menor en el tratamiento de 10% de luz y mayor en el tratamiento de 30%. Sin embargo, cuando se tiene en cuenta la posición relativa de la hoja en el desarrollo ontogenético del individuo, estas diferencias en superficie foliar por hoja a diferentes niveles de luz desaparecen para los tratamientos de 10, 30 y 40%. Es decir, las diferencias en tamaño de las hojas presentes en los individuos cuando se realizaron las mediciones se deben a la diferente velocidad de desarrollo de los individuos en los distintos tratamientos de luz y no una respuesta de la arquitectura de la planta a la radiación solar incidente durante el crecimiento (Figura 13). Al tener en cuenta la posición que ocupa la

hoja en el desarrollo ontogenético del individuo se hacen evidentes las diferencias en superficie de las hojas entre el tratamiento de 65% y los otros 3 tratamientos. Altos niveles de radiación producen una reducción de la superficie foliar para una hoja en la misma posición relativa en el desarrollo ontogenético del individuo. Es decir, las hojas de plantas que crecen a altos niveles de radiación solar siguen una trayectoria ontogenética diferente en términos de superficie foliar, estos individuos producen más hojas pero de menor tamaño y con una longitud de vida significativamente menor. El área foliar total por planta al final del período experimental fue menor en los individuos del tratamiento de 65% que en individuos que crecieron a niveles de luz intermedio (30 y 40%). Los niveles de radiación del tratamiento 65% permiten una velocidad de desarrollo similar o mayor (ya que expanden un número mayor de hojas) al de las plantas en los tratamientos de 30 y 40% pero estos niveles de radiación serían demasiado altos como para aumentar el tamaño de las hojas en la misma relación que las palmeras creciendo a niveles intermedios de luz, quizás subutilizando los recursos de luz que tienen disponibles. Es posible que la relación entre la demanda de agua por la hoja durante el proceso transpiratorio y el suministro de agua a la misma a través del pecíolo sea diferente en el tratamiento de alto nivel de luz y de alta demanda evaporativa comparado con los otros tratamientos. Las limitaciones hidráulicas no le permitirían a *E. edulis* creciendo en condiciones de alta radiación (y por lo tanto altas demandas evaporativas) desarrollar hojas más grandes con lo que perdería la oportunidad de utilizar los recursos de luz adicionales que tiene bajo altas condiciones lumínicas. Hojas de menor tamaño reducen la resistencia de la capa límite ayudando a mantener temperaturas favorables en las hojas y mayores eficiencias fotosintéticas en el uso del agua bajo la combinación de alta radiación solar y baja disponibilidad de agua (Ackerly *et al.* 2002). Para la especie leñosa *Quercus rubra* se ha visto que, dentro de un mismo individuo, las limitaciones hidráulicas impuestas por las condiciones microambientales en las cuales se está desarrollando una hoja en particular son un factor determinante del tamaño y la venación de

las hojas adultas (Zwieniecki *et al.* 2004). Como se verá en el capítulo 3, las hojas de *E. edulis* que crecen a 65% de radiación tienden a tener una menor eficiencia en el transporte de agua entre el tallo principal y la lámina foliar (conductividad hidráulica foliar específica) que las hojas de plantas creciendo entre 10 y 40% de luz.

Muy pocos estudios incorporan el análisis ontogenético, tal como se hizo en este trabajo, en el estudio del desarrollo foliar y su respuesta a las condiciones ambientales. Este enfoque sería recomendable cuando se estudian aspectos de la fase de establecimiento de las palmeras y absolutamente necesario para comprender los efectos de las condiciones ambientales sobre la dinámica foliar y las características morfológicas y fisiológicas de las hojas en las palmeras, ya que remueve del análisis de la demografía foliar el efecto del estado de desarrollo de la planta sobre las características foliares. En muchos casos, caracteres morfológicos diferentes que podrían ser interpretados como una respuesta a condiciones ambientales distintas, tienen una explicación básicamente ontogenética (endógena). Esto es especialmente importante en las primeras etapas del desarrollo de las palmeras donde ocurre la transición de hojas juveniles a hojas adultas, esta transición consiste en un aumento del tamaño y/o complejidad consistentemente con el nivel de desarrollo (Carvalho *et al.* 1999). Al igual que en este estudio, en un análisis de la transición de hojas juveniles a hojas adultas en *Iriarteia deltoidea* Terborgh & Davenport (2001) concluyen que esta transición es una respuesta ontogenética flexible a las condiciones ambientales, pudiendo ser acelerada o retrasada dentro de ciertos límites de acuerdo a las condiciones ambientales de cada individuo. Por último es importante destacar que, al contrario de lo observado en otros estudios (Tomlinson 1990; Carvalho *et al.* 1999), los resultados de este trabajo sugieren que el plastocrón, es decir el tiempo entre la producción de una hoja y la siguiente, no es una característica especie-específica (es decir constante dentro de una misma especie) si no que está altamente relacionado con las condiciones ambientales de crecimiento del individuo.

## CONCLUSIONES

Los resultados de esta parte del estudio sugieren que *Euterpe edulis* tiene una capacidad alta de aclimatación a los diferentes niveles de luz. Los niveles de luz intermedios y relativamente bajos, en particular niveles de 30% de la radiación solar incidente son óptimos para su desarrollo y crecimiento. Esta especie tolera niveles bajos de radiación y está bien adaptada a crecer en condiciones de sombra siendo capaz de ajustar su morfología en respuesta a variaciones en los niveles de radiación dentro del bosque. A bajos niveles de radiación *E. edulis* compensó las condiciones desfavorables para el crecimiento, produciendo hojas con alta área foliar específica, extendiendo la longitud de vida de las mismas, evitando el autosombreo, asignando proporcionalmente más biomasa a la superficie de intercepción de luz, así como creciendo proporcionalmente más en altura que en diámetro. A altos niveles de radiación *E. edulis* también puede desarrollarse, pero en este caso se observó que los individuos redujeron el tamaño de las hojas y asignaron proporcionalmente más biomasa a las raíces sobre el total de biomasa de la planta, posiblemente debido a déficits hídricos causados por los altos niveles de radiación. El tratamiento de suministro de agua reducido no produjo efectos en la dinámica foliar, el crecimiento y los patrones de asignación de biomasa entre las distintas partes de la planta, posiblemente debido a que el tratamiento de sequía no fue lo suficientemente severo como para producir estrés hídrico en *E. edulis*.



## **Capítulo 3. Fotosíntesis, fotoinhibición y crecimiento de *Euterpe edulis* bajo distintos niveles de radiación**

### **INTRODUCCIÓN**

La aclimatación de las plantas a diferentes niveles de radiación, es decir los cambios reversibles en procesos fisiológicos o en características anatómicas, bioquímicas y morfológicas que mejoran el desarrollo de la planta cuando se produce un cambio en el ambiente, puede incluir diferentes niveles de integración. Primero, a nivel de toda la planta puede cambiar la proporción de biomasa invertida en hojas, tallos y raíces, tal como se muestra en el capítulo 2. Segundo, a nivel de las hojas, a través de cambios en su anatomía puede variar el área foliar desarrollada por unidad de biomasa invertida en las mismas (área foliar específica, AFE). Y tercero, a nivel celular, puede cambiar por ejemplo la inversión relativa de nitrógeno entre los distintos compuestos fotosintéticos. Se ha visto que los cambios en el área foliar específica tienen un efecto mucho más importante en la maximización de la ganancia de carbono por unidad de masa foliar que los ajustes que puedan producirse en la distribución del nitrógeno entre los distintos compuestos de la hoja, especialmente en condiciones de luz baja (Evans & Poorter 2001). Además, se ha sugerido que las plantas serían más plásticas en términos de cambios anatómicos que en términos de cambios bioquímicos (Niinemets *et al.* 1998).

Las hojas tienden a tener mayor AFE (es decir menor cantidad de biomasa por unidad de superficie foliar) a bajos niveles de luz y menor AFE a altos niveles de luz. Estos cambios son tan notables, que la masa foliar específica (la inversa del AFE) ha sido utilizada como un indicador de la radiación promedio que recibió la hoja durante su desarrollo (Niinemets *et al.* 1998). Además, por ejemplo, en un gradiente vertical en el bosque se observa una disminución del AFE a medida que se sube hacia el dosel, coincidente con el aumento de la

radiación promedio (Meir *et al.* 2001). Por otra parte, las hojas que se desarrollan en ambientes de alta luminosidad tienen una capacidad fotosintética mayor que aquellas desarrolladas a bajos niveles de luz (Givnish 1988). Esto no sólo se observa dentro de las hojas de una misma planta, si no también entre plantas aclimatadas a distintas condiciones de luz y cuando se comparan especies tolerantes a la sombra con especies que requieren altos niveles de radiación para su desarrollo (Niinemets *et al.* 1998; Kursar & Coley 1999; Durand & Goldstein 2001; Evans & Poorter 2001; Campanello 2004; Shipley *et al.* 2005).

Expresar fotosíntesis y respiración en función de la masa foliar, e incorporando de esta manera indirectamente los costos de construcción, puede ser más útil al estudiar los ajustes que se producen en las hojas en respuesta a los niveles de luz, que expresarlas en función del área foliar. La razón de las diferencias que pueden aparecer entre los resultados basados en área foliar vs. masa foliar es clara: las hojas de bajos niveles de radiación muestran baja tasa fotosintética por unidad de área a estos niveles de luz, pero también tienen mucha menos biomasa por unidad de área que las hojas aclimatadas a niveles de luz más altos (Givnish 1988). Cuando se realizan comparaciones entre especies distintas se ha observado que el AFE o su inversa, la masa foliar específica, son buenos predictores de la tasa máxima de fotosíntesis, la tasa de respiración en oscuridad, el contenido de nitrógeno en las hojas, la longitud de vida de las hojas y el tamaño de hojas (Reich *et al.* 1998; Ackerly & Reich 1999; Reich *et al.* 1999; Evans & Poorter 2001; Santiago *et al.* 2004; Shipley *et al.* 2005).

Por otro lado, en condiciones de altos niveles de luz la absorción de radiación que excede la capacidad de utilización de fotones en el proceso fotosintético puede causar fotoinhibición, que se observa mediante una disminución de la eficiencia cuántica del fotosistema II (Barth *et al.* 2001). La eficiencia cuántica es un buen indicador de la actividad del fotosistema II, y se define como el número total de fotones emitidos en forma de fluorescencia dividido el número total de fotones absorbidos (Roháček & Barták 1999). Comparado con el fotosistema II, la capacidad del fotosistema I en el transporte de electrones es mucho más estable en las

plantas tropicales bajo altos niveles de radiación (Barth *et al.* 2001). Un control eficiente de la disipación de energía fotoquímica y no fotoquímica, así como ajustes en la partición del flujo de electrones entre los procesos asimilatorios y no asimilatorios pueden prevenir el riesgo de fotoinhibición (Franco & Lüttge 2002). En general las especies que requieren altos niveles de radiación para su desarrollo muestran una performance mejor bajo condiciones de alta radiación solar directa que las especies tolerantes a la sombra. Sin embargo, se ha visto que en ambos grupos de especies puede haber una aclimatación que les permite minimizar el estrés causado por estos altos niveles radiación solar directa (Krause *et al.* 2001). Las especies tolerantes a la sombra comprenden cerca del 85% de las especies de árboles en un bosque tropical (Chazdon & Montgomery 2002). Dentro de este grupo de especies, frente a un cambio en las condiciones ambientales su comportamiento puede llegar a ser muy diferente, y su capacidad de respuesta a estos cambios puede tener importantes consecuencias en su supervivencia, desarrollo y habilidad competitiva (Kursar & Coley 1999). Altos niveles de radiación generan altas demandas evaporativas las cuales pueden causar un déficit hídrico importante en la planta si ésta no es capaz de realizar un suministro de agua adecuado a las hojas. Estos déficits hídricos pueden causar una inhibición de la fotosíntesis debido al cierre de los estomas para evitar la pérdida de agua (Brodribb & Holbrook 2003).

El **objetivo general** de este capítulo es el de determinar experimentalmente las características fotosintéticas de *E. edulis* y la capacidad de aclimatación del sistema fotosintético en respuesta a distintas condiciones de luz y disponibilidad de agua en el sustrato. Los objetivos específicos se detallan a continuación:

1. Conocer la capacidad de *Euterpe edulis* de modificar características morfológicas y fisiológicas en respuesta a diferentes condiciones de disponibilidad de luz y humedad del sustrato
2. Estudiar la susceptibilidad a la fotoinhibición en individuos de *Euterpe edulis* aclimatados a diferentes niveles de radiación

3. Estudiar la relación entre el crecimiento, la dinámica foliar y la capacidad fotosintética bajo diferentes condiciones de luz y humedad del sustrato

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Los estudios correspondientes a este capítulo se realizaron en condiciones controladas de vivero bajo 4 niveles diferentes de radiación: 10, 30, 40 y 65% de la radiación total incidente, y dos niveles de riego: normal y suministro de agua reducido. Para más detalles de los tratamientos ver capítulo 2. Esta parte del trabajo se realizó a partir de mayo de 2002, ya que se esperó hasta que los individuos de *Euterpe edulis* expandieron hojas nuevas bajo las condiciones controladas de luz y humedad del sustrato. A partir de estudios de fotosíntesis en función de la radiación, cursos diarios de tasa de transporte de electrones *in situ* y respuesta fotosintética a altas intensidades de luz se estimaron distintas variables ecofisiológicas, las cuales se describen a continuación.

### **Rendimiento cuántico ( $\Delta F/F_m$ ) y tasa de transporte de electrones (TTE) en función de la radiación fotosintéticamente activa**

Para medir la actividad fotosintética de las hojas se utilizó la fluorescencia de la clorofila (Brodribb & Feild 2000; Brodribb *et al.* 2002). Se construyeron curvas de rendimiento cuántico efectivo (o parámetro de Genty,  $\Delta F/F_m$ ) y tasa de transporte electrones (TTE) en respuesta a la radiación fotosintéticamente activa (o densidad de flujo fotónico fotosintético) en individuos de *Euterpe edulis* de los distintos tratamientos. Estas curvas se llaman comúnmente curvas de respuesta a la luz. Para ello se utilizó un equipo de cinética de fluorescencia modulada, MiniPam (Walz, Effeltrich, Germany). El rendimiento cuántico es calculado como el cociente entre la fluorescencia máxima variable ( $\Delta F = F_m - F_0$ ) y la fluorescencia máxima total ( $F_m$ ). Este cociente medido luego de 10 minutos de aclimatación a la oscuridad sirve como una medida de la eficiencia potencial del fotosistema II (PSII)

(Barth *et al.* 2001). La TTE se calcula a partir del valor medido para el rendimiento cuántico, de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\text{TTE} = \text{DFFF} * \text{RC} * 0,84 * 0,5 \quad \mathbf{[3.1]}$$

donde 0,84 es un factor que corresponde a la fracción de luz incidente absorbida por la hoja, y 0,5 es un factor de corrección ya que el rendimiento cuántico estimado por el MiniPam corresponde sólo al fotosistema II (Walz 1999).

Las curvas de respuesta a la luz se realizaron en hojas jóvenes completamente expandidas y en algunos folíolos del tercio apical de la hoja. Cada hoja se dejó aclimatar durante 10 minutos en oscuridad y luego se aplicó un pulso de luz saturante ( $1800\text{-}2200 \mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) de muy corta duración (0,4 s) para estimar el rendimiento cuántico máximo. Posteriormente se iluminó el folíolo con una luz halógena externa de baja intensidad ( $50 \mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) por 10 minutos aproximadamente, hasta observar estabilidad en la fluorescencia basal de la hoja, y se aplicó nuevamente un pulso de luz saturante para estimar el rendimiento cuántico y la tasa de transporte de electrones a esa radiación. Se continuó de esta manera, aumentando la intensidad de luz gradualmente y aplicando un pulso de luz saturante una vez alcanzada la estabilidad, hasta alcanzar niveles saturantes (aproximadamente  $1500 \mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). Para estimar la tasa de transporte de electrones en respuesta a la luz se ajustó una función a la relación entre rendimiento cuántico y radiación fotosintéticamente activa, la cual fue posteriormente utilizada para estimar la tasa de transporte de electrones de acuerdo a la ecuación 2. Esto se realizó debido a que en la construcción de las curvas de respuesta a la luz de rendimiento cuántico se realizaron pocos puntos a niveles bajos de radiación ( $0 - 100 \mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). El punto de saturación de luz se estimó como el nivel de radiación en el cual las plantas alcanzaron el 90% de su TTE<sub>max</sub> (Franco & Lüttge 2002). También se calculó la tasa de transporte de electrones por unidad de masa foliar, utilizando para esto el área foliar específica calculada para cada individuo (ver más abajo).

## **Cursos diarios de rendimiento cuántico y tasa de transporte de electrones**

En enero de 2003 se determinó el rendimiento cuántico y la tasa de transporte de electrones a lo largo del día en *Euterpe edulis* desarrollados bajo los distintos tratamientos de radiación. Para ello se utilizó el equipo de cinética de fluorescencia modulada especificado más arriba. Las mediciones se realizaron en hojas jóvenes completamente expandidas y respetando la posición y orientación en la cual se encontraban, de manera de estimar la tasa de fotosíntesis real que ocurría en cada tratamiento. Los cursos diarios se realizaron en 2 días similares durante enero, con nubosidad ausente la mayor parte del día. Con el fin de conocer si la tasa de transporte de electrones alcanzaba niveles de saturación *in situ* en los tratamientos se graficó la TTE como función de la radiación fotosintéticamente activa (o densidad de flujo fotónico fotosintético, DFFF) obtenida en estos cursos diarios.

## **Tasa de transporte de electrones máxima y máxima observada**

La tasa de transporte de electrones máxima (TTE<sub>max</sub>) correspondió a la tasa de transporte de electrones a saturación estimada a partir de las curvas de rendimiento cuántico. Se calculó para cada individuo y se obtuvo el promedio por tratamiento. La TTE máxima observada (TTE<sub>obs</sub>) se estimó a partir de los cursos diarios y correspondió al promedio por tratamiento de los valores medidos en los individuos entre las 10:45 y las 13 hs., período correspondiente al de mayor radiación incidente y tasa de transporte de electrones para todos los tratamientos.

## **Área foliar específica**

Se estimó el área foliar específica (AFE). Para ello se obtuvieron folíolos de los individuos utilizados para la construcción de curvas de respuesta a la luz. Se utilizaron entre 6 y 8 individuos por tratamiento. Se calculó la superficie de los folíolos con el software Scion Image para Windows 2000 4.0.2 en fresco y luego se secaron en estufa a 60° C hasta peso

constante y se pesaron en una balanza analítica. El AFE se calculó como el cociente entre superficie y peso seco ( $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$ ).

## **Fotoinhibición**

Se realizó un experimento para conocer la susceptibilidad a la fotoinhibición y la velocidad de recuperación de la capacidad fotosintética de *Euterpe edulis* desarrollados bajo los distintos tratamientos de niveles de radiación (10, 30, 40 y 65%). Para esto se seleccionaron al azar 4 individuos de cada uno de los tratamientos de luz, pero sólo de la condición normal de riego, debido a la imposibilidad de trabajar con el doble de plantas. Los individuos de *E. edulis* se colocaron a intensidad de luz subsaturante durante 20 minutos y luego en oscuridad durante 10 minutos. Con el equipo de cinética de fluorescencia se midió el rendimiento cuántico máximo ( $\Delta F/F_m$ ) en folíolos previamente marcados en todos los individuos. El  $\Delta F/F_m$  se estimó 3 veces en cada folíolo, esperando 5 minutos entre cada estimación. Posteriormente los individuos de *E. edulis* fueron sometidos a radiación solar directa ( $>2000 \mu\text{moles de fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) durante 90 minutos. Luego, se colocaron nuevamente a una intensidad de luz subsaturante (aprox.  $30 \mu\text{moles de fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) y se volvió a medir el rendimiento cuántico a los minutos 1, 2, 5, 10, 20, 40 y 80, de manera de observar la recuperación a través del tiempo para los individuos aclimatados a distintas intensidades de luz. La disminución en  $\Delta F/F_m$  es un indicador del grado de inactivación del PSII (Barth *et al.* 2001). Para determinar si existían diferencias en el porcentaje final de recuperación del rendimiento cuántico se realizó un ANOVA.

## RESULTADOS

### Rendimiento cuántico (DF/Fm) y tasa de transporte de electrones (TTE) en función de la radiación fotosintéticamente activa

Para todos los individuos de cada tratamiento se ajustó una función exponencial negativa a la curva de respuesta del rendimiento cuántico a la densidad de flujo fotónico fotosintético (DFFF) (Figura 18). La tasa de transporte de electrones máxima ( $TTE_{max}$ , obtenida cuando los niveles de radiación son suficientemente altos como para alcanzar la saturación del sistema fotosintético) fue diferente en los distintos tratamientos de luz (Figura 19), siendo un 60% más baja en el tratamiento de 10% con respecto a los tratamientos de 30, 40 y 65%. En el tratamiento de sequía no se observaron diferencias significativas pero la  $TTE_{max}$  tendió a ser menor en todos los tratamientos de luz excepto a 10% (ANOVA a dos factores, DFFF  $F_{3,38} = 3,63$ ,  $p = 0,02$ ; agua  $F_{1,38} = 2,56$ ,  $p = 0,12$ ; DFFF \* agua  $F_{3,38} = 1,54$ ,  $p = 0,22$ ). Cuando la TTE se expresó por unidad de masa foliar (g), si bien se mantuvieron las mismas tendencias, las diferencias entre los tratamientos no fueron significativas (Figura 19) (ANOVA a dos factores, DFFF  $F_{3,27} = 1,56$ ,  $p = 0,22$ ; agua  $F_{1,27} = 0,06$ ,  $p = 0,81$ ; DFFF \* agua  $F_{3,27} = 0,25$ ,  $p = 0,86$ ). El punto de saturación de luz (niveles de DFFF a los cuales se alcanza el 90% de la  $TTE_{max}$ ) de electrones fue diferente entre los distintos tratamientos, siendo un 50% más baja en el tratamiento de 10% de luz comparada con los otros 3 tratamientos (Figura 20) (ANOVA a dos factores, DFFF  $F_{3,35} = 3,13$ ,  $p = 0,04$ ; agua  $F_{1,35} = 0,09$ ,  $p = 0,76$ ; DFFF \* agua  $F_{3,35} = 0,23$ ,  $p = 0,87$ ).

### Cursos diarios de rendimiento cuántico y tasa de transporte de electrones

La tasa de transporte de electrones medida *in situ* a lo largo del día fue diferente entre los distintos tratamientos de radiación (Figura 21) (ANOVA de medidas repetidas,  $F_{24, 308} = 2,86$ ,  $p = 0,0018$ ), siendo significativamente menor en el tratamiento de menor disponibilidad de luz (10%) con respecto a los otros 3 tratamientos (30, 40 y 65% de la radiación total,  $p$



<0,05). Sin embargo cuando se comparan sólo los valores máximos de TTE observados *in situ* (es decir la TTE promedio máxima entre las 10 y las 13 hs) se mantienen las mismas tendencias pero las diferencias no son significativas entre los distintos niveles de radiación (Figura 22) (ANOVA a un factor,  $F_{3,20} = 2,04$ ,  $p = 0,14$ ). Con los datos de DFFF y los TTE observados *in situ* se obtuvieron las curvas de TTE como función de DFFF (Figura 23). Estas curvas fueron similares a las observadas en condiciones controladas con luz estacionaria sin embargo algunos valores de TTE a 10% medidos *in situ* fueron más altos que los observados en condiciones controladas. Estas últimas curvas de respuesta de la TTE a la luz son funciones asintóticas ajustadas a valores promedios de varios individuos, por lo que no se muestran en el gráfico los valores individuales que fueron en algunos casos o más altos o menores que los promedios graficados. Las curvas de respuesta a la luz *in situ* mostraron que en el tratamiento de 10% de radiación los niveles de DFFF para la mayoría de las mediciones tienden a estar por debajo de  $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  que son los niveles de saturación de luz observados en los estudios bajo condiciones estacionarias (Figura 20), mientras que en los otros tres tratamientos los niveles de DFFF exceden en muchos casos el punto de saturación de luz de la TTE. Además, se observó una alta dispersión de valores de TTE a un mismo nivel de DFFF en los tratamientos de 40 y 65% a niveles de DFFF relativamente altos. Esto es esperable dado que las mediciones *in situ* reflejan las condiciones en el momento de la medición que pueden ser diferentes a las condiciones previas de la medición misma. Los ajustes del aparato fotosintético a la luz no son inmediatos.

### **Área foliar específica**

El área foliar específica fue aproximadamente un 20% mayor en el tratamiento de menor disponibilidad de luz (10%) con respecto a los otros tratamientos (30, 40 y 65%), mientras que no se observaron cambios bajo distintas condiciones de humedad en el sustrato (Figura 24) (ANOVA a dos factores DFFF:  $F_{3,39} = 16,36$ ,  $p < 0,001$ ; agua:  $F_{1,39} = 0,36$ ,  $p = 0,55$ ; DFFF \* agua:  $F_{3,39} = 0,15$ ,  $p = 0,93$ ). Se encontró una relación estadísticamente significativa

entre la TTE<sub>max</sub> y la longitud de vida de las hojas. La TTE<sub>max</sub> fue más baja en las hojas de longitud de vida mayor (Figura 25). También se encontró una correlación alta entre AFE y longitud de vida de las hojas ya que el AFE aumentó con el aumento de la longitud de vida de las hojas (Figura 26). La tasa de crecimiento de los individuos, estimada como incremento relativo en diámetro del tallo, se relacionó positivamente con la TTE<sub>max</sub> ( $r^2 = 0,37$ ,  $p < 0,001$ ), pero los coeficientes de regresión fueron más altos cuando se relacionó con la TTE<sub>obs</sub> (Figura 27). El incremento en diámetro también aumentó linealmente con el área foliar total por individuo alcanzada al final del experimento (Figura 28).

### **Fotoinhibición**

En el experimento de fotoinhibición se observó que independientemente del tratamiento de luz al cual pertenecían los individuos, todos mostraron una fotoinhibición importante del fotosistema II estimada como la disminución en  $\Delta F/F_m$  (Figura 29). En cambio, los niveles de radiación al cual se desarrollaron las plantas sí tuvieron efecto en la velocidad de recuperación del rendimiento cuántico (Figura 30), ya que los individuos de *E. edulis* provenientes del tratamiento de 65% de radiación alcanzaron un 90% de recuperación luego de 80 minutos, mientras que, en este mismo lapso, los individuos del tratamiento de 10% apenas recuperaron un 60% del rendimiento cuántico medido previamente a la exposición a altos niveles de radiación solar (ANOVA a un factor DFFF:  $F_{3,11} = 3,86$ ,  $p = 0,041$ ).

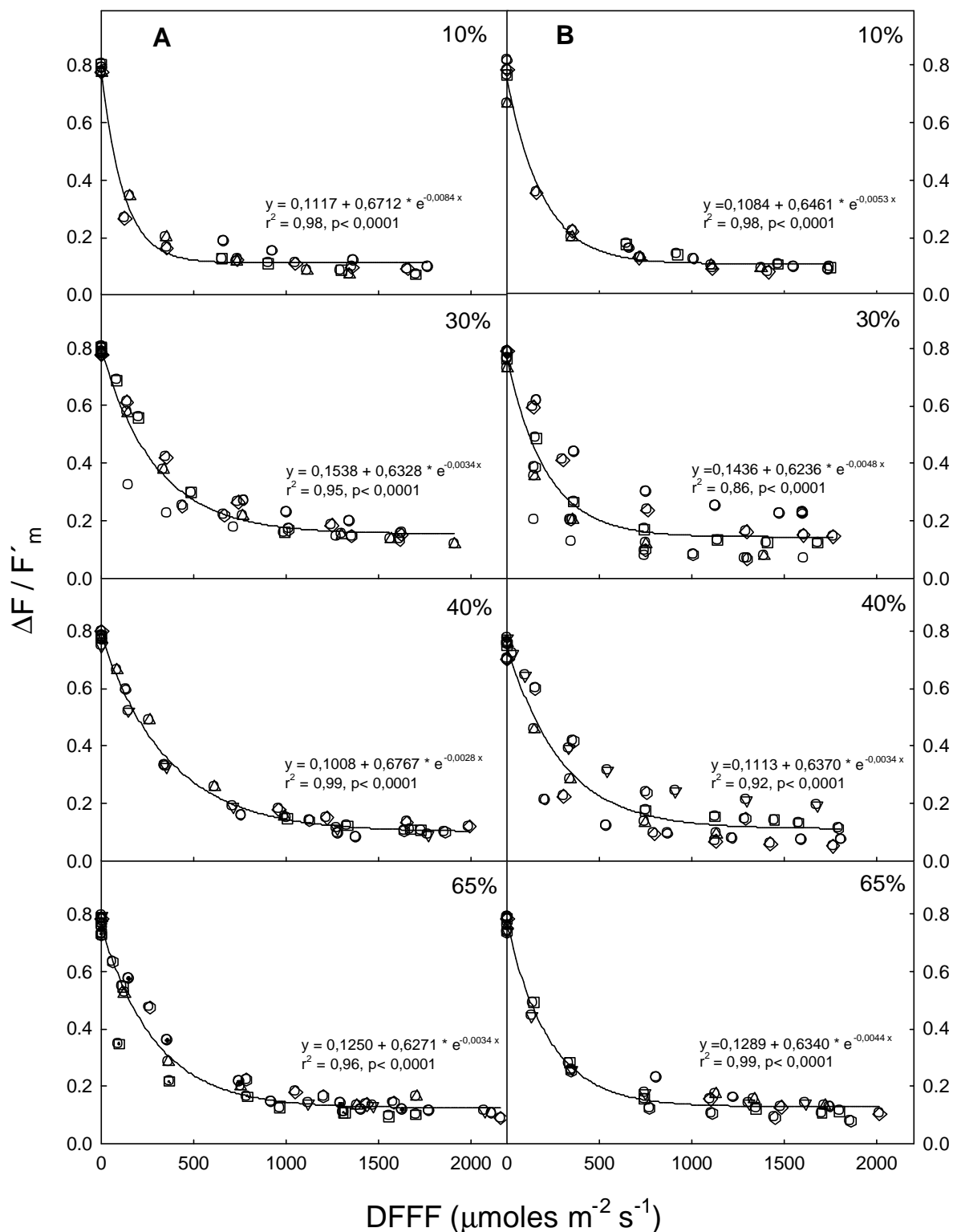


Figura 18. Rendimiento cuántico efectivo ( $\Delta F / F'_m$ ) en respuesta a la densidad de flujo fotónico fotosintético (DFFF) en hojas de *Euterpe edulis* desarrolladas bajo distintos niveles de radiación (10, 30, 40 y 65 % de la radiación total) y disponibilidad de agua (A: control, B: suministro de agua reducido). Se ajustó una función exponencial negativa simple de 3 parámetros. Símbolos de forma diferente en cada tratamiento indican distintos individuos. N =4-8

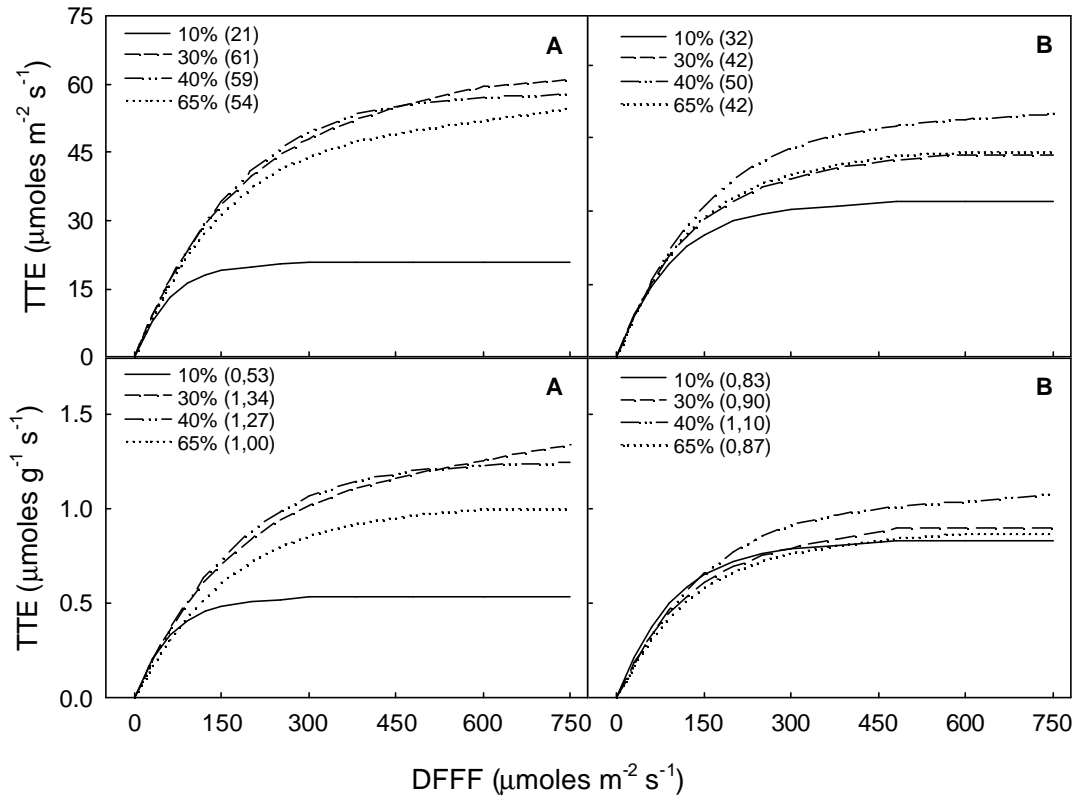


Figura 19. Tasa de transporte de electrones (TTE) expresados por superficie ( $m^2$ ) y masa foliar (g) en respuesta a la densidad de flujo fotónico fotosintético (DFFF) en hojas de *Euterpe edulis* creciendo bajo distintos tratamientos de radiación (porcentaje de la radiación total) y disponibilidad de agua en el sustrato (A: control, B: suministro de agua reducido). Los números entre paréntesis indican la tasa de transporte de electrones máxima promedio estimada para cada tratamiento ( $TTE_{max}$ ).

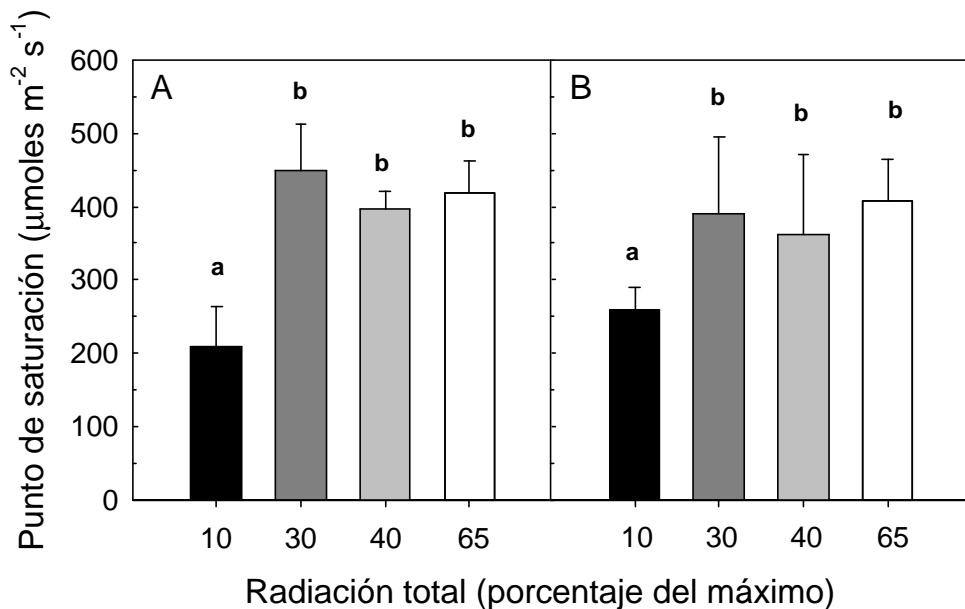


Figura 20: Punto de saturación de la tasa de transporte de electrones (media+ error estándar,  $n = 4-8$ ) para folíolos de *Euterpe edulis* creciendo en los diferentes tratamientos de radiación (porcentaje de la radiación total) y disponibilidad de agua en el sustrato (A: control, B: suministro de agua reducido). Letras distintas indican diferencias significativas dentro de cada panel,  $p < 0,05$ .

