

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE AGRONOMÍA

ESTUDIO DEL ESTADO HÍDRICO, EFICIENCIA EN EL USO DEL AGUA Y
CRECIMIENTO EN CLONES DE *Eucalyptus grandis* E HÍBRIDOS
INTERESPECÍFICOS DE INTERÉS COMERCIAL

por

Joaquín Pedro DELLEPIANE RUIZ

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

MONTEVIDEO
URUGUAY
2019

Tesis aprobada por:

Director: -----

Ing. Agr. (MSc.) Luís Viega

Ing. Agr. (Mag.) Silvia Ross

Ing. Agr. (Mag.) José M. Gándara

Fecha: 10 de mayo de 2019

Autor: -----

Bach. Joaquín P. Dellepiane Ruiz

AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer en la realización de este trabajo en primer término a mis tutores, Ing. Agr. (Mag.) Luís Viega, a la Ing. Agr. (Mag.) Silvia Ross por todo su apoyo brindado y especialmente al Ing. Agr. (Mag.) José M. Gándara por su disposición, constancia y paciencia en cada instancia del trabajo.

A la Empresa Forestal Lumin por brindarme la posibilidad y los medios que permitieron llevar a cabo este trabajo de investigación.

A mi familia por el apoyo incondicional.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES.....	VI
1. <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
1.1 <u>OBJETIVOS</u>	1
1.1.1 <u>Objetivos generales</u>	1
1.1.2 <u>Objetivos específicos</u>	1
2. <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u>	3
2.1. <u>CARACTERÍSTICAS GENERALES DE <i>Eucalyptus spp.</i></u>	3
2.2. <u>CARACTERIZACIÓN CLIMÁTICA DE LA REGIÓN</u>	4
2.3. <u>RELACIONES HÍDRICAS DEL VEGETAL</u>	6
2.3.1. <u>Potencial hídrico</u>	6
2.3.2. <u>Conductancia estomática y transpiración</u>	8
2.4. <u>ACTIVIDAD FOTOSINTÉTICA</u>	11
2.5. <u>ANATOMÍA ESTOMÁTICA</u>	12
2.6. <u>RESPUESTA AL DÉFICIT HÍDRICO</u>	13
2.7. <u>EFICIENCIA EN EL USO DEL AGUA</u>	15
2.7.1. <u>Eficiencia instantánea en el uso del agua (EUA)</u>	16
2.7.2. <u>Eficiencia integrada en el uso del agua (EUAI)</u>	16
2.8. <u>CRECIMIENTO VEGETAL</u>	17
3. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	19
3.1. <u>SITIO DE ESTUDIO</u>	19
3.2. <u>METODOLOGÍA</u>	19
3.2.1. <u>Potencial hídrico</u>	19
3.2.2. <u>VARIABLES DASOMÉTRICAS</u>	20
3.2.3. <u>Actividad fotosintética y conductancia estomática</u>	20
3.2.4. <u>Eficiencia instantánea en el uso del agua (EUA)</u>	20
3.2.5. <u>Eficiencia integrada en el uso del agua (EUAI)</u>	21
3.2.6. <u>Información meteorológica</u>	21
3.2.7. <u>Anatomía estomática</u>	21
3.2.8. <u>Determinación de prolina</u>	22
3.2.9. <u>Análisis estadístico</u>	22
4. <u>RESULTADOS</u>	23
4.1. <u>INFORMACIÓN METEOROLÓGICA</u>	23

4.1.1. <u>Temperatura y precipitaciones</u>	23
4.1.2. <u>Demanda atmosférica</u>	24
4.2. <u>RELACIONES HÍDRICAS</u>	25
4.2.1. <u>Potencial hídrico base (Ψ_b)</u>	25
4.2.2. <u>Potencial hídrico al medio día (Ψ_{md})</u>	26
4.2.3. <u>Gradiente de potencial hídrico ($\Delta\Psi_w$)</u>	28
4.2.4. <u>Relaciones entre variables</u>	28
4.3. <u>ACTIVIDAD FOTOSINTÉTICA</u>	29
4.4. <u>RELACIONES ENTRE ACTIVIDAD TRANSPIRATORIA Y PARÁMETROS HÍDRICOS</u>	34
4.5. <u>EFICIENCIA EN EL USO DEL AGUA</u>	35
4.5.1. <u>Eficiencia instantánea en el uso del agua (EUA)</u>	35
4.5.2. <u>Eficiencia integrada en el uso del agua (EUA_i)</u>	36
4.6. <u>ANATOMÍA ESTOMÁTICA</u>	37
4.7. <u>VARIABLES DASOMÉTRICAS</u>	40
4.8. <u>VARIABLES DE RESPUESTA AL DÉFICIT HÍDRICO</u>	42
5. <u>DISCUSIÓN</u>	44
5.1. <u>RELACIONES HÍDRICAS</u>	44
5.1.1. <u>Potencial hídrico</u>	44
5.1.2. <u>Variación clonal</u>	44
5.1.3. <u>Gradiente de potencial hídrico ($\Delta\Psi_w$)</u>	45
5.2. <u>ACTIVIDAD FOTOSINTÉTICA E INTERCAMBIO DE GASES</u>	46
5.3. <u>EFICIENCIA INSTANTÁNEA EN EL USO DEL AGUA (EUA)</u>	47
5.4. <u>EFICIENCIA INTEGRADA EN EL USO DEL AGUA (EUA_i)</u>	47
5.5. <u>ANATOMÍA ESTOMÁTICA Y ESTADO HÍDRICO</u>	48
5.6. <u>VARIABLES DASOMÉTRICAS</u>	49
5.6.1. <u>Variables dasométricas y eficiencia en el uso del agua (EUA)</u>	49
5.7. <u>RESPUESTAS AL DÉFICIT HÍDRICO</u>	49
6. <u>CONCLUSIONES</u>	51
7. <u>RESUMEN</u>	52
8. <u>SUMMARY</u>	53
9. <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	54

LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES

Cuadro No.	Página
1. Resultados del ANAVA para las variables Ψ_b , Ψ_{md} y $\Delta\Psi_w$	25
2. Promedio del potencial hídrico base (Ψ_b) en cada fecha de muestreo.....	26
3. Valores promedio de las variables tasa fotosintética (A , $\mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), conductancia estomática (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) y tasa transpiratoria instantánea (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) para cada genotipo del estudio.....	30
4. Coeficientes de correlación (Pearson, r) entre las variables fotosíntesis neta (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$) y conductancia estomática (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) para cada clon del estudio.....	31
5. Coeficientes de correlación (Pearson, r) entre las variables tasa transpiratoria instantánea (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) y conductancia estomática (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$) para cada clon.....	34
6. Coeficientes de correlación (Pearson, r) entre el potencial hídrico mediodía (Ψ_{md} , MPa) y tasa transpiratoria instantánea (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Y entre el gradiente de potencial hídrico ($\Delta\Psi_w$, MPa) y la tasa transpiratoria instantánea (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) para cada genotipo.....	35
7. Resultados del ANAVA para las variables D_{ap} (m), H_t (m), Vol ($\text{m}^3 \text{ árbol}^{-1}$) y TCR volumen (%)......	40
8. Valores promedio de las variables: D_{ap} (m), H_t (m) y Vol ($\text{m}^3 \text{ árbol}^{-1}$) para cada uno de los genotipos estudiados.....	41
9. Valores promedio de las variables: D_{ap} (m), H_t (m) y Vol ($\text{m}^3 \text{ árbol}^{-1}$) en cada una de las fechas muestreadas.....	41
10. Valores promedio de la TCR ($Vol.$, %) en cada una de las fechas muestreadas.....	42

Figura No.

1. Temperatura máxima y mínima diaria (T, °C) registrada entre octubre/2014 y mayo/2015).....	23
2. Precipitación acumulada (mm) entre octubre/2014 y mayo/2015.....	24
3. Déficit de presión de vapor (Dpv) diario entre octubre/2014 y mayo/2015 registrado entre las 11:30 y las 16:00 hs durante la medición del potencial hídrico.....	25
4. Promedio del potencial hídrico mediodía (Ψ_{md}) para cada clon en cada fecha de muestreo.....	27
5. Promedio del gradiente de potencial hídrico ($\Delta\Psi_w$) para cada clon y en cada fecha de muestreo.....	28
6. Relación entre el gradiente de potencial hídrico ($\Delta\Psi_w$) y el potencial hídrico base (Ψ_b) para el conjunto de datos.....	29
7. Relación entre gradiente de potencial hídrico ($\Delta\Psi_w$) y potencial hídrico mediodía (Ψ_{md}) para el conjunto de datos.....	29
8. Relación entre las variables fotosíntesis neta (A) y conductancia estomática (gs) para el clon GC.....	31
9. Relación entre las variables fotosíntesis neta (A) y conductancia estomática (gs) para el clon GT.....	32
10. Relación entre las variables fotosíntesis neta (A) y conductancia estomática (gs) para el clon G.....	32
11. Relación entre las variables fotosíntesis neta (A) y conductancia estomática (gs) para el clon GU.....	33
12. Relación entre las variables tasa transpiratoria (E) y conductancia estomática (gs) para los cuatro clones en estudio.....	34
13. Variable eficiencia instantánea en el uso del agua (EUA) para cada clon en la última fecha de muestreo, mayo/2015.....	36

14. Variable discriminación isotópica del carbono ($\Delta^{13}\text{C}$) para cada genotipo en la última fecha de muestreo, mayo/2015.....	37
15. Variable densidad estomática foliar (No/mm^{-2}) para cada genotipo según cara foliar.....	38
16. Imágenes obtenidas con cámara digital acoplada a microscopio óptico, de levantado de caras foliares (adaxiales y abaxiales) tratadas con esmalte incoloro correspondientes a los 4 clones estudiados.....	39
17. Valores promedio de la concentración foliar de aminoácido prolina, para cada clon en la última fecha de medición (mayo/2015).....	43

1. INTRODUCCIÓN

En Uruguay la superficie forestada es de aproximadamente 1,5 millones de hectáreas, lo que representa un 8,6 % del territorio nacional. De la anterior superficie forestal, el 50,9 % (766.000 ha) corresponden a plantaciones comerciales (FAO, 2007). Entre las especies de latifoliadas introducidas, *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden se destaca tanto por su buena conformación como por su velocidad de crecimiento, lo que explica su amplia difusión como especie cultivada con fines industriales. Asimismo, es una de las especies más utilizadas a nivel local (MGAP. DGF, 2013).

A nivel mundial, las plantaciones con híbridos interespecíficos de *Eucalyptus spp.* se realizan desde hace décadas para utilizar la complementariedad entre especies y el vigor híbrido (Assis y Mafia, 2007). Así, surgieron plantaciones clonales con híbridos interespecíficos en el Uruguay. Sin embargo, es necesario evaluar la performance de estos genotipos en condiciones locales, como así también, caracterizarlas en función de parámetros fisiológicos relacionados con el crecimiento y la eficiencia en el uso de recursos. El objetivo del presente trabajo fue analizar el curso del estado hídrico, eficiencia en el uso del agua y crecimiento en cuatro clones promisorios. La información generada será útil para la selección de genotipos mejor adaptados a nuestras condiciones de producción.

1.1. OBJETIVOS

1.1.1. Objetivo general

Conocer la dinámica estacional del estado hídrico y crecimiento en un ensayo clonal de *Eucalyptus grandis* e híbridos en Tacuarembó.

1.1.2. Objetivos específicos

a) Analizar el curso estacional del potencial hídrico foliar (Ψ_w) y variables dasométricas (altura y diámetro) en clones de *Eucalyptus grandis* (G), *E. grandis* x *E. camaldulensis* (GC), *E. grandis* x *E. treticornis* (GT), *E. grandis* x *E. urophylla* (GU).

b) Conocer la evolución estacional de la actividad transpiratoria, inferida mediante el gradiente de potencial hídrico ($\Delta\Psi_w = \Psi_{base} - \Psi_{mediodía}$) en los distintos clones.

c) Estimar la eficiencia en el uso del agua (EUA) mediante dos metodologías, EUA instantánea y EUA integrada.

d) Estudiar la anatomía y distribución estomática en los distintos genotipos y su relación con variables hídricas y fotosintéticas.

e) Identificar mecanismos de respuesta al estrés hídrico (ajuste osmótico) en estos genotipos.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE *Eucalyptus* spp.

El género *Eucalyptus* spp. descrito por primera vez por Charles Louis L'Heritier pertenece a la familia Myrtaceae subfamilia Leptospermoideae, e incluye aproximadamente 600 especies originarias de Australia e islas vecinas (Pryor, 1976, 1981). *Eucalyptus grandis* (“rose gum”, “flooded gum”, “eucalipto rosado”) tiene una amplia distribución natural dentro del continente australiano localizándose en áreas disyuntas del Norte y centro del continente hasta el Sur costero (entre los 16° S y los 33° S). Presenta heterogeneidad en las condiciones climáticas en las cuales se desarrolla, altitudes hasta los 1100 m, clima templado al Sur, tropical al Norte con temperaturas máximas promedio entre 24 °C y 32 °C y mínimas promedio entre 3 °C y 17 °C (Hall et al. 1963, Boland et al. 1980, Jacobs 1981). En Uruguay se difundió en la década del '60 luego de la introducción de huertos semilleros sudafricanos (Brussa, 1994). Actualmente es una de las especies más utilizadas en Uruguay, debido a su versatilidad, forma y por su rápida tasa de crecimiento con fines energéticos y estructurales, ocupando una superficie de 247.499 ha (MGAP. DGF, 2013).

Eucalyptus camaldulensis (“eucalipto colorado” “river red gum”) es la especie de mayor amplitud en su área de distribución natural en el continente australiano (entre los 12° 30' S y los 38° S). Habita diferentes ecotipos desde cálidos a templados con diferentes comportamientos y adaptaciones, soportando tanto las sequias, inundaciones periódicas, como heladas. Se localiza desde el nivel del mar hasta los 700 m, en un rango de temperaturas promedio entre 3 °C y 40 °C (Hall et al. 1963, Boland et al. 1980). Se considera una de las primeras especies del género plantada fuera de su hábitat natural (Jacobs, 1981). En nuestro país se planta desde 1860 incentivada por su adaptabilidad. Su desarrollo se vinculó a la complementación de la producción ganadera en las formaciones de “islas” de eucaliptos colorados, brindando servicios de protección como, cortinas corta vientos, sombra, y abrigo a los animales (Brussa 1994, Pou 2016).

Esta especie está asociada a *Eucalyptus tereticornis* (“forest red gum” “eucalipto colorado”), la cual es originaria de la isla Papua-Nueva Guinea y región Norte, centro-Este y Sur de Australia. Sin embargo, también se encuentra en zonas costeras y continentales (6° y 38° S), con clima variable desde, tropical al Norte a templado-frio al Sur, con rangos de temperaturas promedio entre 1 °C a 36 °C y altitudes hasta los 1000 m en Australia y los 1800 m en Papua-Nueva Guinea (Poynton 1979, Boland et al. 1980, Jacobs 1981). Las dos especies se utilizan para construcciones rurales como, mangas, embarcaderos, postes, piques, durmientes, pisos, carpintería y combustible.

Son menos valoradas con destino a la producción de pulpa de celulosa, debido a su coloración (JICA 1991, Brussa 1994).

Eucalyptus urophylla (eucalipto, anpupu, “timor mountain gum”), es una de las pocas especies del género que no es originario del continente australiano. Forma masas boscosas en islas de Indonesia (8° 30' y 10° S), entre los 350 m y 3000 m de altitud con clima tropical variable según la altitud, con registros de temperaturas promedio entre 17 °C y 29 °C (Turnbull et al., 1978). En Uruguay es una especie de menor importancia con pocas plantaciones para evaluaciones de comportamiento, con aptitudes para la construcción, carpintería, combustible y pulpa de celulosa (Brussa, 1994).

Dentro del género *Eucalyptus spp.* existe una considerable divergencia genética y de procedencias, asociadas a la manifestación de ciertos caracteres que estimulan la realización de programas de hibridación (Davidson, 1973). La hibridación entre especies distintas y posteriores selecciones clonales de los individuos superiores en las progenies, han sido prácticas habituales del mejoramiento genético en *Eucalyptus spp.* (Assis, 1986). Los híbridos son consecuencia de cruzamientos naturales o artificiales entre genotipos diferentes, entre especies o entre procedencias bien diferentes dentro de las especies (Zobel et al. 1987, Zobel y Talbert 1992).

La hibridación interespecífica es la forma más rápida y eficiente de obtención de ganancias genéticas en la mejora de especies de *Eucalyptus spp.* La búsqueda de complementariedad en las características tecnológicas de la madera, en la tolerancia al estrés biótico y abiótico, así como la manifestación de heterosis, constituyen los principales caminos para producir individuos superiores en crecimiento, adaptación y calidad de la madera (Van Wyk et al., 1989). Como las progenies híbridas normalmente son heterogéneas, los métodos de clonación son necesarios para permitir la captura y multiplicación de individuos superiores obtenidos en los cruces híbridos (Assis, 2014).

2.2. CARACTERIZACIÓN CLIMÁTICA DE LA REGIÓN

En la producción de cultivos, los factores climáticos tales como la intensidad de radiación solar, humedad relativa, temperatura, precipitaciones y velocidad del viento, tienen efectos significativos en sus rendimientos (Corsi et al. 1994, Staduto 2012). En el Uruguay la ausencia de sistemas orográficos importantes contribuye a que las variaciones espaciales de gran parte de las variables climáticas sean relativamente de poca magnitud (Castaño et al., 2011). La temperatura media anual en Uruguay es de 17,7 °C, variando desde 19,8 °C en la zona Noroeste, hasta 16,6 °C en la costa Sur del país. La región de estudio (Tacuarembó) presenta una isoterma de 18 °C. Los valores medios

de precipitación acumulada anual sobre el país se sitúan entre 1200 y 1600 milímetros (mm) con los menores valores situados al Suroeste y los máximos al Noreste, con una isoyeta de 1400 mm para Tacuarembó. El gradiente por lo tanto es incremental de Suroeste a Noreste (Castaño et al., 2011).

La humedad relativa del aire promedio en el país presenta una variación espacial con una tendencia creciente en dirección Noroeste - Sureste. Los valores de humedad relativa media anual se sitúan entre 70 y 78 % con los mayores valores situados al Sureste y los mínimos al Noroeste. La isóhuma para la región de Tacuarembó se sitúa en 74 %. Considerando el comportamiento histórico se destaca una baja variabilidad interanual registrándose los menores valores durante el verano (65-75%, siendo enero el mes más seco), los máximos valores durante el invierno (76-80%, julio el mes más húmedo) y los valores intermedios en primavera y otoño (72-78%, Castaño et al., 2011). A nivel diario, los máximos se registran durante la madrugada (90%) y los mínimos luego del mediodía (45%, MDN. DNM, s.f.). La radiación solar neta es el resultado del intercambio de radiación de onda larga y onda corta que recibe, emite y refleja una superficie. En el Norte del Uruguay está comprendida entre 4,4 y 4,6 kW h⁻¹ m⁻² (Abal, 2010).

La evapotranspiración (ET) es la combinación de dos procesos separados por los que el agua se pierde a través de la superficie del suelo, por evaporación y por otra parte mediante transpiración del cultivo (Penman 1948, Allen et al. 2006). La evaporación y la transpiración ocurren simultáneamente y no hay una manera sencilla de distinguir entre estos dos procesos (Allen et al., 2006). La evaporación es el proceso por el cual el agua líquida se convierte en vapor de agua (vaporización) y se retira de la superficie evaporante (remoción de vapor). El agua se evapora de una variedad de superficies, tales como lagos, ríos, caminos, suelos y la vegetación mojada. La transpiración consiste en la vaporización del agua líquida contenida en los tejidos de la planta y su posterior remoción hacia la atmósfera (Allen et al., 2006).

La evapotranspiración potencial (ETP) es la máxima capacidad de agua que puede evaporarse desde un suelo cubierto de vegetación, con desarrollo óptimo y sin limitaciones hídricas, en el caso de la evapotranspiración real es la cantidad de agua perdida en función de las condiciones atmosféricas, contenido de agua del suelo y características de la vegetación (Rivas, 2004). Los valores medios de evapotranspiración acumulada anual para Uruguay, estimada por el método de Penman-Monteith, se sitúan entre 1000 y 1200 milímetros (mm), con los menores valores situados al Sureste y los máximos al Noroeste del país. El gradiente por lo tanto es incremental de Sureste a Noroeste. Para la región de Tacuarembó la isolínea de evapotranspiración es de 1000 mm (Castaño et al., 2011). La evapotranspiración presenta un claro comportamiento estacional con

valores más altos durante el verano (160-185 mm/mes), seguido de la primavera (95-105 mm/mes), el otoño (65-80 mm/mes) y el invierno con 25-35 mm/mes (Castaño et al., 2011).

2.3. RELACIONES HÍDRICAS DEL VEGETAL

El agua es uno de los factores ambientales más importantes que limita la supervivencia, crecimiento y productividad vegetal, tanto en la agricultura como en ecosistemas naturales (Schulze et al. 1987, Wullschleger et al. 2002, Nemani 2003, Azcón-Bieto y Talón 2008, Taiz y Zeiger 2010). Su baja disponibilidad, tanto en la atmósfera como en el suelo, se identifica como uno de los factores que en mayor medida restringe la productividad de los bosques plantados de *Eucalyptus spp.* (Kozlowski 1982, Shvaleva 2006, Pepper et al. 2008, Stape et al. 2010, Villar et al. 2011, Correia et al. 2014).

Frecuentemente se utiliza el potencial hídrico (Ψ_w) como indicador del estado hídrico de los tejidos vegetales (Yatapanage et al. 2001, Azcón-Bieto y Talón 2008, Taiz y Zeiger 2010). Este se vincula con parámetros fisiológicos y ambientales como son la conductancia estomática (g_s), la actividad transpiratoria (E), el déficit de presión de vapor (D_{pv}), y por lo tanto con la eficiencia en el uso del agua (EUA, White et al. 2000, Bhaskar 2006, Tonello 2011, Bleby et al. 2012). El estado hídrico de la planta, como lo indican los potenciales hídricos foliares o del xilema, reflejan un equilibrio entre el suministro de agua, determinado en gran medida por la disponibilidad de agua del suelo y la demanda de evaporación atmosférica (Bhaskar, 2006).

El género *Eucalyptus spp.* es dominante en muchos ecosistemas de bosques en todo el continente australiano y ocupa una amplia gama de condiciones ambientales (Specht 1970, Merchant 2007). A pesar que han evolucionado en un ambiente seco, los cambios en el estado hídrico afectan considerablemente su fisiología y capacidad de crecimiento (Batchelard 1986a, 1986b, Metcalfe et al. 1990, Whitehead y Beadle 2004). Mientras que algunas especies son reconocidas por su tolerancia a las condiciones áridas y la capacidad para hacer frente a los potenciales hídricos extremadamente bajos, otras se limitan a las zonas húmedas (Merchant, 2007).

2.3.1. Potencial hídrico

El potencial hídrico (Ψ_w) representa la capacidad de realizar trabajo del agua en un punto del sistema en comparación con el agua pura y libre, que por definición se considera cero (Azcón-Bieto y Talón 2008, Taiz y Zeiger 2010). Su cuantificación es de importancia para predecir la magnitud y dirección del flujo entre diferentes partes del sistema suelo-planta-atmósfera (Taiz y Zeiger, 2010).

En dicho sistema existen una serie de componentes que determinan la capacidad energética al agua y el valor del Ψ_w , estos son; el potencial de presión, el potencial osmótico, potencial mátrico y el potencial gravitacional. Todos ellos se expresan en unidades de presión (MPa, Azcón-Bieto y Talón, 2008).

El flujo de agua se produce hacia regiones de menor Ψ_w o menor energía libre. De este modo su movimiento en el continuo suelo-planta-atmósfera se da por un gradiente de potencial hídrico ($\Delta\Psi_w$, Taiz y Zeiger, 2010). En el suelo el movimiento del agua se produce por difusión (cortas distancias) y fundamentalmente por flujo masal (largas distancias) impulsado por un gradiente de presión hacia regiones más secas. El agua ingresa a la planta producto de una diferencia de potencial hídrico generada entre el suelo y la raíz. Atraviesa la epidermis y la corteza hasta ingresar al cilindro vascular. Una vez en el xilema, el agua se mueve por flujo de masas por la tensión que origina la transpiración (Tyree 1994, Azcón-Bieto y Talón 2008, Taiz y Zeiger 2010).

