

Tesis Doctoral

Plasticidad morfológica y fisiológica de especies arbóreas del Bosque Atlántico en respuesta a cambios en la disponibilidad de luz y nutrientes

Villagra, Mariana

2012-03-28

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Villagra, Mariana. (2012-03-28). Plasticidad morfológica y fisiológica de especies arbóreas del Bosque Atlántico en respuesta a cambios en la disponibilidad de luz y nutrientes. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

Cita tipo Chicago:

Villagra, Mariana. "Plasticidad morfológica y fisiológica de especies arbóreas del Bosque Atlántico en respuesta a cambios en la disponibilidad de luz y nutrientes". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2012-03-28.

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Departamento de Ecología, Genética y Evolución

***Plasticidad morfológica y fisiológica de especies
arbóreas del Bosque Atlántico en respuesta a
cambios en la disponibilidad de luz y nutrientes***

Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires en el área:
CIENCIAS BIOLÓGICAS

Mariana Villagra

Director de Tesis: Dr. Guillermo Hernán Goldstein
Consejero de Estudios: Dra. Sara Maldonado

Buenos Aires, 2012

Plasticidad morfológica y fisiológica de especies arbóreas del Bosque Atlántico en respuesta a cambios en la disponibilidad de luz y nutrientes

En el presente trabajo se evaluaron los efectos de la disponibilidad de luz y de nutrientes sobre el crecimiento y supervivencia de renovales arbóreos del Bosque Atlántico en Misiones, Argentina. Para ello se realizó un experimento de fertilización a largo plazo en el sotobosque (baja radiación solar) y en claros naturales (alta radiación solar). Luego de cuatro años se investigaron también los efectos de la adición de N+P sobre características fisiológicas involucradas en el transporte de agua. Los resultados indican que la disponibilidad de luz sería un factor más limitante de la supervivencia, el crecimiento y la capacidad fotosintética de las especies estudiadas que la disponibilidad de nutrientes, aunque dependiendo del grado de tolerancia a la sombra de las especies, los renovales pudieron responder a la adición de nutrientes aún bajo condiciones de baja radiación. La fertilización y el grado de tolerancia a la sombra de las especies determinaron cambios en la longevidad foliar, el área foliar específica, el daño foliar por herbivoría, la densidad de la madera y la vulnerabilidad a la cavitación de las ramas terminales. Las especies estudiadas fueron capaces de ajustar la arquitectura hidráulica a la adición de N+P a nivel de las ramas terminales, y no así a nivel de hojas, incrementando por ejemplo la resistencia a la cavitación del xilema. La vulnerabilidad a la disfunción hidráulica de hojas y de ramas terminales fue independiente. Además, no se encontró un compromiso entre la eficiencia en el transporte de agua y la vulnerabilidad a la cavitación. Finalmente, tanto el N como el P limitarían el crecimiento de estas especies en los bosques del norte de Misiones.

Palabras clave: *radiación solar, disponibilidad de nutrientes, arquitectura hidráulica, crecimiento, supervivencia, fotosíntesis, herbivoría, Bosque Atlántico*

***Morphological and physiological plasticity of Atlantic Forest tree species
in response to changes in light and nutrient availability***

The effects of light and nutrient availability on growth and survival of tree seedlings were evaluated in the Atlantic Forest of Misiones, Argentina. A long-term fertilization experiment was carried out in the understory (low solar radiation) and in natural gaps (high solar radiation). After four years the effects of N+P addition on physiological traits involved in the water transport system were also investigated. The results indicate that light availability would be a major factor limiting the survival, growth and photosynthetic capacity of the species studied than nutrient availability, although depending on species shade tolerance, plants were able to respond to nutrient addition even under low light availability. Fertilization and species shade tolerance determined changes in leaf lifespan, specific leaf area, leaf herbivory damage, wood density and vulnerability to cavitation of terminal branches. The species studied were able to adjust the hydraulic architecture to N+P addition in terminal branches, but not in leaves, for example, increasing the resistance to xylem cavitation. Vulnerability to hydraulic dysfunction in leaves and terminal branches was independent. In addition, a trade-off between the efficiency of the water transport system and vulnerability to cavitation was not observed. Finally, both N and P limit the growth of these species in northern forests of Misiones.

Keywords: *solar radiation, nutrient availability, hydraulic architecture, growth, survival, photosynthesis, herbivory, Atlantic Forest*

Agradecimientos

Muchas personas me ayudaron a que esta tesis sea posible y a que sea como hoy es. Quiero agradecer a los jurados por sus aportes hacia el final de esta tesis.

A mis compañeras y amigas del Laboratorio de Ecología Funcional con quien tengo el placer de trabajar. Especialmente a Paula Campanello por su dedicación y confianza. A Lía Montti por haber hecho tan amenos los días de campo y tenido la paciencia y facilidad para enseñarme mis primeras lecciones de laboratorio. También mi agradecimiento a Genoveva Gatti, quien sin darse cuenta quizás, supo brindarme la palabra precisa. Mi trabajo de campo no hubiera sido posible sin la inmensa ayuda de Diego Larraburu, no sólo en la toma de datos sino también en saber escuchar.

Mi mayor gratitud a Guillermo Goldstein, mi director, por haberse involucrado en todos los aspectos de esta tesis, por su humor, por levantarme el ánimo y especialmente por su capacidad para inspirar a sus estudiantes.

Agradezco al CONICET y a la Agencia Nacional de Ciencia y Tecnología por haber financiado este proyecto.

A la Administración de Parques Nacionales, quien permitió realizar este experimento dentro del área del Parque Nacional Iguazú, y brindarme su apoyo logístico a través de los guardaparques. Un agradecimiento al CIES, por cedernos instalaciones para montar el laboratorio y la oficina durante muchos años y a la Delegación Técnica quién tuvo que brindarme los permisos necesarios año tras año, y en el final de esta tesis por su generosidad y paciencia, especialmente mis gracias a Silvina Fabri.

A Conservación Argentina y al guardaparque provincial Aloicio Foletto por la producción de los plantines en el vivero de árboles nativos de Andresito y por su apoyo logístico.

Agradezco a todas las personas que me ayudaron durante los calurosos días de campo misioneros, a Mauricio González, a Raúl, a Mario, a Fernando Foletto, a Moni, a los amigos de la

Comunidad Mbororé, especialmente Francisco, Fermino y Claudio, a Lorena Pereyra, a Ricardo Melzew y los pocos que puedo estar olvidando también.

A todos mis amigos iguazuenses, con quienes hemos compartido el desarrollo de nuestras tesis y muchas otras cosas del día a día, Mosquito, Tirica, Zamu, Silvi, Vero, Gaby, Marcelo, Agustín, Zurich, Carlinho, Toro, Cara y Claudia. A mis nuevas compañeras de oficina, Silvia y Helena.

Y a mis otras amigas, esas del alma, Tana y Pau, una bien cerquita y otra muy lejos, pero que siempre saben acompañarme.

A mi familia, a quienes tanto quiero, Mamá y Papá y a todos mis hermanitos. A Lula, Horacio, Mechi, Gaby y a los Varelas por su generosidad para hospedarme en mis largas estadías en Buenos Aires.

Y el mayor de mis agradecimientos a Diego por motivarme a buscar mi propio camino (y por las dos semanas previas a la entrega de esta tesis!!).

A mis abuelos

A Diego, mi amor

A mi papas que me dieron la vida

A Joaquín por darle el mejor de los significados

Contenido

CAPÍTULO 1

Introducción general	9
Los bosques de Misiones y la dinámica de claros.....	9
Tolerancia a la sombra y plasticidad fenotípica.....	10
Los nutrientes y las plantas.....	11
Arquitectura hidráulica de las plantas	12
Objetivos del estudio y estructura de la tesis.....	12
Referencias bibliográficas	14

CAPITULO 2

Crecimiento y supervivencia en renovales de especies arbóreas con diferente grado de tolerancia a la sombra: efecto de la disponibilidad de luz y nutrientes.....18

Introducción.....	18
Materiales y Métodos.....	21
Área de Estudio y diseño experimental	21
Condiciones ambientales.....	22
Crecimiento y supervivencia de los renovales.....	24
Características fotosintéticas.....	25
Análisis de datos	27
Resultados.....	29
Supervivencia y crecimiento	29
Atributos fotosintéticos	30
Discusión	41
Supervivencia vs Crecimiento como determinantes de la tolerancia a la sombra.....	41
El rol de los nutrientes	43
Determinantes fisiológicos de la supervivencia y el crecimiento.....	44
Conclusiones	46
Referencias bibliográficas	47

CAPITULO 3

Efectos de la disponibilidad de nutrientes sobre las características foliares y herbivoría en renovales de cinco especies de árboles.....51

Introducción.....	51
Materiales y métodos.....	54
Área de estudio y especies	54
Condiciones de crecimiento	54
Caracteres foliares	55
Análisis de datos	56
Resultados.....	57
Concentración de nutrientes en hojas.....	57
Características foliares y daño por insectos	58
Relaciones funcionales	59
Discusión	67
Limitación de nutrientes.....	68
Efectos de la adición de nutrientes	68
Daño por herbivoría de insectos.....	70
Conclusiones	71
Referencias bibliográficas	72

CAPITULO 4

Crecimiento y resistencia a la cavitación de especies subtropicales del dosel arbóreo: efectos de la adición de nutrientes77

Introducción.....	77
Materiales y métodos.....	80
Área de estudio, diseño experimental y especies	80
Conductividad hidráulica de los tallos	81
Vulnerabilidad del tallo a la cavitación	82
Densidad de la Madera	83
Área foliar específica y herbivoría por insectos.....	83
Análisis estadísticos	83
Resultados.....	84
Crecimiento, daño foliar y arquitectura hidráulica.....	84
Densidad de madera y vulnerabilidad a la cavitación del xilema	85
Discusión	94
Impacto de la adición de N+P en el crecimiento y las características hidráulicas.....	94
Correlaciones entre características de la arquitectura hidráulica	96
Relación AF:AX, área foliar específica y crecimiento	97
Conclusiones	98
Referencias bibliográficas	99

CAPITULO 5

Efectos de la fertilización sobre la coordinación de características fisiológicas de las hojas ...103

Introducción.....	103
Materiales y métodos.....	105
Área de estudio, diseño experimental y especies	105
Curvas de vulnerabilidad foliar	106
Curvas de presión-volumen	107
Vulnerabilidad del tallo a la cavitación	108
Contenido de agua de la madera a saturación	109
Análisis estadístico	109
Resultados.....	109
Discusión	116
Conclusiones	119
Referencias bibliográficas	120

CAPÍTULO 6

Conclusión general123

La luz, los nutrientes y la tolerancia a la sombra.....	123
Características foliares y herbivoría.....	125
Arquitectura hidráulica y relaciones hídricas	125

ANEXO 1 – Fotografías.....128

ANEXO 2 – Material complementario del Capítulo 2133

ANEXO 3 - Material complementario del Capítulo 4.....137



El capítulo 1 fue retirado a pedido del autor

At author's request chapter 1 has been withdrawn

CAPITULO 2

Crecimiento y supervivencia en renovales de especies arbóreas con diferente grado de tolerancia a la sombra: efecto de la disponibilidad de luz y nutrientes

Introducción

La tolerancia a la sombra por parte de las plantas está determinada por un conjunto de caracteres morfológicos y fisiológicos que maximizan la supervivencia y la ganancia de carbono y/o minimizan las pérdidas de carbono en ambientes con baja radiación (Walters y Reich 1999, Valladares y Niinemets 2008). Givnish (1988) plantea que la ganancia de carbono bajo diferentes niveles de radiación solar depende no sólo de la respuesta fotosintética individual de cada hoja sino también, de las estrategias de asignación de recursos y de los costos de mantenimiento de la capacidad fotosintética de cada planta. Sugiere además que las especies tolerantes a la sombra tienen tasas de crecimiento más altas en condiciones de baja radiación que las especies intolerantes en esa misma condición ambiental, aunque esta hipótesis ha sido refutada (Walters y Reich 1999). Por el contrario, varios estudios muestran que los renovales de especies que tienen altas tasas de supervivencia en el sotobosque (ambiente con baja radiación) a su vez tienen bajas tasas de crecimiento en condiciones de alta radiación solar (Kitajima 1994, Davis 2001, Wright 2002, Baraloto et al. 2005, Gilbert et al. 2006, Poorter y Bongers 2006). Se cree que este compromiso entre crecimiento y supervivencia probablemente ocurre debido a que los caracteres asociados a la supervivencia son opuestos a aquellos que maximizan el crecimiento. Por ejemplo, los caracteres que minimizan las pérdidas de carbono por respiración y maximizan

su almacenamiento a largo plazo en hojas, tallos y raíces pueden determinar la supervivencia en el sotobosque pero esos mismos caracteres en un ambiente de alta radiación pueden ser desventajosos porque no permiten maximizar la ganancia de carbono (Canham et al. 1999, Kobe 1999, Walters y Reich 2000, Reich et al. 2003, Craine y Reich 2005).

A pesar de que la luz es un recurso indispensable para las plantas, tanto niveles excesivos como muy bajos pueden limitar el desarrollo de las mismas. La escasez de un recurso limitante, tal como la luz, compromete la supervivencia y el crecimiento, mientras que un exceso de este recurso expone a las plantas a la fotoinhibición, a condiciones de altas temperaturas y a la desecación. Para adaptarse a esta situación las plantas requieren de cierta inversión en mecanismos de protección que incluyen caminos alternativos de disipación de la energía y múltiples sistemas antioxidantes (revisado en Demming-Adams y Adams 2006). Dependiendo del nivel y la duración de la exposición a la radiación solar los mecanismos de fotoprotección pueden involucrar la disipación flexible de la energía solar o la disipación sostenida que requiere el rearrreglo o degradación de ciertas partes del fotosistema II (Demming-Adams y Adams 2006). En general se postula que las especies de crecimiento lento, con baja capacidad fotosintética tendrían mayor capacidad para disipar de manera flexible el exceso de la energía solar absorbida, en comparación a las especies de crecimiento rápido (Demming-Adams y Adams 2006) posiblemente porque estas últimas utilizan una fracción mayor de la luz solar para la fotosíntesis y el crecimiento. Por lo tanto, las diferencias interespecíficas en cuanto a la supervivencia y el crecimiento de las especies a lo largo de un gradiente de recursos puede ser un factor clave en el control de la estructura y dinámica de una comunidad de plantas (Fyllas et al. 2009, Patiño et al. 2009).

Comparados con la luz, los nutrientes del suelo explicarían una baja proporción de la variación en el crecimiento de las plantas en los bosques tropicales (Cai et al. 2008). Sin embargo, los recursos como la luz, el agua y los nutrientes se encuentran interrelacionados. Entre los cambios físicos que ocurren a nivel del suelo asociados a la apertura del dosel se encuentran los aumentos en el contenido de agua del suelo, la radiación solar y la temperatura (van Dam 2001, Clinton 2003, Abd Latif y Blackburn 2010). Estos cambios ambientales pueden afectar en forma de cascada otros procesos ecosistémicos básicos como el ciclado de nutrientes, al aumentar las tasas de descomposición de la materia orgánica y la mineralización (Denslow et al. 1998, Ritter 2005, Scharenbroch y Bockheim, 2007). Por lo tanto, cambios en el ambiente lumínico pueden ocasionar cambios en la disponibilidad de nutrientes en el suelo tal como

sucede a lo largo del gradiente entre un claro y el sotobosque, en donde generalmente la disponibilidad de luz y la de nutrientes se encuentran negativamente relacionadas (Bazzaz y Wayne 1994, Fownes y Harrington 2004).

Aunque a menudo el nitrógeno es el elemento limitante en la producción de biomasa, existen muchas evidencias de que en suelos tropicales el fósforo también es limitante (Vitousek y Sanford 1986, Tanner et al. 1998, Elser et al. 2007). En el Bosque Atlántico semi-caducifolio (BAs), específicamente en la provincia de Misiones, el contenido de nitrógeno (N) de los suelos se encuentra en concentraciones relativamente altas, mientras que el fósforo (P) presenta bajas concentraciones (Vazquez et al. 1998, Montti 2010). De este fósforo total en general es poco lo que está disponible para las plantas, en parte debido a que en suelos antiguos y muy meteorizados, como en los de muchas regiones de bosques tropicales, la adquisición de fósforo por las plantas estaría regulada por el balance de entradas y salidas de compuestos de fósforo orgánico al sistema y el rápido reciclaje del fósforo de la hojarasca (Condon y Tiessen 2005).

Aunque la relación entre los recursos luz y nutrientes y el crecimiento y supervivencia de las plantas es parte del conocimiento central de la ecología de plantas, son escasos los estudios que abordan estos aspectos en condiciones experimentales de campo en bosques tropicales o subtropicales especialmente aquellos relacionados con disponibilidad de nutrientes (Dent y Burslem 2006, Baraloto et al. 2006, Campo y Vázquez-Yanes 2004, Davidson et al. 2004, Yavitt y Wright 2008). El objetivo de este trabajo fue evaluar el crecimiento y la supervivencia de 6 especies de árboles de dosel con distinto grado de tolerancia a la sombra que coexisten en el Bosque Atlántico de Misiones en respuesta a cambios en la disponibilidad de luz y de nutrientes en el suelo. Para ello se realizó un experimento a campo en sitios bajo dos condiciones de radiación (en el sotobosque y en claros) y con diferente disponibilidad de nutrientes como resultado de la fertilización a largo plazo. Algunas preguntas formuladas en este estudio fueron: ¿Existe un compromiso entre una mayor supervivencia de las especies en el sotobosque y mayores tasas de crecimiento en los claros?, ¿Es el nitrógeno o el fósforo el nutriente limitante del crecimiento en estos bosques?, ¿Un aumento en la disponibilidad de nutrientes tiene mayores efectos en las plantas que poseen tasas de crecimiento más altas? Se midió la fotoinhibición de las plantas y la tasa de transporte de electrones bajo diferente disponibilidad de luz y se evaluó además si la adición de nutrientes estimula la capacidad fotosintética cuando la luz no es limitante. Se espera que en el sotobosque las plantas no sean capaces de responder a la adición de nutrientes, bajo la hipótesis de que la limitación por luz no les permite responder

a un incremento en la disponibilidad de nutrientes, y que bajo condiciones de alta radiación los renovales de las distintas especies muestren diferente comportamiento frente al aumento en la disponibilidad de nutrientes dependiendo de su grado de tolerancia a la sombra. Aquellas plantas de especies menos tolerantes y de mayor crecimiento mostrarán una mayor respuesta que las plantas más tolerantes a sombra. Por otra parte se espera que entre los nutrientes, el fósforo sea más limitante que el nitrógeno.

Materiales y Métodos

Área de Estudio y diseño experimental

El experimento se llevó a cabo en 40 parcelas permanentes instaladas dentro de la Reserva del Parque Nacional Iguazú (25°31' - 25°43'S y 54°08' - 54°32'O). En conjunto la Reserva Nacional Iguazú y el Parque Nacional Iguazú (PNI) ocupan una superficie de 67.000 hectáreas pertenecientes a la ecoregión del Bosque Atlántico Semi-caducifolio de Misiones. El área de Reserva estuvo sujeta a explotación forestal legal hasta 1927 (Devoto y Rothkugel 1936), aunque habrían proseguido de manera ilegal hasta la creación del PNI en 1934. Esta área de Reserva se mantuvo habitada por pequeños chacareros hasta la década del 80 (Placci y Giorgis 1993). Actualmente el PNI presenta una cobertura vegetal en recuperación avanzada y con buen estado de conservación en comparación a otros bosques de la provincia de Misiones (Srur et al. 2008, Carpinetti 2010). El suelo del sitio de estudio corresponde a un Ultisol, del tipo Kandudult (Ligier 1990).

El diseño experimental consistió en un arreglo de parcelas divididas (split-plot) en donde la mitad de las parcelas se encuentra ubicada en sitios con un dosel arbóreo cerrado (sotobosque) y la otra mitad en claros naturales (claro). Cada una de las parcelas tiene una superficie de 15 m x 15 m y cuenta con un área de amortiguación de 5 m a cada lado (Figura 1). Las parcelas se encuentran instaladas en un área homogénea en cuanto al tipo de bosque, elevación y pendiente. En las parcelas con claros se realizó en forma periódica un corte del estrato herbáceo para mantener constante la disponibilidad de luz en los renovales bajo estudio. Las áreas de amortiguación recibieron los mismos tratamientos que las parcelas.

A cada parcela se le asignó al azar uno de los siguientes tratamientos de fertilización: N (100 kg/ha año, mitad urea y mitad nitrato de amonio), P (100 kg/ha año, superfosfato triple de calcio), N+P (100 kg/ha año, mitad urea y mitad nitrato de amonio y 100 kg/ha año de superfosfato triple de calcio) y el control (sin adición de fertilizante). La adición de los nutrientes

se realizó al boleo con fertilizante granulado en 3 aplicaciones anuales de aproximadamente 33 kg/ha año para completar el total durante 3 años.

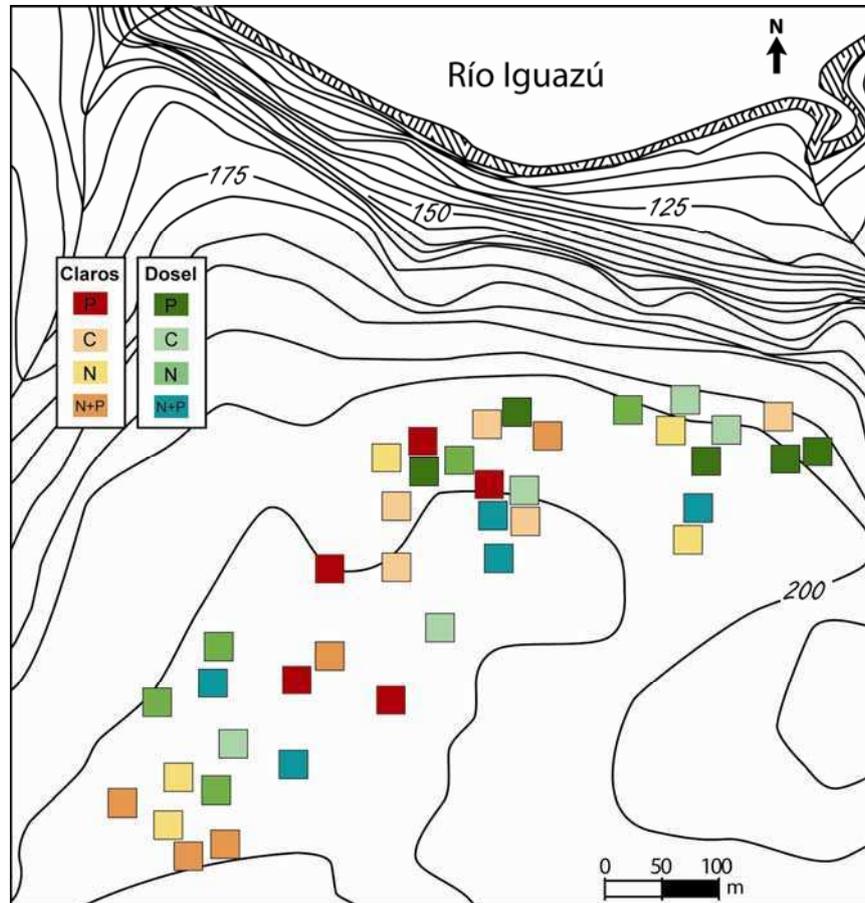


Figura 1. Ubicación y distribución de las parcelas en el área de Reserva del Parque Nacional Iguazú (ver también Cap. 1, Fig. 1). La ubicación de las parcelas fue georreferenciada. El esquema de las parcelas en el gráfico incluye el área de amortiguación.

Condiciones ambientales

Durante el inicio de los tratamientos se tomaron muestras compuestas de suelo de 0 a 10 cm de profundidad para conocer la disponibilidad de nitrógeno y fósforo. Las muestras fueron secadas al aire, tamizadas en malla de 2mm y guardadas en bolsas plásticas para la realización de los análisis químicos (4 muestras por parcela – Ver Figura 2). La determinación de N total se realizó en 5gr del material tamizado, al cual se le agregó 25 ml de KCl 2N y se lo agitó por 2 minutos, y

luego de un reposo de 24hs se lo filtró. La determinación del contenido de N total se realizó por microdestilación por arrastre de vapor (Keeney y Nelson 1982). La determinación de P se realizó por el método de Olsen modificado (técnica original descrita en van Reeuwijk (1986)). Los análisis de determinación se realizaron en el Instituto de Suelos del INTA Castelar (resultados en Anexo 2 – Tabla anexo complementario 4).

Para obtener la proporción de la radiación solar total incidente en cada parcela se utilizó una lente hemisférica colocada en un monópode autonivelador (Delta-T Devices Ltd., Cambridge, Inglaterra) y conectado a una cámara digital Nikon Coolpix 950. A mediados del mes de febrero de 2006 se tomaron fotografías hemisféricas en el centro de cada una de las parcelas a 0,7 m y a 2 m de altura sobre la superficie del suelo (Figura 2). Las imágenes se analizaron posteriormente con el programa Hemiview. Por otra parte, entre febrero y abril del mismo año se registró cada 5 minutos la temperatura del aire utilizando sistemas automáticos de adquisición de datos (HOBO® termocupla Tipo T, Onset, Computer Corp., MA, USA) con sensores de temperatura construidos en el laboratorio con cables de termocupla (cobre + constantán).

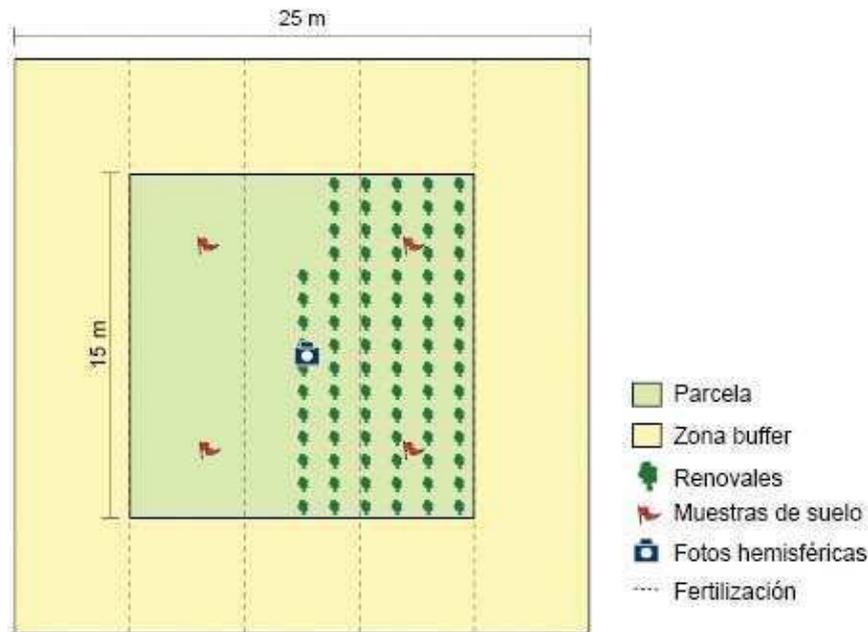


Figura 2. Representación del diseño de cada parcela en donde se detalla el tamaño de la parcela y el área de amortiguación, la ubicación de los renovales, de la toma de muestras de suelo y de fotos hemisféricas, así como los carriles en que se dividió la parcela para la aplicación del fertilizante granulado.

Crecimiento y supervivencia de los renovales

Se seleccionaron seis especies abundantes, que varían en su requerimiento lumínico (Carvalho 2003, Campanello et al. 2011, Gatti et al. 2011). En orden decreciente de tolerancia a la sombra, las especies fueron: *Euterpe edulis* Martius (Arecaceae), *Balfourodendron riedelianum* (Engl.) Engl. (Rutaceae), *Cordia americana* (L.) Gottschling & J.S. Mill. (Boraginaceae), *Maclura tinctoria* (L.) Steud. ssp. *tinctoria* (Moraceae), *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae) y *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. (Fabaceae). La tasa máxima de transporte de electrones va de $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (en *E. edulis*, la especie más tolerante a la sombra) a $150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (en *P. dubium* la especie con mayores requerimientos de luz) (Campanello et al. 2011, Gatti et al. 2011). Las plantas utilizadas en el experimento fueron obtenidas de semillas cosechadas de varios árboles adultos pertenecientes al área de estudio. Los renovales se hicieron crecer en vivero durante aproximadamente 6 meses y luego se llevaron al campo. Durante junio de 2004 se plantaron dentro de cada parcela 15 individuos de *P. dubium*, *M. tinctoria* y *E. edulis*, 14 individuos de *C.*

americana, 13 de *B. riedelianum* y 11 de *C. fissilis*. Dichos individuos se distribuyeron al azar a una distancia de 1m uno de otro (Fig. 2) y se identificaron con un rótulo metálico numerado.

En febrero de 2005 se midió la altura de cada renoval y el diámetro a la altura del cuello en donde se le realizó una marca permanente con pintura. Estas mediciones se repitieron en abril de 2006 y de 2007. Además se estimó el área foliar total (AFT) por especie en las parcelas de claros en marzo de 2005 y 2006, contando los hojas de cada renoval y tomando algunas hojas de muestra para determinar su área luego de escanearlas y analizarlas con el software *Leaf Area Measurement* (V.1.3. Copywrite 2003, Sheffield University; www.shef.ac.uk). Cuando fue necesario se realizó un conteo de hojas en forma estratificada por clases de tamaño. Las mediciones de AFT no se repitieron en 2007.

El crecimiento relativo de cada renoval se calculó utilizando la siguiente fórmula: $((\text{valor final} - \text{valor inicial}) / \text{valor inicial})$, tanto para diámetro, altura y área foliar total. Por ello la variable de crecimiento relativo no tiene unidades. Luego los valores se promediaron por especie y por parcela. Los valores de crecimiento en diámetro y altura corresponden a los años 2005 y 2007 y de área foliar total corresponden a los años 2005 y 2006.

Características fotosintéticas

Especies y tratamientos

Los estudios llevados a cabo en esta sección se realizaron en parcelas de claros bajo los cuatro tratamientos de fertilización: C, N, P y N+P y en parcelas control en el sotobosque. Las mediciones en claros se realizaron en *B. riedelianum*, *C. fissilis*, *C. americana*, *E. edulis*, *M. tinctoria* y *P. dubium*. En el sotobosque no se pudieron estudiar *C. fissilis* y *P. dubium* porque no sobrevivieron en esas condiciones de radiación. Debido a la imposibilidad de realizar estos estudios en todos los tratamientos simultáneamente, se priorizaron aquellos tratamientos que mostraban diferencias en crecimiento como respuesta a la fertilización. Se seleccionó una parcela de claro de cada tratamiento de nutrientes para comparar los parámetros fotosintéticos a medir, dado que el experimento se realizó a campo bajo condiciones semi-controladas. Dicha elección se realizó teniendo en cuenta la mayor homogeneidad posible en cuanto a la proporción de la radiación solar incidente en el centro de las parcelas. La radiación total promedio de las parcelas de claros fue de $35 \pm 7\%$ a los 0.7 m de altura sobre el nivel del suelo según el análisis de las fotos hemisféricas. La parcela de sotobosque (parcela control para el tratamiento de nutrientes) elegida tenía un 6% de la radiación total incidente. En cada parcela se seleccionaron varios individuos de las distintas especies según el estado sanitario de las

plantas, la exposición al sol y el tamaño. Las mediciones se realizaron durante los meses de noviembre y diciembre de 2006 y enero, febrero y marzo de 2007. En los distintos experimentos se utilizaron hojas expuestas al sol con un mes de desarrollo aproximadamente, respetando la orientación y posición de cada hoja.

