

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

ESTUDIO DE VARIABLES HÍDRICAS Y FUNCIONALES EN CLONES  
DE *Eucalyptus grandis* E HÍBRIDOS INTERESPECÍFICOS

por

Rodrigo Sebastián ARTHUS BACOVICH

TESIS presentada como uno de  
los requisitos para obtener el  
título de Ingeniero Agrónomo

MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2019

Tesis aprobada por:

Director:

---

Ing. Agr. (Mag.) José Gándara

---

Ing. Agr. (MSc.) Luis Viega

---

Ing. Agr. (Mag.) Silvia Ross

Fecha: 23 de julio de 2019

Autor:

---

Rodrigo Sebastián Arthus Bacovich

## AGRADECIMIENTOS

A mi familia, especialmente mis padres, Aldo y Sandra, los pilares fundamentales en mi vida, que, sin su apoyo y motivación incondicional, nada de esto hubiera sucedido.

A mis abuelos por siempre estar presentes y brindarme ese aliento para poder seguir, a mi novia, que siempre supo estar dando ánimos.

A mi hermano, que a pesar de todo lo que pasamos juntos, siempre estuvo para brindar ese amor que tanto se necesita.

A mis tutores, en especial a José por ser un gran compañero en este proceso, a Silvia y Luis por ayudarme a crecer tanto profesionalmente y como persona y a todos los compañeros de cátedra.

A la Empresa Forestal Lumin S.A por brindar la posibilidad de llevar a cabo este trabajo de investigación.

A todos ellos, les dedico con cariño y mucho amor este trabajo.

## TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES.....	VI
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
1.1. OBJETIVOS .....	1
1.1.1. <u>Objetivo general</u> .....	1
1.1.2. <u>Objetivos específicos</u> .....	2
<b>2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>3</b>
2.1. CARACTERÍSTICAS DEL GÉNERO <i>Eucalyptus</i> .....	3
2.2. PARÁMETROS HÍDRICOS.....	3
2.2.1. <u>Conductancia estomática</u> .....	4
2.2.2. <u>Contenido relativo de agua</u> .....	4
2.2.3. <u>Potencial hídrico</u> .....	4
2.2.4. <u>Curvas de presión-volumen</u> .....	6
2.2.5. <u>Cavitación, embolia y transpiración</u> .....	6
2.2.6. <u>Vulnerabilidad a la cavitación</u> .....	7
2.3. VARIABLES HÍDRICO- FUNCIONALES .....	7
2.3.1. <u>Conductividad hidráulica</u> .....	7
2.3.2. <u>Conductividad hidráulica específica</u> .....	8
2.3.3. <u>Conductividad hidráulica foliar específica</u> .....	8
2.3.4. <u>Pérdida porcentual de conductividad hidráulica</u> .....	8
2.4. ANATOMÍA DE MADERA .....	9
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>10</b>
3.1. INSTALACIÓN DEL ENSAYO.....	10
3.2. ESTUDIO DEL ESTADO HÍDRICO Y VARIABLES FUNCIONALES .....	10
3.2.1. <u>Potencial hídrico</u> .....	10
3.2.2. <u>Curvas presión-volumen</u> .....	10
3.2.3. <u>Conductancia estomática</u> .....	11
3.2.4. <u>Contenido relativo de agua</u> .....	11
3.2.5. <u>Conductividad hidráulica</u> .....	11
3.2.6. <u>Área foliar</u> .....	12
3.2.7. <u>Anatomía de madera</u> .....	12
3.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	13
3.3.1. <u>Análisis de varianza</u> .....	13
3.3.2. <u>Modelo regresión</u> .....	14
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>15</b>
4.1. ESTADO HÍDRICO .....	15

4.1.1. <u>Potencial hídrico, conductancia estomática y contenido relativo de agua</u> .....	15
4.1.2. <u>Curvas presión volumen</u> .....	16
4.2. <u>CONDUCTIVIDAD HIDRÁULICA</u> .....	17
4.2.1. <u>Conductividad hidráulica específica y foliar específica</u> .....	17
4.2.2. <u>Diámetro de vasos xilemáticos</u> .....	18
5. <u>DISCUSIÓN</u> .....	20
5.1. <u>ESTADO HÍDRICO</u> .....	20
5.1.1. <u>Potencial hídrico y apertura estomática</u> .....	20
5.1.2. <u>Contenido relativo de agua</u> .....	20
5.1.3. <u>Curvas de presión-volumen</u> .....	21
5.2. <u>CONDUCTIVIDAD HIDRÁULICA</u> .....	21
6. <u>CONCLUSIONES</u> .....	23
7. <u>RESUMEN</u> .....	24
8. <u>SUMMARY</u> .....	25
9. <u>BIBLIOGRAFÍA</u> .....	26

## LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES

Cuadro No.	Página
1. Conductividad hidráulica específica, foliar específica y diámetro de vasos xilemáticos para los clones ABH17, ABH23, GC, GT. ....	18
Figura No.	
1. Variación de la conductancia estomática (gs) en función del potencial hídrico ( $\Psi_{wt}$ ) para los clones ABH17 (A), ABH23 (B), GC (C) y GT (D). ....	15
2. Variación del contenido relativo de agua (CRA) en función del potencial hídrico ( $\Psi_{wt}$ ) para los clones ABH17 (A), ABH23 (B), GC (C) y GT (D). ....	16
3. Curvas presión-volumen, recíproco del potencial hídrico ( $-1/\Psi_{wt}$ ) en función del peso de agua acumulado (mg) para los clones ABH17 (A), ABH23 (B), GC (C) y GT (D). ....	17
4. Corte transversal de ramas, microfotografías (10x) obtenidas en los clones ABH17 (A), ABH23 (B), GC (C) y GT (D) ....	19

## 1. INTRODUCCIÓN

El género *Eucalyptus* es nativo de Australia y contiene más de 700 especies cuyo hábitat comprende un amplio rango de condiciones ambientales. La forestación con estas especies cubre 22 millones de hectáreas en más de 90 países y es el género con mayor difusión a nivel mundial (Dhahri et al., 2018). En Uruguay, la forestación ha presentado un gran avance, principalmente debido a incentivos propuestos en la Ley Forestal de 1987 (No. 15.939). Las especies con mayor proporción en el territorio son *E. dunnii* seguido por el *E. grandis* (MGAP. DIEA, 2018). No obstante, se analiza la implantación de híbridos entre *E. grandis* y eucaliptos colorados (*E. camaldulensis* y *E. tereticornis*), los cuales combinan las características productivas del primero con la rusticidad y aclimatación al estrés de estos últimos.

Frente al cambio climático presente en los últimos años, surge la necesidad de estudiar con mayor profundidad cómo los árboles se adaptan a estas nuevas condiciones ambientales. Existe poca información sobre cómo se modifica la estructura del árbol para entender los mecanismos que operan frente a los eventos de falta de agua en el suelo y posterior daño a los tejidos de conducción (xilema). Una forma de conocer más sobre esta temática es a través del estudio de variables funcionales asociadas al abastecimiento de agua al follaje. El estudio de dichas variables permite comprender cómo logran los árboles conducir de forma eficiente el agua desde las raíces hasta las hojas y así maximizar la producción de biomasa. De esta manera se puede elegir los mejores clones según su capacidad de respuesta a las nuevas condiciones ambientales.

Sin embargo, es fundamental caracterizar el comportamiento de clones promisorios sin limitantes hídricas ni nutricionales, creciendo en invernáculo. La información generada será útil para posteriormente analizar los efectos de diferentes factores ambientales.

### 1.1. OBJETIVOS

#### 1.1.1. Objetivo general

Identificar si existen diferencias en cuatro clones de *Eucalyptus grandis* (ABH17 y ABH23), *E. grandis x tereticornis* (GT) y *E. grandis x camaldulensis* (GC) en función de variables hídrico-funcionales.

### 1.1.2. Objetivos específicos

1- Estudiar la conductividad hidráulica (kh), hidráulica específica (ks) y foliar específica (kl) en plantas de 18 meses de *Eucalyptus grandis*, *E. grandis x tereticornis* y *E. grandis x camaldulensis*.

2- Analizar los efectos de la altura (ubicación en la ortóstica) y orientación de ramas (Norte y Sur) en variables funcionales.

3- Estimar el módulo de elasticidad de pared celular a partir de curvas de presión-volumen, analizando las diferencias entre clones.

4- Estudiar caracteres anatómicos de la madera (diámetro de vasos) y analizar su relación con la información provista por las variables hídrico-funcionales.

## 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. CARACTERÍSTICAS DEL GÉNERO *Eucalyptus*

El género *Eucalyptus* cuenta con aproximadamente 700 especies y se distribuye naturalmente en una amplia región de Oceanía, presentando una gran capacidad adaptativa a diferentes condiciones ambientales (Brussa, 1994). Por esta razón, las empresas forestales evalúan el uso de híbridos interespecíficos, principalmente entre *E. grandis* y eucaliptos colorados (*E. camaldulensis* y *E. tereticornis*), debido que complementan la aptitud maderable de *E. grandis* con la rusticidad de estos últimos.

*Eucalyptus grandis* tiene su origen en el continente australiano, esta especie crece en zonas húmedas, templadas y cálidas, desde el nivel del mar hasta aproximadamente 1000 m. Es un árbol con follaje de textura gruesa y corteza caduca, persistente en la base. Crece en áreas con temperaturas máximas entre 24 a 30 °C y mínimas entre 3 a 8 °C. Es una especie con mucha difusión a nivel mundial dada su conformación y velocidad de crecimiento (Brussa, 1994).

