



“Aclimatación de plantas jóvenes de *Cabrlea canjerana* (cancharana) a condiciones contrastantes de irradiancia.”
Informe Trabajo Final

Estudiante: Olguin Flavia Yesica

Directora: Dra. Graciano Corina

Co-directora: Ing. Ftal. Moretti Ana Paula

2015

“Educar y educarse, en la práctica de la libertad, no es extender algo desde la ‘sede del saber’, hasta la ‘sede de la ignorancia’, para ‘salvar’, con este saber, a los que habitan aquella. Al contrario educar y educarse, en la práctica de la libertad, es tarea de aquellos que saben que poco saben -por esto saben que saben algo, y pueden así, llegar a saber más-, en diálogo con aquellos que, casi siempre, piensan que nada saben, para que éstos, transformando su pensar que nada saben en saber que poco saben, puedan igualmente saber más”

Paulo Freire

AGRADECIMIENTOS

A mi Directora y a mi Co-directora, por confiar en mí y abrirme las puertas a su equipo de trabajo, por ayudarme a aprender día a día y por sobre todo haberme acompañado en este momento tan especial.

A mi Mamá y a mi Papá, por ser los mejores, por ayudarme siempre a cumplir mis sueños, por acompañarme hoy y siempre y por todo su amor. A mi abuela Titi y mi Tía Gloria, por el esfuerzo enorme, que junto a mis viejos, hicieron día a día para que pueda llegar este momento.

A mi hermano y muy especialmente a mi hermana, que me esperó en La Plata con los brazos abiertos, por su apoyo incondicional y por estar conmigo en todo momento.

A mi abuela Rosa, mis abuelos, mis primos y primas, mis cuñados, mis tíos y tías y especialmente a mi tía Vivi y mi tío Cacú por bancarme en todas y tener siempre una sonrisa para mí.

A mis amigas y amigos de Junín por estar siempre, por acompañarme en los momentos más difíciles y por festejar en los más felices.

A todos mis amigos y profesores de la Facultad y muy especialmente a mi Familia Forestal Feliz, es decir, a unas grandes amigas, por haber hecho de cada uno de mis días en la facultad una etapa muy feliz de mi vida, por regalarme las anécdotas más graciosas y por estar siempre.

A mis amigas y compañeras de hogar, por bancarme en mis días de estudio interminables y alentarme en todo momento, y especialmente a Bob, mi amor perruno, por recibirme todos y cada uno de los días de mi vida con todo su amor.

Y a Juan, mi compañero, por estar desde el comienzo y ahora más, por confiar y acompañarme en todos mis proyectos, y por caminar el mismo camino.

Contenido

RESUMEN	6
INTRODUCCIÓN	7
Caracterización de la especie	9
OBJETIVO	10
HIPÓTESIS	11
MATERIALES Y MÉTODOS.....	11
Evaluación de condiciones ambientales	12
• <i>Radiación Fotosintéticamente Activa (PAR):</i>	12
• <i>Humedad y Temperatura:</i>	12
Evaluación de respuesta en crecimiento y partición de materia seca	13
• <i>Diámetro al cuello (DAC) y altura:</i>	13
• <i>Peso seco por compartimento:</i>	13
Evaluación de la respuesta en la capacidad fotosintética.....	13
• <i>Área foliar total (AF) y área foliar específica (AFE):</i>	13
• <i>Contenido de clorofila total:</i>	14
• <i>Concentración de clorofila total, a y b:</i>	14
• <i>Curvas de respuesta de la fotosíntesis a diferentes irradiancias:</i>	15
• <i>Rendimiento cuántico máximo del PSII (Fv/Fm) a oscuridad:</i>	15
• <i>Rendimiento cuántico efectivo del PSII (ϕ_{PSII}) y Tasa de transporte de electrones del PSII (ETR):</i>	16
Evaluación de presencia de estrés hídrico:	16
• <i>Conductancia y densidad estomática:</i>	16
• <i>Potencial hídrico:</i>	18
• <i>Conductancia y Conductividad hidráulica de órganos:</i>	19
Análisis estadístico	20
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	21
Condiciones ambientales	21
Respuesta en crecimiento y partición en materia seca	22
Respuestas en la capacidad fotosintética	25
Respuestas en el uso del agua	32
CONCLUSIÓN	36
RECOMENDACIONES DE MANEJO.....	37

BIBLIOGRAFÍA.....	38
ACTIVIDADES OPTATIVAS REALIZADAS Y SU VINCULACIÓN CON EL TRABAJO FINAL	41

RESUMEN

La región de la Selva Paranaense es uno de los centros de mayor diversidad biológica de Argentina. Sin embargo, sufre un importante advenimiento producto de la sobreexplotación de los recursos madereros mediante la extracción de especies económicamente valiosas y el avance de la frontera agrícola. Una estrategia que podría contribuir al desarrollo sustentable y permitir aumentar el valor económico del bosque nativo, es el enriquecimiento con especies de valor maderero. Para enriquecer el bosque es indispensable conocer la dinámica de regeneración de las especies de interés. Una característica muy importante que debe ser considerada en el manejo de la regeneración es la aclimatación de las especies al ambiente en que se desarrollan, determinando los mecanismos que la misma dispone para realizar cambios morfológicos y fisiológicos. El objetivo del presente trabajo consistió en evaluar el crecimiento y los mecanismos de aclimatación de plantas jóvenes de *Cabralea canjerana* a condiciones lumínicas contrastantes: bajo dosel arbóreo y a sol pleno. El ensayo se llevó a cabo en la localidad de San Antonio, Misiones, con plantas de cancharana de 8 meses de edad producidas en vivero. En el mes de octubre 34 plantas fueron ubicadas a sol pleno y 68 bajo cobertura de bosque nativo. Transcurrido el primer verano, para evaluar los mecanismos de aclimatación de las mismas al cambio de condición lumínica, se midió crecimiento y se determinaron características morfológicas y fisiológicas. Las plantas aclimatadas a sol pleno tuvieron mayor peso seco total y mayor partición de materia seca a las raíces. En cuanto a los cambios a nivel foliar tuvieron menor concentración de clorofila, menor área foliar, menor área foliar específica, mayor conductancia estomática al mediodía y mayor número de estomas e índice estomático. La conductancia hidráulica fue similar entre plantas de sol y de sombra, pero se observó mayor conductancia específica de hojas, pecíolos y tallos en plantas de sol, y menor conductancia específica de raíces. Los resultados indican que *C. canjerana* es una especie plástica, es decir, que puede aclimatarse a condiciones contrastantes de irradiancia. De esta manera tanto las plantas que crezcan naturalmente como las que se implanten a modo de enriquecimiento del bosque nativo, podrían establecerse en claros (*Gaps*) o en lugares donde se encuentre un dosel arbóreo denso.

INTRODUCCIÓN

El Bosque Atlántico recorre la costa atlántica de Brasil desde una latitud tropical, y se extiende hacia el oeste por Paraguay oriental y el noreste Argentino hasta una latitud subtropical, constituyendo su porción sudoeste la ecorregión del Bosque Atlántico del Alto Paraná. Estos bosques han sido clasificados como uno de los bosques con mayor biodiversidad del mundo, con alrededor de un 40% de especies vegetales y animales endémicas, es decir, que sólo se encuentran en este lugar del mundo. Sin embargo, subsiste actualmente el 7% de su cobertura original con paisajes altamente fragmentados (Di Bitetti, 2010).

En Argentina esta ecorregión, denominada Provincia Paranaense, según Cabrera (1976), abarca la totalidad de la Provincia Misionera y el noreste de Corrientes. La vegetación predominante corresponde a Selva de Laurel, Guatambú y Pino (Cabrera, 1976). La temperatura media anual es de 21°C, con una amplitud media mensual de 10°C y la precipitación media anual es de 2000 mm, distribuida uniformemente durante el año. En el área pueden ocurrir heladas invernales de manera poco frecuente. Según la clasificación de USDA (2006), los suelos predominantes son lateríticos, derivados de rocas basálticas correspondientes a Kandiuultes del orden ultisoles. Según GeolINTA, la principal limitante de los suelos es la alta susceptibilidad a la erosión hídrica seguida por la acidez de los mismos.

La región de la Selva Paranaense es uno de los centros de mayor diversidad biológica de Argentina (Ríos et al., 2008), pero desde la segunda mitad del siglo XX sufre una fuerte y paulatina destrucción, debido a la sobreexplotación de los recursos madereros mediante la extracción de especies económicamente valiosas y el avance de la frontera agrícola, lo que ha generado consecuencias muy graves a nivel ecológico y ambiental (Frangi *et al.*, 2005). El reemplazo del bosque nativo por plantaciones de especies exóticas de rápido crecimiento, así como la degradación y el empobrecimiento de la calidad del mismo, por la sobreexplotación o manejo no sustentable, se podrían mencionar como los principales factores que repercuten negativamente sobre el territorio.

Según Ríos et al. (2008), el desarrollo sustentable es uno de los factores que permitirá el crecimiento de la población humana, hasta cierto límite razonable, y que proporcionará el asentamiento y arraigamiento de las familias; este desarrollo sustentable estriba sobre bases reales del capital ecológico existente en el

ecosistema, para satisfacer las necesidades humanas esenciales de las actuales y futuras generaciones. Una estrategia que podría contribuir al desarrollo sustentable y permitir aumentar el valor económico del bosque nativo es el enriquecimiento con especies de valor maderero. Para enriquecer el bosque es indispensable conocer la dinámica de regeneración de las especies de interés, de manera de poder aumentar la regeneración y establecimiento de dichas especies. El éxito de cualquier regeneración va a depender de una gran diversidad de factores, entre los más importantes se pueden mencionar: factores climáticos como la temperatura, la humedad, las precipitaciones y la irradiancia; factores edáficos como el contenido de materia orgánica, textura y estructura; de la especie como tolerancia a la luz, cantidad, dispersión y tipo de semillas; y además del tiempo y el espacio en que se encuentren (Lamprecht, 1990).

De los factores antes mencionados la irradiancia juega un papel fundamental ya que si bien las especies difieren en la tolerancia a la luz, ésta es fundamental para el inicio de la germinación y establecimiento de la mayoría de las especies (Lamprecht, 1990). Según su tolerancia a la sombra se puede clasificar a las especies en: heliófitas, que son las que requieren plena insolación durante toda su vida para crecer; esciófitas, que se regeneran y viven a la sombra del dosel, es decir son tolerantes a la sombra; y por último las hemiescíofitas que pueden germinar y crecer a la sombra del canopy, pero luego de un tiempo de haber estado bajo dosel necesitan mayores cantidades de irradiancia, sino mueren (Lamprecht, 1990). De esta manera la llegada de luz directa al sotobosque por medio de claros o gaps es indispensable para la regeneración de muchas especies. Los claros se pueden producir naturalmente por la caída de árboles o por acción humana. Los claros de origen antrópico pueden deberse a la extracción de individuos de gran porte de especies con valor comercial (extracción selectiva) o a los rozados, en donde se desmontan superficies no muy extensas de bosque nativo para realizar agricultura y luego de 4 o 5 años de uso son abandonadas debido al descenso de la productividad de ese suelo. Con menos frecuencia, el hombre puede generar claros como prácticas para manejar la regeneración del bosque. Además de la condición lumínica en los claros también se producen alteraciones en cuanto a la temperatura del aire y del suelo, y de la disponibilidad de los nutrientes. El grado de perturbación o tamaño y la forma de los claros, son fundamentales para definir especies potenciales que podrán recolonizar estas áreas (Sousa-Silva et al., 1999)

Una característica muy importante que tienen las especies que debe ser considerada en el manejo de la regeneración es la plasticidad fenotípica, es decir, la capacidad de

expresar fenotipos alternativos en respuesta a la variación ambiental (Ramirez-Valiente, 2010). Esta expresión de fenotipos son cambios fisiológicos y morfológicos que se manifiestan en las especies como resultado de la aclimatación al ambiente en que se desarrollan. Las plantas han desarrollado muchos métodos para responder a los cambios en sus condiciones de crecimiento, estos van desde procesos de desarrollo que ocurren a nivel del canopy o de hojas individuales, que suceden en periodos de semanas o meses, a ajustes en el funcionamiento de las proteínas individuales dentro del aparato fotosintético, que operan en escalas de tiempo que van desde segundos hasta horas (Walters, 2005). De esta forma las especies que crecen a la sombra pueden presentar mayor longitud de entrenudos, mayor concentración de clorofila por unidad de peso foliar, mayor área foliar específica (AFE), menor tasa fotosintética neta a saturación lumínica (A_{sat}) y menor punto de compensación lumínico (PCL), entre otras modificaciones posibles.