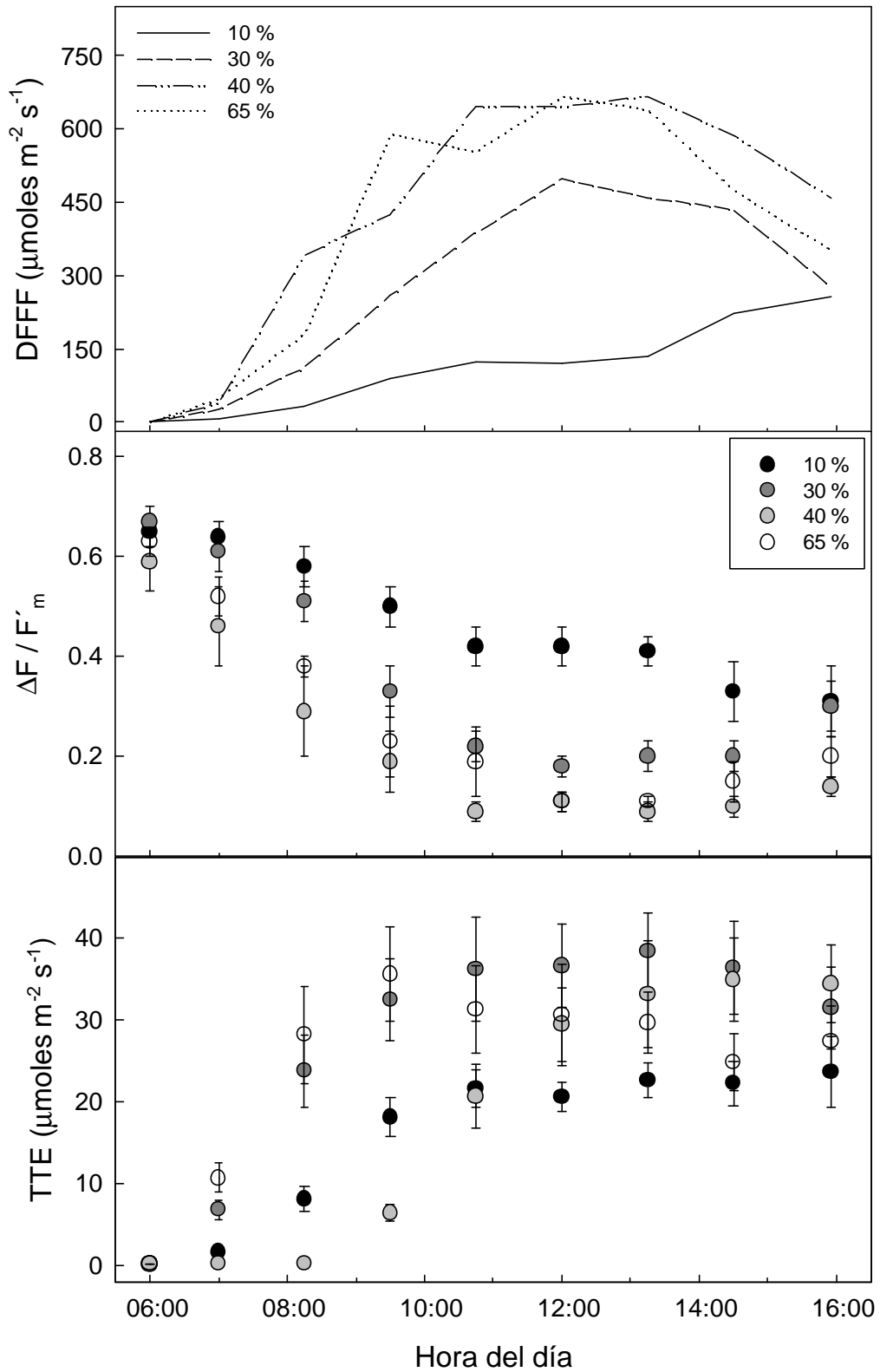
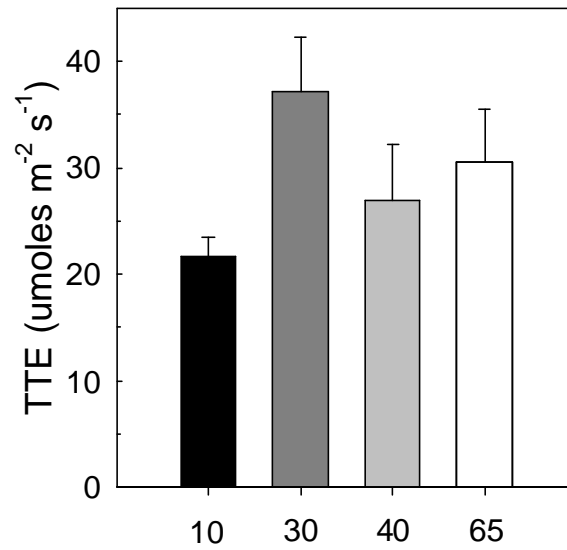


Figura 21. Densidad de flujo fotónico fotosintético promedio, DFFF (medido *in situ* en las hojas sin alterar su orientación), eficiencia cuántica efectiva,  $\Delta F / F'_m$  (medias  $\pm$  error estándar,  $n = 6$ ) y tasa de transporte de electrones, TTE (medias  $\pm$  error estándar,  $n = 6$ ) a lo largo del día en individuos de *E. edulis* creciendo bajo distintas condiciones de luz (10, 30, 40 y 65% de la radiación total incidente).



Radiación total (porcentaje del máximo)

Figura 22. Tasa de transporte de electrones máxima observada en los cursos diarios *in situ* (promedio + error estándar, n =6) para *Euterpe edulis* creciendo bajo distintos niveles de radiación (porcentaje de la radiación total incidente).

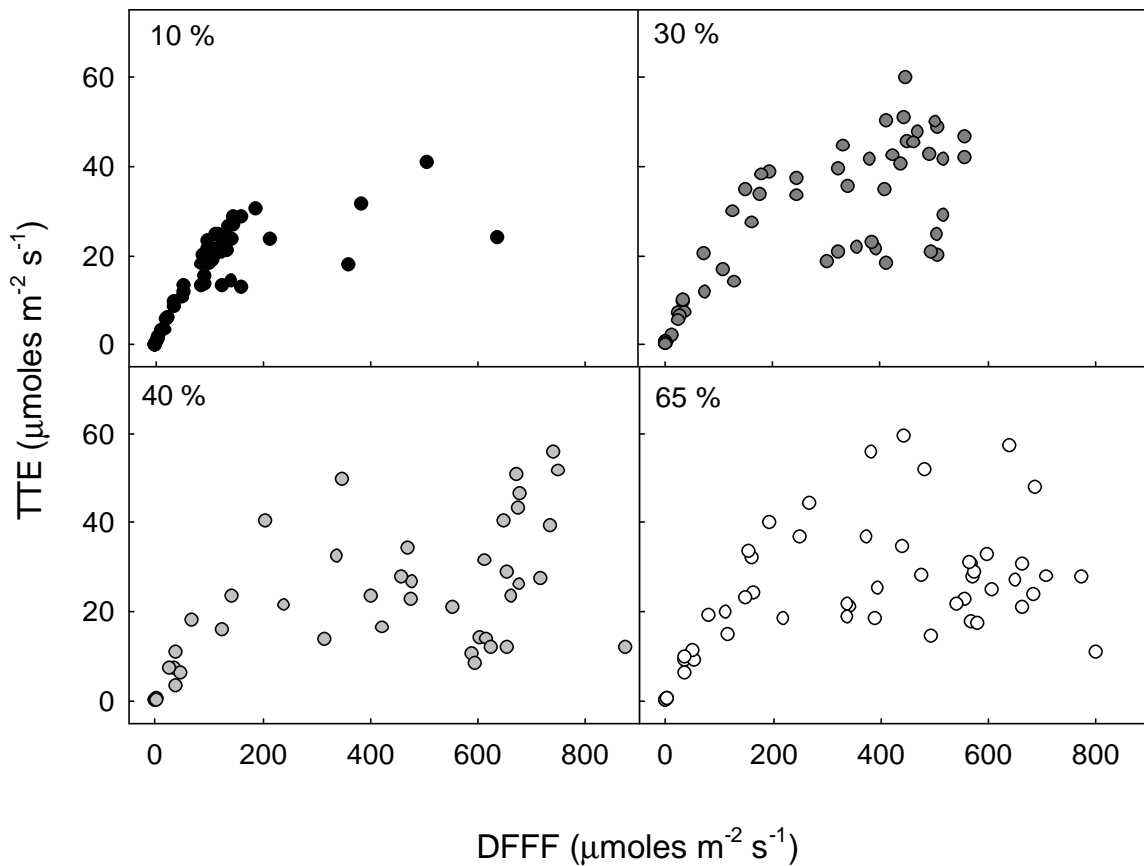


Figura 23: Tasa de transporte de electrones (TTE) *in situ* en función de la densidad de flujo fotónico fotosintético (DFFF) ocurrida durante el día para *Euterpe edulis* en los 4 tratamientos de luz (10, 30, 40 y 65% de la radiación total). En cada gráfico se muestran los valores para 5-6 individuos.

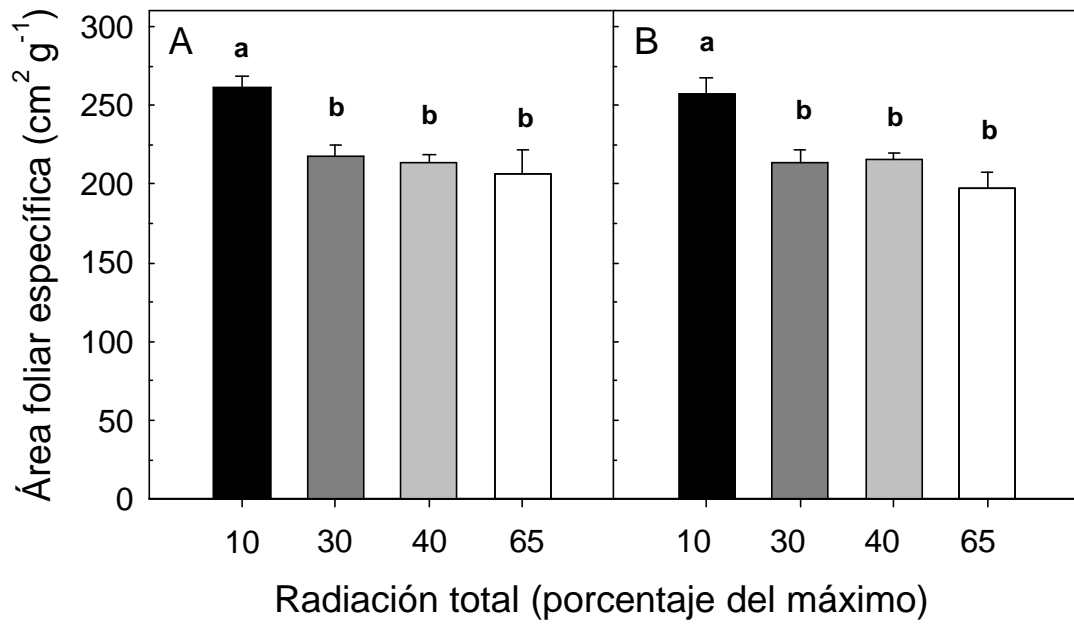


Figura 24: Área foliar específica (media + error estándar, n =5-6) de hojas de *E. edulis* desarrolladas bajo diferentes condiciones de luz (porcentaje de la radiación total incidente) y de disponibilidad de agua en el sustrato (A: riego normal, B: suministro de agua reducido). Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos dentro de cada panel,  $p < 0,05$ .

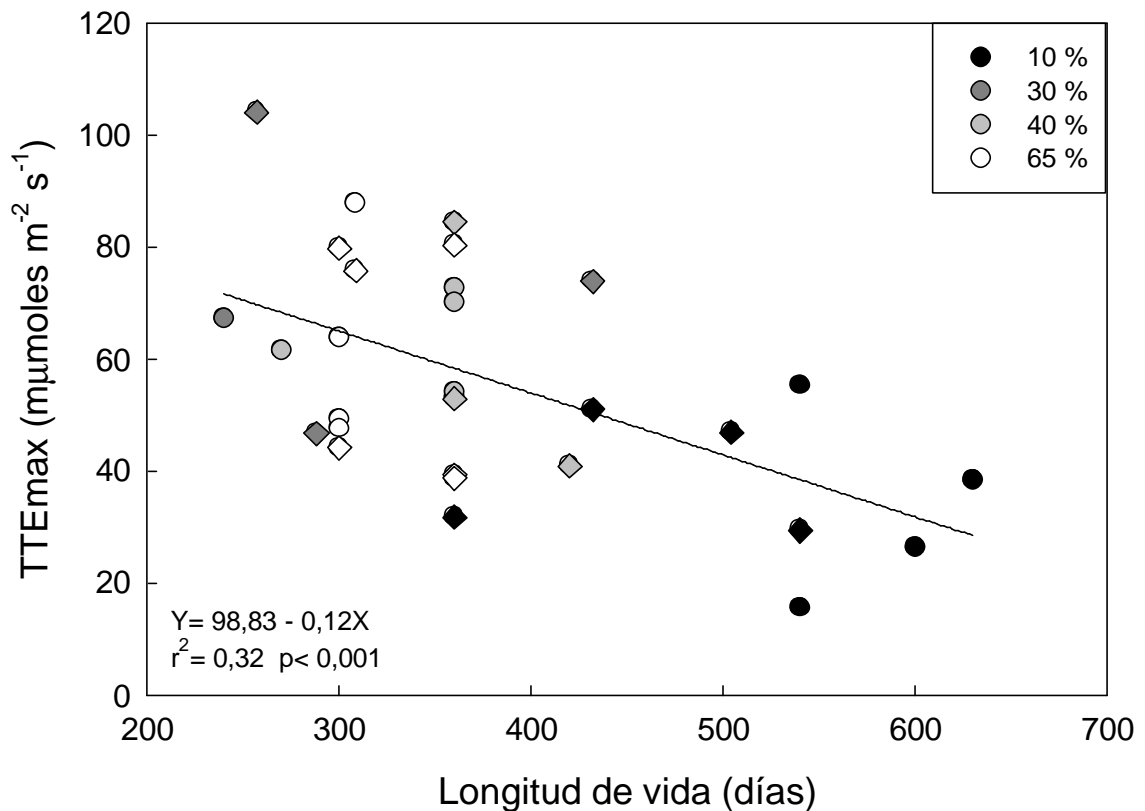


Figura 25: Tasa máxima de transporte de electrones en función de la longitud de vida de las hojas para *Euterpe edulis* creciendo en distintos niveles de radiación (10, 30, 40 y 65 % de la radiación solar incidente) y de disponibilidad de agua en el sustrato (círculos: riego normal, rombos: suministro de agua reducido)

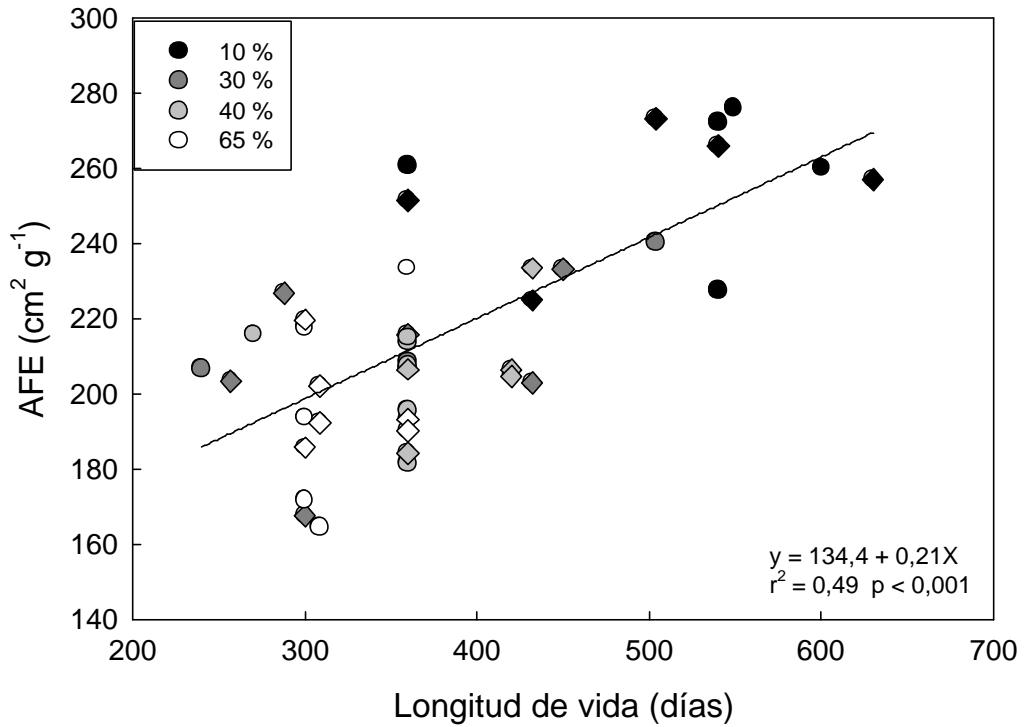


Figura 26: Área foliar específica (AFE) en función de la longitud de vida de las hojas para *Euterpe edulis* creciendo en distintos niveles de radiación (10, 30, 40 y 65 % de la radiación solar incidente) y de disponibilidad de agua en el sustrato (círculos: riego normal, rombos: suministro de agua reducido).

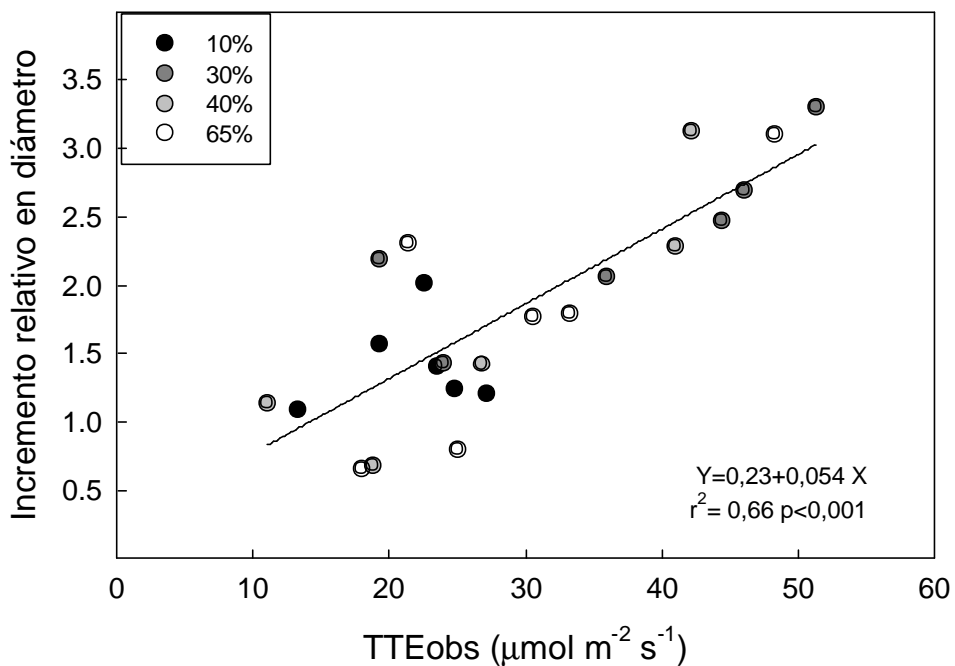


Figura 27. Tasa de crecimiento medida como incremento relativo en diámetro en función de la tasa de transporte de electrones (TTE) promedio por día para individuos de *Euterpe edulis* creciendo bajo diferentes niveles de radiación (10, 30, 40 y 65% de la radiación total).



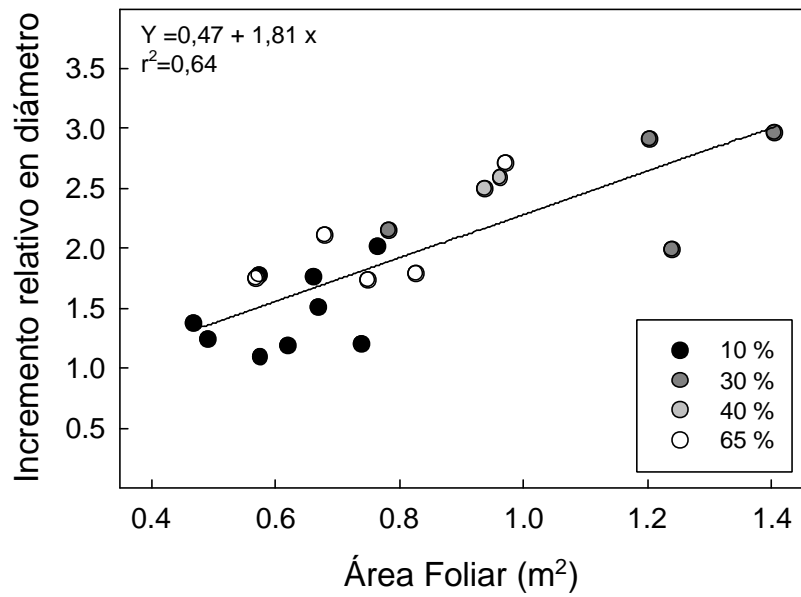


Figura 28: Tasa de crecimiento al cabo de 26 meses de tratamiento (diciembre 2000 – febrero 2002) medida como incremento relativo en diámetro del tallo en función del área foliar total por individuo en *Euterpe edulis* creciendo bajo diferentes niveles de radiación (10, 30, 40 y 65% de la radiación total).

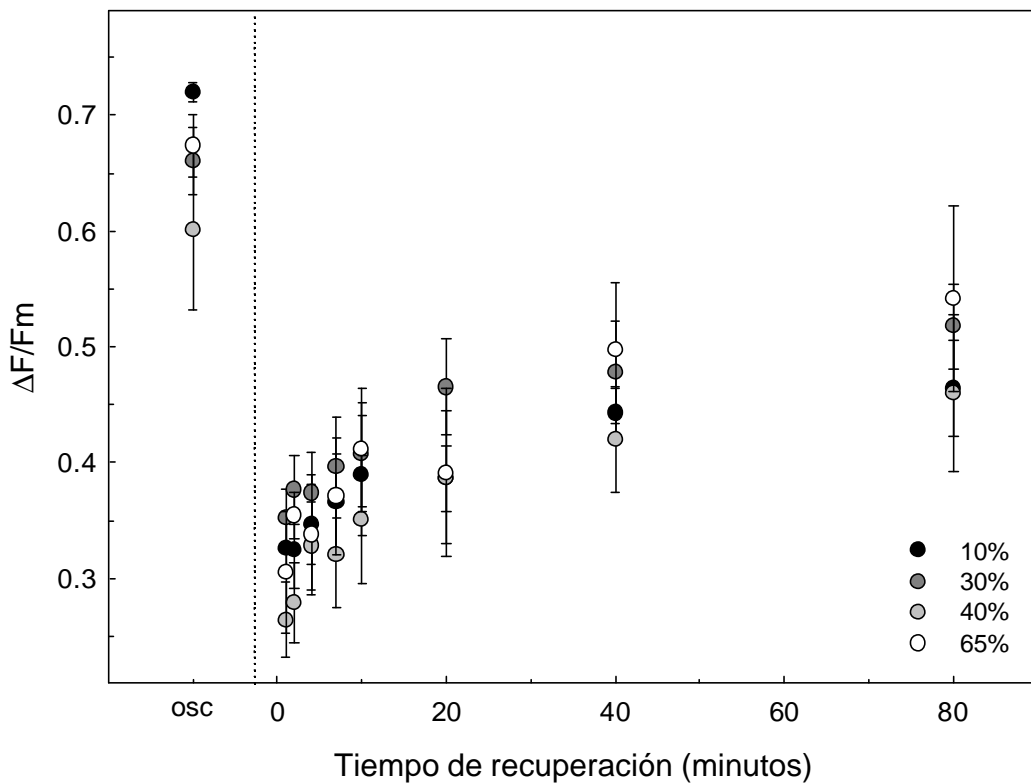


Figura 29. Recuperación del rendimiento cuántico máximo en función del tiempo para *Euterpe edulis* creciendo bajo distintas condiciones de luz (10, 30, 40 y 65% de la radiación total), luego de haber sido expuesto a altas radiaciones ( $> 2000$   $\mu\text{moles de fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) durante 90 minutos. Media  $\pm$  error estándar,  $n = 4$ . "Osc": rendimiento cuántico en oscuridad antes de la exposición a alta radiación.

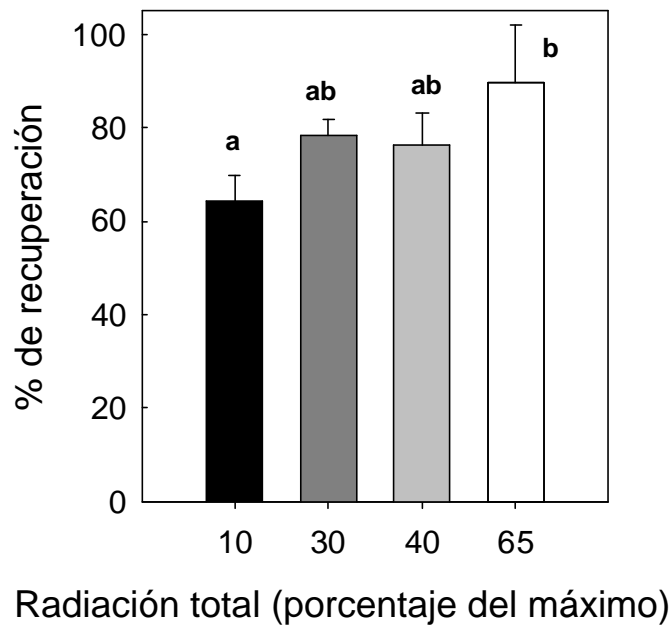


Figura 30. Porcentaje de recuperación del rendimiento cuántico máximo luego de 80 minutos a baja intensidad de luz para hojas de *Euterpe edulis* desarrolladas bajo distintos niveles de radiación (10, 30, 40 y 65% de la radiación total incidente). Letras distintas indican diferencias significativas,  $p < 0,05$ .

## DISCUSIÓN

Los niveles de radiación afectaron significativamente la capacidad fotosintética, el punto de saturación, el área foliar específica y la velocidad de recuperación a la fotoinhibición de *Euterpe edulis*. Se encontró que esta especie puede aclimatar su capacidad fotosintética de acuerdo a los niveles de luz en los que se desarrolla. En particular a niveles bajos de radiación, reduce su capacidad fotosintética (medida como tasa máxima de transporte de electrones,  $TTE_{max}$ ) y la densidad de flujo fotónico fotosintético a la cual alcanza el punto de saturación. Estas diferencias se mantienen entre tratamientos cuando se expresa la TTE por unidad de superficie foliar o por unidad de peso, sin embargo, cuando se expresa la capacidad fotosintética por unidad de peso las diferencias disminuyen. El punto de saturación de luz es aproximadamente la mitad cuando se comparan los resultados obtenidos en el tratamiento de 10% con el resto de los tratamientos. Esto es típico de hojas de sombra, donde se ha visto que disminuye la tasa de asimilación a saturación, así como la

radiación a la cual alcanzan el punto de saturación y el punto de compensación con respecto a las hojas de sol (Givnish 1988). Además, se ha observado en otros estudios que hojas de sombra comparadas con hojas de sol presentan un cociente menor entre Clorofila a/Clorofila b, una alta área foliar específica, una menor densidad de estomas, pero de mayor tamaño, y sus hojas tienden a estar horizontales mientras que a niveles de radiación más altos tienden a estar erectas (Givnish 1987; Givnish 1988; Givnish *et al.* 2004). Esta aclimatación de las plantas a bajos niveles de radiación tendería a minimizar los costos de construcción y mantenimiento de hojas (Chazdon & Montgomery 2002) ya que la tasa máxima de asimilación ( $A_{max}$ ) está fuertemente correlacionada con la tasa de respiración en oscuridad, es decir cuanto mayor es  $A_{max}$ , mayor es la tasa de respiración (Givnish 1988).

En otros estudios se encontró que la tasa de respiración en oscuridad por unidad de superficie foliar también está relacionada con la longitud de vida de las hojas y el área foliar específica; a medida que aumenta de la longitud de vida y el área foliar de las hojas, la tasa de respiración decrece (Reich *et al.* 1998; Meir *et al.* 2001). Los resultados de la presente investigación muestran que la longitud de vida de las hojas de *E. edulis* fue un 50% mayor en el tratamiento de 10% de luz (ver capítulo 2) y el área foliar específica (AFE) aumentó un 25% en relación a los otros tratamientos de mayor intensidad de luz. Todo esto sugiere que a bajos niveles de radiación, además de la disminución de la capacidad fotosintética y del punto de saturación observados, *E. edulis* también tendría una menor tasa de respiración en oscuridad, y quizás de compensación, reduciendo por lo tanto el costo de construcción y de mantenimiento de la superficie fotosintética. Aunque los estudios de aclimatación implican cambios reversibles en el mismo individuo cuando se modifican las condiciones de crecimiento, en los casos como éste en que se comparan diferentes individuos sometidos a condiciones ambientales diferentes, se puede asumir que las mismas modificaciones ocurrirían en cada uno de los individuos debido a que el tamaño de la muestra es grande (es decir el número de individuos en cada tratamiento es alto) y que los individuos que hay en

cada tratamiento fueron elegidos al azar, por lo tanto, no se esperan diferencias genotípicas entre las poblaciones que crecen en cada uno de los tratamientos.

Durante el día los individuos de *E. edulis* creciendo en el tratamiento de 10% de luz mostraron una tasa de transporte de electrones *in situ* significativamente menor que la observada en los otros 3 tratamientos con mayores niveles de radiación. Estas diferencias son consistentes con los estudios de TTE en respuesta a la luz bajo condiciones de radiación estacionaria. En las horas de mayor radiación (10 - 14 hs) se observó que las plantas del tratamiento de 30% de radiación solar tienden a mantener tasas fotosintéticas *in situ* (estimada como TTE) más altas que los tratamientos de 40 y 65%, a pesar de que reciben menor radiación fotosintéticamente activa (Figura 21) y que sus tasas de fotosíntesis máximas estimadas a partir de las curvas de respuesta de luz fueron similares. Esto sugiere que los individuos de los tratamientos de 40 y 65% podrían sufrir fotoinhibición transitoria que reduce sus tasas de transporte de electrones. En el tratamiento de 30% los valores de densidad de flujo fotónico fotosintético (DFFF) medidos en las hojas no sobrepasan mucho el punto de saturación de luz, mientras que en los otros dos tratamientos (40 y 65%) los valores de DFFF exceden este nivel lo que podría causar esta fotoinhibición. Si bien no se registraron datos, se observó que los individuos de *E. edulis* en el tratamiento de 65% modificaron el ángulo de orientación de sus hojas, posiblemente para disminuir la interceptación de la radiación, lo cual podría ser la razón de que la radiación recibida en la lámina foliar durante las mediciones *in situ* en los tratamientos de 40 y 65% de luz fue similar entre ambos tratamientos.

La tasa de crecimiento fue mayor con el aumento de tasas de fotosíntesis (TTE) medida *in situ* y con el incremento en el área foliar total de los individuos para el conjunto de los individuos en los diferentes tratamientos. Esto indica que la tasa de crecimiento estaría determinada no sólo por la cantidad de CO<sub>2</sub> asimilado por unidad de superficie foliar sino también por la superficie fotosintética total de la planta. El rendimiento cuántico del PSII (o

la TTE calculada a partir de esta variable) ha sido utilizado previamente como un estimador de la capacidad fotosintética de las hojas (Brodrribb & Feild 2000). Como se vió en el capítulo 2, la proporción de biomasa asignada a superficie foliar (del total de biomasa de la parte aérea) fue comparativamente mayor en el tratamiento de 10% con respecto a los otros tratamientos de mayor cantidad de luz. Esto explicaría parcialmente porqué, si bien la capacidad fotosintética de las plantas que crecieron en el tratamiento de menor cantidad de luz (10%) es un 66% más baja que la capacidad fotosintética medida en los otros tratamientos, la disminución de la tasa de crecimiento (medida como incremento en diámetro del estipite) fue de sólo de un 40%. A bajos niveles de radiación los individuos de *E. edulis* compensaron la capacidad fotosintética reducida asignando proporcionalmente más biomasa a la formación de superficie fotosintética y construyendo más superficie con la misma cantidad de biomasa.

Se encontró una buena relación entre la longitud de vida de las hojas y la capacidad fotosintética (TTE<sub>max</sub>) consistente con resultados obtenidos por otros autores. Tanto para una misma especie como entre distintas especies se ha observado que a medida que aumenta la longitud de vida de las hojas disminuye su capacidad fotosintética, (Reich *et al.* 1998; Reich *et al.* 1999; Cordell *et al.* 2001) posiblemente debido a que hojas con altas tasas de asimilación invertirían una mayor proporción de fotoasimilados en las enzimas de carboxilación, mientras que hojas con bajas tasas de asimilación invertirían una mayor proporción de los fotoasimilados en compuestos necesarios para disminuir los efectos de la herbivoría u otros factores que permitan mantener hojas activas durante períodos de tiempo largo (Field & Mooney 1986, en: Cordell *et al.* 2001). Además, en el presente estudio se encontró una relación positiva entre el área foliar específica (AFE) y la longitud de vida de las hojas para *E. edulis*. Sin embargo, otros trabajos mostraron una relación entre AFE y longitud de vida de las hojas opuesta a la encontrada para *Euterpe edulis* (Reich *et al.* 1998; Ackerly & Reich 1999; Reich *et al.* 1999; Cordell *et al.* 2001). Una causa posible es que,

junto con el área foliar específica y la longitud de vida de las hojas, en el presente estudio también varió el nivel de radiación al cual se desarrollaron estas hojas, y entonces el patrón encontrado podría ser una respuesta de la longitud de vida de las hojas y del área foliar específica al nivel de radiación. Posiblemente los resultados de los otros autores fueron obtenidos para plantas creciendo en condiciones de luz similares. Además, es importante tener en cuenta que en este trabajo se estudiaron relaciones intraespecíficas, mientras que los estudios arriba citados tratan sobre relaciones interespecíficas.