*Eucalyptus tereticornis* es natural de Papúa-Nueva Guinea y las regiones aledañas, crece desde el nivel del mar hasta los 1800 m con rango de temperaturas promedios entre 1 y 36 °C. Presenta una amplia copa, hojas péndulas y corteza caduca. Se desarrolla en zonas con regímenes pluviométricos muy variables (Brussa, 1994).

*Eucalyptus camaldulensis* es la especie de mayor distribución en Australia, creciendo en un rango de temperatura promedio de 3 a 40 °C y precipitaciones entre 150 y 600 mm anuales. Es un árbol de gran porte con follaje péndulo, corteza caduca y hojas finas (Brussa, 1994).

### 2.2. PARÁMETROS HÍDRICOS

El estudio del estado hídrico brinda información acerca de la regulación del intercambio gaseoso y de la capacidad de crecimiento de las plantas, especialmente si se considera el escenario de incremento de la variabilidad climática en la región (Linderman et al., 2013). Existen parámetros fisiológicos, a partir de los cuales es posible caracterizar el estado hídrico de los tejidos y comprender cómo operan en conjunto los diferentes mecanismos en respuesta al estrés.

### 2.2.1. Conductancia estomática

La apertura estomática es la forma más importante de regulación del estado hídrico ya que determina la capacidad de intercambio gaseoso de las plantas (ingreso de CO<sub>2</sub> y salida de vapor de H<sub>2</sub>O). Se mide mediante la conductancia estomática (gs) al vapor de agua o al CO<sub>2</sub>, y depende directamente de la concentración de CO<sub>2</sub>, presión de vapor de agua del aire (Dpv) y de la irradiancia (luz fotosintéticamente activa, PAR) (Taiz y Zeiger, 2010). Un aumento de gs implica mayor intercambio gaseoso (fijación de CO<sub>2</sub>) pero un aumento también en la transpiración, por eso es de gran importancia un equilibrio entre una y otra. En *Eucalyptus* se reportaron valores entre 200 y 980 mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. Sin limitaciones hídricas, los valores se encuentran entre 440 mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> para *E. grandis*, 500 mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> para *E. camaldulensis* y 740 mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> para *E. tereticornis* (Whitehead y Beadle, 2004). White et al. (1999) también midieron conductancias en *E. camaldulensis* y *E. leucoxyton* en 3 años diferentes y de forma consecutiva. Los autores registraron 278 y 264 mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> respectivamente, en condiciones de 480mm de precipitación promedio anual.

### 2.2.2. Contenido relativo de agua

El contenido relativo de agua (CRA) representa el contenido hídrico que posee un tejido respecto a la máxima capacidad en hidratación completa (turgencia máxima). A diferencia del contenido hídrico, el CRA permite comparar el estado hídrico entre especies, independientemente de las condiciones ambientales del momento de muestreo.

### 2.2.3. Potencial hídrico

El potencial hídrico ( $\Psi_w$ ) expresa el trabajo que se necesita sobre una masa de agua para llevarla al estado energético de agua libre, y se expresa en unidades de presión (MPa, Azcón-Bieto y Talón, 2008). La ventaja de este parámetro, es que permite predecir el movimiento del agua en el sistema suelo-planta-atmosfera. Se trata de un parámetro muy utilizado en estudios ecofisiológicos. El agua ingresa a la planta por un gradiente de  $\Psi_w$  entre el suelo y la raíz, hasta que se introduce al cilindro vascular (ya sea por las vías apoplastica o simplástica). Una vez allí, el ascenso de la columna es posible gracias a la tensión que se genera en las paredes del mesófilo y que se trasmite vía xilema hasta las raíces. La teoría que explica este movimiento es la teoría coheso-tenso-traspiratoria (Taiz y Zeiger, 2015).

En ausencia de transpiración, el  $\Psi_w$  interno de la planta se equilibra (desaparece el gradiente interno) y finalmente, se iguala al  $\Psi_w$  del suelo. Este proceso se produce durante el período de oscuridad, es decir, cuando los estomas están cerrados. El  $\Psi_w$  de la planta previo al amanecer se denomina potencial hídrico base ( $\Psi_b$ ) y se aproxima al  $\Psi_w$  del suelo. Este último es más difícil de medir, y por ello

se usa el  $\Psi_b$  como estimador (Franks et al., 2007). El potencial hídrico celular es afectado por distintos potenciales, los cuales modifican la capacidad de realizar trabajo del agua. El  $\Psi_w$  está compuesto por el potencial osmótico ( $\Psi_\pi$ ), el potencial de presión ( $\Psi_p$ ), el potencial mátrico ( $\Psi_m$ ), y el potencial gravitacional ( $\Psi_g$ ).

El  $\Psi_\pi$  toma valores negativos, ya que refleja la capacidad de realizar trabajo que pierde el agua debido a la concentración de solutos presentes. En células plenamente hidratadas el  $\Psi_w$  es cercano a 0. Por otro lado, el valor del  $\Psi_p$  hace referencia a la presión ejercida por la pared celular sobre la vacuola, la cual eleva la presión del agua en su interior por encima de la presión atmosférica. Así, el agua gana capacidad de realizar trabajo y el  $\Psi_p$  toma valores mayores a cero. En células plasmolizadas (turgencia mínima) el  $\Psi_p$  es igual a cero. El único caso en el cual el  $\Psi_p < 0$  es en los conductos xilemáticos (vasos, traqueidas), ya que en ellos el agua está bajo tensión (presión negativa). Esta característica es fundamental para que ascienda la columna de agua hasta las hojas (Azcón-Bieto y Talon, 2008).

Los potenciales  $\Psi_m$  y  $\Psi_g$  solo se consideran en situaciones particulares. Por ejemplo, el  $\Psi_m$  únicamente es relevante en tejidos muy secos, porque refleja la energía que pierde el agua por estar adsorbida en las paredes celulares y macromoléculas del protoplasto. Generalmente, es muy poca el agua en estas condiciones y por eso es despreciable para calcular el  $\Psi_w$  celular. El potencial gravitatorio ( $\Psi_g$ ) está definido por la altura sobre un punto de referencia, la densidad del agua y la aceleración de la gravedad. Así, un incremento de 10 m de altura aumenta el potencial 0,1 MPa (Taiz y Zeiger, 2015).

Una forma rápida y sencilla de medir el  $\Psi_w$  es mediante el uso de una cámara de presión (Schölander et al., 1965). Este valor corresponde al  $\Psi_w$  del xilema y tejidos parenquimáticos, pero es posible estimar el potencial xilemático del tallo si se somborean las hojas previamente a la medición del potencial hídrico de la ramilla. Así, se evita que transpiren y su  $\Psi_w$  se equilibra con el potencial hídrico del tallo ( $\Psi_{wt}$ ), el cual tiene relación directa con la actividad transpiratoria, ya que cuando ésta aumenta, el  $\Psi_{wt}$  disminuye.

Existe gran variedad de condiciones bajo las cuales puede medirse el  $\Psi_w$ . Además del  $\Psi_b$ , el  $\Psi$  de mediodía ( $\Psi_{md}$ ) es un parámetro fisiológico de suma importancia, ya que las especies leñosas regulan su actividad transpiratoria en función del valor mínimo que éste tome. En este sentido, los eucaliptos se consideran anisohídricos (Lewis et al., 2011), es decir, especies capaces de transpirar activamente y por tanto, presentan valores de  $\Psi_{md}$  sumamente bajos. Se han reportado valores de -2,0 MPa en plantaciones de *E. grandis* (Mielke et al., 2000), pero en otras especies se observaron valores menores a -4,0 MPa (White et al., 2000).

#### 2.2.4. Curvas de presión-volumen

La curva de presión-volumen representa la relación entre el contenido de agua y el potencial hídrico de un tejido. A partir de ellas, pueden obtenerse parámetros tales como el módulo de elasticidad de pared ( $\epsilon$ ), potencial osmótico en turgencia máxima ( $\Psi\pi_{\max}$ ) y mínima ( $\Psi\pi_0$ ), contenido hídrico relativo en el punto de máxima turgencia ( $CRA_{\text{ppt}}$ ), contenido relativo de agua simplástica ( $S$ ) y el contenido relativo de agua liberada en el punto de máxima turgencia ( $S_{\text{ppt}}$ ). Estos parámetros permiten caracterizar las diferentes estrategias que utilizan las plantas frente al déficit hídrico (Levitt, 1980).

Existen dos métodos para la realización de las curvas. El método de transpiración libre (TL) donde el órgano a muestrear se seca en condiciones de laboratorio al aire libre y se registran progresivamente los cambios de peso para calcular su CRA en función del  $\Psi_w$  (Hinckley et al., 1980). Otro método de medición es a través de la “expresión de savia” (ES) (Cheung et al., 1975). Esta metodología implica que el brote pierda agua en función de los incrementos de presión que se realizan con la bomba de Schölander. El método TL simula mejor la pérdida de agua en forma natural, mientras que el método ES lo hace de manera forzada. Sin embargo, este último ofrece algunas ventajas, como por ejemplo, la rapidez de las mediciones. Los dos procedimientos se diferencian en la forma en que se determina el cambio en el contenido de agua simplástica entre dos mediciones sucesivas del potencial hídrico ( $\Psi$ ) (Corcuera, 2003).

#### 2.2.5. Cavitación, embolia y transpiración

La cavitación es la formación de pequeñas burbujas de aire dentro del líquido que esté sometido a tensión. Puede ocurrir por condiciones de déficit hídrico o por procesos de congelamiento-descongelamiento. La embolia es el proceso por el cual el flujo de agua es interrumpido por aire, y ello ocurre por la cavitación originada en el xilema debido a la tensión excesiva durante el proceso transpiratorio (Azcón-Bieto y Talón, 2008).