Así es que si se quiere conocer la capacidad de una especie a tolerar cambios en el ambiente lumínico, es indispensable conocer los mecanismos de los que dispone esa especie para aclimatarse a las diferentes condiciones.

Caracterización de la especie

Cabralea canjerana (Vell) Mart. conocida vulgarmente en Argentina como “cancharana” pertenece al orden Sapindales, familia Meliaceae (Schüssler, 2006). Tiene una amplia distribución desde Costa Rica hasta el sur de Brasil y el norte de Argentina (Pinazo et al., 2009). La especie tiene un óptimo crecimiento en suelos profundos bien drenados, ácidos o ligeramente ácidos, medianamente fértiles y con buena disponibilidad hídrica (Galvao, 1986). La dispersión inicial de las semillas es realizada principalmente por diferentes especies de aves, y las hormigas participan en la dispersión posterior como facilitadoras de la germinación porque remueven un arilo carnoso que inhibe la germinación (Schüssler, 2006). La especie regenera con facilidad tanto en el interior de bosques densos como claros y capueras (Galvao, 1986). Los individuos jóvenes son muy sensibles a heladas por lo cual deben ser protegidos durante el invierno (Carvalho, 1996).

La ‘Cancharana’ es una especie arbórea perenne de hojas compuestas, paripinadas, de aproximadamente 15-20 foliolos opuestos y alternos, su cara adaxial o superior es brillante y glabra mientras que la abaxial o inferior es opaca con pubescencia en las nervaduras secundarias (Schüssler, 2010). Sin embargo, según Sousa-Silva et al.,

(1999) *Cabralea canjerana* es una especie de hábito foliar deciduo. Los frutos son cápsulas globosas dehiscentes, normalmente se encuentran dos semillas por lóculo envueltas por un arilo color anaranjado con un alto contenido en lípidos (Schüssler, 2010). La maduración de los frutos tiene lugar entre septiembre y enero, y el pico de maduración sucede en noviembre-diciembre (Pinazo et al., 2009) (Figura 1).

La arquitectura de la especie se caracteriza por ser un árbol de copa frondosa, con un tronco largo y recto, alcanzando alturas de hasta 30m y diámetros de 1m. La madera es de color rosado con una buena aptitud maderera, similar a la madera de cedro (*Cedrela fissilis*), siendo entonces una especie de gran importancia económica de la Selva Paranaense, por lo que se encuentra sometida a una fuerte presión de corta (Pinazo et al., 2009).



Figura 1. A) Planta joven de *C. canjerana*, B) Frutos dehiscentes abiertos y semillas de cancharana, C) Hoja compuesta de planta joven de cancharana.

OBJETIVO

El objetivo del presente trabajo consistió en evaluar el crecimiento y los mecanismos de aclimatación de plantas jóvenes de *Cabralea canjerana* (“cancharana”) a condiciones lumínicas contrastantes: bajo dosel arbóreo y a sol pleno. Se buscó conocer la plasticidad de esta especie para aclimatarse a diferentes condiciones de disponibilidad de luz a las que puede estar expuesta en el bosque nativo, simulando un claro o una zona desmontada y el crecimiento bajo cobertura del bosque.

HIPÓTESIS

Las plantas jóvenes de *Cabralea canjerana* pueden crecer bajo canopeo y a sol pleno, pero desarrollan cambios morfológicos y fisiológicos para poder tolerar tanto el estrés lumínico como hídrico característico de las áreas sin cobertura.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se llevó a cabo en el campo Anexo Manuel Belgrano, perteneciente al Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Se encuentra ubicado en la localidad de San Antonio, Provincia de Misiones, en el departamento General Manuel Belgrano a 26°03'20" de latitud Sur y 53°48'08" de longitud Oeste (Figura 2-A). El campo limita al Este con la localidad Brasileira de Santo Antonio do Sudoeste, en el estado de Paraná, al Norte con el Municipio de Comandante Andresito, al Sur con el Municipio de Bernardo de Irigoyen y al Oeste con el Parque Provincial Urugua-í. En la actualidad, este campo experimental constituye el único remanente de bosque nativo en el área junto con la reserva estricta San Antonio, con la que limita al norte (Pinazo et al., 2009).

Las plantas de cancharana empleadas en el ensayo fueron producidas bajo media sombra, empleando contenedores de 1 litro, en el vivero Forestal que se encuentra en este mismo lugar. Las semillas fueron recolectadas de diferentes madres que crecen en el bosque nativo, en el marco de un plan de mejoramiento para dicha especie que se lleva adelante en el INTA EEA Montecarlo.

En el mes de octubre de 2012 se seleccionaron 102 plantas jóvenes de cancharana de 8 meses de edad, y se trasplantaron a macetas de 7 litros con un sustrato compuesto por una mezcla de tierra extraída del monte nativo y compost de corteza de pino en relación 1:1. La tierra se mezcló con corteza para mejorar la aireación del suelo y para facilitar la extracción de raíces. Inmediatamente luego del trasplante, se colocaron las plantas en ambientes lumínicos contrastantes: 34 plantas fueron colocadas a sol pleno (tratamiento sol) y las restantes 68 bajo cobertura de bosque nativo (tratamiento canopeo) (Figura 2-B). La diferencia en números de plantas destinadas a cada tratamiento reside en que en una segunda etapa de evaluación de la especie, que no está incluida en este trabajo, la mitad de las plantas ubicadas bajo canopeo (34) fueron movidas a sol pleno para evaluar la aclimatación de las mismas al cambio de condición lumínica.

Durante el mes de mayo, es decir, transcurrido el primer verano, se llevaron a cabo mediciones fisiológicas en los individuos de cada tratamiento para evaluar la presencia de estrés hídrico, la respuesta de las plantas en crecimiento y materia seca, y la aclimatación a la luz.

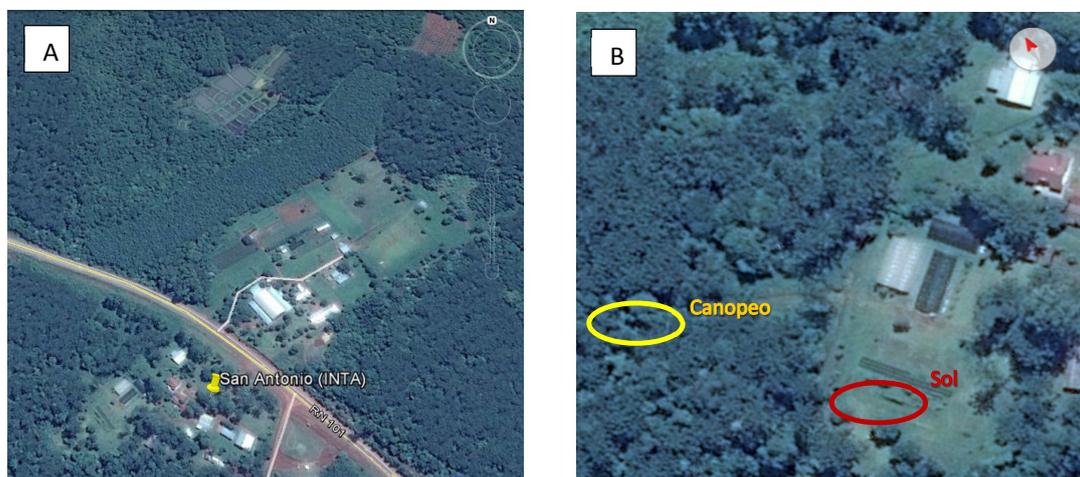


Figura 2. A) Imagen satelital del campo Anexo Manuel Belgrano; B) Localización del ensayo, Sol: lugar donde se ubicó el ensayo de plantas a condiciones de alta irradiancia representando un claro y; Canopeo: plantas ubicadas a la sombra del canopeo de un área conservada como reserva de bosque nativo perteneciente al campo. Fuente: Google Earth 2014.

Evaluación de condiciones ambientales

Para evaluar las condiciones contrastantes de cada ambiente lumínico al que se sometieron los tratamientos se registraron las siguientes variables:

- ***Radiación Fotosintéticamente Activa (PAR):***

La radiación fotosintéticamente activa (PAR), delimitada entre las longitudes de onda 400 y 700 nm, se registró sobre una muestra de 10 plantas por cada tratamiento durante 3 días despejados, en 4 momentos: 9:00 hs, 12 hs, 14 hs y 17 hs, empleando el sensor de PAR adosado al fluorímetro (FMS2, Hansatech). El sensor se colocó horizontal, sobre la zona apical de las plantas.

- ***Humedad y Temperatura:***

Se registró el porcentaje de humedad relativa del aire y la temperatura tanto del suelo como del aire en cada maceta, con 2 sensores de humedad y temperatura (TFA-Hygrotherm). Las mediciones se realizaron durante 3 días y fueron registradas al mismo tiempo y sobre las mismas plantas en las que se midió el PAR (Figura. 3)

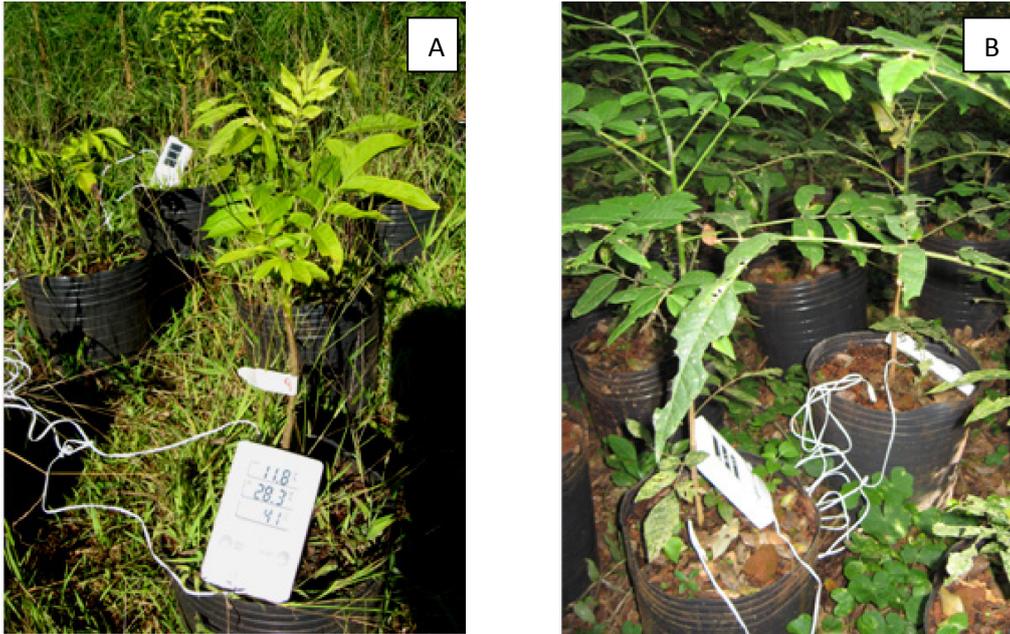


Figura 3. A) Plantas ubicadas a sol pleno, B) Plantas ubicadas bajo canopeo de Bosque denso, con sensores de Temperatura y Humedad en macetas.

Evaluación de respuesta en crecimiento y partición de materia seca

- ***Diámetro al cuello (DAC) y altura:***

A cada una de las plantas pertenecientes a los diferentes tratamientos se les midió el diámetro al cuello con un calibre digital, realizando 2 mediciones perpendiculares por planta. La altura de las plantas se midió desde el suelo al ápice, empleando cinta métrica.

- ***Peso seco por compartimento:***

Para obtener los pesos secos de los diferentes compartimentos que componen las plantas (hojas, tallos y raíces) se emplearon las 6 plantas de cada tratamiento que ya habían sido seleccionadas para el muestreo destructivo. Los diferentes compartimentos: raíces pivotantes, raíces finas, tallos y hojas se colocaron en bolsas de papel y fueron llevados a estufa a 65°C por 7 días para eliminar el agua contenida en su interior y determinar el peso seco en balanza de precisión.

Evaluación de la respuesta en la capacidad fotosintética

- ***Área foliar total (AF) y área foliar específica (AFE):***

Para el cálculo del área foliar total se realizó un muestreo destructivo de 6 plantas por tratamiento. Se tomaron fotografías digitales del total de hojas de cada planta y, empleando el *software Image-tool*, se midieron las áreas expresadas en cm². Las

hojas fueron colocadas en estufa a 65°C hasta peso constante para obtener su peso seco. El área foliar específica se obtuvo relacionando el AF de las hojas de cada planta con su respectivo peso seco (AF/PSh), quedando expresada en $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$.

