

ÁGUEDA M^a GONZÁLEZ RODRÍGUEZ

CARACTERIZACIÓN FOTOSINTÉTICA DE
ÁRBOLES DE LA LAURISILVA CANARIA
(*Laurus azorica*, *Persea indica* y *Myrica faya*)



UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
1998

Esta Tesis Doctoral, dirigida por los Drs. D^a M^a Soledad Jiménez Parrondo y D. Domingo Morales Méndez, ha sido defendida el día 28 de abril de 1998, obteniendo la calificación máxima de APTO CUM LAUDE, ante el tribunal compuesto por:

Presidente: Dr. D. Francisco Gil Martínez

Secretario: Dr. D. Roberto Lorenzo Martín

Vocales: Dr. D. Manuel Sánchez Díaz

Dr. D. Rainier Lösch

Dra. Dña. Blanca Rodríguez Méndez

ÁGUEDA M^a GONZÁLEZ RODRÍGUEZ
DPTO. FISILOGÍA VEGETAL
FACULTAD DE FARMACIA
UNIV. LA LAGUNA
38207 LA LAGUNA
TENERIFE
ESPAÑA
FAX:922630095
E-MAIL: amgr@ole.com

1. INTRODUCCIÓN.....	9
1.1. EL ÁRBOL Y LOS BOSQUES	11
1.2. LOS BOSQUES DE LAURISILVA	11
1.3. LA LAURISILVA CANARIA.....	14
1.3.1. CONCEPTO ESPECÍFICO DE LA LAURISILVA CANARIA.....	14
1.3.2. ORIGEN	15
1.3.3. DISTRIBUCIÓN DE LA LAURISILVA EN LAS ISLAS CANARIAS.....	16
1.3.4. HISTORIA E IMPORTANCIA	16
1.3.4.1. El hombre y la laurisilva	16
1.3.4.2. Importancia de la laurisilva	17
1.3.5. ESPECIES ARBÓREAS DE LA LAURISILVA CANARIA	18
1.4. LA FOTOSÍNTESIS COMO PARÁMETRO DE ESTUDIO EN EL FUNCIONAMIENTO DEL BOSQUE	19
1.4.1. IMPORTANCIA DE LA FOTOSÍNTESIS	19
1.4.2. LA FOTOSÍNTESIS EN ÁRBOLES	19
1.4.3. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA FOTOSÍNTESIS	20
1.4.3.1. Factores ambientales	20
1.4.3.2. Factores intrínsecos de la planta	24
1.4.4. RESISTENCIA DEL APARATO FOTOSINTÉTICO A TEMPERATURAS EXTREMAS	24
2. OBJETIVOS	27
3. MATERIAL Y MÉTODOS	31
3.1. MATERIAL VEGETAL	33
3.1.1. DESCRIPCIÓN Y DISTRIBUCIÓN DE LAS ESPECIES DE ESTUDIO	33
3.2. TÉCNICAS Y EQUIPOS DE MEDIDA	39
3.2.1. ESTACIÓN METEOROLÓGICA.....	39
3.2.2. MEDIDA DEL INTERCAMBIO GASEOSO	40
3.2.2.1. Medida del intercambio gaseoso en condiciones naturales	40
3.2.2.2. Medida del intercambio gaseoso a concentraciones de CO₂ no limitante	45
3.2.3. MEDIDA DE LA FLUORESCENCIA DE LA CLOROFILA	47

4. RESULTADOS	53
4.1. CARACTERIZACIÓN DEL SITIO DE ESTUDIO Y PATRONES DE DISTRIBUCIÓN FOLIAR	55
4.1.1. INTRODUCCIÓN	55
4.1.2. MATERIAL Y MÉTODOS	55
4.1.2.1. El sitio de estudio.....	55
4.1.2.2. Caracterización de la parcela de estudio.....	57
4.1.2.3. Selección de árboles y distribución foliar	57
4.1.3. RESULTADOS	59
4.1.3.1. Estructura de la parcela de estudio.....	59
4.1.3.2. Arquitectura de los árboles.....	62
4.1.3.3. Distribución de las hojas.....	63
4.1.3.4. Relaciones alométricas	69
4.1.4. DISCUSIÓN	69
4.1.5. CONCLUSIONES	72
4.2. CARACTERÍSTICAS FOLIARES A LO LARGO DEL PERFIL VERTICAL	73
4.2.1. INTRODUCCIÓN	73
4.2.2. MATERIAL Y MÉTODOS	73
4.2.3. RESULTADOS	74
4.2.4. DISCUSIÓN	77
4.2.5. CONCLUSIONES	80
4.3. INTERCAMBIO GASEOSO EN CONDICIONES NATURALES	81
4.3.1. INTRODUCCIÓN	81
4.3.2. MATERIAL Y MÉTODOS	81
4.3.3. RESULTADOS	82
4.3.3.1. Condiciones climáticas	82
4.3.3.2. Medidas del intercambio gaseoso	106
4.3.4. DISCUSIÓN	118
4.3.5. CONCLUSIONES	123
4.4. INTERCAMBIO GASEOSO EN CONDICIONES DE CO ₂ NO LIMITANTE	124
4.4.1. INTRODUCCIÓN	124
4.4.2. MATERIAL Y MÉTODOS	124
4.4.3. RESULTADOS	125
4.4.3.1. Características de las hojas.....	125
4.4.3.2. Medidas con el electrodo de oxígeno	126
4.4.4. DISCUSIÓN	128
4.4.5. CONCLUSIONES	129
4.5. FOTOINHIBICION EN CONDICIONES NATURALES	130
4.5.1. INTRODUCCIÓN	130
4.5.2. MATERIAL Y MÉTODOS	131
4.5.2.1. Medidas de fluorescencia.....	131
4.5.2.2. Análisis de pigmentos y antioxidantes.....	131
4.5.3. RESULTADOS	132

4.5.3.1. Variación de la fluorescencia de la clorofila	132
4.5.3.2. Variación de pigmentos y sistema antioxidativo en relación con la variación de fluorescencia	134
4.5.4. DISCUSIÓN	137
4.5.5. CONCLUSIONES	139
4.6. RESISTENCIA DEL APARATO FOTOSINTÉTICO A LAS TEMPERATURAS EXTREMAS	140
4.6.1. INTRODUCCIÓN.....	140
4.6.2. METODOLOGÍA	142
4.6.3. RESISTENCIA DEL APARATO FOTOSINTÉTICO A LAS BAJAS TEMPERATURAS	144
4.6.3.1. Límite de resistencia del aparato fotosintético a las bajas temperaturas	144
4.6.3.2. Estudio del mecanismo de resistencia a las bajas temperaturas	175
4.6.3.3. Efecto del tiempo a las bajas temperaturas	189
4.6.4. RESISTENCIA DEL APARATO FOTOSINTÉTICO A LAS ALTAS TEMPERATURAS	201
4.6.4.1. Límite de resistencia del aparato fotosintético a las altas temperaturas	201
4.6.4.2. Efecto del tiempo a altas temperaturas	220
4.6.5. CONCLUSIONES	230
5. CONCLUSIONES	233
6. BIBLIOGRAFIA	239

ABREVIATURAS - SIMBOLOS

- ϕ_{ap} : Rendimiento cuántico aparente
 Δc : diferencia entre la concentración de CO₂ de referencia y de análisis en el IRGA ($\mu\text{mol mol}^{-1}$)
 ϕ_i : Rendimiento cuántico en base a la luz incidente
A: área foliar (m^2)
a: superficie de la hoja expuesta en la cubeta (cm^2)
 A_m : capacidad fotosintética ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
C₃: plantas que fijan el CO₂ en ácidos de tres carbonos
C₄: plantas que fijan el CO₂ en ácidos de cuatro carbonos
CAM: metabolismo ácido de las crasuláceas
C_e: concentración de CO₂ de referencia ($\mu\text{mol mol}^{-1}$)
C_i: concentración de CO₂ del mesófilo ($\mu\text{mol mol}^{-1}$)
CH: contenido hídrico (%)
DBH: diámetro a la altura del pecho (cm)
DTA: análisis térmico diferencial
DW: peso seco (g)
E: transpiración ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
 e_0 : presión de vapor de agua de salida
 e_1 : presión de vapor de agua de entrada
 e_{s1} : presión de vapor a saturación
f: flujo de aire (ml min^{-1})
Fig, Figs: figura
F_m: fluorescencia máxima
F_o: fluorescencia inicial
F_s: fluorescencia en el estado estable
F_v: fluorescencia variable
g: conductancia foliar al vapor de agua ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
G_s: conductancia estomática ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
HR: humedad relativa del aire (%)
IRGA: analizador de gases por infrarrojo
I_t: índice de daño
LAI: índice de área foliar
LHCII: complejo colector de luz del fotosistema II
LT₀: temperatura sin daño
LT₁₀₀: temperatura a la que se produce un 90-100% de daño
LT₅₀: temperatura a la que se produce un 50% de daño
LT_i: temperatura de daño incipiente
P: presión atmosférica (bar)
P680: Centro de reacción del fotosistema II (con un máximo de absorción a 680 nm)
P700: Centro de reacción del fotosistema I (con un máximo de absorción a 700 nm)
PAR: Radiación fotosintéticamente activa ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
PCL: Punto de compensación luminoso ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)

PEA: fluorímetro portatil

Pn; Fn; A: fotosíntesis neta ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)

Pn_{max}: fotosíntesis neta máxima ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)

PPFD: Densidad de flujo fotónico fotosintético ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)

PSI: Fotosistema I

PSII: Fotosistema II

PSL: punto de saturación luminoso ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)

Rd: Respiración de oscuridad ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)

Rfd: $(F_m - F_s)/F_s$

Rubisco: Ribulosa 1,5-bifosfato carboxilasa/oxigenasa

RuBP: Ribulosa 1,5-bifosfato

RWC: contenido hídrico relativo (%)

SLW: Peso específico foliar (g m^{-2})

Ta: temperatura del aire ($^{\circ}\text{C}$)

Th: temperatura de la hoja ($^{\circ}\text{C}$)

tr ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) tasa de transpiración

V: flujo de aire en volumen (ml s^{-1})

VPD: déficit de presión parcial de vapor (KPa)

WUE: eficiencia en el uso del agua ($\mu\text{mol CO}_2$ absorbido por mmol de H_2O transpirado)

1. INTRODUCCIÓN

1.1. EL ÁRBOL Y LOS BOSQUES

Los árboles son uno de los organismos más fascinantes de nuestro mundo debido a su tamaño y complejidad. Son los seres vivos más grandes y viejos de la Tierra. Su gran variedad de formas hace que sean un componente esencial del paisaje, además de aportarnos alimento, fibra, aceite y otros importantes productos para las industrias y nuestras propias casas.