El $\Delta\Psi_w$ proporciona la fuerza motriz para el transporte de agua desde el suelo a través de la planta hacia la atmósfera (Begg y Turner 1970, Nobel 1974, Tyree 1994, Azcón-Bieto y Talón 2008). El mecanismo que explica el movimiento en ascenso del agua en el sistema suelo, planta, atmósfera, se denomina teoría tenso-coheso-transpiratoria. Las propiedades cohesivas y adhesivas del agua debido a los puentes de hidrógeno, permiten la formación de columnas de agua en contacto con las paredes xilemáticas. La transpiración crea un $\Delta\Psi_w$ a través del mesófilo foliar, generando una fuerza tensional sobre las columnas del xilema. La reducción en el Ψ_w foliar será transmitida a través del xilema hacia las raíces, provocando el ingreso del agua desde el suelo hacia el interior, de este modo, se crea un flujo de masa continuo desde el suelo, vía raíces, tallos y hojas hasta la atmósfera (Pickard 1981, Tyree y Sperry 1989, Zimmermann et al. 1995, Steudle 2001, Azcón-Bieto y Talón 2008).

El Ψ_w foliar es variable durante el día en función de la demanda atmosférica. Durante la mañana, el aumento de tensión que genera la transpiración está regulado por células parenquimáticas del xilema y en estas condiciones el Ψ_w disminuye lentamente (Zimmermann et al. 1995, Larcher 2003). El descenso abrupto del potencial hídrico foliar al mediodía (Ψ_{md}) promueve el cierre temporal de estomas y de este modo, se reduce la actividad transpiratoria y los daños por cavitación y embolia en los conductos xilemáticos (Tyree y Sperry 1988, Tyree 1994, Zimmermann et al. 1995, Davis et al. 2002, Larcher 2003). En estas condiciones, las plantas necesitan una regulación rápida de gs. que permita la máxima fotosíntesis (A) y evite que el Ψ_w caiga por

debajo del umbral de cavitación (Cochard et al. 1996, 2002, Kikuta et al. 1997, Salleo et al. 2000, Sperry 2000, Brodribb et al. 2003, David et al. 2004).

Los aspectos del clima, en particular la diferencia de presión de vapor entre el aire y la hoja (D_{pv}), crean el gradiente de conducción para la pérdida de agua. La tasa de pérdida por transpiración se determina luego por la interacción del D_{pv} y conductancia estomática, por lo tanto, la regulación estomática y la interacción con la conductancia de la planta completa desempeñan un papel crítico en la prevención de la caída excesiva de los potenciales hídricos (Sperry et al., 2002). Los rasgos funcionales que aumentan la conductancia de la planta entera, tales como vasos grandes o numerosos, pueden amortiguar los potenciales hídricos foliares frente a las pérdidas por transpiración. Por ello, el Ψ_{md} refleja las interacciones entre los aspectos de la arquitectura hidráulica de la planta, así como los factores abióticos que determinan el suministro de agua del suelo y la demanda de evaporación (Bhaskar, 2006).

En resumen, el potencial hídrico al medio día (Ψ_{md}) constituye un parámetro relevante porque los árboles regulan su tasa transpiratoria en función del Ψ_w foliar (Mott y Parkhurst 1991, Ewers et al. 2000), por ello, el Ψ_w debería ser el indicador más directo del estrés hídrico de las plantas, pues mide el efecto integrado del suelo, la planta y las condiciones atmosféricas sobre la disponibilidad de agua dentro de la propia planta (McCutchan y Shackel, 1992).

Por otro lado, los flujos insignificantes de baja transpiración nocturna permiten que los potenciales hídricos de las hojas y del suelo se equilibren antes del amanecer, permitiendo el uso de potencial hídrico foliar antes del amanecer (Ψ_b) como estimador del potencial hídrico del suelo (Begg y Turner 1970, Crombie 1988, Kramer y Boyer 1995, Richter 1997, Améglio et al. 1999). El Ψ_b se usa para estimar los cambios en los niveles mínimos de estrés hídrico (Whitehead y Beadle, 2004), reportándose valores de Ψ_b en múltiples especies de *Eucalyptus spp.* con patrones similares de variación estacional de -0.33 a -4.07 MPa en los meses más calurosos (White et al., 2000). Sin embargo, si procesos como la transpiración nocturna previenen el equilibrio a lo largo del continuo suelo -planta- atmósfera, el valor del Ψ_b puede ser inferior al potencial hídrico del suelo (Donovan et al., 1999, 2001).

2.3.2. Conductancia estomática y transpiración

Los poros estomáticos proporcionan una ruta de baja resistencia para la difusión de gases a través de la epidermis y de la cutícula en las hojas de las plantas, por lo que, cambios en la resistencia estomática determinan la capacidad del intercambio gaseoso (Baldochi et al. 1991, Kozłowski et al. 1991,

Larcher 2003, Taiz y Zeiger 2010). De acuerdo con Angelocci et al. (2004), las respuestas estomáticas a las condiciones ambientales son extremadamente complejas, la apertura estomática y su regulación generalmente son el principal control que ejercen las plantas sobre la pérdida de agua y, por lo tanto, su nivel de hidratación a corto plazo (Cowan 1982a, Schulze et al. 1994, Franks 2007).

La apertura estomática se expresa mediante la conductancia estomática (g_s) y depende de factores del ambiente como la concentración de CO_2 , el déficit de presión de vapor del aire (D_{pv}), la irradiancia (PA.), la temperatura del aire y el estado hídrico de las hojas (Landsberg y Gower, 1997). Su regulación (y la regulación del área foliar a más largo plazo) en el intercambio de gases, es necesaria para preservar la continuidad hidráulica del continuo suelo-hoja, evitando la caída excesiva de los potenciales hídricos, permitiendo así, mantener la homeostasis hídrica de los tejidos (Meidner 1986, Baldochi et al. 1991, Nardini et al. 1996, Sperry 2002, Azcón-Bieto y Talón 2008).

El D_{pv} es la diferencia entre la presión de saturación y la presión parcial del vapor de agua en el aire (Allen et al., 2006). Es utilizado como indicador de la demanda atmosférica y tiene una relación directa con la evapotranspiración y la temperatura. Además del cierre estomático en respuesta a incrementos del D_{pv} , los vegetales desarrollan respuestas adaptativas en función de la variación de los factores ambientales mencionados. Por lo tanto, responden al estrés hídrico disminuyendo g_s y la tasa de transpiración (E), evitando o minimizando el daño a través de la deshidratación de las células y tejidos, con la consecuente economía de agua (Sack y Tyree 2005, Merchant et al. 2007, Hubbard et al. 2010). Los mecanismos fisiológicos que evitan la falla hidráulica, por ejemplo, la reducción del número y diámetro de vasos de xilema, modifican g_s y controlan la pérdida de agua. Como contrapartida, la asimilación de carbono (A) disminuye y con ella la capacidad de crecimiento (Cowan y Farquhar 1977, Katul et al. 2003, Whitehead y Beadle 2004, Pita et al. 2005, Almeida et al. 2007, McDowell et al. 2008, 2013, Tonello 2011, Meinzer et al. 2013).

La sensibilidad de g_s al D_{pv} y al Ψ_w , indica que g_s es uno de los factores más importantes que limitan la productividad y la actividad transpiratoria en *Eucalyptus spp* (Whitehead y Beadle, 2004). Si bien el D_{pv} es variable, existe un rango de capacidad en el cual los árboles pueden ejercer control sobre la tasa de pérdida de agua por transpiración, mediante la regulación de g_s minimizando las fluctuaciones del Ψ_w en los tejidos. De esta manera se distinguen categorías de especies según el grado en que el Ψ_w se mantiene estable en condiciones ambientales fluctuantes (Turner et al. 1984,

Loewenstein y Pallardy 1998a, 1998b, Tardieu y Simonneau 1998, Frank 2007, Pou et al. 2012, West et al. 2012, Zhang et al. 2013, Meinzer 2014).

La respuesta combinada de g_s a los cambios del D_{pv} y el Ψ_b puede ser utilizada para distinguir si una especie de *Eucalyptus spp.* evita o tolera la sequía. Se reportaron valores de g_s entre 0,2 y 0,98 molH₂O m⁻²s⁻¹ en *Eucalyptus spp.* promedialmente en condiciones hídricas no limitantes, se reportan 0,44 molH₂O m⁻²s⁻¹ en *E. grandis*, 0,50 molH₂O m⁻²s⁻¹ en *E. camaldulensis* y 0,74 molH₂O m⁻²s⁻¹ en *E. tereticornis* (Whitehead y Beadle, 2004).

La actividad transpiratoria (E) es definida como la pérdida de agua en la planta en forma de vapor, siendo la de mayor ocurrencia, la pérdida foliar. A su vez, provoca tensión sobre las columnas de agua en el xilema, determinando así, el transporte del agua a grandes distancias en los tejidos (Tyree et al. 1994, Zimmermann et al. 1995, Sperry et al. 1996, Cochard et al. 2000). La transpiración es considerada un proceso secundario inevitable, resultado de la necesidad de la apertura estomática para realizar fotosíntesis en horas del día en la cual el déficit de presión de vapor es mayor (Schulze et al. 1987, Larcher 2003). En un bosque homogéneo y poco denso, la E individual es responsable de más del 90% de la pérdida por evapotranspiración del cultivo (Kaufmann y Kelliher, 1991). La tasa transpiratoria (E) depende en gran medida del D_{pv} , de modo que la superficie foliar expuesta al aire cede tanto más vapor de agua por unidad de tiempo y área, cuanto mayor sea el gradiente de presión de vapor entre la superficie y el aire.

Otro factor que limita E es g_s , siendo la resistencia estomática a la difusión de vapor de agua la de mayor relevancia, donde la mayor parte del vapor se mueve a través de los estomas, por ello, la sensibilidad estomática al D_{pv} influye en la tasa transpiratoria, siendo variable entre especies de *Eucalyptus spp.* (Leuning et al., 1991), a su vez, en la difusión de CO₂ a través de la fase gaseosa y su incorporación a la fotosíntesis, los estomas deben estar abiertos, lo que determina incrementos de E, y no necesariamente en aumentos de la tasa fotosintética (A, Azcón-Bieto y Talón, 2008).

Los *Eucalyptus spp.* ajustan la capacidad de transpiración para adaptarse a la disponibilidad de agua (Merchant, 2007). Se estudiaron patrones estacionales y/o diurnos de intercambio de gases foliares y el estado hídrico de las hojas en varias especies de *Eucalyptus spp.* que crecían en condiciones de campo (Pereira et al. 1986, 1987, Serrano 1992, Roberts y Rosier 1993, Kallarackal y Somen 1997, Battaglia y Sands 1997). Estos estudios demostraron que las especies de *Eucalyptus spp.* tienen un control estomático eficiente de la transpiración bajo niveles bajos de humedad del suelo y una alta

demanda de evaporación. A pesar de este control estomático de la transpiración, se ha observado una disminución en la asimilación neta de carbono en ambientes cálidos y secos (Pereira et al. 1987, Serrano 1992).

2.4. ACTIVIDAD FOTOSINTÉTICA

La fotosíntesis es un proceso de oxidación - reducción que utiliza energía de la luz solar para sintetizar carbohidratos a partir del CO₂ del aire y liberar oxígeno al medio ambiente a partir de H₂O. Los vegetales ceden agua a la atmósfera para lograr el ingreso de CO₂, fijando solamente 1 mol de CO₂ por cada 200 a 400 moles de H₂O transpirada (Taiz y Zeiger, 2010). Por lo tanto, existe un compromiso entre ganancia de carbono y transpiración que limita A y que determina la eficiencia en el uso del agua (EUA). La fotosíntesis está limitada por el estrés hídrico y nutricional.

Los efectos del estrés hídrico atmosférico y del suelo sobre A son causados principalmente por cambios en g_s en respuesta a cambios estacionales y diurnos del Dpv y Ψ_w , respectivamente (Leuning 1990, Eamus et al. 1995, Eamus y Cole 1997, Pryor et al. 1997, Bota et al. 2004, Flexas et al. 2004, 2006a, 2012, Grassi y Magnani 2005, Galmés et al. 2013, Cano et al. 2014). Por lo que existe una fuerte relación entre g_s y A, en una gama de condiciones ambientales y especies de plantas con metabolismo C₃, aunque la forma de la relación es variable (Eamus y Cole 1997, Jones 1997, Katul et al. 2003, Galmés et al. 2007, Damour et al. 2010, Kreuzwieser y Gessler 2010, Gimeno et al. 2015).

Los estomas se cierran bajo estrés hídrico para limitar la transpiración, pero esto inevitablemente restringe la difusión interna de CO₂ y es una de las mayores limitaciones para A en plantas con estrés hídrico (Medrano et al. 2002, Chaves et al. 2009). Lewis et al. (2011) observaron que la respuesta de A frente a cambios de g_s fue similar en varios *Eucalyptus spp*: *E. argophloia*, *E. dunnii*, *E. globulus* (especies asociadas a hábitats de humedad moderada), *E. sideroxylon* y *E. tereticornis* (ambientes áridos). Sin embargo, *E. camaldulensis* (ambientes húmedos) presentó menor A que el resto, pero con valores de g_s similares. Además, existieron diferencias inter-específicas en el patrón diurno de g_s las cuales explicarían en gran medida (hasta el 93%) la variación de A. Los autores señalaron que g_s juega un papel importante en el balance de carbono, aún si la demanda atmosférica es baja.

Hérault et al. (2013) obtuvieron resultados similares con respecto a la relación entre g_s y A para 4 especies de *Eucalyptus spp*. de ambientes diferentes: especies de zonas húmedas (*E. dunnii* y *E. saligna*) y de humedad moderada (*E. cladocalyx* y *E. melliodora*). Las especies de hábitat húmedos

frente a valores similares de gs presentaron menor A, a su vez, ambos grupos de especies mostraron descensos en gs en respuesta al Dpv a lo largo del rango diurno de las condiciones ambientales, pero las especies de hábitat húmedo fueron más sensibles al Dpv, presentando menores valores en gs que las especies de hábitats subhúmedos.

2.5. ANATOMÍA ESTOMÁTICA

Los estomas constan de un poro rodeado de células oclusivas o de guarda y sus movimientos dependen de cambios en la presión de turgencia tanto de sus células oclusivas como de las células epidérmicas adyacentes. Su control equilibra dos requisitos contrapuestos, la conservación de agua y la obtención de CO₂ para la fotosíntesis (Azcón-Bieto y Talón 2008, Brodribb et al. 2009). De este modo son responsables del intercambio de gases entre la atmósfera y la hoja mediante su apertura y cierre, evitando así la excesiva pérdida de agua (Weeb y Baker 2002, Fan et al. 2004, Buckley y Mott 2013). Es por ello que desempeñan un papel vital en el mantenimiento de la homeostasis de la planta, de ahí la importancia de conocer su cantidad, forma y factores que controlan sus movimientos (Azcón-Bieto y Talón, 2008).

Los estomas responden de forma compleja y no lineal a múltiples factores ambientales como la temperatura, el Dpv, la concentración de CO₂ en la atmósfera y la radiación fotosintéticamente activa (PAR, Cowan 1982b, Damour et al. 2010). En la planta, el agua se evapora desde la superficie interna que rodea las células de las cámaras subestomáticas y pasa a través de los estomas hacia la fase gaseosa del ambiente externo de la hoja (Salisbury y Ross, 2000). De este modo, minimizan la transpiración en relación con la ganancia de carbono fotosintético y mantienen las tasas de transpiración consistentes con la eficiencia del suministro de agua a las hojas (Cowan y Farquhar, 1977). Se estima que, a lo largo de la vida de una planta, se pierde 95% del agua absorbida por transpiración (Azcón-Bieto y Talón, 2008). Muchas especies poseen estructuras protectoras especiales, o el poro está ocluido por ceras que contribuyen a aumentar la resistencia difusiva. Tanto la frecuencia de estomas como su tamaño, pueden variar en función de su posición en hoja y de las condiciones de crecimiento (Azcón-Bieto y Talón, 2008).

La cantidad de estomas en la superficie adaxial (haz) en comparación con la abaxial (envés) es característica distintiva de diferentes especies. Las plantas con estomas sólo en el haz son llamadas epiestomáticas, las que tienen solamente en el envés son hipoestomáticas y aquellas con estomas en el haz y envés son anfiestomáticas (Gates 1980, Larkin et al. 1996, Serna et al. 2002, Azcón-Bieto y Talón 2008).

El número de estomas en las diferentes especies vegetales es variable. Esau (1977) establece un rango de 100 a 300 estomas mm^{-2} en angiospermas, aunque otros autores (Öpik y Rolfe, 2005) reportan un rango de valores más amplio. Estudios realizados en hojas esclerófilas de clones de *Eucalyptus spp.* reportan valores medios de entre 100 a 500 estomas por mm^2 (Larcher 2003, Santos et al. 2006, Carignato 2017). La densidad estomática es variable de acuerdo con la edad de la planta y directamente influenciada por las condiciones ambientales (Cao 2000, Justo et al. 2005), entre tanto, esta característica está positivamente relacionada con la asimilación de CO_2 (Abrams et al. 1994, Justo et al. 2005) y los intercambios gaseosos (Araus et al., 1986), donde el aumento de la densidad estomática se asocia con una mayor gs (Boardman, 1977). En numerosas especies de *Eucalyptus*, la densidad estomática en la superficie adaxial es menor que en la abaxial (Santos et al., 2006). Resultados similares fueron obtenidos por James y Bell (1995) cuando analizaron hojas de *Eucalyptus camaldulensis*.

2.6. RESPUESTAS AL DÉFICIT HÍDRICO

Las respuestas de las plantas al estrés hídrico dependen del modo en que éste se impone. Por ejemplo, la tasa de imposición de estrés hídrico puede determinar la respuesta de la planta después de la rehidratación (Turner 1986, Flexas et al. 2006a, Bogeat-Triboulot et al. 2007, Chaves et al. 2009, Lawlor y Tezara 2009). En condiciones naturales, el estrés hídrico se produce progresivamente durante semanas o meses en especies de árboles, dependiendo de las características del suelo en el que crecen. Las plantas han desarrollado diferentes respuestas frente al estrés hídrico que en conjunto implican asegurar la supervivencia de la especie, aumentar la disponibilidad de agua y mejorar la eficiencia de su uso (Schulze, 1987). A lo largo de la evolución, las plantas han desarrollado respuestas frente al estrés hídrico y generalizarlas en un patrón común resultaría complejo, dado que existe una gran variación en intensidades y frecuencias de los déficits hídricos. A su vez, en las especies hay una amplia heterogeneidad morfológica, fisiológica y de ciclos de vida, vinculada con adaptaciones y mecanismos incorporados como caracteres constitutivos. A ello se suman respuestas relacionadas a la aclimatación en el largo plazo y respuestas de regulación en el corto plazo (Medrano et al., 2007).

El interés por generalizar los tipos de respuesta ha conducido a establecer modelos de comportamiento que describen conjuntos de características que tienden a presentarse a la vez en respuesta a la sequía y que confieren a la especie mayor capacidad de resistir y completar su ciclo bajo esta limitación ambiental. Se describen así estrategias o modelos de respuesta frente al déficit hídrico que se fundamentan en las respuestas morfológicas y

fisiológicas que reducen y/o retrasan la incidencia y los efectos del déficit hídrico (Levitt 1972, Jones et al. 1981, Jones 1992, Medrano et al. 2007). Dichas respuestas pueden clasificarse como mecanismos para escapar al déficit, evitarlo o tolerarlo. El escape al déficit hídrico, consiste principalmente en acoplar el ciclo biológico a los meses con mayor disponibilidad de agua. Las especies que evitan previenen el daño por déficit hídrico mediante un rápido cierre de estomas (con la consiguiente reducción de g_s , A y E), evitando así cambios en el Ψ_w de la planta, pero limitando A Las plantas tolerantes reducen la pérdida de agua manteniendo cierta asimilación de carbono y su Ψ_w se reduce durante horas de luz y se recupera por la noche (Kramer 1983, Jones 1987).

En varias especies de árboles se han identificado adaptaciones a déficit hídricos relacionadas a diferencias morfofisiológicas intraespecíficas en el crecimiento (Osorio y Pereira, 1994), a la expansión foliar temprana (Osorio et al., 1998), a la morfología de las hojas (Teklehaimanot et al., 1998) y al grado de ajuste osmótico (Turner y Jones 1980, Tuomela 1997, Merchant et al. 2010). En *Eucalyptus* la mayoría de los estudios se han centrado en la evitación del déficit hídrico a través del cierre de estomas (Macfarlane et al., 2004) o la tolerancia al déficit hídrico mediante el mantenimiento de la turgencia.

Las modificaciones en arquitectura y conductividad hidráulicas son frecuentes respuestas a mediano y largo plazo al déficit hídrico. A su vez, estos cambios afectan las respuestas estomáticas (Whitehead 1998, White 2003) y ocasionan reducciones de crecimiento, del uso de agua y la productividad general de la planta (Bedon et al. 2011, Pinheiro y Chaves 2011). Otras respuestas dentro del género incluyen cambios en la asignación de biomasa (Rawat y Banerjee, 1998), refuerzo de la pared celular (Ladiges, 1975), y el almacenamiento de agua en la pared celular (Tuomela, 1997)

Esto concuerda con investigaciones que demuestran que el descenso del potencial osmótico es una respuesta común dentro del género *Eucalyptus* (Lemcoff et al. 1994, White et al. 1996, 2000, Tuomela 1997, Li 1998, Guarnaschelli et al. 2003), donde existe una considerable variación interespecífica en la capacidad de regular el potencial osmótico (Myers y Neales, 1986) y esto se extiende a la variación entre procedencias (Tuomela 1997, Li 1998) e incluso entre clones (Pita y Pardos, 2001).

A medida que se implanta un déficit hídrico, el Ψ_w del suelo se hace más negativo. De esta forma, para que los árboles puedan continuar absorbiendo agua y mantener un $\Delta\Psi_w$ o fuerza tensional suficiente que permita la continuidad hídrica del sistema, es necesario que la planta disminuya su potencial osmótico, tal respuesta puede lograrse mediante la acumulación de

solutos dentro de la célula de la planta, o por una disminución del volumen celular que conduce a una mayor concentración de solutos osmóticos a medida que el agua sale de la vacuola. La disminución del potencial osmótico como consecuencia de acumulación de iones inorgánicos y de solutos orgánicos en el citoplasma entre los que se encuentran, polioles, sacarosa, glicín-bateína y prolina, es considerado un mecanismo muy importante como tolerancia a la sequía y se denomina ajuste osmótico (Morgan 1984, Heuer 1999). Estas moléculas compatibles impiden la disminución de la turgencia sin interferir con el funcionamiento celular, permitiendo así una continuación de la expansión celular, ajustes estomáticos y fotosintéticos (Bray 1993, Diaz et al. 1999, Heuer 1999).

La acumulación de prolina en plantas sometidas a estrés hídrico se ha observado ampliamente, aunque no universalmente, su aumento durante el estrés hídrico es inversamente proporcional a las concentraciones iniciales de prolina en los órganos de las plantas (Heuer, 1999), a su vez, permite tolerancia al estrés hídrico no solo por ajuste osmótico, sino también por protección de membranas y proteínas, y / o por efectos sobre el metabolismo (Hare et al., 1998).

La capacidad de acumular y utilizar prolina ha sido correlacionada en ciertas plantas con genotipos tolerantes a la sequía (Al-Sulaiti et al., 1990) aunque no existen evidencias directas que demuestren que las plantas que acumulen más prolina sean más tolerantes al estrés hídrico (Samaras et al. 1995, Diaz et al. 1999). Se reportan valores de concentración de prolina en hojas de clones de *Eucalyptus spp.* bajo déficit hídrico entre 12 y 16 $\mu\text{mol.g}^{-1}$ de materia seca (Shvaleva et al., 2005). El ajuste osmótico puede contribuir al mantenimiento de la turgencia permitiendo a los árboles continuar la expansión celular y crecimiento foliar a bajos Ψ_w del suelo (Turner y Jones 1980, Heuer 1999).

2.7. EFICIENCIA EN EL USO DEL AGUA

La eficiencia en el uso del agua (EUA) es una medida de la efectividad de los estomas en maximizar la fotosíntesis, reduciendo al mismo tiempo la pérdida de agua por transpiración. EUA es un parámetro que puede definirse a distintos niveles, desde una hoja, una planta entera, un cultivo o a escala de un ecosistema (Medrano et al. 2007, Azcón-Bieto y Talón 2008). La medida de la eficiencia en el uso del agua a escala foliar tiene un enorme valor experimental. Es un parámetro de sencilla medición y puede ser representativo de la EUA a escala de planta entera. Desde este punto de vista, se han desarrollado principalmente dos técnicas para su medida: EUA instantánea determinada por el intercambio de gases, técnica que generalmente integra un período de tiempo breve o muy breve, y EUA integrada obtenida por análisis de la

discriminación isotópica del carbono, que integra un período de tiempo mucho mayor (Medrano et al., 2007).