Rendimiento cuántico potencial del PSII y curvas de respuesta a la luz

Para conocer la capacidad fotosintética de las plantas se realizaron mediciones de distintos parámetros utilizando un equipo de cinética de fluorescencia modulada (MiniPam; Walz, Effeltrich, Germany). Se midió el rendimiento cuántico potencial del fotosistema II (PSII), F_v/F_m , en donde $F_v = F_m - F_o$, y F_m y F_o son la eficiencia máxima y mínima respectivamente de una hoja adaptada a la oscuridad, cuando todos los centros de reacción se encuentran en estado oxidado (Barth et al. 2001). Esta determinación no se realizó al amanecer sino aplicando un pulso de luz saturante luego de mantener las hojas durante 20 minutos en oscuridad para recuperar la fluorescencia máxima de la clorofila a durante las primeras horas de la mañana. Se ha demostrado que las plantas que poseen valores de F_v/F_m cercanos a 0.8, poseen el aparato fotosintético intacto mientras que las plantas que presentan valores menores se encuentran fotoinhibidas (Björkman y Demming 1987), por ello se controló que las plantas elegidas tuvieran valores de F_v/F_m cercanos a 0.8. Después de obtener ese valor se desarrolló una curva de respuesta a la luz iluminando cada hoja con una luz halógena externa (Leaf Clip Holder 2030-B; Walz). De esta manera se registró la variación de $\Delta F/F'_m$ en función de la intensidad de luz recibida. Este parámetro se calculó como $(F'_m - F)/F'_m$ donde F'_m y F son los niveles de fluorescencia máximo y mínimo transitorio alcanzados durante un periodo de iluminación. Se aplicaron intensidades crecientes de luz sobre cada hoja, cada una de ellas durante 5 minutos o hasta que se alcanzara un estabilidad en la fluorescencia basal y luego se aplicó un pulso de luz saturante para obtener el valor de $\Delta F/F'_m$ a esa radiación. Los pulsos saturantes de luz aplicados en todos los casos fueron de $2000 \mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$ durante 0,8 segundos. La tasa de transporte de electrones (ETR, por sus siglas en inglés) se calculó como:

$$\text{ETR} = 0.5 \alpha (\Delta F/F'_m) \text{PPF}$$

Donde α corresponde a la absorbancia foliar y el valor de 0.5 se utiliza por considerar una distribución pareja entre los dos fotosistemas, ya que el rendimiento cuántico estimado por el MiniPam corresponde sólo al fotosistema II. Se utilizó un $\alpha=0.84$ para los cálculos de acuerdo a Björkman y Demming (1987).

La tasa máxima de transporte de electrones (ETR_{max}) de cada individuo se calculó a partir de cada una de las curvas construidas según Rascher y colaboradores (2000) utilizando la función exponencial:

$$y = a (1 - e^{-bx}),$$

donde el parámetro “ a ” corresponde al ETR_{max} , “ x ” a la densidad de flujo de fotones e “ y ” corresponde a $\Delta F/F'm$. A partir de esas curvas se obtuvo también el punto de saturación de luz como el nivel en el cual las plantas alcanzaron el 90% del ETR_{max} (Franco y Lütge 2002). Los valores individuales de ETR_{max} fueron promediados según el tratamiento correspondiente. La capacidad de fijar CO_2 y la tasa de transporte de electrones se encuentran estrecha y directamente relacionadas (Wullschleger 1993).

Recuperación de la fotoinhibición

Se realizó un experimento para conocer la susceptibilidad a la fotoinhibición y la velocidad de recuperación de la capacidad fotosintética de las distintas especies de los tratamientos control creciendo en el sotobosque o en los claros. Como la disminución en $\Delta F/F_m$ es un indicador del grado de inactivación del PSII (Barth et al. 2001) se seleccionaron en cada parcela 3 individuos de cada especie, los cuales fueron sometidos a oscuridad durante 30 minutos. Utilizando el equipo de cinética de fluorescencia se estimó el $\Delta F/F_m$ 3 veces en cada hoja adaptada a la oscuridad, esperando 5 minutos entre cada estimación. Posteriormente, utilizando una lámpara halógena, los individuos fueron sometidos a una radiación directa saturante de $2.500 \mu\text{moles de fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ durante 20 minutos para lograr fotoinhibición. Luego, se colocaron nuevamente a una intensidad de luz sub-saturante (aprox. $20 \mu\text{moles de fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y se volvió a medir el rendimiento cuántico a pequeños intervalos durante 40 minutos totales de manera de observar la recuperación de la actividad del PSII a través del tiempo.

Análisis de datos

Para evaluar la supervivencia y el crecimiento a nivel de comunidad y de especie se realizó un análisis de covarianza utilizando modelos lineales generales y mixtos con el fin de determinar diferencias significativas entre los tratamientos. En los casos en que se rechazó la hipótesis de igualdad de tratamientos se utilizó la prueba de comparación de medias LSD de Fisher a una significancia de 0.05. Para evaluar el supuesto de homogeneidad de varianzas se modelaron los datos con varianzas homogéneas y heterogéneas y los modelos resultantes fueron comparados utilizando el criterio de información de Akaike (AIC, Burnham y Anderson 1998), cuanto menor

el valor de AIC, mejor el ajuste del modelo. Los datos fueron analizados mediante el programa estadístico InfoStat versión 2009 (Di Rienzo et al. 2009). Para el análisis se utilizó un modelo completamente aleatorizado en parcelas divididas, donde el factor principal fue la luz (claro y sotobosque) y la subparcela fue el factor nutrientes (C, N, P y N+P), y se utilizó como covariable el radiación solar recibida en el centro de cada parcela. El modelo estadístico de análisis fue:

$$Y_{ijkm} = \mu + \tau_i + \gamma_j + \rho_m + \delta_{ij} + b_k + \varepsilon_{ijkm}$$

donde Y_{ijkm} representa la respuesta observada en i -ésimo nivel del factor luz, j -ésimo nivel del factor nutrientes, en la k -ésima parcela y el m -ésimo nivel de la covariable, μ representa la media general de la respuesta, τ_i representa el efecto del i -ésimo nivel del factor asociado a las parcelas principales (luz), γ_j representa el efecto del j -ésimo nivel del factor nutrientes, ρ_m representa el efecto de la covariable y δ_{ij} la interacción correspondiente a los factores luz y nutrientes. Por otra parte b_k y ε_{ijkm} representan los efectos aleatorios de las parcelas y de los errores experimentales respectivamente. Las suposiciones sobre estos componentes aleatorios son que $b_k \sim N(0, \sigma_b^2)$, y que $\varepsilon_{ijkm} \sim N(0, \sigma_b^2)$ (o sea que tienen una distribución normal igual a cero y varianza igual a σ^2), y que estas dos componentes aleatorias son independientes. El efecto de las parcelas puede ser considerado aleatorio ya que su respuesta dependerá entre otras cosas de condiciones ambientales que no son predecibles. La datos de la variable supervivencia fueron transformados con $\arcsen(\text{raíz}(x))$.

Para evaluar el efecto de los tratamientos de fertilización sobre el ETR_{\max} y para comparar el ETR_{\max} de las parcelas control entre claros y sotobosque y entre especies se realizaron análisis de varianza de efectos fijos usando modelos lineales generales y mixtos. Para realizar comparaciones múltiples entre medias se utilizó la prueba de LSD Fisher a un nivel de significación de 0.05. Para realizar comparaciones entre los datos normalizados con respecto al control se realizaron pruebas de contrastes a un nivel de significación de 0.05. Por otro lado, se ajustó una función sigmoidea a los datos de la relación entre el crecimiento relativo en diámetro de cada especie en cada parcela y el porcentaje de radiación solar en el centro de cada parcela y entre supervivencia de cada especie en cada parcela y el porcentaje de radiación solar en el centro de cada parcela. Además se ajustó una relación lineal entre el crecimiento relativo en área foliar total y el ETR_{\max} . Los datos fueron transformados logarítmicamente cuando fue necesario.

Resultados

Supervivencia y crecimiento

Teniendo en cuenta a todas las especies estudiadas los nutrientes no tuvieron efectos sobre la supervivencia de los individuos, en cambio una mayor disponibilidad de luz tuvo un efecto positivo marginalmente significativo ($F= 3.58$, $gl=1$, $P= 0.059$). A nivel de cada especie, *C. americana*, *B. riedelianum* y *E. edulis* fueron las especies que más sobrevivieron en el sotobosque (Tabla 2). La especie *C. americana* tuvo una supervivencia similar en todas las condiciones de crecimiento. Por el contrario *E. edulis*, *C. fissilis* y *P. dubium* sobrevivieron exclusivamente en una de las dos condiciones de radiación. El 90% de los individuos de *E. edulis* murió en condiciones de alta radiación solar y sólo lo hizo un 40% en el sotobosque, mientras que *C. fissilis* y *P. dubium* respondieron de manera inversa, más del 90% de los individuos murieron en el sotobosque y solo entre el 50% y 60% en los claros (Tabla 2). Se observó una interacción de efectos entre la luz y los nutrientes en la supervivencia de *B. riedelianum* y *P. dubium* ($F=4.62$, $gl=3$, $p<0.001$ y $F=7.05$, $gl=3$, $p<0.001$ respectivamente). En ambas especies, la adición de P disminuye la supervivencia en los claros y la adición de N revierte parcialmente el efecto negativo del fósforo. En los claros la adición de P redujo la supervivencia de *P. dubium* hasta niveles similares a los encontrados en el sotobosque (Fig. 3).

La altura de las plantas creciendo en los claros se incrementó en dos años entre 600 y 1400% con respecto al tamaño inicial, mientras que en el sotobosque en general el crecimiento en altura no superó el 100% (Fig.4). La adición de nutrientes produjo cambios menos notorios que la luz. En el sotobosque, la adición de nutrientes afectó el crecimiento en una sola especie, *E. edulis*, quien aumentó significativamente la altura con la adición de P y especialmente de N+P con respecto al control (Fig. 4A). En los claros, hubo una tendencia en todas las especies a aumentar el crecimiento en altura al fertilizar con N+P, aunque estas diferencias con respecto al control fueron estadísticamente significativas sólo para *C. americana* (Fig. 4C).

El crecimiento en diámetro mostró las mismas tendencias con respecto a la luz que el crecimiento en altura: las diferencias entre claros y sotobosque fueron estadísticamente significativas (*B. riedelianum*, $F=250.4$ $gl=1$, $p<0.0001$; *C. americana*, $F=281.4$ $gl=1$, $p<0.0001$; *M. tinctoria*, $F=304.4$ $gl=1$, $p<0.0001$). En el sotobosque no se encontraron diferencias en el crecimiento en diámetro entre las plantas que crecieron en las parcelas control y las fertilizadas, en cambio en los claros la adición de nutrientes produjo un aumento de crecimiento en diámetro de entre 25 y 50% con respecto al control. Particularmente, se observaron diferencias

significativas con la adición de N+P en el crecimiento de *C. americana* y *M. tinctoria* (Fig.4D). El área foliar total de las plantas creciendo en los claros aumentó entre 1.7 y 2.5 veces en todas las especies con la adición de N+P con respecto al control, pero las diferencias fueron significativas sólo para *M. tinctoria* y *P. dubium* (Fig. 5).

La proporción de radiación solar promedio que llegaba al centro de la parcela afectó el crecimiento relativo en diámetro de todas las especies estudiadas indistintamente del agregado de nutrientes (Fig. 6). La relación entre el crecimiento en diámetro y la proporción de radiación fue distinta entre las especies, pero en general todas, excepto *E. edulis*, aumentaron el crecimiento al aumentar la proporción de radiación solar recibida en el centro de las parcelas. Por ejemplo *B. riedelianum*, *C. americana* y *M. tinctoria* mostraron una relación similar, aunque *M. tinctoria* mostró una relación entre crecimiento y radiación más pronunciada que las otras dos especies. En cambio *C. fissilis* y *P. dubium* no crecen si la radiación solar en la parcela era menor al 20% y por encima de ese porcentaje su crecimiento fue mayor pero constante ante el aumento de la radiación solar. Por el contrario *E. edulis* mostró una relación inversa entre el crecimiento y la proporción de radiación solar en la parcela y aunque los valores de crecimiento relativo fueron menores a los del resto de las especies, en condiciones de baja radiación la especie alcanzó los mayores valores de crecimiento. Por otro lado la proporción de radiación solar produjo un aumento en la supervivencia en todas las especies excepto en *E. edulis* (Fig. 7). La relación entre la supervivencia y la radiación solar muestra los diferentes patrones de respuesta de las especies, algunas como *E. edulis*, *C. americana* y *B. riedelianum* pueden sobrevivir con muy bajos niveles de luz, otras como *M. tinctoria*, *C. fissilis* y *P. dubium* requieren niveles más altos (10, 20 y 25% de radiación solar respectivamente) para que sobrevivan el 50% de los individuos.

Atributos fotosintéticos

La eficiencia máxima del fotosistema II (valores de F_v/f_m en oscuridad) fue similar entre las distintas especies en las parcelas control de claro y sotobosque y cercanos a 0.8 (Fig. 8A y C). El experimento de fotoinhibición redujo los valores de F_v/f_m medidos en oscuridad a un 30-50% en el caso de las plantas creciendo en el sotobosque y a 40-60% en las plantas creciendo en los claros (Fig. 8). La recuperación de la capacidad fotosintética alcanzó valores de 62 a 75% del valor inicial en las especies creciendo en el sotobosque y la velocidad de recuperación tuvo el siguiente orden: *C. americana*, *M. tinctoria*, *B. riedelianum* y *E. edulis*. En cambio en los claros la velocidad de recuperación cambió el orden de las especies, *E. edulis* fue la especie que se recuperó más rápido, alcanzando un promedio de 91% del valor de F_v/F_m medido en oscuridad,

luego de 20 minutos de recuperación de la radiación saturante aplicada; le siguieron en orden *B. riedelianum*, *P. dubium*, *C. americana*, *M. tinctoria* y por último *C. fissilis* que alcanzó a recuperar el 78% de su capacidad fotosintética. Se encontraron diferencias estadísticas en los porcentajes de recuperación de la fotoinhibición entre especies en el sotobosque en donde *C. americana* se recuperó más rápido que *E. edulis* y las otras dos especies presentaron porcentajes de recuperación intermedios (Fig. 8B). En los claros, *E. edulis* y *B. riedelianum* recuperaron un porcentaje mayor que *C. fissilis* y que *M. tinctoria* (Fig. 8D). Además la recuperación fue mayor en los claros que en el sotobosque en 2 de las 4 especies estudiadas: *B. riedelianum* y *E. edulis* ($F= 172.9$ $gl= 1$, $p<0.05$; $F= 126.8$ $gl= 1$, $p<0.05$).

La tasa de transporte de electrones fue medida en plantas de las parcelas control de claro y sotobosque para evaluar el efecto de la disponibilidad de luz durante el crecimiento sobre esta variable. En todas las especies el ETR aumentó de forma asintótica con el incremento en la densidad de flujo fotónico fotosintético (DFFF) (Fig. 9). El ETR máximo (ETR_{max}) fue más alto en los claros que en el sotobosque ($F= 16.89$; $gl= 1$; $p<0.001$). Las curvas de respuesta a la luz difirieron entre las especies en una misma condición de luz (claros $F= 4.53$; $gl= 4$; $p = 0.0134$; sotobosque $F= 77.13$; $gl= 3$; $p<0.0001$), siguiendo el siguiente ranking en los claros: *M. tinctoria*, *C. fissilis*, *P. dubium*, *C. americana* y *B. riedelianum*; y en el sotobosque un ranking similar: *M. tinctoria*, *C. americana*, *B. riedelianum* y *E. edulis* (Fig. 9). Además se encontraron diferencias en el ETR_{max} para una misma especie dependiendo de si creció con mayor o menor disponibilidad de luz (Fig 9). Para las 3 especies que se estudiaron tanto en claros como en el sotobosque, el aumento en ETR_{max} en los claros fue significativo para *B. riedelianum* ($F= 13.70$; $gl= 1$; $p<0.05$) y *C. americana* ($F= 34.24$; $gl=1$; $p<0.01$) pero no para *M. tinctoria* ($F= 1.70$; $gl= 1$; $p=0.2495$).

La respuesta del ETR_{max} a la adición de nutrientes fue estudiada sólo en los claros, en donde las plantas estaban menos limitadas por la radiación. Al considerar a todas las especies de cada tratamiento como un único conjunto de datos se observó que la fertilización con N aumentó significativamente el ETR_{max} con respecto al control (Fig. 10), pero al analizar los resultados en cada una de las especies por separado, la única en la que se observaron diferencias significativas fue en *B. riedelianum*, en la cual tanto la adición de N como la de N+P incrementaron el ETR_{max} con respecto al control y al tratamiento de adición de P (Tabla 3). Por otro lado se observó una correlación positiva entre ETR_{max} y el crecimiento en área foliar total (Fig. 11). Las especies con mayor crecimiento en área foliar (*C. fissilis* y *M. tinctoria*) presentaron a su vez mayor capacidad fotosintética.

Tabla 1. Variables ambientales registradas bajo las dos condiciones de radiación estudiadas (sotobosque y claro) en el área de la Reserva del Parque Nacional Iguazú. Los valores corresponden a la media \pm error estándar ($n= 19-20$ para los datos de % de radiación solar y $n=5$ para los datos de temperatura del aire y nutrientes en el suelo). Los valores de temperatura corresponden a los meses de febrero - abril de 2006. Los valores de nutrientes en el suelo corresponden a muestras obtenidas en el tratamiento control de sotobosque y claro.

Variable	Sotobosque	Claro
/ Radiación solar	10 \pm 3	28 \pm 2
Temperatura del aire máxima promedio diaria (°C)	28.6 \pm 0.3	30.8 \pm 0.5
Temperatura del aire mínima promedio diaria (°C)	20.9 \pm 0.3	20.7 \pm 0.3
N total en suelo (ppm)	12.2 \pm 1.5	12.8 \pm 2.0
P en suelo (ppm)	3.8 \pm 0.4	3.0 \pm 0.3

Tabla 2. Supervivencia de los renovales de las distintas especies plantadas bajo dos condiciones de radiación (sotobosque y claro) a lo largo de 2 años. Los valores corresponden a la media y el error estándar de 20 parcelas, en cada una de ellas se plantaron más de 10 individuos de cada especie. Las letras distintas indican diferencias significativas entre las especies dentro de cada tratamiento de luz y el asterisco indica diferencias de supervivencia entre condiciones de luz para una misma especie ($P < 0.05$; LSD Fisher luego de un análisis de parcelas divididas en DCA y la proporción de radiación solar de cada parcela como covariable).

Especies	Supervivencia (/)			
	Sotobosque		Claro	
	Media	EE	Media	EE
<i>Euterpe edulis</i>	0.60	0.05 b *	0.09	0.04 e *
<i>Balfourodendron riedelianum</i>	0.75	0.04 a *	0.83	0.03 ab *
<i>Cordia americana</i>	0.84	0.03 a	0.86	0.03 a
<i>Maclura tinctoria</i>	0.42	0.03 c *	0.74	0.03 b *
<i>Cedrela fissilis</i>	0.09	0.04 d *	0.54	0.03 c *
<i>Peltophorum dubium</i>	0.06	0.02 d *	0.42	0.05 d *

Tabla 3. Tasa de transporte de electrones máxima (ETR_{max}) medida en renovales de 5 especies creciendo en los claros bajo cuatro tratamientos de disponibilidad de nutrientes (C, N, P y N+P). Los valores corresponden a la media \pm error estándar ($n= 3$ a 6 dependiendo de la especie y el tratamiento). Las letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos dentro de cada especie ($P < 0.05$; LSD Fisher luego de un análisis de varianzas).

Especies	ETR_{max} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)											
	Tratamientos											
	C		N		P		N+P					
	Media	EE	Media	EE	Media	EE	Media	EE				
<i>B. riedelianum</i>	73.7	3.64	a	112.3	9.00	b	78.76	7.81	a	104.4	10.82	b
<i>C. americana</i>	103.9	5.91		123.3	15.27		89.33	7.22		92.68	4.11	
<i>M. tinctoria</i>	140.7	16.08		179.7	8.21		154.3	12.38		142.9	19.49	
<i>C. fissilis</i>	123.7	19.77		149.8	14.87							
<i>P. dubium</i>	117.3	12.76		130.1	19.33					144.5	15.24	

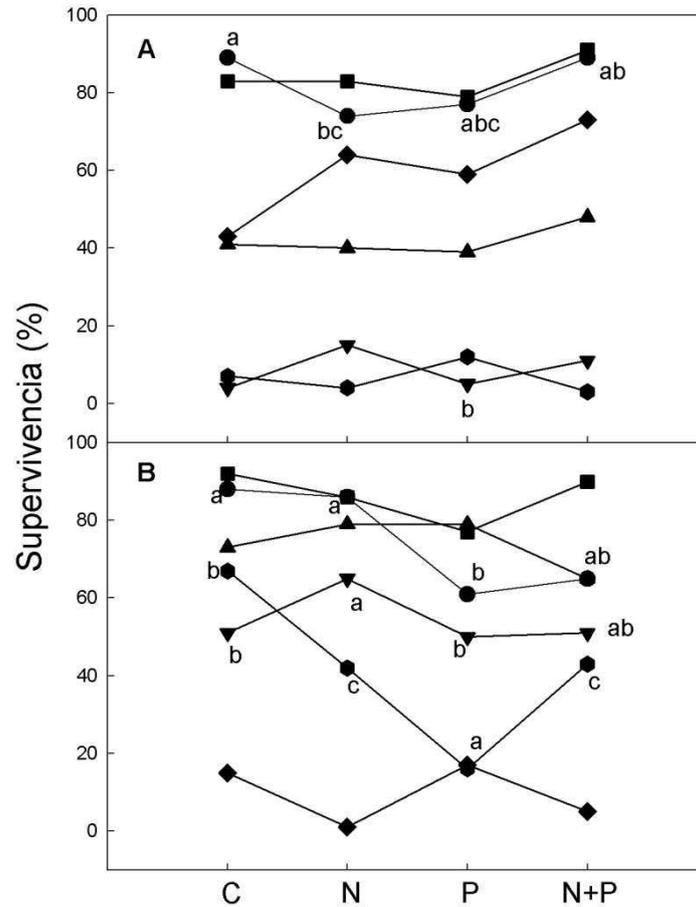


Figura 3. Supervivencia de los renovales de las distintas especies luego de 2 años en A) sotobosque y B) claros. Los valores corresponden a la media de 5 réplicas, en cada una de ellas se plantaron más de 10 individuos de cada especie. Las letras indican diferencias significativas ($P < 0.05$; LSD Fisher luego de un análisis de parcelas divididas en DCA y proporción de la radiación total de cada parcela como covariable). Las especies son *E. edulis* (rombo), *B. riedelianum* (círculo), *C. americana* (cuadrado), *M. tinctoria* (triángulo hacia arriba), *C. fissilis* (triángulo hacia abajo), y *P. dubium* (hexágono). Los errores estándar no están presentados en el gráfico para mejorar la visualización pero pueden ser consultados en el Anexo2 (Tabla anexo suplementario 1).

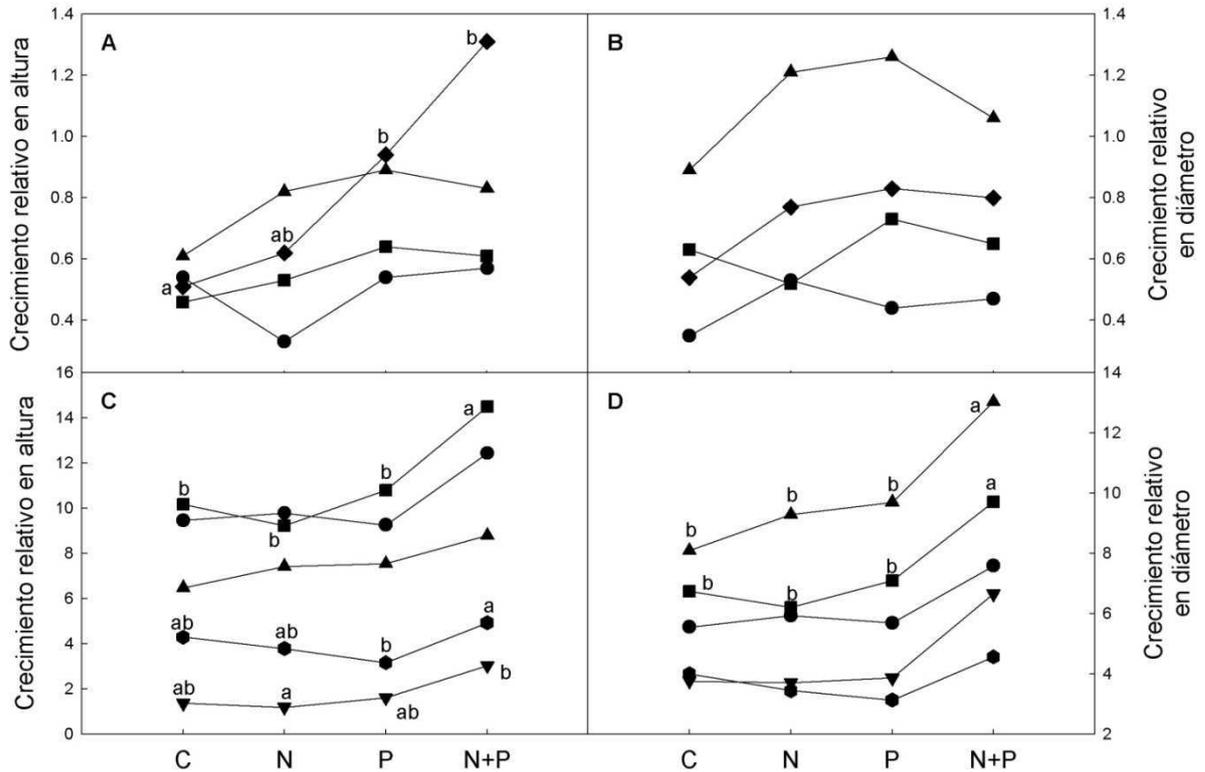


Figura 4. Crecimiento relativo en altura y diámetro de los renovales de las distintas especies luego de 2 años en el sotobosque (A y B) y en los claros (C y D). Los valores corresponden a la media de 5 réplicas, en cada una de ellas se plantaron más de 10 individuos de cada especie. Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$; LSD Fisher luego de un análisis de parcelas divididas en DCA y proporción de la radiación total de cada parcela como covariable). Las especies son *E. edulis* (rombo), *B. riedelianum* (círculo), *C. americana* (cuadrado), *M. tinctoria* (triángulo hacia arriba), *C. fissilis* (triángulo hacia abajo), y *P. dubium* (hexágono). Los errores estándar no están presentados en el gráfico para mejorar la visualización pero pueden ser consultados en el Anexo 2 (Tablas anexo suplementario 2 y 3). Notar que las escalas entre los paneles superiores e inferiores son diferentes.

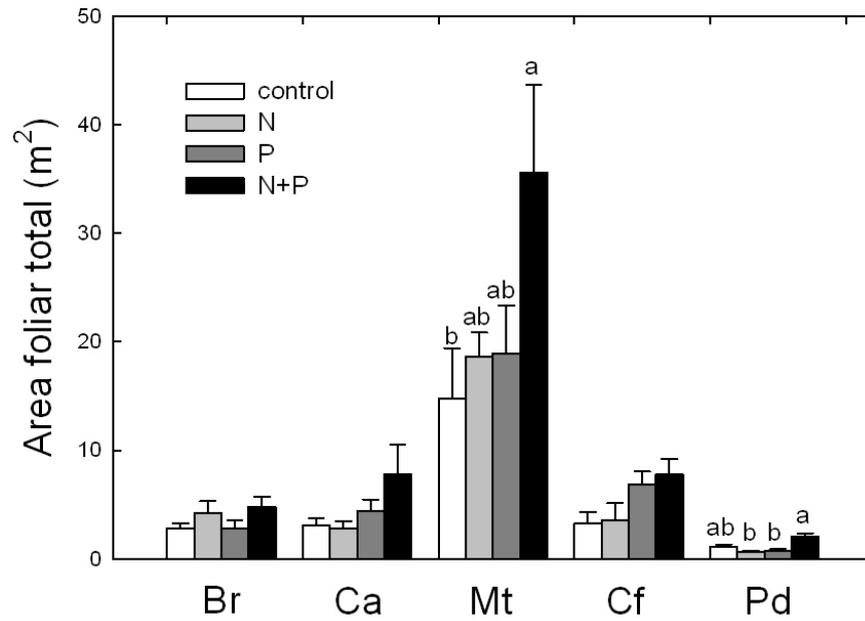


Figura 5. Área foliar total promedio de los renovales de las distintas especies luego de un año creciendo en los claros bajo 4 tratamientos de fertilización. Los valores corresponden a la media \pm error estándar ($n=4 - 5$). Las letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos con $P < 0.05$ (Test de LSD Fisher). Br = *B. riedelianum*, Ca = *C. americana*, Mt = *M. tinctoria*, Cf = *C. fissilis* y Pd = *P. dubium*.