A pesar de su importancia, los estudios sobre la fisiología de los árboles son bastante limitados, principalmente debido a su gran tamaño que produce serias dificultades en la experimentación. Además, los factores internos del árbol hacen la situación más compleja para el fisiólogo. Algunos de estos factores internos son: la fuerte periodicidad del crecimiento y floración, la continua caída de partes de la planta, una complicada red de distribución de asimilados y a menudo, un largo espacio de tiempo entre el factor ambiental y la respuesta fisiológica.

El interés en la fisiología de los árboles ha sido actualmente enfatizado debido al aumento de su importancia como factor ecológico y a la mejora de las técnicas experimentales. Los bosques son capaces de limitar el aumento de dióxido de carbono en nuestra atmósfera, hecho de gran importancia en el calentamiento global que está sufriendo nuestro planeta. Por otro lado, la silvicultura representa una gran ayuda, no sólo en la economía sino también en la conservación del medio ambiente y la vida humana.

Los bosques representan el 21 % del área continental, el 76 % de la biomasa terrestre y aportan el 37 % de su productividad (Atjay *et al.* 1979; Saugier 1986). De toda esta superficie, un pequeño porcentaje se encuentra representado por bosques de laurisilva.

1.2. LOS BOSQUES DE LAURISILVA

El concepto de laurisilva, en sentido amplio, se aplica a todo tipo de bosque de laurilignosas pluriestratificado con árboles y arbustos perennifolios de hojas anchas, verdes, brillantes y coriáceas, donde pueden hallarse epífitos y lianas que le dan un cierto carácter tropical (Santos 1990).

Las laurisilvas se diferencian de las selvas tropicales en que son menos ricas en especies, sin embargo, se asemejan a ellas por su estructura, fisionomía, complejidad, diversidad, la alta especialización de las adaptaciones de las especies y sus interacciones.

Desde el punto de vista fisionómico, este término, desarrollado por Rübel (1930), se ha aplicado a diversas formaciones boscosas cuya característica común es la presencia de hojas lauroides. Crecen bajo un clima de temperaturas suaves, sin grandes oscilaciones, y de precipitaciones abundantes bien distribuidas a lo largo del año. Evidentemente, fuera del ámbito ecuatorial, estas condiciones se producen en regiones muy concretas del Planeta

debido a la influencia de distintos regímenes de vientos que traen las lluvias y suavizan las temperaturas extremas.

Su distribución geográfica comprende las zonas subtropicales húmedas, que están bajo la influencia de los vientos alisios y monzónicos, y las zonas templadas lluviosas, bajo la influencia de los vientos del oeste. En todas ellas es común la casi total ausencia de heladas y de períodos de sequía, aunque el ritmo de las estaciones sea marcado.

A nivel mundial, y en sentido amplio, las laurisilvas se localizan en los siguientes zonas: En América del Norte, se encuentra disgregada en la zona sureste de Estados Unidos (Carolina del Norte) formando la selva Misisipiana. En América del Sur se encuentra la laurisilva Misionera y la Valdiviana que comprende la primera, el sureste de Brasil, este de Paraguay y noreste de Argentina, y la segunda se extiende desde el centro de Chile hasta Tierra del Fuego. También se encuentra presente en la mitad sur de Japón, donde la laurisilva llega hasta los 35° de latitud norte, en el sureste de China (en Yunnan, a lo largo de la costa y también en Taiwán), en el Himalaya, en donde la laurisilva se localiza en la zona este y central de las vertientes sur de este macizo, en el sur de Nueva Zelanda, en el sureste de Australia, en el sureste de África, y en la región macaronésica (en los archipiélagos de Azores, Madeira y Canarias) (Fig. 1.1.1). Más recientemente, Tawaga (1997) engloba la laurisilva dentro de los bosques lucidifolios siempreverdes de robles y laureles.

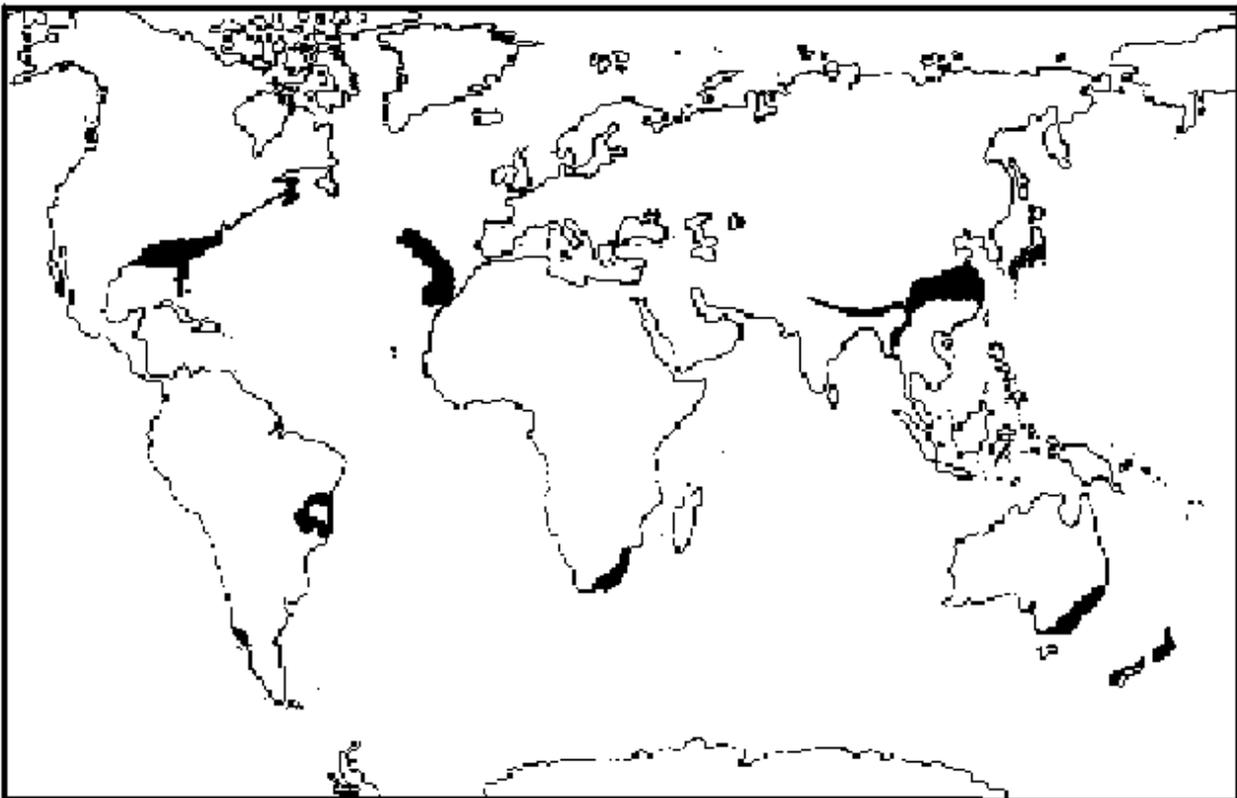


Fig. 1.1.1. Mapa de distribución mundial de los bosques de laurisilva, adaptado a partir de Rübél (1930) y González Henríquez *et al.* (1986).

Desde el punto de vista bioclimático (Rivas Martínez 1996), la laurisilva se halla, tanto en los territorios lluviosos de bioclima tropical como en los templados, pero en ambos casos, carentes de una estación seca durante la época cálida del año. Se diferencia de las pluvisilvas en que no posee las lianas de tronco grueso tan frecuentes en ellas, y el sotobosque suele ser menos denso y, en general, más favorable para transitar. Rivas Martínez (1996), de acuerdo a su clasificación bioclimática, considera los bosques macaronésicos como un modelo de “durisilva” termomediterráneo subhúmedo-húmedo por presentar veranos con escasez de lluvias, considerándolo como una Clase fitosociológica endémica de la Subregión Canaria denominada *Pruno-Lauretea azoricae* con dos órdenes: *Pruno-Lauretalia azoricae* (para el bosque maduro) y *Andryalo-Ericetalia arborea* (para el fayal-brezal). En la actualidad se tiende a distinguir dos laurisilvas claramente diferenciadas, aquellas que presentan lluvias durante la época de verano (laurisilva en sentido estricto) y aquellas con veranos secos, en donde las nubes aportan la humedad ambiental, característica que las hace diferentes a los bosques típicos mediterráneos. En esta última se incluiría la laurisilva canaria.

Como se ha dicho anteriormente, las condiciones que determinan la organización y el funcionamiento de las laurisilvas, están caracterizadas por la benignidad del clima durante todo el año. Las precipitaciones elevadas y las temperaturas suaves son condiciones presentes en todas las zonas por donde se extienden estos bosques. Sin embargo, dada la distribución geográfica de las laurisilvas, repartidas en zonas subtropicales y templadas, existen diferencias importantes en el funcionamiento de unas y otras, en cuanto a la velocidad a la que ocurren los procesos de síntesis y descomposición de materia orgánica, la utilización de los nutrientes y el ciclo del agua.

En muchos aspectos, el funcionamiento de las laurisilvas subtropicales es parecido al de las selvas tropicales lluviosas. Pero en las laurisilvas de las zonas templadas y templado-frías, situadas en la costa oeste de los continentes, las temperaturas son más bajas y los procesos fisiológicos son más lentos. En las regiones más frías, debido a una mayor altitud o latitud, se acumula una gran cantidad de materia orgánica en el suelo y el reciclado de nutrientes es lento.

Tal vez por su ubicación geográfica marginal y por su extensión relativamente pequeña en comparación con otros bosques, las laurisilvas han sido poco estudiadas y los datos sobre la producción y disipación de la materia orgánica, el flujo de energía y la circulación del agua y los nutrientes son muy escasos.

Las investigaciones llevadas a cabo en los últimos años han proporcionado un mejor conocimiento de algunas de las laurisilvas. Por ejemplo, se conoce con cierta precisión el funcionamiento de las laurisilvas del sureste de los Estados Unidos, concretamente en la cuenca de Coweeta, al sur de los Apalaches (Carolina del Norte) (Monk & Day 1988), y se tienen datos muy interesantes de las laurisilvas de la vertiente sur del Himalaya central (Kumaun) (Singh *et al.* 1994), de las laurisilvas japonesas (Kawanabe 1977; Tadaki 1977; Satoo 1983), de Australia (Ovington & Pryor 1983) y Nueva Zelanda (Wardle *et al.* 1983; Hollinger 1989). Las laurisilvas de Sudamérica, subtropicales y templadas, se encuentran entre las menos estudiadas y sólo en años recientes se han iniciado proyectos de investigación sobre su funcionamiento.