- **Contenido de clorofila total:**

La concentración de clorofila total se registró sobre 26 plantas de cada tratamiento tomando la medición en hojas totalmente expandidas seleccionadas al azar de cada planta, empleando un Spad (Minolta) que arroja valores en unidades arbitrarias relacionados al contenido de clorofila.

- **Concentración de clorofila total, a y b:**

Para determinar esta relación entre las unidades de Spad y la concentración de clorofila se eligieron al azar 10 plantas de cada tratamiento, y con un sacabocado de sección conocida se cortó un disco de cada hoja y cada uno fue colocado en 1 ml de N,N-dimetilformamida, para luego medir con un espectrofotómetro la absorbancia. Para la estimación de la concentración de clorofila total, a y b se realizaron dos lecturas de absorbancia, a longitud de onda 664,5 y 647 y luego con las ecuaciones 1 y 2 se calculó dicha concentración (Inskip & Bloom, 1985). Luego se dividió dichos valores por el área foliar del disco, para expresar las concentraciones de clorofila a y b en μg por cm^2 de hoja.

$$\text{Clorofila a } (\mu\text{g/ml}) = 12,7 * (\text{ABS } 664,5) - 2,79 * (\text{ABS } 647)^1 \quad \text{Ecuación 1.}$$

$$\text{Clorofila b } (\mu\text{g/ml}) = 20,7 * (\text{ABS } 647 \text{ nm}) - 4,62 * (\text{ABS } 664,5 \text{ nm})^1 \quad \text{Ecuación 2.}$$

También se determinó la concentración de clorofila total para luego correlacionar la linealidad con los valores de clorofila total obtenidos con Spad empleando la ecuación 3, y luego se expresó por cm^2 de hoja al dividirlo por el área foliar del disco.

$$\text{Clorofila total } (\mu\text{g/ml}) = 17,9 * (\text{ABS } 647 \text{ nm}) + 8,08 * (\text{ABS } 664,5 \text{ nm})^2 \quad \text{Ecuación 3.}$$

Por otro lado se tomó también con sacabocado 50 discos de hojas de cada tratamiento para determinar el área foliar específica a partir del peso, como muestra la ecuación 4, para poder determinar la concentración de clorofila total por gramo de hoja. Los discos se secaron en estufa a 65°C hasta peso constante y luego se pesaron en balanza

¹ ABS 647 y ABS 664,5 son los valores de absorbancia obtenidos de las lecturas de las respectivas longitudes de onda (nm).

² ABS 647 y ABS 664,5 son los valores de absorbancia obtenidos de las lecturas de las respectivas longitudes de onda y; 17,9 y 8,08 son parámetros que ya han sido ajustados en el modelo.

electrónica para determinar su peso seco. El área foliar se determinó mediante el producto del área de cada disco por la cantidad de discos.

$$AFE = AF/PS = (0,196 \text{ cm}^2 * 50 \text{ discos}) / PS \text{ gr } 50 \text{ discos} \quad \text{Ecuación 4.}$$

La modificación en la relación clorofila a/ clorofila b será interpretada como cambios de aclimatación de la proporción del complejo antena respecto a centros de creación.

- ***Curvas de respuesta de la fotosíntesis a diferentes irradiancias:***

Para realizar la curva de respuesta de la fotosíntesis a diferentes irradiancias se empleó un Sistema de Análisis de Gases por Infra-Rojo (IRGA), CIRAS-2 PP System (Portable Photosynthesis system) de “tipo abierto” que permite un control preciso de las variables ambientales dentro de la cámara de medición (Varela et al., 2010). Para el armado de las curvas se seleccionaron al azar 6 plantas de cada tratamiento y se midió sobre hojas totalmente expandidas y no sombreadas la tasa fotosintética neta (A_n) a distintas irradiancias. El IRGA se configuró a diferentes valores de PAR (entre 0 y 2000 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) utilizando una fuente de luz artificial (LEDs azules y rojos provistos por el fabricante) y niveles normales de CO_2 atmosférico (360 ppm). Con estos valores se realizó el ajuste de la curva con el programa Excel para cada planta individual. Se obtuvieron parámetros como la tasa fotosintética a saturación lumínica (A_{sat}) y el punto de compensación lumínico (PC lumínico) (Tambussi & Graciano, 2010 a). A_{sat} es el punto en el cual la fotosíntesis no está limitada por el PAR sino por otros factores, y representa la capacidad fotosintética de la hoja. El PC lumínico, definido como el PAR a la cual se equilibran el CO_2 absorbido con el desprendido manteniendo constante la temperatura y la concentración de CO_2 , es aquel punto de la curva donde la A_n es igual a cero, lo cual puede inferir si la planta está aclimatada a altas irradiancias o a la sombra porque las plantas aclimatadas a la sombra suelen tener menor PC lumínico. Por último, se comparó la tasa respiratoria mitocondrial aparente, la cual se determina a valores de PAR igual a cero y por convención se determinan como valores de A_n negativos.

- ***Rendimiento cuántico máximo del PSII (F_v/F_m) a oscuridad:***

Para medir este parámetro se empleó un medidor de fluorescencia modulada de la clorofila, utilizando el método del pulso saturante (Tambussi & Graciano, 2010 b) Fluorímetro FMS2, Hansatech. Se eligieron 10 plantas de cada tratamiento y sobre hojas totalmente expandidas y no senescentes se le colocaron pinzas (“clips”) especiales, provistas por el fabricante del equipo, que permiten oscurecer un sector de la hoja a medir por 30 minutos a modo de aclimatar a la oscuridad y relajar los

mecanismos de disipación no fotoquímica. La medición se llevo a cabo durante la última medición del día. Este coeficiente F_v/F_m^3 puede tomar valores entre 0 y 0,85 y connota una relación directa con el porcentaje de centros funcionales del fotosistema II, es decir, que una disminución del mismo en general indica daño y pérdida de función a nivel del aparato fotosintético.

- ***Rendimiento cuántico efectivo del PSII (ϕ_{PSII}) y Tasa de transporte de electrones del PSII (ETR):***

Esta medición se llevó a cabo por tres días en cuatro momentos del día: 9:00, 12:00, 14:00 y 17:00 HS con Fluorímetro FMS2, Hansatech. El $\phi_{PSII} = F_q/F_m'^4$ es proporcional al rendimiento cuántico de asimilación de CO_2 en condiciones no fotorrespiratorias (Tambussi & Graciano, 2010 b).

ETR (de '*Electron Transport Rate*') es un parámetro que se obtiene a partir de ϕ_{PSII} , la densidad de flujo fotónico fotosintético incidente (PPFD), la absorptancia y 0,5 que es la fracción de luz que es absorbida por el PSII (se asume una absorción equivalente de ambos fotosistemas). En este caso el parámetro se determinó a valores de irradiancias naturales que recibían *in situ* las plantas según el tratamiento al que se encontraban sometidas. Para saber qué fracción de la luz incidente es realmente absorbida se debe conocer la absorptancia, la misma se puede medir con una esfera integradora u obtener absorptancias teóricas a partir de bibliografía. En este caso se consideró la absorptancia de la hoja como 0,85 ya que este es un valor muy conservado en hojas de diversas especies (Tambussi & Graciano, 2010 b).

Evaluación de presencia de estrés hídrico:

- ***Conductancia y densidad estomática:***

La conductancia estomática se midió con un Porómetro DC 1 (Decagon) que registra la transpiración y es un indicador de la conductancia estomática, porque no es lógico suponer que la densidad estomática cambie a lo largo del día, sino que los estomas se abran o se cierran. Las mediciones se llevaron a cabo durante 3 días a las 9:00, 12:00, 14:00 y 17:00 hs.

³ El coeficiente F_v/F_m se calcula a partir de parámetros de fluorescencia, donde $F_v = F_m - F_0$; F_m = Fluorescencia máxima y F_0 = Fluorescencia mínima.

⁴ El rendimiento cuántico efectivo de PSII, se calcula como F_q'/F_m' , donde $F_q' = (F_m' - F_s)$; F_m' = Fluorescencia máxima en hojas iluminadas y F_s = Fluorescencia a estado estable a cualquier nivel de luz (Tambussi & Graciano, 2010 b).

Si las hojas fueron formadas en diferentes condiciones ambientales, tal como es el caso de este ensayo, la mayor conductancia estomática en un tratamiento puede deberse a que los estomas están más abiertos o a que presentan más densidad estomática. Para estimar la densidad estomática, se colectaron con sacabocado 20 discos de hoja de cada tratamiento y se colocaron en tubos eppendorf, conteniendo el fijador FAA (formaldehído (40%): ácido acético glacial: alcohol etílico (95%): agua destilada, en proporción 10:5:50:35). En laboratorio se procedió con la técnica de diafanizado, con el objetivo de decolorar los discos de hoja y visualizar al microscopio los estomas y las células para poder contabilizarlos. La técnica de diafanizado consta de los siguientes pasos:

1. Hervir los discos de hojas por 3' en alcohol 96°
2. Llevar a alcohol 96° y NaOH 3% en relación 50:50 por 1'
3. Colocar unos segundos en NaClO 50%.
4. Realizar 5 lavados por 5' c/u con agua destilada
5. Colorear con safranina 1% hasta teñido completo
6. Realizar 3 enjuagues con agua destilada
7. Montar los preparados en agua

Una vez colocados los discos en portaobjeto con agua destilada se cortaron a la mitad y una de ellas se dio vuelta, de manera que quedó expuesta la cara adaxial en un semicírculo y la abaxial en el semicírculo complementario, y se colocó el cubreobjetos. En el microscopio se tomaron 2 fotos digitales por preparado (Figura 4), las imágenes fueron procesadas con el *software* Image-tool para hacer el conteo de estomas en una mitad y de células epidérmicas en la otra. Para el cálculo de la densidad estomática, se relacionó el número de estomas contabilizados con el área en mm^2 analizada, de la misma forma se calculó el número de células por mm^2 . Con estos parámetros se calculó el Índice Estomático (IE) para poder comparar hojas de distintos tamaños, relacionando el número de estomas con el número de células epidérmicas. El IE se calcula con el número de estomas dividido el número de células epidérmicas más el número de estomas. En este caso, como se contabilizaron los estomas en la cara abaxial y las células epidérmicas se contaron en la cara adaxial, el Índice estomático se calculó dividiendo el número de estomas por el número de células.

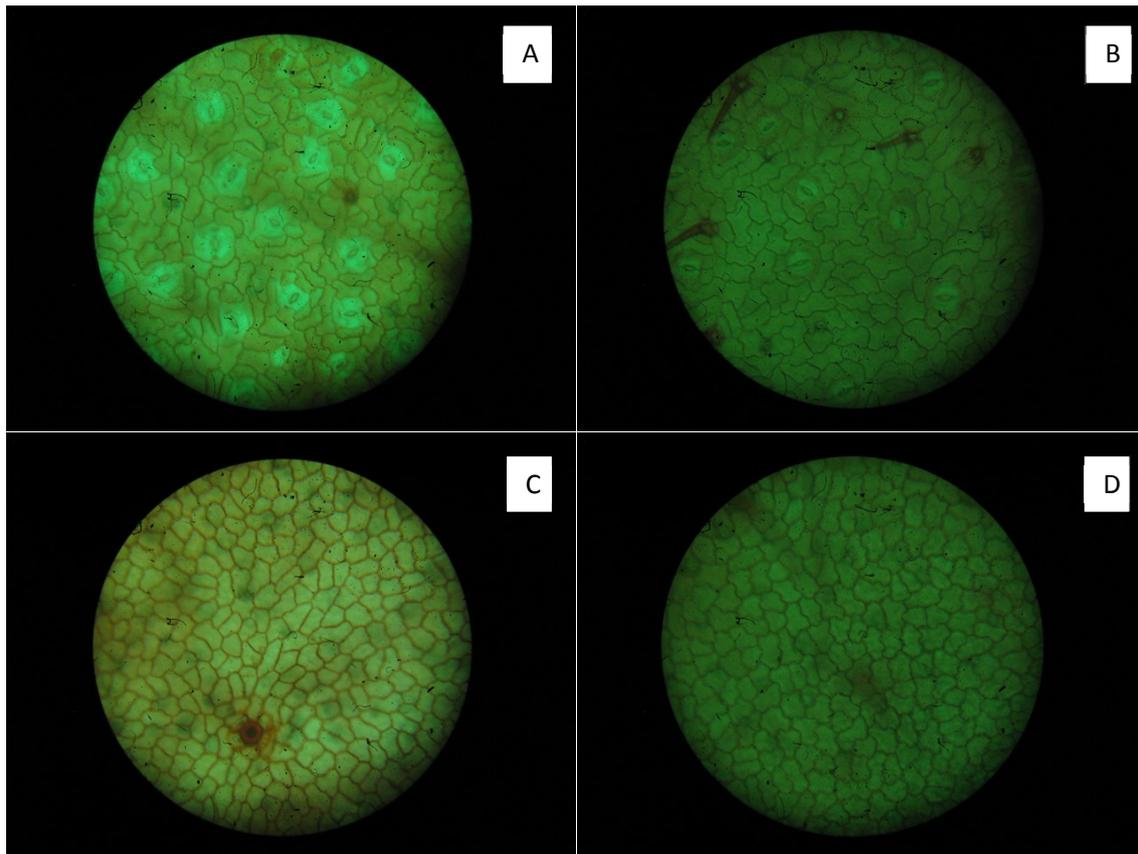


Figura 4. A) Imagen microscópica de cara abaxial de una hoja de sol mostrando estomas, B) Imagen microscópica de cara superior de una hoja bajo canopeo mostrando estomas, C) Fotografía microscópica de cara adaxial de hoja de sol visualizando células epidérmicas, D) Fotografía microscópica de cara inferior de hoja bajo canopeo visualizando células epidérmicas (aumento utilizado: 320X).