2.7.1. Eficiencia instantánea en el uso del agua (EUA)

EUA instantánea mide la relación a escala foliar de la proporción molar del carbono asimilado por unidad de agua transpirada (Farquhar et al., 1989) y se determina con el cociente A/E. Se mide mediante el análisis de gases por infrarrojo (IRGA, por su sigla en inglés), y presenta como principal limitación el hecho de ser una medida puntual que corresponde a un periodo breve de tiempo y por ello, altamente variable (Bacon, 2004).

De esta manera, EUA instantánea dependerá principalmente de dos tipos de factores; de características propias de la especie y variedad que tengan relación con la capacidad de optimización de los procesos de asimilación de carbono y de evapotranspiración del agua; y de las características del ambiente en el que crece y se desarrollan las plantas (ejemplo, Dpv, Medrano et al., 2007). Por ello, un mismo grado de apertura estomática puede traducirse en tasas fotosintéticas y transpiratorias muy diferentes. Whitehead y Beadle (2004) observaron que los factores que permiten una capacidad fotosintética mayor por unidad de área foliar pueden aumentar la EUA.

2.7.2. Eficiencia integrada en el uso del agua (EUAI)

Mediante la discriminación isotópica del carbono se calcula la EUA de una manera integrada a lo largo de toda la vida de la hoja y en condiciones de campo. Esta técnica se basa en que la rubisco, enzima que participa en la fijación de CO₂ en especies C3 durante la fotosíntesis, discrimina fuertemente en contra del isótopo pesado ¹³CO₂ (1%) comparado con el isótopo más abundante ¹²CO₂ (99%, O'Leary, 1981), mientras que la difusión a través de los estomas sólo discrimina débilmente en contra de ¹³CO₂. Por tanto, con los estomas abiertos y resistencias a la difusión bajas hay una mayor discriminación en contra ¹³CO₂ (¹³C / ¹²C, Δ¹³C) que cuando existe una limitación difusiva frente a la asimilación de CO₂ por cierre estomático (Azcón-Bieto y Talón, 2008). Por lo tanto, los períodos con mayor abundancia relativa del isótopo pesado están relacionados con valores menores de gs y viceversa.

La regulación de gs en plantas C3 determina la relación a largo plazo entre el dióxido de carbono intercelular y el atmosférico, (C_i/C_a), describiendo así el grado de discriminación ¹³CO₂ a favor de ¹²CO₂ durante la fotosíntesis (Farquhar et al., 1982). Por ello existe una relación lineal entre la discriminación por el ¹³C (Δ) y la concentración interna de CO₂ en el interior de las hojas. Como

EUA se vincula con la concentración interna de CO₂ existe una relación lineal y negativa entre la discriminación por el ¹³C (Δ) y la EUA (Le Roux et al. 1996, Azcón-Bieto y Talón 2008). Por lo tanto, $\Delta^{13}\text{C}$ puede proporcionar una medida indirecta de la variación de EUA (Farquhar y Richards, 1984). En esencia, las plantas con menor EUA deberían tener relativamente menos del isótopo más pesado, ¹³C, por el contrario, las plantas con una alta EUA deberían tener relativamente más del isótopo más pesado, ¹³C, lo que daría lugar a un $\Delta^{13}\text{C}$ menos negativo (Olbrich, 1993).

En *Eucalyptus sp.*, el conocimiento de las bases genéticas en las diferencias de $\Delta^{13}\text{C}$ puede ser útil para seleccionar materiales (clones/especies) con mayor resistencia a condiciones adversas, principalmente sequías estacionales (Le Roux et al., 1996). Le Roux et al. (1996) estudiaron la EUA integrada en clones de *E. grandis*, *E. grandis x camaldulensis*, y *E. grandis x nitens*. Los autores reportaron que la variación clonal de $\Delta^{13}\text{C}$ está asociada con la variación de EUA, independientemente de la disponibilidad de agua del suelo.

2.8. CRECIMIENTO VEGETAL

El crecimiento es el incremento de un organismo, población u objeto en un determinado período de tiempo, pudiendo considerarse en el significado específico del término, como la diferencia en valores de los parámetros volumen, altura y/o diámetro evaluados en momentos separados en el tiempo. Su estimación es una etapa esencial en el manejo forestal, en el cual, los árboles individuales están influenciados por sus características genéticas y su interrelación con el medio ambiente, factores climáticos, del suelo y características topográficas. Además de estos factores, la competencia es un factor muy importante y el más controlable a través del manejo silvicultural (Prodan et al., 1997).

En *E. grandis* se observaron valores de incremento medio anual (IMA) entre 49 y 59 m³ ha⁻¹ año⁻¹ en los sitios donde mejor crece y en materiales de diferentes procedencias. A saber, zonas CONEAT 7, 8 y 9 (Resquin et al., 2004). Doldán (2008) relevó plantaciones comerciales en diferentes regiones del país y obtuvo valores de IMA promedio en torno a 28 m³ ha año. Esto confirma el elevado potencial productivo de estos materiales. Asimismo, este potencial es consistente con los altos valores de área foliar, apertura estomática y actividad fotosintética obtenidos. En Brasil, Stape (2002) señaló que el máximo valor de crecimiento en plantaciones clonales de *E. grandis* de seis años es la tasa más alta registrada en leñosas en ese lugar (20 ton ha⁻¹ año⁻¹). En el caso de Argentina, en particular en las provincias de Corrientes y Entre

Ríos, Aparicio et al. (2005) describen que en sitios de buena aptitud y con una silvicultura apropiada es la especie de mayor tasa de crecimiento y puede alcanzar los $60 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ de madera. En cambio, si el sitio no es el adecuado y la silvicultura no es la apropiada el crecimiento no supera los $15 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$.

La relación entre EUA y tasa de crecimiento en clones de dieciséis meses ha sido estudiada exhaustivamente por Le Roux et al. (1996). Los autores observaron que la acumulación de biomasa se correlaciona negativamente con la marca isotópica de carbono ($\delta^{13}\text{C}/\delta^{12}\text{C}$) y, por lo tanto, con el valor de discriminación (Δ) de los clones evaluados (1,49 kg, -24,8 ‰ y 1,6 kg, -25,7‰ de acumulación de materia seca y $\delta^{13}\text{C}$ respectivamente).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. SITIO DE ESTUDIO

El trabajo experimental se realizó en un predio en la empresa forestal Lumin ® (31^a 38' 15" S; 55° 54' 17" W) localizado a 12 km al Norte de la ciudad de Tacuarembó. La zona presenta suelos moderadamente profundos, de textura franco arenosa, de color pardo oscuro, baja fertilidad y buen drenaje (MGAP. RENARE, s.f.). Los mismos corresponden al grupo CONEAT 7.2., que está representado por areniscas de Tacuarembó (Molfino, 2002). La temperatura media anual para la zona es de 18 °C y una precipitación acumulada anual de 1400 mm (Castaño et al., 2011).

En octubre de 2012 se implantó un ensayo clonal de *Eucalyptus grandis* e híbridos en una superficie de 1,2 ha para la evaluación de 4 clones: *E. grandis* (G), *E. grandis x camaldulensis* (GC), *E. grandis x tereticornis* (GT) y *E. grandis x urophylla* (GU). El diseño experimental fue en bloques completos aleatorizados, con 3 bloques y 4 parcelas (clones) en cada uno. Las parcelas presentan 10 individuos de cada genotipo. En setiembre 2014 se podó con una intensidad del 50% y un mes después comenzaron las mediciones de parámetros fisiológicos.

3.2. METODOLOGÍA

De cada parcela se seleccionaron dos clones de forma aleatoria para la medición de los siguientes parámetros hídricos: potencial hídrico foliar (Ψ_w), conductancia estomática (gs) y actividad fotosintética (A.). También se midió la altura total (Ht) y el diámetro de referencia (Dap) de cada individuo. Las mediciones de parámetros hídricos y crecimiento se realizaron cada 6-7 semanas desde octubre/2014 hasta mayo/2015. La actividad fotosintética se midió en la última fecha. Además, en esta fecha se colectaron muestras de hojas para analizar la discriminación isotópica de carbono y la presencia de prolina.

3.2.1 Potencial hídrico

En los árboles seleccionados de cada parcela (clon) se tomaron hojas adultas del tercio superior del dosel. Se midió el potencial hídrico base (Ψ_b , MPa) y mediodía (Ψ_{md} , MPa) mediante cámara de presión (PMS Instrument Corp®, Corvallis, OR, USA, Schölander et al., 1965). El Ψ_b se midió en 3 hojas/árbol entre las 4:30 - 6:30 hs y se calculó el promedio por clon. El Ψ_{md} se midió ente las 11:30 - 16:00 hs en 3 hojas de c/árbol y también se calculó el

promedio por clon. A partir de dicha información se calculó el gradiente de potencial hídrico como: $(\Delta\Psi_w) = (\Psi_b - \Psi_{md})$.

3.2.2 Variables dasométricas

En los árboles seleccionados (6 de c/clon) se midió la altura de fuste (Ht) (m) y diámetro de referencia (Dap, m) en las mismas fechas en que se determinó el potencial hídrico foliar. Se utilizó pértiga telescópica (centimetrada) y cinta diamétrica (milimetrada). La información permitió calcular el volumen fustal por árbol (Vol., m³) y la tasa de crecimiento relativo (TCR), mediante las siguientes ecuaciones:

$$\text{Vol.} = ((D_{ap})^2 * \pi/4) * Ht * FF$$

Donde,

FF= factor de forma promedio (se consideró el valor de 0,5)

$$\text{TCR (\%)} = V_n - V_{n-1} / (V_{n-1}) (T_n - T_{n-1}) * 100$$

Donde,

V = volumen fustal (m³) y T = tiempo (días)

3.2.3 Actividad fotosintética y conductancia estomática

En cada árbol se tomaron tres muestras foliares del año en el tercio superior de la copa y se midió: tasa fotosintética (A, $\mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), tasa transpiratoria instantánea (E, $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), conductancia estomática (gs, $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) y concentración interna de CO₂ (Ci) por medio de análisis de gases por infrarrojo IRGA Li-Cor® 6400 (Li-Cor Inc., Lincoln, NE, USA). Se utilizó un flujo de aire de 500 $\mu\text{mol s}^{-1}$ y una concentración de CO₂ externa entre 360 y 380 $\mu\text{L L}^{-1}$. Las medidas se tomaron en los días 07 y 08/05/15 entre las 12:00 y 15:30 hs. La información se utilizó para calcular los promedios por clon y tratamiento.

3.2.4 Eficiencia instantánea en el uso del agua (EUA)

Con la determinación de la tasa fotosintética (A, $\mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) y tasa transpiratoria instantánea (E, $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) se calculó la eficiencia instantánea en el uso del agua (Azcón-Bieto y Talón, 2008) mediante el cociente:

$$\text{EUA} = \frac{\text{tasa fotosintética (A)} (\mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1})}{\text{tasa transpiratoria instantánea (E)} (\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1})}$$

3.2.5 Eficiencia integrada en el uso del agua (EUAI)

En mayo de 2015 se colectaron muestras de hojas del año (3 por árbol) en los mismos árboles en que se midió el potencial hídrico. Las mismas fueron molidas con molino de cuchillas fijas y móviles (MA580 Marconi®) y luego un molino rotatorio (200 Vial Rotator Sampletek®). Cada muestra fue pesada en cápsulas de estaño e introducida en un analizador elemental (1112 FlashEA®), acoplado a un espectrómetro de masa (DELTAplus Thermo Finningan®) en el cual se determinó la abundancia natural de ^{13}C . La precisión (desviación estándar) de la determinación fue de 0,3 partes por mil (‰), la relación isotópica se expresó en notación delta (δ^{13}) en ‰ respecto al estándar Pee Dee Belemnite (PDB, Berriél et al., 2014). La información se utilizó para calcular el valor de discriminación isotópica de carbono (Δ , ‰) como $\Delta = (\delta^{13}\text{Ca} - \delta^{13}\text{C}_{\text{hoja}}) / (1 + \delta^{13}\text{C}_{\text{hoja}} / 1000)$, Farquar et al., 1982).

3.2.6 Información meteorológica

La información meteorológica se obtuvo de la estación INIA de Tacuarembó ("La Magnolia", 31°42'32,59" S 55°49'36,93" W), situada 12 km al Suroeste del ensayo. Los parámetros utilizados fueron: temperatura del aire máxima y mínima diaria ($^{\circ}\text{C}$), precipitación efectiva diaria (mm) y evapotranspiración "Penman" diaria (mm). Con esta información se calculó el déficit de presión de vapor (Dpv, kPa) según Allen et al. (2006):

$$\text{Dpv} = e_s * (1 - \text{HR}/100)$$

$$e_s = \exp \left(\frac{16,78 * T_a - 116,9}{T_a + 237,3} \right)$$

Donde,

T_a = Temperatura del aire ($^{\circ}\text{C}$)

HR = Humedad relativa (%)

Dpv = Déficit de presión de vapor (kPa)

3.2.7 Anatomía estomática

En cada árbol se tomaron muestras foliares del estrato superior de copas (3 brotes por árbol) en la última fecha de muestreo (mayo/2015) para analizar la distribución y frecuencia estomáticas. Para ello, se realizaron levantados de epidermis mediante tratamiento con esmalte incoloro en ambas caras de la hoja (adaxial y abaxial, El-Sharkawy et al. 1985, Sánchez et al. 2013). Las imágenes se obtuvieron con una cámara digital (Dino Eye 2.0®)

acoplada a un microscopio óptico (Nikon E 1000) y se cuantificó la densidad estomática de ambas caras (No. mm⁻²) con el programa Dino-Lite®.

3.2.8 Determinación de prolina

En los mismos brotes colectados para el estudio de estomas, se analizó el contenido de prolina. Para este estudio se eligió la última fecha (7/05/15) porque en ese momento se observó el menor potencial hídrico base (Ψ_b). En total se tomaron 72 muestras (3 por cada árbol seleccionado). Las mismas se secaron a 65 °C durante 48 h en estufa (Thelco®, modelo 26) y luego se procedió a la molienda con un triturador de mandíbula (Karl Kob®). El material obtenido se almacenó en sobres de papel hasta su procesamiento. Posteriormente, se pesaron 25 mg de cada muestra con balanza de precisión (Adventurer OHAUS®) y se colocó su contenido en tubos eppendorf (1,5 mL). La determinación de prolina se realizó en base a modificaciones del protocolo utilizado por Shvaleva et al. (2005). Finalmente, se midió la absorbancia con espectrofotómetro (UV-1201V, Shimadzu Corporation®) a 515 nm utilizando prolina como estándar.

3.2.9 Análisis estadístico

El análisis se realizó por medio de modelos lineales de efectos fijos (MLG) para medidas repetidas en el tiempo. El contraste de medias se realizó por medio de Test de Tukey ($p < 0,05$). La información se procesó con el paquete estadístico InfoStat 2009® (Universidad Nacional de Córdoba, Argentina). El MLG propuesto fue:

$$Y_{ijk} = \mu + \text{Bloque}_i + \text{Clon}_j + \text{Fecha}_k + (\text{Clon} * \text{Fecha})_{jk} + E_{ijk}$$

Donde,

Y = Variable dependiente o de respuesta
 μ = Media general de cada variable
E = Error experimental

4. RESULTADOS

4.1. INFORMACIÓN METEOROLÓGICA

4.1.1. Temperatura y precipitación

El trabajo se inició en primavera y se extendió hasta mediados del otoño. Durante las mediciones de primavera (octubre y diciembre) la temperatura promedio fue 25 °C respectivamente. En verano (enero y marzo) fue 24,4 °C mientras que en otoño (mayo) fue de 10,3 °C (Figura 1).

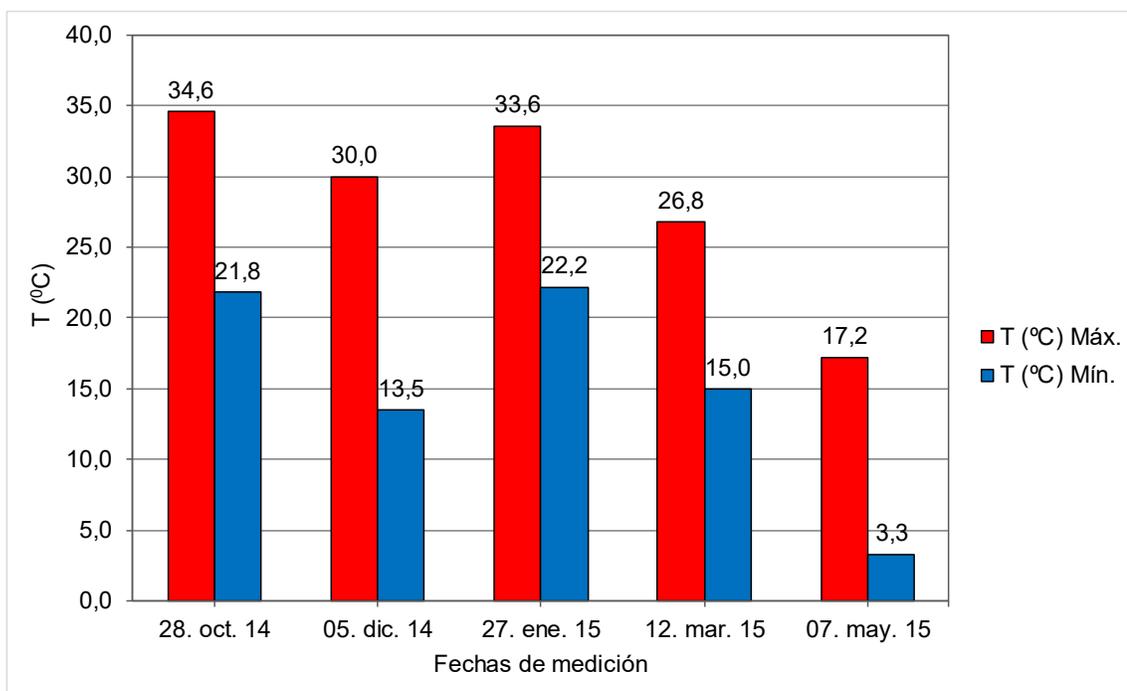


Figura 1. Temperatura máxima y mínima diaria (T, °C) registrada en la Unidad Experimental “La Magnolia” INIA. GRAS (Tacuarembó, Uruguay) entre octubre/2014 y mayo/2015.

La precipitación acumulada hasta el verano de 2015 fue de 1003,7 mm en el periodo mayo/2014 - mayo/2015, alcanzando un máximo acumulado de 209,9 mm entre la fecha de medición de diciembre y la del mes de enero (Figura 2). A su vez, la precipitación de 2014 fue un 33,3% mayor al promedio anual mientras que el año 2015 se aproximó a la media histórica de la región (1476 mm, Castaño et al., 2011).

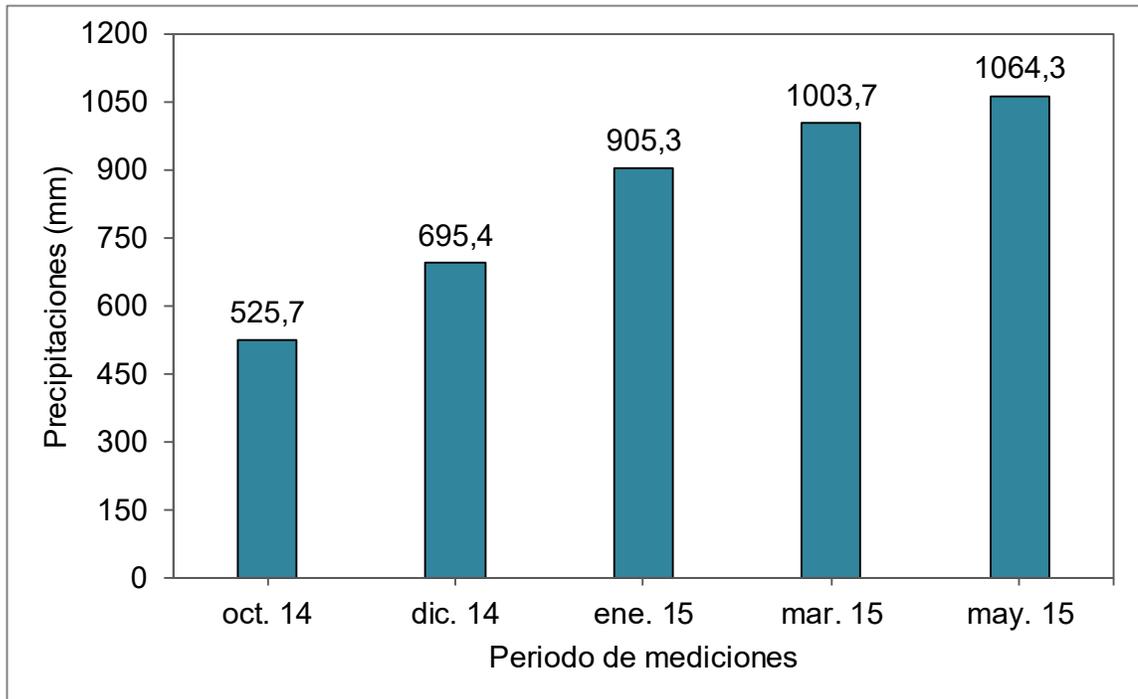


Figura 2. Precipitación acumulada (mm) entre octubre/2014 y mayo/2015 en la unidad experimental “La Magnolia” de INIA (Tacuarembó, Uruguay).

4.1.2. Demanda atmosférica

El déficit de presión de vapor (Dpv) es un indicador de la demanda atmosférica que se relaciona con la evapotranspiración y la temperatura. El Dpv durante el periodo del estudio presentó una dinámica estacional similar a la temperatura (Figura 1). Los valores máximos se registraron en primavera-verano disminuyendo hacia el otoño (Figura 3).

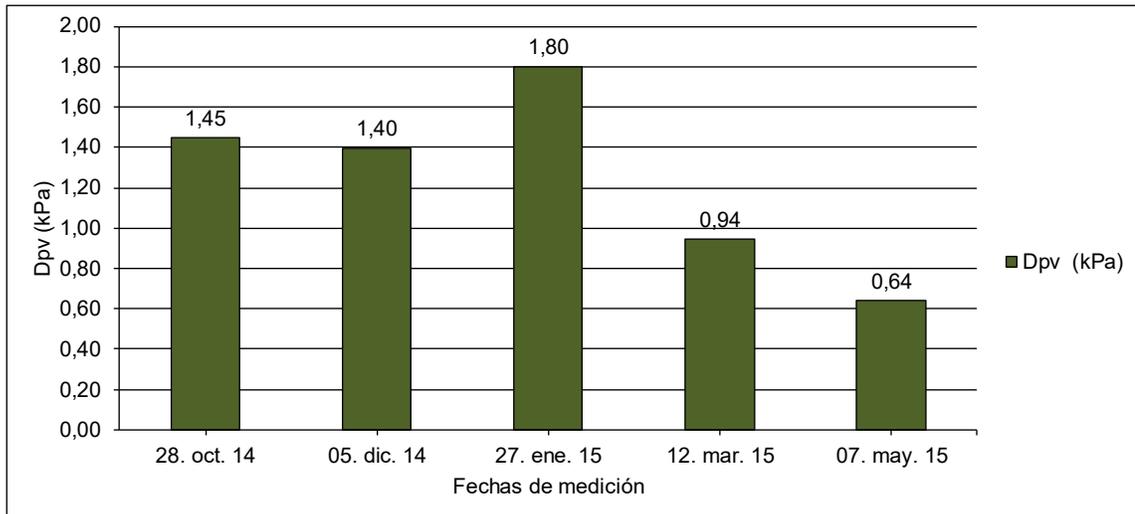


Figura 3. Déficit de presión de vapor (Dpv) diario entre octubre/2014 y mayo/2015 registrado entre las 11:30 y las 16:00 hs durante la medición del potencial hídrico, unidad experimental “La Magnolia” INIA (Tacuarembó, Uruguay).

4.2. RELACIONES HÍDRICAS

4.2.1. Potencial hídrico base (Ψ_b)

El potencial hídrico base (Ψ_b) presentó diferencias significativas entre fechas ($p < 0,0001$), sin embargo, no existió efectos significativos entre clones ni interacción clon*fecha (Cuadro 1). El Ψ_b presentó el menor registro en la medición de mayo y en marzo se observó el mayor (Cuadro 2).

Cuadro 1. Resultados del anava para las variables Ψ_b , Ψ_{md} y $\Delta\Psi_w$ ($p < 0,05$).