La capacidad de las plantas para aclimatarse a altos niveles de luz suele ser más reducida en las especies tolerantes a la sombra en comparación con especies que requieren altos niveles de radiación para su crecimiento (Durand & Goldstein 2001). Sin embargo incluso entre estas especies tolerantes a la sombra la respuesta a un incremento de luz puede ser muy diferente dependiendo de características como, por ejemplo, la longitud de vida de sus hojas (Kursar & Coley 1999). Cuando los individuos de *E. edulis* de los distintos tratamientos se colocaron durante 90 minutos en sitios de alta radiación solar directa, se observó fotoinhibición (estimada a partir del  $\Delta F/F_m$ ) en todas las plantas, independientemente del tratamiento en el cual se desarrollaron. Sin embargo, los niveles de luz en los cuales se desarrollaron las plantas afectaron significativamente la velocidad de recuperación de las mismas. Aquellos individuos que crecieron a 65% de la radiación total recuperaron el 90% de su capacidad fotosintética al cabo de 80 minutos bajo condiciones lumínicas subsaturantes, mientras que las plantas provenientes del tratamiento de 10% recuperaron apenas el 60% en el mismo período de tiempo. Este mismo patrón de respuesta se ha observado tanto para una misma especie creciendo a distintos niveles de radiación, como para diferentes especies con requerimientos distintos, es decir especies tolerantes a la sombra vs. especies que requieren niveles de radiación relativamente altos para su desarrollo (Barth *et al.* 2001; Durand & Goldstein 2001; Krause *et al.* 2001). La mayor recuperación de hojas aclimatadas a altos niveles de radiación estaría relacionada con una

mayor actividad del ciclo de las xantófilas, así como con una mayor concentración en las hojas de los pigmentos involucrados en este ciclo (Barth *et al.* 2001).

## CONCLUSIONES

Sólo se observaron cambios significativos en la capacidad fotosintética de *E. edulis* en el tratamiento de 10%, la cual disminuyó en un 60% con respecto a los otros tratamientos de mayor radiación. En el tratamiento de 10% de luz los individuos de *E. edulis* compensaron la baja capacidad fotosintética asignando proporcionalmente más biomasa a la formación de superficie fotosintética y construyendo hojas de área foliar específica más alta, posiblemente con menores tasas de respiración en la oscuridad. Por lo tanto *E. edulis* es una especie bien adaptada para desarrollarse en el sotobosque donde los niveles de radiación fotosintéticamente activa son muy bajos. Las hojas de los renovales creciendo a altos niveles de luz mostraron una mayor capacidad de recuperación a la fotoinhibición. A pesar de esta mayor capacidad de recuperación, sus tasas de fotosíntesis no fueron significativamente más altas que a niveles de luz intermedios, incluso tendieron a disminuir, lo cual es consistente con los patrones de distribución dentro del bosque donde *E. edulis* está prácticamente ausente en claros. La tasa fotosintética tendió a ser mas alta a niveles intermedios de luz, quizás porque a bajos niveles de luz la radiación incidente esta por debajo del punto de saturación de luz y a altos niveles de radiación porque se producen procesos de fotoinhibición permanente. Se observó que tanto el área foliar total alcanzada por los individuos al final del experimento como la tasa de fotosíntesis máxima diaria fueron buenos predictores del incremento en diámetro de los tallos de los renovales estudiados. Por otra parte la longitud de vida de las hojas se correlacionó con la TTE<sub>max</sub> y con el área foliar específica. Los tratamientos de sequía no produjeron cambios significativos en la capacidad fotosintética a diferentes niveles de luz, sin embargo tendieron a disminuir la TTE<sub>max</sub> en los tratamientos de mayor cantidad de luz (30, 40 y 65%).

# Capítulo 4. Arquitectura hidráulica de *Euterpe edulis* y plasticidad bajo diferentes condiciones de luz y humedad del sustrato

## INTRODUCCIÓN

El estudio del sistema de transporte de agua en palmeras ha sido en general de tipo descriptivo enfatizando aspectos estructurales y anatómicos (Zobel & Liu 1980; Rich 1987; Tomlinson 1990; Ancy & Bhat 1997; Fisher *et al.* 2002) o se ha centrado en aspectos funcionales específicos como el de los reservorios internos de agua en el tallo (Holbrook & Sinclair 1992a; Holbrook & Sinclair 1992b). Otros aspectos, como la capacidad de aclimatación de la arquitectura hidráulica a cambios en el ambiente han sido muy poco o nada estudiados. El suministro de agua a las hojas es uno de los principales limitantes de la productividad de las plantas, por lo tanto es lógico que los factores que influyan en el transporte de agua desde el suelo a las hojas jueguen un papel central en la adaptación de las plantas al medio ambiente físico (Sperry *et al.* 2002). A altos niveles de radiación, el beneficio de un aumento en la capacidad de captación de carbono debe ser relativizado por el costo de las pérdidas de agua por transpiración, ya que cualquier característica que aumenta la tasa a la cual se difunde el CO<sub>2</sub> al interior de la hoja (como mantener los estomas abiertos durante períodos de tiempo prolongados) también facilita la pérdida de vapor de agua por transpiración. Este costo puede incluir una reducción en la capacidad fotosintética de las hojas causada por una disminución en el potencial hídrico de las mismas y de la conductancia estomática, un aumento en la asignación de biomasa hacia tejidos no fotosintéticos como raíces y xilema, o acortando el período de actividad fotosintética durante el día cerrando parcialmente los estomas (Givnish 1988). La coordinación entre la capacidad fotosintética y la eficiencia en el transporte de agua ha sido evaluada para distintos grupos



de especies, tanto creciendo en condiciones similares como bajo distintas intensidades de luz (Brodrribb & Feild 2000; Brodrribb *et al.* 2002; Santiago *et al.* 2004; Campanello 2004). Se ha observado que hay una relación positiva entre la capacidad de las plantas de suministrar agua a las hojas y sus capacidades fotosintéticas: aquellas plantas que tienen una actividad fotosintética más alta tienen, también, mayor eficiencia en el transporte de agua (Campanello 2004).

Las palmeras no poseen un cambium vascular que les permita producir conductos nuevos en el tejido xilemático (crecimiento secundario) una vez que la planta comienza a crecer en altura. Por lo tanto una vez formados los elementos de conducción del estípote o tallo principal, éstos deberán permanecer funcionales durante toda la vida de la planta (en el caso del tallo), o al menos, del órgano al cual suministran agua (Tomlinson 1990). Una de las principales disfunciones que pueden ocurrir en el sistema de transporte de agua en las plantas es la ruptura de la columna de agua en sus elementos de conducción. El agua pasa de la fase líquida a la fase de vapor de agua (cavitación) y luego este vapor de agua es reemplazado por aire que entra a través de las puntuaciones (embolismo). Cuando los vasos o elementos de conducción se embolizan, se interrumpe el flujo del agua a través de los mismos (Cruziat *et al.* 2002). Las condiciones de altos déficits hídricos y las temperaturas congelantes son dos de los factores principales que estimulan la formación de embolismos (Meinzer *et al.* 2001). Si bien por mucho tiempo se consideró que la formación de embolismos es un fenómeno prácticamente irreversible, actualmente se conoce que las plantas poseen distintos mecanismos para reparar estos vasos embolizados (Bucci *et al.* 2003). A largo plazo (meses o años) las plantas pueden prevenir la cavitación de su sistema vascular ajustando el área de la superficie evaporativa en relación a la capacidad de transporte de agua de la planta (Pepin *et al.* 2002). A corto plazo, es decir horas, pueden disminuir la tasa de transpiración por unidad de superficie foliar a través del cierre de los estomas. El aumento de la resistencia al flujo de agua en el tallo podría ser una de las

señales que utilizan las plantas para estimular el cierre de los estomas (Fisher *et al.* 2005). Sin embargo se desconoce si la cavitación de los conductos más pequeños en las hojas podrían actuar de la misma manera (Salleo *et al.* 2001), aunque se ha sugerido que la disfunción del xilema en las hojas podría producir, también, una disminución del intercambio de gases en la hoja (Brodribb & Holbrook 2004). La hipótesis de la segmentación, postulada por Zimmermann en 1983 a partir de estudios de arquitectura hidráulica en la palmera *Raphis excelsa*, se refiere a que las plantas tenderían a localizar los puntos de mayor resistencia hidráulica en órganos redundantes y reemplazables, los cuales serían de alguna manera "descartables". De esta manera aumentaría la capacidad de estas plantas de sobrevivir a eventos de sequía y de recuperarse rápidamente cuando aumenta la disponibilidad de agua en el suelo, evitando embolismos masivos y una disfunción importante en el sistema vascular principal de la planta (Sperry *et al.* 2002). En las palmeras los puntos de alta resistencia, y por lo tanto de embolización, podrían estar localizados entre el tallo y las hojas donde el enlace entre los haces foliares y los haces del eje principal estaría dado básicamente a través de protoxilema. Esta constricción confinaría los potenciales hídricos más negativos a los pecíolos de las hojas, las cuales pueden ser reemplazadas cuando mejoran las condiciones de estrés hídrico (Tomlinson 1990).

Las palmeras carecen de la flexibilidad que poseen muchas angiospermas para ajustar rápidamente su área foliar, y el tamaño o forma de sus hojas (Kursar & Coley 1999; Zwieniecki *et al.* 2004). Esto sugiere que tendrían una capacidad limitada para modificar su arquitectura hidráulica a cambios en las condiciones ambientales (Zobel & Liu 1980). Para especies como *Euterpe edulis* que se desarrollan en el bosque, donde el entorno puede permanecer inalterado durante gran parte de su ciclo de vida o sufrir cambios drásticos como la apertura de un claro, sequías esporádicas y temperaturas congelantes, la capacidad de respuesta de las plantas podría ser un factor importante en su capacidad de supervivencia. El tallo de las palmeras podría tener un importante papel como reservorio de

agua, el cual aumenta con el tamaño de la planta. Frente a un déficit hídrico importante, la alta mortalidad de individuos pequeños estaría asociada a un reservorio de agua pequeño incapaz de amortiguar la demanda de agua de la planta (Holbrook & Sinclair 1992a; Holbrook & Sinclair 1992b). En la fase de establecimiento de *E. edulis*, cuando el estípite aún es incipiente, los ajustes de la planta en respuesta a cambios en las condiciones ambientales pueden tener un importante efecto en la capacidad de supervivencia del individuo.

El **objetivo general** de esta parte del estudio fue el de determinar distintos aspectos de la arquitectura hidráulica de *Euterpe edulis* y su capacidad para aclimatarse a diferentes condiciones de luz y disponibilidad de agua en el sustrato. *Euterpe edulis* es una especie de palmera típica de sotobosque por lo que se esperaría que tenga una capacidad limitada para modificar su arquitectura hidráulica a cambios en las condiciones ambientales. Por lo tanto, es posible que la capacidad de suministrar agua a las hojas no aumente proporcionalmente con el aumento en la superficie foliar (como se ha propuesto para árboles, Ryan & Yoder 1997) y en la demanda evaporativa en ambientes con altos niveles de radiación.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Se realizaron estudios de vivero bajo condiciones controladas de luz y agua en el sustrato, así como también se realizaron mediciones en laboratorio y en el campo. En vivero se trabajó con palmeras desarrolladas bajo 4 niveles de radiación (10, 30, 40 y 65% de la radiación total) y dos niveles de disponibilidad de agua en el sustrato (A: normal, B: suministro de agua reducido). En el capítulo 2 se encuentra una descripción detallada de las características de los tratamientos.

Existen varios parámetros para describir la arquitectura hidráulica de una planta, los cuales se describen a continuación (Tyree & Ewers 1991):

1) Conductividad hidráulica ( $K_h$ ,  $\text{Kg s}^{-1} \text{ m MPa}^{-1}$ ): es la conductividad hidráulica por unidad de gradiente de presión. Es la razón entre el flujo de agua ( $F$ ,  $\text{kg s}^{-1}$ ) a través de un segmento de tallo cortado y el gradiente de presión ( $dP/dx$ ,  $\text{MPa m}^{-1}$ ) que causa dicho flujo.

2) Conductividad específica ( $K_s$ ,  $\text{kg s}^{-1} \text{ m}^{-1} \text{ MPa}^{-1}$ ): se obtiene al dividir  $K_h$  por el área de xilema en corte transversal, otorga una idea de la "porosidad" del segmento de tallo. Para este estudio se usó una aproximación al  $K_s$ , dividiendo la  $K_h$  por el área de la sección transversal del pecíolo. Como en las monocotiledóneas los haces vasculares están separados e inmersos en una matriz de parénquima, este valor de  $K_s$  en realidad subestima el verdadero valor de  $k_s$  para *E. edulis*.

3) Conductividad hidráulica foliar específica ( $K_l$ ,  $\text{kg s}^{-1} \text{ m}^{-1} \text{ MPa}^{-1}$ ): se obtiene al dividir  $K_h$  por el área foliar distal al segmento de tallo para el cual se obtuvo el valor de  $K_h$ . Es una medida de la cantidad de agua disponible por unidad de superficie foliar.

4) Valor de Huber: está definido por el área de la sección transversal del xilema (o área del tallo) dividida por el área foliar distal a ese tallo y se expresa en  $\text{m}^2$  de tallo sobre  $\text{m}^2$  de área foliar. Es una medida de la inversión en tallo por unidad de área foliar alimentada. También puede expresarse como la sección del tallo sobre el peso seco de la superficie foliar.

## **Conductividad hidráulica**

Entre los meses de mayo a julio de 2002 se estimó la conductividad hidráulica ( $K_h$ ) en pecíolos de *Euterpe edulis* bajo los distintos tratamientos de luz y disponibilidad de agua en el sustrato en el vivero. En cada individuo se seleccionó una hoja joven completamente expandida que se hubiera desarrollado bajo los tratamientos, la cual correspondió en general a la hoja de la posición 3 (considerando como 1 la hoja visible más joven, en expansión). Los individuos se trasladaron en su maceta al laboratorio temprano por la mañana y la hoja seleccionada se cubrió con una bolsa negra de material plástico para evitar la pérdida de agua hasta que la planta fuera utilizada. Ninguna hoja permaneció cubierta por más de 6

horas. La temperatura del laboratorio se ajustó para realizar las mediciones a un valor constante de 25 °C. Para estimar el flujo de agua en los pecíolos de las hojas se utilizó agua desgasificada y microfiltrada (0,1µm) bajo presión hidrostática, la cual se hizo pasar por una sección de pecíolo. Se estimó el volumen de agua que fluía por los pecíolos por unidad de tiempo y de gradiente de presión para lo cual se registró la altura de la carga hidráulica y el largo exacto del segmento para calcular la conductividad hidráulica ( $K_H$ ;  $\text{kg m MPa}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ). Se cortó el pecíolo cerca de su base y rápidamente se recortó bajo agua para evitar la formación de embolismos. La parte distal también se cortó bajo agua, y de esta misma manera se conectó al sistema de medición de conductividad, teniendo especial cuidado de que no quedaran burbujas dentro del sistema. Los segmentos de pecíolo utilizados fueron del máximo largo posible, entre 5 y 9 cm de largo. La altura de la columna de agua se mantuvo relativamente constante para evitar gradientes de presión muy diferentes entre las distintas mediciones. La parte basal del pecíolo quedó conectado a la columna de agua mientras que en la parte distal se colocó un recipiente tipo Eppendorf con papel secante para coleccionar el agua que pasaba a través del pecíolo (ver Foto 1 en el anexo I). La circulación de agua se estableció por un tiempo determinado y medido por cronómetro (entre 135 y 360 s, dependiendo del flujo de agua en los pecíolos). Esta medición se repitió 3 veces para cada individuo, y luego se promedió el resultado. El agua que circuló a través del pecíolo se calculó por la diferencia de peso entre el recipiente Eppendorf con papel seco (antes de la medición) y Eppendorf con papel húmedo (post medición). Se midieron 4 pecíolos simultáneamente. Se estimó el área foliar que alimentaba cada pecíolo, para esto se separaron los folíolos del raquis correspondiente, se escanearon y se calculó el área foliar total por hoja utilizando el software Scion Image for Windows 2000 4.0.2. Todo el material utilizado (pecíolos, raquis y folíolos) se secó en estufa a 60°C hasta peso constante y se pesó con una balanza de precisión.

Posteriormente se calculó la cantidad de agua que fluye por unidad de superficie foliar ( $K_l$ ,  $\text{kg m}^{-1} \text{MPa}^{-1} \text{s}^{-1}$ ) y la cantidad de agua que circula por unidad de área de sección transversal de pecíolo ( $K_s$ ,  $\text{kg m}^{-1} \text{MPa}^{-1} \text{s}^{-1}$ ). Por otra parte se relacionó el área de la sección transversal del pecíolo con la  $K_h$ , así como con el área foliar y el peso seco de la hoja que alimentaba este pecíolo. Además se calculó el valor de Huber, es decir el cociente entre el área de la sección transversal del tallo y el área foliar que alimentaba, tanto a nivel de individuo como de las hojas utilizadas en las mediciones de conductividad hidráulica. Todos los pecíolos utilizados se almacenaron en alcohol 70% para realizar estudios anatómicos posteriores. Algunos de ellos se fijaron en polietilenglicol, se cortaron con micrótopo y se montaron temporalmente en portaobjetos para tomar fotografías con una cámara digital adaptada a un microscopio óptico.

### **Curvas de Presión-Volumen y curva de vulnerabilidad de la conductividad hídrica foliar**

Se construyeron curvas de presión-volumen para conocer la relación entre el contenido relativo de agua (CRA) y el inverso del potencial hídrico en la hoja ( $-1/\Psi$ ), y de esta manera estimar el potencial osmótico y de presión de turgencia a saturación, así como el valor de potencial hídrico al cual se produce el punto de pérdida de presión de turgencia. Se trabajó con folíolos de la hoja 3 (considerando como hoja 1 la hoja más joven aún no expandida) de individuos de un solo tratamiento, aquellos correspondientes a la condición de riego normal y nivel de radiación intermedio (30%). El individuo a utilizar se regó abundantemente la noche anterior para obtener una hidratación completa de sus hojas. A la mañana siguiente se seccionó un folíolo, se colocó en el tapón de goma correspondiente a la cámara de presión y se pesó inmediatamente en balanza de precisión para conocer el peso a saturación. A continuación, se estimó el potencial hídrico correspondiente a este peso con una cámara de presión PMS (Corvallis, Oregon, EEUU). Si el potencial hídrico se encontraba por debajo de –

0,1 MPa, se descartó el folíolo y se comenzó con uno nuevo. Posteriormente el folíolo se dejó deshidratar lentamente en el laboratorio, luego se volvió a pesar y a estimar el potencial hídrico. De esta manera se procedió pesando para estimar el contenido relativo de agua y midiendo el potencial hídrico hasta que el contenido relativo de agua cayó por debajo del 50%, o hasta que el potencial hídrico comenzó a aumentar levemente, lo cual puede ocurrir debido a daños en las membranas celulares (Brodribb & Holbrook 2003). El folíolo utilizado se secó en estufa a 60°C hasta peso constante y se pesó para obtener el peso seco. En el gráfico de la relación presión volumen se utilizó el déficit relativo de agua (DRA = 1- CRA) en lugar del contenido relativo, el cual se calculó de la siguiente manera:

$$CRA = (\text{peso fresco} - \text{peso seco}) / (\text{peso a saturación} - \text{peso seco}) \quad [3.1]$$

Se utilizaron 6 folíolos diferentes provenientes de 4 individuos para construir la curva de presión-volumen.

Se construyó una curva de vulnerabilidad de la conductividad hídrica foliar siguiendo el método propuesto por Brodribb y Holbrook (2003), el cual consiste en estimar la conductividad hídrica de la hoja ( $K_{\text{hoja}}$ ) a medida que disminuye su potencial hídrico. Para ello se utilizaron folíolos de *E. edulis* provenientes de distintos individuos.

El método se basa en el supuesto de que la rehidratación de hojas parcialmente deshidratadas sería equivalente a la carga de un capacitor a través de un resistor, es decir:

$$V_f = V_o e^{-t/RC} \quad [3.2]$$

donde:  $V_o$  : potencial hídrico inicial de la hoja (en este caso, folíolo),  $V_f$ : potencial hídrico final luego de la recarga por  $t$  segundos,  $C$ : capacitancia,  $R$ : resistencia (1/conductividad),  $t$ : período de recarga. La medición del potencial hídrico pre y post rehidratación así como el tiempo de rehidratación permite calcular la  $K_{\text{hoja}}$  despejando de [3.2]:

$$K_{\text{hoja}} = C \ln [V_o / V_f] / t \quad [3.3]$$

donde:  $C$ : capacitancia de la hoja,  $\psi_o$ : potencial hídrico de la hoja antes de la rehidratación,  $\psi_f$ : potencial hídrico de la hoja luego de la rehidratación por  $t$  segundos.

De esta manera el cálculo de  $K_{hoja}$  se realiza de acuerdo a [3.3] bajo condiciones no estables usando la tasa de recuperación del potencial hídrico de la hoja: una hoja desecada de la cual se conoce el potencial hídrico ( $\psi_o$ ) se corta bajo agua y se la rehidrata por un período conocido de tiempo ( $t$ ), después del cual se determina el potencial hídrico final ( $\psi_f$ ). Para calcular el  $K_{hoja}$  es necesario conocer la capacitancia de la hoja, la masa de agua por unidad de área foliar y el peso seco por unidad de área foliar. La función de capacitancia se define midiendo el punto de pérdida de turgencia por el punto de inflexión de la curva presión - volumen, y luego usando este valor como la intersección de las regresiones lineales ajustadas a los datos a ambos lados del punto de pérdida de turgencia. Las pendientes de estas curvas devuelven la función de capacitancia foliar en términos de contenido relativo de agua. Debido a la elasticidad de la hoja, esta capacitancia es muy diferente por encima y por debajo del punto de pérdida de turgencia, por esta razón es necesario calcular dos capacitancias: la capacitancia pre punto de pérdida de turgencia y la capacitancia post punto de pérdida de turgencia.

El cálculo de  $K_{hoja}$  ( $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$ ) requiere que la capacitancia determinada por la curva presión-volumen ( $\text{MPa}^{-1}$ ) se exprese en términos absolutos y normalizada por el área foliar. Para hacer esto, la capacitancia calculada a partir de la curva presión - volumen se multiplicó por el peso del agua de la hoja a saturación y luego se dividió por el área foliar. En la práctica se calcularon las siguientes razones para *Euterpe edulis*: 1) peso seco de la hoja/área foliar, y 2) peso del agua en saturación/peso seco de la hoja, y se utilizaron para calcular la capacitancia absoluta de la hoja normalizada por el área:

$$C = (dCRA/d\psi) \times (PS/AF) \times (PAS/PS) / M \quad [3.4]$$



donde: **C**: capacitancia de la hoja normalizada por el área;  $dCRA/d?$ : pendiente de la curva presión volumen; PS: peso seco de la hoja (gr); AF: área foliar ( $m^2$ ); PAS: peso del agua de la hoja a 100% de saturación (gr); M= peso molar del agua ( $gr\ mol^{-1}$ ).

La curva de vulnerabilidad de la conductividad hídrica foliar se construyó midiendo la  $K_{hoja}$  en hojas rehidratadas partiendo de diferentes potenciales hídricos iniciales. Las plantas a utilizar se regaron abundantemente la noche anterior. A la mañana temprano se cortó el extremo de una hoja con varios folíolos los cuales se dejaron deshidratar lentamente en el laboratorio hasta -0.5 ó -1.0 MPa. Posteriormente se colocaron en una bolsa plástica en oscuridad por 30 minutos para minimizar la variación del potencial hídrico entre los distintos folíolos. Se cortaron 2 folíolos y se estimó el potencial hídrico inicial. Si se encontraba una variación mayor de 0.1 MPa se descartaba la porción de hoja y se comenzaba con una nueva. El potencial hídrico inicial se estimó en folíolos adyacentes a los folíolos que luego fueron rehidratados, ya que la presurización de la cámara afecta la capacidad de rehidratación de las hojas (Brodribb & Holbrook 2003). Luego de determinar el potencial hídrico inicial se colocó el raquis y la base de uno de los folíolos en agua, para luego recortarlo bajo agua y rehidratarlos por 12-15 segundos. Se tuvo la precaución de que el agua no moje la lámina para que no haya absorción de agua por la epidermis o los estomas. Con un cronómetro se tomó el tiempo de rehidratación, luego del cual se retiró el folíolo del agua, se secó su base con papel e inmediatamente se midió el potencial hídrico final. Se calculó el  $K_{hoja}$  a partir del cambio en el potencial hídrico entre antes y después de la rehidratación, y esta medición constituyó un punto en la curva de vulnerabilidad. Se deshidrataron porciones de hojas de diferentes individuos hasta distintos potenciales hídricos iniciales y así se construyó la curva de vulnerabilidad.

## **Curso diario de potencial hídrico de *Euterpe edulis* en el campo bajo dos situaciones de luz**

Luego de una sequía de aproximadamente 15 días, el 13/11/05 se realizó un curso diario del potencial hídrico de folíolos de *E. edulis* en el campo. El día anterior a realizar el curso diario se seleccionaron 12 individuos en un palmital dentro del Parque Nacional Iguazú (25° 41,4´S - 54° 28,7´W) cercano al laboratorio que se usó para realizar las mediciones. Las palmeras seleccionadas fueron de tamaño similar a las utilizados en el vivero para los experimentos. En todos los individuos se marcó la hoja completamente expandida más joven y sana. Al día siguiente, comenzando a las 6:00 hs y aproximadamente cada 2 horas, se cortó un folíolo de la hoja marcada de cada planta. Inmediatamente luego de cortarlos se los colocó en bolsas plásticas herméticas para evitar la desecación y se los llevó al laboratorio donde se midió el potencial hídrico utilizando una cámara de presión PMS (Corvallis, Oregon, EEUU). En el momento de cortar el folíolo se estimó cualitativamente la radiación que estaba recibiendo la hoja, asignándole una categoría entre 1 y 5. Las categorías correspondieron a: 1: 0% de la superficie de la hoja recibía radiación directa, 2: 1 - 25%, 3: 26 - 50%, 4: 51 - 75% y 5: más del 75% recibía radiación solar directa. Los valores de 1 a 5 obtenidos por las plantas en todo el día se sumaron y se separaron los 12 individuos en dos grupos: luz: aquellos que habían recibido más radiación directa durante todo el día, es decir la mitad de los individuos que sumaron mayor valor de luz recibido; y sombra: aquellos que recibieron menos radiación directa. Luego se calculó el potencial hídrico promedio por hora y por grupo, para ver si la radiación incidente tenía un efecto sobre esta variable.

## **Potencial hídrico de folíolos en vivero**

Se estimó el potencial hídrico al mediodía en folíolos de *Euterpe edulis* de los tratamientos de niveles de radiación 10 y 65%. Se ha visto que el potencial hídrico de hojas cubiertas es un buen estimador del potencial hídrico del tallo de la planta y del suelo (Bucci *et al.* 2005; pero

ver también: Donovan *et al.* 2003). Por la mañana temprano se cubrieron algunos folíolos con una bolsa plástica hermética y con papel aluminio por afuera para evitar el aumento de la temperatura en la hoja por la radiación. Al mediodía se cortaron estos folíolos cubiertos y otros folíolos descubiertos cercanos. Inmediatamente se colocaron en bolsas plásticas para evitar la deshidratación y se llevaron al laboratorio donde se midió el potencial hídrico con la cámara de presión ya descrita.

## RESULTADOS

### Conductividad hidráulica

La conductividad hidráulica foliar específica (KI) medida en los pecíolos tendió a ser menor en el tratamiento de 65% de radiación comparado con los otros tratamientos, sin embargo no se observaron diferencias significativas entre tratamientos con el análisis estadístico utilizado (Figura 31) (DFFF  $F_{3,42} = 1,86$ ,  $p = 0,15$ ; agua:  $F_{1,42} = 0,05$ ,  $p = 0,82$ ; DFFF\*agua:  $F_{3,42} = 0,15$ ,  $p = 0,93$ ). El mismo patrón se encontró para la conductividad hidráulica específica (Ks), considerada por unidad de área de la sección transversal del pecíolo, en lugar de área de xilema. Es decir, Ks para el tratamiento de 65% fue aproximadamente 20% menor comparado con todos los otros tratamientos que tuvieron valores de Ks relativamente similares (Figura 32) (DFFF  $F_{3,42} = 1,68$ ,  $p = 0,19$ ; agua:  $F_{1,42} = 0,11$ ,  $p = 0,74$ ; DFFF\*agua:  $F_{3,42} = 0,23$ ,  $p = 0,87$ ).

El área de la sección transversal de los pecíolos fue diferente en los distintos tratamientos de radiación, tal como se mostró en el capítulo 2. Dicha área estuvo linealmente relacionada con el área foliar (Figura 33). A cada incremento en el área foliar ( $m^2 \times 10^{-2}$ ) le correspondió un aumento de aproximadamente 3 ( $m^2 \times 10^{-6}$ ) en el área del pecíolo. El área de los pecíolos también estuvo linealmente relacionada con el peso seco de la hoja a la cual alimentaba el pecíolo, por cada aumento en el peso seco de la hoja (g), el área del pecíolo aumentó 5 unidades ( $m^2 \times 10^{-6}$ ) aproximadamente (Figura 34). En ambas relaciones, área de pecíolo vs.

área foliar y área de pecíolo vs. peso seco de la hoja, todos los tratamientos se ajustaron a una única función. El 63% de los cambios en conductividad hidráulica ( $K_h$ ) observada en los pecíolos puede explicarse por las variaciones en el área de la sección transversal de los mismos, cuando se grafican los individuos de todos los tratamientos en conjunto, observándose que a mayor área transversal del pecíolo la conductividad hidráulica aumenta siguiendo una función cuadrática (Figura 35). A nivel de individuo, se observó que el Valor de Huber (área sección transversal del tallo / área foliar) fue afectado por los distintos tratamientos de radiación (Figura 36), encontrándose un valor menor para las palmeras desarrolladas a bajas intensidades de luz (10%) con respecto a aquellas que se desarrollaron a altos niveles de radiación (65%). Es decir en el tratamiento de mayor nivel de radiación, las palmeras mostraron una mayor área de sección transversal del tallo por unidad de área foliar. Al contrario que los tratamientos de radiación, los tratamientos de disponibilidad de agua no produjeron efectos en el valor de Huber a nivel de individuos (ANOVA a dos factores: DFFF  $F_{3,218} = 2,84$ ,  $p = 0,04$ ; Luz  $F_{1,218} = 0,14$ ,  $p = 0,71$ ; DFFF\*agua  $F_{3,218} = 1,11$ ,  $p = 0,34$ ). Cuando se comparó el valor de Huber a nivel de las hojas, no se detectaron efectos de los tratamientos de radiación ni de los de disponibilidad de agua (Figura 37)(ANOVA a dos factores: DFFF  $F_{3,44} = 1,76$ ,  $p = 0,167$ ; agua  $F_{1,44} = 0,112$ ,  $p = 0,739$ ; DFFF\*Agua  $F_{3,44} = 1,05$ ,  $p = 0,378$ ). No se encontraron relaciones estadísticamente significativas entre  $K_l$  o  $K_s$  con la tasa de transporte de electrones, ni con la tasa de crecimiento. Para todos los casos el  $p$  de la regresión lineal fue mayor a 0,5.

A modo de ejemplo, se muestra en la Figura 38 y en la Figura 39 dos cortes anatómicos de pecíolo. La primera corresponde al tratamiento de 65% y la segunda al tratamiento de 40% de luz, tomadas en el mismo sector del pecíolo y a la misma escala.

## **Curvas de Presión-Volumen y curva de vulnerabilidad de la conductividad hídrica foliar**

Utilizando la curva de presión volumen que se muestra en la Figura 40 se calculó el punto de pérdida de turgencia, el cual fue de  $-1,65$  MPa. A partir de estos datos se graficó el contenido relativo de agua y el potencial hídrico de la hoja (Figura 41) para calcular el valor de capacitancia de las hojas por encima y por debajo del punto de pérdida de turgencia. En la curva obtenida se ajustaron dos funciones lineales a ambos lados del punto de pérdida de turgencia, y la capacitancia correspondió a las pendientes de estas curvas:  $-0,058$  por encima del punto de pérdida de turgencia y  $-0,309$  a potenciales hídricos por debajo del punto de pérdida de turgencia ( $-1,65$  MPa). Se observó que la conductancia hidráulica foliar disminuyó substancialmente al acercarse al punto de pérdida de turgencia, perdiendo cerca del 80% de la conductancia al alcanzar valores de potencial hídrico cercanos a  $-1,65$  MPa (Figura 42).

## **Curso diario de potencial hídrico de *Euterpe edulis* en el campo bajo dos situaciones de luz**

El potencial hídrico de *Euterpe edulis* en el campo se mantuvo por debajo de  $-1$  MPa durante la mayor parte del día (entre las 9 y las 16 h) (Figura 43). El nivel de radiación solar directa que recibieron los individuos durante el día tuvo un efecto significativo en el potencial hídrico de los folíolos a lo largo del día. Aquellos individuos situados en micrositios más luminosos tuvieron potenciales hídricos más bajos que los individuos en micrositios más oscuros (ANOVA de medidas repetidas,  $F_{6, 5} = 5,00$ ,  $p = 0,049$ ). Al mediodía, algunos individuos alcanzaron potenciales hídricos por debajo del punto de pérdida de turgencia calculado a partir de las curvas de presión-volumen, el valor más bajo registrado fue de  $-1,85$  MPa. Aproximadamente a las 13 hs, donde el potencial hídrico de los individuos de luz y sombra

fue similar, las condiciones de radiación solar directa también fueron similares, posiblemente debido a la posición del sol en ese momento del día.

### Potencial hídrico de folíolos en vivero

En el vivero, al mediodía, los potenciales hídricos de hojas cubiertas fueron similares entre el tratamiento de 10 y 65%, sin embargo los potenciales de hojas descubiertas fueron un 40% más altos en el tratamiento de 10% de luz (Figura 44) (Prueba no paramétrica de Mann-Whitney,  $Z = -1,96$ ,  $p = 0,046$ ).

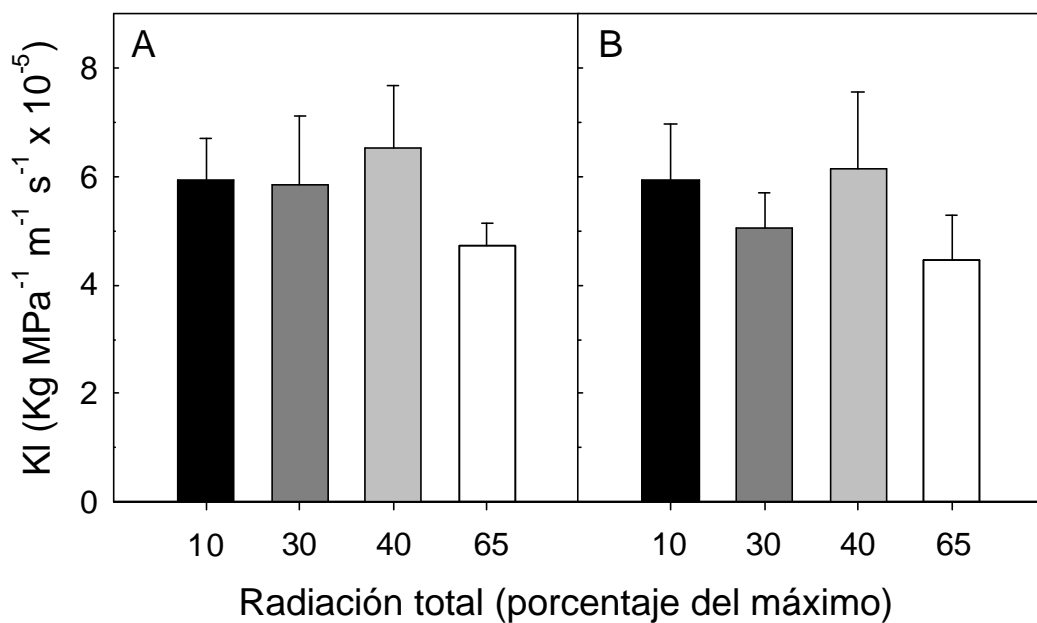


Figura 31: Conductividad hidráulica foliar específica (KI, media + error estándar,  $n = 6-7$ ) en pecíolos de hojas de *Euterpe edulis* expandidas bajo distintas condiciones de luz (porcentaje de la radiación total incidente) y de disponibilidad de agua en el sustrato (A: riego normal, B: suministro de agua reducido).