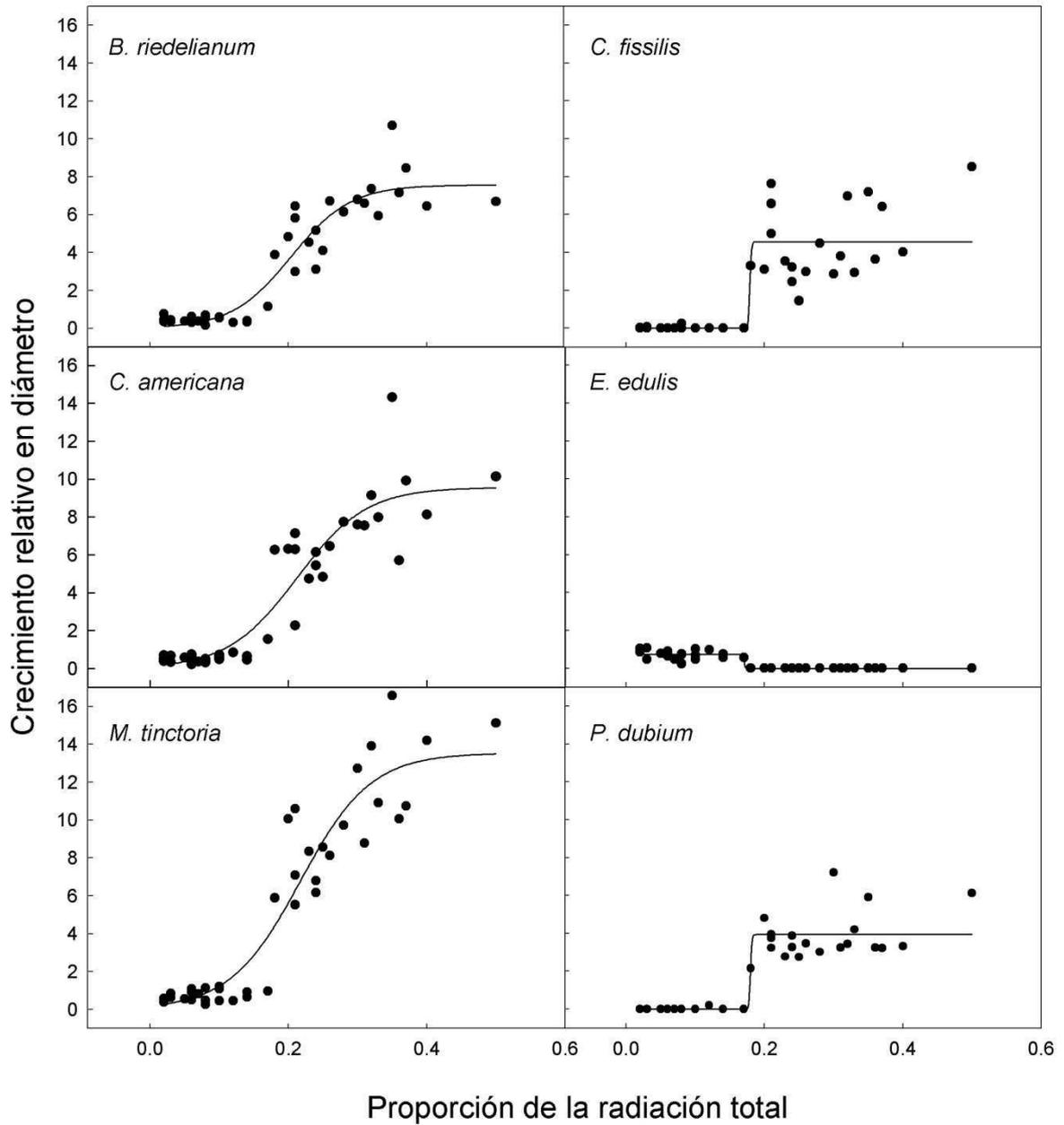


Figura 6. Relación entre la proporción de la radiación solar promedio y el crecimiento relativo en diámetro para los renovales de las 6 especies estudiadas. En todos los casos se ajustó una función sigmoidea de la forma $y = a / (1 + \exp(-(x-x_0)/b))$. Los coeficientes de determinación (R^2) variaron entre 0.73 y 0.89 y el nivel de significación de los ajustes fue siempre menor a 0.0001. En esta figura se utiliza información de las 40 parcelas. Cada punto corresponde al valor de crecimiento relativo en diámetro promedio de cada especie y a la proporción de la radiación solar promedio en el centro de cada parcela.

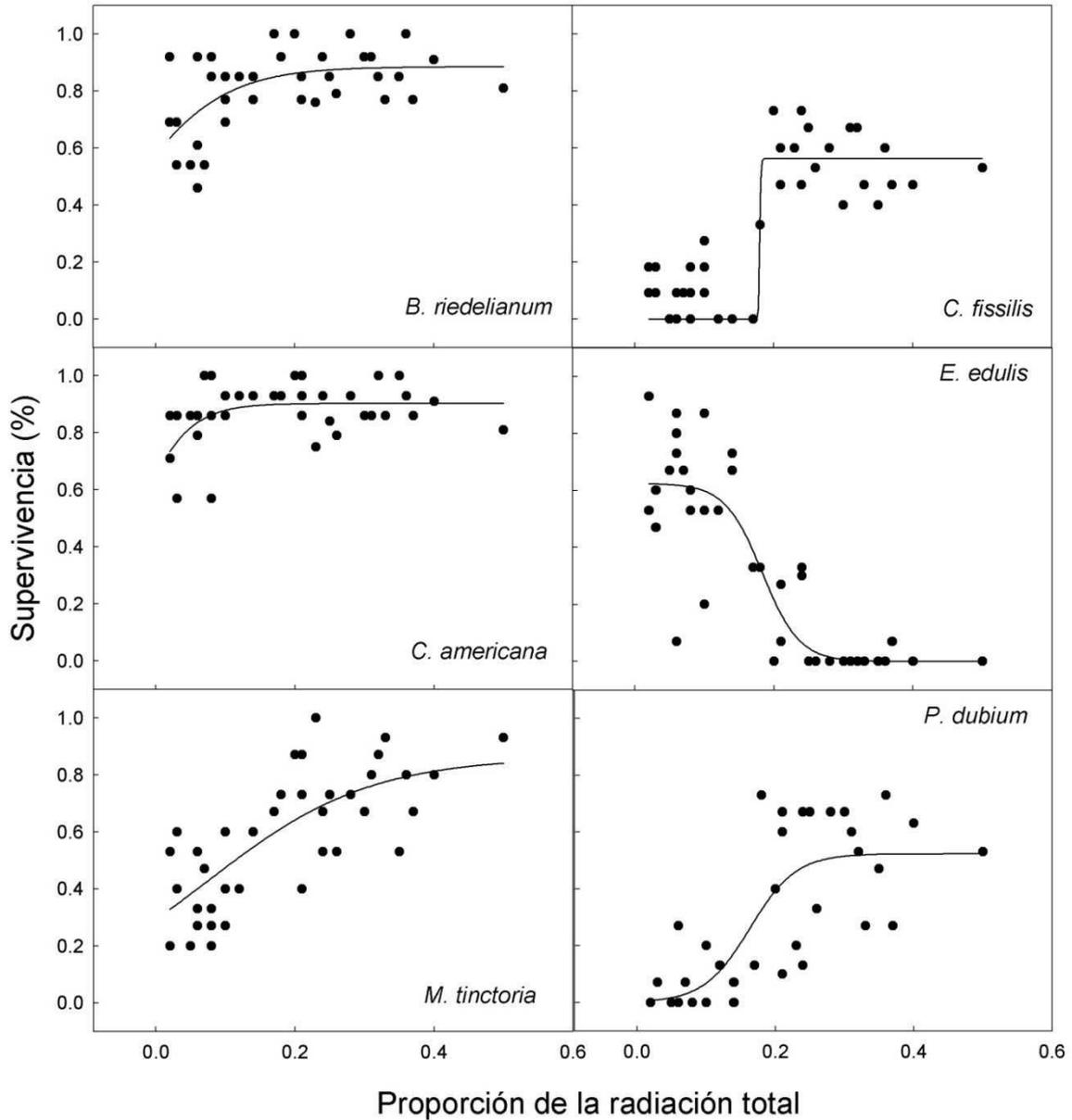


Figura 7. Relación entre la proporción de la radiación solar y la supervivencia de los renovales de las 6 especies estudiadas. Se ajustó una función sigmoidea de la forma $y = a / (1 + \exp(-(x-x_0)/b))$ en todos los casos. Los coeficientes de determinación (R^2) variaron entre 0.26 y 0.73 y el nivel de significación de los ajustes fue siempre menor a 0.005. En esta figura se utiliza información de las 40 parcelas. Cada punto corresponde al porcentaje de supervivencia de cada especie en cada parcela y a la proporción de la radiación solar promedio en el centro de cada parcela.

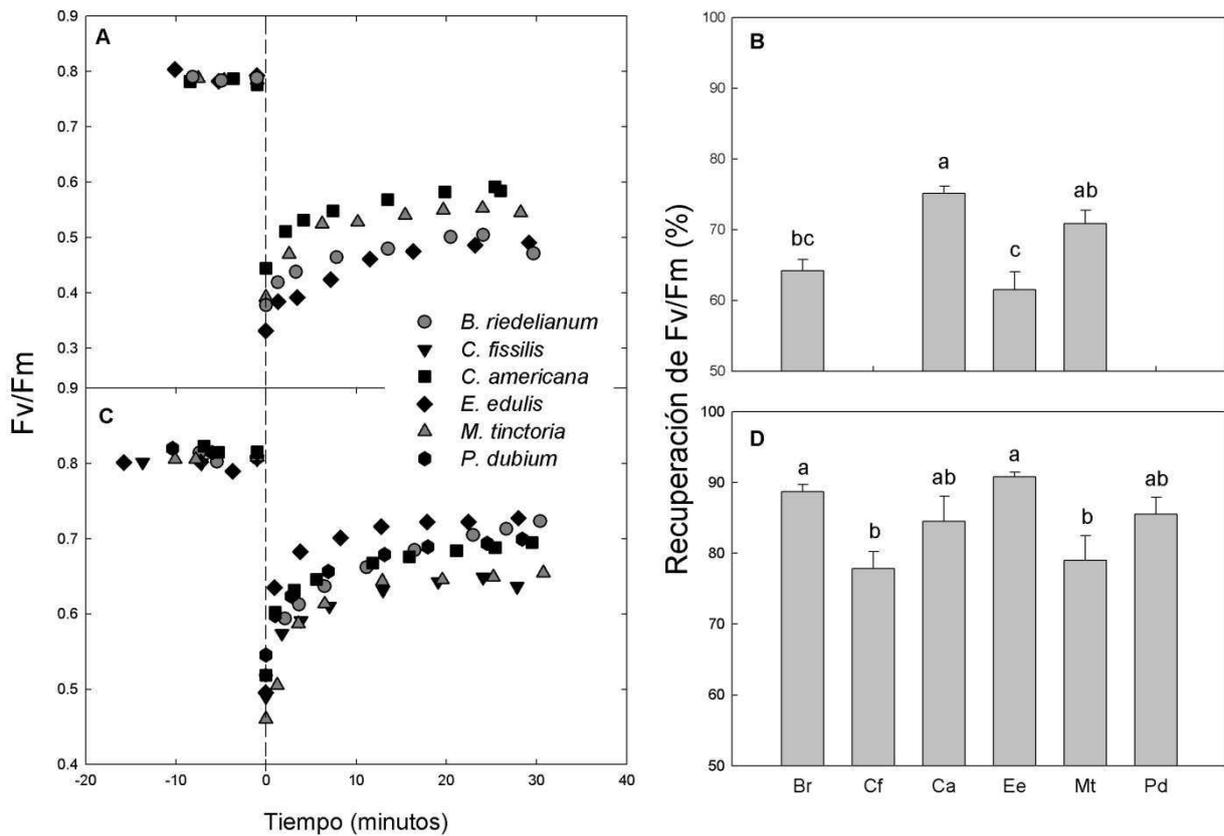


Figura 8. Máxima eficiencia del fotosistema II (F_v/F_m en oscuridad) y recuperación de F_v/F_m luego de una exposición a niveles de luz saturantes en plantas creciendo en parcelas control en A) sotobosque y C) claros. Porcentaje de recuperación de F_m/F_m al cabo de 30 minutos en plantas creciendo en parcelas control en B) sotobosque y D) claros. Los símbolos representan la media ($n=3$) y el error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas entre las especies a un nivel de 0.05 (Test de LSD Fisher). Br = *B. riedelianum*, Cf = *C. fissilis*, Ca = *C. americana*, Mt = *M. tinctoria*, Pd = *P. dubium*.

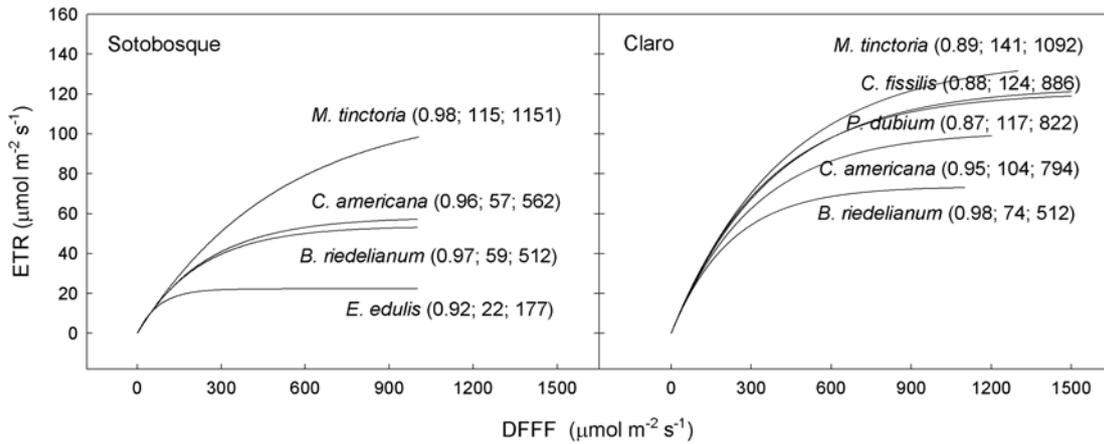


Figura 9. Tasa de transporte de electrones (ETR) en función de la $DFFF$ (densidad de flujo fotónico fotosintético) para los renovales de las 4 especies creciendo en las parcelas control del sotobosque y de 5 especies en los claros. Cada curva fue construida a partir de mediciones en 3 individuos. Los valores entre paréntesis corresponden a R^2 , ETR_{max} y $DFFF_{max}$ respectivamente.

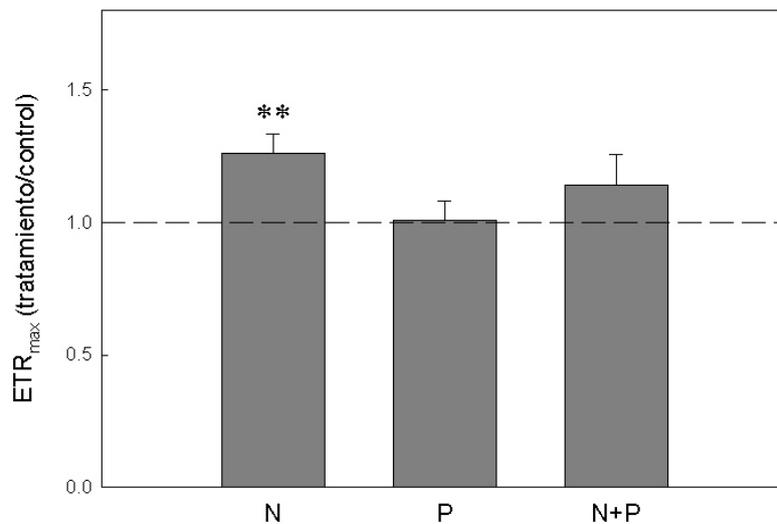


Figura 10. Respuesta relativa de la tasa de transporte de electrones máxima (ETR_{max}) a la fertilización en plantas creciendo en los claros. Estos valores se obtuvieron normalizando los datos de cada especie con respecto al control. Los valores son las medias \pm error estándar ($n=3-5$ especies por tratamiento). El efecto significativo de la fertilización se indica como $**P < 0.05$ (prueba de contrastes). Se consideraron todos los individuos de todas las especies por tratamiento como un único conjunto de datos.

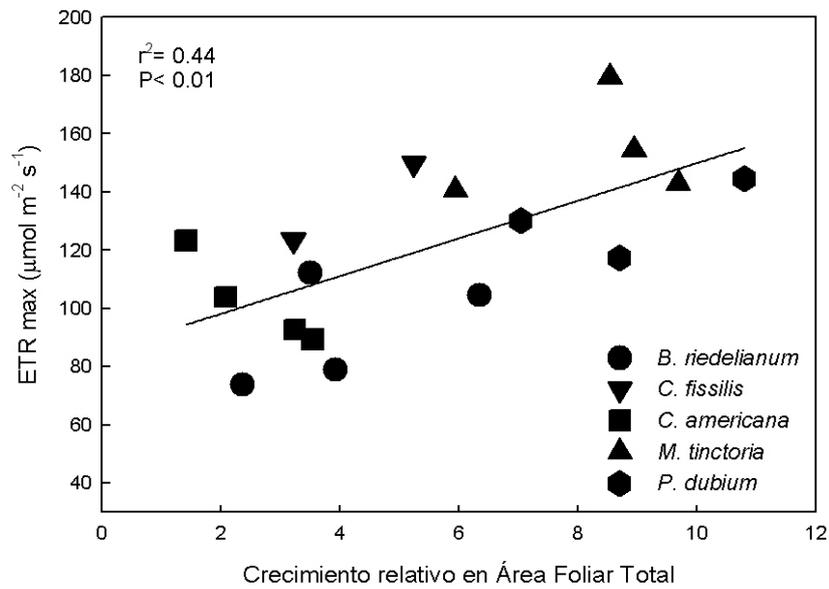


Figura 11. Relación entre la tasa de transporte de electrones máxima (ETR_{max}) y el crecimiento relativo en área foliar total de las especies creciendo en los claros en los 4 tratamientos de fertilización. Los valores corresponden a las medias ($n=3$ a 6 dependiendo de la especie y el tratamiento). Se ajustó a los datos una función lineal: $y = 6.4580x + 85.3140$. Los errores estándar no están presentados en el gráfico para mejorar la visualización pero pueden ser consultados en Tabla 3.

Discusión

Supervivencia vs Crecimiento como determinantes de la tolerancia a la sombra

La disponibilidad de nutrientes tiene un rol subordinado a la disponibilidad de luz durante los primeros años de establecimiento de las plantas. Un aumento en la disponibilidad de luz produjo un incremento en las tasas de supervivencia y crecimiento de todas las especies excepto en *E. edulis*, que no sobrevivió en los claros o bajo condiciones de alta radiación tal como han observado otros autores (Sedrez dos Reis et al. 1987, Paulilo 2000, Gatti et al. 2011). Los mayores cambios en la supervivencia de las especies ocurrió entre 0 y 20% de la radiación solar, por encima de esos porcentajes las especies presentaron una respuesta menos marcada, excepto *C. fissilis* y *P. dubium* que necesitarían mayor disponibilidad de luz para su supervivencia y desarrollo. Más del 90% de los individuos de *C. fissilis* y *P. dubium* murieron en el sotobosque y sólo entre el 50% y 60% en los claros. El crecimiento de las plantas fue hasta 10 veces mayor en los claros que en el sotobosque, y en general las tasas de crecimiento

umentaron con la disponibilidad de luz para valores de radiación menores al 30-40% de la radiación total tal como fue observado en un experimento bajo condiciones controladas con especies compartidas con este estudio (Campanello et al. 2008). *C. americana*, *B. riedelianum* y *E. edulis* fueron las especies que más sobrevivieron en el sotobosque sin embargo las tasas de supervivencia fueron diferentes. Todo esto limita la posibilidad de clasificar a las especies estudiadas en grupos funcionales discretos como sugiere la bibliografía tradicional, sino que representan un continuo en el grado de tolerancia a los niveles de radiación. No obstante podría decirse, de modo general, que *E. edulis*, *B. riedelianum* y *C. americana* se comportaron como especies más tolerantes a la sombra, mientras que *P. dubium* y *C. fissilis* fueron menos tolerantes y *M. tinctoria* presentó un comportamiento intermedio.

Contrario a lo esperado, el compromiso entre supervivencia y crecimiento no pudo ser observado para todo el grupo de especies estudiadas. Las especies que tuvieron alta supervivencia en el sotobosque a su vez tuvieron altas tasas de crecimiento en los claros, mientras que las especies que tuvieron baja supervivencia en el sotobosque no fueron aquellas que presentaron las tasas de crecimiento más altas en los claros. Un crecimiento rápido y baja supervivencia caracterizan a especies pioneras, mientras que alta supervivencia y crecimiento lento caracterizan a las especies más tolerantes a la sombra, mientras que la mayoría de las especies se ubican a lo largo del continuum entre estos dos extremos (Welden et al. 1991, Wright et al. 2003). Kitajima (1994) propone que este compromiso refleja la asignación de recursos de la planta hacia características que promueven la supervivencia tales como sistemas radiculares extensos, alta densidad de la madera y defensas contra herbívoros y patógenos. Dos de las especies, *C. fissilis* y *P. dubium*, consideradas menos tolerantes a la sombra (Campanello et al. 2011) entre las especies estudiadas en este trabajo, mostraron bajas tasas de crecimiento comparadas con el resto de las especies, posiblemente a causa de la presencia de otros factores de estrés como la herbivoría (ver Capítulo 3). La densidad en que fueron plantadas las especies seguramente perjudicó a aquellas más susceptibles a la herbivoría, mientras que las especies de crecimiento más lento se vieron beneficiadas por la remoción de la competencia con otras plantas, dado el tratamiento de corte que se aplicó en las parcelas para mantener constante la disponibilidad de luz (ver Materiales y métodos). Por lo que este compromiso se podría observar en condiciones de crecimiento totalmente naturales o en condiciones controladas en las que el factor de estrés principal fuera la luz y otros factores como la disponibilidad de agua, nutrientes, la competencia o la herbivoría no fueran limitantes para el desarrollo de las plantas. También es posible que las especies seleccionadas para este estudio abarquen un rango muy pequeño en cuanto a tolerancia a la

sombra (es decir se agrupan en un extremo del *continuum*) y por ello este compromiso no sea observable, aunque *E. edulis* podría considerarse en un extremo y *P. dubium* y *C. fissilis* en el extremo opuesto. Es preciso aclarar que el compromiso encontrado entre la supervivencia y el crecimiento para un gran número de especies (Baraloto et al. 2005, Gilbert et al. 2006, Poorter et al. 2006) no necesariamente se repite en grupos de pocas especies que presentan diferencias pequeñas en estas características o que se encuentran sometidos a múltiples situaciones de estrés como ocurre en este experimento de campo.

El rol de los nutrientes

La adición de nutrientes no tuvo efectos significativos en la supervivencia o el crecimiento de las especies en el sotobosque, excepto en *E. edulis*. En el sotobosque la limitación por luz es muy importante especialmente para las especies poco tolerantes a la sombra. Sin embargo, aquellas especies adaptadas a la sombra, es posible que cuenten con la suficiente disponibilidad de luz como para tomar ventaja de un aumento en la disponibilidad de nutrientes. Por lo tanto, en el caso de especies con un alto grado de tolerancia a la sombra otros recursos como los nutrientes, pueden estar co-limitando el crecimiento, aún en condiciones de baja radiación como se ha observado en otros bosques tropicales (Burslem et al. 1996, Santiago et al. 2011). La especie *E. edulis* parecería ser un ejemplo de ello ya que incrementó su altura entre 80 y 150% con la adición de P y N+P respectivamente. Por lo tanto, es razonable que siendo la especie más tolerante a la sombra entre las estudiadas, sus mayores limitaciones de crecimiento no sean lumínicas sino que sean nutricionales o hídricas y por lo tanto se vea ampliamente beneficiada por un aumento en la disponibilidad de nutrientes.

En los claros, donde la disponibilidad de luz no sería limitante, la adición de nutrientes, en particular de N+P tendió a aumentar la tasa de crecimiento tanto en diámetro y altura como en el área foliar total de las plantas en todas las especies. Estos aumentos en el crecimiento de las plantas con la adición combinada de N y P sugieren que estos elementos son limitantes para el crecimiento. Los aumentos fueron de alrededor de 15% en *P. dubium* y de más del 40% en *C. fissilis*, *C. americana* y *M. tinctoria* en diámetro y altura, y de 70 a 150% en el área foliar total de las especies. Estas respuestas positivas a la fertilización con N+P fueron particularmente significativas en *C. americana* y *M. tinctoria*. Los ataques de la larva de *Hypsipyla grandella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) en los brotes de *C. fissilis*, y el alto porcentaje de herbivoría en hojas que afectó a *P. dubium* impidió evaluar con precisión los efectos de la adición de nutrientes en el crecimiento de estas dos especies.

Se esperaban respuestas significativas del crecimiento a la adición de P, dado la escasa movilidad del P en el suelo y la limitación por P que ocurre en ambientes tropicales y subtropicales (Sollins et al. 1988, Hinsinger 2001). Sin embargo se encontró un aumento en el crecimiento cuando se adicionó P en forma combinada con N y sólo se registró el aumento de crecimiento con la adición de P en *E. edulis* creciendo en el sotobosque. No sólo no se encontraron efectos positivos significativos sobre el crecimiento sino que en los claros la fertilización con fósforo disminuyó la supervivencia de 2 especies, *B. riedelianum* y *P. dubium*. Aunque no se conoce una explicación para una disminución de la supervivencia con la adición de P, es conocido que el crecimiento de raíces es estimulado por la limitación de nutrientes como N y P (Ericsson 1995, Poorter y Nagel 2000) y es posible también que el tratamiento de adición de P induzca la limitación por otros nutrientes. En este estudio no se cuentan con datos sobre las respuestas de crecimiento subterráneas, por lo tanto todas las conclusiones pertenecen exclusivamente al crecimiento aéreo. Sería necesario entonces realizar experimentos en condiciones más controladas de las que se tuvieron en este trabajo de investigación y evaluar el crecimiento subterráneo de las especies.

De los resultados de este experimento surge la necesidad de evaluar el efecto de la fertilización en el crecimiento de las plantas con individuos creciendo exactamente en las mismas condiciones de luz. Dicha situación no ocurrió en este experimento de campo. Si bien se eligieron claros naturales de tamaños y orientaciones similares, los renovales se encontraban creciendo en un gradiente de intensidades de luz dentro de las parcelas y se pudo observar como esas diferencias se tradujeron en aumentos en el crecimiento de los individuos de 3 de las 6 especies estudiadas (fig.4). La variabilidad en la radiación solar incidente puede confundir el análisis, a pesar de que se intentó eliminar este efecto al incorporar la radiación como covariable. Por ello es posible que las respuestas a la fertilización no se debieran únicamente a cambios en la disponibilidad de nutrientes sino también a cambios en la intensidad de luz, lo que determinó que la variabilidad de los datos fuese relativamente alta.

Determinantes fisiológicos de la supervivencia y el crecimiento

Cuando las plantas se sometieron durante 20 minutos a radiaciones directas saturantes, independientemente de la especie y el tratamiento bajo el cual se desarrollaron, todas las plantas se fotoinhibieron, aunque la sensibilidad a la fotoinhibición tendió a ser menor en las plantas que crecieron en los claros y además se recuperaron más rápidamente que las que crecieron en el sotobosque. Este mismo patrón de respuesta ha sido observado tanto para una especie creciendo en distintas condiciones de disponibilidad de luz como para distintas

especies con diferentes requerimientos lumínicos en un mismo experimento (Durand y Goldstein 2001, Montgomery et al. 2008). En general, 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 y Goldstein 2001, Houter y Pons 2005, Montgomery et al. 2008). La especie más tolerante a la sombra, *E. edulis*, se recuperó más rápido de la fotoinhibición en los claros que dos especies más intolerantes a la sombra como *C. fissilis* y *M. tinctoria*. Sin embargo, este resultado concuerda con lo que ocurre durante exposiciones cortas a niveles altos de radiación; en estas situaciones las especies de crecimiento lento, con bajas capacidades fotosintéticas tendrían mayor capacidad para disipar de manera flexible el exceso de la energía solar absorbida que las especies de vida corta y crecimiento rápido (Demming-Adams y Adams 2006). Es posible que la respuesta de *E. edulis* esté determinada por la naturaleza del régimen de flecos de luz que experimenta durante su establecimiento en el bosque, que puede tener un rol destacado en el presupuesto de carbono de esta planta como el que se ha visto para otras especies tolerantes a la sombra (eg. Chazdon 1988, Valladares y Pearcy 1997, Leakey et al. 2005), cosa que no sucedería en el resto de las especies estudiadas que necesariamente regeneran o alcanzan su altura máxima cuando ocurren aperturas en el dosel arbóreo.

Los mayores niveles de radiación en los claros generaron un aumento en los ETR máximos de las plantas creciendo en esa condición comparados con los ETR máximos de las plantas creciendo en el sotobosque. A pesar de la capacidad de aclimatación de las especies a las distintas condiciones lumínicas no siempre las especies que crecieron más tuvieron los valores de ETR máximos más altos. Es difícil de interpretar estos resultados si sólo se analizan a nivel de las hojas, también es necesario conocer la arquitectura de la planta, 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 (Givnish 1988). Los resultados de este estudio sugieren que las especies con ETR máximos relativamente bajos pero que tuvieron tasas de crecimiento altas en diámetro y altura (*B. riedelianum* y *C. americana*), deben haber compensado las bajas tasas de asimilación con un aumento en la superficie fotosintética por individuo.

El ETR máximo aumentó con la adición de N en el conjunto de especies creciendo en los claros. Este resultado sugiere que el aumento en la disponibilidad de N es asignado a enzimas del complejo antena y a las reacciones de carboxilación. Por otro lado, la adición de P no produjo cambios en el ETR máximo del conjunto de las especies y por lo tanto no podemos hablar de que exista una limitación de la fotosíntesis por múltiples elementos como ocurre en

otros estudios (Pasquini y Santiago 2012). Un resultado interesante es que la adición de N+P tuvo un efecto relativamente pequeño sobre la tasa de transporte de electrones, por lo que procesos individuales pueden responder a elementos específicos. A pesar de que la adición de N produce un aumento de ETR_{max} se encontró un efecto casi nulo en las variables de crecimiento medidas. Mientras que la adición de N+P modificó levemente el ETR_{max} , produjo cambios más notorios en el crecimiento de las especies, especialmente en el área foliar total. La asignación de recursos internos a la construcción de superficie foliar parece ser el principal determinante de las diferencias en las tasas de crecimiento de los renovales. Esto indicaría que las tasas de crecimiento estarían determinadas no sólo por la cantidad máxima/potencial de CO_2 asimilado por unidad de superficie foliar sino principalmente por la superficie fotosintética total de la planta y que a pesar de que el N es el elemento que aumenta el ETR_{max} de las plantas, la combinación de N y P es quien remueve la limitación de crecimiento en estos renovales.

Conclusiones

Los resultados de esta investigación indican que el N y P combinados limitan el crecimiento de los renovales de estas especies del Bosque Atlántico semi-caducifolio, al menos en los primeros años del ciclo de vida de las plantas estudiadas. Se esperaban respuestas significativas del crecimiento a la adición de P, sin embargo se encontró un aumento en el crecimiento sólo cuando se adicionó P en forma combinada con N. Los renovales pueden responder a la adición de nutrientes aún cuando la disponibilidad de luz es muy baja, aunque en esa condición lumínica esto ocurriría sólo en especies tolerantes a la sombra. Por otro lado, un aumento en la disponibilidad de luz produjo un incremento en las tasas de supervivencia y crecimiento de todas las especies excepto en *E. edulis*, la especie más tolerante a la sombra, que mostró un patrón inverso. Un resultado contrario al esperado es que no se encontró un compromiso entre la supervivencia de las plantas en condiciones de baja radiación solar y el crecimiento en condiciones de alta radiación, probablemente por el reducido número de especies con el que se trabajó, la similitud entre especies en el grado de tolerancia a la sombra o a causa de una presión de herbivoría mayor a altos niveles de radiación en especies consideradas pioneras o demandantes de luz como *C. fissilis* y *P. dubium*.