Fuente de variación	Grados de libertad	Valor p>F		
		Ψ_b	Ψ_{md}	$\Delta\Psi_w$
Clon	3	0,6828	<0,0001	<0,0001
Fecha	4	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Clon*fecha	12	0,8956	<0,0001	<0,0001
C.V. (%)		49,31	18,50	21,80
Media		-0,2065	-2,288	2,06

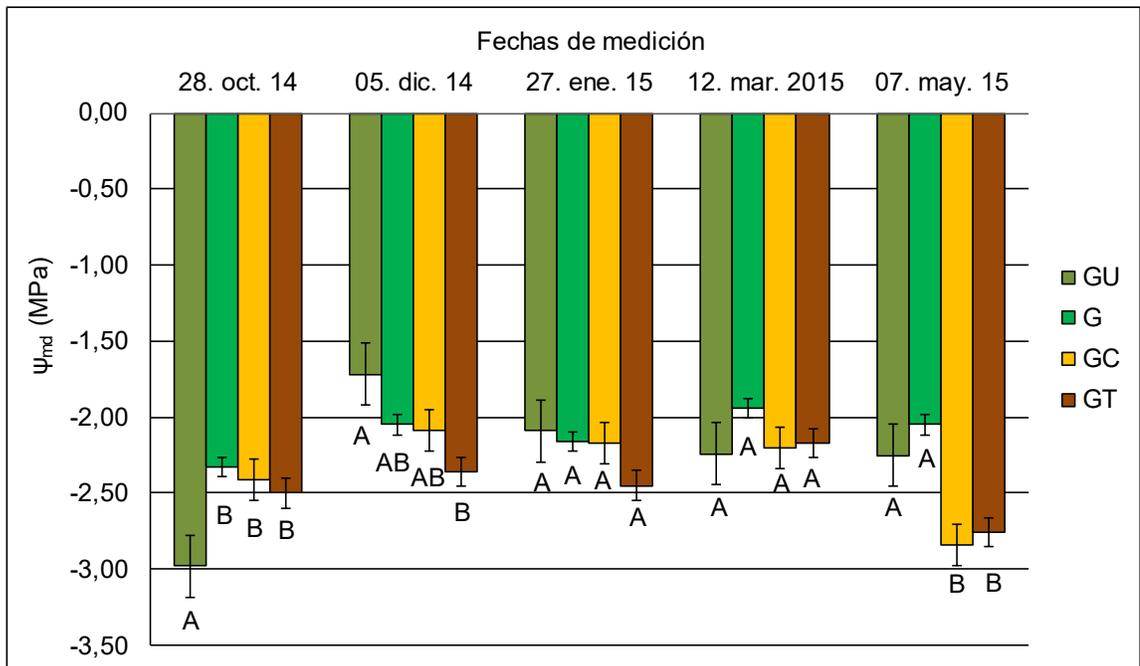
Cuadro 2. Promedio del potencial hídrico base (Ψ_b) en cada fecha de muestreo.

Fecha	Ψ_b (MPa)
07. may. 2015	-0,26 a
28. oct. 2014	-0,22 ab
27. ene. 2015	-0,20 bc
05. dic. 2014	-0,20 bc
12. mar. 2015	-0,17 c

Letras distintas indican diferencias significativas (Tukey $p < 0,05$).

4.2.2. Potencial hídrico mediodía (Ψ_{md})

El potencial hídrico mediodía (Ψ_{md}) mostró efectos significativos entre clones ($p < 0,0001$), fechas ($p < 0,0001$) e interacción clon*fecha ($p < 0,0001$) (Cuadro 1), en este sentido, el clon GU mostró diferencias en las primeras dos fechas y varió en relación con las dos últimas, observándose los menores valores en la primera fecha ($-2,98 \pm 0,09$ MPa) y los mayores en la segunda fecha ($-1,72 \pm 0,09$ MPa), respecto a las dos últimas mediciones, los valores disminuyeron sin alcanzar los valores de la primera. El clon GU ($-2,26 \pm 0,04$ MPa) junto al clon G ($-2,11 \pm 0,04$ MPa) presentaron los mayores valores de Ψ_{md} promedio. En el caso de los clones con genotipos colorados (GC y GT), se observaron los valores más bajos en la última fecha de muestreo, el clon GC registró $-2,84 \pm 0,09$ MPa y clon GT $-2,76 \pm 0,09$ MPa, existieron diferencias con el resto de las mediciones sin variaciones entre sí. El clon GT mostró el menor Ψ_{md} promedio ($-2,45 \pm 0,04$ MPa) y el clon G fue el único genotipo que no varió entre las diferentes fechas (Figura 4).

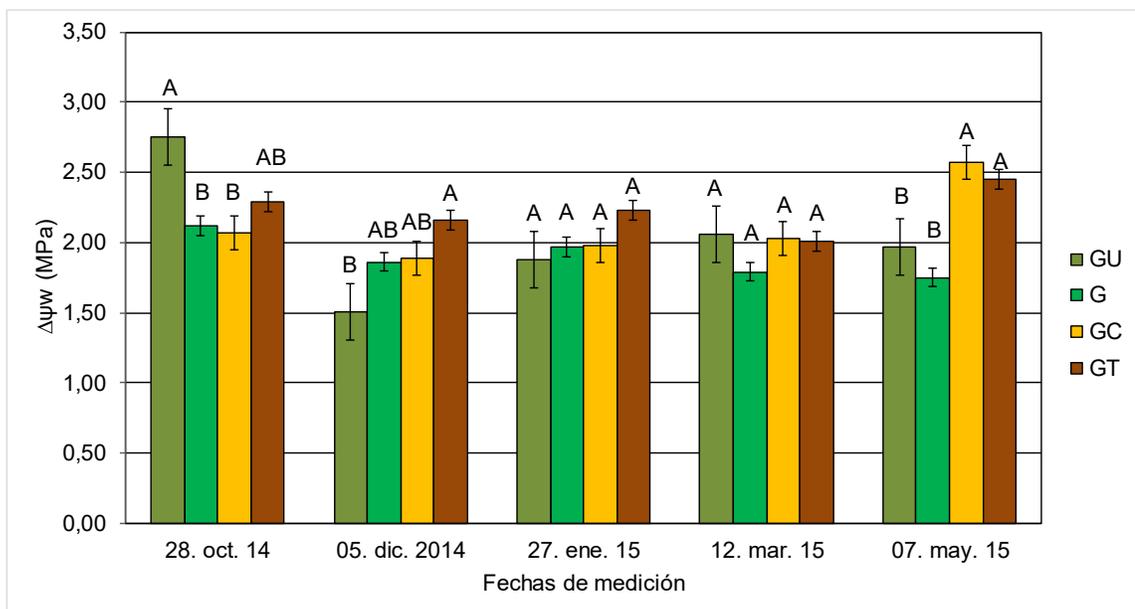


Las barras de error indican el error estándar. letras distintas indican diferencias significativas (Tukey $p < 0,05$).

Figura 4. Promedio del potencial hídrico mediodía (Ψ_{md}) para cada clon en cada fecha de muestreo

4.2.3. Gradiente de potencial hídrico ($\Delta\Psi_w$)

La diferencia entre el Ψ_b y el Ψ_{md} ($\Delta\Psi_w$) es un estimador de la actividad transpiratoria. Existieron diferencias significativas entre clones ($p < 0,0001$), entre fechas ($p < 0,0001$) y también interacción clon*fecha ($p < 0,0001$, Cuadro 1). La variable $\Delta\Psi_w$ mostró una dinámica similar al Ψ_{md} en algunos genotipos. El clon G al igual que el clon GT se comportó sin diferencias entre las fechas de medición. En el caso del clon GU se diferenció en tres de las cinco fechas de muestreo, observándose el mayor valor en la primera fecha ($2,75 \pm 0,11$ MPa) y el menor en la segunda fecha ($1,51 \pm 0,11$ MPa), durante el verano hasta el otoño los valores se incrementaron y fueron similares. En promedio los valores de los clones G ($1,90 \pm 0,05$ MPa) y GU ($2,03 \pm 0,05$ MPa) fueron los menores. En el caso del clon GC en la última fecha de muestreo se observó su mayor $\Delta\Psi_w$ ($2,57 \pm 0,11$ MPa) diferenciándose únicamente con las tres fechas del verano (Figura 5).



Las barras de error indican el error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas (Tukey $p < 0,05$).

Figura 5. Promedio del gradiente de potencial hídrico ($\Delta\Psi_w$) para cada clon y en cada fecha de muestreo.

4.2.4. Relaciones entre variables

Las relaciones entre variables muestran que no existió un vínculo significativo entre el $\Delta\Psi_w$ y el Ψ_b ($r = 0,12$). Sin embargo, cuando se relaciona

el $\Delta\Psi_w$ y el Ψ_{md} se observa una relación lineal directa ($r = 0,98$). En ambos análisis se compara el conjunto de todas las mediciones de todas las fechas muestreadas (Figuras 6 y 7).

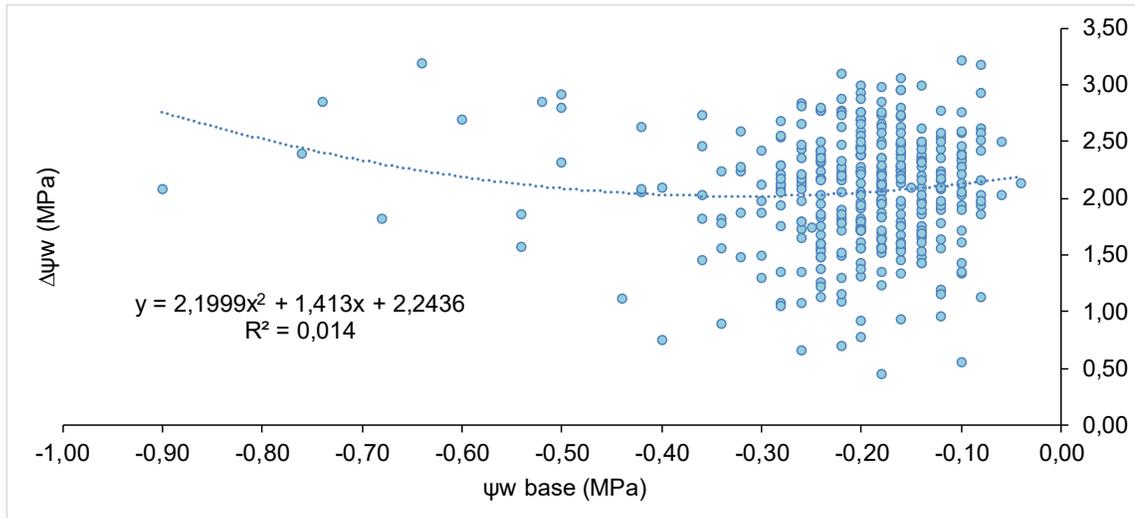


Figura 6. Relación entre el gradiente de potencial hídrico ($\Delta\Psi_w$) y el potencial hídrico base (Ψ_b) para el conjunto de datos.

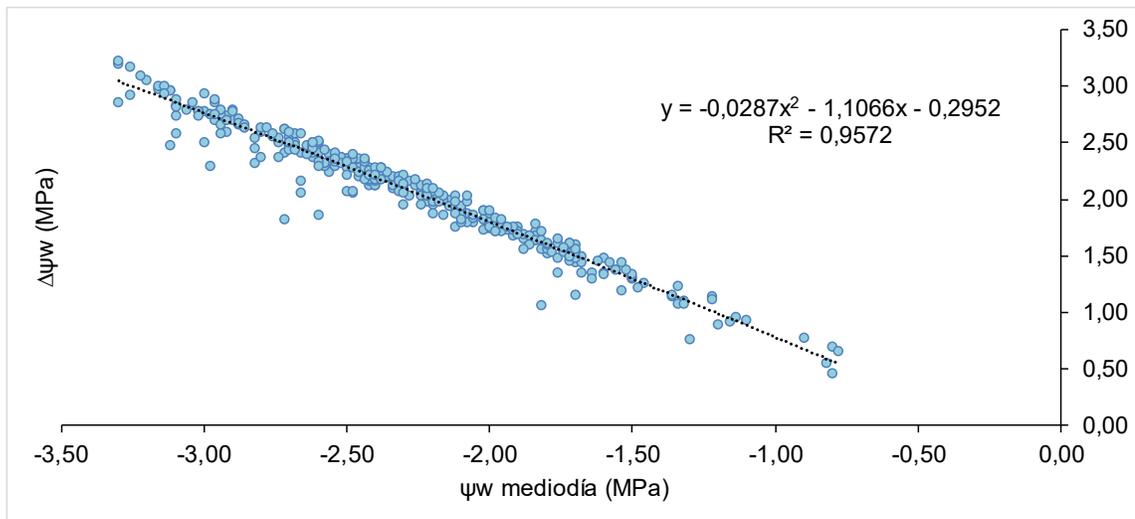


Figura 7. Relación entre gradiente de potencial hídrico ($\Delta\Psi_w$) y potencial hídrico mediodía (Ψ_{md}) para el conjunto de datos.

4.3. ACTIVIDAD FOTOSINTÉTICA

La tasa fotosintética, la conductancia estomática (g_s) y la tasa transpiratoria (E) se midieron en la última fecha del trabajo (mayo/2015). La

tasa fotosintética arrojó efectos significativos entre clones ($p < 0,0001$), se observó que los genotipos que presentaron los mayores valores fueron G, GC y GT, mientras que GU presentó el promedio más bajo, aunque no se diferenció del clon G (Cuadro 3). En el caso de la variable g_s , también existieron diferencias significativas entre los clones ($p < 0,0001$), siendo GC y GT los clones con mayores promedios (Cuadro 3).

En la tasa transpiratoria instantánea existieron diferencias significativas entre clones ($p < 0,0001$). Los clones GU y G presentaron los valores más bajos promedio, $2,05 \pm 0,12 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ y $2,20 \pm 0,13 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ respectivamente, sin diferencias significativas entre ambos. En los clones GT y GC se observó los valores mayores promedio, $3,40 \pm 0,13 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ y $4,85 \pm 0,13 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ respectivamente (Cuadro 3).

Cuadro 3. Valores promedio de las variables tasa fotosintética (A , $\mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), conductancia estomática (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) y tasa transpiratoria instantánea (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) para cada genotipo del estudio.

Clon	A ($\mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	g_s ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	E ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
GC	15,94 a	0,30 a	4,85 a
GT	15,27 a	0,18 b	3,40 b
G	13,89 ab	0,11 c	2,20 c
GU	11,91 b	0,10 c	2,05 c

Contraste de medias por Tukey ($p < 0,05$).

Por otro lado, se estudió la relación entre la tasa fotosintética (A) y la conductancia estomática (g_s) para los cuatro clones. Se observó correlaciones significativas en todos los genotipos (Cuadro 4), aunque el grado de asociación entre las variables mostró diferencias en las respuestas de los clones. En los casos de los genotipos G, GC y GT la respuesta a incrementos en g_s se asocian a una mayor tasa fotosintética, en cambio en el clon GU, aunque se observó un patrón similar al resto, una vez alcanzada una máxima tasa fotosintética, incrementos en g_s la fotosíntesis disminuyó. A su vez, los clones G y GU alcanzan sus mayores valores de tasa fotosintética a menor g_s que los clones GT y GC (Figuras 8 a 11).

Cuadro 4. Coeficientes de correlación (Pearson, r) entre las variables fotosíntesis neta (A, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) y conductancia estomática (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) para cada clon del estudio ($p < 0,05$).

Clones	Correlación entre A y g_s	p-valor
G	0,90	<0,0001
GU	0,66	0,002
GC	0,49	0,04
GT	0,73	<0,0001

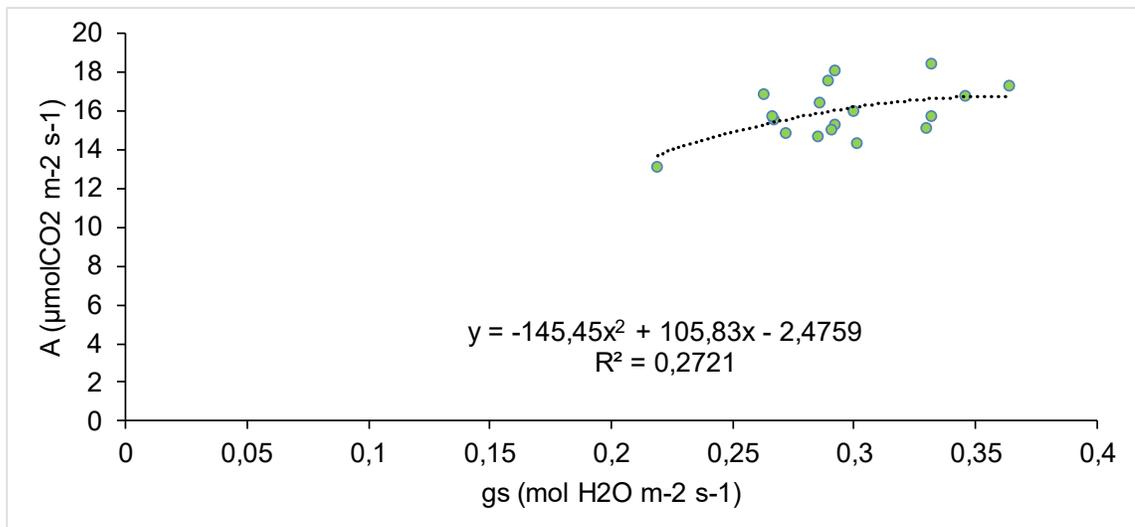


Figura 8. Relación entre las variables fotosíntesis neta (A) y conductancia estomática (g_s) para el clon GC.

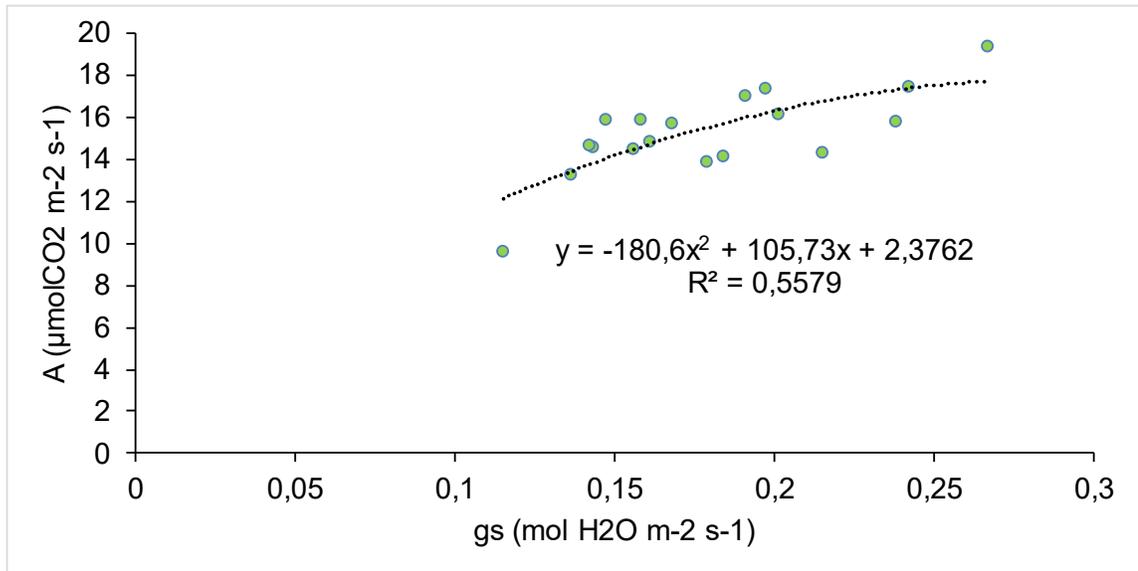


Figura 9. Relación entre las variables fotosíntesis neta (A) y conductancia estomática (gs) para el clon GT.

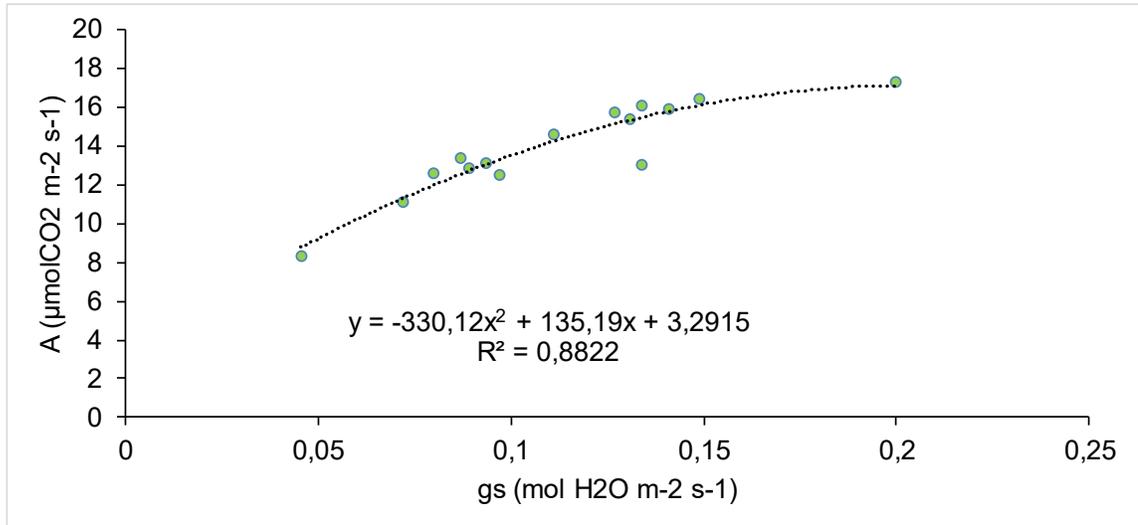


Figura 10. Relación entre las variables fotosíntesis neta (A) y conductancia estomática (gs) para el clon G.

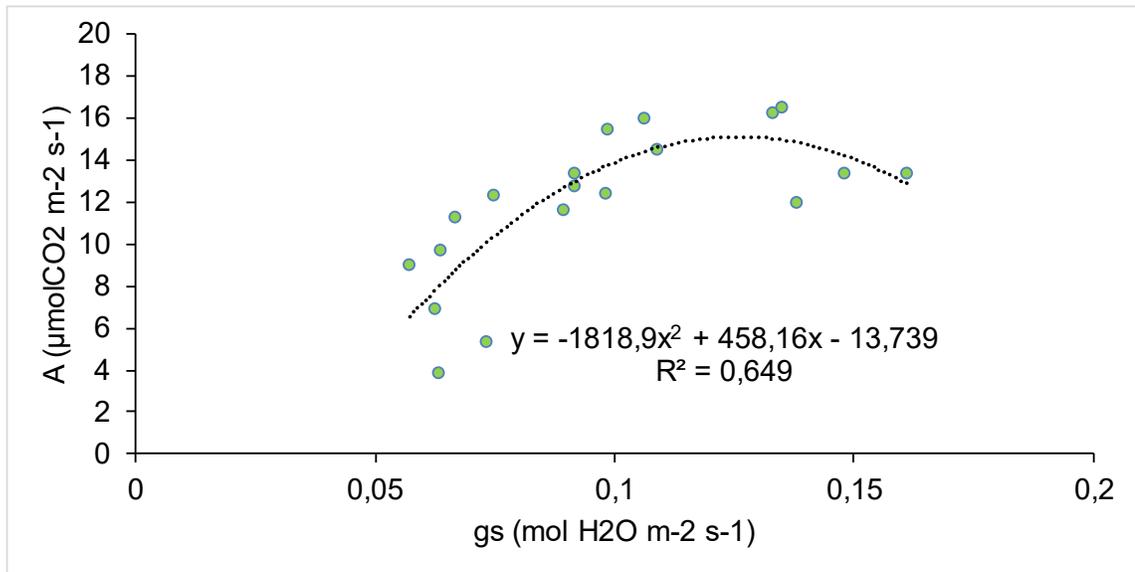


Figura 11. Relación entre las variables fotosíntesis neta (A) y conductancia estomática (gs) para el clon GU.

También se analizó por medio de regresión la asociación entre la tasa transpiratoria instantánea (E) y la conductancia estomática (gs) en los cuatro genotipos (Figura 12). Todos los clones se ajustaron a los modelos con una elevada correlación de forma significativa (Cuadro 5). En el análisis el clon GU presentó el mayor incremento de E por cada aumento en gs, observándose una fuerte dependencia de E frente a cambios en la apertura estomática. El genotipo GC mostró la menor pendiente, y los clones G y GT presentaron pendientes similares, siendo intermedios entre los otros dos clones (Figura 12).