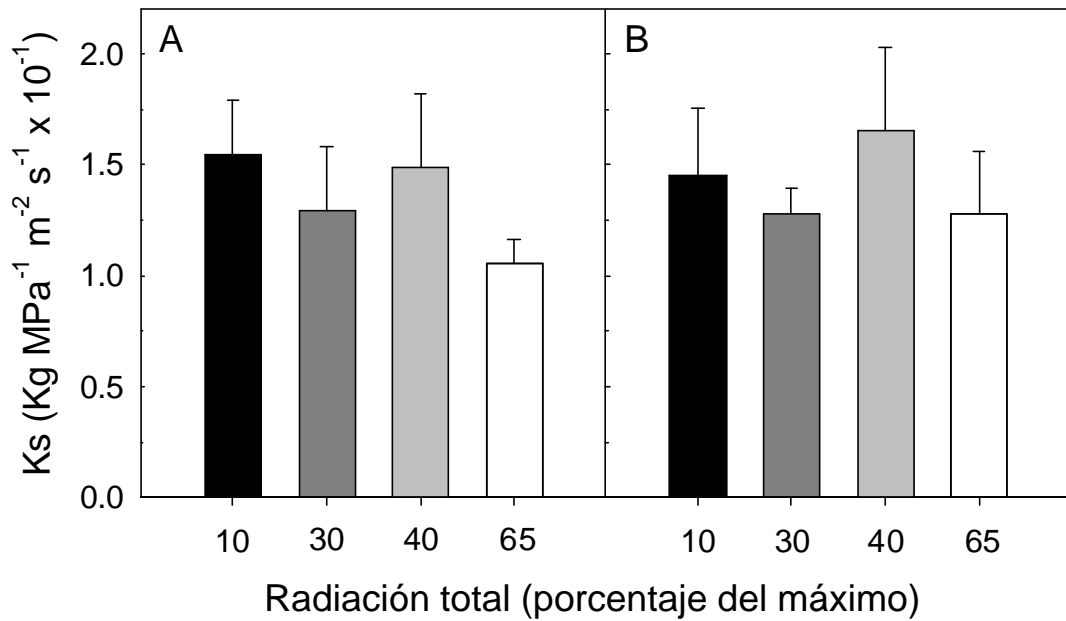


Figura 32: Conductividad hidráulica por unidad de área de la sección transversal del peciolo ( $K_s$ , media + error estándar,  $n = 6-7$ ) en hojas de *Euterpe edulis* expandidas bajo distintas condiciones de luz (porcentaje de la radiación total incidente) y de disponibilidad de agua en el sustrato (A: riego normal, B: suministro de agua reducido).

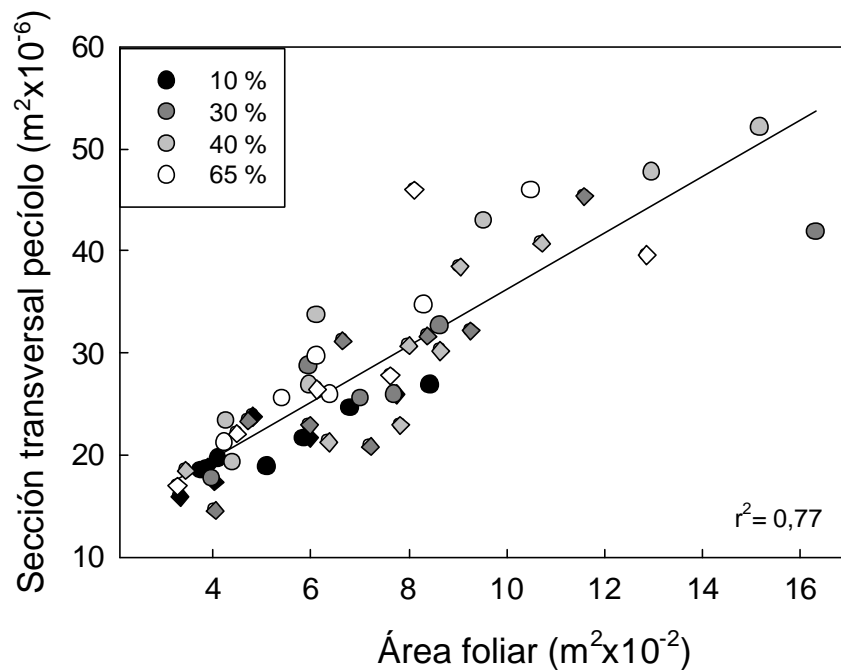


Figura 33: Área de la sección transversal del peciolo en función del área foliar de la hoja que alimenta dicho peciolo para *Euterpe edulis* bajo distintos niveles de radiación (10, 30, 40 y 65 % de la radiación solar incidente) y de disponibilidad de agua en el sustrato (círculos: riego normal, rombos: suministro de agua reducido). La curva ajustada es:  $y = 0.00000855 + 0.00027627 x$ . Cada punto significa una hoja de un individuo,  $n = 52$ .

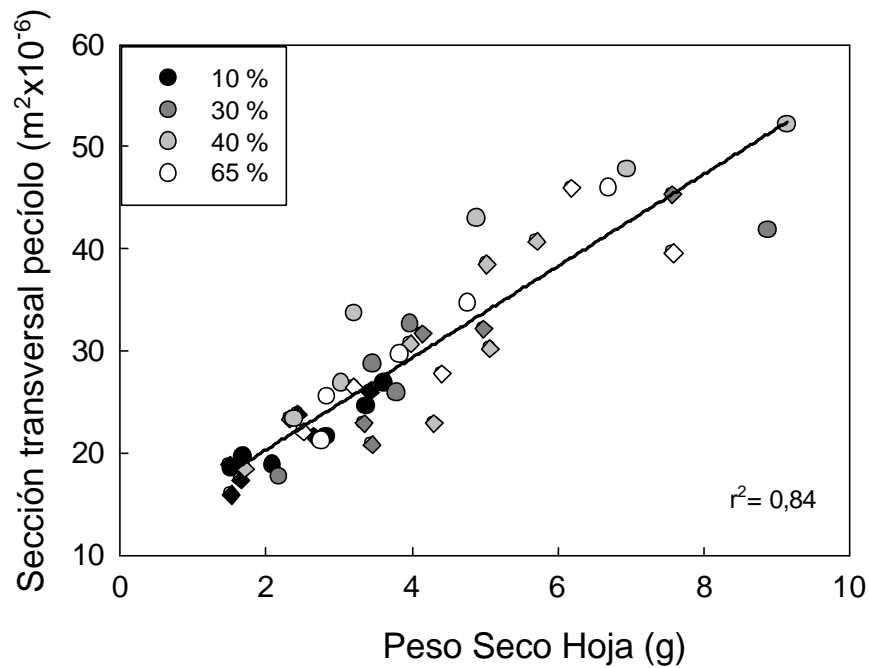


Figura 34: Área de la sección transversal del peciolo en función del peso seco de la hoja (peso seco de los folíolos + raquis) que sostiene para hojas de *Euterpe edulis* bajo distintos niveles de radiación (10, 30, 40 y 65 % de la radiación solar incidente) y de disponibilidad de agua en el sustrato (círculos: riego normal, rombos: suministro de agua reducido). La curva ajustada es:  $y = 11,33 \times 10^{-6} + 4,496 \times 10^{-6} x$ ,  $p < 0,001$ . Cada punto es una hoja de un individuo,  $n = 45$ .

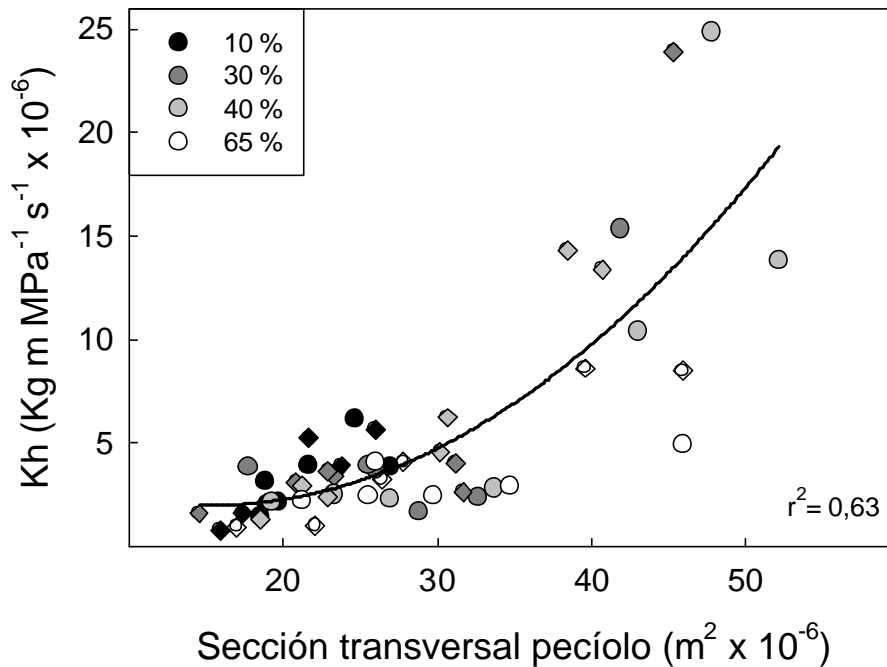


Figura 35: Conductividad hidráulica ( $K_h$ ) medida en peciolos en función del área de la sección transversal de dicho peciolo para hojas de *Euterpe edulis* bajo distintos niveles de radiación (10, 30, 40 y 65 % de la radiación solar incidente) y de disponibilidad de agua en el sustrato (círculos: riego normal, rombos: suministro de agua reducido). La curva ajustada es:  $y = 4,96 \times 10^{-6} - 0,39 x + 1,27 \times 10^{-4} x^2$ ,  $p < 0,001$ . Cada punto significa una hoja de un individuo,  $n = 51$ .



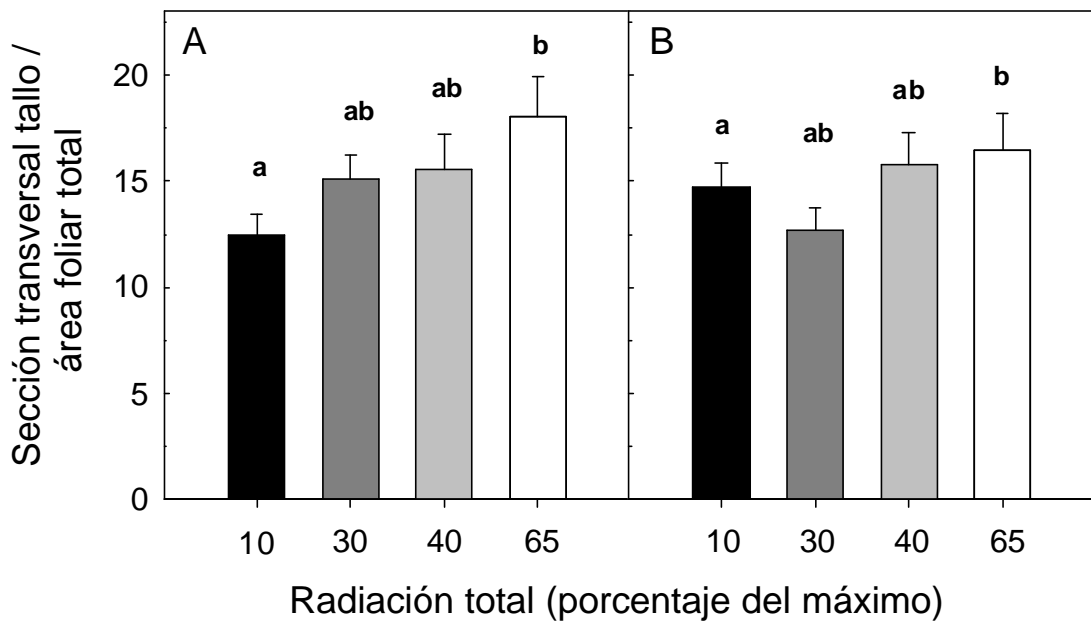


Figura 36: Cociente entre el área de la sección transversal del tallo y el área foliar total (Valor de Huber, media + error estándar, n = 26-31) para individuos de *Euterpe edulis* desarrollados durante 26 meses bajo distintos niveles de radiación (porcentaje de la radiación total incidente) y de disponibilidad de agua en el sustrato (A: riego normal, B: suministro de agua reducido). Letras distintas indican diferencias significativas dentro de cada panel,  $p < 0,05$ .

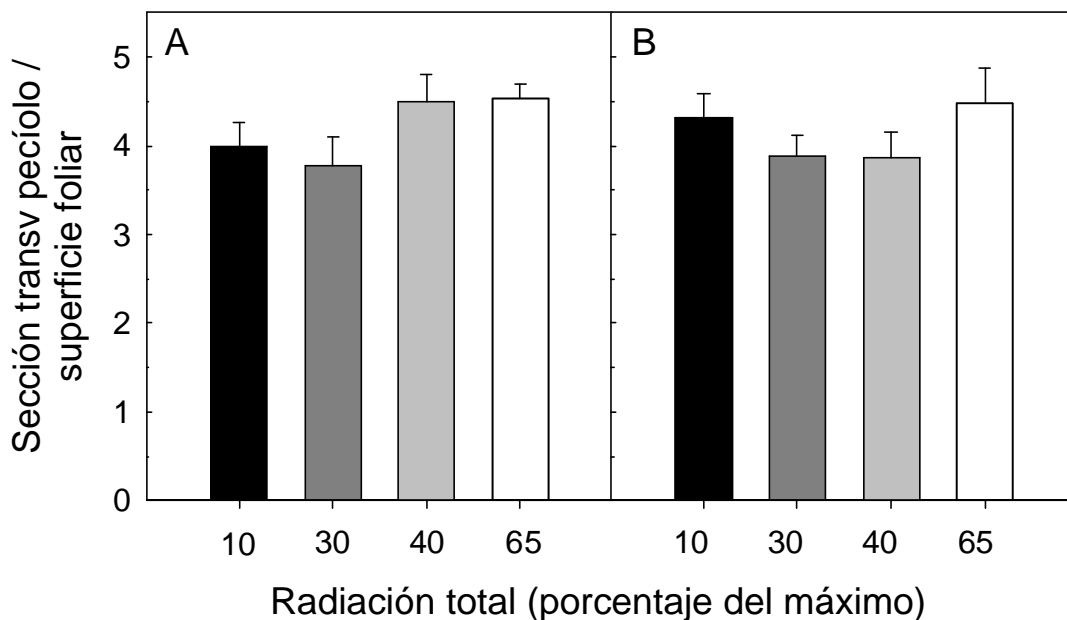


Figura 37: Cociente entre el área de la sección transversal de los pecíolos y la superficie foliar que alimentaba dicho pecíolo (Valor de Huber, media + error estándar, n = 6-8) para hojas de *Euterpe edulis* desarrolladas bajo distintos niveles de radiación (porcentaje de la radiación total incidente) y de disponibilidad de agua en el sustrato (A: riego normal, B: suministro de agua reducido).

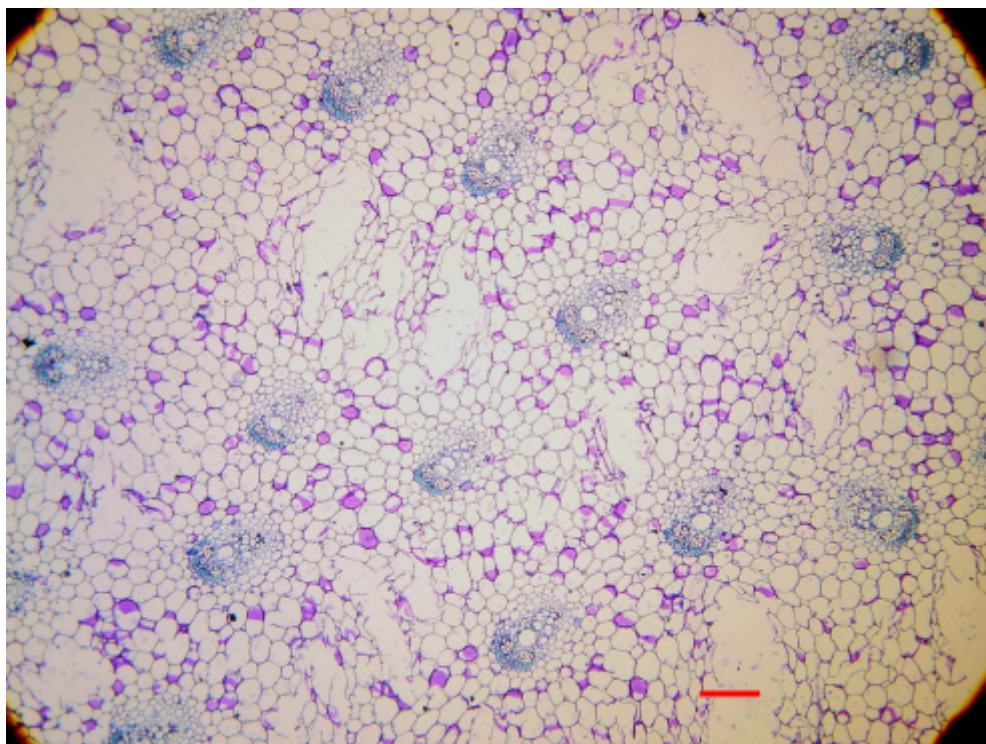


Figura 38: Corte anatómico de pecíolo de *E. edulis* desarrollado bajo el tratamiento de 65% de radiación. La barra en el extremo inferior derecho corresponde a 0,2 mm.

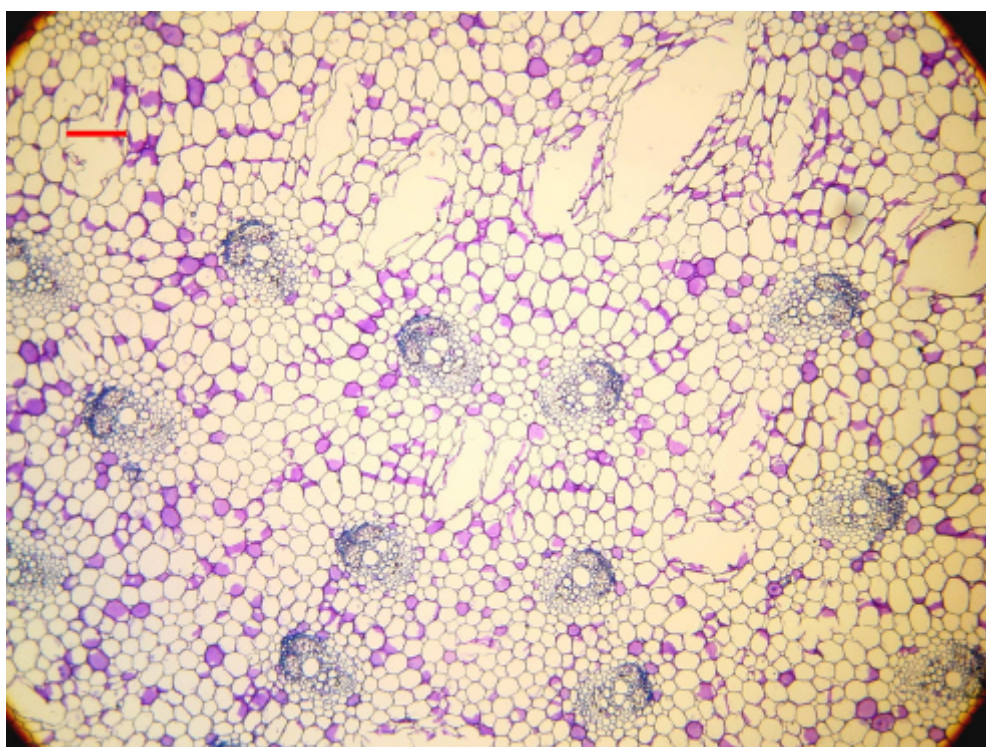


Figura 39: Corte anatómico de pecíolo de *Euterpe edulis* desarrollado en el tratamiento de 40% de radiación. La barra en el extremo superior izquierdo corresponde a 0,2 mm.

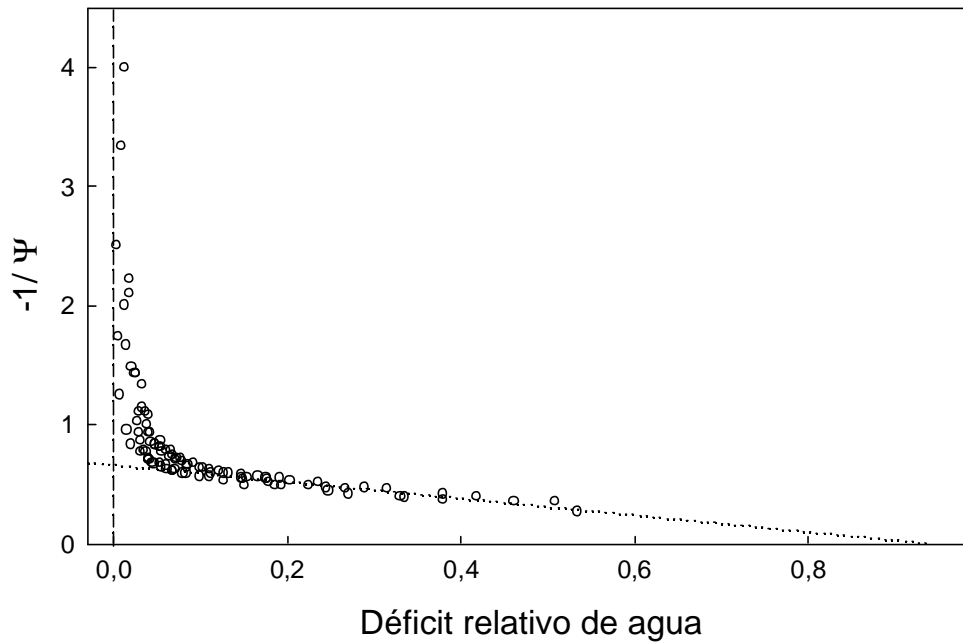


Figura 40: Curva de presión-volumen, es decir, inversa del potencial hídrico en función del déficit relativo de agua (cantidad de agua perdida (g)/ contenido total de agua en el folíolo (g)) para 6 folíolos de 4 individuos diferentes de *Euterpe edulis*. La línea punteada es una función lineal ajustada,  $Y = 0,66 - 0,70 X$ ;  $r^2 = 0,89$ . La intersección de esta función con el eje Y indica el valor de  $1/\Psi_s$  a saturación ( $\Psi_s$  = potencial osmótico), en este caso  $1/\Psi_s = 0,66$ ; y la intersección con el eje X es igual a la cantidad relativa de agua en el simplasto:  $A_s = 0,94$ .

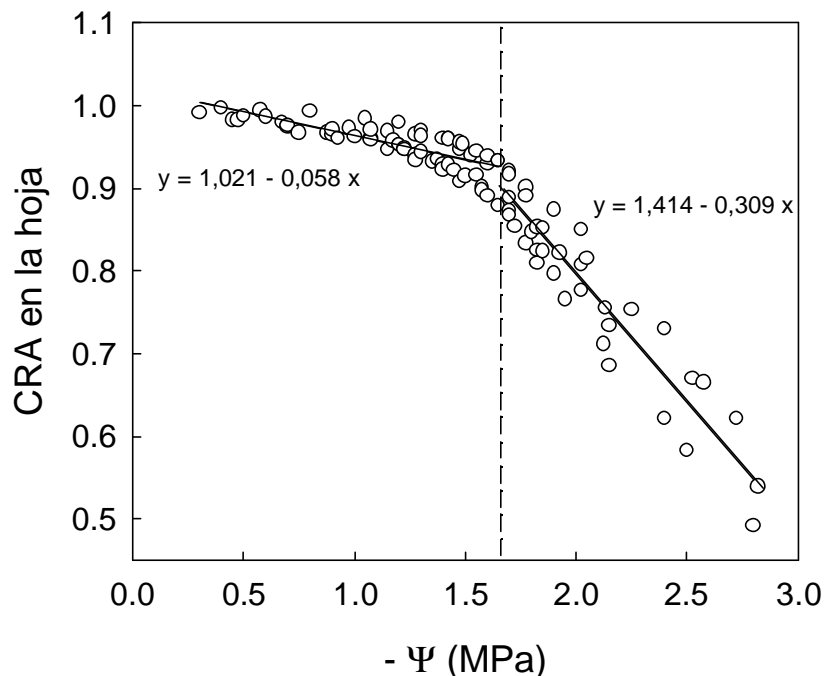


Figura 41: Función lineal de dos fases ajustada a los datos de las curvas presión-volumen para estimar la capacitancia a partir de la pendiente de la relación entre CRA: contenido relativo de agua en la hoja y  $\Psi$ : potencial hídrico, por encima y por debajo del punto de pérdida de presión de turgencia ( $\tau$ ), indicado en el gráfico por la línea de puntos ( $\tau = -1,65$  MPa).

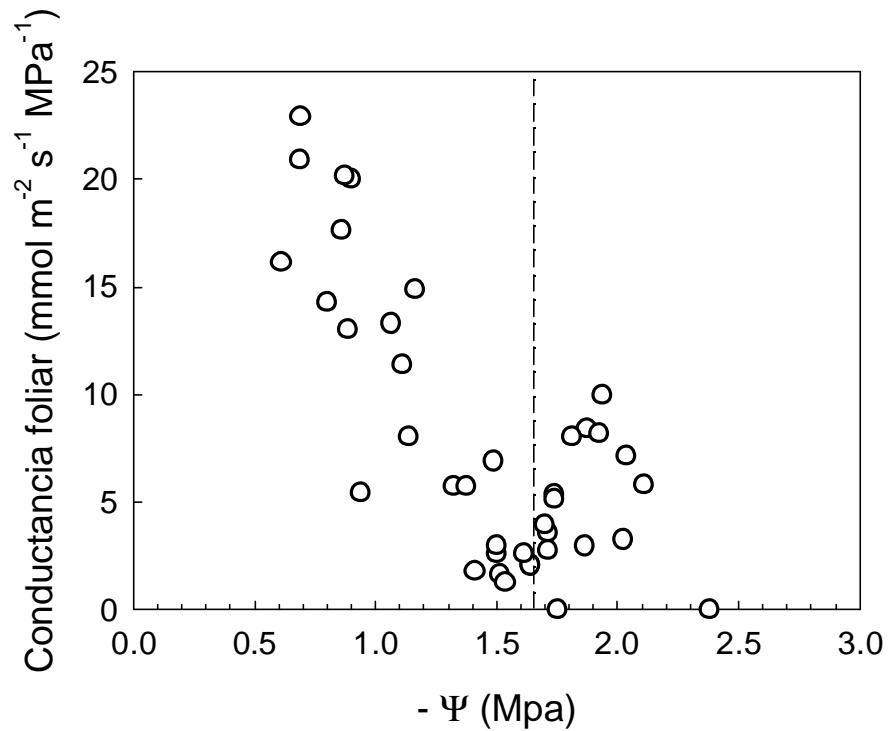


Figura 42: Respuesta de la conductancia hidráulica foliar al potencial hídrico ( $\Psi$ ) ó curva de vulnerabilidad de folíolos de *Euterpe edulis*. Cada punto es el promedio de 2-3 folíolos y corresponden a 6 individuos diferentes. Línea punteada: indica el potencial hídrico al cual se produce el punto de pérdida de turgencia (-1,65 MPa).

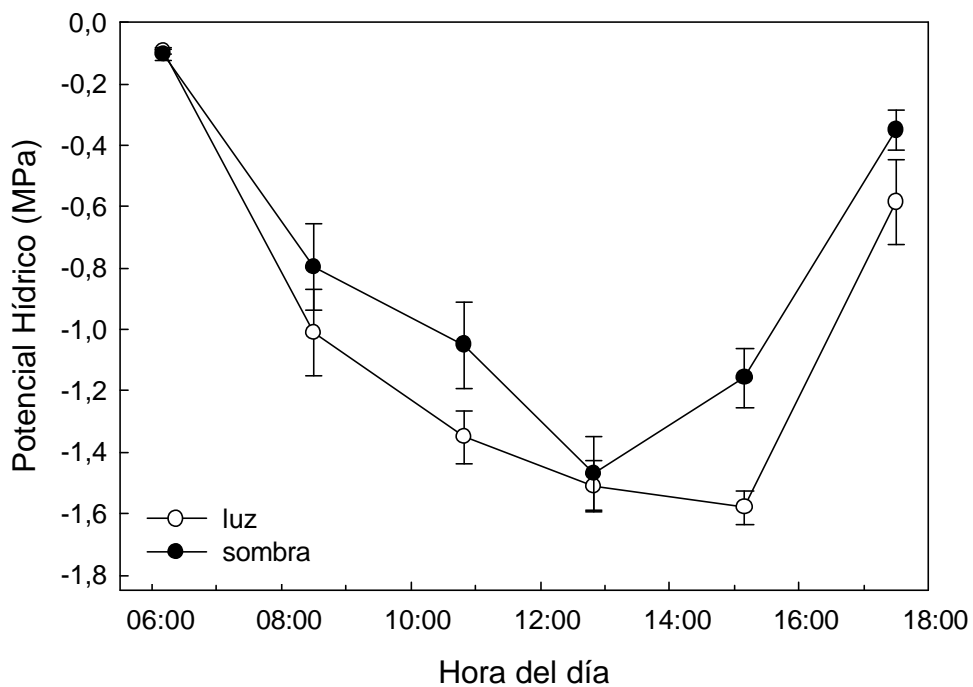


Figura 43: Potencial hídrico a lo largo del día (media  $\pm$  error estándar,  $n = 5-7$ ) para folíolos de individuos de *Euterpe edulis* en el campo bajo dos situaciones de radiación: luz, mayor incidencia de radiación solar directa, sombra: menor incidencia de radiación solar directa. El curso diario se realizó el 13/11/05 en un día completamente despejado, y luego de 10 días sin precipitaciones.

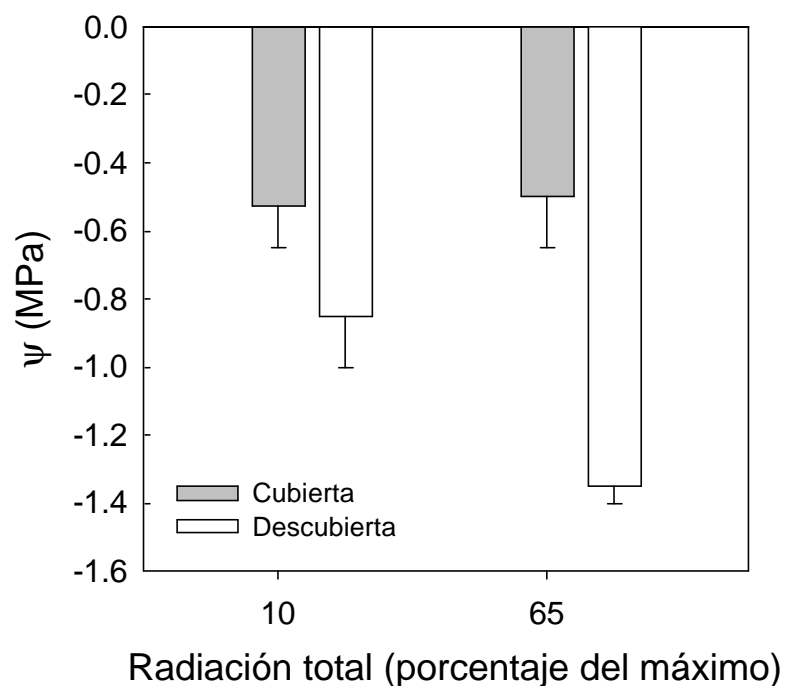


Figura 44: Potencial hídrico ( $\Psi$ , mediana + percentil 75%,  $n = 3$ ) al mediodía en vivero para folíolos cubiertos y descubiertos de *Euterpe edulis* bajo dos niveles de radiación (porcentaje de la radiación solar incidente).

## DISCUSIÓN

El tratamiento de mayor nivel de radiación tendió a producir pecíolos con menor conductividad hidráulica por unidad de superficie foliar o por unidad de sección transversal de pecíolo en *Euterpe edulis*. Aunque las diferencias de  $K_s$  y  $K_L$  no fueron significativas entre tratamientos, si fueron consistentemente menores en los tratamientos de 65% de radiación. Además, los niveles de radiación alteraron significativamente la relación entre el área de la sección transversal del tallo y la superficie fotosintética a nivel de individuo, así como los potenciales hídricos de las hojas los cuales fueron más negativos en los tratamientos de 65% de radiación en el vivero y a niveles altos de radiación en el campo. Todo esto sugiere que en *E. edulis* podrían existir limitaciones en el suministro de agua en condiciones de alta radiación solar, las que causarían fuertes descensos del potencial hídrico frente a altas tasas transpiratorias y, consecuentemente, déficits hídricos.

La conductividad hidráulica foliar específica (KI) es un buen estimador de la eficiencia de transporte de agua desde el tallo principal hacia la lámina foliar (Tyree & Ewers 1991; Cruiziat *et al.* 2002). La conductividad hidráulica foliar específica tiende a ser menor en las hojas desarrolladas en el tratamiento de 65% de luz. Si se considera que, con el aumento en los niveles de radiación, el suministro de agua por unidad de superficie foliar tiende a ser menor y la demanda de agua aumenta, se esperaría que los niveles de déficit hídricos que podrían alcanzarse al mediodía y durante períodos de sequía serían más altos en individuos que crecen con alta disponibilidad de luz debido a que tienen un KI proporcionalmente menor. Efectivamente, en el vivero se observó que en los individuos del tratamiento de 65% los potenciales hídricos al mediodía fueron significativamente menores que en aquellos del tratamiento de 10%. Además, es interesante señalar que en el vivero el potencial hídrico de las hojas cubiertas, fue similar entre tratamientos. El potencial hídrico de hojas cubiertas puede utilizarse como un indicador del potencial hídrico del suelo explorado por las raíces (Bucci *et al.* 2005), sin embargo es necesario considerar que pueden existir desacoples entre ambos (Donovan *et al.* 2003). Si bien la cantidad de agua disponible para las plantas fue similar entre ambas condiciones de luz, en el tratamiento de 65% los potenciales hídricos de las hojas fueron menores, lo que indica que podría existir alguna limitante en el suministro de agua hacia las hojas, un exceso de pérdida de agua por transpiración o una combinación de ambas. En el campo, por ejemplo, los potenciales hídricos no se recuperaron hasta la última parte de la tarde, lo que sugiere que no habría cierres estomáticos parciales durante los períodos del día con mayor demanda evaporativa. Aparentemente la regulación estomática de las pérdidas de agua por transpiración no es muy eficiente en *E. edulis*. Esto es consistente con el patrón encontrado para otras especies de sotobosque donde se ha visto que el control estomático sería mucho más débil en especies de plantas del sotobosque que en aquellas especies de plantas del dosel o que requieren niveles altos de luz para su desarrollo (Leffler & Enquist 2002).