La sensibilidad de las especies a la fotoinhibición tendió a ser menor en las plantas que crecieron en los claros, además se recuperaron más rápidamente que las que crecieron en el sotobosque. La especie *E. edulis* se recuperó más rápido de la fotoinhibición que especies

menos tolerantes a la sombra, posiblemente a causa de una mayor capacidad para disipar de manera flexible el exceso de la energía solar absorbida que las especies de vida corta y crecimiento rápido. En cambio las especies con mayores requerimientos lumínicos fueron las que presentaron los valores más altos de ETR_{max} y el mayor crecimiento relativo en área foliar, aunque el ETR_{max} no estuvo relacionado con el crecimiento en diámetro o altura de las especies. A pesar de que el ETR_{max} aumenta con la adición de N y muy levemente con la adición de N+P, es la combinación de ambos elementos la que determina el aumento en el crecimiento de las plantas, y por lo tanto es quien disminuye la limitación de crecimiento en los renovales estudiados.

Referencias bibliográficas

- Abd Latif, Z. y G. Blackburn. 2010. The effects of gap size on some microclimate variables during late summer and autumn in a temperate broadleaved deciduous forest. *International Journal of Biometeorology* 54: 119-129.
- Baraloto, C., D.E. Goldberg y D. Bonal. 2005. Performance trade-offs among tropical tree seedlings in contrasting microhabitats. *Ecology* 86: 2461-2472.
- Baraloto, C., D. Bonal y D.E. Goldberg. 2006. Differential seedling growth response to soil resource availability among nine neotropical tree species. *Journal of Tropical Ecology* 22: 487-497.
- Barth, C., G.H. Krause y K. Winter. 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.
- Bazzaz, F.A. y P.M. Wayne. 1994. Coping with environmental heterogeneity: the physiological ecology of tree seedling regeneration across the gap-understory continuum. En *Exploitation of Environmental Heterogeneity by Plants: Ecophysiological Processes Above and Below Ground*. Eds. M. Caldwell y R. Pearcy. Academic Press, pp. 349-390.
- Björkman, O., B. Demming. 1987. Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta* 170: 489-504.
- Burnham, K.P. y D.R. Anderson. 1998. *Model selection and inference*. Springer-Verlag, NY, USA.
- Burslem, D.F.R.P., P.J. Grubb y I.M. Turner. 1996. Responses to simulated drought and elevated nutrient supply among shade tolerant tree seedlings of lowland tropical forest in Singapore. *Biotropica* 28: 636-648.
- Cai, Z.Q., L. Poorter, Q. Han y F. Bongers. 2008. Effects of light and nutrients on seedlings of tropical *Bauhinia* lianas and trees. *Tree Physiology* 28: 1277-1285.
- Canham, C.D., R.K. Kobe, E.F. Latty y R.L. Chazdon. 1999. Interspecific and intraspecific variation in tree seedling survival: effects of allocation to roots versus carbohydrate reserves. *Oecologia* 121: 1-11.
- Campanello, P., M.G. Gatti y G. Goldstein. 2008. Coordination between water-transport efficiency and photosynthetic capacity in canopy tree species at different growth irradiances. *Tree Physiology* 28: 85-94.
- Campanello, P.I., M.G. Gatti, L.F. Montti, M. Villagra y G. Goldstein. 2011. Ser o no ser tolerante a la sombra: economía de agua y carbono en especies arbóreas del Bosque Atlántico (Misiones, Argentina). *Ecología Austral* 21: 285-300.
- Campo, J. y C. Vázquez-Yanes. 2004. Effects of nutrient limitation on aboveground carbon dynamics during tropical dry forest regeneration in Yucatán, Mexico. *Ecosystems* 7: 311-319.

- Carpinetti, B. 2010. El Parque Nacional Iguazú: Desafíos y oportunidades para la conservación de la selva paranaense de Argentina. En Parque Nacional Iguazú, Conservación y desarrollo en la Selva Paranaense de Argentina. Eds. B. Carpinetti et al. Administración de Parques Nacionales. Buenos Aires, Argentina, pp 11-20.
- Carvalho, P.E.R. 2003. Especies arbóreas brasileiras. Ministerio da Agricultura, Pequaria e Abastecimento, Brasilia, Brazil, 1040 p.
- Chazdon, R.L. 1988. Sunflecks and their importance to forest understorey plants. *Advances in ecological research* 18: 1-63.
- Clinton, B.D. 2003. Light, temperature and soil moisture responses to elevation, evergreen understory, and small canopy gaps in the southern Appalachians. *Forest Ecology and Management* 186:243-255.
- Condon, L.M. y H. Tiessen. 2005. Interactions of organic phosphorus in terrestrial ecosystems. En *Organic phosphorus in the environment*. Eds. Turner, B.L., E. Frossard y D.S. Baldwin. CAB International, Wallingford, UK, pp 295-308.
- Craine, J.M. y P.B. Reich. 2005. Leaf-level light compensation points in shade-tolerant woody seedlings. *New Phytologist* 166: 710-713.
- Davidson, E.A., C.J.R. de Carvalho, I.C.G. Vieira, R.D. Figueiredo, P. Moutinho, F.Y. Ishida, M.T.P. dos Santos, J.B. Guerrero, K. Kalif y R.T. Saba. 2004. Nitrogen and phosphorus limitation of biomass growth in a tropical secondary forest. *Ecological Applications* 14: 150-163.
- Davies, S.J. 2001. Tree mortality and growth in 11 sympatric *Macaranga* species in Borneo. *Ecology* 82: 920-932.
- Dent, D.H. y D.F.R.P. Burslem. 2009. Performance Trade-offs driven by morphological plasticity contribute to habitat specialization of Bornean tree species. *Biotropica* 41: 424-434.
- Demming-Adams, B. y W.W. Adams. 2006. Photoprotection in an ecological context: the remarkable complexity of thermal energy dissipation. *New Phytologist* 172: 11-21.
- Denslow, J.S., A.M. Ellison y R.E. Sanford. 1998. Treefall gap size effects on above-ground below-ground processes in a tropical wet forest. *Journal of Ecology* 86: 597-609.
- Devoto, F. y M. Rothkugel. 1936. Informe sobre los bosques del Parque Nacional Iguazú. Ext. Boletín del Ministerio de Agricultura de la Nación 37(1-4): 1-99.
- Di Rienzo, J.A., F. Casanoves, M.G. Balzarini, M. Gonzalez, M. Tablada y C.W. Robledo. 2009. InfoStat versión 2009. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Durand, L.Z. y G. Goldstein. 2001. Photosynthesis, photoinhibition, and nitrogen use efficiency in native and invasive tree ferns in Hawaii. *Oecologia* 126: 345-354.
- Elser, J.J., M.E.S. Bracken, E.E. Cleland, D.S. Gruner, W.S. Harpole, H. Hillebrand, J.T. Ngai, E.W. Seabloom, J.B. Shurin y J.E. Smith. 2007. Global analysis of nitrogen and phosphorus limitation of primary producers in freshwater, marine and terrestrial ecosystems. *Ecology Letters* 10: 1135-1142.
- Ericsson, T. 1995. Growth and shoot: root ratio of seedlings in relation to nutrient availability. *Plant and Soil* 168-169: 205-214.
- Franco, A.C. y U. Lüttge. 2002. Midday depression in savanna trees: coordinated adjustments in photochemical efficiency, photorespiration, CO₂ assimilation and water use efficiency. *Oecologia* 131: 356-365.
- Fownes, J.H. y R.A. Harrington. 2004. Seedling response to gaps: Separating effects of light and nitrogen. *Forest Ecology and Management* 203: 297-331.
- Fyllas, N.M., S. Patiño, T.R. Baker, G. Bielefeld Nardoto, L.A. Martinelli, C.A. Quesada, R. Paiva, M. Schwarz, V. Horna, L.M. Mercado, A. Santos, L. Arroyo, E.M. Jiménez, F.J. Luizão, D.A. Neill, N. Silva, A. Prieto, A. Rudas, M. Silviera, I.C.G. Vieira, G. Lopez-Gonzalez, Y. Malhi, O.L. Phillips y J. Lloyd. 2009. Basin-wide variations in foliar properties of Amazonian forest: phylogeny, soils and climate. *Biogeosciences Discuss* 6: 3707-3769.

- Gatti, M.G., P.I. Campanello y G. Goldstein. 2011. Growth and leaf production in the tropical palm *Euterpe edulis*: Light conditions versus developmental constraints. *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* 206: 742-748.
- Gilbert, B., S.J. Wright, H.C. Muller-Landau, K. Kitajima y A. Hernández. 2006. Life history trade-offs in tropical trees and lianas. *Ecology* 87: 1281-1288.
- Givnish, T.J. 1988. Adaptation to sun and shade – a whole-plant perspective. *Australian Journal of Plant Physiology* 15: 63-92.
- Hinsinger, P. 2001. Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: a review. *Plant and Soil* 237: 173-195 .
- Houter, N.C. y T.L. Pons. 2005. Gap size effects on photoinhibition in understory saplings in tropical rainforest. *Plant Ecology* 179: 43-51.
- Keeney, D. R. y D.W. Nelson. 1982. Nitrogen - Inorganic forms. En: *Methods of soil analysis. Part II. Chemical and Microbiological Properties, Agronomy Monograph N° 9 in the Agronomy Series (2nd Ed.)*. Ed. A.L. PAGE. SSSA, Inc. Publ., WI, USA, 1159 p.
- Kitajima, K. 1994. Relative importance of photosynthetic traits and allocation patterns as correlates of seedling shade tolerance of 13 tropical trees. *Oecologia* 98: 419-428.
- Kobe, R.K. 1999. Light gradient partitioning among tropical tree species through differential seedling mortality and growth. *Ecology* 80: 187-201.
- Ligier, H.D., H.R. Matteio, H.L. Polo y J.R. Rosso. 1990. Provincia de Misiones. En: *Atlas de suelos de la República Argentina. Tomo II*. Ed. I.S.d.A.G. y. P. Centro de Investigaciones de Recursos Naturales. INTA, Argentina, pp 109-154.
- Leakey, A.D.B., J.D. Scholes y M.C. Press. 2005. Physiological and ecological significance of sunflecks for dipterocarp seedlings. *Journal of Experimental Botany* 56: 469-482.
- Montgomery, R.A., G. Goldstein y T.J. Givnish. 2008. Photoprotection of PSII in Hawaiian lobeliads from diverse light environments. *Functional Plant Biology* 35: 595-605.
- Montti, L.F. 2010. *Ecología y fisiología de Chusquea ramosissima*, una especie de bambú monocárpico y sus efectos de su floración sobre la dinámica y funcionamiento del Bosque Atlántico semideciduo. Universidad de Buenos Aires, tesis doctoral, 223p.
- Pasquini, S.C. y L.S. Santiago. 2012. Nutrients limit photosynthesis in seedlings of a lowland tropical forest tree species. *Oecologia* 168:311-319.
- Patiño, S., J. Lloyd, R. Paiva, T.R. Baker, C.A. Quesada, L.M. Mercado, J. Schmerler, M. Schwarz, A.J.B. Santos y A. Aguilar. 2009. Branch xylem density variations across the Amazon Basin. *Biogeosciences* 6: 545-568.
- Paulilo, M.T.S. 2000. Ecofisiología de plantulas e plantas jovens de *Euterpe edulis* Mart. (Arecaceae): comportamento em relação a variação de radiação solar. *Sellowia* 49: 93-105.
- Placci, L.G. y P.A. Giorgis. 1993. Estructura y diversidad de la selva del Parque Nacional Iguazú, Argentina. Pp 123-138 en *actas de VII Jornadas Técnicas de Ecosistemas Forestales Nativos: uso, manejo y conservación*. Eldorado, Misiones, Argentina.
- Poorter, H. y O. Nagel. 2000. The role of biomass allocation in the growth response of plants to different levels of light, CO₂, nutrients and water: a quantitative review. *Australian Journal of Plant Physiology* 27: 1191-1191.
- Poorter, L. y F. Bongers. 2006. Leaf traits are good predictors of plant performance across 53 rain forest species. *Ecology* 87: 1733-1743.
- Rascher, U., M. Liebig y U. Lüttge. 2000. Evaluation of instant light-response curves of chlorophyll fluorescence parameters obtained with a portable chlorophyll fluorometer on site in the field. *Plant, Cell and Environment* 23: 1397-1405.

- Reich, P.B., I.J. Wright, J. Cavender-Bares, J.M. Craine, J. Oleksyn, M. Westoby y M.B. Walters. 2003. The evolution of plant functional variation: traits, spectra, and strategies. *International Journal of Plant Sciences* 164: 143-164.
- Ritter, E. 2005. Litter decomposition and nitrogen mineralization in newly formed gaps in a Danish beech (*Fagus sylvatica*) forest. *Soil Biology & Biochemistry* 37: 1237-1247.
- Santiago, L. S., S.J. Wright, K.E. Harms, J.B. Yavitt, C. Korine, M.N. Garcia y B.L. Turner, B. 2011. Tropical tree seedling growth responses to nitrogen, phosphorus and potassium addition. *Journal of Ecology*. doi: 10.1111/j.1365-2745.2011.01904.x
- Sedrez dos Reis, M., A.C. Fantini, R.O. Nodari, A. Reis, M.P. Guerra y A. Mantovani. 2000. Management and conservation of natural populations in Atlantic Rain Forest: the case study of Palm Heart (*Euterpe edulis* Martius). *Biotropica* 32: 894-902.
- Sollins, P., G.P. Robertson y G. Uehara. 1988. Nutrient mobility in variable- and permanent-charge soils. *Biogeochemistry* 6: 181-199.
- Srur, M., F. Gatti, V. Benesovsky, J. Herrera, R. Melzew y M. Camposano. 2010. Los tipos de vegetación y ambientes del Parque Nacional Iguazú y su distribución en el paisaje. En: Parque Nacional Iguazú, Conservación y desarrollo en la Selva Paranaense de Argentina (B. Carpinetti et al. eds.): Administración de Parques Nacionales. Buenos Aires, Argentina, pp 99- 118.
- Tanner, E.V.J., P.M. Vitousek y E. Cuevas. 1998. Experimental investigation of nutrient limitation of forest growth on wet tropical mountains. *Ecology* 79: 10-22.
- Valladares, F. y R.W. Pearcy. 1997. Interactions between water stress, sun-shade acclimation, heat tolerance and photoinhibition in the sclerophyll *Heteromeles arbutifolia*. *Plant, Cell & Environment* 20: 25-36.
- Valladares, F. y Ü. Niinemets. 2008. Shade tolerance, a key plant feature of complex nature and consequences. *Annual Review of Ecology and Systematics* 39: 237-257.
- van Dam, O. 2001. Forest filled with gaps. The effect of gap size on microclimate, water and nutrient cycling. A study in Guyana. Ph.D. Thesis, Utrecht University.
- van Reeuwijk, L.P. 1986. Procedures for Soil Analysis. Technical Paper N° 9. International Soil Reference and Information Centre (ISRIC), Wageningen, The Netherlands. 106 p.
- Vazquez, S., H. Dalurzo, A.P. Lifschitz y L.A. de Morales. 1998. Fósforo total, orgánico e inorgánico en Ultisoles, Alfisoles y Oxisoles del sur de Misiones (Argentina). *Ciencia del Suelo* 16: 47-49.
- Vitousek, P.M. y R.L.J. Sanford. 1986. Nutrient cycling in moist tropical forest. *Annual Review of Ecology and Systematics* 17:137-167.
- Walters, M.B. y P.B. Reich. 1999. Low-light carbon balance and shade tolerance in the seedlings of woody plants: do winter deciduous and broad-leaved evergreen species differ? *New Phytologist* 143: 143-154.
- Walters, M.B. y P.B. Reich. 2000. Seed size, nitrogen supply, and growth rate affect tree seedling survival in deep shade. *Ecology* 81: 1887-1901.
- Welden, C.W., S.W.Hewett, S.P. Hubbell y R.B. Foster. 1991. Sapling survival, growth, and recruitment: relationship to canopy height in a neotropical forest. *Ecology* 72:35-50.
- Wright, S.J. 2002. Plant diversity in tropical forests: a review of mechanisms of species coexistence. *Oecologia* 130:1-14.
- Wright, S. J., H. C. Muller-Landau, R. Condit y S. P. Hubbell. 2003. Gap-dependent recruitment, realized vital rates, and size distributions of tropical trees. *Ecology* 84: 3174-3185.
- Wullschlegel, S.D. 1993. Biochemical limitations to carbon assimilation in C₃ plants - A retrospective analysis of the A/C_i curves from 109 species. *Journal of Experimental Botany* 44: 907-920.
- Yavitt, J.B. y S.J. Wright. 2008. Seedling growth responses to water and nutrient augmentation in the understorey of a lowland moist forest, Panama. *Journal of Tropical Ecology* 24: 19-26.



El capítulo 3 fue retirado a pedido del autor

At author's request chapter 3 has been withdrawn

CAPITULO 4

Crecimiento y resistencia a la cavitación de especies subtropicales del dosel arbóreo: efectos de la adición de nutrientes

Introducción

El transporte de agua lo largo del continuo suelo-planta-atmósfera desempeña un papel importante no sólo en la economía de agua de las plantas, sino también en el balance energético de las hojas y de los nutrientes y en el transporte de los factores reguladores del crecimiento. Los aumentos de tensión en el xilema se generan a través del proceso de transpiración. A medida que el potencial hídrico foliar disminuye en condiciones de sequía, la tensión se incrementa y puede alcanzar niveles que comprometen al sistema de transporte y reduce la conductividad hidráulica. El mecanismo por el cual se pierde la conductividad hidráulica es atribuido a la cavitación de los conductos del xilema por la entrada de burbujas de aire a través de las puntuaciones (Zimmermann 1983, Tyree y Sperry 1989). De todos modos, las plantas han demostrado ser capaces de controlar esta disfunción hidráulica a través del cierre de sus estomas, recuperando así el potencial hídrico y evitando una falla hidráulica potencialmente catastrófica (Nardini y Salleo 2000, Brodribb y Holbrook 2003). Sin embargo, se conoce que algunas plantas operan regularmente a potenciales hídricos asociados con la disfunción hidráulica (Lo Gullo et al. 2003, Brodribb y Holbrook 2004, Johnson et al. 2009) y, además, son capaces de recuperar y reparar el transporte hidráulico (Bucci et al. 2003, Brodribb y Holbrook 2004, Nardini et al. 2008).

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) con graves consecuencias en el desempeño de la planta, debido a que la fotosíntesis y el crecimiento dependen del transporte de agua a los sitios de fijación de carbono (Hubbard et al. 2001, Brodribb y Holbrook 2007). Por lo tanto, la cavitación xilemática del tallo tiene el potencial de afectar el crecimiento, la reproducción y la supervivencia de las plantas (Blackman et al. 2009, Brodribb y Cochard 2009).

El crecimiento rápido de las plantas conduce a desarrollar una baja densidad de madera (Muller-Landau 2004, Nascimento et al. 2005, Chao et al. 2008, Novaes et al. 2009). Las plantas de baja densidad de madera suelen tener una baja resistencia a la cavitación del xilema (Hacke et al. 2001, Jacobsen et al. 2005). Además, la densidad de la madera de los árboles disminuye con la adición de N, probablemente debido al desarrollo de vasos de mayor tamaño (Hacke et al. 2010). Un xilema con vasos de mayor tamaño es más vulnerable a la cavitación que un xilema con vasos estrechos. En su estudio, Hacke y colaboradores (2010), encontraron una relación negativa entre la conductividad específica de los tallos y su vulnerabilidad, apoyando la hipótesis de que existe un compromiso entre la eficiencia en el transporte de agua y la seguridad del sistema de transporte (Zimmermann, 1983). El compromiso entre la resistencia a la disfunción hidráulica y la eficiencia del transporte del xilema puede ser explicado por la hipótesis de "air-seeding" (Wheeler et al. 2005), en el que las especies con un xilema más eficiente son más susceptibles a la cavitación ya que los conductos más amplios tienden a tener mayores superficies de paredes perforadas, aumentando la probabilidad de tener grandes aberturas en las membranas de las puntuaciones que conectan los elementos de conducción, las cuales permiten a su vez que las burbujas de aire se extiendan y expandan entre los mismos. La densidad de la madera no sólo está asociada con la tasa de crecimiento, sino también con la seguridad biomecánica, la resistencia al daño físico (Putz et al. 1983, Augspurger y Kelly 1984, Hacke et al. 2001) y la tolerancia a la sombra de las especies arbóreas (Kitajima 1994).

A pesar del gran número de estudios sobre la vulnerabilidad del sistema de transporte hidráulico (por ejemplo, Tyree y Sperry 1989, Maherali et al. 2004, Markesteijn et al. 2011), hay poca información sobre la capacidad de aclimatación de la vulnerabilidad a la cavitación. Las plántulas de una misma especie creciendo a la sombra o en condiciones de alta radiación solar difieren en su vulnerabilidad del xilema; los individuos que crecen bajo sombra son más vulnerables a la cavitación que aquellos que crecen al sol (Barigah et al. 2006, Schoonmaker et al. 2010). Sin embargo, Campanello y colaboradores (2011) encontraron que para algunas

especies de renovales del Bosque Atlántico semi-caducifolio existe una baja plasticidad de la vulnerabilidad a la cavitación en diferentes condiciones de radiación solar durante el crecimiento de las plantas. Los efectos de los nutrientes sobre la capacidad de aclimatación de la vulnerabilidad a la cavitación son igualmente poco conocidos. Por ejemplo, la fertilización con nitrógeno produjo una disminución del P50 (mayor resistencia a la cavitación) en los tallos de árboles del Cerrado brasileño (Bucci et al. 2006), un incremento del P50 en las especies de *Populus* (Hacke et al. 2010) y no tuvo efectos sobre la vulnerabilidad de los tallos en pinos (Ewers et al. 2000). Otras respuestas de las plantas al incremento en la disponibilidad de nutrientes del suelo son más generales como el aumento en la tasa de fotosíntesis y el área foliar total, el ajuste en la asignación de biomasa a las hojas y cambios en la relación área foliar: área de xilema activo (Cooke et al. 2005, Bucci et al. 2006).

En el límite austral del Bosque Atlántico semi-caducifolio, los cortos períodos de sequía y las heladas pueden afectar la performance de las plantas, provocando una disfunción en el sistema de transporte de agua del suelo a las hojas. Además, en este ecosistema boscoso, la disponibilidad de nutrientes en el suelo, especialmente fósforo, es muy bajo (Montti et al. 2011); lo cual supone que los nutrientes son una limitación clave para el crecimiento de las plantas. Se estudió la arquitectura hidráulica y el crecimiento de seis especies de dosel del Bosque Atlántico en Misiones, Argentina, que difieren en su tolerancia a la sombra, a través de un experimento de cuatro años de fertilización con N y P. Las mediciones se realizaron en renovales de árboles que crecen en claros del bosque, lo que ayudó a reducir los efectos de limitación por luz. Se midió el crecimiento de las plantas, la conductividad hidráulica específica, la conductividad hidráulica foliar específica, la vulnerabilidad a la cavitación del xilema, la relación área foliar: área de xilema activo, la densidad de la madera, el área foliar específica y el daño foliar por herbivoría. En particular, se examinó: 1) la relación entre el crecimiento, la eficiencia hidráulica, la densidad de madera, la vulnerabilidad a la cavitación y el área foliar específica de las especies y 2) el compromiso entre eficiencia y seguridad en el sistema de transporte de agua. Se espera que la adición de nutrientes aumente la eficiencia del transporte de agua en árboles jóvenes para compensar los aumentos en el crecimiento y el área foliar asociados a la fertilización, y que un mayor crecimiento de las plantas dará como resultado el desarrollo de madera más liviana, que modificará la vulnerabilidad del xilema. También se espera que las especies con mayores requerimientos de luz tengan una mayor eficiencia en el transporte de agua, una menor densidad de madera y una tasa de crecimiento más rápida que las especies tolerantes a la sombra creciendo en los claros de bosque.

Materiales y métodos

Área de estudio, diseño experimental y especies

El estudio se llevó a cabo dentro del Parque Nacional Iguazú (25° 37'S, 54° 20'W), Provincia de Misiones, Argentina. La región recibe una precipitación media anual de 2000 mm, distribuida uniformemente a lo largo del año. Sin embargo, durante los cortos períodos secos (aproximadamente 20 a 30 días anuales), el potencial de agua del suelo puede alcanzar valores tan bajos como -2 MPa (Campanello et al. 2007). La temperatura media anual es de 21°C. Se producen temperaturas de congelación (heladas) dentro de un rango de 2 a 9 días al año durante el invierno, dependiendo de la proximidad a los ríos y la altitud del sitio (Ligier 1990, Gatti et al. 2008). Los suelos son Ultisoles profundos con alta concentración de Fe, Al y Si (Ligier et al. 1990).

Se establecieron diez parcelas permanentes de 15 x 15 m en 2004 en pequeños claros naturales con similares condiciones de disponibilidad de N y P en el suelo. Al inicio de los tratamientos de fertilización, se colectaron cuatro muestras de suelo de 0-10 cm de profundidad y se mezclaron para formar una muestra compuesta. Las muestras fueron analizadas para evaluar la disponibilidad de P, mediante el método de Olsen modificado, y N por el método de Kjeldahl. Las concentraciones de N y P en el suelo fueron 12.8 mg g⁻¹ N-(NH₄NO₃), y 3.4 mg g⁻¹ P-(HPO₄⁻+H₂PO₄⁻²). Los análisis fueron realizados por el Laboratorio de Suelos del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), de Castelar, Argentina. Los claros naturales seleccionados fueron similares en la radiación solar incidente (34 ± 4% de la radiación total), estimada con fotografías hemisféricas en cada una de las 10 parcelas.

El experimento incluyó dos tratamientos con cinco repeticiones en un diseño completamente al azar. Los tratamientos fueron: control (sin fertilización adicional), y N más P (100 kg N ha⁻¹ año⁻¹ como nitrato de amonio y urea + 100 kg P ha⁻¹ año⁻¹, superfosfato triple de calcio). Los fertilizantes granulados se aplicaron al voleo sobre la superficie del suelo en tres aplicaciones anuales, desde febrero de 2004 a diciembre 2008. Fue fertilizada también, una zona de amortiguamiento de 10 m alrededor de las parcelas.

Para el estudio fueron seleccionadas seis especies arbóreas, comunes en bosques tropicales secos del Neotrópico (Pennington et al. 2000), que varían en los requisitos de luz para su regeneración y en la densidad de madera (Carvalho 2003, Campanello et al. 2011). En orden decreciente de tolerancia a la sombra, las especies utilizadas fueron: *Balfourodendron riedelianum* (Engl.) Engl. (Rutaceae), *Cordia americana* (L.) Gottschling & J.S. Mill.

(Boraginaceae), *Maclura tinctoria* (L.) Steud. ssp. *tinctoria* (Moraceae), *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae), *Cordia trichotoma* (Vell.) Arráb. ex Steud. y *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. (Fabaceae). Las tasas máximas de transporte de electrones oscilan entre 100 mmol m⁻² s⁻¹ (en *B.riedelianum*, la especie más tolerante a la sombra) a 150 mmol m⁻² s⁻¹ (en *P.dubium* la especie con mayores requerimientos de luz) (Campanello et al. 2011). Las semillas fueron recolectadas entre agosto de 2002 y febrero de 2003 dentro del Parque Nacional Iguazú, de 5-10 árboles parentales por especie y germinadas en camas de tierra dentro de un vivero. Cuando se expandieron las primeras hojas, las plántulas se repicaron a bolsas plásticas rellenas con suelo local y se mantuvieron en vivero debajo de una media-sombra de 80%. Los renovales fueron trasplantados a las parcelas del experimento en Junio de 2004. Los tamaños iniciales fueron diferentes: la altura media (cm ± 1 error estándar) fue 17.8 ± 1.8 para *B. riedelianum*, 61.4 ± 6.2 para *C. fissilis*, 24.3 ± 1.6 para *C. americana*, 29.1 ± 3.8 para *C. trichotoma*, 54.8 ± 2.8 para *M. tinctoria* y 65.7 ± 9.8 para *P. dubium*. Los árboles fueron plantados al azar en las parcelas a lo largo de cinco transectas, abarcando un área de 5 x 15 m con una separación de 1 m de distancia entre plántulas. Fueron plantados entre 11 y 15 individuos por especies en cada parcela, a excepción de *C. trichotoma*, para la cual fueron plantados sólo tres individuos por parcela. La muerte de algunos individuos de esta especie impidió la medición de algunas variables fisiológicas. El crecimiento en diámetro (tomado en una sección marcada del tallo 2 cm por encima del suelo), la altura y el área foliar total fueron medidos al principio y al final del experimento (marzo 2005 y marzo 2009, respectivamente) en 3-5 individuos por especie de cada tratamiento de fertilización. La tasa de crecimiento relativo fue expresada como el incremento en el diámetro del tallo entre marzo de 2005 y marzo de 2009, dividido el valor inicial del diámetro del tallo. Fue utilizada una tasa de crecimiento acumulativo para el período de cuatro años en lugar de la tasa de crecimiento promedio anual debido a la alta variabilidad en el crecimiento durante esta etapa inicial del ciclo de vida de las plantas.

Conductividad hidráulica de los tallos

La conductividad hidráulica del tallo se midió en ramas terminales o pecíolos (en el caso de *C. fissilis* y *P. dubium*) expuestas al sol de cinco individuos por especie y tratamiento durante febrero de 2009. Los segmentos utilizados fueron de 12 a 25 cm de largo, dependiendo de la especie. Las muestras fueron recolectadas por la mañana temprano, cortadas bajo agua y trasladadas inmediatamente al laboratorio con un extremo sumergido en agua y el extremo libre cubierto con bolsas de plástico negras para evitar la deshidratación. En el laboratorio, los tallos fueron cortados nuevamente bajo el agua y conectados a un aparato de medición de

conductividad hidráulica (Sperry et al. 1988). Se utilizó agua destilada y desgasificada como líquido de perfusión. Se midió el flujo de agua generada por una cabeza hidráulica bajo una presión hidrostática constante de 40 cm, registrando el volumen de agua liberado por tallos y pecíolos con pipetas graduadas de 0.1 ml conectadas al extremo de salida (corriente abajo) de los tallos. Tras un corto período de equilibrio, se obtuvieron tres medidas consecutivas. La conductividad hidráulica (K_H ; $\text{kg m}^{-1} \text{MPa}^{-1}$) fue calculada como:

$$K_H = J_v / (\Delta P / \Delta L)$$

donde J_v es la tasa de flujo a través del segmento (kg s^{-1}) y $\Delta P / \Delta L$ es el gradiente de presión a través del segmento (MPa m^{-1}).