En árboles altos y con alta demanda atmosférica (elevados  $D_{pv}$ ), la tensión generada en el xilema puede superar la fuerza de cohesión de las moléculas de agua y se producen eventos de cavitación y embolia. Para minimizarlos, las especies leñosas regulan su actividad transpiratoria en función del potencial hídrico mínimo, por encima del cual opera la apertura de estomas (alta  $g_s$ ) y por debajo del mismo se cierran los estomas (baja  $g_s$ ). Esta señal está modulada por el  $\Psi_w$  y por la conductividad hidráulica del xilema, que responde a la tensión excesiva (Tyree y Ewers 1991, Brodribb et al. 2003, McDowell et al. 2008, Sperry et al. 2016).

La transpiración es la pérdida de agua de la planta en forma de vapor. La mayor parte de esta pérdida de agua se da en las hojas por difusión a través de los estomas. La intensidad del proceso depende de la diferencia del potencial hídrico  $\Psi_w$  entre la planta y el suelo. A nivel de hoja el proceso transpiratorio depende directamente del gradiente de concentración de vapor ( $C_{vap}$ ) del agua en estado gaseoso entre la hoja y la atmósfera y es inversamente proporcional a las resistencias presentes, como por ejemplo la cutícula, la estomática y la capa límite. El área foliar (AF) afecta la transpiración, ya que a mayor AF, mayor superficie a través de la cual se pierde agua. Es importante señalar que por cada molécula de  $CO_2$  que ingresa por los estomas, difunden 400 moléculas de agua hacia la atmósfera. Por ello, existe una competencia entre ambos procesos, orientada a maximizar la ganancia de carbono y minimizar la pérdida de agua (Pallardy 2008, Taiz y Zeiger 2015).

#### 2.2.6. Vulnerabilidad a la cavitación

La vulnerabilidad a la cavitación (VC) expresa cuán susceptible es el xilema a sufrir cavitación y embolia, y depende mayormente de la estructura xilemática (tipos de elementos de conducción) y densidad de la madera. En angiospermas, el xilema posee principalmente vasos, los cuales son de mayor diámetro que las traqueidas, y por tanto, tienen mayor probabilidad de cavitar y embolizarse. Por el contrario, las gimnospermas presentan traqueidas, que son células más cortas, de menor diámetro, y que además presentan puntuaciones areoladas. Dichas características reducen la vulnerabilidad a la cavitación, aunque también aumentan la resistencia al flujo de agua. No obstante, dentro de ambos grupos de plantas existe gran variabilidad de respuestas (Pallardy, 2008).

La VC se correlaciona negativamente con la densidad de la madera. Los elementos de sostén, como las fibras, presentan paredes con alto nivel de lignificación que le aportan mayor rigidez al xilema, y por lo tanto, menor VC (Hacke et al., 2001). Es decir, las fibras, son los elementos celulares que contribuyen al equilibrio necesario para soportar altas tensiones xilemáticas, característica muy importante durante condiciones de activa transpiración (Jacobsen et al., 2005).

### 2.3. VARIABLES HÍDRICO- FUNCIONALES

#### 2.3.1. Conductividad hidráulica

En leñosas el agua circula por una extensa red de tejidos y la resistencia que ofrecen es clave para comprender la dinámica del flujo de agua desde las raíces al follaje. Debido que las mismas son difíciles de medir, a menudo se calcula su inverso, la conductividad hidráulica ( $k_h$ ). Es una medida de la capacidad que tiene un tejido para conducir agua, y así poder mantener la turgencia necesaria para mantener abiertos los estomas y realizar el intercambio gaseoso (Hubbard et al., 2001).

La conductividad hidráulica se mide básicamente a través de dos metodologías, basadas en el pasaje de agua desde un depósito ubicado a una altura conocida. Por cada metro de altura de distancia entre la reserva de agua y la muestra, se genera una presión de 0,10 MPa (Sperry et al., 1998).

### 2.3.2. Conductividad hidráulica específica

Es la conductividad hidráulica ponderada por el área transversal del elemento conductivo, es una medida de porosidad de la rama. Esta variable nos permite comparar los valores entre individuos, independientemente de las dimensiones de la muestra. En *E. grandis* se han registrado valores de  $88 \text{ kg m}^{-1} \text{ MPa}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , mientras que en *E. viminalis* de  $53 \text{ kg.m}^{-1} \text{ MPa}^{-1} \text{ s}^{-1}$ . Además, se reportó para *E. globulus*, un valor medio de  $35 \text{ kg.m}^{-1} \text{ MPa}^{-1} \text{ s}^{-1}$  (Barotto et al., 2018). También es posible calcular la conductividad hidráulica teórica ( $k_t$ ) a partir del diámetro de los conductos xilemáticos, de acuerdo a la ley de Hagen-Poiseuille:

$$k_t = \sum_i (d_i^4 \pi \rho / 128 \eta w)$$

donde,  $d_i$  = diámetro del lumen del vaso,  $\rho$  = densidad del agua a 25°C ( $998 \text{ kg m}^{-3}$ ) y  $\eta W$  = viscosidad del agua ( $8,9 \times 10^{-10} \text{ MPa}$ ).

### 2.3.3. Conductividad hidráulica foliar específica

Es la conductividad hidráulica ponderada por el área foliar de la rama. Es una medida útil de la suficiencia hidráulica para suministrar agua a las hojas. Su principal uso es para calcular los gradientes de presión a lo largo del eje del árbol. También se puede calcular como el valor de Huber (área de xilema activo / área foliar) por la conductividad hidráulica específica. En angiospermas tiende a valores más altos que en gimnospermas, esto se debe a que generalmente los vasos de xilema en angiospermas son más anchos que las traqueidas de las gimnospermas. Este valor depende de factores que controlen  $k_h$ , así como también de los factores que hagan variar el área foliar. Se han registrado valores en angiospermas desde  $1 \times 10^{-5}$  hasta  $1 \times 10^{-2} (\text{kg s}^{-1} \text{ m MPa}^{-1})$  (Cruiziat et al., 2002).

### 2.3.4. Pérdida porcentual de conductividad hidráulica

La pérdida de conductividad hidráulica (PLC) refleja la vulnerabilidad a la cavitación, ya que relaciona la  $k_s$  nativa de la muestra con la  $k_s$  máxima (sin cavitación). Se calcula como:

$$(\%) \text{ PCL} = [1 - (k_s / k_{s_{\text{max}}})] 100$$

donde,  $k_s$  = conductividad hidráulica específica con embolismo nativo,  $k_{s_{max}}$  = conductividad hidráulica específica sin embolismo.

#### 2.4. ANATOMÍA DE MADERA

El xilema es el principal tejido conductor de agua en plantas vasculares. Es el encargado del transporte de solutos, cumple funciones de sostén y también en el almacenamiento de reservas. Es un tejido complejo que posee diferentes tipos de células, entre ellas las fibras que dan sostén al tejido, las células parenquimáticas que son las responsables de almacenar nutrientes, y los vasos xilemáticos y traqueidas, que son los elementos de conducción. En las angiospermas, el xilema es heteroxilado, a diferencia de las gimnospermas. Por lo tanto, existen diferentes tipos celulares que afectan la dinámica del agua y de solutos en la madera.

Los vasos y las traqueidas son células alargadas con paredes secundarias lignificadas y que pierden su protoplasto durante el desarrollo. Se diferencian en que las traqueidas tienen puntuaciones en las paredes, mientras que los vasos tienen placas de perforación, que pueden ser simples, múltiples, reticuladas o foraminadas. El transporte de agua y solutos se da a través de puntuaciones, ubicadas mayoritariamente en las paredes laterales. Los vasos más anchos tienen mayor probabilidad a sufrir cavitación y embolia. Asimismo, en la bibliografía se reporta que el parénquima juega un rol importante en la recuperación post-embolia, ya que provee los solutos necesarios para generar un gradiente osmótico y permitir que el agua entre en los vasos cavitados (Esau, 2006).

La conductividad hidráulica específica ( $k_s$ ) es una medida de la porosidad del xilema (Tyree y Ewers, 1991), depende de la densidad y tamaño de los vasos. La eficiencia en la conductividad hidráulica está más influenciada por el diámetro de vasos que por su disposición en el xilema. Barotto et al. (2016) reportaron que la distribución diamétrica de vasos en tres especies de *Eucalyptus*, no solo se correlaciona con la  $k_s$  máxima, sino también con la vulnerabilidad a la cavitación.

La tendencia general frente al estrés, es evitar la cavitación mediante un incremento de la conductividad hidráulica, pero sin disminuir tensión en el xilema. De esta manera se evita el embolismo y se mantiene el flujo de agua (Meinzer y McCulloh, 2013). Monteoliva et al. (2016) estudiaron estos atributos en varias especies y observaron que *E. viminalis* es más resistente que *E. grandis* a la cavitación, dado que presenta menor número de vasos, y una mayor cantidad de traqueidas vasicéntricas y radios parenquimáticos. También contribuyen al proceso el parénquima axial disperso entre los elementos de conducción. Estas características hacen posible una mayor eficiencia en la reparación del embolismo. Además, el parénquima xilemático constituye un reservorio de agua (capacitancia).

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. INSTALACIÓN DEL ENSAYO

El ensayo se instaló en mayo de 2017 en el invernáculo del Depto. de Biología Vegetal de Facultad de Agronomía (34° 50'S, 56° 13'W). Se utilizaron 24 plantas bajo un diseño completamente al azar (DCA), correspondientes a dos clones de *E. grandis* (ABH17 y ABH23), un clon de *E. grandis x camaldulensis* (GC) y otro de *E. grandis x tereticornis* (GT). Se utilizaron 4 plantas por clon desde los 15 a los 18 meses de edad, colocadas en macetas de 15 L conteniendo sustrato Carolina Soils® (mezcla de turba (58%), vermiculita (40%) y trazas de elementos minerales). Las plantas y los insumos utilizados fueron provistos por la empresa forestal Lumin.