- **Potencial hídrico:**

En las plantas el agua que ingresa por las raíces circula hasta las hojas a través del xilema del tallo siguiendo un diferencial de potencial hídrico, de potenciales mayores a menores. La presión que se genera es negativa, por lo que se denomina tensión.

Para medir el potencial hídrico de las plantas, se muestrearon 3 plantas de cada tratamiento extrayendo una hoja madura totalmente expandida por planta, durante 3 días a las 9:00, 12:00, 14:00 y 17:00 hs. Al cortar la hoja se interrumpe la tensión presente en el xilema y la columna de agua se retrae; en este momento mediante el empleo de una Cámara de Schölander, que funciona con nitrógeno gaseoso, se aplicó la presión necesaria para que la columna de agua en el xilema emerja hacia la superficie del tallo. La presión que se aplicó es de igual magnitud pero de signo contrario a la tensión existente en el xilema. Asumiendo que el potencial del xilema y el

potencial hídrico del tejido se encuentran en equilibrio se pudo obtener este último en función del otro.

- **Conductancia y Conductividad hidráulica de órganos:**

Para conocer la capacidad de la planta de conducir agua a los tejidos fotosintéticos se realizó un muestreo destructivo de 6 plantas por tratamiento, se midió por un lado la conductividad hidráulica (kh) en tallo principal y pecíolo, y la conductancia hidráulica (K) tanto de la planta entera como de la raíz, vástago (tallo + hojas) y hojas.

La conductancia hidráulica se midió a través de un sistema que consistió en un recipiente con agua colocado a una altura que permitió generar un gradiente de presión (= 'cabeza hidráulica'); conectado a este recipiente, se encuentra una manguera que conduce el agua de la fuente microtubos de resistencia conocida (Rc). A continuación se encuentra el sistema de acople a los órganos que se midieron (hojas, tallos, pecíolos y vástago) y un sensor de presión conectado a un software. Este sistema registró la presión máxima del cabezal (P0) al medir con el circuito cerrado, antes de la entrada del agua a las resistencias, y la caída de presión una vez que el agua circula a través de las resistencias y antes de ingresar al tejido en medición (P1). Finalmente se registra la presión que tracciona el ingreso de agua del órgano, que será el potencial hídrico de la hoja cuando se mide hojas o vástagos, y la presión atmosférica cuando se miden secciones de tallo o de raíz (Melcher et al. 2012).

El fundamento del sistema es que el flujo o caudal que pasa a través de un conducto es igual a la diferencia de las presiones entre dos puntos, dividido la resistencia ofrecida al paso del fluido como lo muestra la siguiente ecuación:

$$F = \frac{P1 - P0}{Rc} \quad \text{Ecuación 5.}$$

Donde:

F: flujo

P0: presión del cabezal

P1: presión con las resistencias

Rc: resistencia conocida

Además de la conductancia hidráulica se midió el potencial del tejido de la planta (Pt) con la Cámara de presión de Schölander para poder obtener el flujo de la planta (Fp) como lo indica la siguiente ecuación:

$$F_p = P_1 - P_t / R \quad \text{Ecuación 6.}$$

Para la obtención de la Resistencia se igualan la ecuación 5 y 6, y como el resto de los parámetros se conocen se calcula la resistencia como se muestra en la Ecuación 7. Finalmente se obtuvo la conductancia como la inversa de la resistencia.

$$R = P_1 - P_t / (P_1 - P_0 / R_c) \quad \text{Ecuación 7.}$$

De esta manera se realizó la medición de la conductancia del vástago y de las hojas. Para obtener la conductancia del tallo, pecíolo y la raíz se reemplazó el potencial del tejido por la presión atmosférica, ya que en la salida el agua se encuentra en estas condiciones de presión. Una vez obtenida la conductancia del tallo y el pecíolo se calculó la conductividad hidráulica (k_h) al multiplicar K por la longitud de cada segmento respectivamente. También se calculó la conductividad específica (k_s) al dividir k_h por el área de xilema activo tanto del pecíolo como del tallo. Para el cálculo de la conductividad foliar específica (k_l) se dividió k_h por el área foliar abastecida por dicho órgano. En los demás órganos las conductancias se normalizaron por el tamaño del sistema conductivo correspondiente a cada caso.

A partir de la conductancia hidráulica del vástago (K_v) y la raíz (K_r) se calculó la conductancia de la planta (K_p) como lo muestra la ecuación 8 tomada de Tyree & Zimmermann (2002).

$$K_p = 1 / (1 / K_r + 1 / K_v) \quad \text{Ecuación 8.}$$

Análisis estadístico

Para realizar el análisis estadístico de los resultados de todos los parámetros evaluados se utilizó el programa estadístico Info Stat (Versión libre). Se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) y las medias se compararon mediante un test de Duncan. En todos los casos se usó como factor la condición lumínica contrastante (sol *versus* canopeo) y se consideraron significativas todas aquellas diferencias que presentaron un p-valor <0,05.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Condiciones ambientales

La radiación fotosintéticamente activa (PAR) presenta diferencias significativas entre tratamientos, además se pueden visualizar tendencias diferentes en cada condición de cobertura (Figura 5). En el tratamiento bajo canopeo el PAR se mantuvo relativamente bajo a lo largo de las horas medidas presentando sólo diferencia significativa a las 12 hs del mediodía, como consecuencia de un aumento de la misma. Sin embargo respecto al ambiente correspondiente al tratamiento 'sol' se muestra una marcada diferencia entre la radiación medida al medio día y al final del mismo, no presentando este último diferencias significativas con respecto al ambiente bajo canopeo en ese mismo horario.

Con respecto a la humedad relativa, la misma presentó diferencias significativas entre tratamientos. El menor porcentaje de humedad para el tratamiento sol fue a las 14hs, mientras que para el tratamiento bajo canopeo fue a las 12hs.

La temperatura del aire no presentó diferencias significativas entre los tratamientos, aunque presentó diferencias significativas entre tratamientos a las 9.00 hs y a las 14:00 con mayores valores para el tratamiento sol. La temperatura del suelo fue significativamente diferente entre tratamientos, con una media de 16,3 °C para aquellas plantas ubicadas bajo canopeo y una media de 23,2°C para las ubicadas a sol pleno.

Las variables ambientales registradas corroboran que los ambientes elegidos poseen características contrastantes, y que el nivel de cobertura no sólo modifica la disponibilidad de luz, sino también la temperatura del aire y del suelo, y la humedad relativa. Estos cambios en conjunto de cantidad de luz, temperatura y humedad ambiente es habitual cuando se comparan sitios abiertos y bajo cobertura de dosel (Valladares & Niinemets, 2008). Además de la cantidad de luz, la calidad de luz también se modifica porque cuando la radiación solar atraviesa un canopeo se enriquece proporcionalmente de radiación rojo-lejano (Valladares et al., 2004). Es así que las modificaciones morfológicas y fisiológicas que se analizan a continuación deben ser interpretadas como respuestas a los cambios en todas las variables ambientales que se modifican en conjunto cuando se comparan plantas aclimatadas al sol pleno con plantas aclimatadas a la sombra del canopeo.

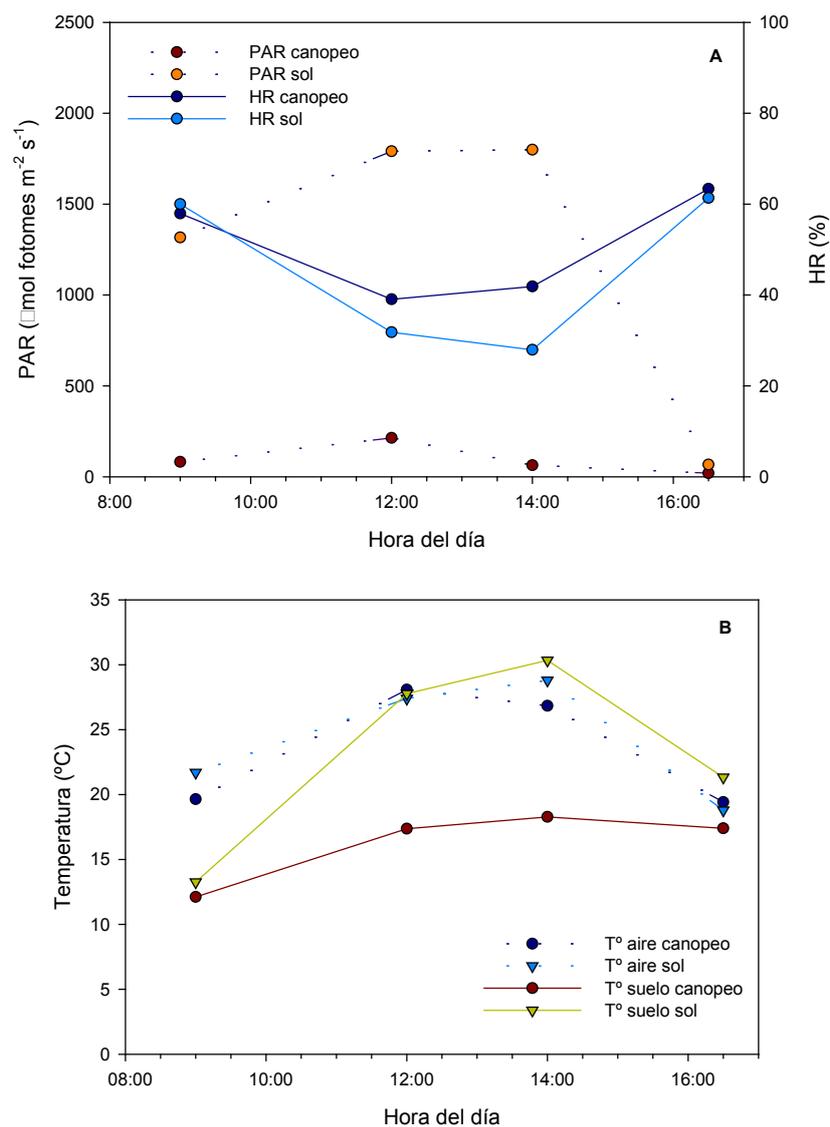


Figura 5. A) Radiación fotosintéticamente activa (PAR) ($\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y Humedad relativa del aire (HR) (%), B) Temperatura del suelo y el aire en cuatro momentos del día para el mes de mayo.

Respuesta en crecimiento y partición en materia seca

Las plantas que crecieron a sol pleno presentaron diámetros a la altura del cuello significativamente mayores que aquellas plantas bajo canopeo, sin embargo estas últimas fueron mayores en altura (Figura 6-A). Esto calificaría visualmente como plantas altas y finas a aquellas que se encuentran bajo canopeo y, como plantas bajas y gruesas a aquellas que se encuentran expuestas a sol pleno, tal como lo muestra la Figura 6B.