Una vez finalizada la medición los extremos de los tallos fueron recortados con hojas de afeitar limpias y teñidos con azul de toluidina para determinar el área de xilema activo (AX) a aproximadamente 1 cm de cada extremo del tallo mediante la medición del área teñida en la sección transversal; para los análisis fue utilizado el valor promedio. La conductividad hidráulica específica (K_S ; $\text{kg m}^{-1} \text{MPa}^{-1} \text{s}^{-1}$) fue calculada como la razón K_H : AX y la conductividad hidráulica foliar específica (K_L ; $\text{kg m}^{-1} \text{MPa}^{-1} \text{s}^{-1}$) fue calculada como la razón K_H :LA, donde LA corresponde al área foliar distal de cada tallo medido.

Vulnerabilidad del tallo a la cavitación

Se generaron curvas de vulnerabilidad hidráulicas utilizando el método de deshidratación (Sperry et al. 1988). Antes del amanecer se cortaron ramas terminales de 3-5 individuos de cada especie. Inmediatamente fueron recortadas bajo el agua, se cubrieron con bolsas plásticas negras y fueron transportadas al laboratorio para las mediciones. En el laboratorio, se permitió que las muestras transpiraran libremente por diferentes intervalos de tiempo para obtener un amplio rango de potenciales hídricos. Luego fueron almacenadas en bolsas de plástico negras para que se equilibren durante por lo menos 1 hora. El potencial hídrico (ψ) de dos hojas se midió utilizando una cámara de presión (PMS, Albany, OR, USA) y el tallo correspondiente se recortó bajo agua y conectó al aparato para medir la conductividad hidráulica como se describió anteriormente. El K_H máximo (K_{max}) se determinó después de realizar las mediciones de K_H iniciales, utilizando agua destilada y desgasificada a una presión de 0.1 MPa durante 20 min, para retirar el aire de los vasos embolizados. Las mediciones iniciales de K_H (K_i) fueron expresadas como un porcentaje de K_{max} , y el porcentaje de pérdida de conductividad (PPC) fue calculado como $(100 (1 - K_i/K_{max}))$. Se obtuvieron las curvas de vulnerabilidad hidráulica del tallo graficando PLC en función de ψ . Los datos se ajustaron a una

curva sigmoidea y se calculó el potencial hídrico del xilema cuando ocurre una pérdida del 50 / de la conductividad hidráulica del tallo (P50).

Densidad de la Madera

Las ramas terminales utilizadas para las curvas de vulnerabilidad del tallo también fueron utilizadas para las estimaciones de densidad de la madera. Un segmento de 2 cm de largo fue cortado y tanto la corteza como el parénquima fueron retirados del tallo. El volumen de cada segmento fue medido inmediatamente usando el método de desplazamiento de agua. A continuación se secaron en estufa a 70°C durante 72 h para determinar el peso seco. El valor de densidad de madera se obtuvo como el cociente entre el peso seco y el volumen.

Área foliar específica y herbivoría por insectos

Se colectaron cinco hojas completamente expandidas y expuestas al sol de cinco árboles por tratamiento en las mismas parcelas en que se midieron las propiedades hidráulicas. Área foliar de las hojas frescas se determinó empleando un escáner y el software *Leaf Area Measurement* (V.1.3. Copywrite 2003, Sheffield University; www.shef.ac.uk). Posteriormente las hojas fueron secadas en estufa (60°C) y su peso seco fue utilizado para calcular el área foliar específica (AFE).

Para evaluar el daño por herbivoría por insectos se utilizaron cinco individuos por especie y por tratamiento. Durante Febrero de 2006, durante el pico de abundancia de los insectos, se marcaron 5 hojas nuevas por cada planta. Después de un mes las hojas marcadas fueron cosechadas para determinar mediante escáner el área foliar consumida por herbivoría. Posteriormente, la misma imagen fue modificada digitalmente para simular el área foliar sin herbivoría y determinar el porcentaje de área foliar dañada.

Análisis estadísticos

Todos los análisis estadísticos fueron realizados utilizando el paquete estadístico InfoStat 2009 (Di Rienzo et al. 2009). Para testear las diferencias entre especies y tratamientos se utilizó un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías, los resultados se muestran en el Anexo 3. Las diferencias entre tratamientos para cada especie fueron testeadas con un test de t para muestras independientes. Para examinar las relaciones interespecíficas entre distintas características se utilizaron análisis de correlación de Pearson. Para descartar que existan diferencias ontogénicas debido al tamaño de la planta entre el tratamiento control y el

tratamiento de adición de N+P, se realizaron correlaciones entre la altura, el diámetro, el área foliar total y las variables fisiológicas y ninguna fue significativa.

Resultados

Crecimiento, daño foliar y arquitectura hidráulica

Luego de 4 años de fertilización, el diámetro, la altura y el área foliar total de las plantas que crecieron bajo el tratamiento de adición de N+P fueron mayores que en las plantas creciendo en las parcelas control (Tabla 1). Las diferencias fueron significativas en todas las especies excepto en *C. trichotoma*. La fertilización dio lugar a un incremento de 10-70% en el diámetro y la altura, dependiendo de la especie. El área foliar total se duplicó con la adición de N+P en especies como *C. fissilis*, *M. tinctoria* y se triplicó en *C. americana*. El porcentaje de daño foliar por herbivoría no respondió a la adición de fertilizantes (Tabla 1), excepto para *P. dubium* que mostró en las plantas fertilizadas un menor daño en las hojas que en las plantas del tratamiento control. Además, *P. dubium* fue la especie que exhibió el mayor daño foliar, dos veces el daño observado en *M. tinctoria* y tres veces mayor que en las otras especies. Por otro lado, *C. fissilis* fue la especie con el menor porcentaje de daño foliar. En ambos tratamientos, aproximadamente el 40% de los individuos de esta última especie fueron atacados por *Hypsipyla grandella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) en las yemas apicales, produciendo la muerte de hojas, la malformación de tallos y probablemente un retraso permanente en el crecimiento. Por esto, para *C. fissilis*, un 40% de daño sería una estimación más real de la herbivoría asumiendo que el área foliar total fue similar entre las plantas.

La adición de nitrógeno y fósforo afectó varios rasgos de la arquitectura hidráulica. Se realizó un ANOVA de dos factores, los tratamientos de fertilización y las especies, y los resultados indicaron que K_s y K_L no se vieron afectados significativamente por la fertilización ($P > 0.05$), pero fueron diferentes para las cinco especies ($P < 0.005$) (datos no mostrados). La conductividad hidráulica específica (K_s) aumentó con la adición de nutrientes en *B. riedelianum*, *C. americana* y *C. trichotoma* (Tabla 2). Por otro lado, el valor de K_s de *C. fissilis* y *P. dubium* disminuyó en respuesta a la adición de nutrientes. Consistente con los cambios en K_s , también fueron observados ajustes en K_L . La adición de N+P resultó en un incremento en K_L en *B. riedelianum* y *C. americana*, mientras que *P. dubium* mostró una disminución significativa en K_L . Se observó una relación significativa positiva entre K_s y K_L entre las especies y los tratamientos (Tabla 3). Entre las especies, *C. trichotoma* mostró los valores más altos de K_s y

K_L , tanto en los tratamientos control como con la fertilización, y *M. tinctoria* y *B. riedelianum* tuvieron los valores más bajos (Tabla 2). Se realizó un ANOVA de dos factores, para poner a prueba la relación AF:AX para diferentes especies y tratamientos y los resultados indicaron que AF:AX disminuye con la fertilización ($P < 0.01$) y fue diferente para las 6 especies ($P < 0.0001$) (datos no mostrados). La relación AF:AX disminuyó con la adición de N+P (entre 15 y 35%) excepto en *P. dubium*. En el tratamiento de adición de N+P, la disminución en AF:AX en *B. riedelianum* y *C. fissilis* fue aparentemente mucho mayor que en *C. americana*, *C. trichotoma* o *M. tinctoria* (Tabla 2). Aunque este estudio encontró que el K_S está relacionado con K_L , ninguno de estos dos atributos se correlacionaron con AF:AX (Tabla 3). Se observó una correlación positiva entre la tasa de crecimiento relativo y el área foliar total en todas las especies (Fig. 1a). La tasa de crecimiento relativo en diámetro aumentó con la disminución de AF:AX entre las especies, incluyendo ambos tratamientos (Fig. 1b); es decir, cuanto mayor es el crecimiento relativo de cada especie, mayor es la capacidad transporte de agua en relación con la demanda potencial agua de las hojas. La figura 1 muestra que la tasa de crecimiento relativo se relaciona positivamente con el área foliar total y negativamente con AF:AX, entre especies y tratamientos.

Densidad de madera y vulnerabilidad a la cavitación del xilema

La adición de nutrientes resultó en una menor densidad de madera (ANOVA dos vías, $p < 0.01$) (resultados no mostrados). Los cambios en la densidad de la madera fueron significativos en tres de las seis especies estudiadas, *C. americana*, *C. trichotoma* y *M. tinctoria* (Tabla 2). Se observó una correlación significativa positiva entre la densidad de madera y K_S , independientemente del tratamiento de fertilización (Fig. 2). Aunque K_L tendió a disminuir con el aumento de la densidad de la madera, la correlación entre estas dos variables no fue significativa (Tabla 3). La especie más vulnerable a la cavitación del xilema fue *C. fissilis* y la más resistente fue *C. americana*, en ambos tratamientos (Fig. 3). El P50 fue menos negativo (más vulnerable a la cavitación) en *B. riedelianum*, *M. tinctoria* y *C. americana* creciendo en las parcelas control en comparación con las plantas fertilizadas (Tabla 2 y Fig. 3). Estos cambios derivados de la fertilización no afectaron la relación funcional observada entre P50 y AF:AX entre las especies. El aumento de la eficiencia del transporte de agua a las hojas (menor AF:AX) con la fertilización estuvo relacionado con una disminución en la vulnerabilidad a la cavitación del xilema (Fig. 4). No se encontró una relación significativa entre P50 y K_S , ni entre P50 y la densidad de madera (Tabla 3). Se observó una relación lineal significativa entre el P50 y la tasa de crecimiento relativo en diámetro en todas las especies y tratamientos (Fig. 4b). Por

lo tanto, las plantas con los valores más negativos de P50 (menos vulnerable a la cavitación) a la vez son las que tuvieron mayores tasas de crecimiento relativo. El P50 y AF:AX también estuvieron correlacionadas positivamente con el área foliar específica (Tabla 2, Fig. 5).

Tabla 1. Diámetro, altura, área foliar total y daño foliar de las seis especies estudiadas en el tratamiento control (C) y en el tratamiento de fertilización (N+P). Se muestra la media \pm error estándar (EE). Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos por especie (Test de T, $n = 4 - 5$, $P < 0.05$).

	Diámetro (mm)			Altura (cm)		Área foliar total (m ²)			Daño foliar (✓)			
	Media	EE		Media	EE	Media	EE		Media	EE		
<i>B. riedelianum</i>												
C	31.40	1.50	a	295.20	12.25	a	2.26	0.20	7.28	0.83		
N+P	39.40	1.17	b	408.20	13.66	b	2.72	0.19	5.52	1.20		
<i>C. americana</i>												
C	37.80	1.69	a	421.60	21.07	a	1.79	0.14	a	5.25	0.99	
N+P	59.60	1.25	b	604.00	15.68	b	6.83	0.48	b	3.30	1.11	
<i>M. tinctoria</i>												
C	48.60	2.16	a	548.00	23.54	a	9.10	0.74	a	10.09	2.32	
N+P	82.40	1.89	b	697.00	18.81	b	20.66	0.65	b	7.42	2.70	
<i>C. fissilis</i>												
C	34.20	1.53	a	171.80	10.26		1.66	0.16	a	1,40	0,23	
N+P	48.40	4.11	b	215.40	17.79		3.63	0.08	b	0.68	0.42	
<i>C. trichotoma</i>												
C	46.00	1.53		345.67	24.70		2.97	0.34		13.14	0.93	
N+P	52.33	6.77		434.00	41.53		3.86	0.28		15.10	0.67	
<i>P. dubium</i>												
C	58.20	3.18	a	511.40	18.36	a	2.49	0.16	a	19.25	1.66	a
N+P	71.40	3.30	b	632.00	30.07	b	4.06	0.31	b	9.50	1.00	b

Tabla 2. Caracteres hidráulicos de los tallos de las seis especies estudiadas en el tratamiento control (C) y en el tratamiento de fertilización (N+P). Se muestra la media \pm error estándar (EE). Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos por especie (Test de T, $P < 0.05$). Se muestra la conductividad hidráulica específica (K_s ; $\text{kg m}^{-1} \text{s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$), conductividad hidráulica foliar específica (K_L ; $\text{kg m}^{-1} \text{s}^{-1} \text{MPa}^{-1} 10^{-4}$), densidad de madera (Densidad; g cm^3), área foliar: área de xilema activo (AF:AX, $\text{m}^2 \text{m}^{-2} 10^3$) y potencial hídrico al cual se pierde el 50% de la conductividad (P50; MPa).

	KS		KL		Densidad		AF:AX		P50					
	Media	EE	Media	EE	Media	EE	Media	EE	Media	EE				
<i>B. riedelianum</i>														
C	0.21	0.02	a	0.13	0.01	a	0.74	0.02	17.2	1.4	a	-1.13	0.26	a
N+P	0.48	0.07	b	0.47	0.10	b	0.73	0.01	11.3	1.9	b	-1.75	0.15	b
<i>C. americana</i>														
C	0.65	0.16	a	0.63	0.14	a	0.73	0.01	a	10.1	1.5	-1.37	0.07	a
N+P	1.75	0.34	b	2.50	0.59	b	0.67	0.02	b	7.8	1.7	-2.07	0.19	b
<i>M. tinctoria</i>														
C	0.37	0.1		0.46	0.17		0.75	0.02	a	11.8	3.2	-0.71	0.10	a
N+P	0.41	0.12		0.48	0.13		0.69	0.01	b	8.6	1.0	-1.56	0.18	b
<i>C. fissilis</i>														
C	2.16	0.56		0.81	0.14		0.48	0.04		25.4	2.3	a	-0.73	0.07
N+P	0.94	0.27		0.57	0.16		0.47	0.04		16.3	1.5	b	-0.98	0.16
<i>C. trichotoma</i>														
C	0.83	0.21	a	1.50	0.51		0.57	0.01	a	7.8	2.0	—		
N+P	1.78	0.18	b	2.70	0.34		0.52	0.01	b	6.7	0.4	—		
<i>P. dubium</i>														
C	2.78	0.64	a	1.30	0.11	a	0.56	0.02		21.2	3.6	-1.03	0.34	
N+P	0.62	0.05	b	0.30	0.01	b	0.54	0.03		21.1	2.4	-1.13	0.16	

Tabla 3. Análisis de correlación de Pearson entre: conductividad hidráulica específica (K_s ; $\text{kg m}^{-1} \text{s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$), conductividad hidráulica foliar específica (K_L ; $\text{kg m}^{-1} \text{s}^{-1} \text{MPa}^{-1} 10^{-4}$), densidad de madera (Densidad; g cm^3), área foliar: área de xilema activo (AF:AX, $\text{m}^2 \text{m}^{-2} 10^3$), potencial hídrico al cual se pierde el 50% de la conductividad (P50; MPa), crecimiento relativo en diámetro (CR) y área foliar específica (AFE; $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$).

	KS	KL	Densidad	AF:AX	P50	CR
KS						
KL	0.61 *					
Densidad	-0.59 *	-0.30				
AF:AX	0.33	-0.46	-0.43			
P50	0.10	-0.51	-0.41	0.69 *		
CR	-0.34	0.31	0.48	-0.84 ***	-0.69 *	
AFE	0.53	-0.20	-0.56	0.74 **	0.81 **	-0.67 *

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$

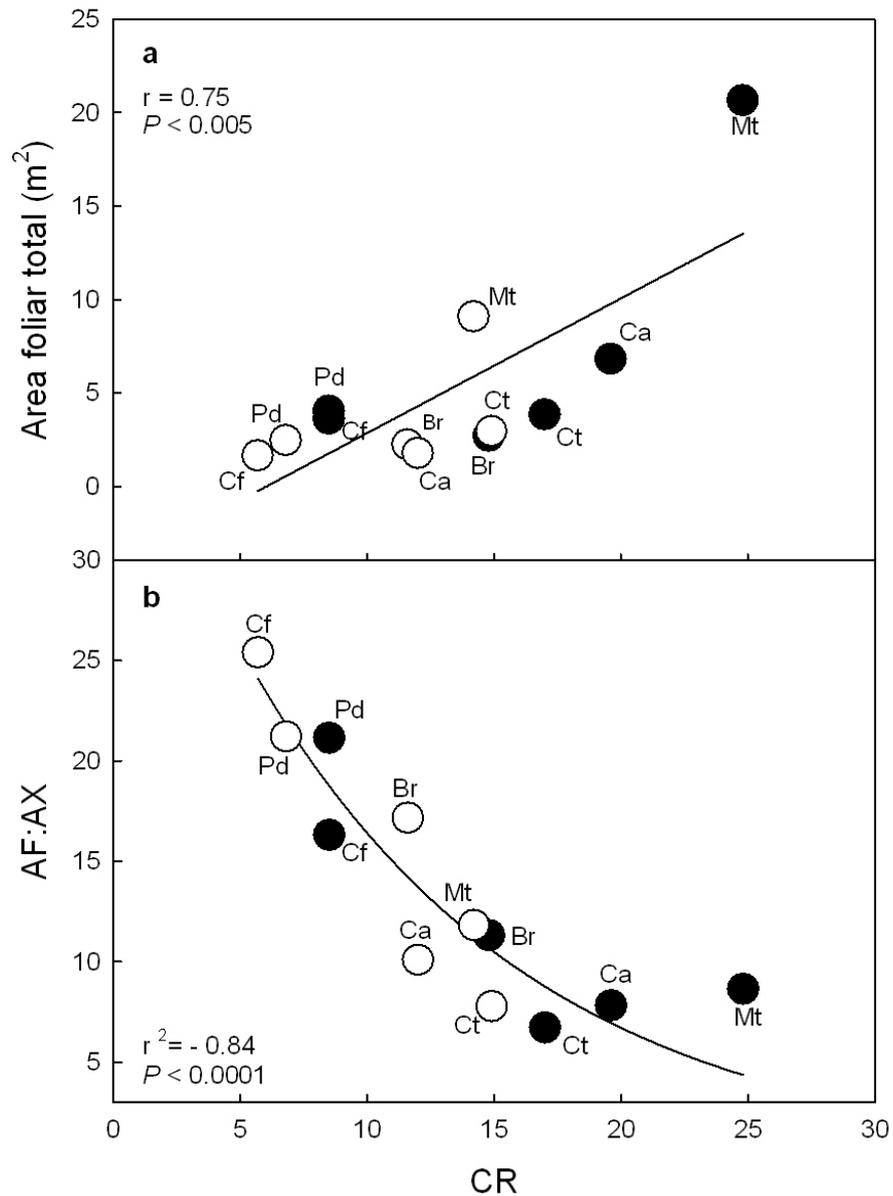


Figura 1. Relación entre el área foliar total y el crecimiento relativo (CR) medido como el incremento en diámetro (a), y área foliar: área de xilema activo (AF:AX) y CR (b) para las especies estudiadas en el tratamiento control (símbolos blancos) y en el tratamiento de adición de N+P (símbolos negros). Los símbolos corresponden a la media de cada especie (n=4-5). El valor de r en (a) corresponde al coeficiente de correlación de Pearson y r² en (b) corresponde al coeficiente de determinación de la función exponencial que fue ajustada a los datos: $y = 41.9 \cdot \exp(-0.09 \cdot x)$. Las abreviaturas de las especies son: Br, *Balfourodendron riedelianum*; Ca, *Cordia americana*; Mt, *Maclura tinctoria*; Cf, *Cedrela fissilis*; Ct, *Cordia trichotoma* y Pd, *Peltophorum dubium*.

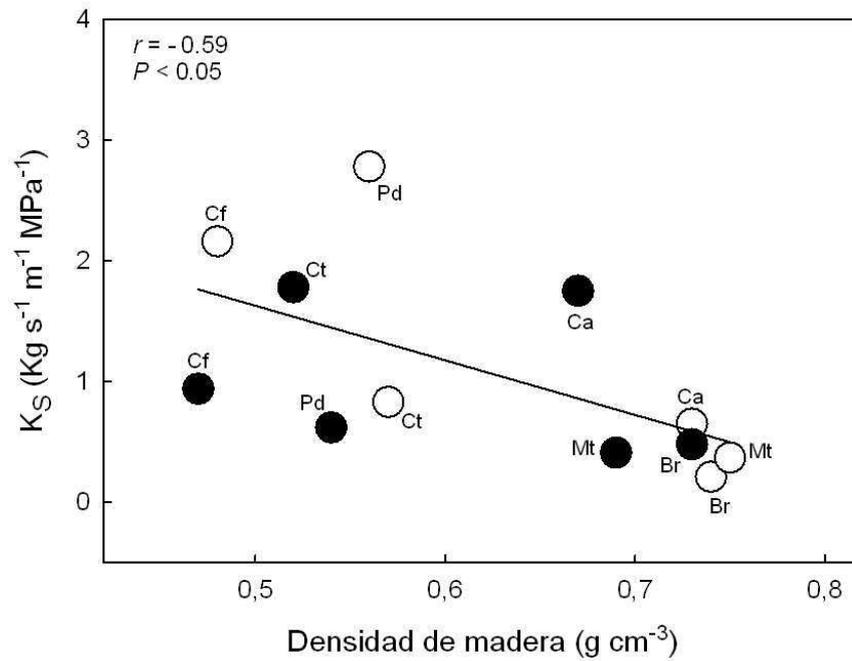


Figura 2. Relación entre la conductividad hidráulica específica (K_S) y la densidad de la madera para las especies estudiadas en el tratamiento control (símbolos blancos) y en el tratamiento de adición de N+P (símbolos negros). Los símbolos corresponden a la media de cada especie ($n=4-5$). El valor de r en corresponde al coeficiente de correlación de Pearson. Para las abreviaturas ver Fig. 1.

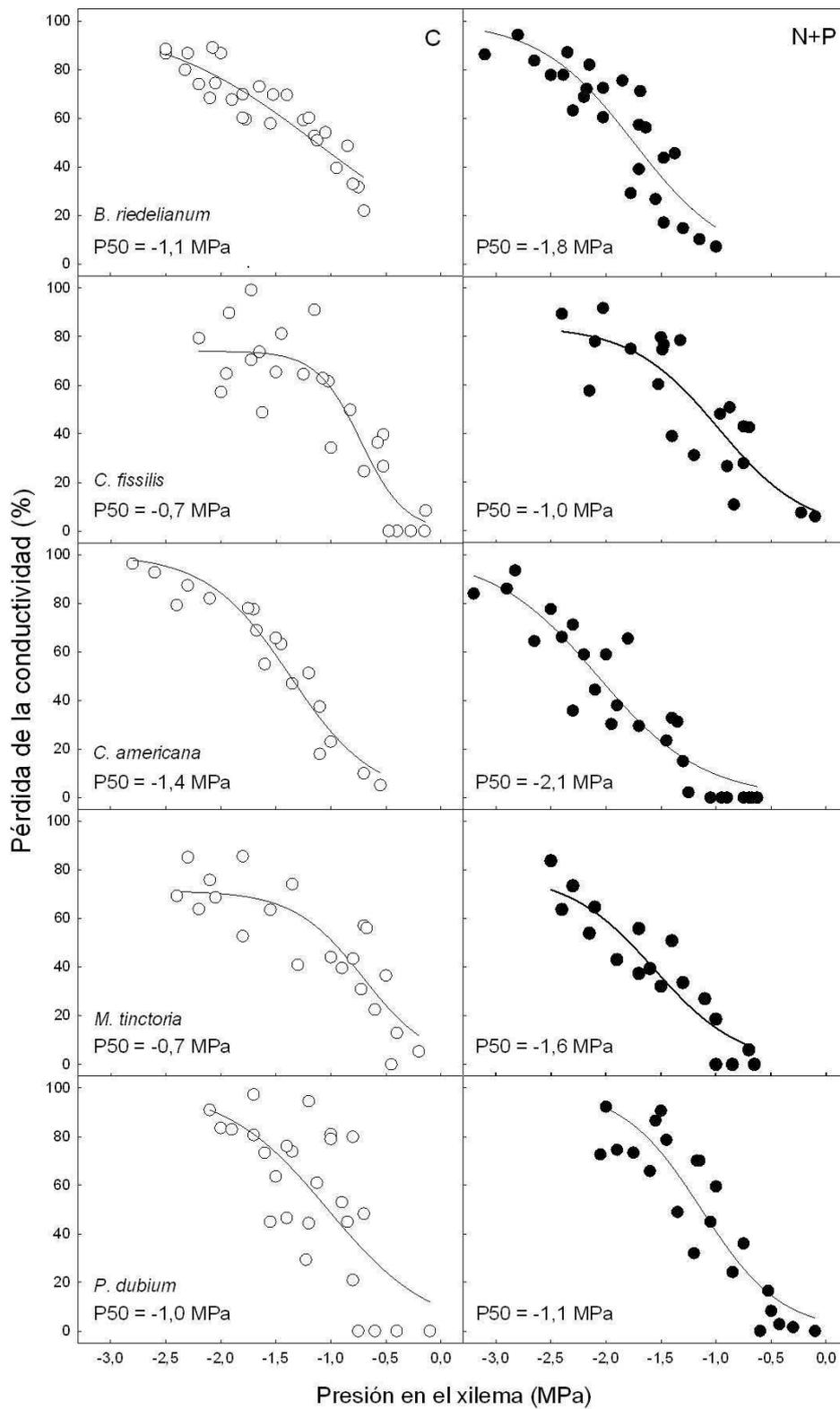


Figura 3. Curvas de vulnerabilidad a la cavitación en renovales de las especies estudiadas en el tratamiento control (panel izquierdo, símbolos blancos) y en el tratamiento de adición de N+P (panel derecho, símbolos negros). Se ajustó a los datos una función sigmoidea ($P < 0.05$ en todos los casos). Se indica el potencial hídrico al cual se pierde el 50% de la conductividad (P50).

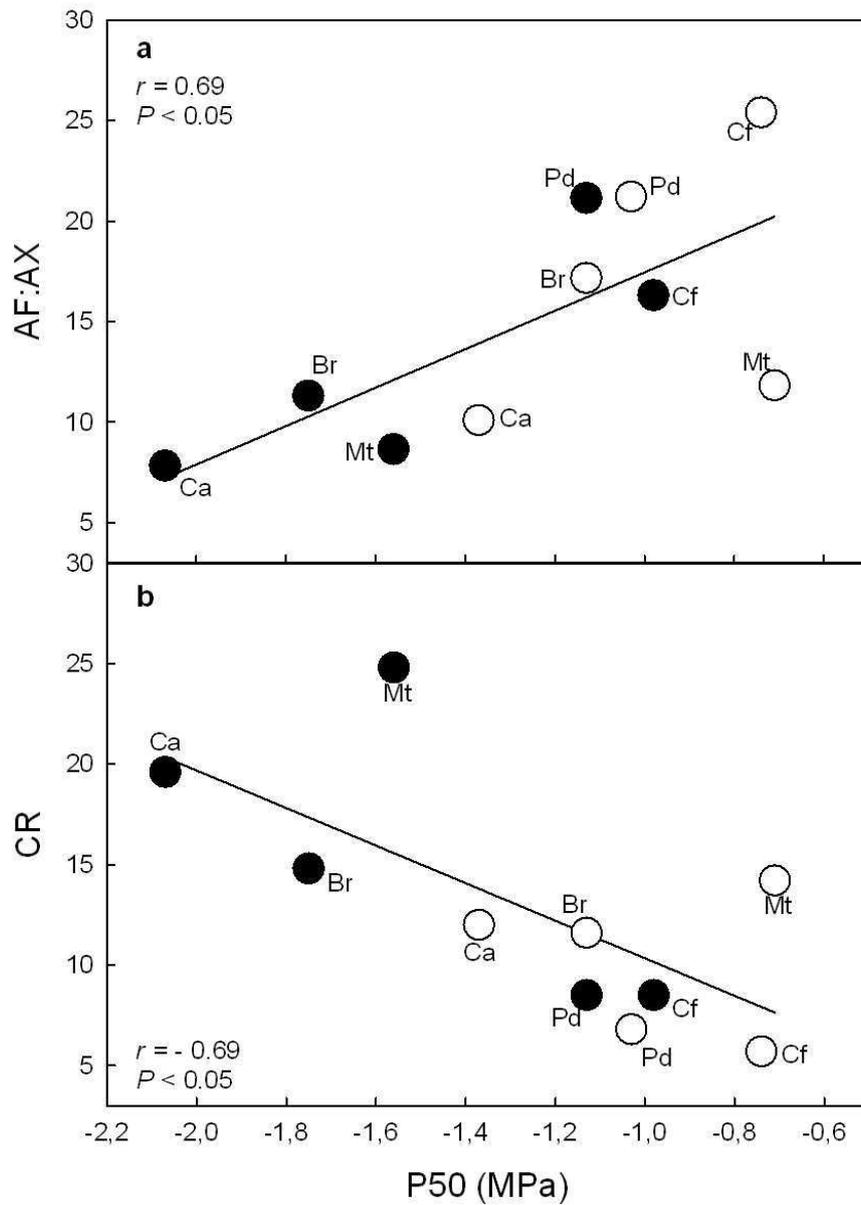


Figura 4. Relación entre el área foliar: área de xilema activo (AF:AX) y el potencial hídrico al cual se pierde el 50% de la conductividad (P50) (a) y crecimiento relativo en diámetro (CR) el potencial hídrico al cual se pierde el 50% de la conductividad (P50) (b) para las especies estudiadas en el tratamiento control (símbolos blancos) y en el tratamiento de adición de N+P (símbolos negros). Los símbolos corresponden a la media de cada especie (n=4-5). El valor de r en corresponde al coeficiente de correlación de Pearson. Para las abreviaturas ver Fig. 1.