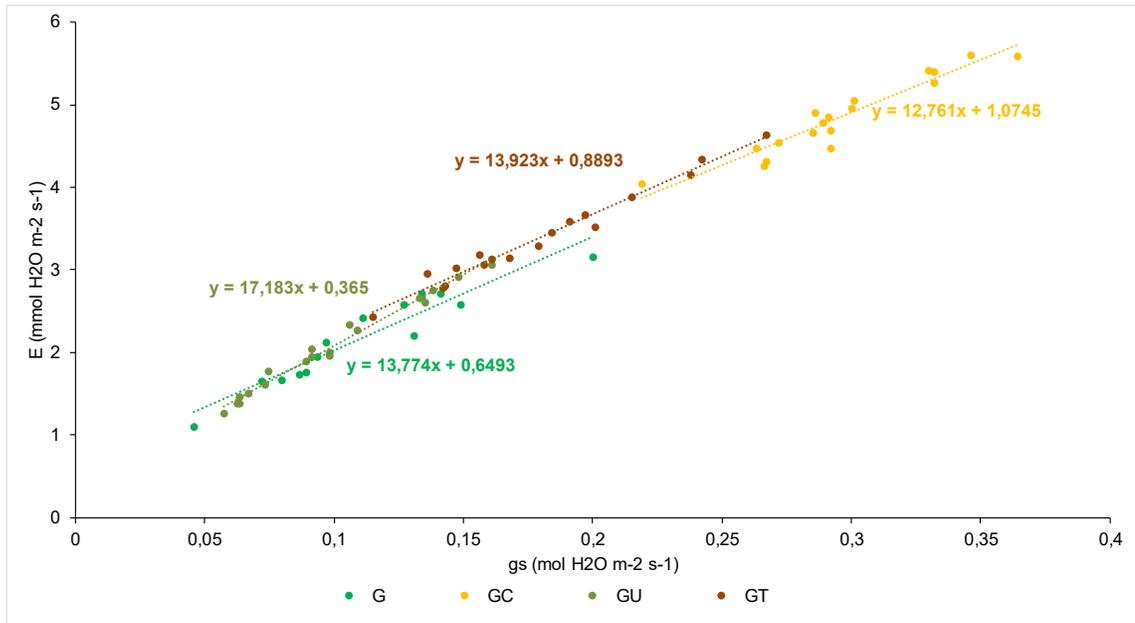


Figura 12. Relación entre las variables tasa transpiratoria (E) y conductancia estomática (gs) para los cuatro clones en estudio.

Cuadro 5. Coeficientes de correlación (Pearson, r) entre las variables tasa transpiratoria instantánea (E, mmol H₂O m⁻² s⁻¹) y conductancia estomática (gs, mol H₂O m⁻²s⁻¹) para cada clon (p<0,05).

Clones	Correlación entre E y gs	p-valor
GU	0,99	<0,0001
GT	0,99	<0,0001
G	0,95	<0,0001
GC	0,95	<0,0001

4.4. RELACIONES ENTRE ACTIVIDAD TRANSPIRATORIA Y PARÁMETROS HÍDRICOS

En el análisis de las relaciones entre E con el Ψ_m y el $\Delta\Psi_w$, se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson. Se observó que el genotipo G fue el único que mostró una relación lineal de tipo negativa entre E y Ψ_{md} (Cuadro 6). Respecto a la asociación entre E y $\Delta\Psi_w$ ninguno de los clones se vinculó linealmente de manera significativa.

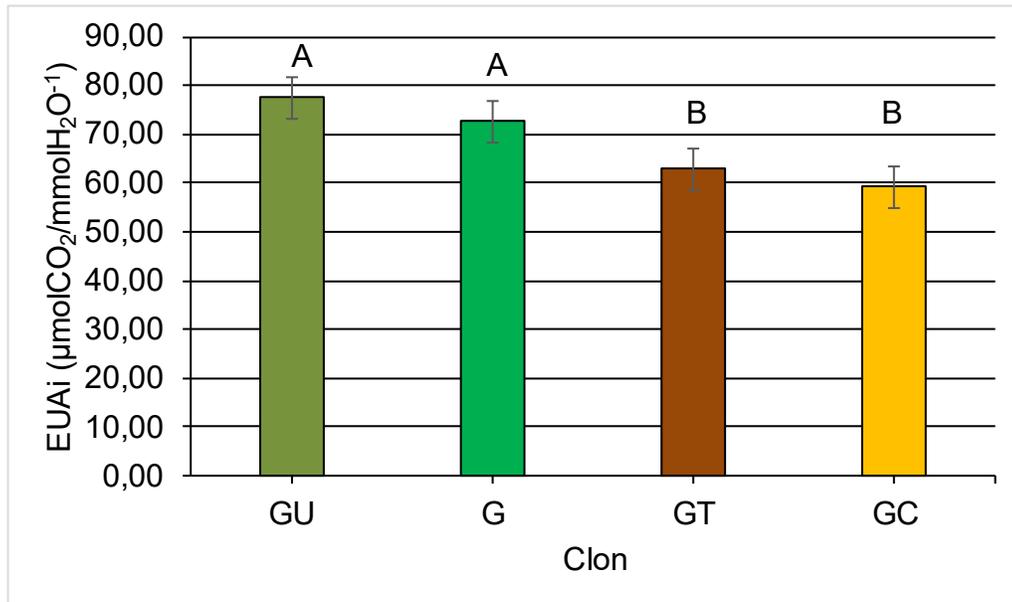
Cuadro 6. Coeficientes de correlación (Pearson, r) entre el potencial hídrico mediodía (Ψ_{md} , MPa) y tasa transpiratoria instantánea (E, $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Y entre el gradiente de potencial hídrico ($\Delta\Psi_w$, MPa) y la tasa transpiratoria instantánea (E, $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) para cada genotipo ($p < 0,05$).

Clones	Correlación entre Ψ_{md} y E	p-valor	Correlación entre $\Delta\Psi_w$ y E	p-valor
G	-0,51	0,05	0,39	0,15
GU	0,25	0,31	-0,37	0,14
GC	0,28	0,25	-0,29	0,24
GT	0,23	0,37	-0,16	0,59

4.5. EFICIENCIA EN EL USO DEL AGUA

4.5.1. Eficiencia instantánea en el uso del agua (EUA)

La eficiencia instantánea en el uso del agua varió entre los diferentes clones ($p < 0,0001$). El clon G fue el material con mayor eficiencia en el uso del agua ($6,47 \pm 0,23 \mu\text{mol CO}_2 / \text{mmol H}_2\text{O}$) seguido del clon GU ($5,88 \pm 0,21 \mu\text{mol CO}_2 / \text{mmol H}_2\text{O}$), mientras que los clones menos eficientes fueron GT ($4,54 \pm 0,21 \mu\text{mol CO}_2 / \text{mmol H}_2\text{O}$), y GC ($3,30 \pm 0,21 \mu\text{mol CO}_2 / \text{mmol H}_2\text{O}$, Figura 13).

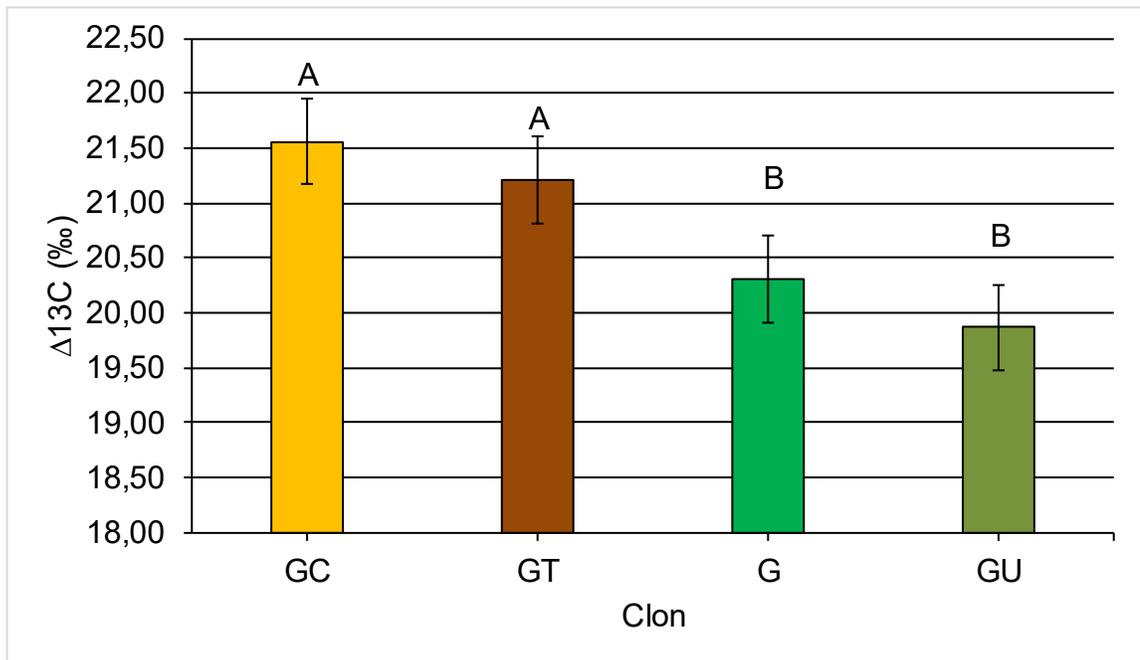


Las barras de error indican el error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas (Tukey $p < 0,05$).

Figura 13. Variable eficiencia instantánea en el uso del agua (EUA) para cada clon en la última fecha de muestreo, mayo/2015.

4.5.2. Eficiencia integrada en el uso del agua (EUAi)

El valor de $\Delta^{13}\text{C}$ se relaciona de una forma inversa con la EUAi. En su análisis, al igual que la eficiencia instantánea en el uso del agua, la variable integrada mostró diferencias significativas entre los clones por medio de la variable $\Delta^{13}\text{C}$ ($p < 0,0001$). Los clones G ($20,31 \pm 0,14 \Delta^{13}\text{C} \text{ ‰}$) y GU ($19,87 \pm 0,14 \Delta^{13}\text{C} \text{ ‰}$) presentaron mayor eficiencia en el uso del agua (menores valores de $\Delta^{13}\text{C}$) y no se observaron diferencias entre ellos. Los clones GT ($21,21 \pm 0,14 \Delta^{13}\text{C} \text{ ‰}$) y GC ($21,56 \pm 0,14 \Delta^{13}\text{C} \text{ ‰}$) fueron lo menos eficientes en el uso del agua (mayores $\Delta^{13}\text{C}$, Figura 14).

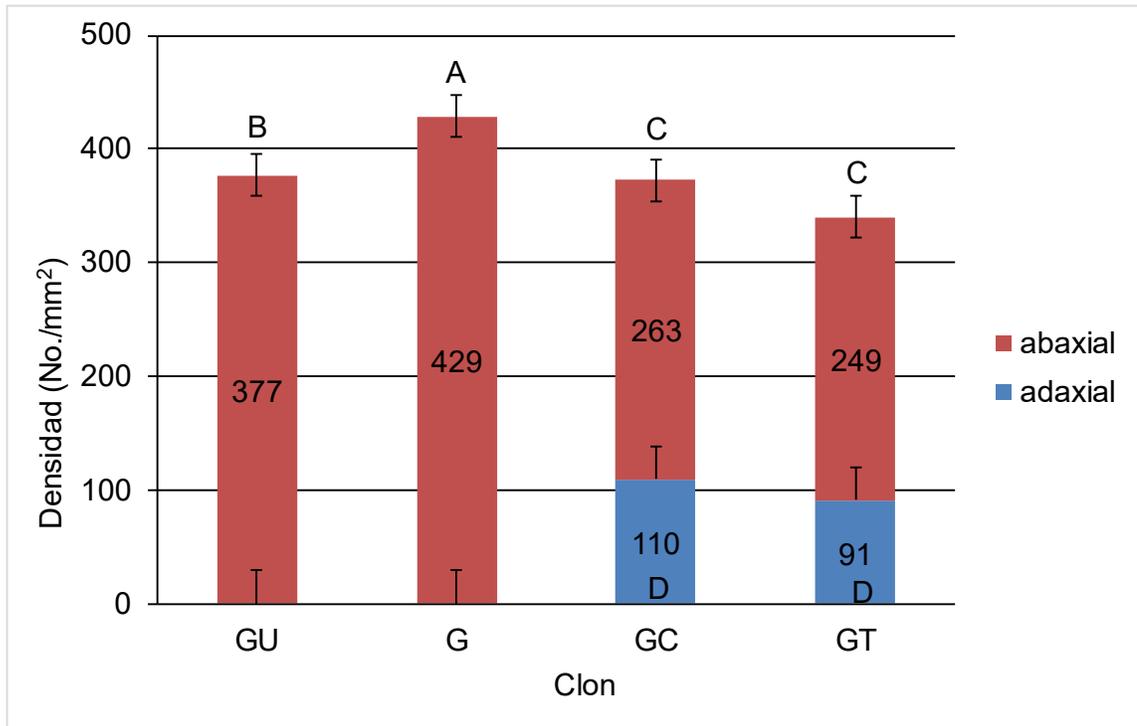


Las barras de error indican el error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas (Tukey $p < 0,05$).

Figura 14. Variable discriminación isotópica del carbono ($\Delta^{13}\text{C}$) para cada genotipo en la última fecha de muestreo, mayo/2015.

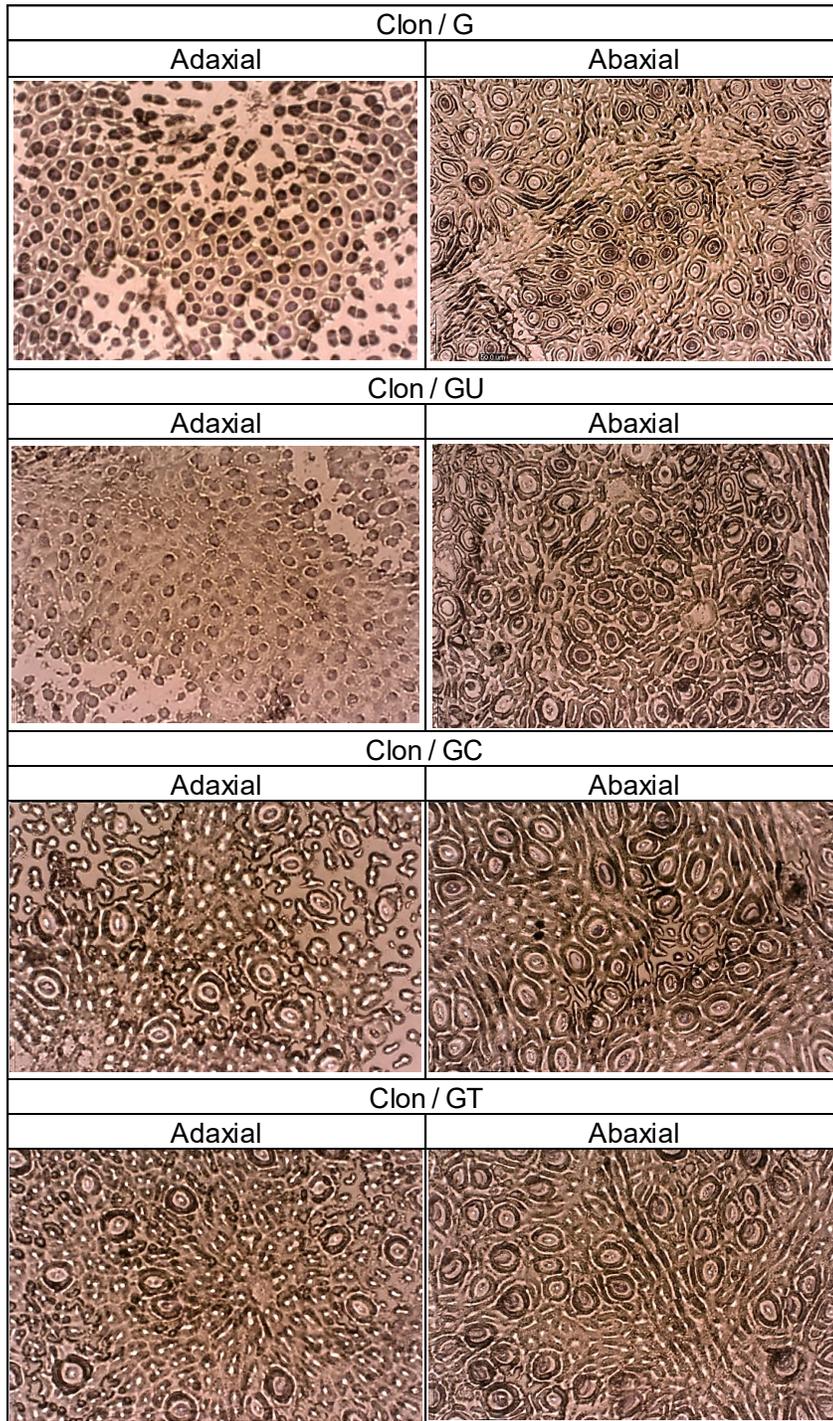
4.6. ANATOMÍA ESTOMÁTICA

En el análisis de la anatomía estomática la variable densidad estomática (No. /mm²) mostró diferencias significativas entre clones ($p=0,003$) y entre tipo de cara foliar ($<0,0001$, Figura 23). Los clones GC y GT presentaron estomas en ambas caras foliares (anfiestomáticas), en cambio los clones G y GU presentaron estomas solamente en la cara abaxial (envés), por lo tanto, sus hojas se denominan hipoestomáticas. Además, las hojas de los clones G y GU presentaron estomas completamente inmaduras en su epidermis superior (Figura 15).



Las barras de error indican el error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas (Tukey $p < 0,05$).

Figura 15. Variable densidad estomática foliar (No. /mm²) para cada genotipo según cara foliar.



Área de foto = 0,1532 mm².

Figura 16. Imágenes obtenidas con cámara digital acoplada a microscopio óptico de levantado de caras foliares (adaxiales y abaxiales), tratadas con esmalte incoloro correspondientes a los 4 clones estudiados.

4.7. VARIABLES DASOMÉTRICAS

En el análisis de las variables dasométricas tanto el Dap (m), la Ht (m) como el Vol ($\text{m}^3 \text{árbol}^{-1}$) arrojaron diferencias significativas entre clones y fechas. En el caso de la tasa de crecimiento relativo no existió diferencias entre los genotipos ni interacción clon*fecha, pero si hubo diferencias significativas entre las fechas (Cuadro 7).

Cuadro 7. Resultados del anava para las variables Dap (m), Ht (m), Vol ($\text{m}^3 \text{árbol}^{-1}$) y TCR volumen (%), $p < 0,05$.

Fuente de variación	Grados de libertad	Valor p>F			
		Dap (m)	Ht (m)	Vol ($\text{m}^3 \text{árbol}^{-1}$)	TCR volumen (%)
Clon	3	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,2827
Fecha	4	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0192
Clon*fecha	12	0,93	0,97	0,91	0,8602
C.V. (%)		7,39	16,07	26,23	88,35
Media		0,136	10,39	0,16	0,148

En el análisis de los genotipos la variables Dap (m), Ht (m) y Vol ($\text{m}^3 \text{árbol}^{-1}$) promedio presentaron una evolución creciente entre fechas, se incrementaron desde la primavera (octubre) hasta el otoño (marzo / mayo) (Cuadro 9). En los clones G, GC y GU se observaron los mayores Dap promedio ($0,14 \pm 0,002 \text{ m}$) y el clon GT presentó el valor más bajo ($0,12 \pm 0,002 \text{ m}$, Cuadro 8). La altura total del fuste (Ht, m) también mostró variación entre los genotipos, los clones G ($11,61 \pm 0,33 \text{ m}$), GC ($10,59 \pm 0,33 \text{ m}$) y GT ($10,48 \pm 0,33 \text{ m}$) tuvieron los valores mayores y el clon GU ($8,88 \pm 0,33 \text{ m}$) el menor. De este modo el volumen fustal en los clones G ($0,19 \pm 0,01 \text{ m}^3$) y GC ($0,17 \pm 0,01 \text{ m}^3$) fueron los mayores, siendo los clones GT ($0,13 \pm 0,01 \text{ m}^3$) y GU ($0,14 \pm 0,01 \text{ m}^3$) los de menor volumen (Cuadro 8).

Cuadro 8. Valores promedio de las variables: Dap (m), Ht (m) y Vol (m³ árbol⁻¹) para cada uno de los genotipos estudiados.

Clones	Dap (m)	Clones	Ht (m)	Clones	Vol (m ³ árbol ⁻¹)
G	0,14 a	G	11,61 a	G	0,19 a
GC	0,14 a	GC	10,59 ab	GC	0,17 a
GU	0,14 a	GT	10,48 b	GU	0,14 b
GT	0,12 b	GU	8,88 c	GT	0,13 b

Contraste de medias por Tukey (p<0,05).

Cuadro 9. Valores promedio de las variables: Dap (m), Ht (m) y Vol (m³ árbol⁻¹) en cada una de las fechas muestreadas.

Fechas		Variables dasométricas		
		Dap (m)	Ht (m)	Vol (m ³ árbol ⁻¹)
07. may.	5 ^a .	0,15 a	11,88 a	0,21 a
12. mar.	4 ^a .	0,14 ab	11,36 a	0,19 ab
27. ene.	3 ^a .	0,14 b	10,57 ab	0,16 b
05. dic.	2 ^a .	0,13 c	9,49 bc	0,12 c
28. oct.	1 ^a .	0,12 c	8,65 c	0,11 c

Contraste de medias por Tukey (p<0,05).

En el análisis realizado entre fecha el parámetro tasa de crecimiento relativo (%) mostró diferencias significativas entre las fechas estudiadas (Cuadro 10). La última fecha de medición fue la única que se diferenció del resto, a su vez, arrojó el menor valor (Cuadro 10).

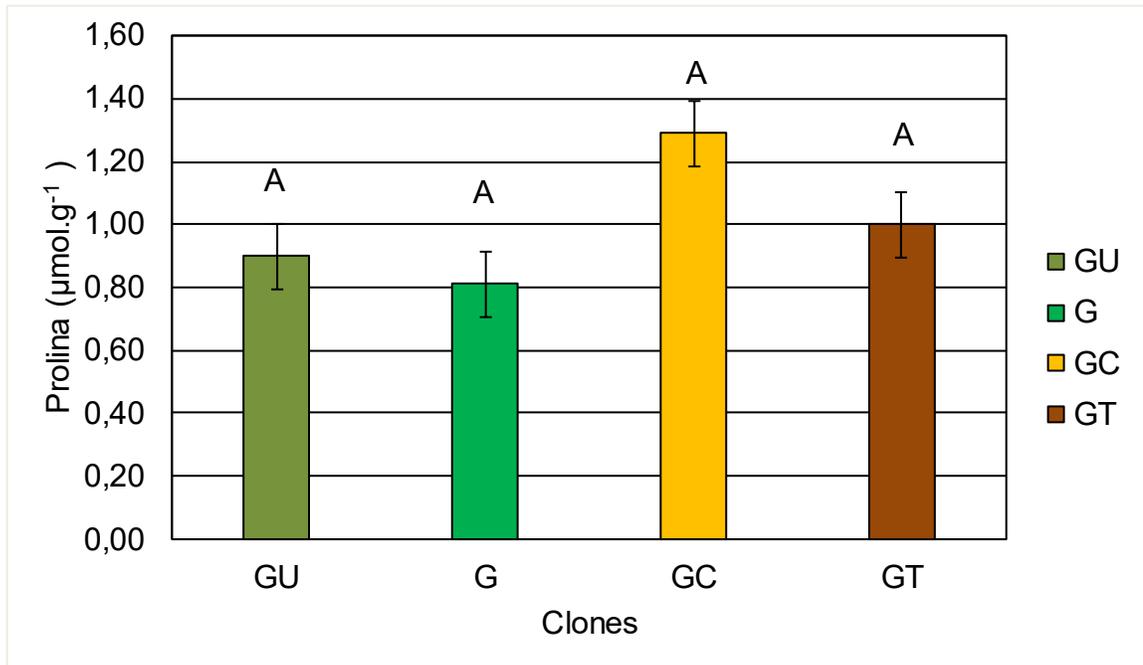
Cuadro 10. Valores promedio de la TCR (Vol., %) en cada una de las fechas muestreadas.

Fechas		TCR volumen (%)
28. oct.	n/c.	n/c.
27. ene.	3 ^a .	0,22 a
12. mar.	4 ^a	0,14 ab
05. dic.	2 ^a	0,13 ab
07. may.	5 ^a .	0,11 b

Contraste de medias por Tukey ($p < 0,05$).

4.8. VARIABLES DE RESPUESTA AL DÉFICIT HÍDRICO

El estudio de la concentración del aminoácido prolina, analizada en la última fecha de medición (mayo/2015) no arrojó diferencias significativas entre clones ($p = 0.3185$, Figura 17).



Las barras de error indican el error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas (Tukey $p < 0,05$).