A pesar del esfuerzo realizado, los estudios son todavía muy parciales para la mayoría de las laurisilvas. Sólo para los bosques de la cuenca de Coweeta hay estudios exhaustivos sobre el ciclo del carbono, el balance hídrico y el reciclado de nutrientes, la biomasa y la producción (Monk & Day 1988). En el caso de la laurisilva canaria, Köhl *et al.* (1996) dieron una primera aproximación sobre el contenido en cationes en este tipo de bosque. Sin embargo, los datos obtenidos sobre el funcionamiento de este bosque no se pueden extrapolar a todas las selvas lluviosas templadas o subtropicales, pues los bosques que comprenden este bioma son muy diversos y es poco aconsejable hacer generalizaciones.

1.3. LA LAURISILVA CANARIA

1.3.1. CONCEPTO ESPECÍFICO DE LAURISILVA CANARIA

El carácter oceánico de las Islas Canarias, junto con las elevadas altitudes que presentan la mayoría de ellas, permite la existencia de una franja húmeda casi permanente, producida por la acción de los vientos alisios, situada en las laderas de barlovento de las islas. Estas son las características principales que permiten la supervivencia de los bosques de laurisilva en el archipiélago (para más detalles de estudios climáticos en las islas ver: Huetz de Lemps 1969; Kämmer 1974; Hernández-Abreu 1977; de León *et al.* 1991).

Según Wildpret de la Torre & Martín Osorio (1997) las características que definen a la laurisilva canaria son:

1. Dominancia de especies arbóreas siempreverdes, con hojas enteras y coriáceas y con una textura brillante y lustrosa.
2. Las yemas en las especies arbóreas se encuentran desnudas o parcialmente protegidas.
3. Presencia de varias especies de lianas, que dan un aspecto suntuoso a este bosque.
4. Presencia de epífitos creciendo sobre los troncos y las ramas.

En general, la laurisilva confinada a las islas macaronésicas es considerada como una “paleoflora viviente” (Ciferri 1962; Meusel 1965), vegetación fósil, relictos del terciario (Oberdorfer 1965; Dansereau 1968; Walter 1968). El bosque europeo del Terciario presumiblemente tuvo una apariencia y una ecología bastante similar al que actualmente encontramos en el bosque de laurisilva de las Islas Canarias.

Algunas características presentes en la laurisilva canaria son compartidas por diferentes bosques templados, otros aspectos, sin embargo, pueden corresponderse más con los de un bosque lluvioso tropical o subtropical que con los de un bosque decídúo, templado o esclerófilo mediterráneo, pero se diferencia de los bosques lluviosos tropicales por tener menos epífitos.

1.3.2. ORIGEN

Según Ehrendorfer (1994) durante el Terciario inferior (Paleoceno, Eoceno y Oligoceno) predominaba en la Tierra un clima (sub)tropical extraordinariamente cálido y uniforme. Incluso en las zonas hoy templadas del hemisferio boreal preponderaban las pluvisilvas siempre verdes tropicales-subtropicales con lauráceas, moráceas, juglandáceas primitivas, palmeras, helechos tropicales, etc. Irradiaciones de estas floras tropicales llegaron incluso hasta lo que ahora es la región ártica de Alaska, Groenlandia, etc.

En el Terciario superior (Mioceno y Plioceno) todo el planeta sufre un enfriamiento progresivo, que alcanza su máximo en los períodos glaciales del Cuaternario. Además, la formación de montañas (Alpes, Himalaya, Cordilleras del Nuevo Continente, etc.), la reducción o desecación de masas de agua marinas y límnicas, etc., condujeron a una continentalización generalizada de los climas. Por ello se produjo un desplazamiento de las zonas florísticas y de vegetación hacia el sur, la extinción de casi todas las estirpes tropicales y también de muchas de las artoterciarias termófilas (p. e. géneros *Ginkgo*, *Sequoia*, *Magnolia*, ...), y la formación de grandes hiatos en la distribución de muchas especies holárticas del bosque planifolio en el espacio continental del Asia media y en el oeste de América del Norte.

La posterior aparición de climas calurosos continentales, secos en verano, en las zonas (sub)meridionales (e.g., en los países mediterráneos, en el oeste de América del Norte y también en el hemisferio austral, e.g., en Chile) condujo a la transformación de las floras locales, pluvisilvas siempreverdes, en floras de esclerófilos.

El origen de la flora esclerófila está bien documentado en las floras fósiles oligocenas y miocenas de Hungría que contienen, por ejemplo, precursores de las especies actuales de *Laurus*, *Arbutus*, *Ceratonia*, *Pistacia*, etc., y también en el oeste de América del Norte. Sin embargo, algunos restos de la flora siempreverde quedaron relegadas a ciertos enclaves, que por una circunstancia u otra, permanecieron ajenos a dichos cambios climáticos. Este fue el caso de Canarias, Madeira y Azores. En la actualidad, algunas especies pertenecientes a la flora subtropical húmeda se encuentran presentes en la península Europea, principalmente en los bosques húmedos mixtos de alcornoques en el sur de la Península Ibérica, como pueden ser *Prunus lusitanica*, *Woodwardia radicans*, *Calcita macrocarpa*, *Davallia canariensis*, *Umbilicus heylandianus*, y algunas otras (Wildpret de la Torre & Martín Osorio 1997).

Más tarde los espacios particularmente estables en el aspecto geológico de la Península Ibérica y del noreste de África, así como del sudeste de Asia, fueron decisivos para el desarrollo de la actual flora mediterránea.

1.3.3. DISTRIBUCIÓN DE LA LAURISILVA EN LAS ISLAS CANARIAS

Actualmente, la laurisilva en las Islas Canarias se encuentra representada en las islas de Tenerife, La Palma, Gomera y Hierro. En la isla de Gran Canaria existía una excelente muestra de este tipo de bosque, la Selva de Doramas, pero durante el transcurso de la

historia reciente, ha sido sometida a una intensa explotación que ha conducido a su casi total desaparición.

Las formaciones de laurisilva tienen diversos grados de conservación; su extensión y calidad varía en función del grado de explotación o aislamiento al que han estado sometidas.

Las mejores representaciones de formaciones densas de laurisilva, que aún perviven en nuestras islas, se localizan preferentemente en La Gomera, dentro del Parque Nacional de Garajonay, y en aquellos barrancos con orientación nordeste. En Tenerife se localizan en la península de Anaga y en el Monte del Agua (macizo de Teno), quedando pequeños vestigios en el bosque de Madre del Agua (Agua García, Tacoronte). En La Palma las encontramos principalmente en los barrancos de La Galga y del Agua (Los Tilos).

1.3.4. HISTORIA E IMPORTANCIA DE LA LAURISILVA EN CANARIAS

1.3.4.1. El hombre y la laurisilva. Historia de la laurisilva en Canarias

A partir de la conquista de las Islas Canarias que tuvo lugar desde 1402 hasta 1496, y con la implantación inmediata de los cultivos de caña de azúcar, la laurisilva comenzó a verse seriamente amenazada. Estos cultivos, que llegaron a tener carácter intensivo, no sólo precisaban de la roturación de nuevas tierras en los bordes de los bosques, sino además, su industria suponía una fuerte demanda de leña y madera para los ingenios azucareros. Coincidiendo con esta época (la época de los grandes descubrimientos), se desarrolla en Canarias una importante industria naviera, que requería notables cantidades de madera, especialmente de los árboles más nobles (Serrada *et al.* 1990).

A partir de este momento las explotaciones del bosque de laurisilva se sucederán hasta nuestros días, estando estrechamente vinculadas al desarrollo económico y político de las islas. Así, los distintos cultivos se van sucediendo y, desde el de la caña de azúcar, el cultivo de la vid, implantado a principios del siglo XVI, hasta los cultivos de tomates y plátanos de los últimos tiempos, demandan una buena cantidad de varas y horquetas que son extraídas de los montes.

Por otra parte, y paralelamente, influye el interés de los señores de las islas que, especialmente en los siglos XVII y XVIII, ven en las concesiones y repartos del monte una forma de mejorar su hacienda. Esto produce tensiones entre los campesinos, que ven como las concesiones recaen siempre sobre las mismas personas. Hacia finales del siglo XVIII esta situación alcanza, en La Gomera, niveles de verdadero dramatismo, desencadenándose una oleada de incendios en distintos puntos de la isla.

A lo largo de la historia los cabildos fueron creando ordenanzas que intentaban evitar la explotación abusiva de los montes, pero éstas nunca se cumplieron. En Gran Canaria, los repartos campesinos de 1799 y 1823 y las datas del Mariscal Morales en 1831 y del Brigadier Delgado en 1832 auguraban el último adiós a la laurisilva en esta isla. Sin embargo, en La Gomera se toma conciencia de que el mantenimiento de los bosques como un bien público es la mejor solución para el campesinado indigente. Esta conciencia

popular, respaldada por las ordenanzas, ha conseguido que los bosques de esta isla llegaran bastante conservados hasta nuestros días, constituyendo la mejor muestra de laurisilva de Canarias. En 1981 se crea el Parque Nacional de Garagonay declarado en 1986 Patrimonio Natural de la Humanidad por la UNESCO.

En la isla de Tenerife y La Palma todavía se continúa explotando el bosque para la obtención de varas y horquetas.

En la actualidad se llevan a cabo planes de gestión y se catalogan espacios naturales protegidos dentro de un auténtico plan de ordenación del territorio en las islas, cuya finalidad es permitir, al mismo tiempo, un desarrollo socioeconómico de la población, un buen aprovechamiento de los recursos naturales y un mejor conocimiento y conservación de nuestro patrimonio natural.

1.3.4.2. Importancia de la laurisilva

La relevancia que la laurisilva ha tenido a lo largo de la historia por su exuberante belleza, ha quedado plasmada en infinidad de publicaciones por innumerables botánicos y naturalistas (Webb & Berthelot 1836-1842; Hollermann 1981; Bramwell & Bramwell 1990; Pérez de Paz 1990; Santos 1990). En la actualidad es indudable la gran importancia paisajística de este bosque.

Como formación arbórea ha jugado, y aún continúa haciéndolo, un papel sumamente importante en el mantenimiento de los equilibrios ecológicos insulares, siendo el soporte principal para un porcentaje elevado de la fauna endémica de las islas.

Por otro lado, la laurisilva facilita otro proceso de vital importancia, como es el fenómeno de la precipitación horizontal, es decir, la condensación de pequeñas gotas de agua que, al contacto con la superficie foliar, precipitan depositándose en el suelo. Varios autores han realizado aproximaciones de la importancia de este fenómeno para la captación de agua (Michaelis 1973; Kämmer 1974; Ceballos & Ortuño 1976; Serrada *et al.* 1990), sin embargo, un estudio en concreto de la importancia de cada especie y de cada formación de laurisilva en este proceso de absorción acuosa, está aún por realizarse.

La conservación de estos bosques en Canarias constituye una necesidad vital, ya que como ecosistema altamente complejo y organizado resulta muy sensible, y cualquier explotación material de la laurisilva conduce más tarde o más temprano a su desaparición.