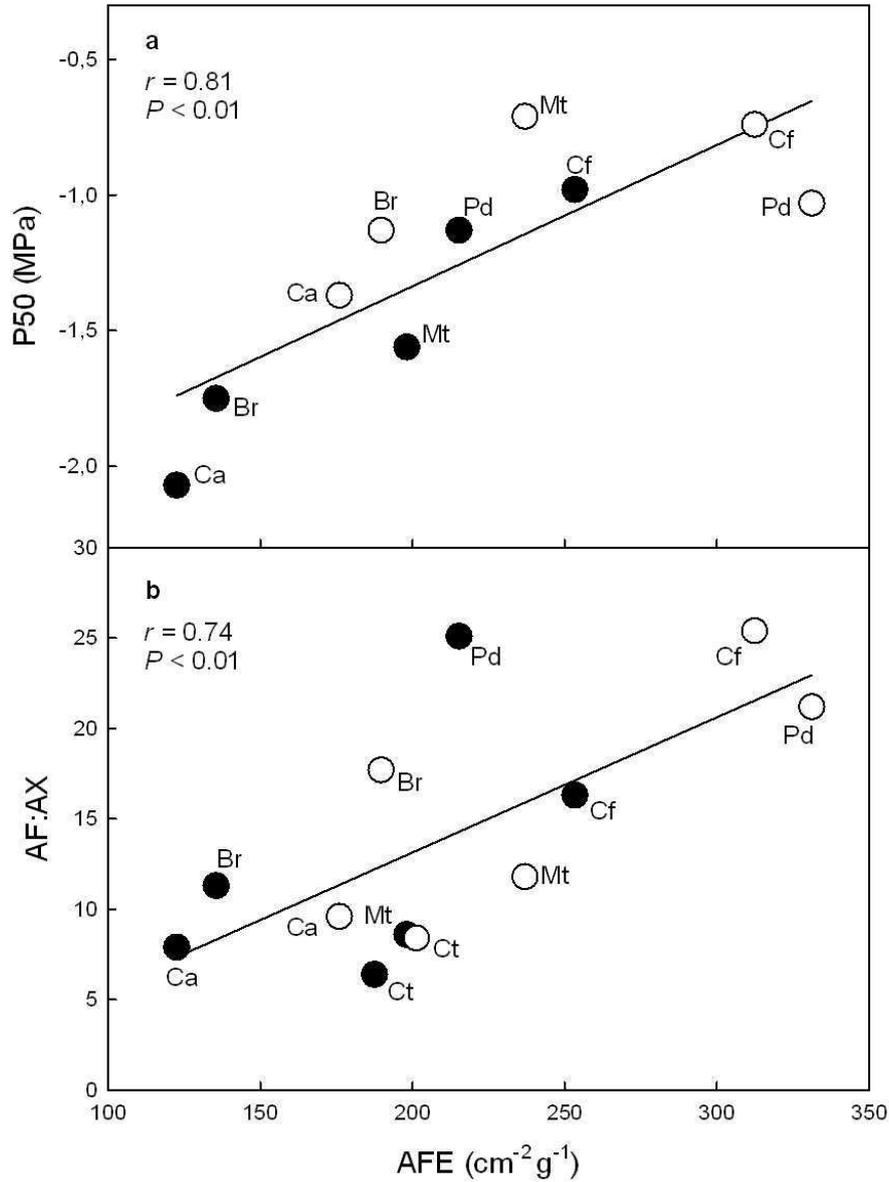


Figura 5. Relación entre el potencial hídrico al cual se pierde el 50% de la conductividad ($P50$) y el área foliar específica (AFE) (a) y área foliar: área de xilema activo ($AF:AX$) y el área foliar específica (AFE) (b) para las especies estudiadas en el tratamiento control (símbolos blancos) y en el tratamiento de adición de N+P (símbolos negros). Los símbolos corresponden a la media de cada especie ($n=4-5$). El valor de r en corresponde al coeficiente de correlación de Pearson. Para las abreviaturas ver Fig. 1.

Discusión

Impacto de la adición de N+P en el crecimiento y las características hidráulicas

En este trabajo, se estudió como la arquitectura hidráulica y el crecimiento de árboles de un bosque subtropical cambió cuando las limitaciones de N y P fueron aliviadas. Los resultados muestran un efecto claro de la adición de nutrientes sobre el crecimiento de los árboles y sugieren que tanto el N como el P son recursos limitantes en este ecosistema. El área foliar total, el diámetro y las altura máxima aumentaron significativamente con la adición de N+P. De las seis especies estudiadas, cinco mostraron diferencias significativas en cualquiera de los tres parámetros de crecimiento estudiados. *Cordia trichotoma* fue la única especie en la que no se observaron diferencias significativas, lo cual podría ser explicado parcialmente por la gran variabilidad en el tamaño de los individuos.

En las parcelas fertilizadas, el área de xilema se incrementó más que la superficie foliar total por planta, y en consecuencia la relación AF:AX especie-específica fue menor en las plantas fertilizadas. El AF:AX refleja el patrón de asignación de carbono a las hojas o al tejido xilemático. Varios estudios han mostrado cambios en los patrones de asignación con la adición de N+P, con aumentos en la biomasa aérea (i.e., área foliar total) más que en la biomasa subterránea (Giardina et al. 2003, Coyle and Coleman 2005, Stape et al. 2008, Novaes et al. 2009). En el cerrado brasileiro, la fertilización a largo plazo con N+P resultó en un aumento significativo del área foliar total y en una disminución del potencial hídrico foliar al mediodía en todas las especies estudiadas, probablemente como consecuencia de una falta de compensación en el aumento de la biomasa de raíces (Bucci et al. 2006). En este estudio se encontraron aumentos significativos en el área foliar total de los árboles, lo cual podría potencialmente ocasionar un desbalance en la adquisición de agua y su abastecimiento a las hojas, si la biomasa subterránea se mantiene constante a pesar de los aumentos en la biomasa aérea. En este trabajo no se realizaron mediciones de la biomasa de raíces pero es posible que la fertilización no haya incrementado la asignación de recursos hacia las raíces.

La fertilización no tuvo el mismo efecto en todas las especies sobre K_s y K_L . Sin embargo, como se indicó a partir de los resultados del ANOVA, las propiedades hidráulicas estudiadas mostraron diferencias entre las especies. Los valores (Carvalho 2003, Campanello et al. 2011) relativamente menores en *B. riedelianum* y *M. tinctoria* consistentes con su limitada capacidad para colonizar ambientes con alta radiación solar (Carvalho 2003, Campanello et al. 2011)

comparados con la especie de crecimiento más rápido y de mayores requerimientos lumínicos, como *C. trichotoma* quien presentó los valores más altos de K_L en ambos tratamientos. Sin embargo, no todas las especies mostraron una combinación de características como se esperaba, particularmente, el crecimiento no estuvo correlacionado con la eficiencia de transporte de agua tal como se observó en un estudio previo en plantas creciendo bajo condiciones controladas (Campanello et al. 2008). Por ejemplo *M. tinctoria* fue una de las especies con uno de los valores más bajos de K_L y el mayor crecimiento tanto en diámetro como en área foliar total, y *C. trichotoma* tuvo un crecimiento relativamente bajo pero el valor más alto de K_L . Otra especie tolerante a la sombra, *B. riedelianum* también tuvo bajo K_L y K_S pero tasas de crecimiento mayores que dos especies pioneras, *C. fissilis* y *P. dubium*.

La adición de nutrientes tendió a disminuir la densidad de madera en todas las especies, aunque sólo dos mostraron diferencias significativas con la fertilización, similar a los patrones observados en otros estudios (Bucci et al. 2006, Hacke et al. 2010). Esto sugiere que existen cambios en la anatomía del xilema de las ramas terminales que producen un incremento en la porosidad, en aquellas plantas que crecen con la adición de N+P (i.e., aumenta el tamaño de los vasos cuando se remueven las limitaciones nutricionales).

Las plantas de *B. riedelianum*, *C. americana* y *M. tinctoria* creciendo en las parcelas fertilizadas exhibieron una disminución del P50 y por lo tanto fueron más resistentes a la cavitación del xilema que aquellas plantas creciendo en las parcelas control. El P50 de las especies varió entre -0.71 MPa y -2.07 MPa, y se encontró dentro del rango de valores de P50 observados en especies de bosques tropicales húmedos (Maherali et al. 2004). El aumento en la resistencia a la cavitación en las plantas fertilizadas ocurra probablemente debido al aumento en los déficits hídricos que experimentan las plantas como consecuencia del incremento en área foliar total por planta. La respuesta a la adición de N o N+P ha sido variable, se observaron disminuciones del P50 (Bucci et al. 2006) o aumentos (Hacke et al. 2010), lo cual puede indicar que existen diferentes respuestas especie-específicas en diferentes ambientes. Es importante señalar que, contrariamente a los efectos de los nutrientes, se observó una respuesta más limitada del P50 a los cambios en la disponibilidad de luz durante el crecimiento de las plantas en un estudio previo en la misma área ecológica (Campanello et al. 2011). Los resultados de este estudio contribuyen al debate actual sobre la capacidad de aclimatación de la vulnerabilidad a la cavitación en las plantas vasculares.

Correlaciones entre características de la arquitectura hidráulica

Cedrela fissilis y *P. dubium* fueron las especies más vulnerables a la la cavitación del xilema y las más eficientes en el transporte de agua, una tendencia consistente con sus requerimientos de alta disponibilidad de luz en comparación con las otras especies estudiadas (Carvalho 2003, Campanello et al. 2011). A pesar de los resultados de esas dos especies, no se encontró un compromiso entre la eficiencia hidráulica y la vulnerabilidad a la cavitación para el conjunto de especies estudiadas. Existen numerosos estudios en los cuales no han encontrado evidencias de que exista un compromiso entre estas dos propiedades hidráulicas (Maherali et al. 2004, Choat et al. 2007, Pratt et al. 2007, Jacobsen et al. 2007, Campanello et al. 2011). Por otra parte, un estudio reciente señala que estas dos características del sistema hidráulico podrían ser genéticamente independientes (Lauri et al. 2011). Dado que este compromiso no sería un patrón universal, es necesario analizar otras posibles relaciones teniendo en cuenta las características hidráulicas a nivel de toda la planta, en lugar de en órganos específicos, porque es posible que existan otros mecanismos que contribuyan a la eficiencia y a la seguridad del sistema hidráulico de las plantas (e.g. alta capacitancia y la capacidad para reparar diariamente los vasos embolizados) (Meinzer et al. 2010).

En este estudio se encontró una buena correlación entre la densidad de madera y la conductividad hidráulica específica de los tallos. Las especies con mayor densidad de madera tuvieron una menor capacidad para transportar agua a través del xilema. De acuerdo con Chave y colaboradores (2009), la densidad de la madera y la vulnerabilidad a la cavitación se relacionan entre sí de una manera universal en todas las especies de plantas. Algunos estudios sugieren que las características anatómicas, tales como el diámetro o la densidad de los vasos, estarían involucradas en la eficiencia hidráulica, pero no en la resistencia a la cavitación. Según varios autores, los embolismos inducidos por eventos de sequía están especialmente relacionados con características anatómicas microscópicas más que con macroscópicas (Tyree y Sperry 1989, Hacke et al. 2001, Choat et al. 2008, Fichot et al. 2010). Estos hallazgos probablemente expliquen en parte por qué en este estudio no se observó una relación de compromiso entre la eficiencia y la vulnerabilidad a la cavitación como a menudo presentan los tallos de las plantas, y por qué se espera una mejor correlación entre la densidad de madera y la eficiencia hidráulica que entre la densidad de madera y la vulnerabilidad a la cavitación.

Relación AF:AX, área foliar específica y crecimiento

Al menos para algunas especies, se ha comprobado que la razón AF:AX es una de las propiedades hidráulicas más plásticas cuando se comparan poblaciones con distinta disponibilidad de agua (DeLucia et al 2000, Martínez-Vilalta et al. 2009). Los resultados de este estudio muestran que AF:AX disminuyó con la adición de nutrientes en *B. riedelianum* y *C. fissilis*. Esta característica es considerada un índice morfológico de la capacidad de transporte de agua, entonces las plantas con una menor AF:AX presentan una mayor capacidad de transporte de agua por unidad de superficie foliar (Goldstein et al 2002). Se encontró una relación fuertemente negativa entre AF:AX y la tasa de crecimiento relativo para todas las especies, lo que sugiere que las plantas con mayores tasas de crecimiento presentan ramas con mayor capacidad de abastecimiento de agua por unidad de área foliar. Sin embargo, K_L , una medida directa de la eficiencia de transporte de agua a las hojas, no se correlacionó con la tasa de crecimiento. De hecho, las plantas con mayores tasas de crecimiento tendieron a presentar menor K_L . Una posible explicación, como lo sugieren Buckley y Roberts (2006), es que durante la fase de crecimiento inicial de los árboles existe un alto riesgo de ruptura del tronco y una mayor presión selectiva para el crecimiento radial del tallo; por lo tanto la producción de albura (i.e., un menor AF:AX) sería beneficiosa en términos de la biomecánicas de las plantas.

Las especies menos vulnerables a la cavitación crecieron más rápido, como lo demuestra la correlación negativa entre el P50 y la tasa de crecimiento relativo en diámetro. Este resultado pareciera ser contrario al supuesto de que la resistencia a la cavitación del xilema se logra principalmente a expensas de bajas tasas de crecimiento; lo que supone que el grado de vulnerabilidad a la cavitación de una especie estaría asociado a un determinado costo en términos de asignación de carbono (Wikberg y Ögren 2004, Cochard et al. 2007). Una explicación diferente podría ser que las especies más resistentes a la cavitación (P50 más negativo) podrían evitar la disfunción hidráulica durante períodos cortos de sequía, dando lugar a plantas con mayores tasas de crecimiento relativo. Esta hipótesis debería ser evaluada experimentalmente.

Tanto el AF:AX como el P50 estuvieron correlacionados con el AFE. El AFE es una medida del área destinada a la captación de energía por unidad de peso seca invertida en la construcción de la hoja. En general se espera que las especies con mayor tolerancia a la sombra tengan menores valores de AFE (Kitajima 1994, Lusk y Warton 2007, Lusk et al 2008) debido en parte a que presentan una mayor proporción de fibras, epidermis y paredes

celulares (Alvarez-Clare y Kitajima 2007, Onoda et al. 2008), dando como resultado hojas más resistentes a la herbivoría (Coley y Barone 1996). Las características de hojas y tallos que confieren seguridad biomecánica estuvieron relacionadas entre sí, como se muestra en la correlación de AFE con P50 y AF:AX. Esto concuerda con el patrón general, en el que las especies más tolerantes a la sombra tienen hojas y tallos con características que les permiten aumentar su supervivencia en el sotobosque (Kitajima 2004). De acuerdo a estos resultados, las especies que tuvieron mayores tasas de crecimiento y eficiencia en el transporte de agua en vivero, en donde el estrés hídrico y el daño foliar por herbivoría estuvo controlado, tuvieron menos tasas de crecimiento en el campo. Probablemente esas especies fueron más afectadas por déficit hídricos durante los cortos eventos de sequía (debido a su mayor vulnerabilidad a la cavitación) y por daños biomecánicos dados por los altos valores en AF:AX y AFE.

Conclusiones

Los resultados mostraron un claro efecto de la adición de nutrientes en el crecimiento de plantas y sugieren fuertemente que el N y el P son recursos limitantes en los bosques subtropicales del nordeste de Argentina. El área foliar total, el diámetro del tallo y la altura máxima se incrementaron significativamente con la fertilización. Los resultados también mostraron que las especies estudiadas ajustaron parcialmente su arquitectura hidráulica a la fertilización y por lo tanto fueron capaces de hacer cambios compensatorios, tales como un aumento de la capacidad de transporte de agua y de la resistencia a la cavitación por estrés hídrico en las plantas fertilizadas. La falta de un compromiso entre la eficiencia hidráulica y la vulnerabilidad a la cavitación es consistente con varios estudios recientes que muestran resultados similares. Se encontró una buena correlación entre la densidad de la madera y la eficiencia en el transporte de agua del xilema en todas las especies y tratamientos, pero no se halló correlación entre estas características y las tasas de crecimiento. Las especies más tolerantes a la sombra tuvieron una mayor densidad de la madera, fueron menos afectadas por la herbivoría y fueron menos vulnerables a la cavitación hidráulica. Este conjunto de características de manera combinada podrían permitir que estas especies alcancen mayores tasas de crecimiento que especies con mayores requerimientos lumínicos. Los resultados de esta investigación resaltan la importancia de la Resistencia biomecánica durante la fase inicial de establecimiento de las plantas en los claros y además resaltan la importancia de realizar experimentos en el campo en donde algunas condiciones (e.g. herbivoría) no pueden ser

controladas, para entender y predecir los patrones de crecimiento y las relaciones funcionales de las especies en su hábitat natural.

Referencias bibliográficas

- Alvarez-Clare, S. y K. Kitajima. 2007. Physical defense traits enhance seedling survival of neotropical tree species. *Funct Ecol* 21:1044–1054.
- Augsburger, C.K. y C.K. Kelly. 1984. Pathogen mortality of tropical tree seedlings: experimental studies of the effects of dispersal distance, seedling density, and light conditions. *Oecologia* 61:211-217.
- Barigah, T.S., A. Bogard, E. Dreyer, B. Faivre-Vuillin, T. Ibrahim, L.A. Lagneau y P. Montpied. 2006. Irradiance-induced plasticity in the hydraulic properties of saplings of different temperate broad-leaved forest tree species. *Tree Physiol.* 26:1505-1516.
- Becker, P., R.J. Gribben y C.M. Lim. 2000. Tapered conduits can buffer hydraulic conductance from path-length effects. *Tree Physiol.* 20:965.
- Bhaskar, R., A. Valiente-Banuet y D.D. Ackerly. 2007. Evolution of hydraulic traits in closely related species pairs from mediterranean and nonmediterranean environments of North America. *New Phytol.* 176:718-726.
- Brodribb, T.J. y N.M. Holbrook. 2003. Stomatal closure during leaf dehydration, correlation with other leaf physiological traits. *Plant Physiology* 132: 2166-2173.
- Brodribb, T.J. y N.M. Holbrook. 2004. Stomatal protection against hydraulic failure: a comparison of coexisting ferns and angiosperms. *New Phytologist* 162: 663-670.
- Blackman, C.J., T.J. Brodribb y G.J. Jordan. 2009. Leaf hydraulics and drought stress: response, recovery and survivorship in four woody temperate plant species. *Plant Cell Environ.* 32:1584-1595.
- Brodribb, T.J. y H. Cochard. 2009. Hydraulic failure defines the recovery and point of peath in water-stressed conifers. *Plant Physiol.* 149:575-584.
- Brodribb, T.J. y N.M. Holbrook. 2007. Forced depression of leaf hydraulic conductance in situ: effects on the leaf gas exchange of forest trees. *Funct. Ecol.* 21:705-712.
- Brodribb, T.J., N.M. Holbrook, E.J. Edwards y M.V. Gutierrez. 2003. Relations between stomatal closure, leaf turgor and xylem vulnerability in eight tropical dry forest trees. *Plant Cell Environ.* 26:443-450.
- Bucci, S.J., F.G. Scholz, G. Goldstein, F.C. Meinzer y L. Da S.L. Sternberg. 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.
- Bucci, S.J., F.G. Scholz, G. Goldstein, F.C. Meinzer, A. Franco, P.I. Campanello, R. Villalobos-Vega, M.E.R.C. Bustamante y F.E.R.N. Miralles-Wilhelm. 2006. Nutrient availability constrains the hydraulic architecture and water relations of savannah trees. *Plant Cell Environ.* 29:2153-2167.
- Buckley, T.N. y D.W. Roberts. 2006. How should leaf area, sapwood area and stomatal conductance vary with tree height to maximize growth? *Tree Physiol.* 26:145.
- Burgess, S.S. O., J.A.R.M. Pittermann y T.E. Dawson. 2006. Hydraulic efficiency and safety of branch xylem increases with height in *Sequoia sempervirens* (D. Don) crowns. *Plant Cell Environ.* 29:229-239.
- Campanello, P.I., M.G. Gatti, A. Ares, L.F. Montti y G. Goldstein. 2007. Tree regeneration and microclimate in a liana and bamboo-dominated semideciduous Atlantic Forest. *For. Ecol. Manag.* 252:108-117.
- Campanello, P.I., M.G. Gatti y G. Goldstein. 2008. Coordination between water-transport efficiency and photosynthetic capacity in canopy tree species at different growth irradiances. *Tree Physiol.* 28:85-94.

- Campanello, P.I., M.G. Gatti, L.F. Montti, M. Villagra y G. Goldstein. 2011. Ser o no ser tolerante a la sombra: economía de agua y carbono en especies arbóreas del Bosque Atlántico (Misiones, Argentina). *Ecol. Austral* 21:285-300.
- Carvalho, P.E.R. 2003. *Especies arbóreas brasileiras*. Ministerio da Agricultura, Pequaria e Abastecimento, Brasilia, Brazil, 1040 p.
- Chao, K.J., O.L. Phillips, E. Gloor, A. Monteagudo, A. Torres Lezama y R.V. Martínez. 2008. Growth and wood density predict tree mortality in Amazon forests. *J. Ecol.* 96:281-292.
- Chave, J., D. Coomes, S. Jansen, S.L. Lewis, N.G. Swenson y A.E. Zanne. 2009. Towards a worldwide wood economics spectrum. *Ecol. Lett.* 12:351-366.
- Choat, B., A.R. Cobb y S. Jansen. 2008. Structure and function of bordered pits: new discoveries and impacts on whole-plant hydraulic function. *New Phytol.* 177:608-626.
- Choat, B., L. Sack y N.M. Holbrook. 2007. Diversity of hydraulic traits in nine *Cordia* species growing in tropical forests with contrasting precipitation. *New Phytol.* 175:686-698.
- Clearwater, M.J. y F.C. Meinzer. 2001. Relationships between hydraulic architecture and leaf photosynthetic capacity in nitrogen-fertilized *Eucalyptus grandis* trees. *Tree Physiol.* 21:683-690.
- Coley, P.D. y J.A. Barone. 1996. Herbivory and plant defenses in tropical forests. *Annu Rev Ecol Sys* 27:305-335.
- Cooke, J.E.K., T.A. Martin y J.M. Davis. 2005. Short-term physiological and developmental responses to nitrogen availability in hybrid poplar. *New Phytol.* 167:41-52.
- Coyle, D.R. y M.D. Coleman. 2005. Forest production responses to irrigation and fertilization are not explained by shifts in allocation. *For. Ecol. Manag.* 208:137-152.
- DeLucia, E.H., H. Maherali, y E.V. Carey. 2000. Climate driven changes in biomass allocation in pines. *Glob. Change Biol.* 6:587-593.
- Di Rienzo, J.A., F. Casanoves, M.G. Balzarini, L. Gonzalez, M. Tablada y C.W. Robledo. 2009. InfoStat versión 2009. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Ewers, B.E., R. Oren y J.S. Sperry. 2000. Influence of nutrient versus water supply on hydraulic architecture and water balance in *Pinus taeda*. *Plant Cell Environ.* 23:1055-1066.
- Fichot, R., T.S. Barigah, S. Chamaillard, D. Le Thiec, F. Laurans, H. Cochard y F. Brignolas. 2010. Common trade offs between xylem resistance to cavitation and other physiological traits do not hold among unrelated *Populus deltoides* x *Populus nigra* hybrids. *Plant Cell Environ.* 33:1553-1568.
- Giardina, C.P., M.G. Ryan, D. Binkley y J.H. Fownes. 2003. Primary production and carbon allocation in relation to nutrient supply in a tropical experimental forest. *Global Change Biology* 9:1438-1450.
- Hacke, U.G., L. Plavcová, A. Almeida-Rodriguez, S. King-Jones, W. Zhou y J.E.K. Cooke. 2010. Influence of nitrogen fertilization on xylem traits and aquaporin expression in stems of hybrid poplar. *Tree Physiol.* 30:1016-1025.
- Goldstein, G., F.C. Meinzer y J.L. Andrade. 2002. El flujo de agua en los árboles del dosel. In *Ecología y Conservación de Bosques Neotropicales*. Eds. M.R. Guariguata and G.H. Kattan. Libro Universitario Regional, Costa Rica, pp 251-270.
- Hacke, U.G., J.S. Sperry, W.T. Pockman, S.D. Davis y K.A. McCulloh. 2001. Trends in wood density and structure are linked to prevention of xylem implosion by negative pressure. *Oecologia* 126:457-461.
- Hubbard, R.M., M.G. Ryan, V. Stiller y J.S. Sperry. 2001. Stomatal conductance and photosynthesis vary linearly with plant hydraulic conductance in ponderosa pine. *Plant Cell Environ.* 24:113-121.
- Jacobsen, A.L., R.B. Pratt, S.D. Davis y F.W. Ewers. 2007. Cavitation resistance and seasonal hydraulics differ among three arid Californian plant communities. *Plant Cell Environ.* 30:1599-1609.
- Jacobsen, A.L., F.W. Ewers, R.B. Pratt, W.A. Paddock and S.D. Davis. 2005. Do xylem fibers affect vessel cavitation resistance? *Plant Physiol.* 139:546-556.

- Johnson, D.M., D.R. Woodruff, K.A. McCulloh y F.C. Meinzer. 2009. Leaf hydraulic conductance, measured in situ, declines and recovers daily: leaf hydraulics, water potential and stomatal conductance in four temperate and three tropical tree species. *Tree Physiology* 29: 879–887.
- Kitajima, K. 1994. Relative importance of photosynthetic traits and allocation patterns as correlates of seedling shade tolerance of 13 tropical trees. *Oecologia* 98:419–428
- Lauri, P.E., O. Gorza, H. Cochard, S. Martinez, J. Celton, V. Ripetti, M. Lartaud, X. Bry, C. Trottier y E. Costes. 2011. Genetic determinism of anatomical and hydraulic traits within an apple progeny. *Plant Cell Environ.* 34:1276-1290.
- Ligier, H.D., H.R. Matteio, H.L. Polo y J.R. Rosso. 1990. Provincia de Misiones. En Atlas de suelos de la República Argentina. Tomo II. Ed. I.S.d.A.G. y P. Centro de Investigaciones de Recursos Naturales. INTA, Argentina, pp 109-154.
- Lo Gullo, M.A., A. Nardini, P. Trifilo y S. Salleo. 2003. Changes in leaf hydraulics and stomatal conductance following drought stress and irrigation in *Ceratonia siliqua* (Carob tree). *Physiologia Plantarum* 117: 184-196.
- Lusk, C.H., P.B. Reich, R.A. Montgomery, D.D. Ackerly y J. Cavender-Bares. 2008. Why are evergreen leaves so contrary about shade? *Trends Ecol. Evol.* 23:299–303.
- Lusk, C.H. y D.I. Warton. 2007. Global meta-analysis shows that relationships of leaf mass per area with species shade tolerance depend on leaf habit and ontogeny. *New Phytol.* 176:178–189.
- Maherali, H., W.T. Pockman y R.B. Jackson. 2004. Adaptive variation in the vulnerability of woody plants to xylem cavitation. *Ecology* 85:2184-2199.
- Markesteyn, L., L. Poorter, H. Paz, L. Sack y F. Bongers. 2011. Ecological differentiation in xylem cavitation resistance is associated with stem and leaf structural traits. *Plant Cell Environ.* 34:137-148.
- Martínez-Vilalta, J., H. Cochard, M. Mencuccini, F. Sterck, A. Herrero, J.F.J. Korhonen, P. Llorens, E. Nikinmaa, A. Nolé, R. Poyatos, F. Ripullone, U. Sass-Klaassen y R. Zweifel. 2009. Hydraulic adjustment of Scots pine across Europe. *New Phytol.* 184:353-364.
- McDowell, N., H. Barnard, B.J. Bond, T. Hinckley, R.M. Hubbard, H. Ishii, B. Köstner, F. Magnani, J. Marchall, F.C. Meinzer, N. Phillips, M.G. Ryan y D. Whitehead. 2002. The relationship between tree height and leaf area: sapwood area ratio. *Oecologia* 132:12-20.
- Meinzer, F.C., K.A. McCulloh, B. Lachenbruch, D.R. Woodruff y D.M. Johnson. 2010. The blind men and the elephant: the impact of context and scale in evaluating conflicts between plant hydraulic safety and efficiency. *Oecologia* 164:287-296.
- Meinzer, F.C., M.J. Clearwater y G. Goldstein. 2001. Water transport in trees: current perspectives, new insights and some controversies. *Environ. Exp. Bot.* 45:239-262.
- Montti, L.F., P.I. Campanello, M.G. Gatti, C. Blundo, A.T. Austin, O.E. Sala y G. Goldstein. 2011. Understory bamboo flowering provides a very narrow light window of opportunity for canopy-tree recruitment in a neotropical forest of Misiones, Argentina. *For. Ecol. Manag.* 262:1360-1369.
- Muller-Landau, H.C. 2004. Interspecific and inter site variation in wood specific gravity of tropical trees. *Biotropica* 36:20-32.
- Nardini, A. y S. Salleo. 2000. Limitation of stomatal conductance by hydraulic traits: Sensing or preventing xylem cavitation. *Trees-Structure and Function* 15: 14-24.
- Nardini, A., M. Ramani, E. Gortan y S. Salleo. 2008. Vein recovery from embolism occurs under negative pressure in leaves of sunflower (*Helianthus annuus*). *Physiologia Plantarum* 133:755–764.
- Nascimento, H.E.M., W.F. Laurance, R. Condit, S.G. Laurance, S. D'Angelo y A.C. Andrade. 2005. Demographic and life history correlates for Amazonian trees. *J. Veg. Sci.* 16:625-634.
- Novaes, E., L. Osorio, D.R. Drost, B.L. Miles, C.R.D. Boaventura-Novaes, C. Benedict, C. Dervinis, Q. Yu, R. Sykes, M. Davis, T.A. Martin, G.F. Peter y M. Kirst. 2009. Quantitative genetic analysis of biomass and wood chemistry of *Populus* under different nitrogen levels. *New Phytol.* 182:878-890.

- Onoda, Y., F. Schieving y N.P.R. Anten. 2008. Effects of light and nutrient availability on leaf mechanical properties of *Plantago major*: a conceptual approach. *Ann. Bot.* 101:727–736.
- Pennington, R.T., D.E. Prado y C.A. Pendry. 2000. Neotropical seasonally dry forests and Quaternary vegetation changes. *J. Biogeogr.* 27: 261–273.
- Pockman, W.T. y J.S. Sperry. 2000. Vulnerability to xylem cavitation and the distribution of Sonoran Desert vegetation. *Am. J. Bot.* 87:1287-1299.
- Putz, F.E., P.D. Coley, K. Lu, A. Montalvo and A. Alello. 1983. Snapping y uprooting of trees: structural determinants and ecological characteristics. *Can. J. Forest Res.* 13:1011-102.
- Schoonmaker, A.L., U.G. Hacke, S.M. Landhäusser, V.J. Lieffers y M.T. Tyree. 2010. Hydraulic acclimation to shading in boreal conifers of varying shade tolerance. *Plant Cell Environ.* 33:382-393.
- Sperry, J.S., J.R. Donnelly y M.T. Tyree. 1988. A method for measuring hydraulic conductivity and embolism in xylem. *Plant Cell Environ.* 11:35-40.
- Stape, J.L., D. Binkley y M.G. Ryan. 2008. Production and carbon allocation in a clonal *Eucalyptus* plantation with water and nutrient manipulations. *For. Ecol. Manag.* 255:920-930.
- Tyree, M.T. y J.S. Sperry. 1989. Vulnerability of Xylem to Cavitation and Embolism. *Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant. Mol. Biol.* 40:19-36.
- Wikberg, J. y E. Ögren. 2004. Interrelationships between water use and growth traits in biomass-producing willows. *Trees* 18: 70–76.
- Wheeler, J.K., J.S. Sperry, U.G. Hacke y N.G.U.Y. Hoang. 2005. Inter-vessel pitting and cavitation in woody Rosaceae and other vesselled plants: a basis for a safety versus efficiency trade-off in xylem transport. *Plant Cell Environ.* 28:800-812.
- Zimmermann, M.H. 1983. Xylem structure and the ascent of sap. Springer-Verlag, Berlin, Germany, 143 p.