#### 3.2. ESTUDIO DEL ESTADO HÍDRICO Y VARIABLES FUNCIONALES

##### 3.2.1. Potencial hídrico

El potencial hídrico se midió en cuatro plantas por clon, todas ellas con 18 meses de edad en invierno, entre las 11:30 y 16:00 h en tres brotes por planta. Las mismas estaban libres de signos de deficiencias nutricionales y ataques de fitopatógenos. Previamente a las mediciones, se cubrieron las hojas con papel de aluminio al menos durante las dos horas para equilibrar el potencial hídrico de las ramillas con el tallo. El valor medido correspondió al potencial hídrico de tallo ( $\Psi_w$ ). Para las mediciones se utilizó una cámara de presión, PMS Instrument Corp®, Corvallis, OR, USA (Schölander et al., 1965).

##### 3.2.2. Curvas presión-volumen

Se elaboraron curvas de presión-volumen a los 15 meses de edad de las plantas utilizando una metodología adaptada de Hinckley (1980). Para ello, se colectaron brotes subapicales (uno por planta) y se colocaron en agua destilada durante al menos tres horas hasta alcanzar turgencia máxima. Luego se colocaron en la cámara de presión, se realizó un corte en la base, y se incrementó progresivamente la presión hasta alcanzar 1,6 MPa. Se utilizó papel de filtro para recoger el agua expulsada en intervalos de 0,2 MPa. Los mismos se colocaron en placas de Petri y se pesaron utilizando una balanza analítica de precisión (Adventurer®, Ohaus Corp, USA). Cada curva se construyó con 8 medidas del peso del agua expulsada vs el recíproco del potencial hídrico de tallo ( $-1/\Psi_w$ ).

En cada una de las curvas se calculó la pendiente que relaciona el cambio significativo en  $-1/\Psi w_t$  entre dos puntos de agua acumulada. La pendiente de este diferencial se relaciona con el módulo de elasticidad de pared ( $\epsilon$ ).

La función que se ajusta a los cambios de  $-1/\Psi w_t$  en función del agua acumulada es una función hipérbolica definida en la siguiente ecuación

$$f(x) = a + \frac{b}{x+d}$$

donde,  $f(x)$  = recíproco del potencial hídrico,  $x$  = mg de agua desplazada.

### 3.2.3. Conductancia estomática

La conductancia estomática (gs) se midió entre las 11:30 y las 14:00 h en tres hojas subapicales de cada planta a los 18 meses de edad, plenamente iluminadas y sin signos de deficiencias nutricionales ni ataque de fitopatógenos. La actividad se realizó el 10/7/18 y se utilizó un porómetro modelo SC-1 de fase estacionaria (Decagon Devices, Inc®). Con la información se calculó la gs media ajustada por clon.

### 3.2.4. Contenido relativo de agua

El contenido relativo de agua (CRA) se midió a los 18 meses de edad de las plantas a partir de tres hojas subapicales de cada una. Para ello, se tomó un disco de 2,49 cm<sup>2</sup> por hoja y se pesaron para calcular su peso fresco. Luego se colocaron en placas de Petri conteniendo agua destilada durante 72 h para obtener el peso turgente (turgencia máxima). Más tarde se secaron en estufa a 60 °C durante ocho horas y se pesaron para obtener el peso seco. Se utilizó una balanza analítica de precisión (mg) modelo Adventurer® (Ohaus Corp, USA). El CRA se calculó como:

$$\text{CRA} = [(\text{peso fresco} - \text{peso seco}) / (\text{peso turgente} - \text{peso seco})] 100$$

### 3.2.5. Conductividad hidráulica

Para cuantificar la conductividad hidráulica, se construyó un conductímetro basado en la metodología propuesta por Sperry et al. (1988). Se cortaron 4 ramas por planta: dos ramas basales y dos subapicales, cubriendo dos orientaciones (norte y sur). En total se trabajó en 16 plantas y se cortaron 64 ramas, todas a los 18 meses de edad. Las muestras se colectaron desde el mediodía hasta las 17:00 h el día 10 de julio. Cada rama se cortó dentro de una bandeja con agua destilada para minimizar la inducción de embolismo. Se calculó la conductividad hidráulica (kh) y luego se

removieron los embolismos nativos mediante perfusión con una jeringa de 60 mL, generando 0,1 MPa de presión (Fernández y Gyenge, 2010). En cada caso se midió el área transversal de cada ramilla y el área de xilema activo a partir de tinción con una solución de safranina 0,5% en agua.

Se calcularon:

$$\text{Conductividad hidráulica (kh)} = Ql / \Delta P \text{ [kg s}^{-1}\text{m MPa}^{-1}\text{]}$$

donde, Q = volumen de agua que atraviesa la muestra por unidad de tiempo, l = longitud del segmento de tallo,  $\Delta P$  = diferencia de potencial entre los extremos.

$$\text{Conductividad hidráulica específica (ks)} = Ql / As \Delta P \text{ [kg s}^{-1}\text{m MPa}^{-1}\text{]}$$

donde, Q = volumen de agua por unidad de tiempo que atraviesa la muestra, l = longitud del segmento,  $\Delta P$  es la diferencia de potencial de presión entre los extremos y As = área transversal del xilema activo.

$$\text{Conductividad hidráulica foliar específica (kl)} = Ql / AF\Delta P \text{ [kg s}^{-1}\text{m MPa}^{-1}\text{]}$$

donde, Q = volumen de agua por unidad de tiempo que pasa a través de la muestra, l = longitud del segmento,  $\Delta P$  es la diferencia de potencial de presión entre los extremos y AF = área foliar de la ramilla.

Pérdida porcentual de conductividad hidráulica (PLC)

$$(\%) \text{ PLC} = [1 - (ks / ks_{\max})] 100$$

donde, ks = conductividad hidráulica específica con embolismo nativo,  $ks_{\max}$  = conductividad hidráulica específica sin embolismo.

### 3.2.6. Área foliar

Se midió el área foliar de cada ramilla colectada para conductividad hidráulica. Con la información se calculó la conductividad foliar específica (kl). Se midió el área foliar de todas las hojas de cada ramilla a partir de imágenes de escáner (modelo Epson Stylus TX 125®) procesadas con el programa de libre acceso ImageJ® (Guerrero et al., 2012).

### 3.2.7. Anatomía de madera

En todas las ramillas que se usaron para calcular las conductividades, se perfusionó con jeringa de 60 mL una solución de safranina al 0,5%. El objetivo fue resaltar los vasos xilemáticos entre los demás tipos celulares (Taneda y Sperry,

2008). Se realizaron cortes a mano (2 mm de espesor) perpendiculares al eje de la ramilla con hojas Gillette®. Con una cámara digital modelo Dino Eye 2.0® acoplada a un microscopio óptico Nikon E100®, se obtuvieron microfotografías 10x. Para el estudio de los vasos se delimitaron campos de 0,102 mm<sup>2</sup> en cada cuadrante de la sección transversal de rama. Se calculó el diámetro de vasos con el software DinoCapture® versión 1.5.27.A (Electronic Corp).

### 3.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

#### 3.3.1. Análisis de varianza

Para analizar las variables de conductividades hidráulicas y diámetro de vaso de xilema se utilizaron arreglos factoriales bajo un modelo lineal general. Los tratamientos quedaron definidos por la interacción de los diferentes niveles de cada uno de los factores (genotipo, orientación y posición).

Una vez verificados los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza, se procedió a hacer un ANOVA para determinar el efecto significativo de cada fuente de variación. A posteriori se realizaron los contrastes ortogonales para establecer las diferencias entre tratamientos de cada fuente de variación. Para ajustar los modelos lineales y para realizar los análisis de varianza se utilizaron las funciones *lm* y *anova* del paquete stats del software libre R (R Core Team, 2017). Los contrastes ortogonales se realizaron con el paquete de R emmeans (Russell, 2018).

El modelo utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + (\alpha\beta)_{ij} + (\alpha\gamma)_{ik} + (\beta\gamma)_{jk} + (\alpha\beta\gamma)_{ijk} + \epsilon_{ijk} \text{ donde,}$$

$Y_{ijk}$  es la variable de respuesta (las k y diámetro)

$\mu$  es la media general del modelo

$\alpha_i$  es el efecto del i-ésimo genotipo (ABH17 GC, GT, ABH23)

$\beta_j$  es el efecto del j-ésimo nivel de orientación (norte y sur)

$\gamma_k$  es el efecto del k-ésimo nivel posición (arriba y abajo)

$(\alpha\beta)_{ij}$  es la interacción entre el i-ésimo nivel de  $\alpha$  y el j-ésimo nivel de  $\beta$

$(\alpha\gamma)_{ik}$  es la interacción entre el i-ésimo nivel de  $\alpha$  y el k-ésimo nivel de  $\gamma$

$(\beta\gamma)_{jk}$  es la interacción entre el j-ésimo nivel de  $\beta$  y el k-ésimo nivel de  $\gamma$

$(\alpha\beta\gamma)_{ijk}$  es la interacción entre el  $i$ -ésimo nivel de  $\alpha$ , el  $j$ -ésimo nivel de  $\beta$  y el  $k$ -ésimo nivel de  $\gamma$ .