1.3.5. ESPECIES ARBÓREAS DE LA LAURISILVA CANARIA

Como hemos dicho con anterioridad, la laurisilva canaria es un bosque rico en especies. De la gran variedad de especies que la forman, aproximadamente una veintena son árboles o arbustos de gran porte pertenecientes a diferentes familias y géneros. A continuación se nombran los árboles y arbustos más representativos de esta formación boscosa:

Familia *Lauraceae*: *Apollonias barbujana* (barbusano), *Laurus azorica* (laurel), *Ocotea foetens* (til) y *Persea indica* (viñátigo).

Familia *Ericaceae*: *Arbutus canariensis* (madroño), *Erica arborea* (brezo) y *Erica scoparia* (tejo).

Familia *Myricaceae*: *Myrica faya* (faya).

Familia *Aquifoliaceae*: *Ilex canariensis* (acebiño) e *Ilex platyphylla* (naranjero salvaje).

Familia *Myrsinaceae*: *Pleiomis canariensis* (delfino) y *Heberdenia excelsa* (aderno).

Familia *Oleaceae*: *Picconia excelsa* (palo blanco)

Familia *Caprifoliaceae*: *Viburnum tinus* ssp. *rigidum* (follao) y *Sambucus palmensis* (sauco).

Familia *Theaceae*: *Visnea mocanera* (mocán).

Familia *Euphorbiaceae*: *Euphorbia mellifera* (adelfa de monte).

Familia *Sapotaceae*: *Sideroxylon marmulano* (marmulán).

Familia *Rhamnaceae*: *Rhamnus glandulosa* (sanguino).

Familia *Rosaceae*: *Prunus lusitanica* ssp. *hixa* (hija).

La distribución de estas especies en el interior del bosque, varía en función de las preferencias ecológicas de cada una de ellas. Los viñátigos y tiles constituyen las especies más típicas de la laurisilva, encontrándose principalmente en los cauces de los barrancos. Otra especie de la laurisilva, muy común y extendida, es el laurel. Estas tres especies representan el conjunto de especies más frecuentes en las situaciones óptimas de la laurisilva canaria.

Otro grupo de árboles que caracteriza a las zonas de borde y sectores más abiertos de la laurisilva son los acebiños, paloblanco, barbusanos, hijas y mocanes. También hay que destacar el papel de los adernos, marmulanes y delfinos en las situaciones más limítrofes del bosque de laurisilva con los bosques termófilos.

Las fayas, brezos y tejos, pese a constituir una vegetación propia, el fayal-brezal, se entremezclan, en la mayoría de los casos, con especies propias de la laurisilva, formando parte de la laurisilva canaria como tal.

Nuestro estudio se centra en el análisis de tres de estos árboles: el laurel -*Laurus azorica*-, el viñátigo -*Persea indica*- y la faya -*Myrica faya*-, que serán descritas en detalle en el apartado 3.1.1.

1.4. LA FOTOSÍNTESIS COMO PARÁMETRO DE ESTUDIO EN EL FUNCIONAMIENTO DEL BOSQUE

1.4.1. IMPORTANCIA DE LA FOTOSÍNTESIS

El concepto de fotosíntesis ha sido definido en numerosas ocasiones y según diferentes puntos de vista (fisiológico, bioquímico, físico, ecológico...). Básicamente,

consiste en la reducción de CO₂ atmosférico a carbohidratos en las plantas verdes, gracias a la luz.

La importancia de la fotosíntesis estriba; desde el punto de vista químico, en la transformación de la energía luminosa en energía de enlace; desde el punto de vista biológico, en que casi toda la biomasa de la biosfera deriva de ella; desde el punto de vista ecológico, en su efecto sobre los cambios climáticos; desde el punto de vista económico como fuente de alimentación y materia prima para la industria; y desde el punto de vista evolutivo, como factor determinante en la formación de la vida tal y como la conocemos actualmente.

Este proceso está relacionado directamente con muchos otros procesos fisiológicos tales como, el crecimiento, relaciones hídricas, traslocación de sustancias, etc. Cualquier estudio encaminado a ampliar el conocimiento sobre la fotosíntesis, tendrá importantes repercusiones en la comprensión de los procesos globales que suceden en la naturaleza y sus interrelaciones.

La fotosíntesis se puede medir cuantificando la cantidad de CO₂ que absorbe la planta mediante la incorporación de ¹⁴C, registrando el intercambio de CO₂ mediante analizadores de gases por infrarrojo (IRGAs), o bien detectando la cantidad de O₂ que desprende mediante electrodos de oxígeno. Existen otras técnicas que detectan el daño en el aparato fotosintético, como puede ser la medida de la fluorescencia de la clorofila.

1.4.2. LA FOTOSÍNTESIS EN ÁRBOLES

Los árboles son una parte esencial en el funcionamiento de la biosfera terrestre, especialmente en el ciclo del carbono. Cuando comparamos los árboles con el resto de las plantas terrestres, vemos como presentan características únicas que los distingue claramente, tales como su longevidad, gran tamaño y la presencia de componentes no vivos en su biomasa, todo ello determina que presenten una compleja relación estructura-función.

La fotosíntesis está mucho menos estudiada en los árboles que en otras plantas, ello se debe a varias razones: por un lado el tamaño que alcanzan los árboles adultos hace muy difícil realizar las medidas, la dificultad de medir fotosíntesis en árboles enteros o parcelas de bosques y, por último, la casi ausencia de modelos de crecimiento basados en la fotosíntesis y los procesos fisiológicos.

Una de las primeras revisiones sobre la tasa de intercambio gaseoso de árboles y plantas leñosas fue realizada por Larcher (1969), en ella se incluía una lista de las tasas de fotosíntesis máximas y la respiración de oscuridad de numerosas especies. Posteriormente Schulze (1982) y Jarvis & Sandford (1986) hicieron una revisión de los árboles, que forman parte de bosques, relacionando la forma de crecimiento y la productividad. Nuevas revisiones sobre la fotosíntesis en árboles se encuentran en Ceulemans & Saugier (1991), Larcher (1992) y Jiménez (1996).

El gran interés de la respuesta integrada de la planta (principalmente de árboles) a la contaminación ambiental, las enormes posibilidades de producción de energía utilizando especies arbóreas de crecimiento rápido y la mejora en las técnicas de medida, han

provocado un enorme impulso de los estudios ecofisiológicos de árboles y plantas leñosas en las últimas dos décadas.

1.4.3. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA FOTOSÍNTESIS

La tasa de fotosíntesis en las hojas de los árboles es variable. Está influida por un amplio número de factores tanto ambientales como del propio árbol, que a menudo interactúan.

1.4.3.1. Factores ambientales que influyen en la fotosíntesis

La fotosíntesis está influida por un gran número de factores ambientales, tales como luz, temperatura, concentración de O₂ y CO₂ del aire, humedad, disponibilidad de agua en el suelo, salinidad, contaminación, aplicación de productos químicos, insectos, enfermedades y todas sus posibles interacciones. Además, determinadas prácticas en cultivos, como aclarado, poda, fertilización o irrigación, alteran las condiciones ambientales de las plantas y con ello se ve afectada la fotosíntesis. A corto plazo (de días a semanas), las condiciones ambientales influyen sobre la fotosíntesis mediante la regulación de la conductancia estomática y la actividad fotosintética. A largo plazo, la fotosíntesis también es regulada según las condiciones ambientales, a través de cambios en el área foliar.

En condiciones naturales los factores ambientales actúan conjuntamente y no de forma aislada. Entre ellos habrá siempre un factor limitante que será, durante un tiempo, el determinante de la asimilación, aunque los demás factores influyan de un modo imperceptible. A continuación, se describen los efectos principales de diferentes factores ambientales sobre la fotosíntesis.

1.4.3.1.1. *Luz*

La radiación fotosintéticamente activa (400-700 nm de longitud de onda), es la fuente de energía para el proceso fotosintético. Además, promueve los procesos de apertura estomática, influyendo en la tasa de difusión de CO₂.

Los efectos de la luz sobre la fotosíntesis pueden modificarse por la interacción con otros factores ambientales. Así, por ejemplo, una alta intensidad luminosa puede producir daño en el aparato fotosintético (fotoinhibición), el cual puede aumentar bajo condiciones de sequía y temperaturas extremas (Powles 1984).

En oscuridad no se realiza la fotosíntesis, se libera el CO₂ producido por la respiración. A medida que se produce un aumento de luz, la tasa de fotosíntesis incrementa hasta llegar a un punto en el cual la toma de CO₂ por la fotosíntesis y la pérdida de CO₂ por la respiración se equilibran, de manera que el intercambio gaseoso neto se hace cero (punto de compensación luminoso). Si la intensidad luminosa sigue aumentando se alcanza un valor máximo de fotosíntesis a partir del cual ya no se produce un aumento en la captura de

CO₂ con la luz (punto de saturación luminoso). El punto de compensación luminoso varía entre las especies, genotipo, tipo de hoja (las hojas de sombra tienen puntos de compensación más bajos que las hojas de sol), edad de la hoja (las hojas jóvenes tienen puntos de compensación más altos que las hojas viejas), concentración de CO₂ y temperatura (Kozłowski *et al.* 1991). A medida que aumenta la temperatura se produce un aumento de la respiración mayor que el aumento de fotosíntesis, esto hace que se produzca un aumento del punto de compensación luminoso, alcanzándose valores muy altos por encima de 30 °C (Larcher 1983).

El punto de saturación luminoso también varía en función de la especie y el tipo de hoja, así es mayor en hojas de sol que en hojas de sombra.

1.4.3.1.2. *Temperatura*

La fotosíntesis en los árboles tiene lugar en un rango de temperatura que va desde cerca del punto de congelación hasta temperaturas por encima de 40 °C. El rango de temperatura específico depende de la especie, genotipo, edad de la planta, origen y época. En la mayoría de las especies de las zonas templadas la fotosíntesis aumenta desde 0 °C hasta alcanzar su máximo entre 15 y 25 °C. En las especies tropicales la tasa de fotosíntesis disminuye a temperaturas por debajo de 15 °C (Kozłowski & Pallardy 1997).

También hay que destacar que, un periodo de adaptación o aclimatación a determinadas condiciones puede producir una variación en el comportamiento de las plantas frente a la temperatura.

La temperatura tiene una influencia directa en la fotosíntesis por su control en la actividad de varias enzimas, pero también de modo indirecto, afecta a la fotosíntesis mediante la influencia en la tasa de difusión de CO₂, movimientos estomáticos, transporte de asimilados, etc. Por lo general, temperaturas superiores a 40 °C producen la inactivación de las enzimas lo que provoca una disminución en la fotosíntesis.

Hasta el momento se ha hecho referencia al efecto de la temperatura del aire sobre la fotosíntesis, sin embargo, es también importante la temperatura del suelo, sobre todo por su efecto sobre la absorción de nutrientes por las raíces, nutrientes que van a afectar a la fotosíntesis.