CAPITULO 5

Efectos de la fertilización sobre la coordinación de características fisiológicas de las hojas

Introducción

Las hojas de las plantas están involucradas en la asimilación de carbono en los ecosistemas terrestres (Beer et al. 2010) y, además, median los flujos ecosistémicos de otros recursos como los nutrientes y el agua. Distintas especies de plantas difieren en la cantidad y calidad de biomasa que producen y devuelven al suelo (Hooper et al. 2000, Wardle et al. 2004). En consecuencia, el reemplazo de una especie por otra, o de un grupo de especies por otras diferentes, puede afectar distintos procesos y comunidades de un ecosistema (Bardgett y Wardle 2010). Por otra parte, los procesos mediados por las plantas están influenciados por variables climáticas y ambientales, tales como la disponibilidad de humedad y la frecuencia de disturbios (Malhi et al. 1999). Como resultado del cambio global se esperan alteraciones ambientales y en la disponibilidad de los recursos. Por ejemplo, se prevé que los eventos de sequía disminuyan su frecuencia en áreas tropicales y subtropicales de Brasil y Argentina como resultado del aumento de la temperatura y de las precipitaciones (Marengo et al. 2009, sin embargo ver Asner y Alencar 2010). Aunque no se cuenta con datos similares para la misma área, estudios a nivel mundial proyectan que la deposición de nitrógeno se incrementaría alrededor de un 250% (Galloway et al. 2004, Lamarque et al. 2005). Dichos cambios en la disponibilidad de recursos pueden producir respuestas en las plantas a través de diferentes mecanismos, siendo uno de los más relevantes la plasticidad tanto morfológica como fisiológica (Nicotra et al. 2010). Por lo tanto es crítico entender el rol que tiene la plasticidad en las respuestas de las plantas, la cual puede determinar el éxito de una especie dentro de su ecosistema.

El sistema de transporte de agua de las plantas que va desde las raíces hacia los tallos y hojas generalmente está expuesto a condiciones ambientales variables que afectan la capacidad de las plantas para transportar agua. Cuando se desarrolla un período de sequía extremo o prolongado, se puede producir un gradiente de potenciales hídricos entre el suelo y las hojas que genera una importante tensión y que aumenta los riesgos de cavitación de los conductos del xilema como resultado de la entrada de burbujas de aire en la columna de agua o de la implosión de los vasos (Zimmermann 1983, Sperry y Tyree 1988, Hacke et al. 2001). En ambos casos, la cavitación del xilema puede provocar su disfunción, la pérdida de la conductividad hidráulica, el cierre estomático y eventualmente la abscisión de las hojas y, si se sostiene en el tiempo, la muerte de la planta (Tyree y Sperry 1989, Davis et al. 2002, Engelbrecht et al. 2005).

Los estudios sobre el significado ecológico y funcional de la resistencia del xilema a la cavitación se han realizado principalmente en tallos de plantas y son pocos los estudios realizados en hojas, a pesar de que las hojas son el cuello de botella del transporte de agua en el continuo suelo-planta-atmósfera (Sack y Holbrook 2006). Una proporción importante de la resistencia hidráulica de las plantas reside en las hojas, y por lo tanto un aumento en la resistencia hidráulica foliar puede limitar la conductancia estomática y la capacidad fotosintética de las plantas (Brodribb et al. 2005). En los estudios comparativos entre hojas y tallos, se ha observado que las hojas son más sensibles a la cavitación del xilema que los tallos (Hao et al. 2008, Johnson et al. 2011). Las hojas pueden llegar a perder hasta un 70% de su conductividad hidráulica bajo condiciones hídricas no extremas (Brodribb y Holbrook 2004, Woodruff et al. 2007, Hao et al. 2008). La vulnerabilidad de las hojas está relacionada, al igual que los tallos, con la anatomía del sistema de conducción, particularmente con el diámetro y con el ancho de las paredes de los vasos (Blackman et al. 2010). También está relacionada con el potencial hídrico foliar mínimo sugiriendo que las especies más resistentes a la cavitación foliar podrían mantener los estomas abiertos a potenciales hídricos menores que las especies más vulnerables (Blackman et al. 2010) y recientemente se ha observado que la vulnerabilidad hidráulica de las hojas está relacionada con la capacidad de supervivencia de las plantas (Blackman et al. 2009, Brodribb y Cochard 2009).

Aún cuando la sensibilidad de los bosques tropicales a la disponibilidad de nutrientes es bien conocida, se ha dado poca atención a los efectos de los nutrientes sobre la arquitectura y vulnerabilidad hidráulica de las plantas. Dado que la disponibilidad de los nutrientes puede afectar la tolerancia de las plantas a la sequía, por ejemplo a través de una disminución de la vulnerabilidad del xilema de tallos a la cavitación (Bucci et al. 2006), en el nuevo contexto de

cambio global es necesario entender el rol de los nutrientes en las plantas, de manera de poder predecir los cambios que ocurrirán en la composición y funcionamiento de los ecosistemas. Por lo tanto, en el presente estudio se evaluó si la disponibilidad de nutrientes está relacionada con la vulnerabilidad hidráulica de las hojas, a través de un experimento de manipulación en el campo en el Bosque Atlántico semi-caducifolio en Argentina. Se evaluó también si el sistema hidráulico de tallos y hojas están funcionalmente coordinados entre sí. Dado que la conductancia foliar disminuye ante la reducción de los recursos disponibles como la radiación solar, el agua y la temperatura, se espera que tanto la conductancia como la vulnerabilidad foliar se vean afectadas por la fertilización con N y P. Se espera también, que las hojas sean más vulnerables que los tallos independientemente de la adición de fertilizantes. El estudio se realizó en claros naturales de tamaño similar con el objetivo de eliminar la variación de la radiación solar sobre el crecimiento y la arquitectura hidráulica de las plantas.

Materiales y métodos

Área de estudio, diseño experimental y especies

El estudio se llevó a cabo en el bosque subtropical del Parque Nacional Iguazú (PNI) (25°37'S, 54°20'W), Misiones, Argentina. El experimento fue realizado específicamente en el área de Reserva Nacional. Dicha área se mantuvo habitada por pequeños chacareros hasta la década del 80 (Placci y Giorgis 1993). Actualmente el PNI presenta una cobertura vegetal en recuperación avanzada y con buen estado de conservación en comparación a otros bosques de la provincia de Misiones (Srur et al. 2008, Carpinetti 2010). La región recibe 2000 mm de precipitación media anual, distribuidas de manera uniforme a lo largo del año. La temperatura media anual es de 21 °C.

El suelo del sitio de estudio corresponde a un Ultisol, del tipo Kandiuult (Ligier et al. 1990). Al inicio del experimento, la disponibilidad de N y P en los primeros 10 cm de suelo fue de $12.8 \pm 2.0 \mu\text{g g}^{-1}$ N y $3.0 \pm 0.3 \mu\text{g g}^{-1}$ P respectivamente. Para determinar dichos valores se tomaron cuatro muestras compuestas de suelo de 0 a 10 cm en cada parcela. Las muestras fueron secadas al aire, tamizadas en malla de 2mm y guardadas en bolsas plásticas para la realización de los análisis químicos. La determinación de N total se realizó en 5gr del material tamizado, al cual se le agregó 25 ml de KCl 2N y se lo agitó por 2 minutos, y luego de un reposo de 24hs se lo filtró. La determinación del contenido de N se realizó por microdestilación por

arrastre de vapor (Keeney y Nelson 1982). La determinación de P se realizó por el método de Olsen modificado (técnica original descripta en van Reeuwijk (1986)). Los análisis de determinación se realizaron en el Instituto de Suelos del INTA Castelar.

Al inicio del año 2004 se instalaron 10 parcelas permanentes de 15x15 m en claros naturales del bosque con una disponibilidad similar de nitrógeno y fosforo en el suelo. Se estableció un área de amortiguación de 5 m alrededor de cada parcela para minimizar el efecto borde. En dicha área se aplicaron los mismos tratamientos que en la parcela. El experimento consistió en dos tratamientos de fertilización con 5 réplicas en un diseño completamente aleatorizado. Los tratamientos fueron: control (sin adición de fertilizantes) y N+P (100 kg N ha⁻¹ año⁻¹ + 100 kg P ha⁻¹ año⁻¹). La adición de los nutrientes se realizó al boleó sobre la superficie del suelo con fertilizante granulado en 3 aplicaciones anuales desde febrero de 2004 hasta diciembre de 2008.

Se seleccionaron cinco especies de árboles: *Balfourodendron riedelianum* (Engl.) Engl. (Rutaceae), *Cordia americana* (L.) Gottschling & J.S. Mill. (Boraginaceae), *Maclura tinctoria* (L.) Steud. ssp. *tinctoria* (Moraceae), *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae) y *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. (Fabaceae). Las especies varían en sus requerimientos de luz y densidad de madera (Carvalho 2003, Campanello et al. 2011). Las plantas utilizadas en el experimento fueron obtenidas de semillas cosechadas de varios árboles adultos pertenecientes al área de estudio. Los renovales se hicieron crecer en vivero durante aproximadamente 6 meses y luego se llevaron al campo. Al momento del transplante las plantas tenían entre 5 y 10 meses de edad, y diferían en su tamaño inicial, la altura promedio (cm ± 1 error estándar) fue: 17.8 ± 1.8 para *B. riedelianum*, 61.4 ± 6.2 para *C. fissilis*, 24.3 ± 1.6 para *C. americana*, 54.8 ± 2.8 para *M. tinctoria* y 65.7 ± 9.8 para *P. dubium*. Se plantaron entre 15 y 11 renovales de cada especie, distribuidos al azar a una distancia de 1m uno de otro, a lo largo de 5 transectas abarcando un área de 5 x 15 m dentro de cada parcela.

Curvas de vulnerabilidad foliar

Durante febrero de 2009, se construyeron curvas de vulnerabilidad foliar para cada especie, midiendo el porcentaje de pérdida de la conductancia hidráulica foliar a partir de su valor máximo, en hojas rehidratadas a partir de un rango de potenciales hídricos foliares (ψ). La conductancia hidráulica foliar se midió utilizando el método de evaluación de la cinética de relajación del ψ sobre la rehidratación de la hoja (Brodribb y Holbrook 2003). Para generar la curva, se cortaron ramas hidratadas de 3 individuos de cada especie durante la madrugada, e

inmediatamente se cubrieron con bolsas plásticas negras y se transportaron hacia el laboratorio, con el extremo de las ramas sumergido en agua. Luego se dejó que las ramas se deshidrataran hasta obtener un amplio rango de ψ . El valor inicial de ψ se determinó midiendo 2 hojas cercanas a la hoja de muestra utilizando una cámara de presión PMS (Corvallis, Oregon, EEUU). La hoja de muestra fue cortada bajo agua y se hidrató durante un período de 12-15 segundos dependiendo de la especie. El valor final de ψ fue medido con la cámara de presión inmediatamente después de que la hoja fue hidratada, y se calculó la conductancia hidráulica foliar según la siguiente ecuación:

$$\text{Conductancia hidráulica foliar} = \text{Capacitancia foliar} * \ln (\psi_i / \psi_f) / T$$

Donde: ψ_i , potencial hídrico foliar inicial (MPa); ψ_f , potencial hídrico foliar final (MPa); T, duración de la rehidratación (s); Capacitancia foliar ($\text{mmol m}^{-2} \text{MPa}^{-1}$). La curva de vulnerabilidad se construyó graficando la Conductancia hidráulica foliar contra ψ_i . El potencial hídrico en el cual ocurre la pérdida del 50% de la conductividad hidráulica de las hojas (P50hoja) se calculó luego de ajustar a los datos una función sigmoidea de la forma:

$$\text{Conductancia hidráulica foliar (\%)} = 100 / [1 + e^{a(\psi_i)b}].$$

Para el cálculo de Conductancia hidráulica foliar es necesario conocer el valor de Capacitancia foliar tanto antes como después del punto de pérdida de turgencia de la hoja, esto se debe a la elasticidad de la hoja, ya que la capacitancia es muy diferente por encima y por debajo del punto de pérdida de turgencia, por ello el valor utilizado para los cálculos depende de cuál es el valor inicial y final de ψ de las hojas. La determinación de la capacitancia foliar se realizó a través de una curva de presión-volumen como se describe más abajo. Los valores de capacitancia fueron expresados en valores absolutos y normalizados por el área foliar utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Capacitancia foliar} = (\Delta\text{CRA}/\Delta\psi) * (\text{PS}/\text{AF}) * (\text{PAS}/\text{PS}) / M$$

donde: Capacitancia foliar normalizada por el área; CRA: contenido relativo de agua; PS: peso seco de la hoja (gr); AF: área foliar (m^2); PAS: peso del agua de la hojas a 100% de saturación (gr); M= peso molar del agua (gr mol^{-1}).

Curvas de presión-volumen

Las curvas de presión-volumen describen el comportamiento de las hojas durante la deshidratación. Se relaciona entonces el contenido relativo de agua (CRA) de la hoja y el

inverso del potencial hídrico foliar ($-1/\psi$), y de esta se puede estimar el punto de pérdida de presión de turgencia y los valores de capacitancia foliar. Durante la madrugada se cortaron ramas terminales de 5 individuos de cada tratamiento, y se recortaron inmediatamente bajo agua. Las muestras se transportaron al laboratorio con el extremo sumergido en agua y cubiertas con bolsas plásticas negras para evitar su deshidratación. Las curvas de presión-volumen se construyeron para cada especie midiendo el ψ en una cámara de presión PMS (Corvallis, Oregon, EEUU) y registrando inmediatamente después el peso de la muestra con una balanza de precisión (0.001 g). Para *C. americana* se tuvieron que utilizar pequeñas ramas terminales dado que cuentan con un pecíolo muy reducido, y en el caso de especies con hojas muy grandes y compuestas (*B. riedelianum*, *C. fissilis* y *P. dubium*) se utilizaron foliolos o pinas ya que las hojas enteras no entran en la cámara de presión sin ser dañadas. Entre las lecturas, las hojas se dejaron transpirar libremente por un período corto de tiempo. De esta manera se procedió pesando para estimar el contenido relativo de agua y midiendo el ψ hasta que el contenido relativo de agua cayó por debajo del 50%, o hasta que el daño en el tejido foliar era evidente. El material foliar utilizado se secó en estufa a 70°C durante 48 hs. y se pesó para obtener el peso seco. A partir de estos datos, la curva de presión-volumen se determinó al graficar el déficit relativo de agua (DRA) contra $1/\psi$. El déficit relativo de agua (DRA= 1- CRA) se calculó de la siguiente manera:

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

A cada lado del punto de inflexión de la curva presión-volumen (que define el punto de pérdida de turgencia de la hoja), se ajustaron regresiones lineales. Las pendientes de estas curvas devuelven la función de capacitancia foliar en términos de CRA. Los valores de capacitancia foliar mostrados en tabla corresponden a los valores determinados por encima del punto de pérdida de turgencia. Los parámetros fueron generados a partir de 5-7 hojas de 3-4 individuos por especie y tratamiento.

Vulnerabilidad del tallo a la cavitación

Se generaron curvas de vulnerabilidad hidráulicas utilizando el método de deshidratación (Sperry et al. 1988). Antes del amanecer se cortaron ramas terminales de 3-5 individuos de cada especie. Inmediatamente fueron recortadas bajo el agua, se cubrieron con bolsas plásticas negras y fueron transportadas al laboratorio para las mediciones. En el laboratorio, se permitió que las muestras transpiraran libremente por diferentes intervalos de tiempo para obtener un amplio rango de potenciales hídricos. Luego fueron almacenadas en bolsas de

plástico negro para que se equilibren durante por lo menos 1 hora. El potencial hídrico (ψ) de dos hojas se midió utilizando una cámara de presión (PMS, Albany, OR, USA) y el tallo correspondiente se recortó bajo agua y conectó al aparato para medir la conductividad hidráulica como se describió anteriormente. El K_H máximo (K_{max}) se determinó después de realizar las mediciones de K_H iniciales, utilizando agua destilada y desgasificada a una presión de 0.1 MPa durante 20 min, para retirar el aire de los vasos embolizados. Las mediciones iniciales de K_H (K_i) fueron expresadas como un porcentaje de K_{max} , y el porcentaje de pérdida de conductividad (PPC) fue calculado como $(100 (1 - K_i/K_{max}))$. Se obtuvieron las curvas de vulnerabilidad hidráulica del tallo graficando PLC en función de ψ . Los datos se ajustaron a una curva sigmoidea y se calculó el potencial hídrico del xilema cuando ocurre una pérdida del 50 % de la conductividad hidráulica del tallo (P50).

Contenido de agua de la madera a saturación

El contenido de agua de la madera a saturación se midió a partir de los tallos utilizados en las mediciones de vulnerabilidad. Se utilizó un segmento de 2 cm de largo y se removió la corteza y el parénquima. Los segmentos se sumergieron en agua durante toda la noche. Luego de secar la superficie de los segmentos con papel tissue, fueron pesados con precisión de mg, para obtener el peso de agua saturado (PAS). Posteriormente las muestras se secaron a 70°C por 72 hs para determinar el peso seco (PS). El contenido de agua a saturación se determinó según: $(PAS - PS) / PS$.

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados mediante el programa estadístico InfoStat versión 2009 (Di Rienzo et al. 2009). Se realizaron test de T para muestras independientes para evaluar las diferencias entre tratamientos para cada especie y para comparar P50hoja y Conductancia foliar máxima, estimados de las curvas de vulnerabilidad foliar. Se realizaron test de T para muestras dependientes para evaluar las diferencias entre tratamientos sobre las variables considerando todas las especies por tratamiento como un único conjunto de datos. Se realizaron correlaciones de Pearson para examinar las relaciones interespecíficas entre las variables.

Resultados

El PPT disminuyó en *M. tinctoria* en las parcelas fertilizadas con respecto al control y aumentó en *C. americana* (Tabla 1). La especie *B. riedelianum* mostró una disminución de la capacitancia

foliar con la adición de N+P. El 50% de la conductividad hidráulica foliar máxima promedio (P50 hoja) varió significativamente con la fertilización, pero la respuesta fue especie específica, dos especies aumentaron su vulnerabilidad foliar con la adición de N+P (*B. riedelianum* y *M. tinctoria*) y dos especies la disminuyeron (*C. americana* y *P. dubium*). De la misma manera, la conductancia foliar máxima disminuyó en *B. riedelianum* y *C. americana* y aumento en *P. dubium* con la fertilización (Tabla 1).

La conductancia hídrica foliar de todas las especies disminuyó a medida que el potencial hídrico foliar se hace más negativo (Fig. 1). La conductancia hidráulica foliar máxima varió de 26 mmol m⁻² s⁻¹ MPa⁻¹ en *P. dubium* y *M. tinctoria*, a 75 mmol m⁻² s⁻¹ MPa⁻¹ en *C. fissilis*. Los valores de la conductancia hidráulica foliar correspondientes al potencial hídrico en el cual se pierde la turgencia se encontraron entre 20 y 65% de la conductancia foliar máxima, según puede inferirse de las curvas de vulnerabilidad foliar, excepto en *C. fissilis*, en cuyo caso la pérdida de la turgencia implicó la pérdida casi total de la conductancia foliar.

Contrario a lo esperado, la vulnerabilidad promedio de los tallos fue mayor que la vulnerabilidad promedio de las hojas. La figura 2 muestra la relación entre el P50 de los tallos y el P50 de las hojas. Tanto para tallos como para hojas, la vulnerabilidad a la cavitación se representa en este estudio como la pérdida del 50% de la conductividad hidráulica máxima. Las únicas especies que tuvieron una vulnerabilidad mayor en las hojas que en los tallos fueron *P. dubium* en el tratamiento control y *M. tinctoria* en el tratamiento de adición de N+P (Fig. 2), el resto de las especies mantuvieron una relación muy cercana a 1:1 entre los dos P50 o el P50 de las hojas fue más negativo que el P50 de los tallos.

La vulnerabilidad a la cavitación de los tallos disminuyó significativamente con la adición de N+P, en cambio la vulnerabilidad a la cavitación foliar, dada las diferencias en las respuestas especie específicas (Tabla 1), se mantuvo constante entre los tratamientos (Fig. 3). El P50 de los tallos ocurrió en promedio a -1.16 MPa y -1.62 MPa en control y con adición de N+P respectivamente, mientras que el P50 de las hojas mostró valores promedio de -1.62 MPa y -1.72 MPa en control y con adición de nutrientes respectivamente (Fig. 3).

Por otro lado, la capacitancia foliar estuvo relacionada con el P50 de la hoja. Por ejemplo *B. riedelianum*, la especie con mayor capacitancia foliar exhibió la menor vulnerabilidad foliar a la cavitación mientras que *P. dubium*, la especie con menor capacitancia foliar fue la más vulnerable a la cavitación foliar, sugiriendo que la capacitancia foliar no sería un mecanismo capaz de amortiguar los cambios en los potenciales hídricos foliares al disminuir la vulnerabilidad a la cavitación (Fig. 4a). En concordancia con el resultado anterior, la

capacitancia foliar estuvo relacionada con el punto de pérdida de turgencia de las hojas. Las especies que pierden la turgencia a valores más negativos de potencial hídrico foliar son aquellas que tienen mayor capacitancia foliar (Fig. 4b).

Se encontró una relación positiva entre la densidad de la madera y el contenido de agua de la madera a saturación ($r_{\text{pearson}}=-0.83$, $P<0.005$, resultados no mostrados). A su vez, el contenido de agua de la madera a saturación estuvo relacionado de manera positiva con el punto de pérdida de turgencia de las hojas (Fig. 5). Por lo tanto las especies con madera con mayor contenido de agua pierden la turgencia de las hojas a un potencial hídrico más positivo. La vulnerabilidad de las hojas a la cavitación fue mayor a medida que aumentó el PPT, las especies más resistentes a la cavitación pierden la turgencia de las hojas a potenciales hídricos más negativos que las especies más vulnerables (Fig. 6).

Tabla 1. Características hídricas de los renovales de las 5 especies estudiadas en el tratamiento control y de adición de N+P. Punto de pérdida de turgencia (PPT; MPa), Capacitancia foliar (Capacitancia; $\text{mmol m}^{-2} \text{MPa}^{-1}$), Potencial hídrico en el cual ocurre la pérdida del 50% de la conductividad hidráulica (P50hoja; MPa), y Conductancia foliar máxima (Conductancia max; $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$). Se muestra la media \pm error estándar (EE). Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos por especie (Test de T, $P<0.05$, $n=3-7$ en el caso de PPT).

	PPT		Capacitancia		P50hoja		Conductancia max					
	Media	EE	Media	EE	Media	EE	Media	EE				
<i>B. riedelianum</i>												
C	-2.27	0.05	1959	66	a	-2.3	0.1	a	37.6	0.1	a	
N+P	-2.31	0.03	1052	97	b	-1.9	0.2	b	35.3	0.2	b	
<i>C. fissilis</i>												
C	-1.28	0.09	866	141		-1.7	0.1		49.7	4.7		
N+P	-1.15	0.04	672	21		-1.3	0.2		74.9	21.2		
<i>C. americana</i>												
C	-1.58	0.03	a	1112	131		-1.7	0.1	a	73.8	1.1	a
N+P	-1.90	0.07	b	972	115		-2.1	0.0	b	56.1	2.1	b
<i>M. tinctoria</i>												
C	-1.85	0.07	a	504	34		-1.6	0.0	a	25.8	2.1	
N+P	-1.57	0.03	b	690	97		-1.4	0.0	b	30.1	2.5	
<i>P. dubium</i>												
C	-1.36	0.04		269	34		-0.8	0.1	a	23.5	2.7	a
N+P	-1.37	0.04		551	107		-1.9	0.1	b	32.5	1.4	b

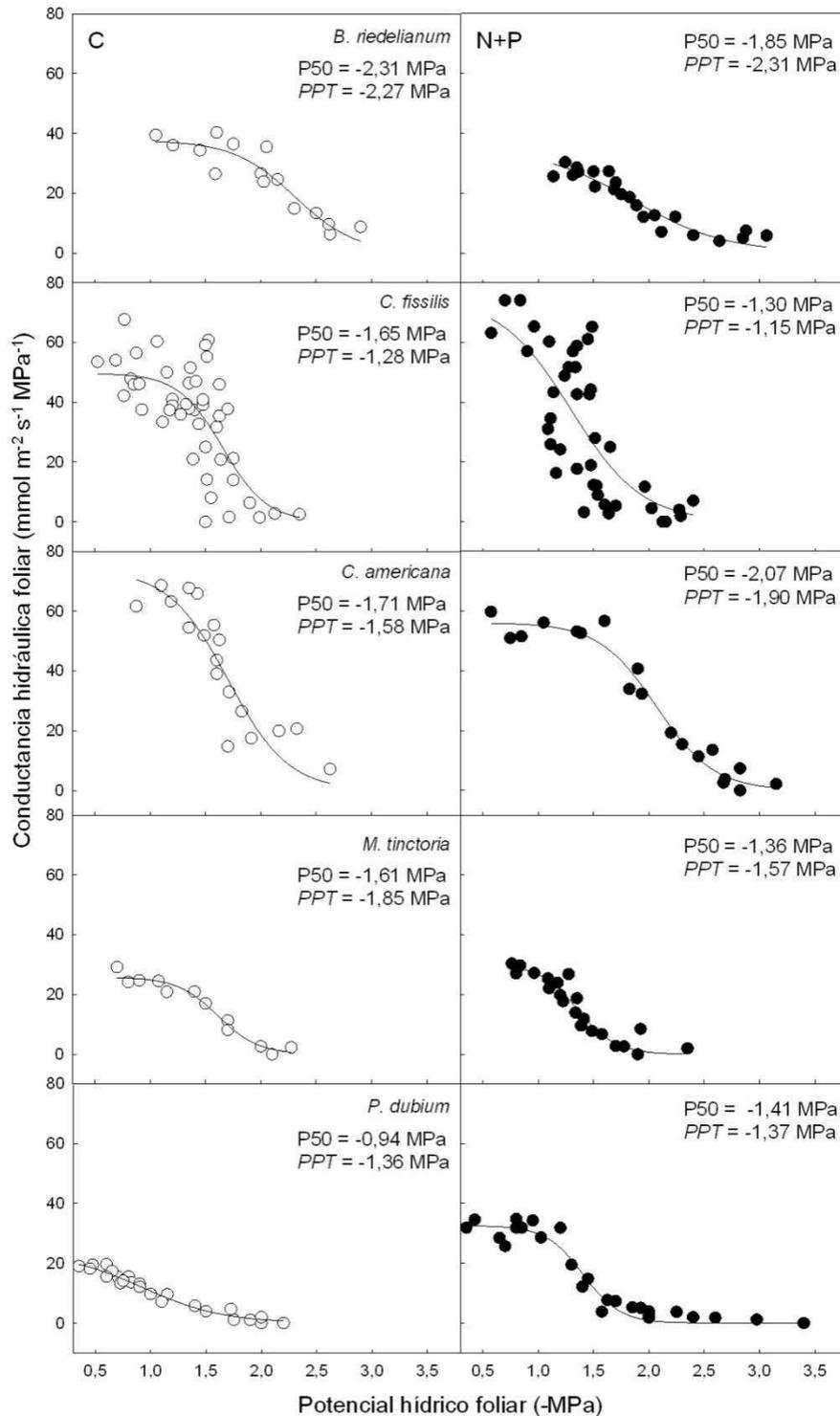


Figura 1. Conductancia hidráulica foliar en función del potencial hídrico inicial en renovales de las cinco especies estudiadas en el tratamiento control (paneles izquierdos, símbolos blancos) y tratamiento de adición de N+P (paneles derechos, símbolos negros). Cada punto representa el promedio de 2 hojas de una misma rama. Se ajustó a los datos una función sigmoidea ($P < 0.05$ en todos los casos). Se indica el potencial hídrico en el cual ocurre la pérdida del 50% de la conductividad hidráulica foliar (P50) y el punto de pérdida de turgencia (PPT).

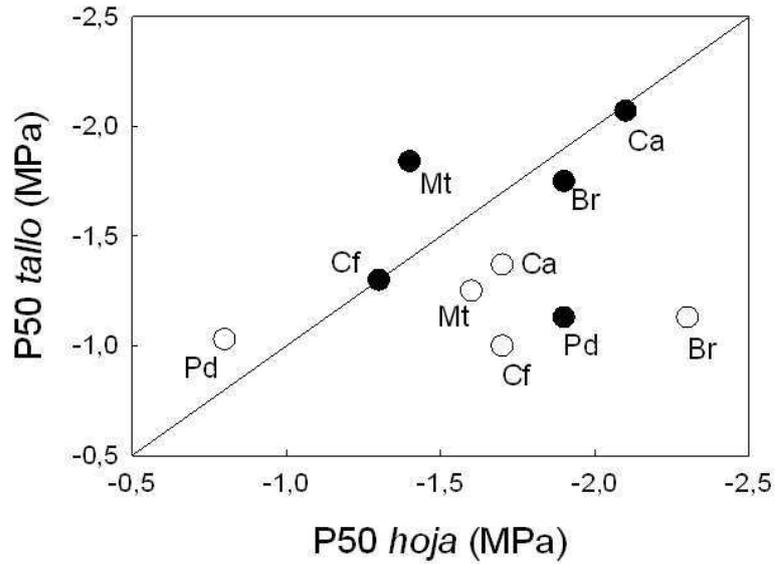


Figura 2. Relación entre el potencial hídrico al cual ocurre la pérdida del 50% de la conductividad hidráulica en tallos ($P50_{\text{tallo}}$) y en hojas ($P50_{\text{hoja}}$) de renovales de las cinco especies estudiadas en el tratamiento control (símbolos blancos) y tratamiento de adición de N+P (símbolos negros). La línea corresponde a la relación 1:1 entre el $P50_{\text{tallo}}$ y $P50_{\text{hoja}}$. Las abreviaturas de las especies son: Br, *Balfourodendron riedelianum*; Cf, *Cedrela fissilis*; Ca, *Cordia americana*; Mt, *Maclura tinctoria* y Pd, *Peltophorum dubium*.