Para que una hoja pueda desempeñar su rol como órgano fotosintético es necesario que su demanda de agua esté balanceada con la oferta del sistema vascular. Las tasas de pérdida de agua de las hojas aumentan con el aumento de la superficie de las mismas. Entonces, si esto no es acompañado por una disminución substancial de la conductancia estomática, la eficiencia en el transporte de agua podría ser un importante determinante del tamaño de las hojas (Nardini *et al.* 2001). Adicionalmente, el tamaño de las hojas está limitado por la necesidad de distribuir el agua en toda la superficie de la lámina foliar de manera de permitir la apertura periódica de los estomas para la captación de CO<sub>2</sub> (Zwieniecki *et al.* 2002). Como se mostró en el capítulo 2, cuando se comparó el tamaño de las hojas de un mismo nivel de desarrollo ontogenético entre los distintos tratamientos, se vió que los individuos del tratamiento de 65% redujeron notablemente la superficie foliar de sus hojas. Es posible que esta reducción en el tamaño se deba a un ajuste hidráulico de las plantas tendiente a garantizar un suministro adecuado de agua compensando los bajos valores de conductividad hidráulica foliar específica.

La cantidad de agua que fluye por el pecíolo es mayor cuando aumenta el tamaño de los mismos (superficie de la sección transversal), lo que podría deberse a que hay más vasos o estos son más grandes cuando la sección transversal es mayor. El tamaño de los pecíolos cambió en respuesta a los distintos niveles de radiación (como se mostró en el capítulo 2), tendió a aumentar con el nivel de radiación entre 10 y 40%, para luego disminuir en el tratamiento de 65%. El tamaño del pecíolo aumentó con el aumento de la superficie foliar que alimenta, lo que podría interpretarse como un ajuste de la arquitectura hidráulica de *Euterpe edulis* a los diferentes niveles de radiación. Sin embargo, el coeficiente de determinación fue mayor cuando se relacionó el área de la sección transversal del pecíolo con el peso seco de la lámina que sostenía ( $r^2 = 0,77$  para área del pecíolo vs. área de la lámina foliar y  $r^2 = 0,84$  para área del pecíolo vs. peso seco de la lámina, Figura 33 y Figura 34). Esto podría sugerir que el tamaño del pecíolo no solo podría variar por razones

hidráulicas sino más bien por una cuestión biomecánica o de sostén. Hojas más pesadas podrían necesitar un pecíolo más grande para mantenerlas en una posición adecuada dentro de la planta y evitar la ruptura del pecíolo debido al movimiento de las hojas.

La conductividad hidráulica foliar específica (KI) aumentó entre los tratamientos de 10 y 40% de luz y sólo disminuyó a niveles de radiación altos (65%), lo que sugiere que habría ajustes homeostáticos en la arquitectura hidráulica como respuesta a las diferentes condiciones luminosas entre los tratamientos de 10 y 40% de luz. Sin embargo esta homeostasis desaparece a niveles de radiación más altos, que es cuando la planta podría experimentar un déficit hídrico substancial. El cambio en el valor de Huber, el cual aumenta con el aumento de los niveles de radiación, indica que a mayor demanda de agua habría ajustes a nivel de individuo aumentando el área de tallo por unidad de área foliar. Sin embargo, en esta variable no está considerada la anatomía del xilema, la cual puede tener un efecto mucho más preponderante en el flujo de agua en la planta que el área del tallo en sí misma (Cruziat *et al.* 2002). El área de la sección transversal del tallo puede aumentar pero el flujo del agua aumentaría sólo si no se produce una reducción en el tamaño y número de los vasos. El valor de Huber es un indicador morfométrico de la eficiencia de transporte de agua que puede tener poca relevancia cuando la anatomía del xilema varía con los cambios en las condiciones de crecimiento. Un análisis preliminar de la anatomía vascular sugiere que el número de vasos grandes y medianos sería mayor en pecíolos de individuos desarrollados a 40% de luz comparado con aquellos individuos desarrollados a 65% de luz. De acuerdo a la relación empírica de Hagen-Poiseuille, el flujo de agua aumenta con la 4<sup>ta</sup> potencia del radio del conducto. Es decir que, un pequeño incremento en tamaño tiene un efecto muy grande en la cantidad de agua que circula por el conducto. Si esto se confirma con análisis posteriores de la anatomía vascular, la adundancia de vasos con menor diámetro explicaría la disminución de la conductividad hidráulica foliar específica en pecíolos de los individuos



que crecieron a 65% de luz. Quizás la señal que regularía el tamaño de los vasos sea el potencial hídrico foliar que fue significativamente más negativo en el tratamiento de 65%.

A altos niveles de radiación las plantas tienden a tener tasas fotosintéticas más altas (Niinemets *et al.* 1998; Kursar & Coley 1999; Durand & Goldstein 2001; Evans & Poorter 2001; Shipley *et al.* 2005), pero el beneficio de este aumento en la captación de carbono debe ser relativizado por el costo de la pérdida de agua por transpiración (Givnish 1988). Las palmeras de los tratamientos de mayor radiación (30, 40 y 65%) presentaron tasas de transporte de electrones más altas que los individuos del tratamiento de 10% de luz (ver capítulo 3). En el tratamiento de 65% los bajos valores de KI y de potencial hídrico observados, así como la mayor asignación de biomasa a las raíces y la reducción de la superficie de las hojas y del área foliar total del individuo (capítulo 2) sugieren que el costo de mantener altas tasas fotosintéticas sería mayor para estos individuos que para aquellos que se desarrollaron en los niveles de radiación más bajos (30 y 40%).

No se encontró una relación entre la capacidad fotosintética (estimada como tasa de transporte de electrones, TTE) y la eficiencia de transporte de agua (KI). Sin embargo los valores de TTE y KI encontrados para *E. edulis* se ajustan a la relación funcional interespecífica descrita por Campanello (2004), ubicándose en el extremo inferior de la misma, junto a especies arbóreas del dosel del bosque como *Balfourodendron riedelianum* y *Lonchocarpus leucanthus* las que han sido consideradas como especies de sucesión tardía y tolerantes a la sombra (Dimitri 1974). En su estudio, Campanello encuentra una buena relación entre estas características fisiológicas al considerar 5 especies en conjunto. Sin embargo, cuando analiza las especies por separado no encuentra una relación entre la TTE y KI ni para *B. riedelianum* ni para *L. leucanthus*, las cuales mostraron una mayor variación en su capacidad fotosintética como respuesta a los niveles de luz que en su eficiencia en el transporte de agua. Los resultados de este estudio sugieren que *Euterpe edulis* presentaría un patrón de respuesta similar. Esto podría sugerir que especies altamente tolerantes a la

sombra tendrían menos plásticidad en su sistema de transporte de agua que en su capacidad fotosintética.

La conductividad hídrica foliar en *E. edulis* disminuye mucho cuando se alcanzan potenciales hídricos de aproximadamente -1.65 MPa, que es el punto de pérdida de turgencia estimado mediante curvas de presión - volumen. Esto sugiere que, dentro de cierto rango de déficit hídricos esta planta podría regular adecuadamente su balance hídrico hasta potenciales hídricos del suelo de -1.65 MPa. Sin embargo, luego de sequías moderadas se observaron en el campo potenciales hídricos del suelo por debajo de -2.0 MPa (Campanello 2004), los cuales llegaron a alcanzar valores de -3 MPa durante una sequía intensa ocurrida a principios de 2005 (L. Montti, datos no publicados). Durante este período de sequía excepcional se observó una alta mortalidad de las hojas más viejas en plantas adultas (datos no registrados), típico de las palmeras que tienen alta resistencia al flujo de agua entre el tallo y la lámina foliar, lo que estimularía la cavitación en estos vasos antes que en el tallo, segmentando la planta desde un punto de vista hidráulico y protegiendo la integridad del sistema vascular del tallo principal (Tomlinson 1990). La restricción hidráulica en pecíolos de *E. edulis* podría ayudar a la poda natural de las hojas más viejas durante sequías excepcionales y evitar disfunciones catastróficas en el tallo principal de la planta. Durante el período de establecimiento de especies de palmeras en general, el tamaño del reservorio hídrico del estípote es relativamente pequeño. En estos individuos pequeños, sin la ayuda de la amortiguación que le brinda el agua de estos reservorios, los períodos de sequía con una duración e intensidad inusual podrían causar déficit hídricos grandes responsables de la muerte de las palmeras (Holbrook & Sinclair 1992b). En individuos pequeños de *E. edulis*, sin la ayuda de los reservorios del estípote, los valores de potencial hídrico podrían ser muy bajos y eventualmente causar la muerte de la planta. Esto podría explicar parcialmente la ausencia de individuos de *E. edulis* en claros grandes y condiciones de alta radiación.

## CONCLUSIONES

A altos niveles de radiación el desarrollo de *Euterpe edulis* se encontraría limitado por un suministro adecuado de agua a sus hojas. En el vivero, el potencial hídrico de hojas cubiertas fue similar entre los tratamientos de 10 y 65% de luz sugiriendo que independientemente del nivel de radiación, la disponibilidad de agua en ambos tratamientos fue similar, sin embargo las hojas descubiertas mostraron potenciales más bajos en el tratamiento de 65%. Esto indica que podría existir una resistencia importante al flujo del agua en los pecíolos, lo cual es coherente con la hipótesis de la segmentación hidráulica (Sperry *et al.* 2002). Por otra parte, en el campo se observó que los potenciales hídricos de las hojas, especialmente las que recibían mayor radiación solar directa, se mantuvieron bajos durante la mayor parte del día. En horas cercanas al mediodía los valores estuvieron próximos al punto de pérdida de turgencia, potencial hídrico en donde la pérdida de la conductancia hídrica foliar ( $K_{hoja}$ ) podría llegar a ser del 75%-80%, estimada a partir de la curva de vulnerabilidad de  $K_{hoja}$  en el laboratorio. Sin embargo, el potencial hídrico de las hojas comenzó a recuperarse hacia el final del día, cuando bajaron los niveles de radiación, lo que sugiere que esta especie poseería un control estomático bajo, pero una alta capacidad para recuperar la conductancia hídrica foliar. Bajo condiciones de alta radiación, *Euterpe edulis* podría compensar parcialmente esta baja eficiencia en el transporte de agua y el pobre control estomático reduciendo el tamaño de sus hojas y aumentando la asignación de biomasa a las raíces.

El tratamiento de suministro de agua reducido no produjo efectos en la conductividad hidráulica por unidad de superficie foliar ( $K_l$ ) ni por unidad de sección transversal de pecíolo ( $K_s$ ). Tampoco se observó un efecto del tratamiento de sequía en la relación entre el área de la sección transversal del tallo y la superficie fotosintética a nivel de individuo. Estos resultados, al igual de lo observado en el capítulo 2, sugieren que la reducción en el suministro de agua no habría sido suficiente para producir estrés hídrico en las palmeras.

Los resultados de este estudio sugieren que las plántulas de *Euterpe edulis* estarían mejor adaptadas desde el punto de vista hidráulico a los bajos niveles de radiación típicos del sotobosque, que a niveles más altos de radiación. Con el desarrollo ontogenético podrían ocurrir cambios en la arquitectura hidráulica que le permitirían a *Euterpe edulis* desarrollarse bajo niveles de radiación mucho mayor, ya que se ha visto que los individuos adultos pueden desarrollarse y reproducirse adecuadamente cuando su corona queda totalmente expuesta a la radiación solar directa (ver foto en Anexo 1). Es posible que en estos individuos adultos, donde el estípite está completamente desarrollado, el papel de los reservorios internos de agua sea muy importante, y ayude a mantener un balance hídrico adecuado bajo estas condiciones de altos niveles de radiación y altas demandas evaporativas.

## Capítulo 5. Resistencia a bajas temperaturas y distribución espacial de *Euterpe edulis*

### INTRODUCCIÓN

Las palmeras son un grupo comúnmente utilizado para poner a prueba distintas hipótesis en lo que se refiere a explicar la coexistencia de muchas especies y sus patrones de distribución, la especialización de nichos y la heterogeneidad del hábitat (Svenning 2001), el efecto de factores bióticos como la dispersión limitada y la herbivoría (Losos 1995), y de factores abióticos como las inundaciones (Pacheco 2001), las propiedades del suelo y la topografía (Vormisto *et al.* 2004). Las palmeras también han sido utilizadas para generar metodologías para producir mapas y modelos de distribución de plantas (Skov & Borchsenius 1997; Mortara 2000). Sin embargo pocos estudios han investigado cómo influyen distintos factores ambientales a escala local en los patrones de distribución espacial (Vormisto *et al.* 2004) y menos aún qué características hacen que una especie sea susceptible a determinados cambios en estos factores.

En los distintos ambientes, incluso en las regiones subtropicales, la temperatura varía tanto en forma temporal (noche - día, verano -invierno) como espacial, esto último dependiendo de distintos factores que operan a escalas muy diferentes como la altitud, la topografía y, por ejemplo para el caso de los bosques, la cobertura vegetal (Campanello, 2004). En gradientes topográficos de unos pocos kilómetros de extensión horizontal y de baja pendiente como los que se observan en planaltos disectados por cursos de agua, pueden producirse fenómenos de inversión térmica. Este fenómeno es llamado así porque, al contrario de lo que ocurre en la tropósfera, las temperaturas más bajas se producen en las partes inferiores de los gradientes donde el aire frío, que es más pesado que el aire cálido, se tiende a acumular.

La temperatura, y en particular, las temperaturas congelantes (temperaturas que están por debajo del punto de congelamiento en el equilibrio) representan uno de los principales factores limitantes del crecimiento y distribución de las plantas. Las bajas temperaturas pueden producir principalmente dos tipos de daños en las plantas: el daño por *congelamiento*, causado por temperaturas que caen por debajo de cero °C, y el daño por *enfriamiento*, el cual es diferente del anterior ya que es causado por temperaturas frías pero no congelantes (Lambers *et al.* 1998). Este daño por enfriamiento es común en muchas especies de plantas tropicales y subtropicales de tierras bajas las cuales son característicamente afectadas por temperaturas por debajo de los 10 °C pero por encima de los 0 °C (Xin & Browse 2000). Distintas partes de una misma planta pueden diferir en su sensibilidad al daño por enfriamiento, la cual también puede variar con la edad del individuo. Las causas fisiológicas del daño por enfriamiento varían entre especies y órganos de una misma planta, pero en general incluyen cambios en la actividad y fluidez de las membranas celulares, y cambios en la actividad de enzimas sensibles a las bajas temperaturas (Lambers *et al.* 1998).

A temperaturas por debajo del punto de congelamiento, la nucleación de hielo produce daños en los tejidos. La formación de hielo intracelular es casi siempre letal, pero este fenómeno es poco frecuente, ya que requiere descensos muy rápidos de la temperatura y esto pocas veces acontece en la naturaleza. Generalmente, la formación de hielo ocurre en el espacio extracelular debido a que el fluido intercelular tiene un punto de congelamiento más alto que el del citoplasma. Una vez congelada el agua extracelular, el potencial hídrico cae abruptamente fuera de la célula, debido a que el agua en estado sólido tiene un potencial hídrico mucho menor que el agua en estado líquido (Pearce 2001).

Consecuentemente, el agua de los compartimentos citosólicos se mueve a través de las membranas hacia los núcleos de hielo, produciendo en última instancia deshidratación celular. La cantidad neta de agua que sale de la célula depende de la concentración de

solutos en el citoplasma y de la temperatura a la cual está sometida la planta (Xin & Browse 2000). La velocidad de descongelamiento, si es elevada, también contribuye al daño, pues la célula no logra reparar a tiempo las fisuras producidas en los sistemas de membranas y organelas por el congelamiento (Pearce 2001).

Frente a cualquier tipo de estrés las plantas pueden tener respuestas que incluyen la evasión (atributos o procesos que reducen el daño o la exposición al agente de estrés) o la tolerancia (características que reducen el impacto negativo del daño) (Agrawal *et al.* 2004). Esto mismo ocurre con el estrés producido por las bajas temperaturas; las plantas pueden presentar dos tipos de mecanismos que les permiten resistir el frío: la evasión o la tolerancia a las temperaturas congelantes. La evasión consiste en evitar la formación de hielo en los tejidos, lo que puede obtenerse mediante el aislamiento térmico los tejidos sensibles, a través del superenfriamiento, o por la disminución del punto de congelamiento en el equilibrio. El superenfriamiento es la disminución del punto de nucleación de hielo por debajo del punto de congelamiento en el equilibrio. Se conoce que en las plantas esto puede lograrse mediante una reducción de los agentes nucleadores internos, barreras contra los nucleadores externos, presencia de antinucleadores, un contenido de humedad relativamente bajo, células de tamaño pequeño y espacios intercelulares suficientemente reducidos como para evitar la formación de cristales de hielo (Rada *et al.* 1987; Goldstein *et al.* 1985). En cambio, la tolerancia es la capacidad de resistir las alteraciones que ocasione la formación de hielo en los tejidos. Una condición necesaria de la tolerancia es la aclimatación al frío, que requiere cambios morfológicos, anatómicos, fisiológicos y bioquímicos en las plantas. Por ejemplo puede haber un reemplazo de enzimas que se inactivan con el frío por formas de las mismas enzimas que mantienen su actividad a bajas temperaturas (Savithc *et al.* 2002), o un aumento de la concentración de proteínas como las dehidrinas, las cuales intervienen en la estabilización de membranas y otras proteínas (Allagulova *et al.* 2003).

Se ha sugerido que la selección natural favorecería una alta tolerancia y baja evasión, o una alta evasión y baja tolerancia, pero no niveles altos de ambos mecanismos (Agrawal *et al.* 2004). Las plantas del género *Espeletia* de los Andes tropicales evitan la formación de hielo en sus hojas por superenfriamiento y pueden superenfriar hasta temperaturas de  $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ , sin embargo, si ocurre nucleación de hielo en sus tejidos el daño que produce es irreversible (Rada *et al.* 1985). También se ha sugerido que las características del ambiente en el cual se desarrollan las plantas sería un determinante muy importante del mecanismo de resistencia seleccionado (Goldstein *et al.* 1985). Nuevamente tomando como ejemplo el género *Espeletia* que se desarrolla en ambientes donde las temperaturas muestran variaciones mayores durante el día que a lo largo del año, el mecanismo de resistencia por superenfriamiento les permite mantener su desarrollo y crecimiento durante todo el año, en cambio si el mecanismo para evitar el daño por las bajas temperaturas fuera tolerar la formación de hielo en sus tejidos, sufrirían ciclos diarios de congelamiento y descongelamiento, lo cual podría reducir notablemente su actividad fisiológica y tasas de crecimiento (Rada *et al.* 1985).

A menudo el frío puede producir daños reversibles y no visibles. Estos daños pueden manifestarse como pérdida de la eficiencia fotosintética, y podrían ser necesarios días o semanas para que la planta recupere totalmente su capacidad fotosintética normal. Esta recuperación está influenciada por las condiciones ambientales, por ejemplo la actividad fotosintética posterior a un evento de temperaturas cercanas a  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  usualmente se recupera más rápidamente a bajas irradiancias si los días subsiguientes están nublados, que a altas irradiancias como las que ocurren en días despejados (Lamontagne *et al.* 2000). Las plantas sujetas a bajas temperaturas y ambientes de alta radiación frecuentemente muestran efectos grandes de fotoinhibición (Maxwell & Johnson 2000). La disminución de la temperatura aumenta la fotoinhibición y la fotooxidación debido a que las reacciones biofísicas (captura de fotones y transferencia de la energía de excitación) son afectadas en



menor medida por las bajas temperaturas que los procesos bioquímicos, como el transporte de electrones y la actividad del Ciclo de Calvin. La clorofila continúa absorbiendo luz a bajas temperaturas, pero los electrones son transferidos a sus aceptores a una velocidad insuficiente. Entonces, a bajas temperaturas la cantidad de luz requerida para saturar la fotosíntesis es menor debido a la reducción de los procesos bioquímicos y a la acumulación de metabolitos fotosintéticos (Lamontagne *et al.* 2000). La fluorescencia de la clorofila ha sido usada como un indicador del daño inducido por bajas temperaturas (Fracheboud *et al.* 1999) ya que tiene la ventaja de detectar daños antes de que se manifiesten visualmente, siendo menos subjetiva que la observación visual (Major *et al.* 2003).

La distinción entre daño por enfriamiento (temperaturas no congelantes) y daño por congelamiento (temperaturas por debajo del punto de congelación) permite, a su vez, distinguir entre plantas de tipo tropical, que son sensibles al enfriamiento, y aquellas de clima templado o tropical de altura. El patrón de distribución de las palmeras en el continente americano, la mayoría de las cuales se distribuye entre los trópicos (23° 27´N y 23°27´S) (Henderson *et al.* 1995), ha sido considerado como una evidencia de la susceptibilidad de este grupo de plantas a las bajas temperaturas (Bjorholm *et al.* 2005). En el norte de la provincia de Misiones, *Euterpe edulis* se desarrolla sólo en algunas áreas, las cuales en general están ubicadas en los sectores más altos de gradientes topográficos poco pronunciados. En las partes altas suele ser muy abundante y, a medida que se baja en el gradiente, los individuos de esta especie se van haciendo menos frecuentes hasta llegar a desaparecer. Esta distribución agregada en áreas particulares sugiere que las temperaturas congelantes influyen en aspectos de su crecimiento y supervivencia.

El **objetivo general** de este capítulo fue el de determinar el efecto de temperaturas congelantes en la fisiología, supervivencia y distribución de *E. edulis*. Para ello se estudiarán los mecanismos potenciales de evasión y/o tolerancia de esta especie bajo condiciones experimentales. En el campo se esperaba encontrar una menor abundancia de *E. edulis* en

los sitios con mayor frecuencia de temperaturas por debajo de cero. Entonces, en áreas donde se observaran variaciones en la abundancia de *E. edulis* a lo largo de gradientes topográficos también se encontrarían cambios en la intensidad y frecuencia de temperaturas mínimas. Estas hipótesis fueron puestas a prueba combinando estudios en condiciones controladas en laboratorio y estudios de campo. También se estudiaron otros factores que podrían influenciar los patrones de distribución en el campo como potencial hídrico del suelo, niveles de radiación solar y características estructurales del bosque.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Se realizaron estudios de campo y bajo condiciones controladas en laboratorio. El experimento de campo consistió en la medición de variables ambientales y estructurales de la vegetación en un gradiente topográfico y en la estimación de la capacidad fotosintética de individuos de *E. eduliss* a lo largo de dicho gradiente. En laboratorio se realizaron experimentos bajo condiciones controladas con una cámara de análisis térmico diferencial para estimar la temperatura de nucleación de hielo en los tejidos de los *E. eduliss*.

### **Descripción y localización del experimento de campo**

Se trabajó en un área dentro del Parque Nacional Iguazú, en la provincia de Misiones (25°31´ - 25°43´ S y 54°08´ - 54°32´ W). Como modelo experimental se seleccionó un gradiente altitudinal típico en la parte más oriental del parque nacional donde se observa una variación en la abundancia de *E. edulis* a lo largo de un gradiente topográfico. Se eligió este sitio para trabajar debido a su accesibilidad, a la gran abundancia de *E. eduliss* del área y a que, al encontrarse dentro de un área protegida, estaba garantizada su perdurabilidad en el tiempo y la ausencia de intervención humana. Este gradiente tiene un largo de 4,5 Km. desde su parte superior a su parte más baja y abarca elevaciones desde los 340 hasta los 230 m snm, con una pendiente promedio de 2,4% (Figura 45). Se seleccionaron 3 sitios a lo largo del gradiente: el sitio "alto" (340 m snm) en la parte más alta del gradiente, el sitio

“bajo” (230 m snm) cerca del sitio más bajo del gradiente, y el sitio “medio” (270 msnm). Este último sitio se estableció donde se observó el límite altitudinal de la población de *E. edulis* en el gradiente. Este tipo de distribución, concentrada en las partes altas de gradientes topográficos poco pronunciados, como las cabeceras de las cuencas de los arroyos que desembocan en el río Iguazú, es característica de *E. edulis* en la provincia de Misiones. En la Figura 46 se muestra una imagen satelital del sector noroeste de la provincia de Misiones donde están marcados algunos sitios visitados indicando la presencia o ausencia de *Euterpe edulis* en el bosque. En esta imagen puede observarse que las poblaciones de *E. edulis* se ubican preferentemente en la zona más alta del área, y que en áreas cercanas más bajas está ausente. Por una cuestión de simplificación del mapa, únicamente se indican los sitios con ausencia de *E. edulis* que están próximos a sitios con presencia de la especie.

A lo largo del gradiente seleccionado se colocaron sistemas automáticos de adquisición de datos (HOBO<sup>®</sup>, termocupla Tipo T, EEUU) con sensores de temperatura construidos en el laboratorio con cables de termocupla (cobre + constantán). En cada uno de los sitios del gradiente (alto, medio y bajo) se colocaron 4 sistemas automáticos separados como mínimo por 20 metros entre sí y bajo condiciones similares de cobertura boscosa. Se registró la temperatura ambiente a 5 cm del suelo cada 10 minutos durante los inviernos de los años 2002, 2003 y 2004. Los sistemas se colocaron cada año en el mes de junio y se retiraron entre septiembre y octubre.

En mayo de 2003 y en el mismo mes en el año 2004, individuos pequeños de *E. edulis* (con 3 a 5 hojas) con sus raíces intactas incluidas en una porción de sustrato se plantaron a lo largo del gradiente en los mismos sitios donde se colocaron los sistemas automáticos de adquisición de datos para registrar las variaciones diarias la temperatura. Se colocaron entre 5 y 8 plantines formando un círculo de 1 m de radio alrededor de cada uno de los HOBO<sup>®</sup>. Estos se plantaron antes del invierno de manera de que tuvieran tiempo para aclimatarse antes de la llegada de las bajas temperaturas. En el año 2003, luego de un descenso

marcado en las temperaturas se estimó el rendimiento cuántico máximo, y esto se repitió una semana después. En el año 2004, antes de colocar los plantines en el campo, se seleccionaron como control 30 individuos al azar, en los cuales se midió el rendimiento cuántico máximo en oscuridad. Una vez en el campo, al igual que en el invierno del 2003, se registró el rendimiento cuántico máximo luego de un descenso marcado en las temperaturas, pero en este caso se realizó en todos los individuos de las 3 áreas. Al finalizar el invierno 2004 se midió el diámetro del tallo, la altura a la inserción de la hoja más joven y el número de hojas verdes y totales, es decir verdes, senescentes y muertas.

En los 3 sitios a lo largo del gradiente también se midió la estructura del bosque (densidad de árboles, área basal y composición específica), la proporción de la radiación (sobre el total que alcanza la parte superior del dosel) que llegaba a los 0,8 m y 2 m sobre el nivel del suelo y la disponibilidad de agua en el suelo luego de una sequía moderada. La metodología utilizada se describe a continuación.

**Estructura del bosque:** en cada uno de los tres sitios se delimitaron 4 parcelas de 5 m de radio (79 m<sup>2</sup> aproximadamente) tomando como centro el lugar donde estaba colocado el sistema automático de registro de temperatura. En estas parcelas se consideraron todos los árboles con un tronco mayor o igual a 5 cm de diámetro a 1,3 m de altura (DAP), se midió su altura y DAP, y se los identificó al nivel de especie; se incluyeron en el estudio también todos los individuos de *E. edulis* que tuvieran un estípite formado a 1,3 m de altura, estimando su altura, DAP y estado reproductivo (maduro: con presencia de flores/frutos o cicatrices de las mismas; inmaduro: cuando no había evidencias de que hayan florecido o producido frutos). Dentro de estas parcelas se delimitaron subparcelas de 1,5 m de radio (7 m<sup>2</sup>) en las cuales se midieron todos los individuos de *E. edulis* ya establecidos (es decir sin la semilla) hasta la categoría de estípite formado a 1,3 m de altura. Posteriormente se calculó el área basal del bosque sumando la superficie del corte transversal del tronco / estípite, así como la densidad de árboles y palmeras para cada sitio.

**Disponibilidad de luz en el sotobosque:** en el invierno de 2003 en cada uno de los 3 sitios, y sobre el lugar donde estaban ubicados los sistemas automáticos de registro de temperatura, se tomaron fotografías hemisféricas del dosel del bosque a 0,8m de altura sobre el suelo con un lente hemisférico colocado en un monópode autonivelador (Delta-T Devices Ltd., Cambridge, Inglaterra) y conectado a una cámara digital Nikon Coolpix 950. Las fotografías se tomaron temprano por la mañana, cuando había penumbra pero aún no ha salido el sol. A partir de las fotografías digitales se calculó la proporción de luz directa, difusa y total (o global) que llega a los 0,8 m y 2 m del nivel del suelo, con respecto a la luz incidente por encima del dosel utilizando el software HemiView (Delta-T Devices Ltd., Cambridge, UK).

**Disponibilidad de agua en el suelo:** para conocer si la disponibilidad de agua era diferente a lo largo del gradiente se estimó el potencial hídrico del suelo luego de una sequía moderada (25/09/04) a dos profundidades (de 0 a 5 cm y de 5 a 10 cm) en las 3 áreas. Se tomaron muestras de suelo en los sitios donde estaban colocados los sensores de temperatura y entre ellos, siendo en total 14 muestras (7 sitios, 2 profundidades) en cada área. El potencial hídrico se estimó siguiendo el método propuesto por Deka (1995), el cual consiste en colocar un trozo de papel de filtro (Whatman n° 40) dentro de un frasco hermético entre dos muestras de suelo y dejarlo en reposo para que el papel se equilibre con la humedad del suelo. Posteriormente se calcula el contenido de agua del papel y a partir de esto, utilizando una función descrita en este trabajo, se estima el potencial hídrico.

### **Experimento de laboratorio**

Para conocer la temperatura a la cual se producía la nucleación de hielo en los tejidos foliares de plántulas de *E. edulis* bajo condiciones de laboratorio se realizaron análisis térmico diferenciales (ADT). El ADT consiste en disminuir paulatinamente la temperatura de una muestra y detectar el momento de la nucleación de hielo cuando se produce una

exoterma debido al calor liberado por el cambio de fase de agua a hielo (Rada *et al.* 2001; Pearce 2001). Para esto se construyó una cámara de enfriamiento colocando dos intercambiadores de calor pequeños dentro de un recipiente rectangular de poliestireno expandido de aproximadamente 17 litros. Los intercambiadores se colocaron en los extremos del recipiente, sin tocar la pared de este para permitir el movimiento del aire alrededor de ellos. Se colocó, además, un pequeño ventilador en la parte inferior del recipiente para mover el aire y homogeneizar la temperatura dentro de la cámara, teniendo especial cuidado de que fuera de baja potencia para no generar turbulencia que pudiera hacer vibrar las hojas de la planta. Se trabajó con plantines de *Euterpe edulis* en macetas, los mismos tenían aproximadamente la misma edad que los utilizados en el campo. Por un pequeño orificio en la parte inferior de la cámara se insertaron las plántulas de *E. edulis*, dejando toda la parte subterránea de la planta fuera de la misma, y tapando el orificio para evitar el intercambio de calor entre el interior de la cámara y el exterior de la misma. Por la parte superior de la cámara se colocaron 4 termopares de cobre - constantán adheridas a tejidos del *E. edulis*, dos de ellos se colocaron en folíolos y otros dos en los pecíolos. También se colocaron otros dos termopares para medir la temperatura del aire de la cámara. Todos los termopares se conectaron a un sistema automático de adquisición de datos (CR10X, Campbell Scientific, Inc.; Logan Utah, USA) el cual registró la temperatura de forma continua (se midió cada segundo y se guardó en la memoria del sistema de adquisición el promedio cada 5 segundos). Se aisló térmicamente la cámara fría sellando todos los orificios con poliestireno expandido. Los intercambiadores se conectaron al circuito externo de un Baño María refrigerado con una solución de etilenglicol al 50% (Circulador refrigerado ultrabajo F81, Julabo, Alemania). El refrigerante se enfrió en el Baño María paulatinamente desde temperatura ambiente (aproximadamente 20 °C) y se lo hizo circular por la cámara fría disminuyendo de esta manera la temperatura de la misma en forma paulatina hasta alcanzar la temperatura deseada y/o observar la exoterma producida por la nucleación de hielo. Una

vez que ya no se observaron cambios en la temperatura, se desconectó el equipo y se colocó la planta a temperatura ambiente, bien irrigada y a radiación baja para observar el estado de los tejidos en los días subsiguientes. Se trabajó con 10 individuos. Con los 6 primeros se disminuyó la temperatura continuamente hasta que se observó la formación de hielo, y para los 4 últimos se trabajó manteniendo la temperatura constante entre  $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$  y  $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ . En 3 de estos individuos se simuló el rocío que ocurre en condiciones naturales rociando la plántula con agua. La velocidad de descenso de la temperatura fue aproximadamente de  $33\text{ }^{\circ}\text{C/h}$ , y fue similar para todos los individuos.

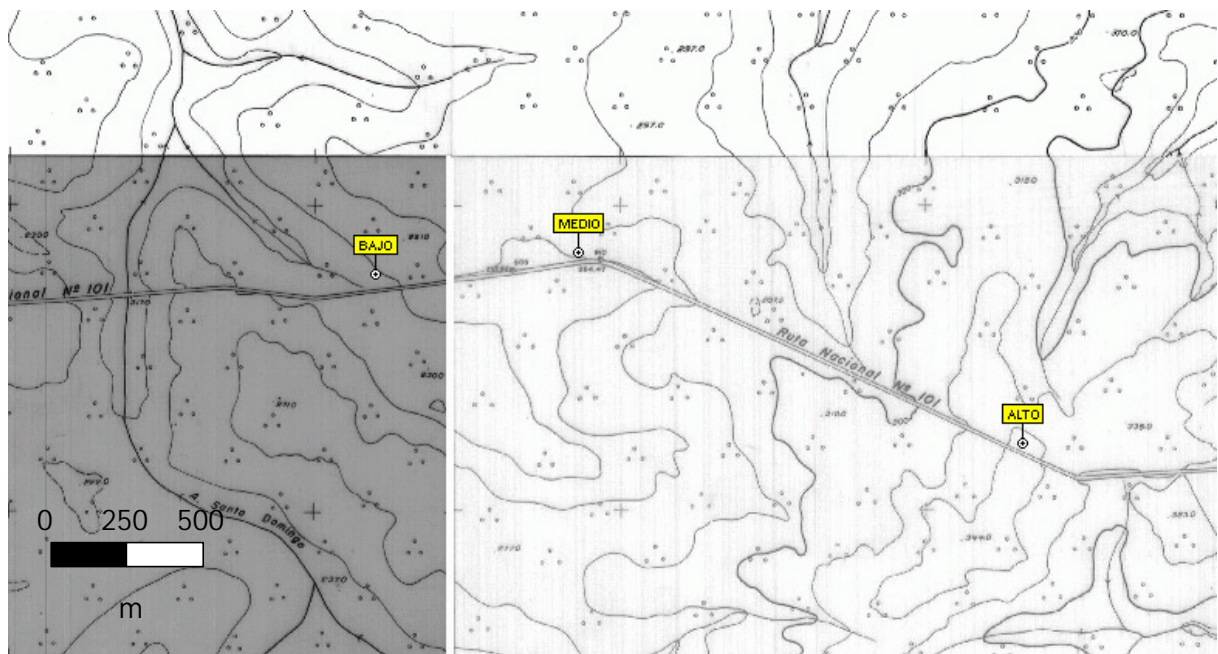


Figura 45: sección de carta topográfica ("CARTA", Instituto Geográfico Militar, 1964) donde están indicados los 3 sitios estudiados a lo largo del gradiente topográfico seleccionado.