### 3.3.2. Modelo regresión

Para modelar la relación entre el contenido relativo de agua y el potencial hídrico en cada uno de los genotipos, se ajustó un modelo de regresión lineal. Lo mismo se realizó para ver la relación entre contenido relativo de agua y conductancia estomática. Estas regresiones se realizaron con la función *lm* del paquete stats del software libre R (R Core Team, 2017).

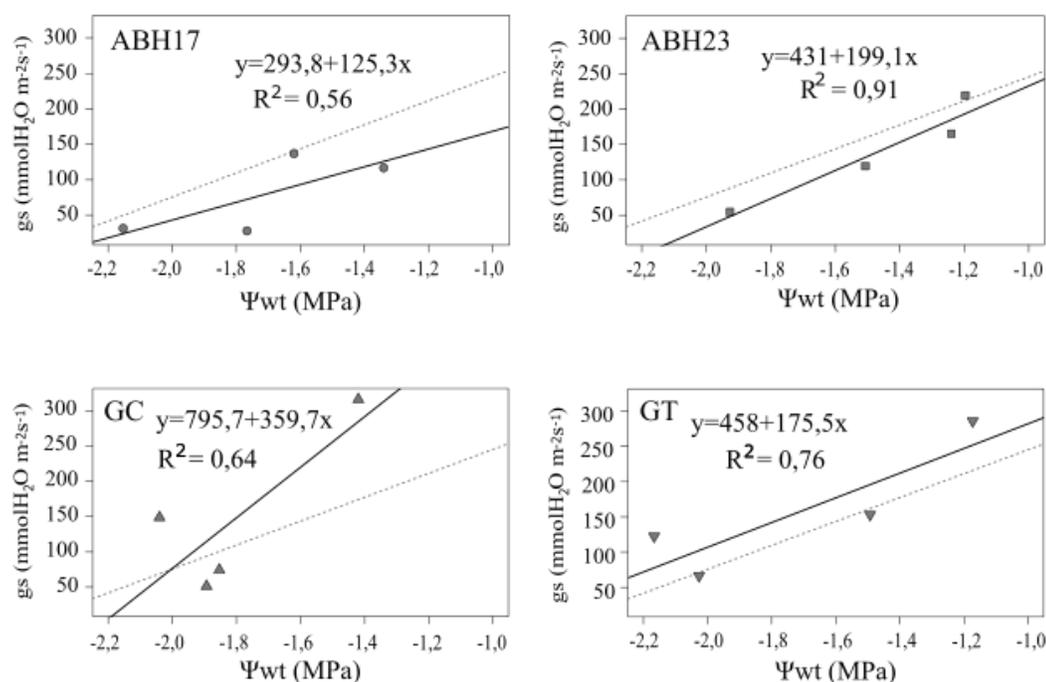
Para modelar la relación entre el recíproco del potencial hídrico y el peso acumulado de agua (mg) se utilizó un método de mínimos cuadrados mediante la interacción numérica de Gauss-Newton. Este ajuste se realizó con el software Origin 2019b (Origin Lab Corporation) y fue implementado en software libre R mediante la función *nls* del paquete stats (R Core Team, 2017).

## 4. RESULTADOS

### 4.1. ESTADO HÍDRICO

#### 4.1.1. Potencial hídrico, conductancia estomática y contenido relativo de agua

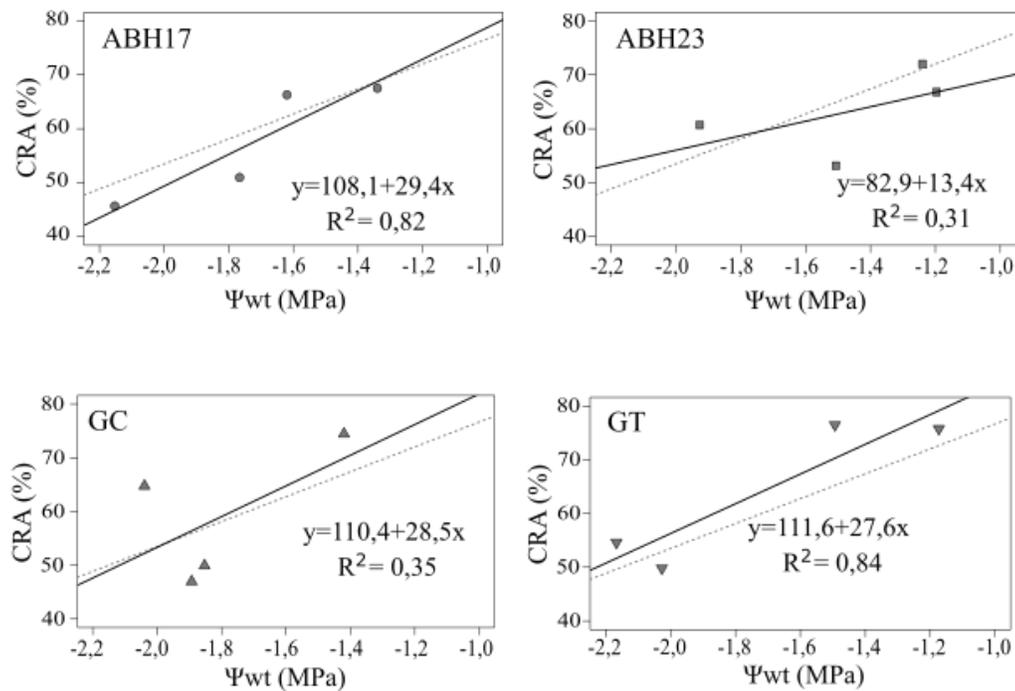
Al analizar las variables individualmente, el potencial hídrico, conductancia estomática y el contenido relativo de agua fue similar para todos los clones ( $p < 0,05$ ). Se observó una correlación lineal directa entre la conductancia estomática (gs) y el potencial hídrico de tallo ( $\Psi_{wt}$ ), es decir, a medida que el  $\Psi_{wt}$  desciende, la gs disminuye. Esta tendencia fue observada en todos los clones (ABH17, ABH23, GC y GT) (Figura 1).



En cada gráfico se indica la media general ajustada para todos los clones (línea punteada) con la media ajustada de cada clon (línea continua)

Figura 1. Variación de la conductancia estomática (gs) en función del potencial hídrico ( $\Psi_{wt}$ ) para los clones ABH17 (A), ABH23 (B), GC (C) y GT (D).

El contenido relativo de agua en función del potencial hídrico, no mostró correlación lineal para los clones ABH23 y GC, dado su bajo  $R^2$ . Sin embargo, sí para los clones ABH17 y GT (Figura 2).



En cada gráfico se indica la media general ajustada para todos los clones (línea punteada) y la media ajustada para cada clon (línea continua)

Figura 2. Variación del contenido relativo de agua (CRA) en función del potencial hídrico ( $\Psi_{wt}$ ) para los clones ABH17 (A), ABH23 (B), GC (C) y GT (D).

#### 4.1.2. Curvas presión volumen

Los datos obtenidos permitieron ajustar una hipérbola según el modelo:

$$f(x) = a + \frac{b}{x+d}$$

Este modelo permite calcular en cada punto de la gráfica, su valor correspondiente al recíproco del potencial hídrico [ $f(x)$ ] y el peso acumulado del agua desplazado ( $x$ ). En cada curva se calculó la pendiente que relaciona el cambio significativo de  $-1/\Psi_{wt}$  entre dos puntos de agua acumulada. Si bien se ajustó la

función para cada clon, el valor de  $\epsilon$  se estimó entre 10 y 20 mg de agua acumulada, ya que en dicho rango se observó un mayor ajuste a la función hiperbólica. El clon GC mostró el menor promedio ( $0,019 \text{ MPa mg H}_2\text{O}^{-1}$ ) y, por lo tanto, menor pendiente entre 10 y 20 mg de agua. , Los demás clones no presentaron diferencias entre sí ( $p < 0,05$ ) y el valor de  $\epsilon$  estimado fue  $0,03 \text{ MPa mg H}_2\text{O}^{-1}$  (Figura 3).

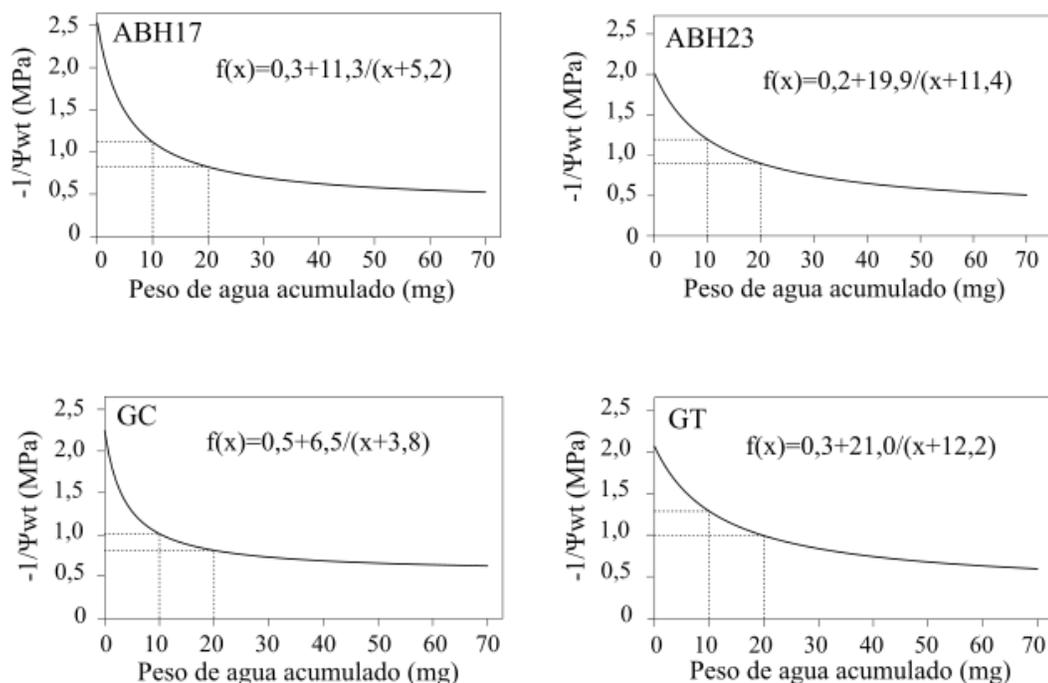


Figura 3. Curvas presión-volumen, recíproco del potencial hídrico ( $-1/\Psi_{wt}$ ) en función del peso de agua acumulado (mg) para los clones ABH17 (A), ABH23 (B), GC (C) y GT (D).