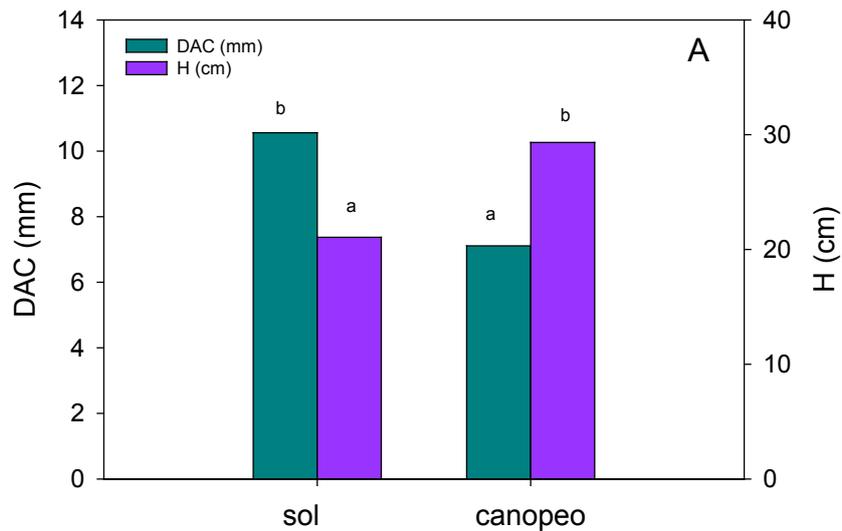


Figura 6. A) Diámetro al cuello (DAC) (mm) y Altura de plantas creciendo al sol y bajo canopeo, B) Plantas de Cancharana creciendo bajo canopeo a la izquierda, y a la derecha a sol pleno.

Mayor altura y menor DAC en plantas aclimatadas a la sombra con respecto a plantas a sol pleno, se condice con el encontrado para plantas jóvenes de cancharana en vivero expuestas a diferentes condiciones de luz, en que la disponibilidad de radiación se manejó con la colocación de malla mediasombra negra (Carvalho, 1996). Asimismo, en otro ensayo, las plantas de cancharana en vivero en condiciones de sombra (con el 90% de reducción de luz incidente, mediante uso de tela verde en los laterales y una madera en la parte superior) presentaron alturas significativamente mayores que aquellas creciendo a sol pleno (Sousa-Silva et al., 1999), al igual que en nuestros resultados. Sin embargo, en ese trabajo una reducción de la radiación del 70% no presentó diferencias de altura con respecto a las plantas de sol pleno. A su vez con una reducción del 50% de la luz las plantas se comportaron como el tratamiento sombra (Sousa-Silva et al., 1999). Con la información brindada, no se

puede comprender los motivos por los cuales la altura no responde consistentemente a la proporción de radiación incidente, aunque el hecho de que hayan usado telas de diferentes colores y materiales opacos como la madera pueden haber contribuido a que las respuestas de cada tratamiento no sean comparables. Más aún, en el DAC también se observa un patrón no consistente con el nivel de radiación incidente, ya que sólo el 70% de reducción de radiación incidente disminuyó el DAC, mientras que reducciones del 50 y 90% no tuvieron efectos significativos con respecto al sol pleno (Sousa-Silva et al., 1999).

Si bien se verificaron diferencias visuales en el aspecto que presentaron las plantas de cada tratamiento, dado por las diferencias encontradas en DAC y H, no se encontraron diferencias significativas respecto al peso seco de la parte aérea entre tratamientos (ni en el peso seco de tallos y peso seco de hojas) (Figura 7). Al analizar el peso seco de la parte subterránea de las plantas (peso seco de raíces finas y pivotantes) se observaron diferencias significativas entre tratamientos (Figura 7), presentando las plantas de sol un desarrollo radical mayor, posiblemente para explorar mayor superficie de suelo y abastecer de agua y nutrientes a la planta. Además este mayor desarrollo radical podría explicarse por el ambiente de mayor demanda evapotranspirativa al que están expuestas las plantas (Figura 5), ya que la planta transpira más y necesita abastecer de agua los tejidos. Las diferencias encontradas en peso seco de raíces redundan en menor peso seco total en las plantas de canopeo con respecto a las de sol (Figura 7).

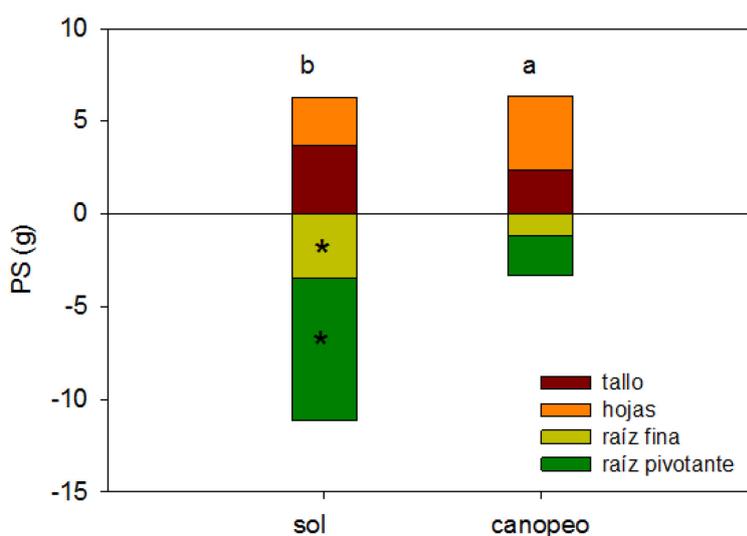


Figura 7. Peso seco de cada compartimento y total (g) de plantas de cancharana a sol pleno y bajo canopeo. Los asteriscos indican diferencias significativas en los compartimentos. Las letras indican diferencias en materia seca total.

En los ensayos referidos previamente, con plantas de cancharana en vivero sombreadas con malla mediasombra, también se observó que las plantas aclimatadas a la sombra poseían menor peso seco de raíces, similar peso seco de hojas y menor peso seco total que plantas aclimatadas a sol pleno (Carvalho 1996, Sousa-Silva et al., 1999)

Respuestas en la capacidad fotosintética

Los tratamientos presentaron diferencias significativas tanto en área foliar total como en área foliar específica, con hojas de mayor magnitud las plantas que se encontraban bajo canopeo (Figura 8). El número medio de hojas por planta en el tratamiento bajo canopeo fue significativamente mayor que en las de sol (10 y 5 hojas, respectivamente). Estos resultados son esperables, porque las plantas que crecen con baja irradiancia poseen hojas más delgadas y de mayor tamaño para maximizar la intercepción de luz (ver revisión en: Valladares & Niinemets, 2008), de esta manera la superficie de intercepción de radiación es mayor y se maximiza la captura de luz que infiltra en el canopeo. Estos resultados son consistentes con los observados en plantas de cancharana con sombreado artificial (Carvalho, 1996).

La concentración de clorofila total fue mayor en las plantas bajo canopeo con una media de 48,83 μg de clorofila/ cm^2 de hoja mientras que para las plantas creciendo a sol pleno fue de 20,71 μg de clorofila/ cm^2 de hoja (Figura 9-A). La concentración de clorofila total de plantas de cancharana a sol pleno y bajo canopeo equivale a 1,19 y 5,98 mg de clorofila/gramos de hoja, respectivamente, siendo esta diferencia significativa (Figura 9-B). Los valores de clorofila alcanzados con esta metodología se correlacionaron con los valores de clorofila total medidos con Spad arrojando un coeficiente de correlación de 0,93, es decir que la correlación es positiva y muy buena ($P < 0,001$) (Figura 9-C).

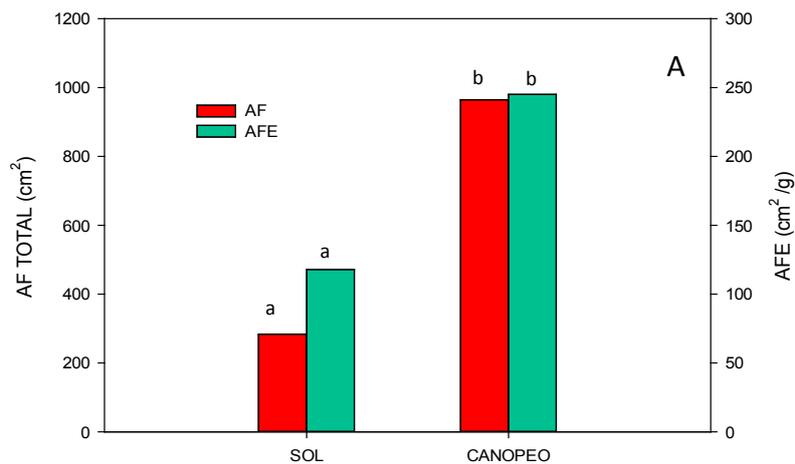


Figura 8. A) Área foliar total (cm²) y Área foliar específica (cm² g⁻¹) de plantas de sol pleno y a la sombra, B) hojas de cancharana aclimatadas a la sombra (canopeo) a la izquierda y a sol pleno (sol), a la derecha.

Las plantas aclimatadas a sol pleno presentaron una relación entre clorofila a y clorofila b mayor que las de canopeo (Figura 9-A). La disminución de este cociente en las plantas de canopeo se debe a que el aumento en la concentración de clorofila b (6 vs 16 mg cm⁻², en plantas de sol y sombra, respectivamente) es proporcionalmente mayor al aumento en la concentración de clorofila a, con respecto a las plantas de sol. Es esperable que la concentración de clorofila b aumente en las plantas aclimatadas a bajas irradiancias, ya que al aumentar el tamaño de las antenas colectoras de luz de los fotosistemas, se incrementa proporcionalmente más la concentración de clorofila b que la de clorofila a (Walters, 2005).

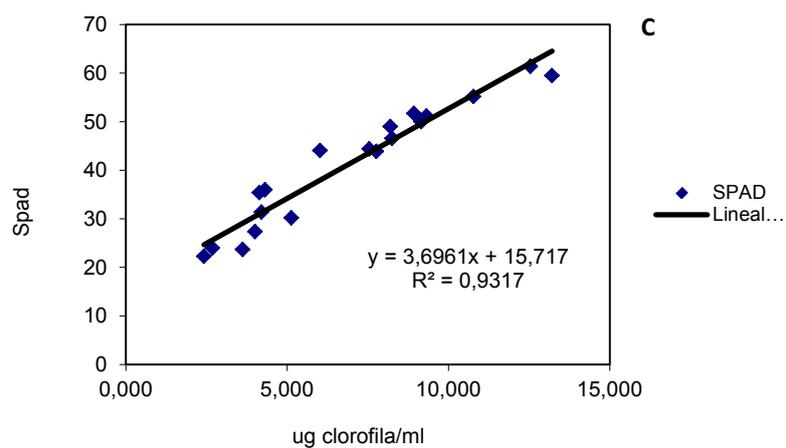
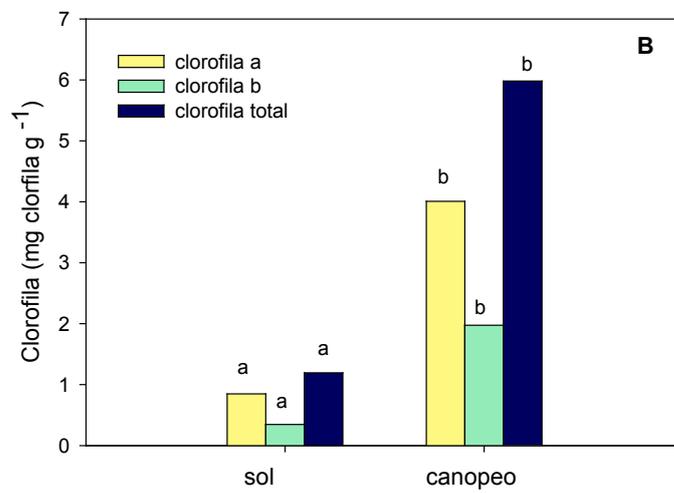
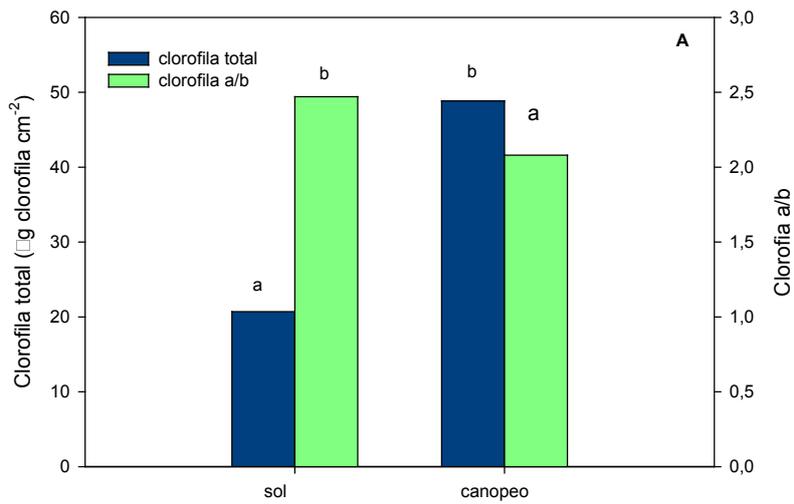


Figura 9. A) Clorofila total (μg de clorofila/ cm^2) y relación clorofila a/b y B) clorofila a, clorofila b y clorofila total (mg de clorofila/ g) de plantas de cancharana creciendo a pleno sol y a la sombra, C) Correlación lineal de clorofila total medida con Spad vs μg de clorofila/ml estimado.