1.4.3.1.3. *Concentración de O₂ y CO₂ del aire*

Un aumento en la concentración de O₂ disminuye la fotosíntesis favoreciendo el proceso de fotorrespiración (efecto Warburg), por el contrario una disminución de su concentración favorecerá enormemente la fotosíntesis. Esto ha sido demostrado en condiciones experimentales modificando enormemente las concentraciones de O₂. Sin embargo, dado que la concentración a la que se encuentra el O₂ en el aire (21%) es muy grande comparada con la de CO₂ (0.035%) cualquier pequeña oscilación, que en condiciones naturales se puede producir en su concentración, no afecta el funcionamiento del aparato fotosintético, mientras que una oscilación de la misma magnitud en la concentración de CO₂ produce cambios significativos.

La concentración de CO₂ en el aire influye de gran manera en la fotosíntesis. Cuando la concentración de CO₂ aumenta, las plantas aumentan su fotosíntesis incluso dos o tres veces, con la excepción de las plantas C₄ en las que apenas se nota este efecto.

En ausencia de viento el contenido de CO₂ fluctúa a lo largo del día, siendo en las primeras horas de la tarde cuando presenta los valores más bajos. La concentración de CO₂ a nivel de suelo, a menudo es mayor debido a los procesos de respiración de las raíces y a los procesos de putrefacción de la materia orgánica. Al mediodía, la concentración de CO₂ de un bosque puede descender una cuarta parte o más, debido al efecto de la fotosíntesis (Miller & Rüsck 1960), sin embargo, a veces esta limitación de CO₂ es compensada por el cierre estomático de mediodía, debido a condiciones de alta transpiración y estrés hídrico. En los días con niebla puede darse un aumento de la fotosíntesis si la luz no es limitante, porque el contenido en CO₂ del aire puede ser más alto que en días claros (Wilson 1948).

Aunque hemos dicho que un aumento en la concentración de CO₂ produce un aumento en la fotosíntesis, en estudios realizados en el campo, invernaderos o bajos condiciones controladas, hay que tener una gran precaución porque no existe garantía de que este mismo efecto tenga lugar a escala global, ya que a este nivel interactúan otros factores como la deficiencia en el agua o en nitrógeno, los cuales inhiben la fotosíntesis (Kramer 1981; Jarvis 1986).

1.4.3.1.4. *Disponibilidad de agua en el suelo*

Tanto un déficit como un exceso de agua en el suelo afectan a la fotosíntesis. A corto plazo, la reducción de la fotosíntesis por la sequía se atribuye a un aumento en la resistencia a la difusión del CO₂ a los cloroplastos y a una reducción en la actividad fotosintética debida principalmente a un cierre estomático. A largo plazo, reduce el área foliar con lo que se reduce la superficie fotosintética.

También es importante considerar la fotosíntesis en relación con el déficit de presión de vapor de agua en la atmósfera. Así la exposición a un alto déficit de presión de vapor produce un cierre estomático en la mayoría de los árboles de las zonas templadas (Davies & Kozlowski 1974; Grace *et al.* 1975; Turner *et al.* 1984) y tropicales (Meinzer *et al.* 1984; Sena Gomes *et al.* 1987; Clough & Sim 1989).

1.4.3.1.5. *Nutrición mineral*

La deficiencia de macro y micronutrientes, así como la falta de equilibrio en el balance de nutrientes, produce una disminución en la tasa de fotosíntesis. El efecto de la nutrición mineral sobre la fotosíntesis es complejo y puede ser debido a efectos directos o indirectos. Concretamente en las hojas, la deficiencia mineral produce un bajada en la tasa de fotosíntesis neta por diversos motivos: disminución en la síntesis de clorofila, disminución en la capacidad del transporte electrónico fotosintético, disminución en la actividad de carboxilación y de otras enzimas, descenso de la conductancia estomática y aumento en los procesos respiratorios (Kozlowsky & Pallardy 1997).

1.4.3.1.6. *Salinidad*

La salinidad produce una influencia negativa sobre la fotosíntesis ya sea directa o indirectamente, siendo diferentes los mecanismos implicados a corto y largo plazo. La principal causa de inhibición de la fotosíntesis se atribuye a efectos no estomáticos (Long & Baker 1986; Pezeshki *et al.* 1987; Ziska *et al.* 1990). Cuando los niveles de salinidad son muy altos, la presencia de iones tóxicos, la rotura de membranas y un completo cierre

estomático son los responsables de la reducción de la fotosíntesis (Pezeshki & Chambers 1986). A corto plazo, la salinidad produce un descenso en la conductancia estomática que se refleja en una ligera disminución de la fotosíntesis. A largo plazo, la salinidad produce una fuerte disminución de la fotosíntesis. Los efectos de la salinidad a largo plazo son bastante complejos, ya que están implicados tanto efectos sobre el funcionamiento fotosintético, como modificaciones en el desarrollo del aparato fotosintético. Por último, debido a que la salinidad suprime el inicio de la formación de las hojas y su posterior expansión, también afecta a la cantidad de superficie fotosintética (Long & Baker 1986).

1.4.3.1.7. *Contaminantes*

La inhibición de la fotosíntesis debida a contaminantes generalmente tiene lugar antes de que se detecten daños visibles sobre la planta o a que se produzca reducción en el crecimiento. Así, altas dosis de dióxido de azufre (SO₂), dióxido de nitrógeno (NO₂) producen una merma en la capacidad fotosintética (Saxe 1989). También el óxido de magnesio, el óxido de hierro y los metales pesados producen una inhibición de la fotosíntesis. En el caso del ozono (O₃), la reducción de la fotosíntesis tiene lugar a niveles relativamente bajos (Saxe & Murali 1989).

Los contaminantes alteran la tasa de fotosíntesis por diferentes mecanismos: 1) obstruyendo el poro estomático, 2) alterando las propiedades ópticas de las hojas por cambios en la reflectancia y por disminución de la intensidad de luz que llega al interior de la hoja, 3) modificando el balance térmico de la hoja, 4) inhibiendo el proceso fotosintético por rotura de moléculas de clorofila, cambios en la actividad de las enzimas fijadoras de nitrógeno, de la tasa de fosforilación y de la capacidad de tamponar el pH, 5) rompiendo la integridad de las membranas y la ultraestructura de los orgánulos y 6) induciendo cambios en la anatomía foliar (Kozlowsky & Pallardy 1997).

En el caso del ozono la disminución de la tasa fotosintética se atribuye a una bajada en la eficiencia de la carboxilación, así como del rendimiento cuántico (Matyssek *et al.* 1995).

1.4.3.1.8. *Aplicación de compuestos químicos*

Un gran número de compuestos químicos produce efectos adversos sobre la fotosíntesis, especialmente cuando se aplican a dosis más altas de las recomendadas (Ayers & Barden 1975; Kozlowski & Constantinidou 1986). Tales productos químicos incluyen insecticidas, fungicidas, herbicidas, antitranspirantes y sales utilizadas en el deshielo de las carreteras (Olofinboba *et al.* 1974; Kramer & Kozlowski 1979; Kozlowski 1986). La causa de la reducción de la tasa fotosintética debido a compuestos químicos está localizada principalmente a nivel de las hojas (Kozlowski *et al.* 1991).

1.4.3.2. **Factores intrínsecos de la planta que influyen en la fotosíntesis**

La tasa de fotosíntesis varía no sólo con el ambiente, sino con diferentes factores propios de la planta como son: la tasa de fijación de CO₂ en el mesófilo, la anatomía de la hoja, la edad de la hoja, el tamaño de los estomas, la frecuencia estomática y el control de apertura estomática.

A bajas intensidades de luz, la superficie de la hoja puede influir sobre la tasa de fotosíntesis. Así por ejemplo, las hojas pubescentes de *Encelia* absorben sólo un 30 % de la radiación global, mientras que las hojas glabras, con el mismo contenido en clorofila, absorben un 84 % (Ehleringer *et al.* 1976).

La evolución de la fotosíntesis en función de la edad difiere según la especie y el género estudiado. Además, varía a lo largo del desarrollo. Así, la tasa de fotosíntesis en hojas jóvenes difiere de la de hojas adultas, y dentro de éstas se distinguen diferentes edades de adultos. Normalmente la tasa de fotosíntesis es baja en las hojas jóvenes y va aumentando hasta alcanzar un máximo cuando la hoja está totalmente desarrollada, disminuyendo de nuevo con la senescencia. El aumento de fotosíntesis durante la expansión foliar está relacionado con: el desarrollo de tejido foliar interno y de los estomas, la síntesis de clorofila, un aumento en la conductancia estomática, la capacidad de transporte de electrones y la fosforilación, la síntesis proteica y la actividad Rubisco, y un fuerte descenso en la actividad respiratoria mitocondrial (Dickmann *et al.* 1975; Kennedy & Johnson 1981).

1.4.4. RESISTENCIA DEL APARATO FOTOSINTÉTICO A TEMPERATURAS EXTREMAS

El aparato fotosintético es muy sensible a las temperaturas extremas. La exposición de las hojas a temperaturas que sobrepasan un nivel crítico producen un daño irreversible en el aparato fotosintético que las inhabilita para realizar la fotosíntesis y por tanto con consecuencias fatales para la planta. La medida de fluorescencia de la clorofila se ha utilizado durante muchos años como un método sensible, eficaz y rápido para determinar el efecto de diferentes tipos de estrés ambiental, tales como sequía, exceso de luz, contaminación y también temperatura extrema sobre las plantas (Bolhàr-Nordenkampf *et al.* 1989).

Se ha demostrado que la fluorescencia de la clorofila es un método útil para la detección y el estudio de las perturbaciones inducidas por las bajas temperaturas tanto en plantas sensibles al frío (Smillie & Hetherington 1983; Havaux 1987; Hetherington & Öquist 1988; Larcher & Neuner 1989; Schapendok *et al.* 1989), como en plantas resistentes al frío pero sensibles a temperaturas por debajo de cero (Klosson & Krause 1981; Strand & Öquist 1985; Bolhàr-Nordenkampf & Lechner 1988), también ha sido utilizada en la selección de especies y variedades tolerantes a las heladas (Sundbom *et al.* 1982; Barnes & Wilson 1984; Lindgren & Hällgren 1993; Öquist *et al.* 1993).