#### 4.2. CONDUCTIVIDAD HIDRÁULICA

La conductividad hidráulica varió entre clones ( $p < 0,05$ ) y no se observaron efectos de la altura y orientación de rama. A continuación, se muestra los resultados para las variables conductividad hidráulica específica y foliar específica.

##### 4.2.1. Conductividad hidráulica específica y foliar específica

La conductividad hidráulica específica ( $k_s$ ) presentó diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre clones, siendo GC el genotipo con mayor promedio ( $2,09 \pm 0,20$ ). Por otra parte, el clon ABH17 presentó el valor mínimo promedio

( $1,35 \pm 0,19$ ), mientras que luego de desembolizar ( $k_{s_{max}}$ ), solo el clon GC fue diferente al resto ya que mostro el promedio máximo ( $3,94 \pm 0,28$ ) (Cuadro 1).

En la conductividad hidráulica foliar específica (kl), el clon GC mostro diferencias ( $p < 0,05$ ) con respecto a los demás genotipos, tanto para la kl como la conductividad sin embolia ( $kl_{max}$ ), dando un valor de  $3,51 \pm 0,28 \times 10^{-4}$  y  $7,63 \pm 0,54 \times 10^{-4}$  respectivamente (Cuadro 1).

Cuadro 1. Conductividad hidráulica específica, foliar específica y diámetro de vasos xilemáticos para los clones ABH17, ABH23, GC, GT.

clon	ks	$k_{s_{max}}$	kl <sup>†</sup>	$kl_{max}$ <sup>†</sup>	diámetro
ABH17	1,35 a	2,43 a	1,98 a	3,68 a	0,033 a
ABH23	1,65 ab	2,65 a	1,89 a	3,02 a	0,035 a
GC	2,09 b	3,94 b	3,51 b	7,63 b	0,040 b
GT	1,95 ab	2,86 a	2,47 a	3,96 a	0,034 a

† Expresado en  $\times 10^{-4}$ ; ks: conductividad hidráulica específica ( $\text{kg m}^{-1} \text{MPa}^{-1} \text{s}^{-1}$ ), kl: ( $\text{kg m}^{-1} \text{MPa}^{-1} \text{s}^{-1}$ ) conductividad hidráulica específica foliar, diámetro: diámetro de rama (mm); letras diferentes indican diferencias significativas para  $p < 0,05$

Con los datos de las medias ajustadas de ks y  $k_{s_{max}}$  se estimó la pérdida porcentual de conductividad hidráulica (PLC). El mayor PLC lo mostro GC (47%) y el menor lo presentó GT (32%), los otros dos clones mostraron un comportamiento intermedio (38% y 45%, para ABH23 y ABH17 respectivamente).

#### 4.2.2. Diámetro de vasos xilemáticos

Se calculo un diámetro medio de vasos para cada clon. Los datos revelaron un mayor tamaño ( $p < 0,05$ ) en el clon GC, con un valor promedio de  $0,04 \pm 0,001$  mm (Cuadro 1).

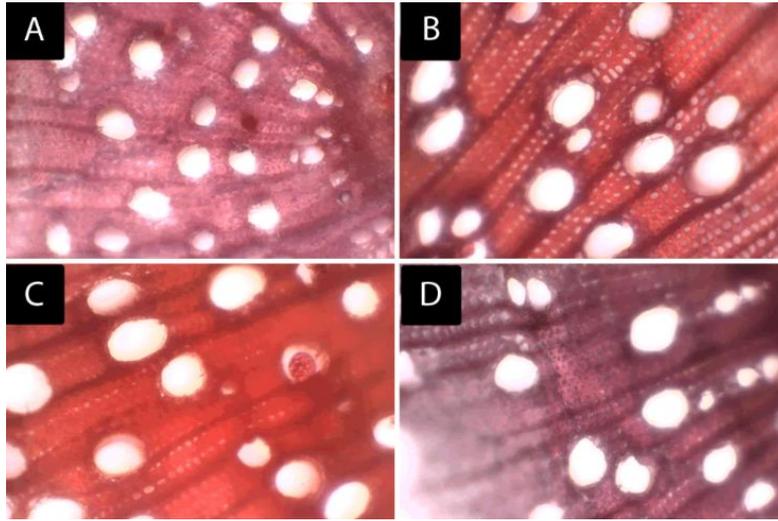


Figura 4. Corte transversal de ramas, microfotografías (10x) obtenidas en los clones ABH17 (A), ABH23 (B), GC (C) y GT (D).

## 5. DISCUSIÓN

### 5.1. ESTADO HÍDRICO

La información generada por los parámetros fisiológicos que se estudiaron, permitió caracterizar el comportamiento de los clones, los datos sugieren diferencias en la regulación del estado hídrico entre los diferentes genotipos. Dichas diferencias surgen de la relación de la conductancia estomática ( $g_s$ ) y del contenido relativo de agua (CRA) con el potencial hídrico del tallo ( $\Psi_{wt}$ ), el cual refleja la actividad transpiratoria de la planta.

#### 5.1.1. Potencial hídrico y apertura estomática

Por un lado, existió correlación positiva entre  $g_s$  y el potencial hídrico de tallo en todos los clones (Figura 1), lo cual es consistente con lo reportado por Brodribb et al. (2003) para diversas leñosas. El híbrido GC mostró mayor variación de la conductancia estomática en función del potencial hídrico del tallo, y por lo tanto, registró mayor  $g_s$  a valores más negativos de  $\Psi_{wt}$ . Bourne et al. (2017) observaron que las especies originarias de zonas húmedas (como por ejemplo *E. camaldulensis*) tienden a presentar una  $g_s$  máxima mayor y una  $g_s$  mínima menor que los eucaliptos provenientes de regiones más áridas. Además, las primeras muestran una mayor caída de  $g_s$  ante una pequeña disminución del  $\Psi_{wt}$  y por ende, una mayor actividad transpiratoria. Le Roux et al. (1996) observaron mayor actividad transpiratoria en híbridos GC respecto a *E. grandis* puros. En el presente trabajo este comportamiento fue más evidente en el clon GC, aunque también se observó en GT.

En leñosas existe una compleja coordinación entre el potencial hídrico de tallo y el foliar, de manera tal que existe un valor umbral por debajo del cual se reduce drásticamente la conductancia estomática para evitar daños por cavitación y embolia (Delzón y Cochard 2014, Nolf et al. 2015, Bartlett et al. 2016). Probablemente, GC presentó una mayor actividad transpiratoria, inferida a partir del dato de conductancia a bajos valores de potencial hídrico de tallo.

#### 5.1.2. Contenido relativo de agua

El CRA no varió entre clones, sin embargo, la correlación con el potencial hídrico de tallo no fue igual en todos los genotipos. ABH17 y GT mostraron una regresión lineal directa. No se observó dicha relación para los genotipos ABH23 ( $0,31 R^2$ ) y GC ( $0,35 R^2$ ), aunque probablemente posean mecanismos que le permiten mantener valores mayores de CRA a bajo  $\Psi_{wt}$  (Figura 2), como por ejemplo, la capacidad de ajuste osmótico, elástico o hidráulico.

### 5.1.3. Curvas de presión-volumen

La metodología aplicada para la elaboración de las curvas permite calcular el punto exacto de plasmólisis incipiente a partir de parámetros de la función ajustada (hiperbólica), en lugar de hacer una estimación en base a la extrapolación teórica que se propone en la bibliografía. Esto permite conocer el potencial hídrico en este punto, sin la necesidad de una función accesoria (Figura 3). Por lo tanto, se puede obtener el módulo de elasticidad ( $\epsilon$ ) real a partir de modelos matemáticos. Sin embargo, en este trabajo se ajustó la función para cada clon pero el valor de  $\epsilon$  se estimó a partir de la pendiente de cada gráfico.

Los valores de módulo de elasticidad de pared fueron más bajos en el clon GC. White et al. (2000) midieron el módulo de elasticidad en *E. saligna*, *E. platypus*, *E. leucoxydon* y *E. camaldulensis*, dando este último los mayores valores de  $\epsilon$ , aunque menores que *E. leucoxydon*. La información aportada por el cálculo de la pendiente y de la bibliografía sugiere que el clon GC, presenta paredes más elásticas que acompañan en mayor medida la pérdida de agua celular por la disminución del contenido relativo de agua.

## 5.2. CONDUCTIVIDAD HIDRÁULICA

La capacidad de abastecimiento de agua al follaje es expresada por la conductividad hidráulica foliar específica (kl). En este trabajo, dicho valor varió únicamente en función del clon y no se observaron efectos de la orientación (norte y sur) ni de la altura de ramas. Inicialmente se planteó analizar el efecto de estos dos factores, de acuerdo a lo sugerido en la bibliografía. Sin embargo, al tratarse de plantas de bajo porte (menor a dos metros de altura) y en condiciones de invernáculo, es esperable que no existan dichos efectos.