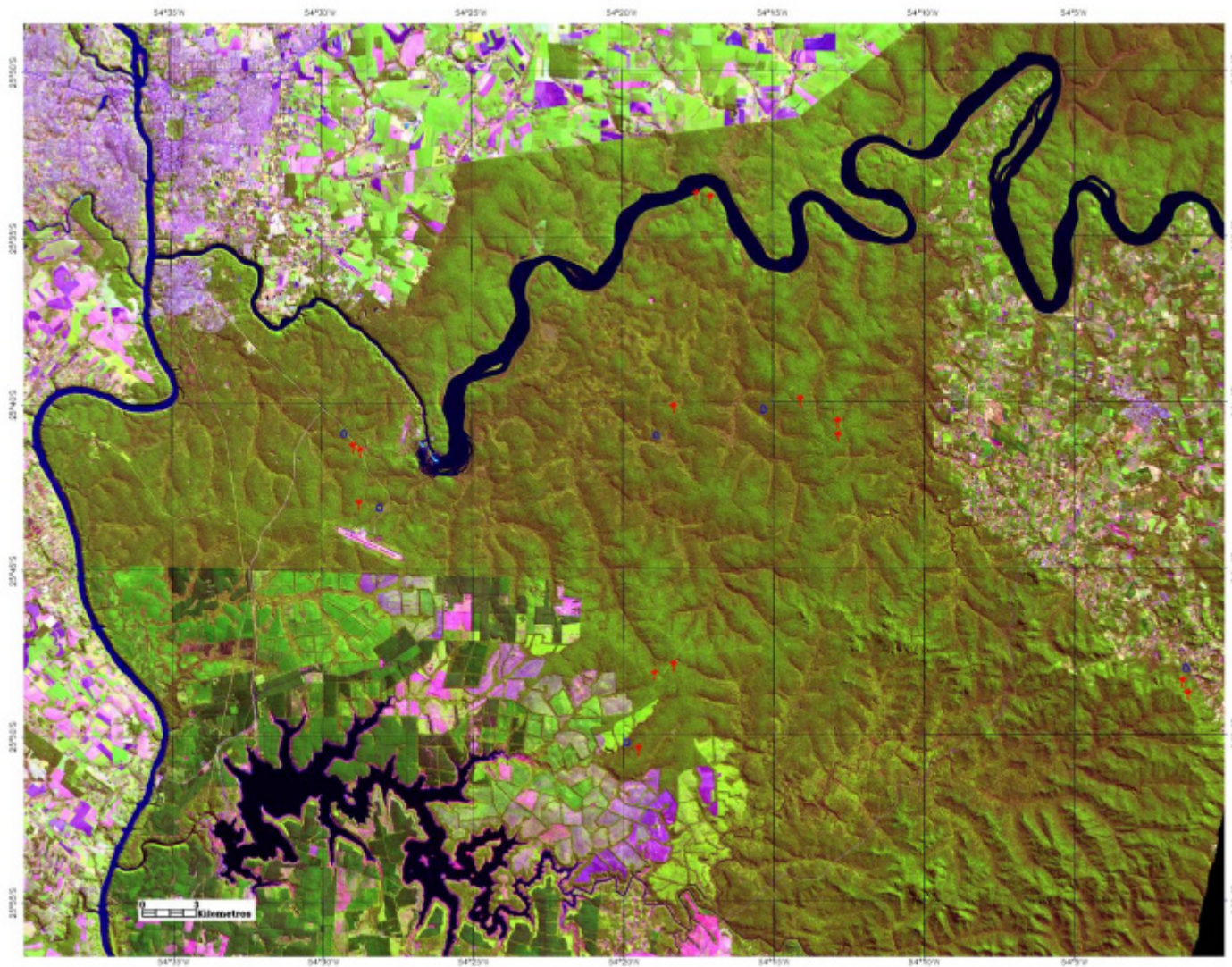


Figura 46: Imagen satelital en falso color del Norte de la provincia de Misiones (path: 224, row: 078) donde se indican algunos de los sitios donde se observó la presencia de *Euterpe edulis* (símbolos de palmera rojos) y sitios vecinos con ausencia de la especie (símbolos de árboles azules). Nótese que en general la presencia de la especie está asociada a los sectores más altos de los gradientes topográficos. Tonos rosados: sitios con baja cobertura vegetal; áreas homogéneas de borde recto color verde claro: plantaciones forestales, tonos azules y negros: ríos y lagos.



## RESULTADOS

La abundancia de *Euterpe edulis* varió a lo largo del gradiente topográfico, siendo mayor en el sitio alto, escasa en el sitio medio y muy escasa o nula en el sitio bajo, dependiendo de la categoría de tamaño de las plantas consideradas (Figura 47). Para el caso de individuos adultos reproductivos, se registraron 35 en el sitio alto, uno (1) en el sitio medio y ninguno (0) en el sitio bajo, teniendo en cuenta la misma superficie en todos los sitios (314 m<sup>2</sup>). Para el caso de individuos pequeños (ya establecidos pero sin estípites formado a 1,3 m de altura) se encontraron 49 en el sitio alto, 7 en el sitio medio, y uno (1) en el sitio más bajo, también para la misma superficie en todas las áreas (28 m<sup>2</sup>).

Las temperaturas mínimas fueron mas bajas en el sitio bajo durante el invierno 2002 (ANOVA en bloques,  $F_{76,224} = 2,82$ ;  $p < 0,01$ ), y mostraron la misma tendencia en los años 2003 y 2004 (Figura 48). Cuando se compararon los 6 días más fríos de cada invierno, las temperaturas mínimas fueron significativamente diferentes entre las 3 áreas en todos los años (ANOVA a dos factores: Área  $F_{2,45} = 87,64$ ,  $p < 0,001$ ; Año  $F_{2,45} = 2,70$ ,  $p = 0,078$ ; Área \* Año  $F_{4,45} = 1,18$ ,  $p = 0,33$ ), siendo los promedios inferiores a 2 °C en los sitios bajos, superiores a 5,5 °C en el sitio alto e intermedias en el sitio medio. En la Tabla 2 se muestran las mínimas absolutas registradas para cada sitio en el gradiente en cada año siendo la temperatura mas baja observada para el periodo de medición de -1,1 °C .

El área basal de árboles y palmeras mayores a 5 cm de diámetro a la altura del pecho (DAP) fue similar entre las 3 áreas (prueba de Kruskal Wallis  $H_{2, 12} = 0,35$ ,  $p = 0,84$ ) siendo la mediana general de 0,29 m<sup>2</sup> por parcela circular de 78,6 m<sup>2</sup>. La proporción de la radiación global (directa + difusa) que penetra hasta los 0,8 m sobre el nivel del suelo, sobre el total que alcanza el dosel del bosque, también fue similar entre los distintos sitios del gradiente (prueba de Kruskal Wallis  $H_{2, 12} = 0,65$ ,  $p = 0,72$ ) siendo de 0,037 la mediana general. Tampoco se encontraron diferencias en la radiación global que llegaba hasta los 2 m de

altura sobre el suelo (prueba de Kruskal Wallis  $H_{2,12} = 1,43$ ,  $p = 0,49$ ), la mediana general fue de 0,075. La disponibilidad de agua en el suelo, medida como potencial hídrico, no fue diferente entre los sitios a lo largo del gradiente (Figura 49), ni entre las dos profundidades medidas: 0 a 5 y 5 a 10 cm (ANOVA a dos factores: Área  $F_{2,34} = 0,94$ ,  $p = 0,4$ ; Profundidad  $F_{1,34} = 1,07$ ,  $p = 0,31$ ; A\*P  $F_{2,34} = 1,56$   $p = 0,23$ ).

El rendimiento cuántico máximo estimado luego de un descenso marcado en las temperaturas fue diferente entre los sitios a lo largo del gradiente topográfico. En el año 2003 se observaron tendencias marcadas de disminución del rendimiento cuántico máximo en el sitio más frío (bajo), así como la posterior recuperación del rendimiento cuantico luego de una semana de temperaturas cálidas (Figura 50). En el año 2004, el rendimiento cuántico máximo medido en la mañana del 2/08/04 fue significativamente menor en el sitio bajo con respecto a los sitios alto y medio (Figura 51) (ANOVA anidado a un factor, Área  $F_{2,57} = 5,22$ ,  $p = 0,008$ ). Cuando se comparan con el control (que corresponde al rendimiento cuántico máximo registrado en una muestra del total de *E. edulis* antes de colocarlos en el gradiente), el rendimiento cuántico máximo del sitio bajo fue el único que difirió significativamente del control y del sitio alto, mientras que el sitio medio no difirió significativamente de ninguno de los tratamientos (ANOVA a un factor: Área  $F_{3,110} = 6,58$ ,  $p < 0,001$ , comparación a posteriori de Tukey). En la Tabla 4 se muestran las temperaturas mínimas registradas en cada uno de los sitios para el día de medición (02/08/04), así como la temperatura promedio y acumulada de los dos días anteriores, 31/07 y 01/08. En el año 2004 la supervivencia de los individuos fue total en los 3 sitios, registrándose solamente un individuo muerto en el sitio alto que fue aplastado por una rama y un individuo muerto en el sitio medio el cual fue atacado por algún herbívoro, ya que estaba arrancado de raíz y mordido.

## Experimento de laboratorio

Los estudios de laboratorio mostraron que en todos los casos la formación de hielo en los tejidos produjo el daño permanente de los mismos, y en los casos más severos, la muerte del individuo. La formación de hielo se detectó a partir de los  $-4,6$  °C, sin embargo esta varió de acuerdo a las condiciones de disminución de la temperatura y a la humedad del aire: al descender la temperatura continuamente a una tasa de  $33$  °C/h se observó formación de hielo en los folíolos entre los  $-9$  y  $-10$  °C en promedio (ver Tabla 4 y Figura 52). La temperatura de nucleación de hielo difirió entre las partes de las hojas siendo los folíolos quienes tuvieron menor capacidad para superenfriar comparados con los pecíolos (ANOVA anidado, hojas en individuos y pecíolo-folíolo en hojas,  $F_{2, 10} = 10,75$ ,  $p = 0,003$ ). Las hojas más jóvenes tendieron a superenfriar menos que las hojas más viejas, pero no se observaron diferencias significativas (Test T pareado:  $T = 1,57$ ,  $0,18$ ). Cuando la temperatura disminuyó de manera continua hasta alcanzar los  $-2$  °C y luego se mantuvo constante por un período de aproximadamente 2 horas, no se observó formación de hielo en los tejidos (Figura 53) como tampoco daño permanente posterior en el individuo experimental. Al disminuir continuamente la temperatura hasta alcanzar los  $-5$  °C, sólo se observó nucleación de hielo luego de elevar la humedad del aire en la cámara fría hasta llegar a niveles de saturación para estimular la formación de rocío en la superficie de los tejidos (Figura 54). Los tejidos donde ocurrió la formación de hielo no se recuperaron posteriormente, pero los individuos sobrevivieron.

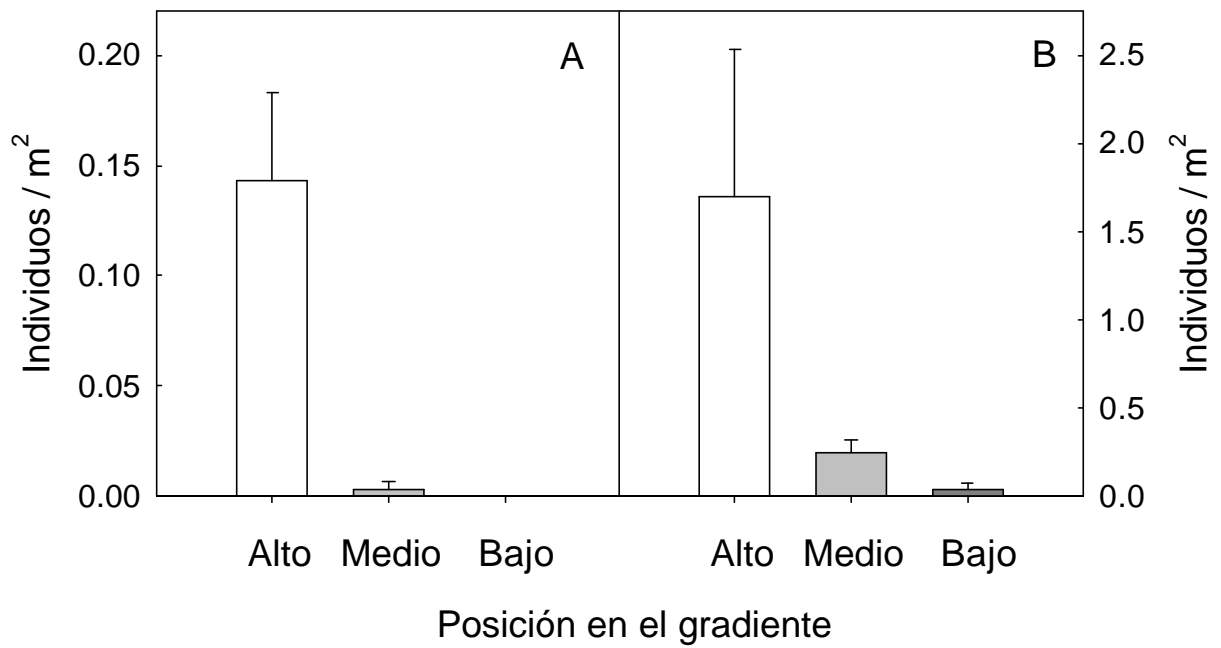


Figura 47: Densidad de *E. edulis* por m<sup>2</sup> (media  $\pm$  error estándar, n =4) con estípite formado a 1,3 m de altura (A) y ya establecidos pero sin estípite a 1,3 m de altura (B), para las tres áreas a lo largo del gradiente topográfico (Alto, Medio, Bajo). El valor correspondiente en el gráfico A para el sitio Bajo es cero. Nótese que las escalas difieren entre ambos gráficos.

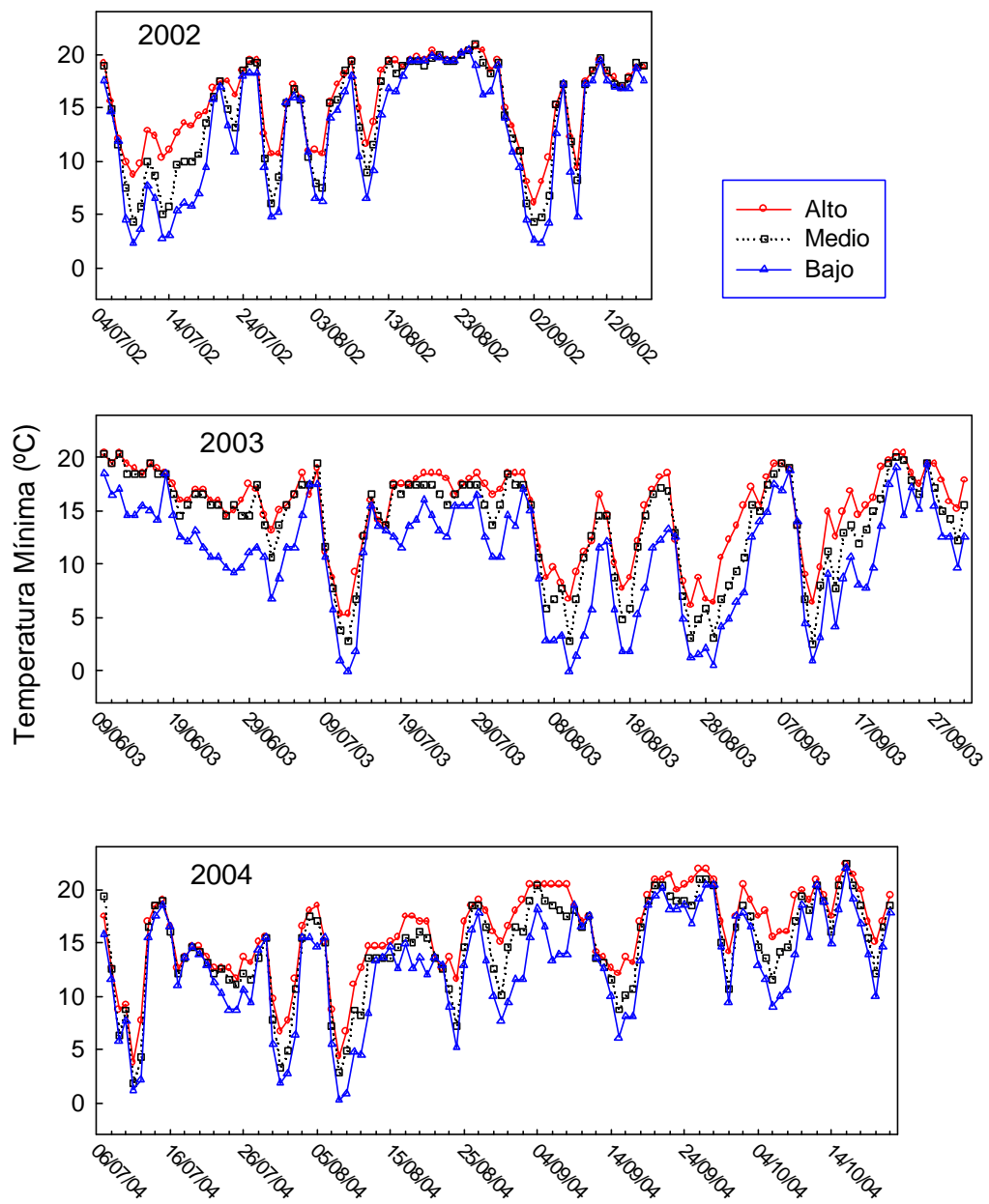


Figura 48: temperatura mínima promedio (n =3-4) registrada durante 3 inviernos (2002, 2003 Y 2004) en 3 sitios a lo largo de un gradiente topográfico (Alto: 340 msnm, Medio: 270 msnm y Bajo: 230 msnm).

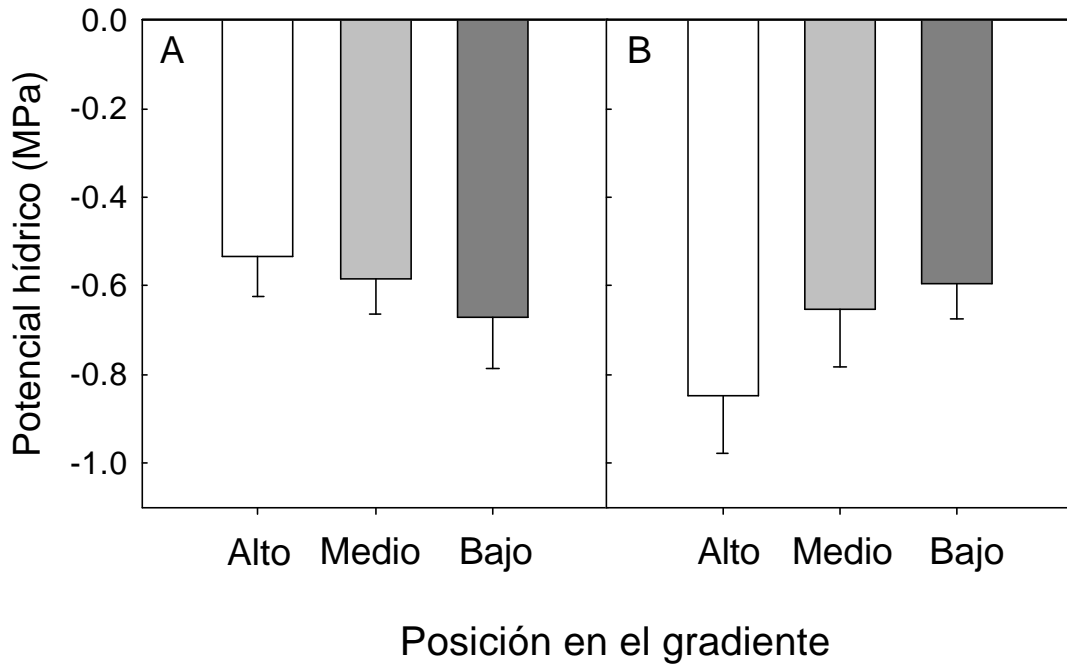


Figura 49: Potencial hídrico del suelo (media + error estándar, n =5-6) luego de una sequía moderada (27/09/04) en tres áreas a lo largo del gradiente topográfico y para dos profundidades, A: 0-5 cm y B: 5-10 cm.

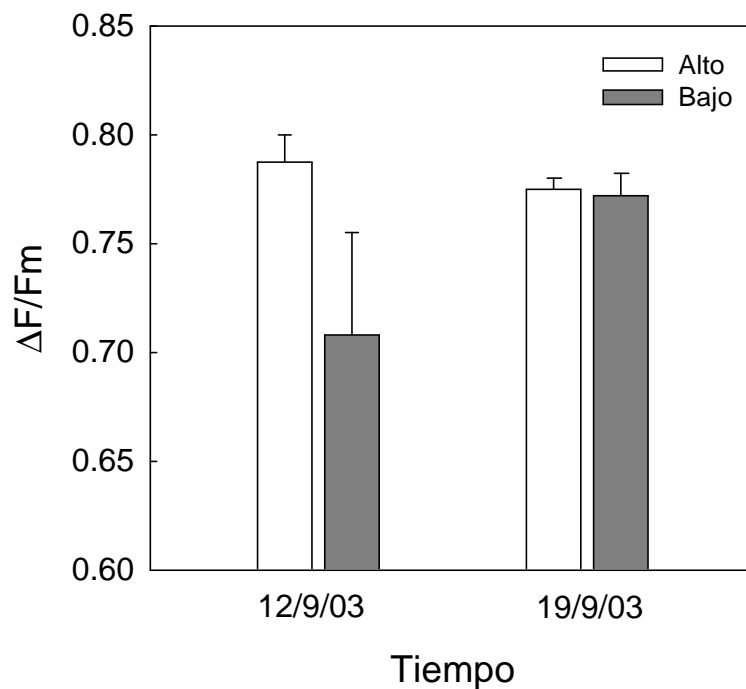


Figura 50: Rendimiento cuántico máximo (mediana + percentil 75%, n =3) de individuos de *Euterpe edulis* en los sitios Alto y Bajo de un gradiente topográfico a la mañana siguiente de un descenso marcado en las temperaturas (12/9) y 7 días después (19/9).

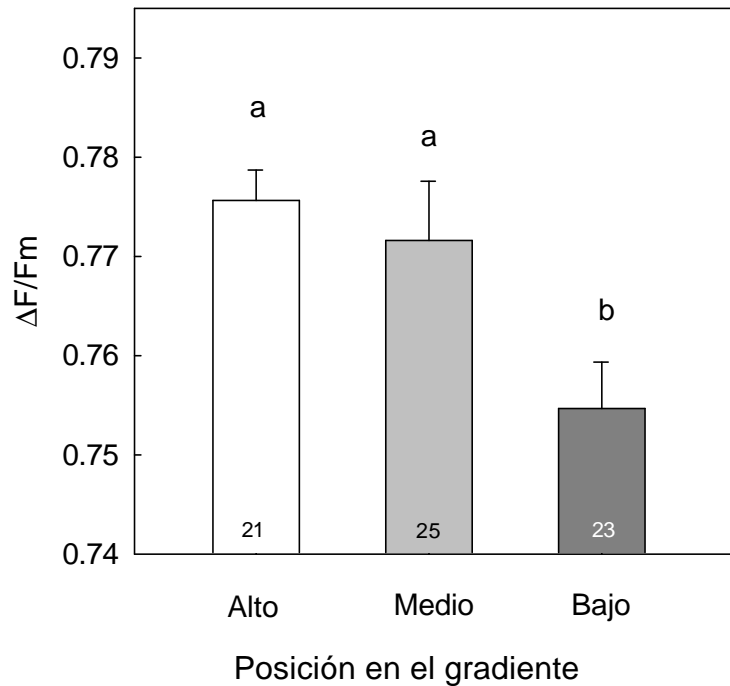


Figura 51: Rendimiento cuántico máximo (media + error estándar) observado en plántulas de *E. edulis* en tres áreas a lo largo de un gradiente topográfico luego de una noche con descenso marcado en la temperatura (2/08/04, ver

Tabla 3) donde se registrará 1,8 °C en el sitio bajo, 2,8 °C en el sitio medio y 6,7 °C en el sitio alto. Los números al pie de las barras corresponden al N de cada sitio. Letras distintas indican diferencias significativas  $p < 0,05$ , comparación a posteriori de Tukey.

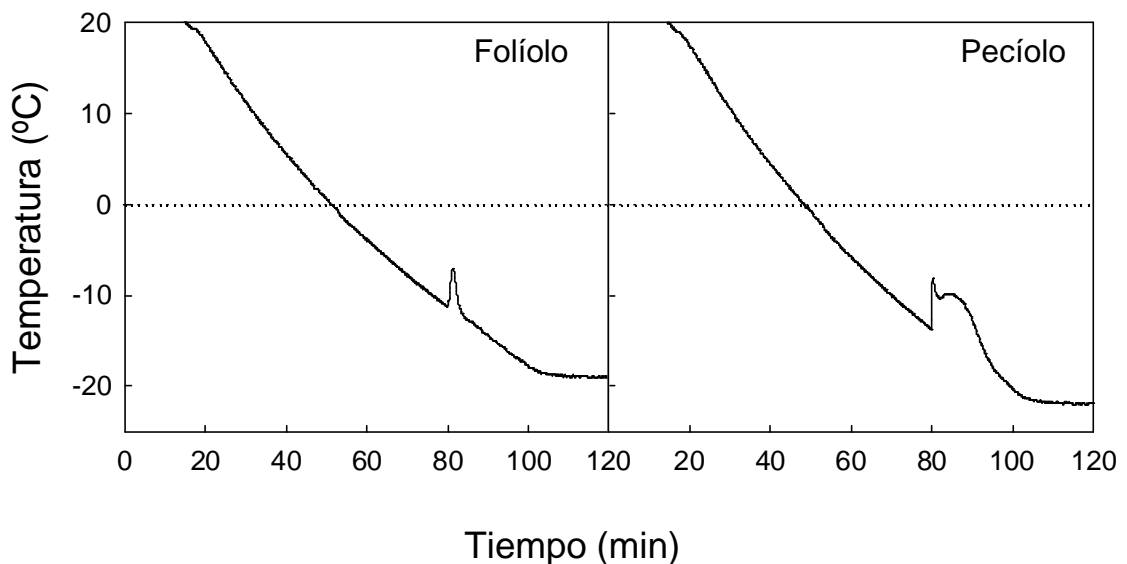


Figura 52: Análisis térmico diferencial de un folíolo y de un pecíolo de una plántula de *Euterpe edulis* en el cual se observa la exoterma producida por el nucleamiento de hielo en el interior de estos tejidos. Se disminuyó en forma continua la temperatura del aire dentro de la cámara hasta que se observó un proceso exotérmico. La meseta final de la curva corresponde al límite de enfriamiento de la cámara experimental.

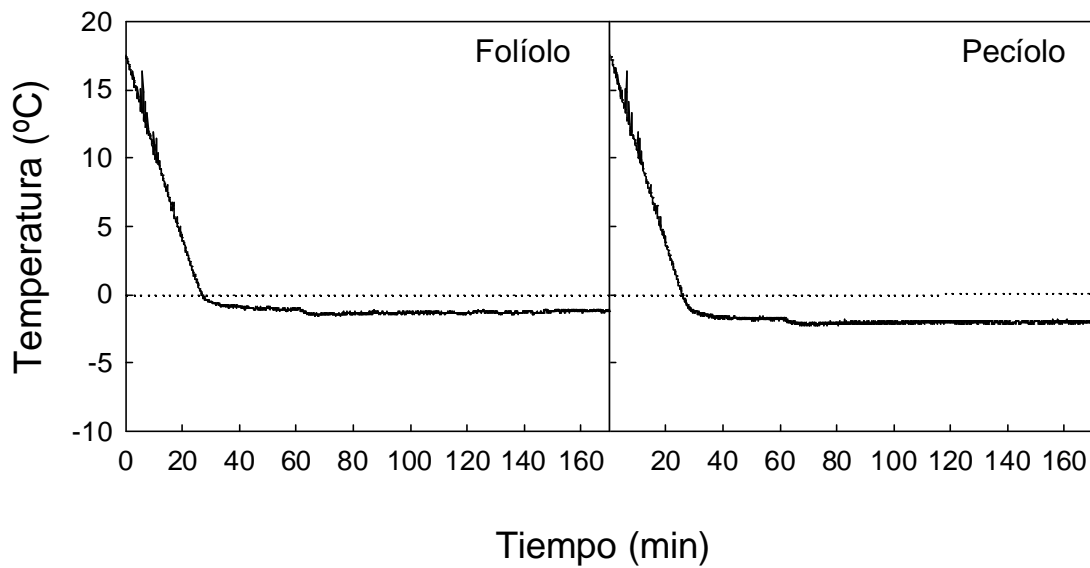


Figura 53: temperatura de un pecíolo y un folíolo de plántula de *Euterpe edulis* en una cámara para análisis térmico diferencial donde se disminuyó la temperatura ambiente hasta alcanzar aproximadamente  $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$  en los tejidos y luego se mantuvo constante por 120 minutos. La tasa de disminución de la temperatura fue de aproximadamente  $33\text{ }^{\circ}\text{C/h}$

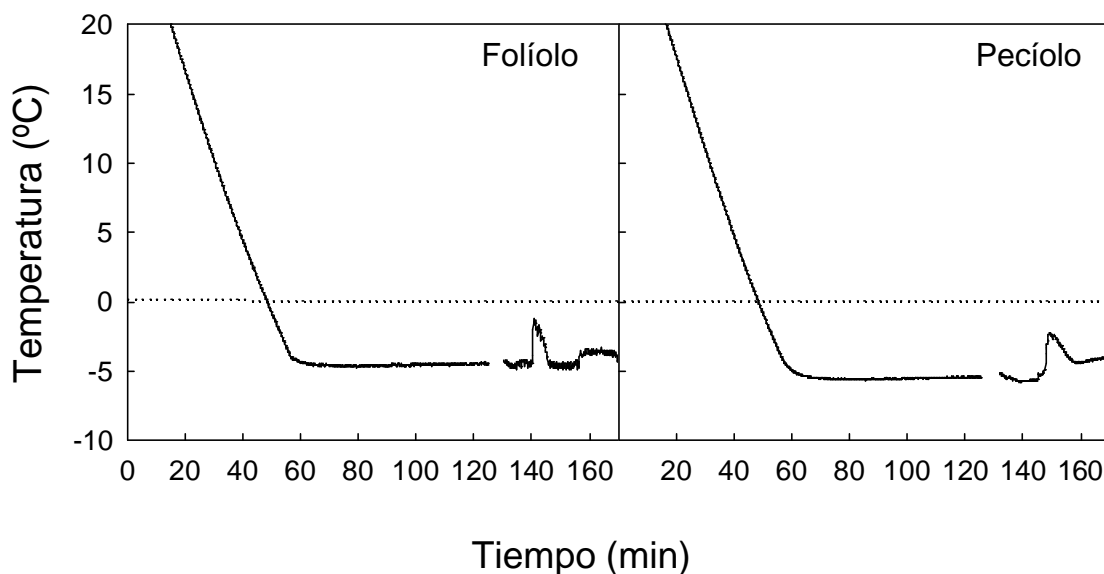


Figura 54: Análisis térmico diferencial de un folíolo y de un pecíolo de una plántula de *Euterpe edulis* en el cual se observa la exoterma producida por el nucleamiento de hielo en el interior de estos tejidos. Se disminuyó la temperatura de la plántula hasta alcanzar aproximadamente  $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$  y luego se mantuvo esta temperatura constante en la cámara fría experimental. La sección donde se interrumpe la línea corresponde al intervalo durante el cual se abrió la cámara para aumentar la humedad en el interior de la misma, lo cual se realizó con un spray fino de agua. La tasa de disminución de la temperatura fue de aproximadamente  $33\text{ }^{\circ}\text{C/h}$



Tabla 2: temperaturas mínimas absolutas (°C) registradas en cada uno de los sitios para los inviernos 2002-2004.

AÑO	AREA		
	ALTO	MEDIO	BAJO
2002	4,8	1,8	-1,1
2003	4,8	1,8	-0,1
2004	3,8	1,8	-0,1

Tabla 3: Temperaturas mínimas, promedio por día, y acumulada por día para los 3 sitios a lo largo del gradiente (alto, medio y bajo) correspondientes a los dos días anteriores a la medición de rendimiento cuántico máximo mostradas en la Figura 51. Para el caso de los registros mínimos del día 02/08/04, éstos corresponden solamente al rango horario entre las 0:00 y 7:00 hs, para el resto de los días corresponden a las 24 hs. S/d: sin datos por mal funcionamiento del sensor.