El área foliar específica (AFE) presentó una media cercana a los 118 cm² por gramo de hoja para aquellas plantas aclimatadas a sol pleno y de 245 cm² por gramo de hoja para aquellas bajo canopeo. Estos valores se encuentran entre los rangos obtenidos por Galvao (1986) para *Cabralea canjerana* en fase juvenil a lo largo del año. Puntualmente, registra un AFE de 222 cm² por gramo para el mes de mayo, el mismo momento del año en que se realizó las determinaciones presentadas en esta tesis. Además, se verifica con lo observado por Carvalho (1996) en AF y AFE con mayores valores para plantas de cancharana creciendo a 10% de irradiancia que a sol pleno. Los valores de clorofila total fueron similares a los reportados por Carvalho (1996): los niveles de clorofila total en plantas a 10% de irradiancia fueron mayores que a 100%, con medias de 1,16 y 3,23 µg de clorofila por mg de hoja, respectivamente, un valor levemente menor que el encontrado en este trabajo para plantas bajo canopeo (5.98 µg mg⁻¹). Sin embargo los resultados obtenidos en la relación clorofila a y clorofila b no se condicen con los expuestos por dicho autor ya que para el mismo no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, posiblemente por la condición de crecimiento en la que se encuentran las plantas, ya que crecen en invernáculo con media sombra, y no bajo un canopeo natural.

Las plantas de cancharana aclimatadas a sol pleno y bajo canopeo, tuvieron curvas de respuesta de fotosíntesis neta a la luz similares (Figura 10-A). Esto nos indicaría que la capacidad de realizar fotosíntesis de las plantas de cancharana es similar a pesar de estar aclimatadas a ambientes lumínicos muy contrastantes.

En la tabla 1 se encuentran representados los parámetros que se desprendieron del análisis de las curvas individuales de cada planta. Ninguno de los parámetros evaluados (Respiración mitocondrial aparente, Tasa fotosintética a saturación lumínica y Punto de compensación lumínico) presentó diferencias significativas entre medias.

Si la fotosíntesis neta se expresa por peso de hoja, en vez de por área foliar, los dos tratamientos presentan diferentes curvas en respuesta a la luz (Figura 9-B). La diferencia en las curvas está influenciada por la marcada diferencia en el AFE entre plantas de sol y de canopeo (Figura 8-A). Las plantas aclimatadas a canopeo tiene mayor tasa de fotosíntesis neta a saturación por gramo de hoja, es decir, que la inversión en materia seca en hojas para fijar un mol de C es menor que la inversión que realizan las plantas de sol (Givnish, 1988).

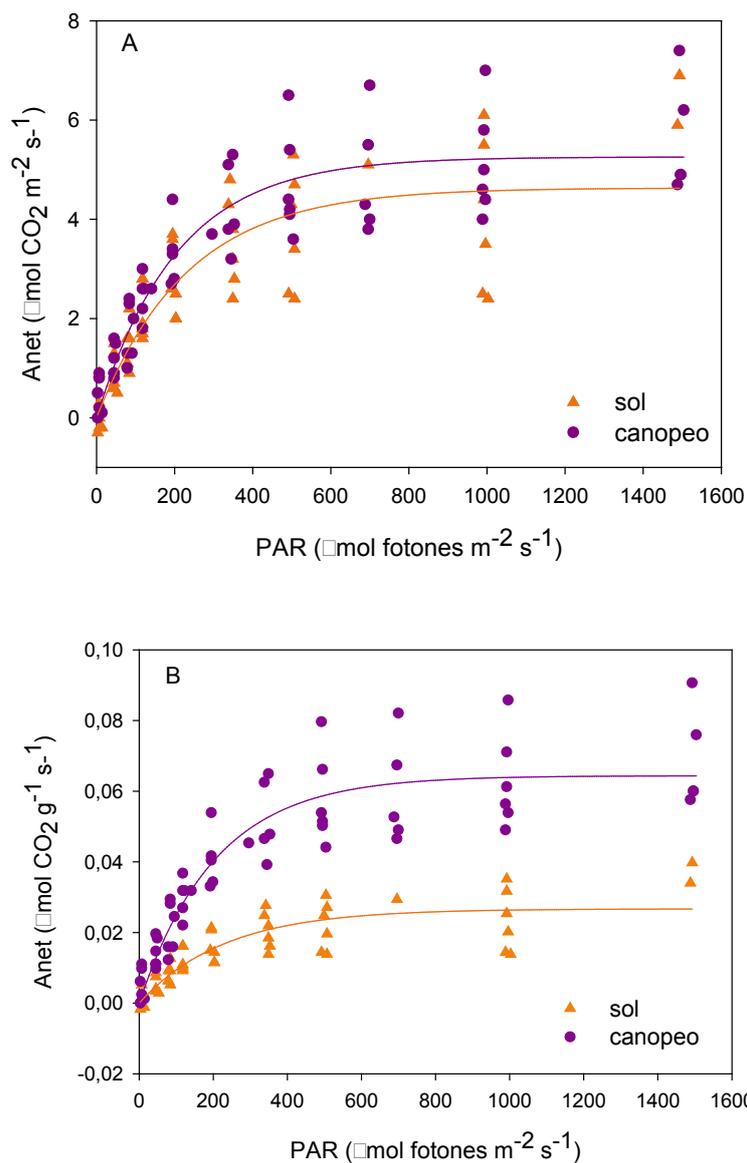


Figura 10. Curva de respuesta de la fotosíntesis neta a diferentes condiciones de PAR de hojas de plantas creciendo a la luz y bajo canopeo: A) expresado por unidad de área foliar y B) expresado por peso de hoja.

Tabla 1. Valores de medias obtenidas para Respiración mitocondrial aparente (Rm), Punto de compensación lumínico (PC luz) y Capacidad fotosintética (Asat) para los tratamientos sol y canopeo. Medias con letra común no son significativamente diferentes.

Tratamientos	Sol	Canopeo
Rm	0,21 (a)	0,05 (a)
PC luz	10,23 (a)	1,73 (a)
Asat	4,27 (a)	5,43 (a)

En plantas de cancharana en estado juvenil medidas a lo largo del año las curvas de respuesta de fotosíntesis a la luz fueron diferentes entre julio y febrero (Galvao, 1986). Podemos asumir que febrero y julio son los meses de mayor y menor irradiancia respectivamente. Bajo esta asunción, se podrían comparar los resultados de ambos experimentos. En nuestro experimento, la condición lumínica no modificó las curvas de respuesta, mientras que en el ensayo de Galvao (1986) se observó diferencia entre curvas de diferentes meses. La curva de julio se asemeja al de una planta aclimatada a la sombra (bajo punto de compensación lumínica, baja tasa de fotosíntesis neta a saturación y baja tasa respiratoria), mientras que la de febrero se asemeja a una curva típica de aclimatación a alta irradiancia. Las diferencias significativas en la respuesta a la fotosíntesis entre el mes de febrero y julio, pueden estar otorgadas no sólo por la intensidad y calidad de la luz que llega a las plantas sino también por la diferencia de temperatura entre ambos meses, las horas de luz y la edad de las plantas. Asimismo, en las plantas bajo canopeo, a diferencia de las que crecen bajo media sombra artificial, reciben haces de luz de alta irradiancia (*'sunflecks'*) que podrían inducir a que la planta tenga la capacidad de realizar fotosíntesis a altas irradiancias (Smith & Berry, 2013).

La tasa de transporte de electrones del fotosistema 2 (ETR) fue mayor para aquellas plantas ubicadas a sol pleno, sin embargo dichas plantas presentaron un menor rendimiento cuántico efectivo del PSII (ϕ PSII) respecto a las plantas bajo canopeo (Figura 11-A). Las plantas de sol acusaron una mayor eficiencia en el transporte de electrones al caer la tarde coincidiendo este momento con una disminución en la ETR, lo que nos estaría indicando que durante las horas de mayor irradiancia, las plantas de sol no pueden canalizar la totalidad de la luz que les llega, sin embargo estas fijan mayor cantidad de fotoasimilados que las plantas de sombra (figura 14).

En el cálculo de ETR, el equipo de medición asume una absortancia de 0,83. Las plantas aclimatadas a la sombra poseen hojas más delgadas y con mayor concentración de clorofilas que las hojas de las plantas aclimatadas al sol pleno (Figura 8-A y 9-A). Por lo tanto, es esperable que la absortancia de las hojas de sol y de bajo canopeo sea diferente. Para evaluar si un cambio en la absortancia modifica sustancialmente los resultados obtenidos (que las plantas de sol tienen mayor ETR que las plantas de canopeo), se realizó el cálculo de ETR asumiendo una absortancia de 0,50, un valor muy inferior al esperable aún en hojas de sol (Tabla 2). Con estos cálculos se observa que ETR de las plantas bajo canopeo es menor al de las plantas de sol, aún con una reducción de la absortancia de las plantas de sol a niveles tan

bajos como 0,5. Por lo tanto, modificaciones intermedias en la absorptancia no alterarían los resultados.

Tabla 2. Análisis de sensibilidad de ETR al variar la absorptancia de 0,83 a 0,5.

Test: Duncan Alfa=0,05

Error: 376,6185 gl: 364

Tratamiento	ETR	Medias	n	E.E.	
canopeo	ETR 0,5	12,97	95	2,00	A
canopeo	ETR 0,83	21,79	95	2,00	B
sol	ETR 0,5	30,00	95	2,00	C
sol	ETR 0,83	50,37	95	2,00	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

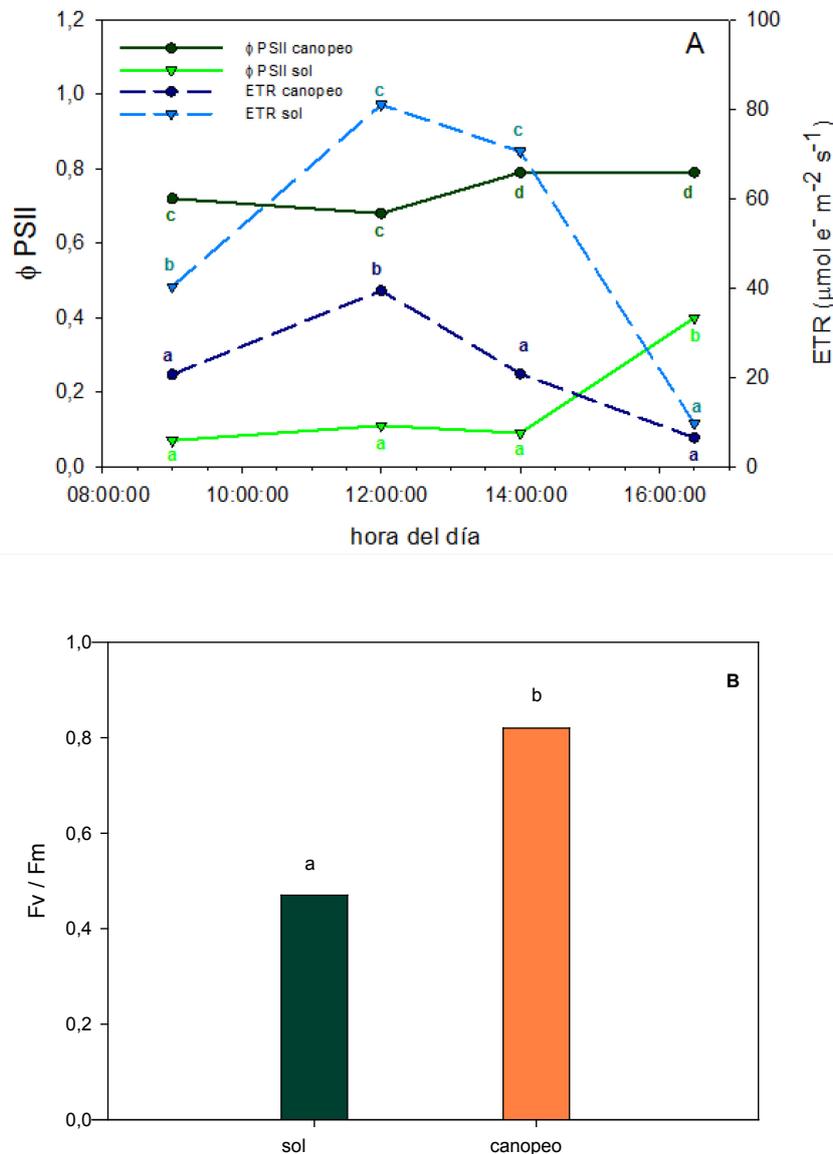


Figura 11. A) Rendimiento cuántico del fotosistema 2 (ϕ PSII) y tasa de transporte de electrones (ETR) en plantas de cancharanas bajo sol y bajo canopeo, B) Relación Fv/Fm en plantas de cancharana a sol pleno (Sol) y debajo del canopeo (canopeo). Medición realizada a las 17 hs, durante el mes de mayo.