Por otro lado, muchos investigadores consideran que los parámetros de la fluorescencia de la clorofila son indicadores sensibles de las alteraciones estructurales y funcionales del aparato fotosintético a altas temperaturas (Renger & Schreiber 1986; Havaux *et al.* 1991; Krause & Weis 1991). El PSII es, probablemente, el componente más termolábil de la fotosíntesis (Berry & Raison 1981). La desnaturalización del PSII en hojas que han sido calentadas lentamente provoca un rápido aumento en la emisión de la fluorescencia de la clorofila cuando es registrada a baja luz (Schreiber & Berry 1977), esto

ha sido utilizado como una forma conveniente de medir la resistencia al calor en las plantas (Smillie & Nott 1979; Havaux *et al.* 1988). El brusco aumento de la fluorescencia inicial a las mismas temperaturas extremas a la cual la integridad del proceso fotosintético es inhibido, es el resultado de una merma en la transferencia de la energía de excitación de los centros de reacción del PSII (Schreiber & Berry 1977; Yordanov & Weis 1984). Así las características de la emisión de fluorescencia muestra como los cambios morfológicos están relacionados con la eficacia en la transferencia de energía entre los complejos de pigmentos (Armond *et al.* 1978; Schreiber & Armond 1978). Como consecuencia, el daño producido por calor en el sistema fotosintético involucra tanto una disociación física como funcional del LHCII de los centros de reacción del PSII (Armond *et al.* 1979), es decir, el calor produce la inactivación del PSII, por una separación física de los pigmentos colectores de luz periféricos (LHCII) de los complejos del PSII (Schreiber & Berry 1977; Armond *et al.* 1978; Gounaris *et al.* 1984; Sundby *et al.* 1986) y una desorganización del sistema de desprendimiento de oxígeno a partir de la rotura del agua con la liberación de iones manganeso y de proteínas extrínsecas (Nash *et al.* 1985; Enami *et al.* 1994). Se asume que estos efectos son el resultado de cambios en las interacciones lípidos-proteínas asociado con una alta fluidez lipídica a altas temperaturas, lo que provoca una desorganización de las estructuras supramoleculares del PSII (Berry & Björkman 1980). De acuerdo con esta idea, están las observaciones, que muestran que, cambios en el ambiente que rodea a los lípidos del PSII es de importancia estructural (Webb & Green 1991) y que cambios en la composición de los lípidos de membrana están asociados con cambios en la termoestabilidad del PSII (Thomas *et al.* 1986; Kunst *et al.* 1989).

El conocimiento de los límites de resistencia del aparato fotosintético y su relación con los daños en otras estructuras de la hoja, rotura de membrana y daños visibles en general, nos da un conocimiento más completo de la caracterización fotosintética de las plantas.

2. OBJETIVOS

En el apartado anterior se ha visto como el estudio de la fotosíntesis en árboles es bastante limitado, si nos ceñimos a los estudios sobre la laurisilva en particular, estos son todavía más escasos. En 1979, Höllwarth & Kull realizaron algunas investigaciones sobre diferentes tipos de vegetación en la isla de Tenerife, incluyendo dos especies arbóreas de la laurisilva canaria (*Laurus azorica* y *Myrica faya*). En este trabajo se dio una primera aproximación de la respuesta de estas dos especies en condiciones naturales utilizando técnicas colorimétricas y en base a los datos obtenidos por el análisis de un sólo ciclo diario de medidas.

Los objetivos de esta tesis tienen sus raíces en un trabajo previo que realizaron los directores de esta tesis en colaboración con el profesor Larcher (Larcher *et al.* 1991), en él se estudiaron algunas características fotosintéticas de *Persea indica* y fue el primer paso para abordar el conocimiento del comportamiento fotosintético de los árboles de la laurisilva, de una manera exhaustiva, sistemática y comparativa.

Nos propusimos realizar ciclos diarios de intercambio gaseoso a lo largo del año en tres especies arbóreas características de la laurisilva canaria (*Laurus azorica*, *Persea indica* y *Myrica faya*) en condiciones naturales y en árboles de más de 20 m de altura para, a partir de ahí, conocer sus características fotosintéticas, es decir la fotosíntesis máxima que pueden realizar bajo condiciones favorables; los óptimos de luz, temperatura y humedad para alcanzar dicha fotosíntesis máxima; la eficiencia en el uso del agua y por lo tanto la magnitud de su transpiración y conductancia estomática, así como la posible disminución de la capacidad fotosintética como consecuencia de un exceso de luz (fotoinhibición). Teniendo en cuenta la variación de estos parámetros entre las especies, así como la posible variación con las estaciones y en distintos tipos de hojas (sol y sombra).

También, nos propusimos comparar los resultados obtenidos en condiciones naturales con aquellos registrados bajo condiciones de CO₂ saturante, para conocer la capacidad fotosintética en ausencia de fotorrespiración.

Estudios anteriores sobre los límites de resistencia de las hojas a altas y bajas temperaturas, en diferentes especies arbóreas presentes en la laurisilva canaria, han sido realizados por Lösch (1980) y Larcher (1980) mediante valoración visual de los daños, por lo que consideramos importante profundizar en el estudio de la resistencia del aparato fotosintético a dichas temperaturas extremas, utilizando la técnica de la fluorescencia de la clorofila para conocer si el daño en el aparato fotosintético coincide con el daño que se puede apreciar a simple vista en las hojas, e incluso, con la rotura de membranas valorando ésta por la salida de electrolitos de los tejidos dañados.

Para realizar este trabajo en condiciones naturales fue necesario caracterizar una parcela de estudio y los patrones de distribución foliar a lo largo del perfil vertical del bosque, así como registrar los principales factores ambientales durante el periodo de medida. El conocimiento de las principales características estructurales de la parcela nos permitió, además, extrapolar a nivel de bosque las medidas realizadas a nivel de hoja.

Con este estudio se pretende contribuir a un mayor conocimiento de la fotosíntesis de los árboles en general y de la laurisilva en particular, para un mejor entendimiento de los procesos globales implicados en el funcionamiento de esta formación boscosa tan relevante en Canarias.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. MATERIAL VEGETAL

3.1.1. DESCRIPCIÓN Y DISTRIBUCIÓN DE LAS ESPECIES DE ESTUDIO

El presente estudio sobre la caracterización fotosintética de árboles de la laurisilva canaria, se centra en tres especies vegetales que describiremos a continuación, basándonos en las descripciones dadas por Kunkel (1974) y Bañares & Barquín (1982):

Laurus azorica (Seub.) Franco

Pertenece a la familia de las lauráceas, su nombre común es laurel o loro (Lámina 3.1.1). Esta especie da nombre a la laurisilva canaria (bosque de laureles), siendo una de las especies más abundantes y características del mismo, aunque también está presente en el Fayal-Brezal y en barrancos frescos y húmedos de los bosques termófilos.

Es un árbol de gran porte, hasta 25 m de alto, ramificado y densamente poblado por abundante follaje siempreverde, lustroso y coriáceo; los viejos troncos suelen estar rodeados de “chupones” (tallos secundarios de crecimiento rápido que reemplazan al tronco principal cuando éste muere). Presentan el tronco recto y pronunciado, siendo la corteza de color grisácea, más o menos lisa.

Poseen hojas simples, alternas, verde-oscuras, pecioladas y de contorno lanceolado, la lámina es ovado-lanceolada, llegando a alcanzar hasta 12, incluso 15 cm de largo y 4, e incluso 5 cm de ancho, con una nervadura muy pronunciada y presentando unas características y diminutas glándulas en la base de los nervios principales, en posición alterna; los brotes foliares se hallan recubiertos de un denso y suave tomento de color ferruginoso.

Sus flores, masculinas y femeninas en pies distintos (especie dioica), crecen agrupadas en inflorescencias axilares, de color crema-verdoso, poco atractivas. La floración tiene lugar a finales de invierno y primavera.

Sus frutos, al contrario, son bastante llamativos, debido a su tamaño, colorido y abundancia. Son frutos carnosos (bayas) y oblongo-elípticos, que llegan a alcanzar hasta 2 cm de largo; siendo más olorosos cuanto más maduros; toman colores verdosos al principio, rojo cárdenos más tarde y de color casi negruzco y lustroso al madurar. Su abundante fructificación se produce en otoño, aunque algunos pies, de maduración tardía, conservan sus frutos hasta el mes de mayo. Se reproduce por semillas y brotes basales (chupones).

Se encuentra distribuida actualmente en Canarias, Madeira y Azores.

Su madera, dura, fibrosa y de color amarillento o rosáceo, se empleó en el pasado para construir carretas. Los campesinos empleaban los troncos para fabricar útiles de

labranza y sus ramas, picadas y mezcladas con las de brezo y faya, como cama para el ganado, además las hojas pueden usarse como condimento.

Esta especie presenta propiedades medicinales. Así, la infusión de sus hojas dicen que estimula el apetito, regula la menstruación, alivia los dolores reumáticos, favorece la expectoración y ayuda a expulsar los gases. De los frutos maduros se obtiene un aceite muy aromático de color verdoso, que se empleaba antiguamente como remedio contra los nervios y la tos.

Persea indica (L.) Spreng.

Pertenece igualmente, a la familia de las lauráceas. Su nombre común es viñátigo o viñático (Lámina 3.1.2). Es uno de los árboles de mayor tamaño de la laurisilva canaria, alcanzando algunos ejemplares más de 30 m de alto. Su abundante ramificación, recubierta de follaje siempreverde, forma una copa muy extendida, con ramas flexibles y algo nudosas. Presenta un tronco corto, recto y robusto, revestido de una gruesa corteza de color gris oscuro que se va cuarteando a medida que envejece. Al igual que en el laurel, el tronco está rodeado de chupones.

Las hojas son simples, alternas, pecioladas, de contorno lanceolado y margen entero; lustrosas, ligeramente aromáticas y con el nervio central muy marcado y casi cilíndrico en el envés. Presentan un color verde-oscuro en el haz y verde-pálido en el envés, y en la madurez adquieren un color rojo intenso; con el peciolo amarillento. La lámina es oblongo lanceolada, a menudo obtusa en el ápice; subcoriácea o hasta algo carnosa, llegando a alcanzar hasta 20 cm de largo y 5 cm de ancho.

Sus flores, muy pequeñas y de color blanquecino-verdoso, se agrupan en inflorescencias terminales largamente pedunculadas. Su época de floración es primavera y verano.

Sus frutos carnosos, ovado-elípticos y con aspecto de aceituna; contienen una sola semilla cada uno. Presentan un color verde al principio que se torna negro cuando maduran. Se reproducen por semillas y brotes basales.

Esta especie es endémica de la Macaronesia. Se encuentra distribuida en Canarias, Madeira y Azores.

Su madera, de color pardo-rojizo y conocida como “Caoba de Canarias”, se empleaba antiguamente en trabajos de ebanistería y en la construcción de barcos. De su corteza se obtenían colorantes con los que se teñía la lana.

Presenta propiedades medicinales, así la infusión de la corteza de los viñátigos se usa en algunos lugares para desinfectar la piel y limpiarla de eczemas. Otra particularidad es que las ratas parecen narcotizadas después de comer sus brotes y hojas tiernas.

Myrica faya Ait.