Figura 17. Valores promedio de la concentración foliar de aminoácido prolina, para cada clon en la última fecha de medición (mayo/2015).

5. DISCUSIÓN

5.1. RELACIONES HÍDRICAS

5.1.1. Potencial hídrico

A nivel diario los menores valores de potencial hídrico foliar (Ψ_w) se registraron al mediodía (Ψ_{md}) y los mayores antes del amanecer (Ψ_b). Los datos del Ψ_b reflejan el estado hídrico del suelo, ya que por la noche la transpiración es mínima y los árboles recuperan el agua perdida en el día equilibrándose con el contenido hídrico del suelo (Begg y Turner 1970, Sellin 1999, Wright 2012). En cambio, el Ψ_{md} manifiesta el estado hídrico foliar cuando la transpiración es máxima (Azcón-Bieto y Talón 2008, Taiz y Zeiger 2010). El patrón estacional mostró diferencias entre fechas en ambos parámetros. Existieron precipitaciones con valores acumulados superiores al promedio durante el verano, y el Ψ_b reflejó dicha variación (Figura 2), observándose valores mayores en verano y menores en otoño (Cuadro 2 y Figura 4).

Condiciones ambientales de alta demanda evaporativa (D_{pv} alto) y humedad del suelo ampliamente fluctuante, afectan a la tasa transpiratoria por medio del control estomático modificando el intercambio gaseoso (Franks et al., 2007). Los resultados sugieren que en promedio los híbridos disminuyeron la transpiración en condiciones de elevado D_{pv} como se observó en los meses de verano (Figuras 3 y 5). La variable Ψ_{md} mostró un patrón similar al gradiente de potencial hídrico ($\Delta\Psi_w$), esperable por la relación significativa entre ambos (Figura 7). El parámetro Ψ_b exhibió variaciones estacionales atribuidas fundamentalmente a las precipitaciones acumuladas más que por el D_{pv} (Figuras 2 y 3). Los valores del Ψ_b con buenos suministros de agua se aproximaron con los valores reportados por Dye (1996) para plantaciones de *E. grandis* en Sudáfrica (-0,3 Mpa) y por Mielke (1999) en híbridos de *E. grandis* plantados en Brasil (-0,4 Mpa).

5.1.2. Variación clonal

A diferencia del Ψ_b , el Ψ_{md} mostró diferencias entre clones, El clon G no varío entre estaciones, pudiendo haber manifestado un mayor control estomático. En los casos de híbridos de *E. grandis* con genotipos “colorados” presentaron el promedio más bajo (GC Y GT) pudiendo haber transpirado más intensamente, exceptuando los meses de verano donde todos los genotipos presentaron valores de Ψ_{md} similares. En la última fecha los clones GC y GT presentaron los menores valores de Ψ_{md} , coincidiendo en el momento de menor precipitación acumulada y menor D_{pv} (Figuras 2 y 3). Los resultados en

estos clones podrían explicarse por la existencia de un vínculo con la exploración de raíces más profundas, permitiéndoles mayor conductividad hidráulica del tallo a la raíz (Whitehead y Beadle, 2004) dado que Ψ_{md} está parcialmente determinado por la arquitectura hidráulica de la planta, las diferencias entre los genotipos en Ψ_{md} no reflejan necesariamente los patrones de disponibilidad de agua en el suelo. Los árboles que difieren en su conductividad hidráulica o uso transitorio de agua almacenada, pueden diferir en sus diferenciales de potencial hídrico diurno ($\Delta\Psi_w$) disociando la disponibilidad de agua del suelo y los potenciales hídricos mínimos diurnos (Ψ_{md} , Bhaskar, 2006). El Ψ_b no varió entre clones, las abundantes precipitaciones acontecidas durante el verano (310 mm aprox.) explicarían los altos valores de Ψ_b que se observaron.

5.1.3. Gradiente de potencial hídrico ($\Delta\Psi_w$)

El gradiente entre el Ψ_b y el Ψ_{md} ($\Delta\Psi_w$) está relacionado directamente con la actividad transpiratoria (E) y varía frente a cambios estacionales del D_{pv} y contenido de hídrico del suelo (Franks et al., 2007). El $\Delta\Psi_w$ se relacionó de forma lineal con el Ψ_{md} ($r = 0,98$), aunque no existió asociación con el Ψ_b (Figuras 6 y 7). Quizá la reducción del Ψ_{md} afectó en mayor dimensión a este gradiente, ya que las pérdidas de agua del suelo (Ψ_b) fueron bajas. Sin embargo, los clones GT, GU y GC no presentaron una asociación lineal significativa entre $\Delta\Psi_w$ y E (Cuadro 6), ya que los cambios del $\Delta\Psi_w$ dependen de la tasa transpiratoria y de la conductividad hidráulica de la planta, entre otros factores (Martínez-Vilalta et al., 2014).

La menor disponibilidad de agua en el suelo puede disminuir la conductividad hidráulica y/o su conductancia foliar (gs). Sin embargo, estas reducciones tienen efectos opuestos sobre $\Delta\Psi_w$; mientras que una conductividad hidráulica menor, aumenta $\Delta\Psi_w$, menor gs disminuye $\Delta\Psi_w$ (Martínez-Vilalta et al., 2016). Por ello, E depende no solo de $\Delta\Psi_w$, sino también de la conductividad hidráulica de los árboles (Tyree y Ewers, 1991), por lo tanto, un aumento de conductividad hidráulica podría aumentar E sin variar $\Delta\Psi_w$ significativamente. En este caso, los cambios en la conductividad hidráulica de la raíz al tallo podrían conducir a un incremento en la absorción de agua, en particular, durante las condiciones de déficit hídrico.

El clon GT y GC presentaron en promedio el mayor $\Delta\Psi_w$, probablemente por un menor control estomático y una mayor tasa transpiratoria. Por otro lado, G y GU fueron los clones con valores menores en promedio, seguramente por una mayor regulación de la actividad transpiratoria (Figura 5). A nivel estacional se observaron particularidades de tendencia isohídrica debido a la poca diferencia entre la Ψ_{md} bajo condiciones secas y húmedas,

principalmente causado por una regulación estomática de la tasa transpiratoria bajo condiciones secas (Tardieu y Simonneau, 1998). Esta inclinación isohídrica se observó en mayor medida en el clon G. En el caso del clon GC y en menor tendencia GT, la variación del $\Delta\Psi_w$ fue similar a la reportada por Franks et al. (2007) en *Eucalyptus gomphocephala*, quienes definieron este patrón como "isohidrodinámico". El mismo se da por diferencias relativamente constantes entre Ψ_b y Ψ_{md} ($\Delta\Psi_w$) a lo largo de los ciclos estacionales de humedad, considerándose una variación del patrón anisohídrico. Este patrón de regulación, se explica por un modelo de control estomático en el que la conductancia hidráulica de la planta depende de la tasa de transpiración (Figuras 4 y 5).

5.2. ACTIVIDAD FOTOSINTÉTICA E INTERCAMBIO DE GASES

Los híbridos exhibieron diferencias significativas en los parámetros fotosintéticos. Los clones GC y GT presentaron valores mayores en la tasa fotosintética (A) respecto a los clones G y GU (Cuadro 3). La conductancia estomática (g_s) también varió en el mismo sentido entre genotipos, con GC y GT mostrando los promedios más altos y la actividad transpiratoria más intensa (mayor E, Cuadro 3). A su vez, existió una alta correlación entre A y g_s ($r = 0,76$) y entre E y g_s ($r = 0,99$) en todos los clones (Figuras 8 a 12, Cuadros 4 y 5).

Se observaron que incrementos de g_s generaron incrementos en la fijación de CO_2 y en la tasa transpiratoria de acuerdo a lo esperado (Wong 1979, Meinzer et al. 2001). Aunque no en todos los genotipos del mismo modo, el clon GU exhibió un patrón similar al resto entre g_s y A, pero una vez alcanzada una máxima tasa fotosintética, incrementos en g_s la fotosíntesis disminuyó. Las hojas de *Eucalyptus sp* presentan una alta capacidad de fijación de carbono, quizás no sorprenda que se observen relaciones lineales fuertes entre la fotosíntesis (A) y la conductancia estomática (g_s , Wong et al., 1979), aunque las pendientes de estas relaciones en *Eucalyptus sp*. pueden variar por diferentes factores, como diferencias entre especies (*E. camaldulensis* versus *E. globulus*) y entre niveles de nitrógeno (bajo versus alto nitrógeno en *E. globulus*, Sheriff, 1992). A su vez, Pinkard et al. (1998) estudiaron la conductancia estomática en *Eucalyptus nitens* y no hallaron relación entre A y g_s a niveles altos de g_s .

Los modelos de asociación entre A y g_s presentaron mayor grado de ajuste en los clones G y GU ($r = 0,90$ y $0,66$ respectivamente), estos genotipos lograron una mayor fijación de carbono bajo una menor conductancia estomática, esto determina una mayor regulación de la apertura estomática, inferido también por los menores $\Delta\Psi_w$ y una mayor EUA. Aunque para el clon GU sería hasta ciertos niveles de g_s . Si bien GC y GT presentaron altas tasas

fotosintéticas, las elevadas tasas transpiratorias redujeron la EUA en ambos casos. Esta información es consistente con lo reportado por Whitehead y Beadle (2004) en Eucaliptos “colorados” (*E. camaldulensis*).

5.3. EFICIENCIA INSTANTÁNEA EN EL USO DEL AGUA (EUA)

Los resultados de la EUA instantánea (A/E), señalaron que los híbridos de Eucalyptus “colorados” (GC y GT) fueron los menos eficientes en el uso del agua (Figura 13), posiblemente debido a una menor regulación estomática (mayor g_s , Cuadro 3). Estos resultados son consistentes con la información observada en los potenciales hídricos foliares y sugieren que los clones con genotipos “colorados” podrían ajustar g_s en función a Ψ_{md} a fin de mantener la ganancia de carbono (Le Roux et al., 1996).

El clon G evidenció la mayor EUA, seguramente por una alta actividad fotosintética y una baja tasa transpiratoria atribuido a una mayor regulación de g_s . Analizando estos aspectos, los clones GT y GC mostraron valores de tasa fotosintética sin diferencias significativas a G, pero con mayores valores de tasa transpiratoria, por lo que G posiblemente reguló en mayor medida la apertura de sus estomas sumado a una mayor eficiencia en la fijación de carbono (Cuadro 3 y Figura 13). El clon GU mostró valores similares en actividad fotosintética y transpiratoria al clon G, pero con una EUA menor a este último. Tales comportamientos podrían haber llevado a una EUA más alta al desacoplar g_s y la ganancia de carbono (A), como se informó anteriormente para las especies de eucaliptos de zonas húmedas (Hérault et al., 2013).

Tanto G como GU parecen ser más sensibles al Dpv, por lo que serían más adecuados para resistir las condiciones de sequía al reducir el intercambio de gases. Las especies de hábitats más áridos que experimentan sequías frecuentes tienen un comportamiento estomático más conservador y un uso más eficiente del agua por unidad de ganancia de carbono que las especies adaptadas a los hábitats húmedos (Cowan y Farquhar 1977, Orians y Solbrig 1977, Cowan 1982b). De todas formas, la EUA instantánea es una medida puntual y altamente variable (depende de la hoja, edad de la planta, posición, irradiancia, etc.). A su vez fue analizada en una única fecha y no arrojaría información irrefutable.

5.4. EFICIENCIA INTEGRADA EN EL USO DEL AGUA (EUA_i)

La eficiencia integrada en el uso del agua (EUA_i) está relacionada con la discriminación de isótopos de carbono ($\Delta^{13}C$) durante la difusión del gas y las reacciones dependientes de la enzima rubisco durante la fotosíntesis. La $\Delta^{13}C$ está negativamente asociada con la EUA_i. En tal sentido, los híbridos GC y GT

exhibieron los valores más altos de $\Delta^{13}\text{C}$ (mayor discriminación de ^{13}C) y, por lo tanto, fueron menos eficientes en el uso de agua (Farquar et al., 1982, Figura 14). Estos valores se relacionan fundamentalmente a un menor control estomático (Figura 5 y Cuadro 3) y mayores tasas transpiratorias por parte de los clones con genotipos “colorados” (Cuadro 3).

Por otra parte, los clones G y GU presentaron menor $\Delta^{13}\text{C}$ y por lo tanto mayor EUAi, de este modo, con menor apertura estomática (y transpiración) registraron tasas fotosintéticas próximas o iguales a los híbridos “colorados” (Cuadro 3). Los resultados muestran que G y GU fueron los clones más eficientes en el uso del agua debido fundamentalmente a su menor actividad transpiratoria (Figura 14).

Estos resultados son similares a los obtenidos por Bond y Stock (1990) en árboles de *Eucalyptus spp.* adultos cultivados a campo en Sudáfrica (*E. grandis* e híbridos *E. grandis* x *camaldulensis*). Los valores de $\Delta^{13}\text{C}$ encontrados fueron entre 16,9‰ y 21,2‰. También existió coincidencia con los resultados reportados por Anderson et al. (1996), que estudiaron la distribución de especies de *Eucalyptus spp.* (*E. grandis*, *E. camaldulensis*, *E. dunnii*, *E. viminalis*, *E. saligna*, entre otros) relacionando los gradientes de temperatura y precipitación con la eficiencia integrada en uso del agua (según discriminación isotópica del carbono $\Delta^{13}\text{C}$). Muestrearon 17 poblaciones que representan 14 especies de *Eucalyptus spp.* creciendo en el centro sur de Nueva Gales del Sur. Entre las 17 especies y procedencias muestreadas, $\Delta^{13}\text{C}$ osciló entre 18.8 ‰ y 21.1 ‰.

5.5. ANATOMÍA ESTOMÁTICA Y ESTADO HÍDRICO

En el análisis de la anatomía estomática el patrón de distribución de los estomas foliares mostró hojas anfiestomáticas en los clones GC y GT, y hojas hipoestomáticas en los clones G y GU, estos últimos exhibiendo estomas completamente inmaduros en el haz foliar (Figura 16). La densidad estomática mostró resultados similares entre los clones sin considerar la cara foliar (Figura 15). Los valores proporcionados por EUA, EUAi y $\Delta\Psi_w$ fueron consistentes con la densidad y distribución estomáticas, las hojas hipoestomáticas de G y GU condujeron a un fuerte control estomático (y de la actividad transpiratoria) y mayor eficiencia de su actividad fotosintética. Mientras que los clones GC y GT probablemente mantuvieron la conductancia hidráulica de los árboles y, por lo tanto, la conductancia estomática. Por ello, deducimos que los rasgos estomáticos analizados influyen sobre la tasa transpiratoria. Ambos pueden variar no sólo entre especies de *Eucalyptus* (Hérault et al., 2013), sino también entre híbridos cercanos relacionados (Eksteen et al., 2013).

Los estomas en las superficies adaxiales de G y GU permanecían inmaduros, de forma similar a lo que se informa para algunas especies herbáceas tropicales (Kagan y Sachs, 1991). England y Attiwill (2011) estudiaron la ontogenia de los estomas en *Eucalyptus regnans* y observaron que evolucionan progresivamente desde el margen hasta el nervio central en hojas juveniles. Sin embargo, en el estudio actual, los estomas permanecieron inmaduros en toda la epidermis superior de las hojas adultas, lo que probablemente redujo el intercambio de gases foliares.

5.6. VARIABLES DASOMÉTRICAS

Las diferencias clonales en el diámetro de referencia promedio (Dap) y la altura total del fuste (Ht) se reflejaron en el volumen fustal (Vol.). Al final del estudio, G y GC presentaron el Vol. más alto comparado con GU y GT (Cuadros 8 y 9). La variable TCR (Vol., %) no se tradujo en diferencias entre los clones, pero sí varió entre las diferentes fechas del muestreo, siendo las fechas en la estación del verano las que exhibieron las tasas de crecimiento relativo más elevadas, coincidiendo con el momento de mayor disponibilidad hídrica en el suelo (Cuadros 2 y 10).

5.6.1. Variables dasométricas y eficiencia en el uso del agua (EUA)

En los clones GC y GT se observó la menor EUA (instantánea e integrada, Figuras 13 y 14) y valores de A y E elevados. El genotipo GT a su vez fue el de menor volumen fustal; y el clon GC presentó similares resultados al resto siendo junto a G el de mayor Vol (Cuadro 8). A priori, los resultados señalarían que la elevada fijación de carbono y pérdida de agua no es causante de un incremento en biomasa. En especies C3 como en *Eucalyptus spp.* la $\Delta^{13}\text{C}$ está negativamente asociada con la acumulación de materia seca en plantas enteras (Farquhar et al. 1989, Bond y Stock 1990). Por otro lado, la EUA y $\Delta^{13}\text{C}$ pueden cambiar entre tallos, brotes y árboles enteros (Olbrich et al., 1993). A su vez, la biomasa del tallo puede aumentar sin modificar EUA, como lo reportaron Battie-Laclau et al. (2016) en plantaciones de *E. grandis*, aunque se evidencian diferencias importantes entre los clones, se necesita más investigación para analizar EUA y dilucidar su relación con el crecimiento de los árboles.

5.7. RESPUESTAS AL DÉFICIT HÍDRICO

En el análisis de la concentración del aminoácido prolina, no se observaron diferencias entre los genotipos (Figura 17). Posiblemente la razón de los resultados estaría en la ausencia de un déficit hídrico impuesto durante la estación de mayor demanda atmosférica (verano), justificada por

precipitaciones por encima de la media durante el periodo de estudio (Figura 2). A causa de ello también se observó una falta de diferencias entre los clones en la variable potencial hídrico del suelo (Ψ_b , Cuadro 2), surgiendo así, la necesidad de considerar un período mayor de tiempo donde se abarquen más temporadas de estudio.

La información es consistente con lo reportado por Shvaleva et al. (2005), quienes compararon las respuestas metabólicas en hojas de clones *Eucalyptus globulus Labill.* a un déficit hídrico impuesto lentamente. En su estudio el tratamiento con estrés hídrico causó un aumento significativo en la concentración de prolina en uno de los clones. En todos los casos el estrés hídrico llevó a una disminución en el potencial osmótico, sin embargo, la contribución de la prolina al cambio en el potencial osmótico fue solo del 1%, lo que indica que el aumento de la concentración de prolina inducido por la sequía no contribuyó significativamente al ajuste osmótico en las plantas estresadas. Como se indicó en otros estudios, el papel de la prolina en plantas estresadas por sequía puede estar asociado con la preservación de la estructura y la actividad de las enzimas (Hare et al., 1999).

Existen muchos estudios en la cuantificación de cambios en el potencial osmótico en respuesta a déficits hídricos en diversidad de especies de *Eucalyptus spp.* Las mediciones reportadas muestran disminuciones del potencial osmótico entre 0,2 y 0,8 MPa como valores comunes (Myers y Neales 1986, Lemcoff et al. 1994). A su vez, White et al. (2000) identificaron respuestas contrastantes al estrés hídrico estacional para cuatro *Eucalyptus spp.* cultivados en campo: *E. camaldulensis* y *E. saligna* evitaron el déficit hídrico al aumentar la profundidad de enraizamiento, mientras que *E. leucoxylon* y *E. platypus* tenían de forma inherente potenciales osmóticos bajos.

6. CONCLUSIONES

Los híbridos “colorados” (*E. grandis* × *E. camaldulensis* y *E. grandis* × *tereticornis*) mostraron el potencial hídrico foliar más bajo y el mayor gradiente de potencial hídrico foliar. Transpiraron más intensamente y fueron menos eficientes en el uso del agua, como se deduce de los resultados de los métodos EUA instantánea e integrada ($\Delta^{13}\text{C}$).

Estos clones también mostraron una regulación más baja de la conductancia estomática y presentaron hojas anfiestomáticas, obteniendo altas tasas de intercambio gaseoso, probablemente asociadas a una mayor exploración radicular en profundidad y logrando mayor conductividad hidráulica.

E. grandis (G) y *E. grandis* × *urophylla* (GU) mostraron un comportamiento que condujo a un fuerte control estomático (y de la actividad transpiratoria) y una alta actividad fotosintética, con hojas hipoestomáticas y con estomas en la epidermis foliar de la cara adaxial que permanecieron inmaduros. De este modo fueron más eficientes en el uso del agua, tanto de forma instantánea como integrada ($\Delta^{13}\text{C}$).

La tasa de crecimiento relativo en volumen no mostró variaciones entre los genotipos. Sin embargo, durante el estudio se observaron diferencias en altura de fuste, diámetro y volumen, pero no vinculados con los parámetros hídricos analizados.

No se encontraron diferencias entre los genotipos en el nivel de concentración de aminoácido prolina foliar. Las elevadas precipitaciones no determinaron estrés hídrico en los clones, siendo esperable dicho resultado.

7. RESUMEN

En Uruguay la superficie forestada con eucaliptos ocupa un millón de ha y *E. grandis* se destaca por la gran calidad de su madera y su elevada capacidad de crecimiento. Si bien las plantaciones con híbridos de esta especie son cada vez más frecuentes, es importante evaluar genotipos en función de parámetros fisiológicos en plantas creciendo a campo, particularmente aquellos relacionados con la capacidad de crecimiento y la eficiencia en el uso de recursos. El objetivo del presente trabajo fue estudiar el curso del estado hídrico, parámetros de intercambio gaseoso y crecimiento de los árboles en cuatro clones promisorios: *E. grandis* (G), *E. grandis x camaldulensis* (GC), *E. grandis x tereticornis* (GT) y *E. grandis x urophylla* (GU). En 2012 se instaló un ensayo de bloques al azar en Tacuarembó (31° 38'15" S; 55° 54' 17" W) y se midieron el potencial hídrico foliar (Ψ_w) y la tasa de crecimiento relativo de los árboles (TCR) desde octubre/2014 hasta mayo/2015. Al final del estudio, se midieron la tasa de fotosíntesis neta (A), conductancia estomática (gs) y tasa transpiratoria en hojas (E), además, se colectaron muestras foliares para analizar la discriminación isotópica de carbono ($\Delta^{13}C$) y el contenido de prolina. El potencial hídrico al medio día (Ψ_{md}) varió entre clones y entre fechas, a diferencia del potencial hídrico base (Ψ_b). Los híbridos GC y GT transpiraron más activamente, ya que presentaron menor Ψ_{md} y mayor gradiente de potencial hídrico ($\Delta\Psi = \Psi_b - \Psi_{md}$). Además, fueron menos eficientes en el uso de agua, tanto la calculada en base instantánea (A/E) como la estimada mediante $\Delta^{13}C$. Estos clones presentaron hojas anfiestomáticas. Los clones G y GU fueron más eficientes en el uso del agua, principalmente debido a una mayor regulación estomática (menor gs) y a una elevada fijación de CO_2 (A). Además, sus hojas fueron hipoestomáticas y presentaron estomas completamente inmaduros en la cara adaxial de sus hojas. Si bien TCR no varió entre genotipos, se observaron diferencias en volumen de fuste. Sin embargo, no está clara la relación entre TCR y volumen de fuste con la información provista por los parámetros fisiológicos. El contenido de prolina fue bajo y no varió entre genotipos, probablemente por la abundante precipitación en el verano, la cual evitó la ocurrencia de estrés por falta de agua.

Palabras clave: *Eucalyptus*; Potencial hídrico; Tasa transpiratoria; Crecimiento; Densidad estomática.

8. SUMMARY

Eucalypt plantations occupy one million ha of the Uruguayan forested area, and *E. grandis* stands out for its high timber quality and high growth capacity. Although plantations with interspecific clonal hybrids are frequently installed, it is essential to evaluate genotypes through physiological parameters when field grown, particularly, those related to growth capacity and the efficiency of resource use. The main objective of this work was to study the course of leaf water status, gas exchange parameters and tree growth in four promissory clones: *E. grandis* (G), *E. grandis* x *camaldulensis* (GC), *E. grandis* x *tereticornis* (GT) and *E. grandis* x *urophylla* (GU). In 2012, a randomized block trial was conducted in Tacuarembó (31° 38'15" S; 55° 54' 17" W) to assess leaf water potential (Ψ_w) and tree relative growth rate (RGR) from October/2014 to May/2015. At the end of the study, net photosynthetic rate (A), stomatal conductance (gs) and transpiration rate (E) were measured, and foliar samples were collected to study carbon isotope discrimination ($\Delta^{13}\text{C}$) and proline content. Midday leaf water potential (Ψ_{md}) showed clonal and seasonal variation, unlike leaf predawn water potential (Ψ_b). GC and GT hybrids transpired more intensively, as they showed the lowest Ψ_{md} and the highest leaf water potential gradient ($\Delta\Psi = \Psi_b - \Psi_{md}$). They were less efficient in water use, as inferred by instantaneous (A/E ratio) and integrated ($\Delta^{13}\text{C}$) water use efficiency. These clones also had amphistomatic leaves. Conversely, G and GU clones had a different behavior, since they were more efficient in water use due to a higher stomatal control (lower gs) and higher A. Moreover, they had hypostomatic leaves and stomata on adaxial leaf surfaces remained entirely immature. Though RGR did not vary among clones, differences in stem volume were found. However, there was no relationship between these variables and the information provided by physiological parameters. Proline content did not vary among clones, and this was probably due to the abundant rainfall during summertime that prevented water stress.