El rendimiento cuántico máximo del fotosistema 2 (F_v/F_m) a la oscuridad fue significativamente diferente entre tratamientos (Figura 11-B). Caídas en este parámetro sugieren daño en el aparato fotosintético de las plantas aunque esta disminución podría deberse a otras respuestas fisiológicas de las plantas. Las plantas creciendo bajo canopeo presentaron una mejor capacidad para captar la luz recibida, cercana al 80%, mientras que para el tratamiento sol, la luz captada fue del 40%, dejando en evidencia un daño en el aparato fotosintético de las mismas (Figura 11-B). A pesar de esta disminución en la capacidad de realizar fotosíntesis, el daño no es muy grande, ya que las plantas logran fijar mayor cantidad de fotoasimilados.

Respuestas en el uso del agua

Las plantas jóvenes de cancharana presentaron diferencias significativas en la conductancia estomática (g_s) entre tratamientos en algunas horas del día (Figura 12). Las plantas a sol pleno mantuvieron una conductancia estomática constante a lo largo del día, mientras que para las plantas ubicadas bajo canopeo la conductancia estomática fue alta en horarios cercanos al mediodía y decayó al atardecer. Estos resultados nos estarían indicando que las plantas de sol mantienen los estomas parcialmente abiertos durante todo el día para realizar fotosíntesis, pero sufren una deshidratación parcial, reflejada en una disminución del potencial hídrico al mediodía a valores cercanos a -1 MPa con respecto a valores más cercanos a cero a la mañana temprano (Figura 12). Ya que las curvas de potencial- contenido relativo de agua (CRA) es poco probable que se modifiquen en el transcurso de un día, asumimos que la reducción en el potencial hídrico implica una reducción en el CRA, es decir, una deshidratación. Contrariamente, el potencial hídrico de las hojas bajo canopeo se mantuvo cercano a cero y constante a lo largo del día. Al caer el sol las plantas recuperan su estado hídrico acercando su potencial hídrico a valores cercanos a cero (Figura 12). Una respuesta similar se observó en plantas jóvenes de *Cupania vernalis* ('camboatá') bajo media sombra con un 70% de reducción de luz que exhibieron menor conductancia estomática que las plantas expuestas a sol pleno a las 9 de la mañana (Lima et al., 2005). Si se comparan especies, las plantas de bajo canopeo aclimatadas a bajas irradiancias poseen menor conductancia estomática que las especies heliófitas aclimatadas a sol pleno (Delagrange et al., 2004; Siegert & Levia, 2011). Sin embargo, en estos experimentos no se evalúa cada especie en las dos condiciones lumínicas, sino que la especie y el ambiente covaría.

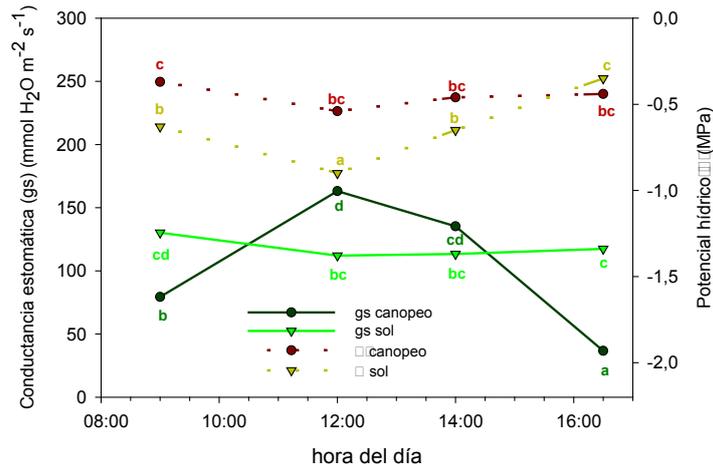


Figura 12. Conductancia estomática (gs) ($\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y potencial hídrico de las hojas (ψ) (MPa) en plantas de cancharana aclimatadas a sol pleno y bajo canopeo.

El déficit de saturación de agua de la atmósfera motoriza el movimiento de agua desde los tejidos vegetales hacia la atmósfera. El agua que sale en forma gaseosa desde el mesófilo a través de los estomas hacia la atmósfera se denomina transpiración. La mayor transpiración (cuando es estimada con un porómetro) es medida en una porción de hoja y puede estar reflejando mayor demanda de la atmósfera, mayor grado de apertura estomática o mayor número de estomas. En el caso de las plantas aclimatadas al sol el aumento en transpiración no se debe sólo a la mayor demanda evapotranspirativa del ambiente (Figura 5), sino que también se explica por cambios en la anatomía de las hojas. La densidad estomática fue mayor en las hojas de sol, con una media cercana a los 100 estomas por mm^2 , mientras que para las plantas del tratamiento bajo canopeo la densidad estomática se redujo a la mitad (Figura 13-A). Si bien en el número de células epidérmicas fue mayor en las plantas a altas irradiancias que en las de sombra (1315 vs 1194 respectivamente) (Figura 13-B), el aumento en la densidad estomática no se debe a una reducción en la expansión celular de las hojas de sol, porque el Índice Estomático (IE) fue mayor (8,3 para el tratamiento de sol y 4,5 para el de canopeo).

La reducción en el potencial hídrico al mediodía en las plantas de sol es una respuesta observada en varias especies, como una consecuencia de la mayor demanda evapotranspirativa y que las plantas no cierran completamente los estomas. El potencial hídrico de plantas jóvenes de *Carapa guianensis* medido en diciembre y enero, disminuyó desde el amanecer hasta alcanzar un mínimo de - 0,75 MPa cerca del mediodía y luego sus valores fueron aumentando al caer la tarde (Fernandes-da

Costa & Marengo, 2007). Si bien Fernandes y Marengo (2007) trabajaron con otra especie y no compararon distintas condiciones de irradiancia, la época en la que se llevó a cabo la medición podría asumirse como una condición de alta irradiancia ya que se desarrolló en la estación estival.

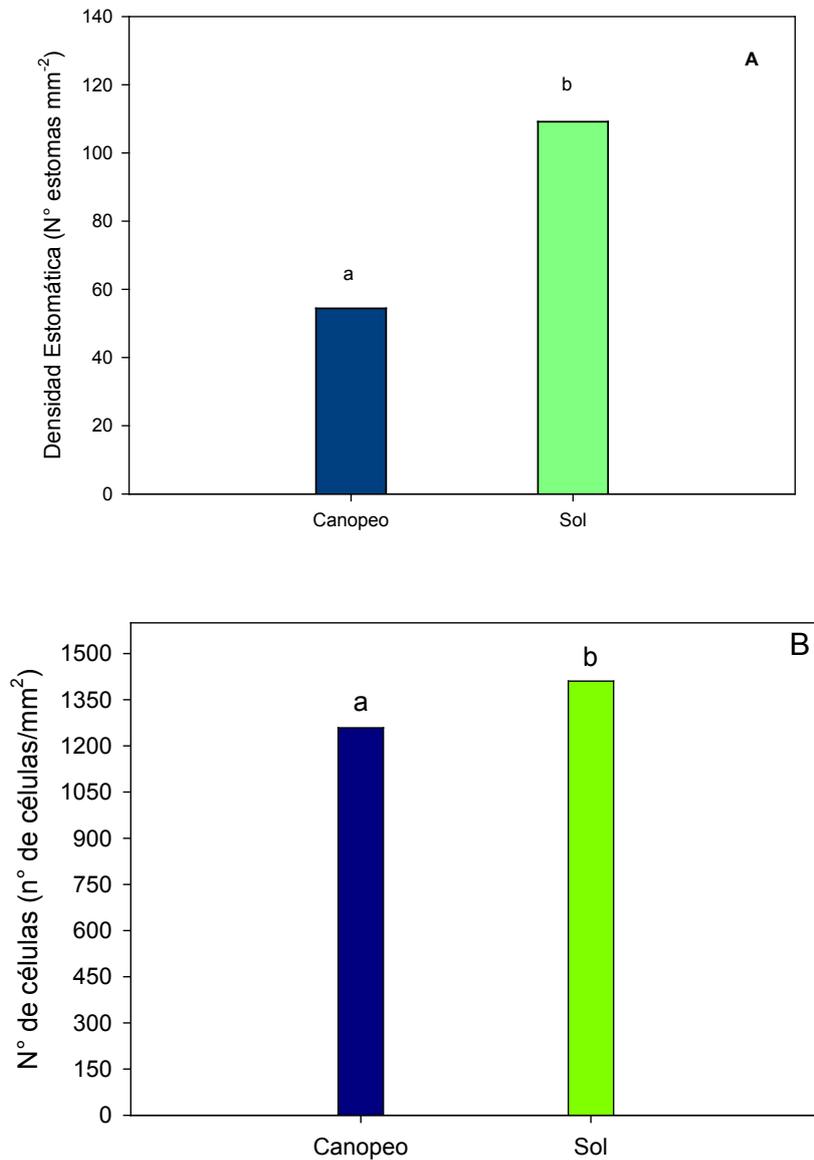


Figura 13. A) Densidad estomática (n° de estomas mm⁻²) en cara abaxial de hojas de plantas de cancharana bajo canopeo y bajo sol. B) N° de células (n° de células mm⁻²) en cara adaxial de hojas de plantas creciendo a sol pleno y bajo canopeo.

La conductancia (K) y la conductividad hidráulica (kh) de la planta entera así como de los diferentes órganos, no arrojaron diferencias significativas entre tratamientos (Figura 14). Esto nos indica que la capacidad conductiva general de la planta es igual en las

plantas aclimatadas a las 2 condiciones lumínicas, o sea que si se expone a las plantas a igual disponibilidad de agua, el agua que fluiría por las plantas sería la misma. Sin embargo al normalizar las conductancias por el tamaño del sistema conductivo, ya sea por peso seco o por AF, hay una evidente diferencia significativa entre tratamientos en algunos órganos (Tabla 3). Esto nos indica que las plantas tienen la capacidad de regular la conductividad de la planta en los diferentes órganos. Por ejemplo, las plantas de sombra presentaron mayor conductividad hídrica específica en las raíces para abastecer de agua a la parte aérea. En cambio, las plantas de sol tienen la capacidad de generar hojas, pecíolos y tallos más conductivos y además generar mayor volumen de raíces para la absorción, sin la necesidad de aumentar su conductividad específica. A diferencia, las plantas de sombra no desarrollan mayor PS de raíces, pero logran aumentar la cantidad de agua que fluye por gramos de raíz, con menor inversión de materia seca.

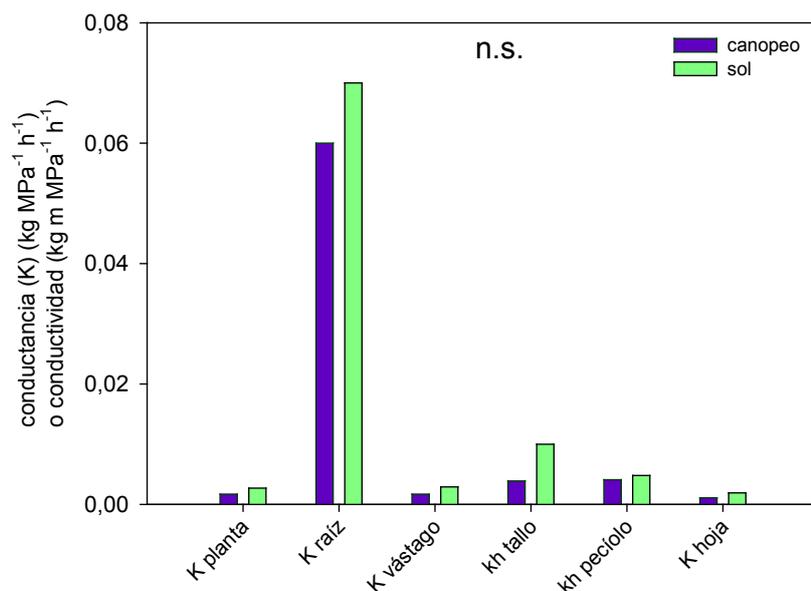


Figura 14. Conductancia Hidráulica (K) de la planta entera, la raíz, el vástago y la hoja y la Conductividad Hidráulica (kh) de tallo principal y peciolo de plantas ubicadas bajo canopeo y a sol pleno.