Se observó efecto del clon en kl, explicado por un mayor valor promedio del clon GC. Los valores fueron  $3,51 \pm 0,28 \text{ kg m}^{-1} \text{ MPa}^{-1} \text{ s}^{-1}$  y  $7,63 \pm 0,53 \text{ kg m}^{-1} \text{ MPa}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , con y sin embolismo respectivamente. Los demás genotipos presentaron promedios similares entre sí. Si bien las mediciones se realizaron en días de invierno con bajo DPV y alta humedad relativa, todos los clones duplicaron su kl luego de la eliminación del embolismo (perfusión de las ramillas) y ello revela una importante actividad transpiratoria. En árboles creciendo a campo, Whitehead y Beadle (2004) reportaron una mayor exploración radical de *E. camaldulensis* que incrementa kh en tallo y rama. Quizás, los híbridos con esta especie expresen dicha capacidad, pero en el presente estudio se trabajó en macetas y la capacidad de exploración de las raíces estuvo limitada.

En leñosas existe una relación lineal directa entre  $g_s$  y  $kl$ , de manera tal que una reducción de  $kl$  induce el cierre estomático (Hubbard et al., 2001). Es esperable que el clon que presente mayor  $kl$ , muestre mayor  $g_s$ . Sin embargo, en este estudio no se encontró una correlación entre estos parámetros, probablemente por la metodología de medición utilizada.

Por otro lado, la pérdida porcentual de conductividad hidráulica (PLC) del clon GC fue 3% mayor que ABH17, 10% que ABH23 y 15% que el híbrido GT. Esta información es consistente con el mayor diámetro de vaso observado en GC ( $0,04 \pm 0,001$  mm). Generalmente, un mayor diámetro de vaso promueve un aumento de PLC (Monteoliva et al., 2015). Sin embargo, si se hubieran medido otras variables anatómicas, como por ejemplo, densidad de vasos, grosor de pared celular, densidad de fibras y proporción de parénquima, se podría conocer el efecto del diámetro de vaso sobre la vulnerabilidad a la cavitación.

A partir de la información generada en el trabajo, puede inferirse que GC presentaría mayor tolerancia a situaciones de déficit hídrico, principalmente, por su mayor conductividad hidráulica y por los mecanismos de reparación de embolismos. Si bien es escasa la información sobre híbridos interespecíficos, es esperable que los híbridos entre *E. grandis* (especie muy vulnerable a la cavitación, Monteoliva et al., 2015) y *E. camaldulensis* (más resistente, Whitehead y Beadle, 2004) presenten el comportamiento mencionado anteriormente.

Un híbrido como el GC, podría ser apropiado para plantaciones en sitios sin limitantes hídricas ya que al presentar una mayor  $kh$  favorece el incremento de  $g_s$ , y por lo tanto, una mayor actividad fotosintética y generación de biomasa. No obstante, se ha observado que *E. camaldulensis* posee mecanismos que permiten sostener alta  $kh$  en condiciones de déficit hídrico, particularmente por el incremento de  $kh$  en raíz debido al aumento en la expresión de acuoporinas (Tsuchihira et al., 2010).

## 6. CONCLUSIONES

1. Se observaron diferencias genotípicas en variables hídrico-funcionales, pero no en los parámetros de estado hídrico.
2. El clon GC presentó mayor capacidad de abastecimiento de agua al follaje (kl), asociado a una mayor actividad transpiratoria. La conductividad hidráulica en ramas no fue afectada por la altura ni por la orientación de las mismas.
3. El módulo de elasticidad de pared (estimado) fue mayor en el clon GC, y por lo tanto presentó paredes más elásticas.
4. El híbrido GC presentó mayor diámetro de vasos xilemáticos, lo cual promovió mayor conductividad hidráulica en el tallo y se asoció a una mayor vulnerabilidad a la cavitación (PLC).

## 7. RESUMEN

En Uruguay se evalúa la forestación con clones híbridos entre *Eucalyptus grandis* y eucaliptos colorados. El objetivo general del trabajo fue estudiar propiedades hídrico-funcionales en clones de *E. grandis* (ABH17 y ABH23), *E. grandis x tereticornis* (GT) y *E. grandis x camaldulensis* (GC) creciendo en invernáculo. En mayo/2017 se instaló un ensayo en Facultad de Agronomía (34° 50'S, 56° 13'W) con 24 plantas (seis por clon) aleatoriamente distribuidas. A los 18 meses de edad se seleccionaron tres ramas en cuatro plantas por clon y se midieron potencial hídrico de tallo ( $\Psi_w$ ), conductancia estomática (gs), contenido relativo de agua en hoja (CRA) y conductividad hidráulica (específica, ks; foliar específica, kl), analizando los efectos de la altura y la orientación (norte y sur) de rama. También se calculó la vulnerabilidad a la cavitación de cada rama mediante la pérdida porcentual de conductividad hidráulica (PLC) y se midió el diámetro de vasos xilemáticos. Además, se elaboraron curvas de presión-volumen en seis plantas por clon) y se calculó el módulo de elasticidad de la pared celular ( $\epsilon$ ). Los valores de  $\Psi_w$ , gs, CRA no variaron entre clones ( $p < 0,05$ ). Sin embargo, GC mostró mayor variación de la apertura estomática (gs) en función del  $\Psi_w$ , principalmente por su mayor actividad transpiratoria. En ABH17 y GT se observó asociación lineal entre CRA y  $\Psi_w$ , mientras que en los otros clones la relación no fue clara (bajo  $R^2$ ). GC presentó paredes celulares más flexibles (bajo  $\epsilon$ ), lo cual refleja mayor adaptación de sus células a la pérdida de agua. La conductividad hidráulica varió entre clones y no fue afectada por altura ni orientación de rama. La eliminación del embolismo (por perfusión de aire) duplicó la capacidad de abastecer agua al follaje (kl) y GC presentó el mayor promedio ( $3,51 \pm 0,28 \text{ kg m}^{-1} \text{ MPa}^{-1} \text{ s}^{-1}$  y  $7,63 \pm 0,53 \text{ kg m}^{-1} \text{ MPa}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , con y sin embolismo respectivamente). Además, este clon presentó mayor diámetro de vasos ( $0,04 \pm 0,001 \text{ mm}$ ) y vulnerabilidad a la cavitación (alto PLC), lo cual reflejó su mayor actividad transpiratoria. Los elevados valores de kh de GC favorecieron un mayor intercambio gaseoso (menor control estomático), y a pesar de su alta vulnerabilidad a la cavitación, es posible que presente mecanismos compensatorios en la reparación del embolismo.

Palabras clave: Conductividad hidráulica; Curvas presión-volumen; *Eucalyptus*; Transpiración; Vasos xilemáticos.

## 8. SUMMARY

In Uruguay, afforestation with clonal hybrids between *E. grandis* and Red Gum is evaluated. The main objective of this work was to study hydraulic properties in clones of *E. grandis* (ABH17 and ABH23), *E. grandis x tereticornis* (GT) and *E. grandis x camaldulensis* (GC), grown under greenhouse conditions. In May/2017, a complete randomized experiment was conducted at Agronomy Faculty (34° 50'S, 56° 13'W) with six plants of each clone. At the age of 18 months, three branches of four plants per clone were selected to measure stem water potential ( $\Psi_{w_{st}}$ ), stomatal conductance ( $g_s$ ), leaf relative water content (RWC) and hydraulic conductivity (specific,  $ks$ ; leaf specific,  $kl$ ). The effect of branch height and orientation (north vs south-pointing branches) was also evaluated. Vulnerability to cavitation was calculated as the percentage loss of conductivity (PLC) and vessel diameter was measured. Pressure-volume curves were constructed from foliage samples of four plants per clone, and the elastic modulus of cell walls ( $\epsilon$ ) was calculated. No clonal difference was found ( $p < 0,05$ ) in  $\Psi_{w_{st}}$ ,  $g_s$ , and RWC. However, GC clone exhibited a higher variation of stomatal opening ( $g_s$ ) as a function of  $\Psi_{w_{st}}$ , mainly due to its elevated transpiration activity. ABH17 and GT showed a linear relationship between RWC and  $\Psi_{w_{st}}$ , unlike the other clones. GC had higher cell-wall flexibility (lower  $\epsilon$ ), which implies a better adaptation to cell-water loss. Hydraulic conductivity varied among clones, and it was not influenced by branch height and orientation. Embolism repair (by air perfusion) duplicated water supply to foliage, with GC averaging a higher value ( $3.51 \pm 0.28 \text{ kg m}^{-1} \text{ MPa}^{-1} \text{ s}^{-1}$  and  $7.63 \pm 0.53 \text{ kg m}^{-1} \text{ MPa}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , with and without embolism respectively). This clone showed the highest vessel diameter ( $0.04 \pm 0.001 \text{ mm}$ ), and it was also more vulnerable to cavitation (elevated PLC), which reflected its higher transpiration activity. The higher  $kl$  of GC enhanced gas exchange (lower stomatal control), and besides it was more vulnerable to cavitation, it probably had compensatory mechanisms of embolism repair.