		TEMPERATURA (°C)						
ÁREA	SENSOR	TEMPERATURA MÍNIMA			PROMEDIO		ACUMULADA	
		31/07/04	01/08/04	02/08/04	31/07/04	01/08/04	31/07/04	01/08/04
Alta	1	6,7	7,7	11,6	11,0	12,7	1589	1826
	2	6,7	7,7	11,6	11,3	12,9	1626	1862
	3	7,7	7,7	11,6	11,5	12,7	1650	1831
Media	1	3,8	4,8	10,6	9,5	11,0	1363	1586
	2	2,8	4,8	10,6	9,3	11,1	1343,2	1594,7
	3	S/d	S/d	S/d	S/d	S/d	S/d	S/d
Baja	1	1,8	2,8	5,8	7,7	9,3	1108,1	1334,7
	2	1,8	2,8	6,7	8,0	9,7	1150,4	1400
	3	1,8	2,8	6,7	8,3	10,0	1203	1434

Tabla 4: Temperatura de nucleación de hielo detectada en tejidos foliares de *E. edulis* para 6 individuos sometidos a una disminución rápida y constante de la temperatura ambiente ( $30\text{ }^{\circ}\text{C h}^{-1}$ ). La hoja 1 es más joven que la hoja 2. Se indican las medias y los errores estándar (ES)

INDIVIDUO	HOJA 1		HOJA 2	
	FOLIOLO	PECIOLO	FOLÍOLO	PECÍOLO
1	-5,91	-10,86	-5,38	-6,79
2	-10,09	-14,64	-11,34	-13,83
3	-10,2	-11,35	-14,24	-15,15
4	-8,02	-9,44	-13,32	-13,52
5	-8,86	-12,53	-9,04	-13,15
6	-11	-12,11	-10,38	-10,28
MEDIA	-9,01	-11,82	-10,62	-12,12
ES	0,76	0,72	1,30	1,25

## DISCUSIÓN

La temperatura parece ser un importante factor que influye en la distribución espacial de *Euterpe edulis* en sitios de relieve moderado, como el que caracteriza al norte de la provincia de Misiones (Ligier, 1999). En el área de estudio, la abundancia de *E. edulis* varió a lo largo del gradiente topográfico estudiado registrándose las densidades más altas en las zonas altas e intermedias del gradiente y estando ausentes en las zonas más deprimidas o bajas. En estos últimos sitios en invierno ocurren fenómenos de inversión térmica y por lo tanto, se alcanzan las temperaturas más bajas de la región. Por ejemplo, en días fríos de la época invernal puede haber diferencias de 6 a 7 °C entre las partes altas y bajas de los gradientes, y si bien en las partes deprimidas se observaron durante el periodo de estudio temperaturas congelantes (-1,1 °C), en las partes altas la temperatura mínima nunca cayó por debajo de los 3,8 °C, manteniéndose en general por encima de los 6 °C. No se observó una diferencia en la supervivencia entre los 3 sitios, pero sí fue evidente que *Euterpe edulis* es una especie que no sufre daños permanentes hasta que hay congelamiento en alguno de sus tejidos, sin embargo puede ser afectada en su actividad fotosintética y fisiológica a temperaturas cercanas a 0 °C sin llegar a ser congelantes. Las plantas en el campo, al estar expuestas a

temperaturas por debajo de los 5 °C, mostraron una disminución transitoria de su capacidad fotosintética, la cual se pudo recuperar luego de un período de temperaturas posteriores más altas. Sin embargo, si las temperaturas mínimas fueran menores y se mantuvieran por un tiempo más prolongado es posible que los daños en el aparato fotosintético sean permanentes si se produce nucleación de hielo en alguna parte de la planta. La provincia de Misiones está ubicada en el extremo sur de la distribución de *Euterpe edulis* (Henderson *et al.* 1995). Dentro de la provincia, a medida que aumenta la latitud, la especie es menos abundante y se concentra en parches más pequeños. Por ejemplo, en la Reserva de la Biósfera Yabotí, ubicada al sureste de la provincia, únicamente se conoce una sola población de *Euterpe edulis* de entre 3 y 4 ha (H. Keller, com. pers.). Las frecuencias de heladas aumentan a medida que aumenta la latitud, y es posible de que esta sea la causa de la desaparición paulatina de la especie a mayores latitudes.

En todos los casos en que se observó nucleamiento de hielo en los tejidos de *E. edulis* se produjo un daño permanente que causó la muerte del órgano estudiado o incluso del individuo. Esto indica que *Euterpe edulis* no tolera la formación de hielo en sus tejidos, el cual le causa daños irreversibles. En los primeros 6 individuos utilizados en el laboratorio el nucleamiento de hielo se produjo a temperaturas muy por debajo de cero (-10 °C, por ej.), las cuales es muy poco probable que sucedan en el área de estudio, ya que la mínima histórica para la localidad de Iguazú (localidad con datos más próxima al área de estudio) es de -6 °C (Servicio Meteorológico Nacional). De acuerdo a Pearce (2001) hay dos tipos de nucleaciones de hielo, la nucleación espontánea (también llamada homogénea) y la nucleación catalizada por otras sustancias (heterogénea). Estas sustancias (bacterias y otras estructuras y moléculas biológicas, así como restos orgánicos e inorgánicos) suelen estar en la superficie de la planta, pero para funcionar como nucleadores deben de estar en contacto con el agua. Por lo tanto, si la superficie de la planta está seca, como ocurrió en los 6 primeros individuos de los experimentos presentados, los nucleadores son inefectivos, y la

nucleación que ocurriría en caso de congelamiento sería la nucleación intrínseca u homogénea, la cual difícilmente ocurra en la naturaleza, ya que siempre es precedida por la nucleación heterogénea. Cuando la humedad se condensa en la superficie de la planta (por ejemplo como ocurre naturalmente por el rocío que se deposita en la superficie de las plantas durante la noche y/o madrugada, o lo que se realizó artificialmente al aumentar la humedad en la cámara de análisis térmico diferencial), esta humedad proporciona a los nucleadores la oportunidad de actuar e iniciar el congelamiento. Basta una pequeña gota en una hoja, la cual se congela primero y se convierte en el núcleo inicial a partir del cual el hielo crece hacia el interior de la planta. Por esta razón al aumentar la humedad en la cámara, se detectó nucleación a temperaturas de alrededor de  $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Los análisis térmicos diferenciales sugieren que el *E. edulis* tiene una capacidad moderada para evitar el congelamiento por superenfriamiento, ya que plantas expuestas a  $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$  no mostraron formación de hielo y sus tejidos no evidenciaron daños visuales inmediatamente después del experimento ni con el correr del tiempo. Esto se ha visto también en hojas de otras palmeras tropicales y de climas templados cálidos, las cuales, además, permanecen superenfriadas por largos períodos de tiempo como una estrategia para evitar el congelamiento (Sakai & Larcher 1987, Pearce 2001).

Durante el período de estudio las temperaturas más bajas registradas en el campo fueron de  $-1,1\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Los análisis térmico-diferenciales en laboratorio indican que se produce nucleamiento de hielo y daño irreversible en los tejidos foliares del *E. edulis* cerca de los  $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Este punto de nucleamiento posiblemente sea aún mayor en el campo, ya que se ha visto que en general las pruebas de laboratorio muestran temperaturas de nucleación menores que aquellas reportadas bajo condiciones naturales (Pearce 2001). Esto sugiere que en sitios bajos donde las temperaturas alcancen valores por debajo de los  $-4$  o  $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ , el daño de los tejidos durante el invierno sería irreversible y las plantas no podrían sobrevivir.

Los resultados bajo condiciones experimentales en el laboratorio en esta investigación, por lo tanto, sugieren que *Euterpe edulis* tiene una cierta capacidad para superenfriar en condiciones experimentales, pero esta capacidad de superenfriamiento sería más limitada e inestable en el campo debido a la formación de rocío, especialmente en los fondos de gradientes topográficos donde los fenómenos de inversión térmica producen la acumulación del aire frío con las consiguientes bajas temperaturas. Consistente con plantas que superenfrian (Goldstein *et al.* 1985; Rada *et al.* 1985; Rada *et al.* 1987), cuando ocurre la formación de hielo en los tejidos de *E. edulis*, el congelamiento produce daños no reversibles que pueden ser letales para toda la planta. Esto explicaría parcialmente al menos el patrón de distribución actual, con *E. edulis* agrupados en alta densidad en las partes altas y divisorias de cuencas, y completamente ausentes en las partes más deprimidas, excepto por algunos *E. edulis* pequeños que habrían crecido en los últimos años, más benignos. Es esperable que, cada cierto período de tiempo ocurran años más fríos, en los cuales se produzca la muerte de estos individuos pequeños, impidiendo que lleguen a la edad adulta. En el año 2002, cuando se instalaron los sensores a lo largo del gradiente, se observaron 15 *E. edulis* muertos (entre adultos y subadultos) en el sitio intermedio, con evidencias de que esto había ocurrido cierto tiempo antes, quizás por las heladas producidas en el año 2000, las cuales fueron particularmente intensas. Luego de dicho invierno se observaron individuos adultos de *E. edulis* que estaban por encima del dosel, con sus hojas superiores evidentemente dañadas por las heladas, mientras que otras plantas vecinas a esos individuos estaban aparentemente saludables, como la palmera Pindó (*Syagrus romanzoffianum*), la cual tiene un límite de distribución más austral que *Euterpe edulis* (Henderson *et al.* 1995). Una posibilidad es que esta especie de palmera tenga una capacidad de superenfriamiento mayor que *E. edulis* y por lo tanto pueda evitar daños por heladas más severas.

Otros factores que no se han evaluado en este estudio podrían asimismo estar influenciando la distribución agrupada de las poblaciones de *E. edulis* en el Norte de la provincia de Misiones. Para algunas palmeras tropicales se ha sugerido que el patrón de distribución discontinuo o en pequeños parches dentro del bosque está influenciado o determinado por factores bióticos como la dispersión, la depredación de semillas o la herbivoría (Losos 1995; Olmos *et al.* 1999; Pacheco 2001; Svenning 2001). Por ejemplo, se ha visto que las concentraciones de individuos de *Attalea maripa* en la Reserva Ecológica Isla de Maracá (Brasil) están asociadas a los sitios utilizados como letrinas por los tapires que las dispersan, por lo tanto, la dispersión de las semillas a larga distancia por la fauna sería la responsable de la formación de estos parches (Fragoso *et al.* 2003). En el caso de *Euterpe edulis* los dispersores no estarían jugando un papel preponderante como estructuradores espaciales de las poblaciones de *E. edulis* ya que se observó la presencia de individuos jóvenes en el sitio bajo y en el sitio medio, lo cual evidencia que hay una llegada de semillas fuera de los parches de alta densidad que, aunque escasa, permite que algunos individuos se establezcan. Si estos individuos sobrevivieran alrededor de 8-10 años, tiempo necesario para producir semillas (Bovi *et al.* 1987), serían un foco de expansión de la población, lo cual evidentemente no ocurre indicando que otros factores post-dispersión están operando. También se ha visto que las características del suelo pueden jugar un papel preponderante en la distribución de las palmeras (Clarck *et al.* 1995; Svenning 1999; Vormisto 2002). Pero para *Euterpe edulis* se ha observado que no estaría directamente asociado a un tipo de suelo en particular y que se distribuye en condiciones edáficas diferentes (Mortara 2000). Sin embargo, considero que más atención debería ponerse para evaluar el rol del suelo como determinante de la distribución de esta especie debido a que, en general, los gradientes topográficos suelen estar asociados a gradientes edáficos.

Los resultados obtenidos en este trabajo son consistentes con resultados de otros estudios donde se observan que los patrones de distribución de las palmeras son significativamente

influenciados por la topografía (Svenning 1999; Mortara 2000; Vormisto *et al.* 2004). Mortara (2000) produce un modelo de distribución de *Euterpe edulis* basado en variables ambientales (cobertura de la tierra, orientación de ladera, distancia de drenaje, altitud) y encuentra que la altitud es la variable que mejor predice la distribución de esta especie. Asimismo, Vormisto y colaboradores (2004) encuentran una buena relación entre la topografía y la presencia/ausencia de especies pero observan que esta relación cambia cuando se consideran distintas áreas. Tanto Mortara (2000) como Vormisto y colaboradores (2004) expresan que sus estudios no son extrapolables a otras áreas dado que la topografía no ejerce una influencia directa sobre las plantas, si no que en realidad es un "factor indirecto", es decir que está correlacionado con otras variables ambientales como las bajas temperaturas, las cuales son en realidad las que influyen directamente en las plantas. Por lo tanto, estos investigadores sugieren que para poder predecir la distribución de una especie en distintas áreas es necesario realizar mediciones detalladas de las variables asociadas a los gradientes topográficos, así como conocer las repuestas de las plantas a estas variables tal cual se realizó en este trabajo con *E. edulis*. En este estudio, la descripción de las variables ambientales a lo largo del gradiente topográfico, así como el estudio de la resistencia de *Euterpe edulis* a las bajas temperaturas permiten explicar su distribución no sólo en el sitio estudiado sino en todo el límite sur de su distribución geográfica. En este trabajo se realizó un esfuerzo importante para medir otras variables que podían influenciar la distribución de *E. edulis*, como potencial hídrico del suelo, proporción de la radiación que llegaba hasta el nivel de las plantas y estructura del bosque, sin embargo ninguna de estas variables mostró un cambio a lo largo de este gradiente topográfico asociado a los cambios en la densidad de *E. edulis*. De esta manera, podría interpretarse este estudio como un experimento bajo condiciones semicontroladas donde la variable más importante (temperatura) fue significativamente diferente entre los distintos sitios a lo largo del gradiente, mientras que las otras variables fueron similares. Asimismo, utilizando las temperaturas mínimas como

alimentación de los modelos ya desarrollados quizás se podría predecir la distribución de esta especie no sólo en el espacio si no también en el tiempo, considerando los cambios climáticos que están ocurriendo, los cuales se presume tendrán un importante efecto en las comunidades de plantas (Ostendorf *et al.* 2001).

## CONCLUSIONES

En el área de estudio en el norte de la Pcia. de Misiones donde el relieve es de lomadas disectadas por cursos de agua las poblaciones de *E. edulis* tienden a crecer en las partes intermedias y altas de dichos gradientes topográficos, estando ausentes en las áreas más deprimidas. En las partes más bajas de estos gradientes ocurren fenómenos de inversión térmica en invierno y por lo tanto, se alcanzan las temperaturas más bajas, encontrándose diferencias de 6 a 7 °C entre las partes altas y bajas de los gradientes. Si bien durante el período de estudio la temperatura más baja medida fue de -1,1 °C, se han registrado temperaturas mínimas de hasta -5 °C en la localidad de Puerto Iguazú. Los resultados de los estudios realizados bajo condiciones experimentales en el laboratorio sugieren que *E. edulis* tiene una cierta capacidad para evadir el daño por temperaturas congelantes a través del superenfriamiento de sus tejidos. Sin embargo, esta capacidad de superenfriamiento en el campo sería más limitada e inestable debido a la formación de rocío en la superficie de las hojas y otros tejidos lo cual puede estimular la nucleación de hielo. Consistente con plantas que superenfrian, cuando ocurre el congelamiento de los tejidos, se producen daños no reversibles que pueden llegar a ser letales para la planta. Esto explicaría el patrón de distribución actual en el área de estudio, con individuos de *E. edulis* agrupados en alta densidad en las partes altas y divisorias de cuenca, y completamente ausentes en las partes más deprimidas, donde las temperaturas mínimas en invierno alcanzan valores más negativos que en las partes altas debido al fenómeno de inversión térmica. Además se observó que las temperaturas bajas producen una disminución en la capacidad fotosintética



de las plantas en el campo y por lo tanto podrían afectar su crecimiento, establecimiento y su capacidad competitiva.

## Capítulo 6. Síntesis y conclusiones

### SÍNTESIS

*Euterpe edulis*, el Palmito, es una palmera dominante en el estrato medio del Bosque Atlántico, el cual se distribuye de norte a sur por la costa de Brasil, y alcanza el este de Paraguay y noreste de Argentina en la provincia de Misiones. El nombre del género de esta palmera proviene de una de las nueve musas de la mitología griega debido a que se considera una de las palmeras más gráciles y bellas del Neotrópico. Es además, muy conocida por su valor comercial ya que de ella se extrae uno de los mejores palmitos comestibles.

*Euterpe edulis* es tolerante a la sombra y su patrón de distribución dentro del bosque es agregado. Durante el invierno produce frutos carnosos que son altamente consumidos por los frugívoros locales, y por esta razón se ha considerado a esta especie como clave para el funcionamiento del Bosque Atlántico. A latitudes mayores dentro de la Provincia, el tamaño de las poblaciones disminuye y su distribución se hace cada vez más localizada. El objetivo general de este trabajo fue el de estudiar las características ecofisiológicas y los factores ambientales que explican y determinan el desarrollo y la distribución ecológica y geográfica de *E. edulis*. Se realizaron estudios bajo condiciones controladas en vivero y laboratorio, así como de campo. Se trabajó en un vivero con distintos tratamientos de niveles de radiación y disponibilidad de agua en el suelo. Los tratamientos de radiación fueron del 10, 30, 40 y 65% de la radiación total incidente. Esto abarca condiciones de luz que se encuentran en el bosque Misionero desde situaciones bajo dosel arboreo continuo (10%) hasta claros relativamente grandes (65%). La situación de claros muy grandes y plantas expuestas a condiciones de alta radiación solar incidente (100%) no se incluyó en el estudio. Las condiciones de disponibilidad de agua en el sustrato incluyeron dos tratamientos: control, con alta disponibilidad de agua y la condición de suministro de agua reducido, donde lo que

se varió no fue la frecuencia de riego sino el volumen de agua, el cual se disminuyó al 50% del control. Se estudiaron características morfológicas, anatómicas, fisiológicas y de la arquitectura hidráulica en respuesta a los tratamientos. Se observó que los niveles de radiación afectaron significativamente la tasa de expansión de hojas, la longitud de vida de las mismas, el crecimiento en diámetro y altura de las plantas, el área foliar total por individuo, el área foliar específica y los patrones de asignación de biomasa a distintos componentes de la planta. A bajos niveles de radiación solar la tasa de crecimiento fue menor comparada con los otros 3 tratamientos que recibían mayor radiación, posiblemente debido a los niveles de luz subóptimos para el proceso de fotosíntesis y a los bajos valores de área foliar por individuo alcanzados después de 26 meses de estar expuestos a estos niveles bajos de radiación. Las plantas sometidas a bajos niveles de radiación también produjeron menor número de hojas durante el período de estudio. Además, la producción de hojas con alta área foliar específica y la extensión substancial de la longitud de vida de las mismas les permitió compensar las condiciones desfavorables para el crecimiento; ya que esto reduciría el costo de producción y mantenimiento de las mismas y podrían compensar parcialmente la baja capacidad fotosintética de las hojas producidas durante el tratamiento. También se observó que la proporción de biomasa asignada a la producción de hojas con respecto al vástago fue mayor a niveles de radiación de 10%. Estos resultados sugieren que *E. edulis* tiene una capacidad alta de aclimatación a los diferentes niveles de luz. Los niveles de luz intermedios y relativamente bajos, en particular niveles de 30% de la radiación solar incidente son óptimos para su desarrollo y crecimiento. Esta especie tolera niveles bajos de radiación y está bien adaptada a crecer en condiciones de sombra siendo capaz de ajustar su morfología (y posiblemente su fisiología) como respuesta a variaciones en niveles de radiación dentro del bosque. Otro aspecto de la plasticidad fenotípica son los cambios que se producen en la longitud de vida y en la tasa de producción de hojas. A niveles de radiación baja la longitud de vida aumentó aproximadamente al doble y la producción de hojas fue

significativamente menor. Si bien se observó un efecto significativo de la luz en las variables consideradas, no se detectaron efectos de la disponibilidad de agua sobre las mismas.

Posiblemente esta especie tiene baja plasticidad para aclimatar su morfología de acuerdo a la disponibilidad de agua lo cual sería esperable tratándose de una especie que se desarrolla en el interior del bosque donde las condiciones de humedad del suelo son relativamente estables en el tiempo. También es posible que la reducción en el suministro de agua no haya sido suficiente para producir estrés hídrico en las palmeras, y por esta razón no se observaron efectos del tratamiento de sequía.

Solo se observaron cambios significativos en la capacidad fotosintética en el tratamiento de 10%, disminuyendo en un 60% con respecto a los otros tratamientos. Las tasas de fotosíntesis medidas *in situ* (TTEobs) tendieron a ser mayores en el tratamiento de 30% de luz a pesar de que no hubo diferencias significativas en la TTEmax de este tratamiento con los tratamientos de 40 y 65%. Las hojas de los renovales creciendo a altos niveles de luz mostraron una mayor capacidad de recuperación a la fotoinhibición. A pesar de esta mayor capacidad de recuperación, sus tasas de fotosíntesis no fueron significativamente más altas que a niveles de luz intermedios, incluso tendieron a disminuir, lo cual es consistente con los patrones de distribución dentro del bosque donde *E. edulis* está prácticamente ausente en claros y lugares abiertos. La tasa fotosintética tendió a ser más alta a niveles intermedios de luz, quizás porque a bajos niveles de luz la radiación incidente está debajo del punto de saturación de luz y porque a altos niveles de radiación se producen procesos de fotoinhibición permanente. Se observó que tanto el área foliar total alcanzada por los individuos al final del experimento como la tasa de fotosíntesis máxima diaria fueron buenos predictores del incremento en diámetro de los tallos de los renovales estudiados, además la longitud de vida de las hojas se correlacionó con la TTEmax y con el área foliar específica. Los tratamientos de sequía no produjeron cambios significativos en la capacidad fotosintética a diferentes niveles de luz, sin embargo tendieron a disminuir la TTEmax en los tratamientos de mayor

cantidad de luz (30, 40 y 65%). La conductividad hidráulica foliar específica (KL) y la conductividad hidráulica específica (KS) tienden a ser menor en los tratamientos de mayor radiación (65%). Mediciones en el campo y en el vivero a niveles de radiación alto mostraron que los potenciales hídricos son más negativos a niveles de radiación altos que a menores niveles de radiación sugiriendo que los déficit hídricos en condiciones de luz alta pueden ser substanciales para *E. edulis* y eventualmente disminuir su capacidad de crecimiento y competencia en claros o sitios abiertos en general. La conductividad hídrica foliar tiende a disminuir mucho cuando se alcanzan potenciales hídricos de aproximadamente -1.65 MPa, que es el punto de pérdida de presión de turgencia estimado mediante curvas de presión volumen.

En el área de estudio en el norte de la Pcia. de Misiones donde el relieve es de lomadas disectadas por cursos de agua las poblaciones de *E. edulis* tienden a crecer en las partes intermedias y altas de dichos gradientes topográficos, estando ausentes en las áreas mas deprimidas. En estos últimos sitios ocurren fenómenos de inversión térmica en invierno y por lo tanto, se alcanzan las temperaturas mas bajas, encontrándose diferencias de 6 a 7 °C entre las partes altas y bajas de los gradientes. Durante el período de estudio la temperatura más baja medida fue de -1,1 °C en la parte más baja del gradiente. Análisis térmico-diferenciales en laboratorio indican que se produce nucleamiento de hielo y daño irreversible en los tejidos foliares cerca de los -5 °C. Esto sugiere que en sitios bajos donde las temperaturas podrían llegar por debajo de -5 °C el daño de los tejidos durante el invierno sería irreversible y las plantas no podrían sobrevivir. Las hojas y pecíolos de *E. edulis* tienen una capacidad limitada de superenfriamiento en el campo debido a que los fenómenos de inversión térmica estimulan la producción de rocío en las superficies foliares y el nucleamiento de hielo, que se expande desde la superficie hasta el interior de la hoja produciendo daños irreversibles en la planta. Además se observó que las temperaturas bajas

producen una disminución en la capacidad fotosintética de las plantas en el campo y por lo tanto podrían afectar su crecimiento, establecimiento y su capacidad competitiva.

## **CONCLUSIONES Y PREGUNTAS PARA FUTUROS TRABAJOS DE INVESTIGACIÓN**

La fase de establecimiento es muy importante en la ontogenia de las palmeras ya que es el período del ciclo de vida en el cual se comienza a desarrollar el estípite que va a proveer la vascularización necesaria para suministrar agua a las hojas durante toda la vida de la planta. Esta fase es importante en las monocotiledóneas "leñosas" o "arbóreas" debido a su incapacidad para generar tejidos vasculares y mecánicos secundarios a partir de un cambium vascular. Las palmeras de tallo único no tienen, como las dicotiledóneas leñosas, segmentos o unidades que pueden ser considerados casi independientes entre sí. En los árboles, cada rama es una unidad en sí misma aún cuando está integrada al resto de la planta. Para su supervivencia las palmeras dependen del mantenimiento de un único tallo y de su sistema de transporte interno durante todo el ciclo de vida de la planta. Las dicotiledóneas leñosas producen tejido vascular nuevo cada año (en árboles de clima templado) o en forma casi continua (en árboles de regiones tropicales sin estacionalidad en las precipitaciones). En las palmeras, para proteger la integridad vascular del estípite, la resistencia al flujo de agua en los pecíolos de las hojas es muy grande. Sequías prolongadas pueden producir cavitación en las regiones del sistema de transporte de agua con mayor resistencia hidráulica, con la consecuente muerte de la hoja protegiendo la funcionalidad de los haces vasculares del tallo principal. En el estípite, abundante tejido parenquimático de reserva también ayudaría a amortiguar cambios de potencial hídrico en las vasos del xilema y, por lo tanto, a evitar disfunciones catastróficas por embolismos; así como quizás ayudar a reparar los vasos embolizados. En períodos de altas tasas transpiratorias o sequías prolongadas las hojas y el tallo podrían permanecer relativamente desacoplados desde el punto hidráulico (Holbrook &

Sinclair 1992a; Holbrook & Sinclair 1992b). Esta peculiaridad en la arquitectura hidráulica también afecta otras funciones de crecimiento y desarrollo en las palmeras que las hacen diferentes a la mayoría de las plantas leñosas con ciclo de vida largo.

En este estudio se intentó utilizar varias escalas de análisis y metodologías diferentes para comprender la ecología, dinámica y distribución de *E. edulis*, una de las palmeras dominantes del Bosque Atlántico Semidecíduo. Debido a la importancia de la fase de establecimiento en este grupo de plantas, la mayoría de los estudios se realizaron con individuos de 1 a 3 años. También se estudiaron algunos aspectos de la germinación. Cuatro fueron los temas de estudio que se abordaron: dinámica foliar y patrones de crecimiento, fotosíntesis y fotoinhibición, relaciones hídricas y arquitectura hidráulica y resistencia a temperaturas congelantes. Se estudiaron con detalle tres factores ambientales considerados muy importantes para comprender el desarrollo y el éxito de *E. edulis* en su período de establecimiento. Estos fueron la luz, de suma importancia en el sotobosque, la disponibilidad de agua en el sustrato debido a la ocurrencia de sequías de corta duración pero de mucha intensidad en el área de estudio, y la ocurrencia de temperaturas congelantes. La disponibilidad de agua es especialmente importante en los individuos pequeños debido a que el reservorio del tallo principal es muy incipiente. Se estudiaron fenómenos relacionados con las variaciones de luz en vivero utilizando filtros neutros para reproducir niveles de luz similares a los que se observan en el campo donde esta especie se desarrolla. No se estudiaron ni las respuestas de las plantas a los niveles dinámicos de luz tal como se observa en el sotobosque donde los haces de luz son muy importantes tanto para el proceso fotosintético como para el crecimiento; ni tampoco se estudió la respuesta de las plantas a la variación en las propiedades espectrales de la luz. Se sabe que en el sotobosque, a diferencia de claros grandes o sitios muy abiertos, la radiación está empobrecida en algunas longitudes de onda como las del rojo lejano, lo que puede tener efectos importantes en la morfogénesis de las plantas. Esto se debió a que el objetivo principal en esta parte del

estudio fue comprender las diferencias en términos de crecimiento y asignación de recursos entre ambientes abiertos y cerrados del bosque así como la capacidad de aclimatación fenotípica de esta especie a los diferentes niveles de luz.

Los resultados de este estudio permiten explicar el éxito de *E. edulis* en el sotobosque donde los niveles de luz son muy bajos mediante su habilidad para aumentar su eficiencia en la utilización de los escasos recursos luminosos existentes a través de producir hojas finas, con bajo costo de construcción y longitud de vida muy prolongada, con bajo punto de saturación de luz, así como asignando una proporción relativamente alta de la biomasa total de la planta a la superficie fotosintética. En estas condiciones de baja radiación, los individuos tienden a reducir el autosombreo mediante modificaciones en la longitud de los pecíolos y la distancia entre folíolos. El costo de esta adaptación es que los efectos de la fotoinhibición son más acentuados que en los individuos creciendo a niveles de luz más alta.

Los resultados de este estudio también permiten explicar porqué *E. edulis* no es abundante en claros grandes o lugares muy abiertos. La demanda evaporativa en estos ambientes es muy alta en relación a la eficiencia en el suministro de agua a las hojas. La conductividad hidráulica foliar específica fue relativamente menor en plantas creciendo a altos niveles de radiación que en las plantas creciendo con niveles de radiación menor. Esta falta de adecuación entre demandas evaporativas altas que se observan en claros del bosque y la limitación hidráulica para el transporte de agua probablemente causan déficit hídricos pronunciados que causan la muerte o una disminución en la velocidad de crecimiento.

Además, el sistema radical de las monocotiledóneas carece de crecimiento secundario y por lo tanto queda restringido a los horizontes del suelo más superficiales, donde la disponibilidad de agua suele ser más limitada (Campanello 2004). En los sitios abiertos, plantas de crecimiento muy rápido podrían competir con éxito con *E. edulis*, y desplazar a esta especie de esos sitios. La fotoinhibición permanente también podría ser otra de las explicaciones sobre la ausencia de esta especie en lugares abiertos.



En el área de estudio, que está cerca del límite austral de distribución de *E. edulis*, esta especie tiende a crecer en lugares altos e intermedios de los gradientes topográficos. En los sitios bajos de estos gradientes la frecuencia e intensidad de heladas durante el invierno es mayor que en los sitios más altos. En esta investigación, los resultados de los estudios realizados bajo condiciones experimentales en el laboratorio sugieren que *E. edulis* tiene una cierta capacidad para evadir el daño por temperaturas congelantes a través del superenfriamiento de sus tejidos. Sin embargo, esta capacidad de superenfriamiento en el campo sería más limitada e inestable debido a la formación de rocío en la superficie de las hojas y otros tejidos lo cual puede estimular la nucleación de hielo. Consistente con plantas que superenfrian, cuando ocurre el congelamiento de los tejidos, se producen daños no reversibles que pueden llegar a ser letales para la planta. Esta capacidad limitada de superenfriamiento en el campo explicaría el patrón de distribución actual en el área de estudio, con individuos de *E. edulis* agrupados en alta densidad en las partes altas y divisorias de cuencas, y completamente ausentes en las partes más deprimidas, donde las temperaturas mínimas en invierno alcanzan valores más negativos que en las partes altas debido al fenómeno de inversión térmica.

Un aspecto importante de este estudio fue incorporar el análisis ontogenético de la producción foliar al evaluar la respuesta de esta especie a las diferentes condiciones ambientales. Este tipo de análisis permitió observar respuestas de las plantas a las condiciones ambientales que de otra manera no se hubieran detectado. En las palmeras el tamaño de las hojas está altamente determinado por el nivel de desarrollo de los individuos. En la fase de establecimiento, a medida que se van expandiendo hojas, éstas son cada vez más grandes, y acompañando a este desarrollo foliar, se van agregando segmentos nuevos en el tallo. Por lo tanto aquellos individuos que se desarrollan más lentamente debido a una disponibilidad de recursos limitada, expandirán hojas aparentemente más pequeñas que aquellos individuos que se están desarrollando a una velocidad más alta, simplemente

porque han expandido un número menor de hojas. Los individuos no podrían agrandar sus hojas más de lo que su estadio de desarrollo se los permite, pero en cambio, sí podrían reducir la superficie de las mismas. La relación entre el tamaño de las hojas y la etapa de desarrollo es algo que se hace evidente al considerar el análisis ontogenético en el desarrollo foliar, ya que permitió detectar que los individuos creciendo a 65% de luz producen hojas relativamente pequeñas, posiblemente para compensar el suministro de agua insuficiente para resolver las necesidades de la demanda evaporativa. Otra característica del desarrollo de las palmeras es que expanden una hoja a la vez y esto permite estimar el intervalo de tiempo necesario para que una hoja cambie de una posición a la siguiente más vieja (plastocrón). Muchas veces se ha sugerido que el plastocrón sería característico de cada especie y que no cambiaría con el desarrollo ontogenético del individuo. Sin embargo los resultados de este estudio muestran que el plastocrón es un aspecto del desarrollo de la planta que puede variar entre los individuos de una misma especie de acuerdo a las condiciones ambientales a las que están sometidos.

El tratamiento de suministro de agua reducido no produjo efectos en las características estudiadas. La ausencia consistente de respuesta a la sequía en cuanto a crecimiento, producción foliar, patrones de asignación de biomasa, área foliar específica, capacidad fotosintética y arquitectura hidráulica sugieren que la reducción del 50% en el volumen de agua suministrado no fue suficiente para causar un estrés hídrico en las palmeras del vivero. No obstante, también es posible que no se haya observado una respuesta de *E. edulis* a la sequía debido a que esta especie no tendría alta plasticidad para aclimatar su morfología y fisiología en función de la disponibilidad de agua.

Muchas preguntas no han sido respondidas en este estudio y muchas otras surgen a partir de los resultados obtenidos en este trabajo. Una de estas preguntas ya fue indicada más arriba en esta sección y tiene que ver con el efecto de la luz dinámica y de las variaciones en las propiedades espectrales sobre el desarrollo, morfología y crecimiento de *E. edulis*. Otro

tema de investigación pendiente es realizar estudios anatómicos y funcionales en el punto de inserción entre la hoja y el estípote, el cual aparece como un cuello de botella en la conexión hidráulica entre las hojas y el reservorio de agua del tallo principal. También sería importante conocer si existen limitaciones en la absorción de agua debido a que las raíces, al carecer de crecimiento secundario, quedarían restringidas a explorar los horizontes más superficiales del suelo. Otro tema de interés teórico y aplicado es el de saber si el tallo principal tiene reservas de carbohidratos y otros compuestos químicos que podrían ayudar al desarrollo de la planta bajo condiciones de estrés, y si estas reservas cambian a medida que el individuo crece. Otro tema interesante es conocer si existen cambios ontogenéticos en cuanto a la capacidad de evitar la fotoinhibición, el déficit hídrico y los daños por temperaturas congelantes, ya que muchos individuos adultos llegan a la parte más alta del dosel, donde reciben radiación solar directa y donde la intensidad de las heladas es mayor que en las partes bajas del dosel. En cuanto al desarrollo ontogenético, surge la pregunta si los individuos serán capaces de "saltar" algunos pasos en la transición de las hojas jóvenes a las hojas adultas frente a un cambio determinado en las condiciones ambientales; o si el desarrollo inicial del individuo ya impone una restricción definitiva en su crecimiento, es decir que aquellos individuos que empiezan desarrollándose más lentamente permanecerán para siempre en un estado de desarrollo más retrasado que el de otros individuos aún cuando mejoren las condiciones ambientales. De los resultados de este estudio aparece claramente que el tamaño de los individuos no puede ser utilizado como un indicador de la edad de los mismos, como así tampoco puede ser considerado como un predictor de la tasa de crecimiento. Esto es importante a tener en cuenta en el análisis de la relación tamaño-edad, que es de importancia para estudios demográficos. Otra pregunta que sería importante contestar, es si las características particulares del desarrollo de las palmeras arbóreas, las cuales no presentan crecimiento secundario, imponen una restricción hidráulica determinante de la altura máxima que pueden alcanzar los individuos adultos. También sería interesante

conocer si la capacidad de superenfriamiento de las palmeras está relacionada con su distribución geográfica y las condiciones ambientales a las cuales están sometidas, aquellas palmeras como *Butia* o *Tritrinax*, que tienen una distribución más austral en la Argentina, mostrarían probablemente una capacidad mayor que *E. edulis* de superenfriamiento. La capacidad de superenfriamiento de *E. edulis*, ¿será diferente a lo largo de su distribución latitudinal? Esta capacidad de superenfriamiento ¿puede modificarse en un mismo individuo cuando cambian las condiciones ambientales? Estas y otras preguntas tendrían que ser contestadas en estudios posteriores para poder tener un conocimiento todavía más acabado de la fisiología y ecología de las palmeras en general y de *E. edulis* en particular.

## Anexo I



Foto 1: Medición de conductividad hidráulica en pecíolos de *Euterpe edulis*



Foto 2: Individuos adultos de *Euterpe edulis* en un claro, Parque Nacional Iguazú, Misiones, Argentina.