Si bien no se encontraron antecedentes referentes a la conductancias y conductividades hidráulicas para la especie, en *Cedrela fissilis* se observó un aumento en la conductividad del peciolo en plantas expuestas a irradiancias crecientes (Campanello, 2008), resultado consistente con el observado para nuestro ensayo.

Tabla 3. Valores medios de conductancias y conductividades normalizadas por el tamaño del sistema conductivo correspondiente a cada caso tanto en tratamiento sol y canopeo.

	Sol	Canopeo
Kplanta/PS_{total}	0,18 (a)	0,17 (a)
Kvástago/AF	0,12 (b)	0,02 (a)
ks tallo	194,54 (a)	210,54 (a)
kl tallo	0,2 (b)	0,04 (a)
ks pecíolo	718,44 (b)	289,88 (a)
kl pecíolo	0,59 (b)	0,14 (a)
Khoja/AF	0,22 (b)	0,04 (a)
Kraíz/PS_{raíz}	6,73 (b)	18,19 (a)

CONCLUSIÓN

Cabralea canjerana Mart. “Cancharana” es una especie plástica con respecto a su capacidad de aclimatación a diferentes niveles de cobertura, asociados con diferente disponibilidad de luz, agua en el suelo y demanda evapotranspirativa. Las plantas jóvenes pudieron aclimatarse a condiciones contrastantes de irradiancias, a sol pleno y bajo canopeo denso, mediante modificaciones morfológicas y fisiológicas que realizan a mediano plazo para poder tolerar tanto el estrés hídrico como lumínico al que se someten. De esta manera las plantas jóvenes de cancharana que crecen naturalmente en el bosque o las que se implanten a modo de enriquecimiento del bosque nativo, podrían establecerse en claros (*gaps*) que se generen ya sea por cortas determinadas por el manejo del bosque o por la caída natural de árboles o en lugares donde se encuentre un dosel arbóreo denso. A su vez, las plantas aclimatadas a bajas irradiancias tienen la capacidad de utilizar alta densidad de flujo fotónico fotosintético, por lo que posiblemente no sean dañadas severamente si se remueve totalmente el dosel que las protege.

RECOMENDACIONES DE MANEJO

- La regeneración natural podría establecerse en el bosque nativo en micrositios con diferente grado de cobertura (desde el centro de un claro hasta bajo canopy muy denso).
- La aclimatación en la morfología y la fisiología de la planta será diferente en cada micrositio, pero el crecimiento será similar.
- Dada la capacidad de aclimatación a ambientes contrastantes, posiblemente toleren cambios en el nivel de cobertura (apertura de claros o cierre de canopy). Por lo tanto, la regeneración tolerará tanto la competencia del sotobosque como un aumento en la irradiación producto de la remoción del dosel o de la limpieza del sotobosque.
- El enriquecimiento por plantación puede realizarse en claros o bajo dosel. Al igual que lo indicado para regeneración en bosque nativo, la limpieza del sotobosque no será necesaria ni perjudicial.
- La regeneración de la especie tolerará los ambientes producidos en el bosque tanto si se decide un manejo por tala rasa, aclareos progresivos o entresaca.

BIBLIOGRAFÍA

Cabrera, A.L. 1976. Regiones fitogeográficas argentinas, 2a ed. Editorial ACME SACI, Buenos Aires, Argentina. 85pp.

Campanello, P.I., Gatti, M.G., & Goldstein, G. 2008. Coordination between water-transport efficiency and photosynthetic capacity in canopy tree species at different growth irradiances. *Tree physiology*. pp:85-94.

Carvalho, P. E. R. 1996. Influência da intensidade luminosa e do substrato no crescimento, no conteúdo de clorofila e na fotossíntese de *Cabralea canjerana* (Vell.) *brasiliense* Camb. e *Centrolobium robustum* (Vell.) Mart. ex Benth., na fase juvenil. M. Sc. Tesis. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, Brasil. 151pp.

Delagrange, S., Messier, C., Lechowicz, M.J., Dizengremel, P. 2004. Physiological, morphological and allocational plasticity in understory deciduous trees: importance of plant size and light availability. *Tree Physiology*. Victoria, Canadá. pp:775-784.

Di Bitetti, M.S., Placci, G., & Dietz, L.A. 2003. Una Visión de Biodiversidad para la Ecorregión del Bosque Atlántico del Alto Paraná: Diseño de un Paisaje para la Conservación de la Biodiversidad y prioridades para las acciones de conservación. World Wildlife Fund. Washington, D.C. 156pp.

Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., Gonzalez, L., Tablada, M. & Robledo, C.W. 2013. InfoStat versión 2013. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>

Fernandes da Costa, G. & Marengo, R.A. 2007. Fotossíntese, condutância estomática e potencial hídrico foliar em árvores jovens de andiroba (*Carapa guianensis*). *Acta Amazónica* vol. 37. pp: 229-234.

Frangi, J., Arturi, M. Goya, J.F., Vaccaro, S. & Píccolo, G. 2005. La sucesión secundaria del bosque subtropical y su importancia ecológica y agrícola en el centro y sur de Misiones. En: *Ecología y Manejo de los Bosques de Argentina*. Arturi, M., Frangi, J., & Goya, J.F. (eds). Ed. Universidad Nacional de La Plata (EDULP). La Plata. pp:1-11.

Galvao, F. 1986. Variação sazonal da fotossíntese líquida e respiração de *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart., *Ilex paraguariensis* St. Hill. e *Podocarpus lambertii* Klotz em

função da intensidade luminosa e temperatura. M. Sc. Tesis. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, Brasil. 116pp.

Givnish TJ .1988. Adaptation to Sun and Shade: a whole-plant perspective. Aust J Plant Physiol 15:63–92.

Inskeep WP, Bloom PR .1985. Extinction Coefficients of Chlorophyll a and b in N,N-Dimethylformamide and 80% Acetone. Plant Physiol 77:483–485.

Lamprecht, H. 1990. Silvicultura en los Trópicos. Agencia Alemana de Cooperación Técnica (GTZ). Eschborn. Alemania. pp:69-74.

Lima-Junior, E.C., Alvarenga, A.A., Castro, E.M., Vieira, C.V., Oliveira, H.M. 2005. Trocas gasosas, características das folhas e crescimento de plantas jovens de *Cupania vernalis* Camb. submetidas a diferentes níveis de sombreamento. Ciência Rural. pp:1092-1097.

Melcher PJ, Michele Holbrook N, Burns MJ, et al. 2012. Measurements of stem xylem hydraulic conductivity in the laboratory and field. Methods Ecol Evol 3:685–694. doi: 10.1111/j.2041-210X.2012.00204.x

Pinazo, M., Moscovich, F., Dummel, C & Knebel, O. 2009. Patrón Espacial de la Regeneración de Especies Arbóreas. Ecología Austral vol. 19. Montecarlo. pp:139-148.

Ramírez-Valiente, J. A., Sánchez-Gómez, D., Aranda, I., & Valladares, F. 2010. Phenotypic plasticity and local adaptation in leaf ecophysiological traits of 13 contrasting cork oak populations under different water availabilities. Tree physiology vol. 30. pp:618-630.

Ríos, R. C., Galvão, F., & Curcio, G. R. 2008. Variaciones estructurales de la vegetación arbórea en tres ambientes de una selva con Araucaria en Misiones, Argentina. Floresta vol. 38. Curitiba. pp:743-756.

Schüssler, G. 2006. Dinâmica populacional e aspectos da regeneração natural de Cabralea Canjerana (Vell) Mart. (Meliaceae) em uma zona de contato entre as Florestas Ombrófilas Montanas. M. Sc. Tesis. Universidade federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil. 114pp.

Siegert, C.M. & Levia, D.F. 2011. Stomatal conductance and transpiration of co-occurring seedlings with varying shade tolerance. Trees. pp:1091-1102.

- Smith, W.K. & Berry, Z.C. 2013. Sunflecks?. *Tree Physiology*. pp:233-237.
- Sousa-Silva, J. C., Salgado, M. D. S., Felfili, J. M., Rezende, A. V., & Franco, A. C. 1999. Desenvolvimento inicial de *Cabralea canjerana* Saldanha em diferentes condicoes de luz. *Boletim Herbario Ezechias Paulo Heringer. Brasilia*. pp:80-89.
- Tambussi, E.A. & Graciano, C. 2010. Capítulo 8. Técnicas de medición de intercambio de gases en plantas: curvas de respuesta de la fotosíntesis a la luz y al CO₂. En: Técnicas de medición en ecofisiología vegetal: conceptos y procedimientos. M.E. Fernández & J. Gyenge (eds).Ed. INTA. Buenos Aires. pp:117-128.
- Tambussi, E.A. & Graciano, C. 2010. Capítulo 9. La fluorescencia modulada de la clorofila: método del pulso saturante. En: Técnicas de medición en ecofisiología vegetal: conceptos y procedimientos. M.E. Fernández & J. Gyenge (eds). Ed. INTA. Buenos Aires. pp:129-140.
- Tyree, M.T. & Zimmermann, M. H. 2002. Xylem structure and the ascent of sap - 2nd ed. Springer-Verlag, Berlin. 278 pp.
- Valladares, F. & Niinemets, Ü. 2008. Shade tolerance, a key plant feature of complex nature and consequences. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. pp:237-57.
- Valladares, F., Aranda, I. & Sánchez-Gómez, D. 2004. Capítulo 12. La luz como factor ecológico y evolutivo para las plantas y su interacción con el agua. En: Valladares F (ed) Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante. Ed. EGRAF S.A., Madrid, España, pp:335-369.
- Varela, S., Caballé, G., Curetti, M. & Portela, J. 2010. Capitulo 7. Sistemas IRGA en la medición de intercambio gaseoso. En: Técnicas de medición en ecología vegetal: conceptos y procedimientos. Fernández, M. E. & Gyenge, J. E. (eds). Ed. INTA. Buenos Aires. pp:89-108.
- Walters, R. G. 2005. Towards an understanding of photosynthetic acclimation. *Journal of Experimental Botany*, vol. 56. pp:435-447.

ACTIVIDADES OPTATIVAS REALIZADAS Y SU VINCULACIÓN CON EL TRABAJO FINAL

Los cursos y pasantías que realicé durante la carrera me permitieron adquirir conocimiento teórico, experiencia en la práctica así como también de las problemáticas socio-económicas existentes en el medio. Todos ellos me llevaron a integrar, junto con los conocimientos adquiridos durante los cursos regulares, la metodología científica en pos de una problemática de la comunidad, a establecer una visión con miras hacia un desarrollo sustentable aplicando la ecofisiología de especies forestales para el estudio de especies de alto valor maderero para la conservación y uso sustentable y sostenible en el tiempo de los recursos del bosque. Asimismo, también me permitieron enriquecerme de herramientas y técnicas usadas en fisiología vegetal, así como también de fundamentos para llevar a delante el trabajo final.

Actividades Realizadas:

Curso “Micropropagación de plantas”. FAGRO, UdelaR. 68 HS. De Mayo a Junio de 2015.

Curso “Bosques y Sociedad”. FAGRO, UdelaR. 30 HS. Mayo de 2015.

Curso “Biotecnología, cultivos transgénicos y Bioseguridad”. FAGRO, UdelaR. 100 HS. Abril de 2015.

Curso “Introducción a la Dendrocronología”. LISEA-UNLP. 30 HS. Marzo de 2014.

Curso “Diseño Experimental” FCAYF. 60 HS. De Septiembre a Diciembre de 2013.

Curso “Cultivos en Hidroponía” INFIVE-CONICET. 42 HS. De octubre a diciembre de 2012.

PASANTIA “Caracteres fisiológicos que contribuyen a la productividad y la tolerancia al estrés hídrico en Salicáceas” La Plata, Buenos aires Argentina, Instituto de Fisiología Vegetal (INFIVE-CONICET). Responsable académico: Dra. Luquez Virginia Martha Cristina y Dra. Rodríguez María Emilia. Septiembre de 2014 a Febrero de 2015.

PASANTIA “Silvicultura de Algarrobos (*Prosopis* ssp.) en el noroeste Argentino”. Salta, Argentina. Institución financiadora: FCAYF, UNLP. Responsable académico: Achinelli Fabio. Julio 2014.

PASANTIA “Diagnostico a partir de vivencia con grupos de pequeños productores del NE de la provincia de Misiones”. Institución financiadora: FCAYF, UNLP. Responsable académico: Nora Tamagno. Febrero de 2011.