Pertenece a la familia de las miricáceas. Su nombre común es faya o haya (Lámina 3.1.3). Es una especie muy abundante, y junto con el brezo, caracteriza y da nombre a la

formación boscosa conocida como Fayal-Brezal, aunque también es frecuente en la laurisilva, el pinar mixto y hasta en zonas húmedas de los bosques termófilos.

La faya crece generalmente como arbusto o arbolito de entre 4 a 8 m de alto, aunque a veces, en el interior de la laurisilva se llegan a convertir en respetables árboles de hasta más de 20 m. Siempreverdes y abundantemente ramificadas, con ramas algo nodosas, presentan un tronco algo retorcido y recubierto de una gruesa corteza, que en los ejemplares más viejos se cuarteja en grandes placas, de forma irregular y consistencia acorchada.

Sus hojas son simples, alternas, coriáceas, estrechamente lanceoladas, con los bordes ligeramente aserrados y algo curvados hacia dentro; de 4 a 8 cm de largo y de 1 a 2 cm de ancho. Son hojas verde oscuras y lustrosas en el haz, y algo más pálidas en el envés, lado por el que se aprecia claramente su nerviación reticulada.

Es una especie dioica, con abundante floración principalmente en invierno y primavera, que se desarrolla entre las hojas de las ramas más jóvenes.

Los frutos, de pequeño tamaño, aspecto rugoso y color rojizo, son polidrupas globosas y carnosas, formadas por muchas papilas agrupadas en torno a una pipa dura, generalmente con 4 semillas. Se reproduce por semillas y brotes basales, que surgen en torno a la base de los viejos troncos.

Se encuentra distribuida de forma natural en Canarias, Madeira, Azores y SE de la Península Ibérica. En la actualidad también se encuentra presente en el sur de Portugal y Marruecos. Esta especie fue introducida en Hawai a finales del siglo XIX, siendo en la actualidad una plaga (Lutzow-Felling *et al.* 1995).

La faya es uno de los pocos árboles de nuestros bosques que produce frutos comestibles. Popularmente se conocen con el nombre de creces, fayos o erúes, y se comen crudos, aunque en otros tiempos se llegó a elaborar con ellos una especie de gofio, después de secarlos al sol y molerlos en un molino de mano. Tienen un sabor dulzón cuando están maduros, aunque luego dejan la lengua algo rasposa.

Su madera, de tonalidades pardo-amarillentas, se empleó para fabricar muebles. En la actualidad es una de las especies de mayor aprovechamiento forestal, de ella se obtienen varas y horquetones para los cultivos, mangos de herramientas y aperos de labranza, cama para el ganado, etc.

A la infusión de sus flores se le atribuyen propiedades anticatarrales; la corteza seca en infusión y los frutos maduros son astringentes; un trocito de cáscara fresca detiene pequeñas hemorragias externas.



Lámina 3.1.1. *Laurus azorica* (laurel), tomada de Kunkel (1974).



Lámina 3.1.2. *Persea indica* (vinátigo), tomada de Kunkel (1974).



8 - *Myrica faya* - Faya

Lámina 3.1.3. *Myrica faya* (faya), tomada de Kunkel (1974).



Foto 3.2.1. Vista de la torre de madera de 20 m de altura situada en la parcela de estudio de Agua García.

3.2. TÉCNICAS Y EQUIPOS DE MEDIDA

3.2.1. ESTACIÓN METEOROLÓGICA

Se instaló una estación meteorológica en lo alto de una torre de madera de 20 m de altura situada en la parcela de estudio (que será descrita en detalle en el apartado 4.1.). La estación estaba formada por un sensor de temperatura y humedad (RHA1, Delta-T, Cambridge, U.K.) y un sensor de radiación fotosintéticamente activa (LI 190 SA, Li-Cor, Lincoln, NE, USA), además de un pluviómetro y un anemómetro (Skye Inst. Llandrindod, U.K.), todos ellos conectados a un procesador de datos (DL2, Delta-T, Cambridge, U.K.), el cual promediaba cada 30 minutos los valores obtenidos en intervalos de un minuto. Los datos almacenados se importaban, posteriormente a un ordenador portátil y luego se procesaron. Todos los sensores se instalaron sobre un mástil, a unos dos metros por encima del dosel vegetal.

De esta manera se dispuso de un registro continuo a lo largo del año de medida, y sólo cuando no fue posible obtener los datos meteorológicos de nuestra propia estación, los datos de humedad y temperatura fueron extrapolados a partir de la estación meteorológica más cercana, situada en las cercanías de la Casa Forestal próxima, a unos 550 m en línea recta de nuestra parcela de estudio y a una altitud de 775 m *s.n.m.*

3.2.2. MEDIDA DEL INTERCAMBIO GASEOSO

3.2.2.1. Medida del intercambio gaseoso en condiciones naturales: IRGA.

Las medidas de intercambio gaseoso en condiciones naturales se realizaron con un equipo portátil de sistema abierto ADC (Analytical Development Co. Ltd., Hoddesdon, Herts, U.K.) formado por un analizador de gases por infrarrojo (IRGA) que trabaja en modo diferencial y en sistema abierto (LCA), un registrador de datos (DL2), una cámara con sensor de radiación, humedad y temperatura (PLC), un suministrador de aire (ASU) y un mástil portátil para tomar el aire a una altura de 4 m proporcionando así un aire homogéneo no alterado por la respiración de los presentes (Fig. 3.2.1).

Este equipo, basado en un sistema abierto de fotosíntesis, realiza las medidas en base a un flujo continuo de aire en estado de equilibrio, lo que minimiza la interferencia de ad/absorción. La hoja se halla sometida a condiciones constantes, a diferencia de los sistemas de circuito cerrado, y una ligera sobrepresión disminuye el riesgo de error debido a una no total estanqueidad.

La conductancia se determina a partir del flujo transpiratorio de la hoja calculado por diferencia entre la densidad del vapor del aire a la entrada de la cámara y a la salida. El hecho de que la regulación de la humedad no sea automática y deba realizarse mediante un juego de llaves que controlan la cantidad de aire que pasan por los desecadores de la unidad de suministro (ASU), junto a la inexistencia de un sensor de humedad a la entrada de la cámara, hace engorroso e impracticable el mantener una humedad constante en la cámara. Por ello, la medida se hace mediante la inyección de aire totalmente seco, ya que el error es mínimo al realizar la medida en menos de un minuto, una vez alcanzado su estado estable.

Se utilizó una cámara de 6.25 cm² de superficie de exposición diseñada para hojas anchas. El pequeño volumen de la cámara y la existencia de un microventilador aseguran la respuesta rápida del sistema y minimizan la resistencia de la capa límite (“boundary layer”), alrededor de 0.3 m² s mol⁻¹.

La cámara alberga un sensor de humedad del aire con respuesta lineal de 0-100 ± 2 %, no obstante a valores superiores al 80 % la respuesta se hace menos estable. Un problema más delicado es el de la estabilización de la respuesta del sensor de humedad a partir del momento del encendido. Las medidas realizadas previamente a la estabilización, que tiene lugar a los 5-10 min del encendido, producen una sobrestimación.

La temperatura del aire dentro de la cámara se mide con un termistor linealizado de 0.2 °C de sensibilidad. La temperatura de la hoja no se mide directamente sino se calcula a partir de una fórmula de balance energético. Para la medida de la irradiancia incidente en el exterior de la cámara, se utiliza un sensor de selenio que mide la radiación fotosintéticamente activa (PPFD), ya que opera entre 400-700 nm.

La unidad ASU de medida de control y flujo lleva incorporado un fluxímetro de masa y un desecador de humedad. El aire pasa a un flujo mínimo, que oscila entre 250-370 ml min⁻¹ y se calcula para cada caso en concreto, debiendo ser aproximadamente de 1 ml s⁻¹ por cada cm² de hoja. Las medidas se registran cuando se alcanza la condición de estado estable, lo que suele ocurrir entre 60 y 90 s. Como ya se dijo anteriormente, el aire se toma a través de un tubo de muestreo a 4 m de altura, para evitar interferencias locales de CO₂ debidas a la respiración de los operadores del aparato.

Los cálculos empleados en el IRGA portátil ADC fueron los siguientes:

a) El flujo molar de aire (W) por unidad de superficie a través de la cámara se calculó a partir del flujo volumétrico, aplicando las correcciones para la presión y la temperatura según la siguiente fórmula:

$$W = (V/1000) * (1/22.4) * (273/(273+T_a)) * (P/1.013) * (10000/a) \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$$

donde, V es el volumen de flujo de aire (ml s^{-1}); P es la presión atmosférica (bar); a es el área proyectada en la cámara (cm^2) y T_a es la temperatura del aire ($^{\circ}\text{C}$).

b) La tasa de transpiración (E) se midió como la diferencia entre la tasa de entrada y de salida del vapor de agua de la cámara, asumiendo que el aire que entra en la cámara es aire seco.

$$E = (e_o/(P-e_o)) * W \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$$

donde e_o es la presión de vapor de agua de salida;

$$e_o = e_s * (\text{HR}/100)$$

donde HR es la humedad relativa de la cámara (%) y e_s es la presión de vapor a saturación a la temperatura de la cámara, calculado según la fórmula de Buck (1981):

$$e_s = 6.13753 * e^{(T * (18.564 - T/254.4)) / (T + 255.57)}$$

c) La diferencia de temperatura hoja-aire se estimó a partir del balance energético de la hoja dentro de la cámara, asumiendo que:

- la radiación incidente consta de un 50% de radiación visible y un 50% de radiación infrarroja.
- la ventana de la cámara transmite un 85% de radiación visible y un 60% de radiación infrarroja.
- la hoja absorbe el 80% de la radiación visible y un 20 % de la radiación infrarroja.

La energía absorbida por la hoja es:

$$H = (\text{PPFD} * 698/3190) * (0.8 * 0.85 + 0.2 * 0.6)$$

donde PPFD es la densidad de flujo fotónico incidente en la cámara durante la medida ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); (698/3190) es el factor de conversión de moles de cuantos a vatios por metro cuadrado.