Foto 3: Vista superior de plántula de *Euterpe edulis* en la cámara de análisis térmico diferencial, con termopares colocados en pecíolos y folíolos



## Referencias

- Ackerly D.D., Knight C.A., Weiss S., Barton K. & Starmer K.P. (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
- Ackerly D.D. & Reich P.B. (1999) Convergence and correlations among leaf size and function in seed plants: a comparative test using independent contrast. *American Journal of Botany* 86, 1272-1281
- Agrawal A.A., Conner J.K. & Stinchcombe J.R. (2004) Evolution of plant resistance and tolerance to frost damage. *Ecology Letters* 7, 1199-1208
- Aguilar M.I. & Fuguet M.F. (1988) Palmito: descripción, distribución y diferentes manejos del *Euterpe edulis* Mart. *Actas del VI Congreso Forestal Argentino. Sgo del Estero*.
- Allagulova Ch.R., Gimalov F.R., Shakirova F.M. & Vakhitov V.A. (2003) The Plant Dehydrins: Structure and Putative Functions. *Biochemistry (Moscow)* 68, 945-951
- Ancy M. & Bhat K.M. (1997) Anatomical diversity of Indian rattan palms (Calamoideae) in relation to biogeography and systematics. *Botanical Journal of the Linnean Society* 125, 71-86
- Andrade J.L., Meinzer F.C., Goldstein G., Holbrook N.M., Cavelier J., Jackson P. & Silvera K. (1998) Regulation of water flux through trunks, branches, and leaves in trees of a lowland tropical forest. *Oecologia* 115, 463-471
- Anten N.P.R. & Ackerly D.D. (2001) Canopy-level photosynthetic compensation after defoliation in a tropical understorey palm. *Functional Ecology* 15, 252-262
- Barth C., Krause G.H. & Winter K. (2001) Responses of photosystem I compared with photosystem II to high-light stress in tropical shade and sun leaves. *Plant, Cell and Environment* 24, 163-176
- Belin-Depoux M. & Hering de Queiroz M. (1971) Remarques sur le développement des feuilles des palmiers: rapprochement avec d'autres monocotyledones. *Phytomorphology* 21, 337-353
- Bjorholm S., Svenning J.C., Skov F. & Balslev H. (2005) Environmental and spatial controls of palm (Arecaceae) species richness across the Americas. *Global Ecology and Biogeography* 14, 423-429
- Bovi M.L.A., Junior G.G. & Saes L.A. Pesquisas com os gêneros *Euterpe* e *Bactris* no Instituto Agrônomo de Campinas. 1-44. 1987. Curitiba, Brasil, EMBRAPA. Anais do 1º encontro nacional de pesquisadores em Palmito.
- Brodribb T.J. & Feild T.S. (2000) Stem hydraulic supply is linked to leaf photosynthetic capacity: evidence from New Caledonian and Tasmanian rainforest. *Plant, Cell and Environment* 23, 1381-1388
- Brodribb T.J. & Holbrook N.M. (2003) Stomatal closure during leaf dehydration, correlation with other leaf physiological traits. *Plant Physiology* 132, 2173
- Brodribb T.J. & Holbrook N.M. (2004) Diurnal depression of leaf hydraulic conductance in a tropical tree species. *Plant, Cell and Environment* 27, 820-827



- Brodribb T.J., Holbrook N.M. & Gutierrez M.V. (2002) Hydraulic and photosynthetic co-ordination in seasonally dry tropical forest trees. *Plant, Cell and Environment* 25, 1435-1444
- Bucci S.J., Goldstein G., Meinzer F.C., Franco A.C., Campanello P. & Scholz F.G. (2005) Mechanism contributing to seasonal homeostasis of minimum leaf water potential and predawn disequilibrium between soil and plant water potential in Neotropical savanna trees. *Trees* 19, 296-304
- Bucci S.J., Scholz F.G., Goldstein G., Meinzer F.C. & Sternberg L.D.S.L. (2003) Dynamic changes in hydraulic conductivity in petioles of two savanna tree species: factors and mechanisms contributing to the refilling of embolized vessels. *Plant, Cell and Environment* 26, 1633-1645
- Burkart R. (1994) Use and management of natural resources in Argentina's protected areas. *Ibrasilva* 176, 8-14
- Cabrera A.L. & Willink A. (1973) *Biogeografía de América Latina*. Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos, Washington, DC.
- Calzavara B.B.G. Importância do acaizairo (*Euterpe oleracea* Mart.) como produtor de frutos e palmito para o Estado do Pará. 249-260. 1987. Curitiba, Brasil, EMBRAPA. Anais do 1º encontro nacional de pesquisadores em Palmito.
- Campanello P. Diversidad, crecimiento y fisiología de árboles en la Selva Misionera: efectos de los cambios en la estructura y funcionamiento del ecosistema producidos por la invasión de lianas y bambúseas. 1-152. 2004. Universidad de Buenos Aires.
- Carvalho R.M., Martins F.R. & Santos F.A.M. (1999) Leaf ecology of pre-reproductive ontogenetic stages of the palm tree *Euterpe edulis* Mart. (Arecaceae). *Annals of Botany* 83, 225-233
- Cavelier J. & Vargas G. (2002) Procesos hidrológicos. In: *Ecología y conservación de bosques neotropicales* (eds Guariguata M.R. & Kattan G.H.), 1 edn, pp. 145-165. Ediciones LUR, Cartago, Costa Rica.
- Chazdon R.L. & Montgomery R.A. (2002) La adquisición de carbono en las plantas. In: *Ecología y conservación de bosques neotropicales* (eds Guariguata M.R. & Kattan G.H.), pp. 225-250. Ediciones LUR, Cartago, Costa Rica.
- Chediack S.E. & Franco Baqueiro M. (2003) Harvesting and conservation of Heart Palm. In: *The Atlantic Forest of South America: biodiversity status, threats, and outlook* (eds Galindo-Leal C. & Gusmao Camara I.), 1 edn, pp. 406-412. Island Press, Washington, United States.
- Clarck D.A., Clarck D.B., Sandoval R. & Castro M.V. (1995) Edaphic and human effects on landscape-scale distributions of tropical rain forest palms. *Ecology* 76, 2581-2594
- Clark D.B., Clark D.A., Rich P.M., Weiss S. & Oberbauer F. (1996) Landscape-scale evaluation of understory light and canopy structure: methods and application in a neotropical lowland rain forest. *Can.J.For.Res.* 26, 747-757
- Cordell S., Goldstein G., Meinzer F.C. & Vitousek P.M. (2001) Regulation of leaf life-span and nutrient-use efficiency of *Metrosideros polymorpha* trees at two extremes of a long chronosequence in Hawaii. *Oecologia* 127, 198-206
- Costas I.H.W., Bruera P.A., Aguilar M.I. & Lopez M.A. Situação atual da exploração do palmito: o caso da República Argentina. 137-140. 1987. Curitiba, Brasil, EMBRAPA. Anais do 1º encontro nacional de pesquisadores em Palmito.
- Cruziat P., Cochard H. & Améglio T. (2002) Hydraulic architecture of trees: main concepts and results. *Ann.For.Sci.* 59, 723-752

- Deka R.N., Wairiu M., Mtakwa P.W., Mullins C.E., Veenendaal E.M. & Towned J. (1995) Use and accuracy of the filter paper technique for measurement of soil matric potential. *European Journal of Soil Science* 46, 233-238
- Dias A.C., Figliola M.B., Moura Netto B.V., Nogueira C.B., Silva A., Siqueira A.C.d. & Yamazoe G. Pesquisa sobre palmito no Instituto Florestal Sao Paulo. 63-74. 1987. Curitiba, Brasil, EMBRAPA. Anais do 1º encontro nacional de pesquisadores em Palmito.
- Dimitri M.J. (1974) *La flora arbórea del Parque Nacional Iguazú*, 1 edn. Buenos Aires, Argentina.
- Donovan L.A., Richards J.M. & Linton M.J. (2003) Magnitude and mechanisms of disequilibrium between predawn plant and soil water potentials. *Ecology* 84, 463-470
- Durand L.Z. & Goldstein G. (2001) Photosynthesis, photoinhibition, and nitrogen use efficiency in native and invasive tree ferns in Hawaii. *Oecologia* 126, 345-354
- Evans J.R. & Poorter H. (2001) Photosynthetic acclimation of plants to growth irradiance: the relative importance of specific leaf area and nitrogen partitioning in maximizing carbon gain. *Plant, Cell and Environment* 24, 755-767
- Ferreira V.L.P. & Paschoalino J.E. Pesquisa sobre palmito no Instituto de Tecnologia de Alimentos. 45-62. 1987. Curitiba, Brasil, EMBRAPA. Anais do 1º encontro nacional de pesquisadores em Palmito.
- Fisher J.B., Tan H.T.W. & Toh L.P.L. (2002) Xylem of rattans: vessel dimension in climbing palms. *American Journal of Botany* 89, 196-202
- Fisher R.A., Williams M., Lobo do Vale R., Lola da Costa A. & Meir P. (2005) Evidence from Amazonian forests is consistent with isohydric control of leaf water potential. *Plant, Cell and Environment*
- Fracheboud Y., Haldimann P., Leipner J. & Stamp P. (1999) Chlorophyll fluorescence as a selection tool for cold tolerance of photosynthesis in maize (*Zea mays* L.). *Journal of Experimental Botany* 50, 1533-1540
- Fragoso J.M., Silvius K.M. & Correa J.A. (2003) Long-distance seed dispersal by tapirs increases seed survival and aggregates tropical trees. *Ecology* 84, 1998-2006
- Franco A.C. & Lüttge U. (2002) Midday depression in savanna trees: coordinated adjustments in photochemical efficiency, photorespiration, CO<sub>2</sub> assimilation and water use efficiency. *Oecologia* 131, 356-365
- Gaiotto F.A., Grattapaglia D. & Vencovsky R. (2003) Genetic structure, mating system, and long distance gene flow in heart of palm (*Euterpe edulis* Mart.). *Journal of Heredity* 94, 399-406
- Galetti M. & Aleixo A. (1998) Effects of palm heart harvesting on avian frugivores in the Atlantic rain forest of Brazil. *Journal of Applied Ecology* 35, 286-293
- Galetti M. & Fernandez J.C. (1998) Palm heart harvesting in the Brazilian Atlantic Forest: changes in industry structure and the illegal trade. *Journal of Applied Ecology* 35, 294-301
- Galindo-Leal C. & Gusmao Camara I. (2003) *The Atlantic Forest of South America: biodiversity status, threats, and outlook*, 1 edn. Island Press, Washington, United States.
- Gatti M.G. El Picudo de la Palma, *Rhynchophorus palmarum* L., (Coleoptera: Curculionidae) en palmitales con y sin aprovechamiento forestal. 1-45. 1999. Universidad Nacional de Córdoba.
- Givnish T.J. (1987) Comparative studies of leaf form: assessing the relative roles of selective pressures and phylogenetic constraints. *New Phytol.* 106, 131-160

- Givnish T.J. (1988) Adaptation to sun and shade: a whole-plant perspective. *Aust.J.Plant Physiol.* 15, 63-92
- Givnish T.J., Montgomery R.A. & Goldstein G. (2004) Adaptive radiation of photosynthetic physiology in the Hawaiian Lobeliads: Light regimes, static light responses, and whole-plant compensation points. *American Journal of Botany* 91, 228-246
- Goldstein G. & Andrade J.L. (1998) Stem water storage and diurnal patterns of water use in tropical forest canopy trees. *Plant, Cell and Environment* 21, 397-406
- Goldstein G., Meinzer F.C. & Andrade J.L. (2002) El flujo de agua en los árboles del dosel: mecanismos y patrones. En: *Ecología y Conservación de Bosques Neotropicales* (eds Guariguata M.R. & Kattan G.H.), 1 edn, pp. 251-270. Ediciones LUR, Cartago, Costa Rica.
- Goldstein G., Rada F. & Azócar A. (1985) Cold hardiness and supercooling along an altitudinal gradient in andean giant rosette species. *Oecologia* 68, 147-152
- Henderson A., Galeano G. & Bernal R. (1995) *Field guide to the palms of the Americas*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
- Hogan K.P. & Machado J.L. (2002) La luz solar: consecuencias biológicas y medición. In: *Ecología y conservación de bosques neotropicales* (eds Guariguata M.R. & Kattan G.H.), 1 edn, pp. 119-143. Ediciones LUR, Cartago, Costa Rica.
- Holbrook N.M. & Sinclair T.R. (1992a) Water balance in the arborescent palm, *Sabal palmetto*. I. Stem structure, tissue water release properties and leaf epidermal conductance. *Plant, Cell and Environment* 15, 393-399
- Holbrook N.M. & Sinclair T.R. (1992b) Water balance in the arborescent palm, *Sabal palmetto*. II. Transpiration and stem water storage. *Plant, Cell and Environment* 15, 401-409
- Holz S.C. & Placci L.G. (2003) Las raíces socioeconómicas de la pérdida de biodiversidad. In: *The Atlantic Forest of South America: biodiversity status, threats, and outlook* (eds Galindo-Leal C. & Gusmao Camara I.), 1 edn Island Press, Washington, United States.
- Illenseer R. & Paulilo M.T.S. (2002) Crescimento e eficiencia na utilização de nutrientes em plantas jovens de *Euterpe edulis* Mart. sob dois níveis de irradiância, Nitrogenio e Fósforo. *Acta Bot.Bras.* 16, 385-394
- Krause G.H., Koroleva O.Y., Dalling J.W. & Winter K. (2001) Acclimation of tropical tree seedlings to excessive light in simulated tree-fall gaps. *Plant, Cell and Environment* 24, 1345-1352
- Kursar T.A. & Coley P.D. (1999) Contrasting modes of light acclimation in two species of the rainforest understory. *Oecologia* 121, 489-498
- Lambers H., Chapin F.S.I. & Pons T.J. (1998) *Plant physiological ecology*. Springer, New York, USA.
- Lamontagne M., Bigras F.J. & Margolis H.A. (2000) Chlorophyll fluorescence and CO<sub>2</sub> assimilation of black spruce seedlings following frost in different temperature and light conditions. *Tree Physiology* 20, 249-255
- Leffler J.A. & Enquist B.J. (2002) Carbon isotope composition of tree leaves from Guanacaste, Costa Rica: comparison across tropical forests and tree life history. *Journal of Tropical Ecology* 18, 151-159
- Ligier H.D. Caracterización geomorfológica y edáfica de la provincia de Misiones. Fundación Vida Silvestre Argentina. 1-28. 1999. Buenos Aires, Argentina.

- Loehle C. (1998) Height growth rate tradeoffs determine northern and southern range limits for trees. *Journal of Biogeography* 25, 735-742
- Losos E. (1995) Habitat specificity of two palm species: experimental transplantation in amazonian sucesional forest. *Ecology* 76, 2595-2606
- Malmierca L., Herrera J., Schiaffino K., Giorgis P. & Heinonen S. Relevamiento del Área Cataratas, Parque Nacional Iguazú. Informe de Avance. 1994. Puerto Iguazú, Misiones., Centro de Investigaciones Ecológicas Subtropicales (CIES), Delegación Técnica Regional NEA, APN.
- Marques M.C.M., Roper J.J. & Salvaggio A.P.B. (2004) Phenological patterns among plant life-forms in a subtropical forest in southern Brazil. *Plant Ecology* 173, 203-213
- Maxwell K. & Johnson G.N. (2000) Chlorophyll fluorescence — a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51, 659-668
- Meinzer F.C., Clearwater M.J. & Goldstein G. (2001) Water transport in trees: current perspectives, new insights and some controversies. *Environmental and Experimental Botany* in press,
- Meir P., Grace J. & Miranda A.C. (2001) Leaf respiration in two tropical rainforests: constraints on physiology by phosphorus, nitrogen and temperature. *Functional Ecology* 15, 387
- Moreno D. (2003) Palmitos: problema con sabor a oportunidad. *Revista de la Fundación Vida Silvestre Argentina* 85, 39-41
- Mortara M.O. Modelagem da distribuição potencial do palmitero (*Euterpe edulis* Martius) em região montanhosa a partir de variáveis topográficas. 1-157. 2000. São José dos Campos, INPE, Brazil.
- Nakazono E.M., Da Costa M.C., Futatsugi K. & Paulilo M.T.S. (2001) Early growth of *Euterpe edulis* Mart. in different light environments. *Revta.brasil.Bot.* 24, 173-179
- Nardini A., Tyree M.T. & Salleo S. (2001) Xylem cavitation in the leaf of *Prunus laurocerasus* L. and its impact on leaf hydraulics. *Plant Physiology* 125, 1700-1709
- Naumburg E. & Ellsworth D.S. (2000) Photosynthetic sunfleck utilization potential of understory saplings growing under elevated CO<sub>2</sub> in FACE. *Oecologia* 122, 163-174
- Negreiros G.d.F. & Peres S.C.J.d.A. (2004) Resposta fisiológica de sementes de palmeiras ao envelhecimento acelerado. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* 39, 391-396
- Niinemets Ü., Kull O. & Tenhunen J.D. (1998) An analysis of light effects on foliar morphology, physiology, and light. *Tree Physiology* 18, 681-696
- Oliveira Filho A.T. & Fontes M.A.L. (2000) Patterns of floristics differentiation among Atlantic Forests in Southeastern Brazil and the influence of climate. *Biotropica* 32, 793-810
- Olmos F., Pardini R., Boulhosa R.L., Bürgi R. & Morsello C. (1999) Do Tapirs steal food from palm seed predators or give them a lift? *Biotropica* 31, 375-379
- Ostendorf B., Hilbert D.W. & Hopkins M.S. (2001) The effect of climate change on tropical rainforest vegetation pattern. *Ecological Modelling* 145, 211-224
- Pacheco M.A.W. (2001) Effects of flooding and herbivores on variation in recruitment of palms between habitats. *Journal of Ecology* 89, 358-366
- Paulilo M.T.S. (2000) Ecofisiologia de plântulas e plantas jovens de *Euterpe edulis* Mart. (Arecaceae): comportamento em relação a variação de radiação solar. *Sellowia* 49, 93-105

- Pearce R.S. (2001) Plant Freezing and Damage. *Annals of Botany* 87, 417-424
- Pepin S., Livingston N.J. & Whitehead D. (2002) Responses of transpiration and photosynthesis to reversible changes in photosynthetic foliage area in western red cedar (*Thuja plicata*). *Tree Physiology* 22, 363-371
- Placci L.G., Arditi S.I. & Cioleck L.E. (1994) Productividad de hojas flores y frutos en el Parque Nacional Iguazú, Misiones. *Yvyrareta* 5, 49-56
- Placci L.G., Arditi S.I., Giorgis P.A. & Wuthrich A.A. (1992) Estructura del palmital e importancia de *Euterpe edulis* como especie clave en el Parque Nacional Iguazu, Argentina. *Yvyrareta* 3, 93-108
- Prado D.E. (1993) What is the Gran Chaco vegetation in South America? I. A review. Contributing to the study of flora and vegetation of the Chaco. V. *Candollea* 48, 145-172
- Queiroz M.H.d. (2000) Biologia do fruto, da semente e da germinacao do Palmeiteiro (*Euterpe edulis* Martius). *Sellowia* 49, 39-59
- Queiroz M.H.d. & Cavalcante M.D.T.d.H. (1986) Efeito do dessecamento das sementes de Palmeiteiro na germinação e no armazenamento. *Revista Brasileira de Sementes* 8, 121-125
- Rada F., García-Núñez C., Boero C., Gallardo M., Hilal M., González J., Prado F., Liberman-Cruz M. & Azócar A. (2001) Low temperature resistance in *Polylepis tarapacana*, a tree growing at the highest altitudes in the world. *Plant, Cell and Environment* 24, 377-381
- Rada F., Goldstein G., Azócar A. & Meinzer F.C. (1985) Freezing avoidance in Andean giant rosette plants. *Plant, Cell and Environment* 8, 501-507
- Rada F., Goldstein G., Azócar A. & Torres F. (1987) Supercooling along an altitudinal gradient in *Espeletia schultzii*, a caulescent giant rosette species. *Journal of Experimental Botany* 38, 491-497
- Reich P.B., Ellsworth D.S., Walters M.B., Vose J.M., Gresham C., Volin J.C. & Bowman W.D. (1999) Generality of leaf trait relationships: a test across biomes. *Ecology* 80, 1955-1969
- Reich P.B., Walters M.B., Ellsworth D.S., Vose J.M., Volin J.C., Gresham C. & Bowman W.D. (1998) Relationships of leaf dark respiration to leaf nitrogen, specific leaf area and leaf life-span: a test across biomes and functional groups. *Oecologia* 114, 471-482
- Reis A., Paulilo M.T.S., Nakazono E.M. & Venturi S. (1999) Effect of different level of desiccation in the seed germination of *Euterpe edulis* Martius - Arecaceae. *Insula* 28, 31-42
- Rich P.M. (1987) Mechanical structure of the stem of arborescent palms. *Botanical Gazette* 148, 42-50
- Rodrigues Nogueira Junior L., Vieira Fisch S.T. & Ballesteros S.D. (2003) Influência da umidade do solo no desenvolvimento inicial de plantas do palmito *Euterpe edulis* Mart. em floresta nativa. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 37, 151-159
- Roháček K. & Barták M. (1999) Technique of the modulated chlorophyll fluorescence: basic concepts, useful parameters, and some applications. *Photosynthetica* 37, 339-363
- Ryan M.G. & Yoder B.J. (1997) Hydraulic limits to tree height and tree growth. *Bioscience* 47, 235-243
- Salleo S., Lo Gullo M.A., Raimondo F. & Nardini A. (2001) Vulnerability to cavitation of leaf minor veins: any impact on leaf gas exchange? *Plant, Cell and Environment* 24, 851-859

- Santiago L.S., Goldstein G., Meinzer F.C., Fisher J.B., Machado K., Wudrooff D. & Jones T. (2004) Leaf photosynthetic traits scale with hydraulic conductivity and wood density in Panamanian forest canopy trees. *Oecologia* 140, 550
- Savithc L.V., Leonardos E.D., Krol M., Jansson S., Grodzinski B., Huner P.A. & Öquist G. (2002) Two different strategies for light utilization in photosynthesis in relation to growth and cold acclimation. *Plant, Cell and Enviroment* 25, 761-771
- Sedrez dos Reis M., Fantini A.C., Nodari R.O., Reis A., Guerra M.P. & Mantovani A. (2000) Management and conservation of natural populations in Atlantic Rain Forest: the case study of Palm Heart (*Euterpe edulis* Martius). *Biotropica* 32, 894-902
- Sedrez dos Reis M., Nodari R.O., Guerra M.P. & Reis A. Desenvolvimento do palmitero: II. Avaliação preliminar a campo de mudas desenvolvidas sob diferentes níveis de sombreamento. 193-196. 1987. Curitiba, Brasil, EMBRAPA. Anais do 1º encontro nacional de pesquisadores em Palmito.
- Shipley B., Vile D., Garnier E., Wright I.J. & Poorter H. (2005) Functional linkages between leaf traits and net photosynthetic rate: reconciling empirical and mechanistic models. *Functional Ecology* 19, 615
- Silva Matos D.M. & Watkinson A.R. (1998) The fecundity, seed, and seedling ecology of the edible palm *Euterpe edulis* in Southeastern Brazil. *Biotropica* 30, 595-603
- Skov F. & Borchsenius F. (1997) Predicting plant species distribution patterns using simple climatic parameters: a case study of ecuadorian palms. *Ecography* 20, 347-355
- Sperry J.S., Hacke U.G., Oren R. & Comstock J.P. (2002) Water deficits and hydraulics limits to leaf water supply. *Plant, Cell and Environment* 25, 251-263
- Squeo F.A., Rada F., Azócar A. & Goldstein G. (1991) Freezing tolerance and avoidance in high tropical Andean plants: It is equally represented in species with different plant height? *Oecologia* 86, 382
- Svenning J.C. (1999) Microhabitat specialization in a species-rich palm community in Amazonian Ecuador. *Journal or Ecology* 87, 55-65
- Svenning J.C. (2000) Small canopy gaps influence plant distributions in the rain forest understory. *Biotropica* 32, 252-261
- Svenning J.C. (2001) Environmental heterogeneity, recruitment limitation and the mesoscale distribution of palms in a tropical montane rain forest. *Journal of Tropical Ecology* 17, 97-113
- Svenning J.C. (2002) Crown illumination limits the population growth rate of a neotropical understorey palm (*Geonoma macrostachys*, Arecaceae). *Plant Ecology* 159, 185-199
- Takenaka A., Takahashi K. & Kohyama T. (2001) Optimal leaf display and biomass partitioning for efficient light capture in an understorey palm, *Licuala arbuscula*. *Functional Ecology* 15, 660-668
- Terborgh J. & Davenport L. (2001) Endogenous and exogenous control of leaf morphology in *Iriartea deltoidea* (Palmae). *Journal of Tropical Ecology* 17, 695-703
- Tomlinson P.B. (1990) *The structural biology of palms*. Oxford University Press, New York, United States.

- Tsukamoto Filho A.d.A., Macedo R.L.G., Venturin N. & Ramalho de Morais A. (2001) Aspectos Fisiológicos e Silviculturais do palmitheiro (*Euterpe edulis* Martius) plantado em diferentes tipos de consórcios no município de Lavras, Minas Gerais. *CERNE* 7, 41-53
- Tyree M.T. & Ewers F.W. (1991) Tansley Review No. 34: The hydraulic architecture of trees and other woody plants. *New Phytol.* 119, 345-360
- Valladares F., Wright I.J., Lasso E., Kitajima K. & Pearcy R.W. (2000) Plastic phenotypic response to light of 16 congeneric shrubs from a Panamanian rainforest. *Ecology* 81, 1925-1936
- Venturi S. & Paulilo M.T.S. (1998) Seed reserves mobilization in *Euterpe edulis* Mart. and effect of mineral nutrition in seedlings. *Acta Bot.Bras.* 12, 215-220
- Vormisto J. (2002) Palms as rainforest resources: how evenly are they distributed in Peruvian Amazonia? *Biodiversity and Conservation* 11, 1025-1045
- Vormisto J., Tuomisto H. & Oksanen J. (2004) Palm distribution patterns in Amazonian rainforest: What is the role of topographic variation? *Journal of Vegetation Science* 15, 485-494
- Walz H. (1999) *Photosynthesis yield analyzer MiniPam. Portable Chlorophyll Fluorometer: Handbook of Operation.* Effeltrich, Germany.
- Xin Z. & Browse J. (2000) Cold comfort farm: the acclimation of plants to freezing temperatures. *Plant, Cell and Environment* 23, 893-902
- Zar J.H. (1996) *Biostatistical Analysis*, 3 edn. Prentice-Hall, Inc., New Jersey, USA.
- Zobel D.B. & Liu V.T. (1980) Leaf-conductance patterns of seven palms in a common environment. *Botanical Gazette* 141, 283-289
- Zwieniecki M.A., Boyce C.K. & Holbrook N.M. (2004) Hydraulic limitations imposed by crown placement determine final size and shape of *Quercus rubra* L. leaves. *Plant, Cell and Environment* 27, 357-365
- Zwieniecki M.A., Melcher P.J., Boyce C.K., Sack L. & Holbrook N.M. (2002) Hydraulic architecture of leaf venation in *Laurus nobilis* L. *Plant, Cell and Environment* 25, 1445-1450

## Agradecimientos

Este trabajo, tal vez, hubiera sido posible sin el apoyo y la ayuda de mucha gente, pero la presencia de ellos fue la diferencia entre disfrutarlo y sufrirlo. La compañía de todos los que de alguna u otra manera me ayudaron hizo que yo pudiera llegar hasta aquí disfrutando lo que hacía, aprendiendo, soñando y proyectando para el futuro. A todos: GRACIAS, infinitas.

En especial quiero agradecer:

A Andrés, por todo, por siempre. Cómo se le agradece al sol por salir todas las mañanas? No encuentro la manera, pero es así como yo le agradezco. Nada, nunca, fue tan gris si él estaba conmigo. Puse a prueba muchas veces su paciencia, y siempre me ganó y consiguió serenarme. Su apoyo, su amor y su confianza fueron el pilar que me sostuvo y me hizo feliz todo este tiempo. Como si esto fuera poco, me ayudó en el trabajo de campo, de laboratorio, de vivero y mucho con el análisis e interpretación de resultados.

A mi familia: mis padres, Alejandra y Daniel que estuvieron siempre conmigo, hicieron muchos sacrificios para ofrecerme siempre lo mejor y poder brindarme todas las oportunidades que tuvieran al alcance, para que yo pudiera elegir cómo ser y qué ser, para que yo pudiera crecer, no sólo como profesional, si no como persona. Ellos me mostraron el camino y me enseñaron a ser feliz. Mis hermanos, Marilé, Fabricio, Natalio y Camila por estar siempre, porque con ellos aprendí a compartir, a sumar alegrías y a dividir tristezas y por apoyarme y estimularme simplemente alegrándose cuando las cosas iban bien. A mi cuñada, que siempre me recibió con los brazos abiertos. A mis abuelas y abuelos, siempre presentes.

A Guillermo Goldstein, mi director. Por su confianza, por su estímulo, por su apoyo, por hacerme sentir que siempre todo es posible... y fácil!. Aunque, en realidad, no fuera tan así nunca perdí nada, siempre gané y aprendí muchísimo. Por crear el LEF apuntando siempre a dar lo mejor de nosotros para la ciencia y para el país, y por generar un clima de trabajo cordial, alegre y solidario. Obviamente, esta tesis no existiría sin él. A todos los del Laboratorio de Ecología Funcional. Por hacer un grupo de gente tan linda, por tener proyectos, ideas y por apostar fuertemente por la ciencia en Argentina. A Sandra y Fabián, que junto a Guillermo pusieron la piedra fundamental y le dieron el espíritu de excelencia y dedicación al laboratorio, al cual todos nos hemos sumado. A Paula Campanello, por estar de cabo a rabo conmigo. Muchas cosas que están en este trabajo, no estarían si Paula no



hubiera estado. Y otras no hubieran sido posibles si ella no hiciera el gran trabajo que hace todos los días por todos los que estamos en el LEF. Su responsabilidad, su dedicación y su iniciativa son inigualables, pero por suerte, contagiosas! Por si esto fuera poco, cuántas veces tuvo que soportarme en su casa, tomarme muestras, acompañarme al campo, recordarme cosas, encontrar ensayos perdidos... y así y todo, todavía me quiere. A Mirta y Antonio, los papás de Paula C. que han hecho un trabajo de hormigas todo este tiempo que no se ve pero sin el cual muchas cosas no hubieran funcionado, infinitas veces tuvieron que llevarnos, traernos, hacer trámites, transferir dinero, enviar equipos, recibir equipos, etc.! A Lia, por estar siempre lista para darme una mano, pero especialmente por contagiar su alegría, su energía, sus iniciativas, por reunir en una persona lo mejor de trabajar y lo mejor de no trabajar. Por enseñarme a hacer las cosas de otra forma, siempre positiva y más risueña, más productiva, más linda. A Mariana Villagra y Diego Larraburu, por traer nuevas energías al laboratorio y convertirse a veces en pulpos para darnos una mano a todos los demás. A Diego Quesada-Allue, por ser mi mano en Buenos Aires, recordarme cosas, ahorrarme trámites, por brindarme todo su cariño siempre y ofrecerme paz en la recta final de la tesis.

Al CONICET, por darme la oportunidad de realizar esta tesis y por otorgarme financiamiento para hacerla. Al Programa Selva Paranaense de la FVSA, por financiar parcialmente parte de este trabajo.

A Celia Baldovino, por estar siempre y por acompañarme en este viaje desde el inicio. Si fuéramos pájaros, podría decir que salimos juntas del nido, y juntas hemos aprendido a volar. A Yanina Arzamendia, porque salió del nido con nosotras. A Sandra Chediack, que es como la madrina de esta tesis, porque ella me dió la oportunidad de empezar a trabajar en Misiones, y de conocer a Guillermo G., pero especialmente por contagiarme su pasión por los palmitos y su seriedad y responsabilidad en el trabajo de campo. A Andrea Izquierdo, por su serenidad. Y por ser mi memoria y mi organizador muchas veces, por trabajar codo a codo conmigo, y por aliviar mucho el peso cuando las cosas me sobrepasaban. A Mariana Stamati, que me acompañó al campo muchas veces y me ayudó a tomar datos, en los experimentos de vivero y en laboratorio. A Flía Foletto, en especial a Aloicio y Fernando por transmitirme toda su sabiduría de la selva misionera, por acompañarme al campo y colaborar siempre en lo que necesitara. A Juan Garibaldi, por transplantar plantas, por trepar palmeras, por ayudarme mucho en el inicio de los experimentos. Al Gpque Olivera, por facilitarme una centena de plantines de *E. edulis*. A Fabián Gatti, por dedicarme un día para que yo pudiera conocer un palmital.

A la empresa DKM S.A. por permitirnos construir el vivero en su predio y facilitarnos todo lo que estuviera a su alcance. En especial a Diego Alegranza, gracias a quien fue posible realizar el experimento de vivero, por resolver los problemas y estar siempre dispuesto a darnos una mano en todo lo que necesitáramos. A la empresa Alto Paraná, y en especial a Horacio Delgadino, quien siempre estuvo con la mejor disposición para ayudarnos y facilitarnos todo lo que estuviera a su alcance. También a Oscar Lezcano por su paciencia y amabilidad.

A la Administración de Parques Nacionales por permitirme desarrollar gran parte de este trabajo dentro del Parque Nacional Iguazú, y por darnos la oportunidad de instalar un laboratorio en el Área Cataratas, el cual cambió radicalmente nuestras potencialidades en Misiones. En particular, a la Delegación Técnica Regional Nordeste y al Centro de Investigaciones Ecológicas Subtropicales (CIES) y en especial a Karina Schiaffino por ayudarnos a resolver y por evitarnos muchos problemas, y a Justo Herrera por acompañarme al campo y por su gusto por enseñar y transmitir todo lo que conoce de la flora de Misiones. Al cuerpo de guardaparques del Parque Nacional Iguazú, quienes estuvieron siempre atentos de nuestra seguridad en el campo y quienes nos han solucionado infinitos inconvenientes.

A la Facultad de Ciencias Forestales, de la Universidad de Misiones. En especial a Teresa Argüelles que puso a mi disposición su laboratorio y sus equipos para las mediciones de conductividad hidráulica. A Beatriz Eibl por permitirme pasar horas en su laboratorio secando y pesando muestras.

A Verónica Lainez, Sara Maldonado y Víctor Panza, quienes con mucha amabilidad me facilitaron su laboratorio y ayuda para que pudiera realizar los cortes anatómicos. A Ernesto Marceca y toda su gente, que pacientemente me prestaron el Baño María Refrigerado, un laboratorio y otras cosas indispensables para que yo pudiera desarrollar mis experimentos de frío en *E. edulis*.

A la Fundación Antorchas, a la empresa General Motors Argentina, y a la Universidad de Buenos Aires ya que gracias a ellos pudimos adquirir un vehículo de campo.

Y a todos los amigos y compañeros de andanzas, por los buenos momentos, la confianza y todo lo que aprendí de ellos: Sergio Casertano, Diego Varela, Carlos De Angelo, Agustín Paviolo, Yamil Di Blanco, Josefina Bidart, Martín Morales, Javier Cerutti, Carlos Opitz, Viviana Benesovsky, Andrés Johnson, Guillermo Placci, Esteban Pizzio, Ben Hirsch y Silvia Holz.