Keywords: Hydraulic conductivity; Pressure-volume curves; *Eucalyptus*,  
Transpiration; Xylem vessels.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

1. Barotto, A. J.; Fernández, M. E.; Gyenge J, Martínez Meier, A.; Meyra, A.; Monteoliva, S. 2016. First sights into the functional role of vasicentric tracheids and parenchyma in *Eucalyptus* species with solitary vessels: do they contribute to xylem efficiency or safety? *Tree Physiology*. 36(12): 1485- 1497.
2. \_\_\_\_\_.; Monteoliva, S.; Gyenge, J.; Martinez-Meier, A.; Fernandez, M. E. 2018. Functional relationships between wood structure and vulnerability to xylem cavitation in races of *Eucalyptus globulus* differing in wood density. *Tree Physiology*. 38(2):243-251.
3. Bartlett, M. K.; Klein, T.; Jansen, S.; Choat, B.; Sack, L. 2016. The correlations and sequence of plant stomatal, hydraulic, and wilting responses to drought. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 113: 13098–13103.
4. Bartlett, M. K.; Scoffoni, C.; Sack, L. 2012. The determinants of leaf turgor loss point and prediction of drought tolerance of species and biomes: a global meta-analysis. *Ecology Letters*. 15: 393-405.
5. Beadle, L. 2004. Physiological regulation of productivity and water use in *Eucalyptus*: a review. *Forest Ecology and Management*. 193(1-2):113-140.
6. Booth, T. H. 2013. *Eucalypt* plantations and climate change. *Forest Ecology and Management*. 301: 28-34.
7. Bourne, A. E.; Creek, D.; Peters, J. M.; Ellsworth, D. S.; Choat, B. 2017. Species climate range influences hydraulic and stomatal traits in *Eucalyptus* species. *Annals of Botany*. 120: 123–133.
8. Brodribb, T.; Holbrook, N.; Edwards, E.; Gutierrez, M. V. 2003. Relations between stomatal closure, leaf turgor and xylem vulnerability in eight tropical dry forest trees. *Plant, Cell and Environment*. 26 (3):443-450.

9. Brussa, A. 1994. Eucalyptus: especies de cultivo más frecuentes en Uruguay y regiones de clima templado. Montevideo, Hemisferio Sur. 328 p.
10. Cochard, H.; Badel, E.; Herbette, S.; Delzon, S.; Choat, B.; Jansen, S. 2013. Methods for measuring plant vulnerability to cavitation: a critical review. *Journal of Experimental Botany*. 64: 4779-4791.
11. Corcuera, L. 2003. Comparación de dos métodos para generar curvas presión-volumen en especies del género *Quercus*. *Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria*. 12(1):111-121.
12. Cruziat, P.; Cochard, H.; Améglio, T. 2002 Hydraulic architecture of trees: main concepts and results. *Annals of Forest Science*. 59:723-752.
13. Dellacasa, P.; Figarola, G. 2016. Estudio del estado hídrico y eficiencia en el uso del agua en clones de *Eucalyptus grandis* e híbridos interespecíficos. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Universidad de la República. Facultad de Agronomía. 52 p.
14. Delzon, S.; Cochard, H.; 2014. Recent advances in tree hydraulics highlight the ecological significance of the hydraulic safety margin. *New Phytologist*. 203: 355-358.
15. Dhahri, S.; Khouja, M. L.; Ben, Jamaa, M. L.; Ben, Y.; Saadaoui, E. 2018. An overview of adaptative responses to drought stress in *Eucalyptus* spp. *Forestry Studies*. 67(1):86-96.
16. Esau, K. 2006. Anatomía vegetal. Meristemas, células y tejidos de las plantas: su estructura, función y desarrollo. Barcelona, Omega. 614 p.
17. Farquhar, G. D.; Sharkey, T. D. 1982. Stomatal conductance and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology*. 33: 317-345.
18. Franks, P. J.; Drake, P. L.; Froend, R. H. 2007. Anisohydric but isohydrodynamic: Seasonally constant plant water potential gradient explained by a stomatal control mechanism incorporating variable plant hydraulic conductance. *Plant, Cell and Environment*. 30(1): 19-30.

19. Guerrero, N. R.; Olarte, A.; Pérez, J. 2012. Determinación del área foliar en fotografías tomadas con una cámara web, un teléfono celular o una cámara semiprofesional (en línea). Revista Facultad Nacional de Agronomía (Medellín). 65(1):6399-6405. Disponible en <http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v65n1/v65n1a10.pdf>.
20. Hacke, U.; Sperry, J. S.; Pockman, W. T. 2001 Trends in wood density and structure are linked to prevention of xylem implosion by negative pressure. *Oecologia*. 126:457-461.
21. \_\_\_\_\_. 2015. Functional and ecological xylem anatomy. *Functional and Ecological Xylem Anatomy*. 4 (2):97-115.
22. Hinckley, T. M.; Duhme, F.; Hinckley, A. R.; Rich- Ter H. 1980. Water relations of drought hardy shrubs: osmotic potential and stomatal reactivity. *Plant, Cell and Environment*. 3:131-140.
23. Hubbard, R. M.; Ryan, M. G.; Stiller, V.; Sperry, J.S. 2001. Stomatal conductance and photosynthesis vary linearly with plant hydraulic conductance in ponderosa pine. *Plant, Cell and Environment*. 24:113–121.
24. Jacobsen, A. L; Ewers, F. W.; Pratt R. B. et al. 2005. Do xylem fibers affect vessel cavitation resistance? *Plant Physiology*. 139:546–556.
25. Le Roux, D.; Stock, W. D.; Bond, W. J.; Maphanga, D. 1996. Dry mass allocation, water use efficiency and  $\delta^{13}\text{C}$  in clones of *Eucalyptus grandis*, *E. grandis x camaldulensis* and *E. grandis x nitens* grown under two irrigation regimes. *Tree Physiology*. 16: 497-502.
26. Lewis, J. D.; Phillips, N. G.; Logan, B. A; Hricko, C. R.; Tissue, D. T. 2011. Leaf photosynthesis, respiration and stomatal conductance in six *Eucalyptus* species native to mesic and xeric environments growing in a common garden. *Tree Physiology*. 31(9):997-1006.
27. Levitt, J. 1980. Responses of Plants to Environmental stresses. Water, Radiation, Salt, and other Stresses. New York, Academic Press. 607 p.
28. Linderman, T.; Plata, V.; Sancho, D.; Oyhantcabal, W. 2013. Clima de cambios. (en línea). Roma, FAO. s.p. Consultado 15 jul. 2019. Disponible en <http://www.fao.org/climatechange/84982/es>.

29. McDowell, N.; Pockman, W. T.; Allen, C. D.; David, D.; Cobb, N.; Kolb, T.; Plaut, J.; Sperry, J.; Williams, D.; Yepez, E.A. 2008. Transley Review: mechanisms of plant survival and mortality during drought. *New Phytologist*. 178(4):719-739.
30. Meinzer, F. C.; McCulloh, K. A. 2013. Xylem recovery from drought-induced embolism: where is the hydraulic point of no return? *Tree Physiology*. 33: 331–334.
31. Mielke, M. S.; Oliva, M. A.; Barros, N. F.; De, Penchel, R. M.; Martinez, C. 2000. Leaf gas exchange in a clonal eucalypt plantation as related to soil moisture, leaf water potential and microclimate variables. *Revista de la Facultad de Agronomía (La Plata)*. 14(5): 263–270.
32. Monteoliva, S.; Barotto A.J.; Fernandez, M.A. 2015. Anatomía y densidad de la madera en Eucalyptus: Variación interespecífica e implicancia en la resistencia al estrés abiótico. *Revista de la Facultad de Agronomía (La Plata)*. 114 (2): 209-217.
33. Nolf, M.; Creek, D.; Duursma, R.; Holtum, J.; Mayr, S.; Choat, B. 2015. Stem and leaf hydraulic properties are finely coordinated in three tropical rain forest tree species. *Plant, Cell and Environment*. 38: 2652–2661.
34. Pallardy, S. G. 2008. *Physiology of Woody plants*. 14th. ed. Amsterdam, Elsevier. 454 p.
35. Schölander, P.; Hammel, H.; Bradstreet, E.; Hemmingsen, E. 1965. Sap Pressure in vascular plants, negative hydrostatic pressure can be measured in plants. *Science*. 148 (3668): 339-346.
36. Sperry, J. S.; Rdonnelly, J.; Tyree, M. T. 1988. A method for measuring hydraulic conductivity and embolism in xylem. *Plant, Cell and Environment*. 11: 35-40.
37. \_\_\_\_\_; Wang, Y.; Wolfe, B. T.; Mackay, D.S.; Anderegg, W. R. L.; McDowell, N.G.; Pockman, W.T. 2016. Pragmatic hydraulic theory predicts stomatal responses to climatic water deficits. *New Phytologist*. 28 (9):1-13.

38. Stocker, T. F. 2013. Climate Change 2013: The Physical Science Basis. In: Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change (5th., 2013, Cambridge). Report. Cambridge, Cambridge University. pp. 465-552.
39. Taneda, H.; Sperry, J. S. 2008. A case-study of water transport in co-occurring ring- versus diffuse-porous trees: contrasts in water-status, conducting capacity, cavitation and vessel refilling. *Tree Physiology*. 28(11):1641-1651.
40. Tsuchihira, A.; Hanba, Y.T.; Kato, N.; Doi, T.; Kawazu, T.; Maeshima ,M. 2010. Effect of overexpression of radish plasma membrane aquaporins on water-use efficiency, photosynthesis and growth of Eucalyptus trees, *Tree Physiology*. 30:417–430.
41. Tyree, M.; Ewers, F. 1991. The hydraulic architecture of trees and other woody plants. *New Phytologist*. 119:345-360.
42. White, D.; Turner, N. C.; Galbraith, J. H. 2000. Leaf water relations and stomatal behavior of four allopatric. *Tree Physiology*. 1:1157-1165.
43. Whitehead, D.; Beadle, C. L. 2004. Physiological regulation of productivity and water use in Eucalyptus: a review. *Forest Ecology and Management*. 193(1-2):113-140.