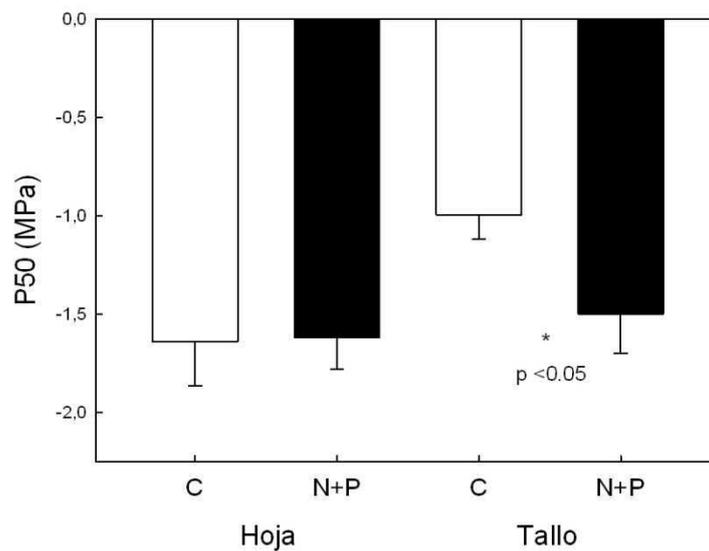


Figura 3. Potencial hídrico al cual ocurre la pérdida del 50% de la conductividad hidráulica ($P50$) para tallos y para hojas de renovales de las cinco especies estudiadas en el tratamiento control (barras blancas) y tratamiento de adición de N+P (barras negras). Los valores de $P50$ corresponden a la media de todas las especies \pm error estándar ($n = 5$ especie). Dentro del gráfico se representa con un asterisco (*) las diferencias significativas entre tratamientos (test de T, $P < 0.05$).

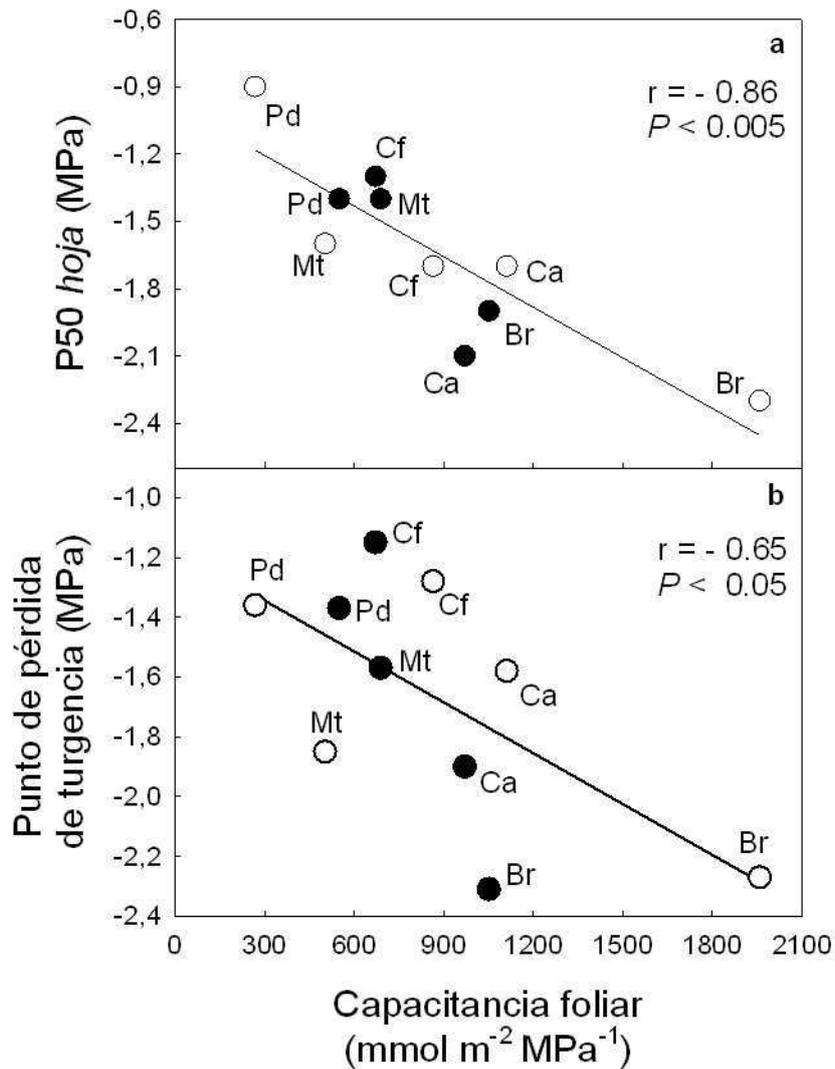


Figura 4. Relación entre la capacitancia foliar y a) el potencial hídrico en el cual ocurre la pérdida del 50% de la conductividad hidráulica de las hojas (P50hoja), b) el punto de pérdida de turgencia de las hojas de renovales de las cinco especies estudiadas en el tratamiento control (símbolos blancos) y tratamiento de adición de N+P (símbolos negros). Cada punto representa el valor estimado en la curva de vulnerabilidad para el P50hoja y el punto de pérdida de turgencia o el valor medio en el caso de capacitancia foliar ($n=3-7$). El valor de r corresponde al coeficiente de correlación de Pearson. Para las abreviaturas ver Fig. 2.

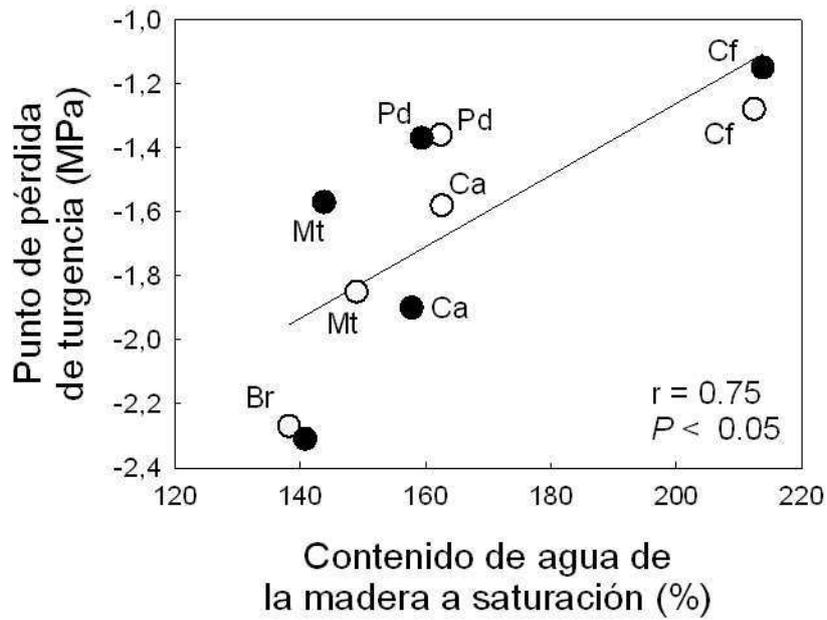


Figura 5. Relación entre el contenido de agua de la madera a saturación y el punto de pérdida de turgencia de las hojas de renovales de las cinco especies estudiadas en el tratamiento control (símbolos blancos) y tratamiento de adición de N+P (símbolos negros). Cada punto representa el valor estimado en la curva de vulnerabilidad para el punto de pérdida de turgencia o el valor medio en el caso del contenido de agua de la madera a saturación ($n=5$). El valor de r corresponde al coeficiente de correlación de Pearson. Para las abreviaturas ver Fig. 2.

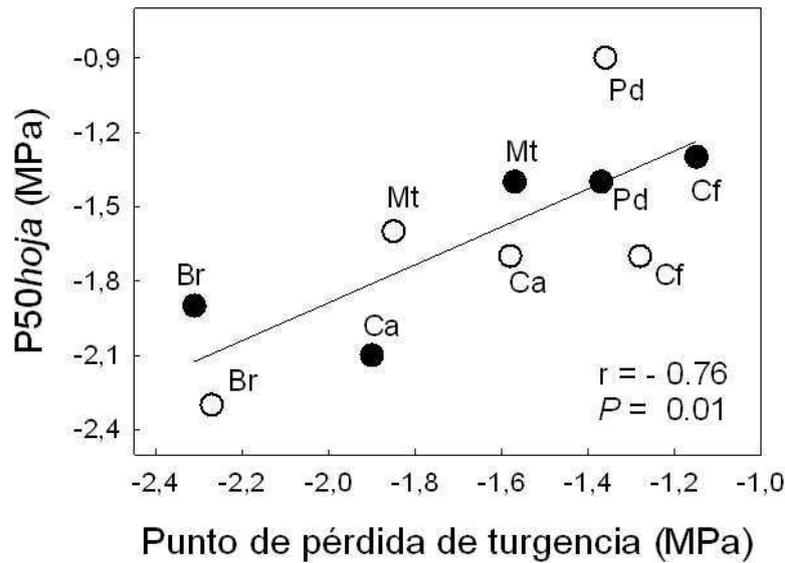


Figura 6. Relación entre el punto de pérdida de turgencia de las hojas y potencial hídrico en el cual ocurre la pérdida del 50% de la conductividad hidráulica de las hojas (P50hoja) para las cinco especies estudiadas en el tratamiento control (símbolos blancos) y tratamiento de adición de N+P (símbolos negros). El valor de r corresponde al coeficiente de correlación de Pearson. Para las abreviaturas ver Fig. 2.

Discusión

La mayoría de las propiedades o características incluyendo capacitancia foliar, potencial hídrico foliar en el punto de pérdida de turgencia, conductancia hidráulica foliar máxima y P50 foliar no difirieron entre las plantas control y las plantas fertilizadas con N+P, sugiriendo que las características hidráulicas foliares no serían críticas en la adaptación de las plantas a ambientes con diferente disponibilidad de nutrientes. En cambio las plantas se aclimataron a la adición de N+P disminuyendo el P50 de los tallos. Por otro lado la coordinación entre las características evaluadas no fue afectada por la fertilización, en todos los casos se pudo ajustar una única relación funcional a todos los datos para todas las especies.

Sorprendentemente la vulnerabilidad de tallos y hojas fue independiente una de otra, siendo los tallos más vulnerables que las hojas en algunos casos. Estos resultados no estuvieron relacionados con el tratamiento de fertilización. Algunas especies estuvieron en o muy cerca de la relación lineal 1:1. En sólo dos especies se observó que las hojas fueron, tal como se esperaba, más vulnerables que los tallos. En la mayoría de los estudios en donde se comparan la vulnerabilidad a la cavitación de estos dos tejidos, las hojas son más vulnerables

que los tallos (Hao et al. 2008, Zhang y Cao 2009, Chen et al. 2010, Johnson et al. 2011), indicando que las hojas funcionarían como una válvula de protección del sistema hidráulico de la planta más que las ramas terminales. Johnson y colaboradores (2011) y Bucci y colaboradores (en revisión) sugieren que los tejidos menos costosos, como ocurre con las hojas, pueden ser desechadas o sombreadas para evitar la pérdida de agua y mantener la funcionalidad de los tallos. En general en dichos estudios las diferencias encontradas en la vulnerabilidad a la cavitación inducida por sequía entre tallos y hojas son de 2 o 3 MPa o más. En este trabajo las diferencias se encuentran entre 0 y 1,5 MPa entre ambos tejidos. Una explicación posible es que el déficit hídrico no sería el factor más importante de la limitación de crecimiento de las especies estudiadas. Dado que los periodos de sequía son de corta duración es probable que los tallos raramente se vean afectados por embolismos causados por sequías. Es necesario recordar que los potenciales hídricos son más negativos en las hojas y tienden a volverse más positivos en los tallos y raíces debido a las pérdidas de agua que ocurren durante el transcurso del día como resultado de la transpiración.

Aunque son muchos los estudios que han reportado mayor vulnerabilidad a la cavitación en hojas que en tallos no ocurre en todas las especies (Chen et al. 2009). Chen y colaboradores (2009) trabajaron con seis especies de árboles de la familia Euphorbiaceae y encontraron diferencias en la vulnerabilidad de los tejidos sólo en las especies perennes y no en las especies de hojas caducas. La caducidad foliar es una estrategia de las plantas para evadir una sequía, y puede ser un buen indicador de la supervivencia de las plantas durante estos eventos (Poorter y Markesteijn 2008). Tanto las especies caducifolias como las brevicaducifolias renuevan y expanden completamente sus hojas anualmente y antes de la finalización de la estación seca o la estación fría; permaneciendo sin hojas durante aproximadamente toda la estación desfavorable. Como se ha observado para tallos, la resistencia a la sequía en hojas prodría ocurrir a costa de una inversión adicional en reforzar el xilema y reducir las tasas de crecimiento (Hacke et al. 2001, Poorter et al. 2010). Por lo tanto sería razonable pensar que para las especies caducifolias no es una ventaja invertir en estructuras xilemáticas que aumenten la resistencia a la cavitación. Sin embargo, son pocos los estudios que relacionan la fenología foliar con la vulnerabilidad a la cavitación de las hojas (Chen et al. 2009). En el presente estudio la mayoría de las especies pierden las hojas durante el invierno, sólo una de las especies estudiadas *C. americana* es perenne y fue la única especie que disminuyó significativamente el punto de pérdida de turgencia con la adición de nutrientes (el PPT disminuyó 0.3 MPa en comparación con las plantas de la misma especie creciendo en las parcelas control) y el P50 de sus hojas disminuyó aproximadamente en la

misma proporción (disminuyó 0.4 MPa). Aunque no se observó que exista una diferencia en la vulnerabilidad relativa de tallos y hojas para esta especie en comparación con las especies caducifolias, es probable que el hecho de que estas especies no presenten hojas más vulnerables que los tallos se pueda explicar por la fenología foliar. Las especies caducifolias presentaron valores de P50 hoja menos negativos (más vulnerables) que la especie brevicaducifolia y la especie perenne. Aparentemente la dinámica de producción de hojas juega un rol importante en la determinación de las características fisiológicas e hidráulicas de las especies del BAs.

Algunos componentes del sistema de transporte de agua de las plantas, como las ramas y las hojas, pueden actuar temporalmente como fuentes intermedias de agua para la transpiración de las hojas (Meinzer et al. 2001). Estos reservorios de agua contribuirían a mantener la eficiencia del sistema de transporte de agua al reducir las variaciones diarias y estacionales en los potenciales hídricos foliares (Scholz et al. 2007). En el caso de las hojas, el agua puede ser almacenada en la epidermis, en el mesófilo, en células especializadas o en el mucílago extracelular (Sack et al. 2003). Aunque el volumen de agua almacenado en las hojas generalmente aporta sólo una pequeña fracción de la transpiración diaria, se considera que puede jugar un papel importante amortiguando cambios en los potenciales hídricos foliares (Sack y Tyree 2005). Sin embargo la capacitancia foliar no parece contribuir a mantener el balance hídrico foliar en las especies estudiadas dada la relación observada entre la capacitancia foliar y el punto de pérdida de turgencia de las hojas. Las especies que presentaron una capacitancia foliar menor son las que a su vez pierden la turgencia de las hojas a potenciales hídricos mayores (menos negativos). En este contexto, los datos de la figura 4a muestran una relación inversa entre la capacitancia foliar y el P50 hoja y parecen reforzar el hecho de que en estas especies, la capacitancia foliar no amortiguaría las fluctuaciones de tensión diarias. Además, el P50 de las hojas fue independiente de la conductancia foliar máxima (r pearson = -0.18, p = 0.60, datos no mostrados) como se ha observado previamente (Sack y Holbrook 2006, Blackman et al. 2010, Scoffoni et al. 2011). El P50 de las hojas estuvo relacionado con el potencial osmótico en el punto de pérdida de turgencia, un PPT bajo (más negativo) puede evitar que se produzca una disminución directa de la conductancia foliar (Blackman et al. 2010, Scoffoni et al. 2011) y por lo tanto permitiría mantener los estomas abiertos a medida que las hojas se deshidratan (Brodrribb y Holbrook 2003, Hao et al. 2010).

Como se discutió previamente, el agua almacenada en diferentes órganos puede contribuir a evitar embolismos y así disminuir las variaciones en la tensión del xilema (Meinzer et al.

2009). En este trabajo se observó que el contenido de agua de la madera a saturación, aumentó a medida que el punto de pérdida de turgencia fue mayor (menos negativo), sugiriendo que las ramas terminales serían la mayor fuente de agua transitoria para la transpiración de las hojas. Aunque el contenido de agua de un tejido no puede ser considerado de manera equivalente a la capacitancia, como una medida de contribución de agua al uso diario, es parte de los mecanismos compensatorios frente a limitaciones hidráulicas. Por otro lado, el contenido de agua en la madera saturada disminuyó a medida que aumentó la densidad de la madera. En algunos trabajos se ha observado que el P50 de los tallos también disminuye al aumentar la densidad de madera (Hacke et al. 2001, Hao et al. 2008) aunque no es lo que ocurrió en las especies estudiadas en el presente trabajo (ver Capítulo 3). A pesar de que el contenido de agua en la madera saturada no disminuyó significativamente con la adición de N+P, si lo hicieron el P50 de los tallos y la densidad de madera (ver Capítulo 3).

Las características hidráulicas de las hojas incluyendo el P50 de las hojas y la capacitancia pueden estar sometidas a una fuerte presión de selección en términos de resistencia a la sequía, siendo las especies de ambientes más húmedos más vulnerables a la cavitación que las especies de ambientes más secos (Hao et al. 2008, Blackman et al. 2012). En el Bosque Atlántico de Misiones, donde los eventos de sequía son poco frecuentes, la presión de selección de las características foliares no parecen estar fuertemente relacionadas con la disponibilidad de agua del suelo a pesar de que muchas de las especies estudiadas son comunes en bosques estacionales secos del Neotrópico (Pennington et al. 2000).

Conclusiones

No se encontraron diferencias en las características hidráulicas foliares entre las plantas control y las plantas fertilizadas con N+P, sugiriendo que no serían críticas en la adaptación de las plantas a ambientes con diferente disponibilidad de nutrientes.

Contrario a la hipótesis planteada, las hojas de las especies estudiadas no actúan como válvulas de seguridad del sistema hidráulico de las plantas y además pareciera que los tallos serían la mayor fuente transitoria de agua para la transpiración de las hojas y la capacitancia foliar no sería un mecanismo relevante para amortiguar los desbalances hídricos diarios en las hojas. Como se ha observado en otros estudios la conductancia foliar es independiente de la vulnerabilidad a la cavitación en las hojas.

Referencias bibliográficas

- Asner, G.P. y A. Alencar. 2010. Drought impact on the Amazon forest: the remote sensing perspective. *New Phytologist* 187: 569-578.
- Bargett, R.D. y D.A. Wardle. 2010. Aboveground-belowground linkages: biotic interactions, ecosystem processes, and global change. Oxford University Press. 301 pp.
- Beer, C., M. Reichstein, E. Tomelleri, P. Ciais, M. Jung, N. Carvalhais, C. Radenbeck, M. A. Arain, D. Baldocchi, y G. B. Bonan. 2010. Terrestrial gross carbon dioxide uptake: global distribution and covariation with climate. *Science* 329: 834-838.
- Blackman, C.J., T.J. Brodribb y G.J. Jordan. 2009. Leaf hydraulics and drought stress: response, recovery and survivorship in four woody temperate plant species. *Plant, Cell and Environment* 32: 1584-1595.
- Blackman, C.J., T.J. Brodribb y G.J. Jordan. 2010. Leaf hydraulic vulnerability is related to conduit dimensions and drought resistance across a diverse range of woody angiosperms. *New Phytologist* 188: 1113-1123.
- Blackman, C.J., T.J. Brodribb y G.J. Jordan. 2012. Leaf hydraulic vulnerability influences species' bioclimatic limits in a diverse group of woody angiosperms. *Oecologia* 168: 1-10.
- Brodribb, T.J. y H. Cochard. 2009. Hydraulic failure defines the recovery and point of peath in water-stressed conifers. *Plant Physiology* 149: 575-584.
- Brodribb, T.J. y N.M. Holbrook. 2003. Stomatal closure during leaf dehydration, correlation with other leaf physiological traits. *Plant Physiology* 132: 2166-2173.
- Brodribb, T.J. y N.M. Holbrook. 2004. Stomatal protection against hydraulic failure: a comparison of coexisting ferns and angiosperms. *New Phytologist* 162: 663-670.
- Brodribb, T.J. y N.M. Holbrook. 2005. Leaf physiology does not predict leaf habit; examples from tropical dry forest. *Trees - Structure and Function* 19: 290-295.
- Brodribb, T.J., N.M. Holbrook, M.A. Zwieniecki y B. Palma. 2005. Leaf hydraulic capacity in ferns, conifers and angiosperms: impacts on photosynthetic maxima. *New Phytologist* 165: 839-846.
- Bucci, S.J., G. Goldstein G, F.C. Meinzer, F.G. Scholz, A.C. Franco y M. Bustamante. 2004. Functional convergence in hydraulic architecture and water relations of tropical savanna trees: from leaf to whole plant. *Tree Physiology* 24: 891-899.
- Bucci, S.J., F.G. Scholz, G. Goldstein, F.C. Meinzer, A. Franco, P.I. Campanello, R. Villalobos-Vega, M.E.R. C. Bustamante y F.E.R.N. Miralles-Wilhelm. 2006. Nutrient availability constrains the hydraulic architecture and water relations of savannah trees. *Plant, Cell and Environment* 29: 2153-2167.
- Campanello, P.I., M.G. Gatti, L.F. Montti, M. Villagra y G. Goldstein. 2011. Ser o no ser tolerante a la sombra: economía de agua y carbono en especies arbóreas del Bosque Atlántico (Misiones, Argentina). *Ecología Austral* 21:285-300.
- Carpinetti, B. 2010. El Parque Nacional Iguazú: Desafíos y oportunidades para la conservación de la selva paranaense de Argentina. En *Parque Nacional Iguazú, Conservación y desarrollo en la Selva Paranaense de Argentina*. Eds. B. Carpinetti et al. Administración de Parques Nacionales. Buenos Aires, Argentina, pp 11-20.
- Carvalho, P.E.R. 2003. *Especies arbóreas brasileiras*. Ministerio da Agricultura, Pequaria e Abastecimento, Brasília, Brazil, 1040 p.
- Chen, J.W., Q. Zhang, X.S. Li y K.F. Cao. 2009. Independence of stem and leaf hydraulic traits in six Euphorbiaceae tree species with contrasting leaf phenology. *Planta* 230: 459-468.
- Chen, J.W., Q. Zhang, X.S. Li y K.F. Cao. 2010. Gas exchange and hydraulics in seedlings of *Hevea brasiliensis* during water stress and recovery. *Tree Physiology* 30:876-885.

- Davis, S.D., F.W. Ewer, J.S. Sperry, K.A. Portwood, M.C. Crocker y G.C. Adams. 2002. Shoot dieback during prolonged drought in *Ceanothus* chaparral of California: a possible case of hydraulic failure. *American Journal of Botany* 89: 820–828.
- Di Rienzo, J.A., F. Casanoves, M.G. Balzarini, L. Gonzalez, M. Tablada y C.W. Robledo. 2009. InfoStat versión 2009. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Engelbrecht, B.M.J., T.A. Kursar y M.T. Tyree. 2005. Drought effects on seedling survival in a tropical moist forest. *Trees* 19: 312–321.
- Galloway, J.N., F.J. Dentener, D.G. Capone, E.W. Boyer, R.W. Howarth, S.P. Seitzinger, G.P. Asner, C.C. Cleveland, P.A. Green y E.A. Holland. 2004. Nitrogen cycles: past, present, and future. *Biogeochemistry* 70: 153-226.
- Hacke, U.G., J.S. Sperry, W.T. Pockman, S.D. Davis y K.A. Mcculloh. 2001. Trends in wood density and structure are linked to prevention of xylem implosion by negative pressure. *Oecologia* 126: 457-461.
- Hao, G.Y., W. Hoffmann, F.G. Scholz, S.J. Bucci, F.C. Meinzer, A. Franco, K.F. Cao y G. Goldstein. 2008. Stem and leaf hydraulics of congeneric tree species from adjacent tropical savanna and forest ecosystems. *Oecologia* 155: 405-415.
- Hao, G.Y., L. Sack, A.Y. Wang, K.F. Cao y G. Goldstein. 2010. Differentiation of leaf water flux and drought tolerance traits in hemiepiphytic and non-hemiepiphytic *Ficus* tree species. *Functional Ecology* 24: 731–740.
- Hooper, D.U., D.E. Bignell, V.K. Brown, L. Brussard, J.M. Dangerfield, D.H. Wall, D.A. Wardle, D.C. Coleman, K.E. Giller y P. Lavelle. 2000. Interactions between aboveground and belowground biodiversity in terrestrial ecosystems: patterns, mechanisms, and feedbacks. *Bioscience*. 50: 1049-1061.
- Johnson, D.M., K.A. Mcculloh, F.C. Meinzer, D.R. Woodruff y D.M. Eissenstat. 2011. Hydraulic patterns and safety margins, from stem to stomata, in three eastern US tree species. *Tree Physiology* 31: 659-668.
- Jordan, G.J., R.A. Dillon y P.H. Weston. 2005. Solar radiation as a factor in the evolution of scleromorphic leaf anatomy in Proteaceae. *American Journal of Botany* 92:789–796.
- Keeney, D. R. y D.W. Nelson. 1982. Nitrogen - Inorganic forms. En *Methods of soil analysis. Part II. Chemical and Microbiological Properties, Agronomy Monograph N° 9 in the Agronomy Series (2nd Ed.)*. Ed. A.L. PAGE. SSSA, Inc. Publ., WI, USA, 1159 p.
- Lamarque, J. F., J.T. Kiehl, G.P. Brasseur, T. Butler, P. Cameron-Smith, W.D. Collins, W.J. Collins, C. Granier, D. Hauglustaine, P.G. Hess, E.A. Holland, L. Horowitz, M.G. Lawrence, D. Mckenna, P. Merilees, M.J. Prather, P.J. Rasch, D. Rotman, D. Shindell, y P. Thornton. 2005. Assessing future nitrogen deposition and carbon cycle feedback using a multimodel approach: Analysis of nitrogen deposition. *Journal of Geophysical Research* 110: D19303.
- Ligier, H.D., H.R. Matteio, H.L. Polo y J.R. Rosso. 1990. Provincia de Misiones. En: *Atlas de suelos de la República Argentina. Tomo II*. Ed. I.S.d.A.G. y P. Centro de Investigaciones de Recursos Naturales. INTA, Argentina, pp 109-154.
- Malhi, Y., D.D. Baldocchi, P.G. Jarvis. 1999. The carbon balance of tropical, temperate and boreal forests. *Plant, Cell and Environment* 22:715-740.
- Marengo, J.A., R. Jones, L.M. Alves, y M.C. Valverde. 2009. Future change of temperature and precipitation extremes in South America as derived from the PRECIS regional climate modeling system. *International Journal of Climatology* 29: 2241-2255.
- Meinzer, F.C., M.J. Clearwater y G. Goldstein. 2001. Water transport in trees: current perspectives, new insights and some controversies. *Environmental and Experimental Botany* 45: 239-262.
- Nicotra, A.B., O.K. Atkin, S.P. Bonser, A.M. Davidson, E.J. Finnegan, U. Mathesius, P. Poot, M.D. Purugganan, C.L. Richards, F. Valladares y M. Van Kleunen. 2010. Plant phenotypic plasticity in a changing climate. *Trends in plant science* 15: 684-692.

- Niinemets, U. 2001. Global-scale climatic controls of leaf dry mass per area, density, and thickness in trees and shrubs. *Ecology* 82: 453-469.
- Pennington, R.T., D.E. Prado y C.A. Pendry. 2000. Neotropical seasonally dry forests and Quaternary vegetation changes. *Journal of Biogeography* 27: 261–273.
- Placci, G. y P. Giorgis. 1993. Estructura y diversidad de la selva del Parque Nacional Iguazú, Argentina. VII Jornadas Técnicas: Ecosistemas Forestales Nativos: Uso, Manejo y Conservación. Eldorado, Misiones (Argentina).
- Poorter, L., y L. Markesteijn. 2008. Seedling traits determine drought tolerance of tropical tree species. *Biotropica* 40: 321-331.
- Sack, L. y N.M. Holbrook. 2006. Leaf hydraulics. *Annual Review of Plant Biology* 57: 361-381.
- Sack, L. y M.T. Tyree. 2005. Leaf hydraulics and its implications in plant structure and function. En: Holbrook, N.M. y M.A. Zwieniecki (eds) *Vascular transport in plants*. Elsevier, Amsterdam, pp 93-114.
- Sack, L., P.D. Cowan, N. Jaikummar y N.M. Holbrook. 2003. The 'hydrology' of leaves: coordination of structure and function in temperate woody species. *Plant, Cell and Environment* 26: 1343-1356.
- Scoffoni, C., M. Rawls, A. Mckown, H. Cochard, y L. Sack. 2011. Decline of leaf hydraulic conductance with dehydration: relationship to leaf size and venation architecture. *Plant Physiology* 156: 832-843.
- Scholz, F.G, S.J. Bucci, G. Goldstein, F.C. Meinzer, A.C. Franco and F. Miralles-Wilhelm. 2007. Biophysical properties and functional significance of stem water storage tissues in Neotropical savanna trees. *Plant, Cell and Environment* 30: 236-248.
- Sperry, J.S. y M.T. Tyree. 1988. Seasonal occurrence of xylem embolism in sugar maple (*Acer saccharum*). *American Journal of Botany* 75: 1212-1218.
- Srur, M., F. Gatti, V. Benesovsky, J. Herrera, R. Melzew y M. Camposano. 2010. Los tipos de vegetación y ambientes del Parque Nacional Iguazú y su distribución en el paisaje. En: Parque Nacional Iguazú, Conservación y desarrollo en la Selva Paranaense de Argentina (B. Carpinetti et al. eds.): Administración de Parques Nacionales. Buenos Aires, Argentina, pp 99- 118.
- Tyree, M.T. y J.S. Sperry. 1989. Vulnerability of xylem to cavitation and embolism. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 40: 19-36.
- van Reeuwijk, L.P. 1986. Procedures for Soil Analysis. Technical Paper N° 9. International Soil Reference and Information Centre (ISRIC), Wageningen, The Netherlands. 106 p.
- Walters, M.B. y P.B. Reich. 1999. Low-light carbon balance and shade tolerance in the seedlings of woody plants: do winter deciduous and broad-leaved evergreen species differ? *New Phytologist* 143: 143-154.
- Wardle, D.A., R.D. Bardgett, J.N. Klironomos, H. Setälä, W.H. Van Der Putten y D.H. Wall. 2004. Ecological linkages between aboveground and belowground biota. *Science* 304: 1629-1633.
- Woodruff, D.R., K.A. McCulloh, J.M. Warren, F.C. Meinzer y B. Lachenbruch B. 2007. Impacts of tree height on leaf hydraulic architecture and stomatal control in Douglas-fir. *Plant, Cell and Environment* 30:559-569.
- Zhang, J.L. y K.F. Cao. 2009. Stem hydraulics mediates leaf water status, carbon gain, nutrient use efficiencies and plant growth rates across dipterocarp species. *Functional Ecology* 23: 658-667.
- Zimmermann, M.H. 1983. Xylem structure and the ascent of sap. Springer-Verlag, Berlin, Germany.



El capítulo 6 fue retirado a pedido del autor

At author's request chapter 6 has been withdrawn



El Anexo 1 fue retirado a pedido del autor

At author's request Anexo 1 has been withdrawn



El Anexo 2 fue retirado a pedido del autor

At author's request Anexo 2 has been withdrawn



El Anexo 3 fue retirado a pedido del autor

At author's request Anexo 3 has been withdrawn