Keywords: *Eucalyptus grandis*; Water potential; Transpiration rate; Tree growth; Stomatal density.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Abal, G. 2010. Estimación de la irradiancia solar diaria promedio en Uruguay. Montevideo, Facultad de Ingeniería. 4 p.
2. Abrams, M. D.; Kubiske, M. E.; Mostoller, S. A. 1994. Relating wet and dry year ecophysiology to leaf structure in contrasting temperate tree species. *Ecology*. 75 (1):123-133.
3. Allen, R. G.; Pereira, L. S.; Raes, D.; Smith, M. 2006. Evapotranspiración del cultivo: guías para la determinación de los requerimientos de agua en los cultivos. Roma, FAO. 298 p. (Estudio FAO. Riego y Drenaje no. 56).
4. Almeida, A. C.; Soares, J. V.; Landsberg, J. J.; Rezende, G. D. 2007. Growth and water balance of *Eucalyptus grandis* hybrids plantations in Brazil during a rotation for pulp production. *Forest Ecology and Management*. 251:10- 21.
5. Al-Sulaiti, A.; Blackwell, R.; Lea, P.; Davies, W. 1990. Capacity for proline accumulation during water deficit and its relation with growth of barley photorespiratory mutants. *Journal of Experimental Botany*. 41:4-14.
6. Améglio, T.; Archer, P.; Cohen, M.; Valacogne, C.; Daudet, F.; Dayau, S.; Cruziat, P. 1999. Significance and limits in the use of predawn leaf water potential for tree irrigation. *Plant and Soil*. 207:155-167.
7. Anderson, J. E.; Williams, J.; Kriedemann, P. E.; Austin, M. P.; Farquhar, G. D. 1996. Correlations between carbon isotope discrimination and climate of native habitats for diverse eucalypt taxa growing in a common garden. *Australian Journal of Plant Physiology*. 23:311-320.
8. Angelocci, L. R.; Marin, F. R.; Oliveira, R. F.; Righi, E. Z. 2004. Transpiration, leaf diffusive conductance, and atmospheric water demand relationship in an irrigated acid lime orchard. *Journal of Plant Physiology*. 16:53- 64.
9. Aparicio, J. L.; Larocca, L.; Dalla Tea, F. 2005. Silvicultura de establecimiento de *Eucalyptus grandis*. *IDIA XXI*. 5(8):66-69.

10. Araus, J. L.; Alegre, L.; Tapia, L.; Calafell, R.; Serret, M. D. 1986. Relationship between photosynthetic capacity and leaf structure in several shade plants. *American Journal of Botany*. 73(12):1760-1770.
11. Assis, F. T. 1986. Cultura do eucalipto: melhoramento genético do eucalipto. *Florestas*. 12(141):36-46.
12. _____; Mafia, R. G. 2007. Hibridação e clonagem. In: Borém, A. ed. *Biotechnologia florestal*. Viçosa, MG, s.e. pp. 93-121.
13. _____. 2014. Melhoramento genético de *Eucalyptus*: Desafios e perspectivas. In: Encontro Brasileiro de Silvicultura (3º., 2014, Campinas). *Anais*. Campinas, EMBRAPA Florestas. pp. 113-133.
14. Azcón-Bieto, J.; Talón, M. 2008. *Fundamentos de fisiología vegetal*. 2a. ed. Madrid, McGraw-Hill. pp. 25-77.
15. Bacon, M. A. 2004. *Water use efficiency in plant biology*. Oxford, Blackwell. 327 p.
16. Baldochi, D. D.; Luxmoore, R. J.; Hatfield, J. L. 1991. Discerning the forest from the trees: an essay on scaling canopy stomatal conductance. *Agricultural and Forest Meteorology*. 54:197-226.
17. Battaglia, M.; Sands, P. 1997. Modelling site productivity of *Eucalyptus globulus* in response to climate and site factors. *Australian Journal of Plant Physiology*. 24:831- 850.
18. Batchelard, E. P. 1986a. Effects of soil moisture stress on the growth of seedlings of three eucalypt species. II. Growth effects. *Australian Forest Research*. 16(1):51-61.
19. _____. 1986b. Effects of soil moisture stress on the growth of seedlings of three eucalypt species. III. Tissue water relations. *Australian Forest Research*. 16(2):155-163.
20. Battie-Laclau, P.; Delgado-Rojas, J. S.; Christina, M.; Nouvellon, Y.; Bouillet, J. P.; Piccolo, M. C.; Moreira, M. Z.; Gonçalves, J. L.; Rousar, O.; Laclau, J. P. 2016. Potassium fertilization increases water use efficiency for stem biomass production without affecting intrinsic water use efficiency in *Eucalyptus grandis* plantations. *Forest Ecology and Management*. 364:77- 89.

21. Bedon, F.; Majada, J.; Feito, I.; Chaumeil, P.; Dupuy, J. W.; Lomenech, A. M.; Barre, A.; Gion, J. M.; Plomion, C. 2011. Interaction between environmental factors affects the accumulation of root proteins in hydroponically grown *Eucalyptus globulus* (Labill.). *Plant Physiology and Biochemistry*. 49(1):69-76.
22. Begg, J. E.; Turner, N. C. 1970. Water potential gradients in field tobacco. *Plant Physiology*. 46:343- 346.
23. Berriel, V.; Mori, C.; Perdomo, C. 2014. Estatus hídrico y discriminación isotópica de ¹³C de dos pasturas convencionales de Uruguay. *Agrociencia* (Montevideo). 18(2):1-13.
24. Bhaskar, R.; Ackerly, D. D. 2006. Ecological relevance of minimum seasonal water potentials. *Physiologia Plantarum*. 127:353- 359.
25. Bleby, T. M.; Colquhoun, I. J.; Adams, M. A. 2012. Hydraulic traits and water use of Eucalyptus on restored versus natural sites in a seasonally dry forest in southwestern Australia. *Forest Ecology and Management*. 274:58–66.
26. Boardman, N. K. 1977. Comparative photosynthesis of sun and shade plants. *Annual Review of Plant Physiology*. 28:355- 377.
27. Bogeat-Triboulot, M. B.; Brosché, M.; Renaut, J.; Jouve, L.; Le Thiec, D.; Fayyaz, P.; Vinocur, B.; Witters, E.; Laukens, K.; Teichmann, T.; Altman, A.; Hausman, J. F.; Polle, A.; Kangasjärvi, J.; Dreyer, E. 2007. Gradual soil water depletion results in reversible changes of gene expression, protein profiles, ecophysiology, and growth performance in *Populus euphratica*, a poplar growing in arid regions. *Plant Physiology*. 143:876- 892.
28. Boland, J. A.; Brooker, M. I. H.; Turnbull, J. W. 1980. *Eucalyptus* seed. Canberra, Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation (CSIRO). 191 p.
29. Bond, W. J.; Stock, W. D. 1990. Preliminary assessment of the grading of *Eucalyptus* clones using carbon isotope discrimination. *South African Forestry Journal*. 154(1):251-260.

30. Bota, J.; Medrano, H.; Flexas, J. 2004. Is photosynthesis limited by decreased rubisco activity and RuBP content under progressive water stress?. *New Phytologist*. 162:671-681.
31. Bray, E. 1993. Molecular Responses to water deficit. *Plant Physiology*. 103:1035-1040.
32. Brodribb, T. J.; Holbrook, N. M.; Edwards, E. J.; Gutiérrez, M. V. 2003. Relations between stomatal closure, leaf turgor and xylem vulnerability in eight tropical dry forest trees. *Plant Cell and Environment*. 26:443-450.
33. _____; McAdam, S. A. M.; Jordan, G. J.; Feild, T. S. 2009. Evolution of stomatal responsiveness to CO₂ and optimization of water use efficiency among land plants. *New Phytologist*. 183:839- 847.
34. Brussa, C. A. 1994. *Eucalyptus: especies de cultivo más frecuente en Uruguay y regiones de clima templado*. Montevideo, Uruguay, Hemisferio Sur. 328 p.
35. Buckley, T. N.; Mott, K. A. 2013. Modelling stomatal conductance in response to environmental factors. *Plant Cell and Environment*. 36:1691-1699.
36. Burgess, S. S. O.; Adams, M. A.; Turner, N. C.; White, D. A.; Ong, C. K. 2001. Tree roots: conduits for deep recharge of soil water. *Oecologia*. 126:158- 165.
37. Cano, F. J.; López, R.; Warren, C. R. 2014. Implications of the mesophyll conductance to CO₂ for photosynthesis and water use efficiency during long term water stress and recovery in two contrasting *Eucalyptus* species. *Plant Cell and Environment*. 37(11):2470-2490.
38. Cao, K. F. 2000. Leaf anatomy and chlorophyll content of 12 woody species in contrasting light conditions in a Bornean heath forest. *Canadian Journal of Botany*. 78(10):1245-1253.
39. Carignato, A.; Vázquez-Piqué, J.; Tapias, R.; Ruiz, F.; Fernández, M. 2017. Morfología foliar y estomática y transpiración cuticular en clones de eucalipto. *In*: Congreso Forestal Español (8^o., 2017, Placencia). Gestión del monte: servicios ambientales y

bioeconomía. Placencia, Sociedad Española de Ciencias Forestales. pp. 1-8.

40. Castaño, J. P.; Giménez, A.; Ceroni, M.; Furest, J.; Aunchayna, R.; Bidegain, M. 2011. Caracterización agroclimática del Uruguay 1980-2009. Montevideo, INIA. 34 p. (Serie Técnica no. 193).
41. Chaves, M. M.; Flexas, J.; Pinheiro, C. 2009. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of Botany*. 103:551- 560.
42. Cochard, H.; Bréda, N.; Granier, A. 1996. Whole tree hydraulic conductance and water loss regulation in *Quercus* during drought: evidence for stomatal control of embolism? *Annales des Sciences Forestières*. 53:197- 206.
43. _____; Bodet, C.; Ameglio, T.; Cruiziat, P. 2000. Cryo-scanning electron microscopy observations of vessel content during transpiration in walnut petioles, facts or artifacts?. *Plant Physiology*. 124(3):1191-1202.
44. _____; Coll, L.; Le Roux, X.; Ameglio, T. 2002. Unraveling the effects of plant hydraulics on stomatal closure during water stress in walnut. *Plant Physiology*. 128:282–290.
45. Correia, B.; Pintó Maríjuan, M.; Neves, L.; Brossa, R.; Dias, M. C.; Costa, A.; Castro, B. B.; Araujo, C.; Santos, C.; Chaves, M. M.; Pinto, G. 2014. Water stress and recovery in the performance of two *Eucalyptus globulus* clones: physiological and biochemical profiles. *Physiologia Plantarum*. 150(4):580-592.
46. Corsi, W.; Furest, J.; Quintana, R.; García, C. 1994. Manejo de información agroclimática para el apoyo de toma de decisiones en riego. Montevideo, INIA. 25 p. (Actividades de Difusión no. 26).
47. Cowan, I. R. 1977. Stomatal behavior and environment. *Advances in Botanical Research*. 4(1):117-228.
48. _____; Farquhar, G. D. 1977. Stomatal function in relation to leaf metabolism and environment. In: *Symposia of the Society for Experimental Biology* (31^{st.}, 1977, Cambridge, United Kingdom).

Integration of activity in the higher plant. Cambridge, UK, Cambridge University. pp. 471-505.

49. _____. 1982a. Regulation of water use in relation to carbon gain in higher plants. In: Lange, O. L.; Nobel, P. S.; Osmond, C. B.; Zeigler, H. eds. Physiological plant ecology. Berlin, Springer-Verlag. pp. 589-613.
50. _____. 1982b. Water use and optimization of carbon assimilation. In: Lange, O. L.; Nobel, P. S.; Osmond, C. B.; Ziegler, H. eds. Physiological plant ecology. New York, Springer-Verlag. pp. 589-613.
51. Crombie, D. S.; Tippet, J. T.; Hill, T. C. 1988. Dawn water potential and root depth of trees and understory species in southwestern Australia. Australian Journal of Botany. 36:621- 631.
52. Damour, G.; Simonneau, T.; Cochard, H.; Urban, L. 2010. An overview of models of stomatal conductance at the leaf level. Plant Cell and Environment. 33:1419-1438.
53. David, T. S.; Ferreira, M. I.; Cohen, S.; Pereira, J. S.; David, J. S. 2004. Constraints on transpiration from an evergreen oak tree in southern Portugal. Agricultural and Forest Meteorology. 122:193-205.
54. Davidson, J. 1973. Natural variation in *Eucalyptus deglupta* and its effects on choice of criteria for selection in a tree improvement programme. Tropical Forestry Research Note. Papua New Guinea. 14:139-156.
55. Davis, S. D.; Ewers, F. W.; Sperry, J. S.; Portwood, K. A.; Crocker, M. C.; Adams, G. C. 2002. Shoot dieback during prolonged drought in *Ceanothus* (Rhamnaceae) chaparral of California: a possible case of hydraulic failure. American Journal of Botany. 89:820- 828.
56. Díaz, P.; Borsani, O.; Monza, J. 1999. Acumulación de prolina en plantas en respuesta al estrés osmótico. Agrociencia (Montevideo). 3(1):1-10.
57. Doldán, J.; Fariña, I.; Tarigo, F. 2008. Utilización de *Eucalyptus* spp. Alternativas de plantaciones uruguayas para pulpa kraft. Revista Anual del Laboratorio Tecnológico del Uruguay. 3:30-34.

58. Donovan, L. A.; Grisé, D. J.; West, J. B.; Pappert, R. A.; Alder, N. N.; Richards, J. H. 1999. Predawn disequilibrium between plant and soil water potentials in two cold desert shrubs. *Oecologia*. 120:209- 217.
59. _____; Linton, M. J.; Richards, J. H. 2001. Predawn plant water potential does not necessarily equilibrate with soil water potential under well-watered conditions. *Oecologia* 129: 328- 335.
60. _____. 1996. Response of *Eucalyptus grandis* trees to soil water deficits. *Tree Physiology*. 16:233- 238.
61. Eamus, D.; Berryman, C. A.; Duff, G. A. 1995. Photosynthetic responses to temperature, light flux density, CO₂ concentration and vapour pressure deficit in *Eucalyptus tetradonta* grown under CO₂ enrichment. *Environmental Pollution*. 90:41- 49.
62. _____.; Cole, S. 1997. Diurnal and seasonal comparisons of assimilation, phyllode conductance and water potential of three *Acacia* and one *Eucalyptus* species in the wet dry tropics of Australia. *Australian Journal of Botany*. 45:275-290.
63. Eksteen, A. B.; Grzeskowiak, V.; Jones, N. B.; Pammenter, N. W. 2013. Stomatal characteristics of *Eucalyptus grandis* clonal hybrids in response to water stress. *Southern Forests: A Journal of Forest Science*. 75:105- 111.
64. El-Sharkawy, M. A.; Cock, J. H.; Hernandez, A. P. 1985. Stomatal response to air humidity and its relation to stomatal density in a wide range of warm climate species. *Photosynthesis Research*. 7:137- 149.
65. England, J. R.; Attiwill, P. M. 2011. Changes in stomatal frequency, stomatal conductance and cuticle thickness during leaf expansion in the broad-leaved evergreen species, *Eucalyptus regnans*. *Trees*. 25:987- 996.
66. Esau, K. 1977. *Anatomy of seed plants*. 2nd. ed. New York, USA, Wiley. 576 p.

67. Ewers, B.; Oren, R.; Sperry, J. 2000. Influence of nutrient versus water supply on hydraulic architecture and water balance in *Pinus taeda*. *Plant, Cell and Environment*. 23(10):1055-1066.
68. Fan, M.; Zhao, Z.; Assmann, M. 2004. Guard cells: a dynamic signaling model. *Current Opinion in Plant Biology*. 7:537-546.
69. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations, IT). 2007. Forest health and biosecurity working papers; overview of forest pests Uruguay. Rome, Italy, Forest Resources Development Service. 20 p. (Working Paper FBS/33E).
70. Farquhar, G. D.; O'Leary, M. H.; Berry, J. A. 1982. On the relationship between carbon isotope discrimination and the intercellular carbon dioxide concentration in leaves. *Australian Journal of Plant Physiology*. 9(2):121-137.
71. _____; Richards, R. A. 1984. Isotopic composition of plant carbon correlates with water use efficiency of wheat genotypes. *Australian Journal of Plant Physiology*. 11(6):539-552.
72. _____; Ehleringer, J. R.; Hubick, K. T. 1989. Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 40:503- 537.
73. Flexas, J.; Bota, J.; Loreto, F.; Cornic, G.; Sharkey, T. D. 2004. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C3 plants. *Plant Biology*. 6:269- 279.
74. _____; Ribas-Carbó, M.; Bota, J.; Galmés, J.; Henkle, M.; Martínez-Cañellas, S.; Medrano, H. 2006a. Decreased rubisco activity during water stress is not induced by decreased relative water content but related to conditions of low stomatal conductance and chloroplast CO₂ concentration. *New Phytologist*. 172:73-82.
75. _____; Bota, J.; Galmés, J.; Medrano, H.; Ribas-Carbó, M. 2006b. Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: responses of photosynthesis and respiration to water stress. *Plant Physiology*. 127:343-352.
76. _____; Díaz-Espejo, A.; Galmés, J.; Kaldenhoff, R.; Medrano, H.; Ribas-Carbó, M. 2007. Rapid variations of mesophyll conductance

in response to changes in CO₂ concentration around leaves. *Plant Cell, and Environment*. 30:1284-1298.

77. _____.; Barbour, M. M.; Brendel, O.; Cabrera, H. M.; Carriquí, M.; Díaz-Espejo, A.; Douthe, C.; Dreyer, E.; Ferrio, J. P.; Gago, J.; Gallé, A.; Galmés, J.; Kodama, N.; Medrano, H.; Niinemets, U.; Peguero-Pina, J. J.; Pou, A.; Ribas-Carbó, M.; Tomás, M.; Tosens, T.; Warren, C. R. 2012. Mesophyll diffusion conductance to CO₂: an unappreciated central player in photosynthesis. *Plant Science*. 193:70-84.
78. 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.
79. Galmés, J.; Flexas, J.; Sauve, R.; Medrano, H. 2007. Water relations and stomatal characteristics of mediterranean plants with different growth forms and leaf habits: responses to water stress and recovery. *Plant and Soil*. 290:139-156.
80. _____.; Aranjuelo, I.; Medrano, H.; Flexas, J. 2013. Variation in rubisco content and activity under variable climatic factors. *Photosynthesis Research*. 117:73-90.
81. Gates, D. M. 1980. *Biophysical ecology*. New York, USA, Springer-Verlag. 611 p.
82. Gimeno, T. E.; Crous, K. Y.; Cooke, J.; O'Grady, A. P.; Osvaldsson, A.; Medlyn, B. E.; Ellsworth, D. S. 2015. Conserved stomatal behaviour under elevated CO₂ and varying water availability in a mature woodland. *Functional Ecology*. 30:700- 709.
83. Grassi, G.; Magnani, F. 2005. Stomatal, mesophyll conductance and biochemical limitations to photosynthesis as affected by drought and leaf ontogeny in ash and oak trees. *Plant, Cell and Environment*. 28:834-849.
84. Guarnaschelli, A. B.; Lemcoff, J. H.; Prystupa, P.; Basci, S. O. 2003. Responses to drought preconditioning in *Eucalyptus globulus* Labill. provenances. *Trees Structure and Function*. 17:501- 509.

85. Hall, N.; Johnston, R. D.; Marryatt, R. 1963. The natural occurrence of the eucalypts. 2nd. ed. Canberra, Forestry and Timber Bureau, Forest Research Institute. 122 p. (Leaflet no. 65).
86. Hare, P.; Cress, W.; Van Staden, J. 1998. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant, Cell and Environment*. 21:535-553.
87. _____.; _____.; _____. 1999. Proline synthesis and degradation: a model system for elucidating stress related signal transduction. *Journal of Experimental Botany*. 50:413-434.
88. Hérault, A.; Lin, Y. S.; Bourne, A.; Medlyn, B. E.; Ellsworth, D. S. 2013. Optimal stomatal conductance in relation to photosynthesis in climatically contrasting *Eucalyptus* species under drought. *Plant, Cell and Environment*. 36:262- 274.
89. Heuer, B. 1999. Osmoregulatory role of proline in plants exposed to environmental stresses. In: Pessarakli, M. ed. *Handbook of plant and crop stress*. New York, Marcel Dekker. pp. 675-695
90. Hubbard, R. M.; Stape, J; Ryan, M. G; Almeida, A. C; Rojas, J. 2010. Effects of irrigation on water use and water use efficiency in two fast growing *Eucalyptus* plantations. *Forest Ecology and Management*. 259:1714- 1721.
91. INIA. GRAS (Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. Unidad de Agro-clima y Sistemas de Información, UY). s.f. Estaciones agroclimáticas. (en línea). Montevideo. s.p. Consultado 4 set. 2017. Disponible en http://www.inia.org.uy/gras/agroclima/Carlos_Pruebas/Gras/Editar3.html?est=3
92. Jacobs, R. 1981. El eucalipto en la repoblación forestal. (en línea). Roma, FAO. 723 p. (Colección FAO. Montes no. 11). Consultado 21 ago. 2017. Disponible en <http://www.fao.org/3/a-ac459s.pdf>
93. James, S. A.; Bell, D. T. 1995. Morphology and anatomy of leaves of *Eucalyptus camaldulensis* clones: variation between geographically separated locations. *Australian Journal of Botany*. 43:415-433.

94. JICA (Agencia de Cooperación Internacional del Japón, JN). 1991. Manual de silvicultura. Montevideo. 133 p.
95. Jones, H. G. 1992. Plants and microclimate: a quantitative approach to environmental plant physiology. Cambridge, UK, Cambridge University. 428 p.
96. _____. 1997. Stomatal control of photosynthesis and transpiration. *Journal of Experimental Botany*. 49:387-398.
97. Jones, M. M.; Turner, N. C.; Osmond, C. B. 1981. Mechanisms of drought resistance. *In*: Paleg, L. G.; Aspinall, D. eds. The physiology and biochemistry of drought resistance in plants. Sydney, Academic Press. pp. 15-37.
98. Justo, C. F.; Soares, A. M.; Gavilanes, M. L.; De Castro, E. M. 2005. Plasticidade anatômica das folhas de *Xylopia brasiliensis* Sprengel (Annonaceae). *Acta Botanica Brasilica*. 19:112-123.
99. Kagan, M. L.; Sachs, T. 1991. Development of immature stomata: evidence for epigenetic selection of a spacing pattern. *Developmental Biology*. 146:100-105.
100. Kallarackal, J.; Somen, C. K. 1997. Water use by *Eucalyptus tereticornis* stands of differing density in southern India. *Tree Physiology*. 17:195-203.
101. Katul, G.; Leuning, R.; Oren, R. 2003. Relationship between plant hydraulic and biochemical properties derived from a steady-state coupled water and carbon transport model. *Plant, Cell and Environment*. 26:339-350.
102. Kaufmann, M. R.; Kelliher, F. M. 1991. Estimating tree transpiration rates in forest stands. *In*: Lassoie, J. P.; Hinckley, T. M. eds. Techniques and approaches in forest tree ecophysiology. Boca Raton, FL, CRC. pp. 117-140.
103. Kikuta, S. B.; Lo Gullo, M. A.; Nardini, A.; Richter, H.; Salleo, S. 1997. Ultrasound acoustic emissions from dehydrating leaves of deciduous and evergreen trees. *Plant, Cell and Environment*. 20: 1381-1390.

104. Kozlowski, T. T. 1982. Water supply and tree growth. Part 1. Water deficits. Call for Abstracts. 43:57-95.
105. _____.; Kramer, P. L.; Pallardy, S. G. 1991. The physiological ecology of wood plants. New York, USA, Academic Press. 678 p.
106. Kramer, P. J. 1983. Water Relations of Plants. New York, USA, Academic Press. 489 p.
107. _____.; Boyer, J. S. 1995. Water relations of plants and soils. New York, USA, Academic Press. 495 p.
108. Kreuzwieser, J.; Gessler, A. 2010. Global climate change and tree nutrition; influence of water availability. Tree Physiology. 30(9):1221-1234.
109. Ladiges, P. Y. 1975. Some aspects of tissue water relations in 3 populations of *Eucalyptus viminalis* Labill. New Phytologist. 75:53-62.
110. Landsberg, J. J.; Gower, S. T. 1997. Applications of physiological ecology to forest management. San Diego, USA, Academic Press. 354 p.
111. Larcher, W. 2003. Physiological plant ecology. Berlin, Germany, Springer-Verlag. 513 p.
112. Larkin, J.; Young, N.; Prigge, M.; Marks, M. 1996. The control of trichome spacing and number in *Arabidopsis*. Development. 122:997-1005.
113. Lawlor, D. W.; Tezara, W. 2009. Causes of decreased photosynthetic rate and metabolic capacity in water deficient leaf cells: a critical evaluation of mechanisms and integration of processes. Annals of Botany. 103:561- 579.
114. 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.
115. Lemcoff, J. H.; Guarnaschelli, A. B.; Garau, A. M.; Basciuli, M. E.; Ghera, C. M. 1994. Osmotic adjustment and its use as a selection criterion in *Eucalyptus* seedlings. Canadian Journal of Forest Research. 24:2404- 2408.

116. Leuning, R. 1990. Modelling stomatal behavior and photosynthesis of *Eucalyptus grandis*. Australian Journal of Plant Physiology. 17:159-175.
117. _____.; Kriedemann, P. E.; McMurtrie, R. E. 1991. Simulation of evapotranspiration by trees. Agricultural Water Management. 19(3): 205-221.
118. Levitt, J. 1972. Plant responses to environmental stresses. New York, USA, Academic Press. 698 p.
119. 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.
120. Li, C. Y. 1998. Some aspects of leaf water relations in four provenances of *Eucalyptus microtheca* seedlings. Forest Ecology and Management. 111:303-308.
121. Loewenstein, N. J.; Pallardy, S. G. 1998a. Drought tolerance, xylem sap abscisic acid and stomatal conductance during soil drying: a comparison of canopy trees of three temperate deciduous angiosperms. Tree Physiology. 18:421-430.
122. _____.; _____ . 1998b. Drought tolerance, xylem sap abscisic acid and stomatal conductance during soil drying: a comparison of young plants of four temperate deciduous angiosperms. Tree Physiology. 18:431-439.
123. McCutchan, H.; Shackel, K. A. 1992. Stem water potential as a sensitive indicator of water stress in prune trees (*Prunus domestica* L. cv. French). Journal of the American Society for Horticultural Science. 117(4): 607-611.
124. McDowell, N.; Pockman, W. T.; Allen, C. D.; Breshears, D. D.; Cobb, N.; Kolb, T.; Plaut, J.; Sperry, J.; West, A.; Williams, D. G. 2008. Mechanisms of plant survival and mortality during drought: why do some plants survive while others succumb to drought?. New Phytologist. 178(4):719-739.
125. _____.; Fisher, R. A.; Xu, C.; Domec, J. C.; Hölttä, T.; Mackay, D. S.; Sperry, J. S.; Boutz, A.; Dickman, L.; Gehres, N.; Limousin, J. M.;

- Macalady, A.; Martínez-Vilalta, J.; Mencuccini, M.; Plaut, J. A.; Ogée, J.; Pangle, R. E.; Rasse, D. P.; Ryan, M. G.; Sevanto, S.; Waring, R. H.; Williams, A. P.; Yepez, E. A.; Pockman, W. T. 2013. Evaluating theories of drought induced vegetation mortality using a multimodel experiment framework. *New Phytologist*. 200(2):304-321.
126. Macfarlane, C.; White, D. A.; Adams, M. A. 2004. The apparent feed-forward response to vapour pressure deficit of stomata in droughted, field grown *Eucalyptus globulus* Labill. *Plant, Cell and Environment*. 27:1268-1280.
127. Martínez-Vilalta, J.; Poyatos, R.; Aguadé, D.; Retana, J.; Mencuccini, M. 2014. A new look at water transport regulation in plants. *New Phytologist*. 204:105-115.
128. _____; García-Forner, N. 2016. Water potential regulation, stomatal behaviour and hydraulic transport under drought: deconstructing the iso/anisohydric concept. *Plant, Cell and Environment*. 40:962-976.
129. MDN. DNM (Ministerio de Defensa Nacional. Dirección Nacional de Meteorología, UY). s.f. Mapas climáticos. (en línea). Montevideo. s.p. Consultado 29 ago. 2017. Disponible en <https://www.inumet.gub.uy/clima/estadisticas-climatologicas/tablas-estadisticas>
130. _____. _____. s.f. Tablas estadísticas. (en línea). Montevideo. s.p. Consultado 29 ago. 2017. Disponible en <https://www.inumet.gub.uy/clima/estadisticas-climatologicas/tablas-estadisticas>
131. Medrano, H.; Escalona, J. M.; Bota, J.; Gulías, J.; Flexas, J. 2002. Regulation of photosynthesis of C3 plants in response to progressive drought: stomatal conductance as a reference parameter. *Annals of Botany*. 89:895- 905.
132. _____.; Bota, J.; Jaume, J. C.; Ribas-Carbó, M.; Guilas, J. 2007. Eficiencia en el uso del agua por las plantas. *Investigaciones Geográficas*. 43:63- 84.
133. Meidner, H. 1986. Cuticular conductance and the humidity response of stomata. *Journal of Experimental Botany*. 37:517-525.

134. Meinzer, F. C.; Clearwater, M. J.; Goldstein, G. 2001. Water transport in trees; current perspectives, new insights and some controversies. *Environmental and Experimental Botany*. 45(3):239-262.
135. _____.; Woodruff, D. R.; Eissenstat, D. M.; Lin, H. S.; Adams, T. S.; McCulloh, K. A. 2013. Above and belowground controls on water use by trees of different wood types in an eastern US deciduous forest. *Tree Physiology*. 33(4):345-356.
136. _____.; _____.; Marias, D. E.; McCulloh, K. A.; Sevanto, S. 2014. Dynamics of leaf water relations components in cooccurring iso and anisohydric conifer species. *Plant, Cell and Environment*. 37:2577-2586.
137. Merchant, A.; Callister, A.; Arndt, S.; Tausz, M.; Adams, M. 2007. Contrasting physiological responses of six *Eucalyptus* species to water deficit. *Annals of Botany*. 100:1507-1515.
138. _____.; Arndt, S. K.; Rowell, D. M.; Posch, S.; Callister, A.; Tausz, M.; Adams, M. A. 2010. Seasonal changes in carbohydrates, cyclitols, and water relations of 3 field grown *Eucalyptus* species from contrasting taxonomy on a common site. *Annals of Forest Science*. 67(1):104-111.
139. Metcalfe, J. C.; Davies, W. J.; Pereira, J. S. 1990. Leaf growth of *Eucalyptus globulus* seedlings under soil water deficit. *Tree Physiology*. 6(2):221-227.
140. MGAP. DGF (Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Dirección General Forestal, UY). 2013. *Eucalyptus grandis* superficie forestada bajo proyecto periodo (1975-2012). (en línea). Montevideo. s.p. Consultado 19 ago. 2017. Disponible en <http://www.mgap.gub.uy/unidad-organizativa/direccion-general-forestal/informacion-tecnica/estadisticas-y-mercados>
141. _____. RENARE (Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Dirección General de Recursos Naturales Renovables, UY). s.f. Descripción de grupos de suelos CONEAT. (en línea). Montevideo. 62 p. Consultado 21 set. 2017. Disponible en <http://web.renare.gub.uy/js/visores/coneat/>

142. Mielke, M. S.; Oliva, M. A.; Barros, N. F.; Penchel, R. M.; Martinez, C. A.; Almeida, A. C. 1999. Stomatal control of transpiration in the canopy of a clonal *Eucalyptus grandis* plantation. *Trees*. 13:152- 160.
143. Molfino, J. 2002. Carta de suelos del departamento de Tacuarembó. Montevideo, Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. Departamento Estudios Básicos Suelos. Esc. 1:100.000. Color.
144. Morgan, J. M. 1984. Osmoregulation. *Annual Review of Plant Physiology*. 35:299- 319.
145. Mott, K. A.; Parkurst, D. F. 1991. Stomatal response to humidity in air and helox. *Plant, Cell and Environment*. 14:509-515.
146. Myers, B. A.; Neales, T. F. 1986. Osmotic adjustment, induced by drought, in seedlings of 3 *Eucalyptus* Species. *Australian Journal of Plant Physiology*. 13:597-603.
147. Nardini, A.; Lo Gullo, M. A.; Tracanelli, S. 1996. Water relations of six sclerophylls growing near Trieste (northeastern Italy): has sclerophylly a univocal functional significance?. *Giornale Botanico Italiano*. 130:811- 828.
148. Nemani, R. R.; Keeling, C. D.; Hashimoto, H.; Jolly, W. M.; Piper, S. C.; Tucker, C. J.; Myneni, R. B.; Running, S. W. 2003. Climate driven increases in global terrestrial net primary production from 1982 to 1999. *Science*. 300:1560-1563.
149. Nobel, 1974. Introduction of biophysical plant physiology. San Francisco, USA, W.H. Freeman. 153 p.
150. O'Grady, A. P.; Worledge, D.; Battaglia, M. 2008. Constraints on transpiration in *Eucalyptus globulus* in southern Tasmania. *Agricultural and Forest Meteorology*. 148:453- 465.
151. Olbrich, B. W.; Le Roux, D.; Poulter, A. G.; Bond, W. J.; Stock, W. D. 1993. Variation in water use efficiency and $d^{13}C$ levels in *Eucalyptus grandis* clones. *Journal of Hydrology*. 150:615- 633.
152. O'leary, M. 1981. Carbon isotope fractionation in plants. *Phytochemistry*. 20:553-567.

153. Öpik, H.; Rolfe, S. 2005. The physiology of flowering plants. Cambridge, UK, Cambridge University. 392 p.
154. Orians, G. H.; Solbrig, O. T. 1977. A cost income model of leaves and roots with special reference to arid and semiarid areas. *American Naturalist*. 111:677- 690.
155. Osorio, J.; Pereira, J. S. 1994. Genotypic differences in water use efficiency and ^{13}C discrimination in *E. globulus*. *Tree Physiology*. 14:871- 882.
156. _____.; Osorio, M. L.; Chaves, M. M.; Pereira, J. S. 1998. Water deficits are more important in delaying growth than in changing patterns of carbon allocation in *Eucalyptus globulus*. *Tree Physiology*. 18:363- 373.
157. Penman, H. L. 1948. Natural evaporation from open water, bare soil and grass. *The Royal Society*. 193(1032):120-145.
158. Pepper, D. A.; McMurtrie, R. E.; Medlyn, B. E.; Keith, H.; Eamus, D. 2008. Mechanisms linking plant productivity and water status for a temperate *Eucalyptus* forest flux site: analysis over wet and dry years with a simple model. *Functional Plant Biology*. 35(6):493-508.
159. Pereira, J. S.; Tenhunen, J. D.; Lange, O. L.; Beyschlag, W.; Meyer, A.; David, M. M. 1986. Seasonal and diurnal patterns in leaf gas exchange of *Eucalyptus globulus* trees growing in Portugal. *Canadian Journal of Forest Research*. 16:177-184.
160. _____.; _____.; _____. 1987. Stomatal control of photosynthesis of *Eucalyptus globulus* Labill. Trees under field conditions in Portugal. *Journal of Experimental Botany*. 38:1678-1688.
161. Pickard, W. F. 1981. The ascent of sap in plants. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*. 37:181-229.
162. Pinheiro, C.; Chaves, M. M. 2011. Photosynthesis and drought: can we make metabolic connections from available data? *Journal of Experimental Botany*. 62(3):869-882.

163. Pinkard, E. A.; Beadle, C. L.; Davidson, N. J.; Battaglia, M. 1998. Photosynthetic responses of *Eucalyptus nitens* (deane and maiden) maiden to green pruning. *Trees*. 12:119- 129.
164. Pita, P.; Pardos, J. A. 2001. Growth, leaf morphology, water use and tissue water relations of *Eucalyptus globulus* clones in response to water deficit. *Tree Physiology*. 21:599- 607.
165. _____.; Cañas, I.; Soria, F.; Ruiz, F.; Toval, G. 2005. Use of physiological traits in tree breeding for improved yield in drought prone environments: the case of *Eucalyptus globulus*. *Investigación Agraria (Madrid)*. 14(3):383- 393.
166. Pou, A.; Medrano, H.; Tomàs, M.; Martorell, S.; Ribas-Carbó, M.; Flexas, J. 2012. Anisohydric behaviour in grapevines results in better performance under moderate water stress and recovery than isohydric behavior. *Plant and Soil*. 359:335-349.
167. Pou, R. 2016. *Forestación en Uruguay*. Montevideo, Uruguay, Plus Ultra. 156 p.
168. Poynton, R. J. 1979. *Tree planting in Southern Africa: the Eucalypts*. Pretoria, Republic of South Africa, Southern African Regional Commission for the Conservation and Utilisation of the Soil (SARCCUS). Department of Forestry. v.2, 882 p.
169. Prodan, M.; Peters, R.; Cox, F.; Real, P. 1997. *Mensura forestal*. Costa Rica, IICA. 561 p. (Serie Investigación y Educación en Desarrollo Sostenible no. 1).
170. Pryor, L. D. 1976. *Biology of Eucalypts*. London, Arnold. 82 p. (Studies in biology no. 61).
171. _____.1981. *Australian endangered species: Eucalypts: Australian national parks and wildlife service*. 139 p. (Special publication no. 5).
172. _____.; Eamus, D.; Duff, G. A. 1997. Seasonal and diurnal patterns of carbon assimilation, stomatal conductance, and leaf water potential in *Eucalyptus tetradonta* saplings in a wet-dry savanna in Northern Australia. *Australian Journal of Botany*. 45:241- 258.

173. _____.; Brooker, M. I. H.; Chippendale, G. M.; Hall, N.; Hyland, B. P. M.; Johnston, R. D.; Kleinig, D. A.; McDonald, M. W.; Turner, J. D. 2006. Forest trees of Australia. 5th.ed. Melbourne, Australia, CSIRO. 771 p.
174. Rawat, J. S.; Banerjee, S. P. 1998. The influence of salinity on growth, biomass production and photosynthesis of *Eucalyptus camaldulensis* dehn and *dalbergia sissoo* roxb seedlings. Plant and Soil. 205:163- 169.
175. Resquin, F.; De Mello, J. C.; Fariña, I. 2004. Caracterización de la celulosa de especies del género *Eucalyptus* plantadas en el Uruguay. In: Seminario Aportes a la Producción de Celulosa a partir de Eucalyptus (2004, Las Brujas, Canelones, Uruguay). Trabajos presentados. Montevideo, INIA. pp. 1-47.
176. Richter, H. 1997. Water relations of plants in the field: some comments on the measurement of selected parameters. Journal of Experimental Botany. 87:1287-1299.
177. Rivas, R. 2004. Propuesta de un modelo operativo para la estimación de la evapotranspiración. Tesis PhD. Valencia, España. Universidad de Valencia. Facultad de Física. pp. 29-32.
178. Roberts, J.; Rosier, P. T. W. 1993. Physiological studies in young *Eucalyptus* stands in southern India and derived estimates of forest transpiration. Agricultural Water Management. 24(2):103-118.
179. Sack, L.; Tyree, M. T. 2005. Leaf hydraulics and its implications in plant structure and function. In: Holbrook, N. M.; Zweiniecki, M. A. eds. Vascular transport in plants. Oxford, Elsevier. pp. 93-114.
180. Salleo, S.; Nardini, A.; Pitt, F.; Lo Gullo, M. A. 2000. Xylem cavitation and hydraulic control of stomatal conductance in laurel (*Laurus nobilis* L.). Plant, Cell and Environment. 23:71- 79.
181. Salisbury, F.; Ross, C. 2000. Fisiología de las plantas. Madrid, España, Paraninfo Thomson Learning. v.1, 305 p.
182. Sánchez, C.; Fischer, G.; Sanjuanelo, D. W. 2013. Stomatal behavior in fruits and leaves of the purple passion fruit (*Passiflora edulis* Sims) and fruits and cladodes of the yellow pitaya [*Hylocereus*

megalanthus (K. Schum. ex Vaupel) Ralf Bauer]. *Agronomia Colombia*. 31(1):38-47.

183. Samaras, Y.; Bressan, R. A.; Csonka, L. N.; García-Ríos, M. G.; Paino Durzo, M.; Rhodes, D. 1995. Proline accumulation during drought and salinity. *In*: Smirnoff, N. ed. *Environment and plant metabolism: flexibility and acclimation*. Oxford, UK, Bios Scientific Publisher. pp. 161-186.
184. Santos, L. D. T.; Larema, L.; Thadeo, M.; Ferreira, F. A.; Meira, R. M. S. A. 2006. Características da epiderme foliar de eucalipto e seu envolvimento com a tolerância ao glyphosate. *Planta Daninha (Viçosa)*. 24(3):513-520.
185. 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.
186. Schulze, E. D.; Robichaux, R.; Grace, J.; Rundel, P.; Ehleringer, J. 1987. Plant water balance. *BioScience*. 37:32- 36.
187. _____.; Kelliher, F. M.; Körner, C.; Lloyd, J.; Leuning, R. 1994. Relationship among maximum stomatal conductance ecosystem surface conductance, carbon assimilation rate and plant nitrogen nutrition; a global ecology scaling exercise. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 25(1):629-660.
188. Sellin, A. 1999. Does pre dawn water potential reflect conditions of equilibrium in plants and soil water status?. *Acta Oecologica*. 20:51-59.
189. Serna, L.; Torres-Contreras, J.; Fenoll, C. 2002. Clonal analysis of stomatal development and patterning in *Arabidopsis* leaves. *Developmental Biology*. 241:24- 33.
190. Serrano, L. E. 1992. Respuestas ecofisiológicas a la sequía en *Eucalyptus globulus* Labill: relaciones hídricas y parámetros de intercambio gaseoso. Tesis PhD. Madrid, España. Universidad Autónoma de Madrid. 150 p.
191. Sheriff, D. W. 1992. Roles of carbon gain and allocation in growth at different nitrogen nutrition in *Eucalyptus camaldulensis* and

- M.; Silva, G. G. C.; Azevedo, M. R. 2010. The Brazil *Eucalyptus* Potential productivity project: influence of water, nutrients and stand uniformity on wood production. *Forest Ecology and Management*. 259(9):1684-1694.
201. Steudle, E. 2001. The cohesion tension mechanism and the acquisition of water by plant root. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 52:847-875.
202. Taiz, L.; Zeiger, E. 2010. *Plant physiology*. 5th. ed. Sunderland, UK, Sinauer Associates. 690 p.
203. Tardieu, F.; Simonneau, T. 1998. Variability among species of stomatal control under fluctuating soil water status and evaporative demand: modelling isohydric and anisohydric behaviours. *Journal of Experimental Botany*. 49:419-432.
204. Teklehaimanot, Z.; Lanek, J.; Tomlison, H. F. 1998. Provenance variation in morphology and leaflet anatomy of *Parkia biglobosa* and its relation to drought tolerance. *Trees*. 13:96- 102.
205. Tonello, K. C.; Teixeira, F. J. 2011. Mudança de escala da transpiração foliar e condutância estomática de dois clones de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* em função de variáveis ambientais. *Science Forum*. 39(90):253-264.
206. Tyree, M. T.; Sperry, J. 1988. Do woody plants operate near the point of catastrophic xylem dysfunction caused by dynamic water stress? Answers from a model. *Plant Physiology*. 88(3):574-580.
207. _____; _____. 1989. Vulnerability of xylem to cavitation and embolism. *Annual Review of Physiology and Plant Molecular Biology*. 40:19-38.
208. _____; Ewers, F. W. 1991. The hydraulic architecture of trees and other woody plants. *New Phytologist*. 119:345-360.
209. _____; Davis, S. D.; Cochard, H. 1994. Biophysical perspectives of xylem evolution; is there a tradeoff of hydraulic efficiency for vulnerability to dysfunction?. *International Association of Wood Anatomists Journal*. 15(4):335-360.

210. Tuomela, K. 1997. Leaf water relations in six provenances of *Eucalyptus microtheca*: a greenhouse experiment. *Forest Ecology Management*. 92:1-10.
211. Turnbull, J.; Brooker, F. 1978. Timor mountain gum. *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake. Melbourne, CSIRO. s.p. (Forest Tree Series no. 214).
212. Turner, N. C.; Jones, M. M. 1980. Turgor maintenance by osmotic adjustment: a review and evaluation. In: Turner, N. C.; Kramer, P. J. eds. *Adaptation of plants to water and high temperature stress*. New York, Wiley. pp. 87-103.
213. _____.; Schulze, E. D.; Gollan, T. 1984. The response of stomata and leaf gas exchange to vapour pressure deficits and soil water content I species comparisons at high soil water contents. *Oecologia*. 63:338- 342.
214. _____. 1986. Adaptation to water deficits: a changing perspective. *Functional Plant Biology*. 993(13):175-190.
215. Van Wyk, G.; Schonau, A. P. G; Schon, P. P. 1989. Growth potential and adaptability of young eucalypt hybrids in South Africa. In: Oxford Forestry Institute Conference (7th., 1988, Pattaya). *Breeding Tropical Trees: population structure and genetic improvement strategies in clonal and seedling forestry*. Pattaya, IUFRO. pp. 325-333.
216. Villar, E.; Klopp, C.; Noirot, C.; Novaes, E.; Kirst, M.; Plomion, C.; Gion, J. 2011. RNA Seq reveals genotype-specific molecular responses to water deficit in *Eucalyptus*. *BMC Genomics*. 12(538):1-18.
217. Weeb, A. R.; Baker, A. 2002. Stomatal biology: new techniques, new challenges. *New Phytologist*. 513:365- 370.
218. West, A. G.; Dawson, T. E.; Midgley, G. F.; Bond, W. J.; Aston, T. L. 2012. Diverse functional responses to drought in a Mediterranean type shrubland in South Africa. *New Phytologist*. 195:396- 407.
219. White, D. A.; Beadle, C. L.; Worledge, D. 1996. Leaf water relations of *Eucalyptus globulus* ssp *globulus* and *E. nitens*: seasonal, drought and species effects. *Tree Physiology*. 16:469- 476.

220. _____.; Turner, N. C.; Galbraith, J. H. 2000. Leaf water relations and stomatal behavior of four allopatric *Eucalyptus* species planted in mediterranean southwestern Australia. *Tree Physiology*. 20(17):1157-1165.
221. _____.; Battaglia, M.; Macfarlane, C.; Mummery, D.; McGrath, J. F.; Beadle, C. L. 2003. Selecting species for recharge management in mediterranean south western Australia some ecophysiological considerations. *Plant and Soil*. 257:283-293.
222. Whitehead, D. 1998. Regulation of stomatal conductance and transpiration in forest canopies. *Tree Physiology*. 18:633-644.
223. _____.; Beadle, C. L. 2004. Physiological regulation of productivity and water use in *Eucalyptus*: a review. *Forest Ecology and Management*. 193(1):113-140.
224. Wong, S. C.; Cowan, I. R.; Farquhar, G. D. 1979. Stomatal conductance correlates with photosynthetic capacity. *Nature*. 282:424- 426.
225. Wright, T. E.; Tausz, M.; Kasel, S.; Volkova, L.; Merchant, A.; Bennett, L. T. 2012. Edge type affects leaf level water relations and estimated transpiration of *Eucalyptus arenacea*. *Tree Physiology*. 32:280-293.
226. Wullschleger, S.; Tschaplinski, T.; Norby, R. 2002. Plant water relations at elevated CO₂ implications for water limited environments. *Plant, Cell and Environment*. 25:319- 331.
227. Yatapanage, K. G.; SO, H. B. 2001. The relationship between leaf water potential and stem diameter in *sorghum*. *Agronomy Journal*. 93:1341- 1343.
228. Zhang, Y. J.; Meinzer, F. C.; Qi, J. H.; Goldstein, G.; Cao, K. F. 2013. Midday stomatal conductance is more related to stem rather than leaf water status in subtropical deciduous and evergreen broadleaf trees. *Plant, Cell and Environment*. 36:149- 158.
229. Zimmermann, M. H. 1983. Xylem structure and the ascent of sap. Berlin, Germany, Springer-Verlag. 146 p.

230. Zimmermann, U.; Meinzer, F.; Bentrup, F. 1995. How does water ascend in tall trees and other vascular plants?. *Annals of Botany*. 76(6):545-551.
231. Zobel, B. J.; Van Wyk, G.; Sthal, P. 1987. *Growing exotic forest*. New York, USA, Wiley. 508 p.
232. _____; Talbert, J. 1992. *Técnicas de mejoramiento genético de árboles forestales*. México, Limusa. 545 p.