La diferencia de temperatura hoja-aire se calculó según Parkinson (1984):

$$\Delta t = (H - \lambda E) / (0.93 * Ma * Cp / Rb + 4\sigma * (Ta + 273)^3)$$

donde λ es el calor latente de vaporización del agua (45032 J mol⁻¹ a 0°C descendiendo hasta 429060 J mol⁻¹ a 50°C); Ma es el peso molecular del aire (28.97 g mol⁻¹); Cp es el calor específico a presión constante (1.012 J g⁻¹ K⁻¹); Rb es la resistencia de la capa límite (“boundary layer”) en la cámara (0.3 m² s mol⁻¹) y σ es la constante de Boltzmann (5.7 * 10⁻⁸ W m⁻² K⁻⁴).

d) La temperatura de la hoja (Th) se calculó a partir de la temperatura del aire y la diferencia de temperatura hoja-aire.

$$Th = Ta + \Delta t$$

e) La conductancia estomática al vapor de agua (Gs) se calculó como la inversa de la resistencia estomática (Rs) asumiendo que, en el espacio intercelular el vapor de agua se encuentra a saturación a la temperatura de la hoja (Jarvis 1971).

$$Gs = 1/Rs = (1/((e_{sl}/e_o - 1)/W - Rb)) * 1000 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$$

donde e_{sl} es la presión de vapor a saturación a la temperatura de la hoja.

f) Para el cálculo de la tasa fotosintética neta (Pn), la concentración de CO₂ del aire de análisis se corrigió para la sensibilidad cruzada al vapor de agua y se eliminó el efecto diluyente del agua de la cámara suministrada por la hoja.

$$Cc = Co - E_{max} * fn Co * (1 - e^{(-0.07 * e_o * 1000)})$$

donde Cc es la concentración de CO₂ del aire de análisis corregida; Co es la concentración de CO₂ del aire que sale de la cámara medida en vpm; E_{max} es la respuesta máxima del vapor de agua en el aparato a altas concentraciones de agua y tiene un valor de 2 ppm;

$$fn Co = (1 + 7.87 * 10^{-4} * Co)$$

La concentración de CO₂ del aire de análisis eliminando el efecto diluyente del vapor de agua atrapado (C'c) en la cámara se calculó como:

$$C'c = P * Cc / (P - e_o)$$

Así la tasa de asimilación (Pn) se calculó como:

$$Pn = (C_{ref} - C'c) * W \text{ } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$$

donde C_{ref} es la concentración de CO₂ (vpm) del aire de referencia que entra en la cámara.

g) Para el cálculo de la conductancia total al CO₂ (G_c) se asumió que las conductancias son proporcionales a los coeficientes de difusión molar (Cowan 1977), y que estos son distintos para el CO₂ y el agua, tanto en el estoma como en la capa límite:

$$G_c = 1/(1.6/G_s + 1.37/G_b) \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$$

donde G_s y G_b son la conductancia estomática y la conductancia de la capa límite al vapor de agua, respectivamente.

h) La concentración de CO₂ intercelular (C_i) se calculó a partir de la tasa transpiratoria (E), la tasa fotosintética neta (P_n) y la conductancia total al CO₂ (G_c) (von Cammerer & Farquhar 1981):

$$C_i = ((G_c - E/2) * C_c - P_n) / (G_c + E/2) \text{ ppm}$$

i) La eficiencia en el uso del agua (WUE) (μmol de CO₂ absorbido por mmol de H₂O transpirado) se calculó como:

$$WUE = P_n/E \text{ } \mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$$

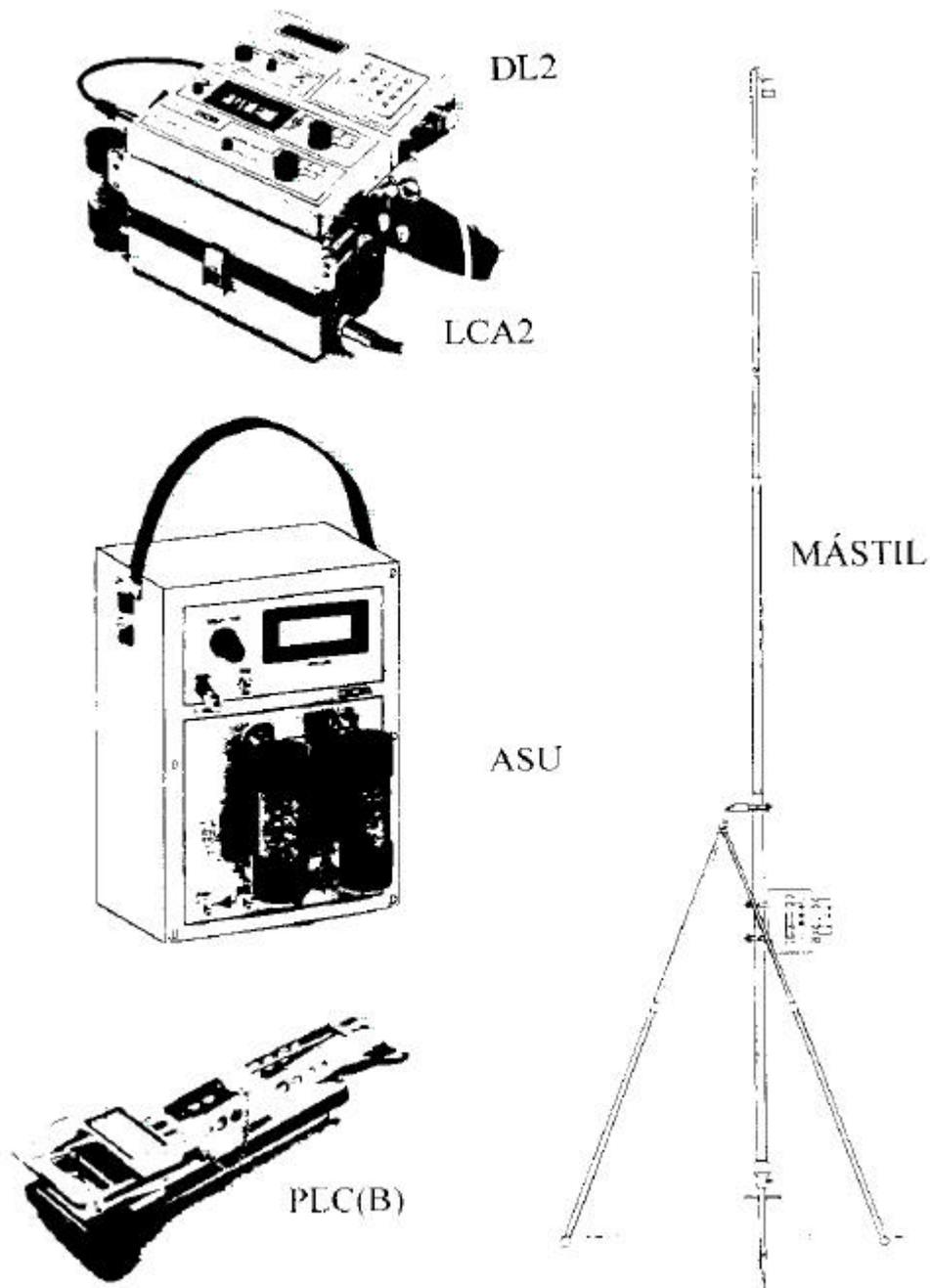


Fig. 3.2.1. Esquema del equipo portátil utilizado para las medidas de intercambio gaseoso en condiciones naturales (ADC): Analizador de gases por infrarrojo portátil (IRGA) que trabaja en modo diferencial y en sistema abierto (LCA2), registrador de datos (DL2), cámara para hoja ancha con sensor de radiación, humedad y temperatura (PLC(B)), unidad suministradora de aire (ASU) y mástil para la toma de aire a 4 m de altura.



Foto 3.2.2. Analizador de gases por infrarrojo portátil (IRGA).

3.2.2.2. Medida del intercambio gaseoso a concentraciones de CO₂ no limitante: electrodo de oxígeno.

Se realizaron medidas de intercambio gaseoso bajo condiciones controladas y a concentraciones de CO₂ no limitante con un electrodo de oxígeno tipo Clark (Hansatech, NE, U.K.). La respuesta de la hoja a cambios de concentración de CO₂ y O₂, provee información acerca de los mecanismos que regulan la fotosíntesis, la interacción entre el transporte de electrones y la asimilación del carbono, etc. (Sivak & Walker 1985; 1986; 1987; Sivak 1987).

Si una hoja es colocada en una cámara cerrada, provista de CO₂ (o bicarbonato como fuente de dióxido de carbono) y luego es iluminada, desprende oxígeno como resultado de la fotólisis del H₂O. Éste es detectado polarográficamente por un electrodo tipo Clark (Clark 1956). La versión de Hansatech del electrodo tipo Clark consta de un cátodo de platino de 2 mm de largo y un ánodo de plata que se encuentra inmerso en un electrolito que sirve de puente de unión entre el cátodo y el ánodo. Ambos electrodos están colocados en un disco de plástico (epoxi resina), el cátodo se encuentra situado en la parte central del disco en un domo y el ánodo es un anillo circular que rodea al cátodo.

Los electrodos están protegidos por una fina membrana de teflón que es permeable al oxígeno. Debajo de dicha membrana se coloca un papel de fumar que proporciona una capa uniforme de electrolito entre el cátodo y el ánodo. Para asegurar una corriente uniforme y una buena polarización, las membranas deben ser ajustadas al disco mediante unos anillos de goma. Posteriormente, se aplica una corriente eléctrica de pequeño voltaje entre los electrodos, lo que ocasiona que el platino se vuelva más negativo con respecto a la plata. La corriente es al principio inapreciable pero luego poco a poco se polariza (es decir, alcanza el potencial aplicado externamente). Cuando este potencial es de 600-700 mV, el oxígeno es reducido en la superficie del cátodo, inicialmente a peróxido de hidrógeno; la polaridad hace que los electrones sean donados al oxígeno, que actúa como aceptor de electrones. La corriente generada está estequiométricamente relacionada con el oxígeno consumido en el cátodo. El electrodo se calibra inyectando en la cámara una cantidad conocida de O₂ mediante una jeringa, de modo que los cambios registrados por el electrodo tipo Clark pueden ser expresados en μmol de O₂ (Delieu & Walker 1983; Walker 1988).

Para realizar la medida se introdujo un disco de hoja en la cámara herméticamente cerrada (Fig. 3.2.2), con unas gotas de bicarbonato sódico 1M como fuente de carbono, proporcionando una concentración de CO₂, que está muy por encima de la ambiental (0.035%). En estas condiciones el CO₂ no limita la fotosíntesis, el metabolismo fotorrespiratorio -que se inicia cuando la Rubisco es oxigenada en vez de carboxilada (Edwards & Walker 1983)- es suprimido, y los estomas cerrados en estas condiciones, no complican innecesariamente la interpretación de los datos.

El electrolito utilizado estaba formado por: 1.49 g de ClK, 0.28 g de NaOH, 0.956 g de Na₂HPO₄ y 6.07 g de KNO₃ en 100 ml de agua destilada, ya que el electrolito universal, ClK saturado, tardaba mucho tiempo en calibrarse a altas tensiones de CO₂ y no resultó conveniente su uso.

Para el estudio de la respuesta a la luz en condiciones de CO₂ saturante se utilizó como fuente de luz emisores de alta intensidad, LEDs (light-emitting diodes) controlados mediante un programa de ordenador específico (Hansatech, NE, U.K.) con el que se consiguen distintos valores de PPFD. Se realizaron automáticamente curvas de respuesta de fotosíntesis frente a la luz, obteniendo valores de rendimiento cuántico y fotosíntesis máxima.

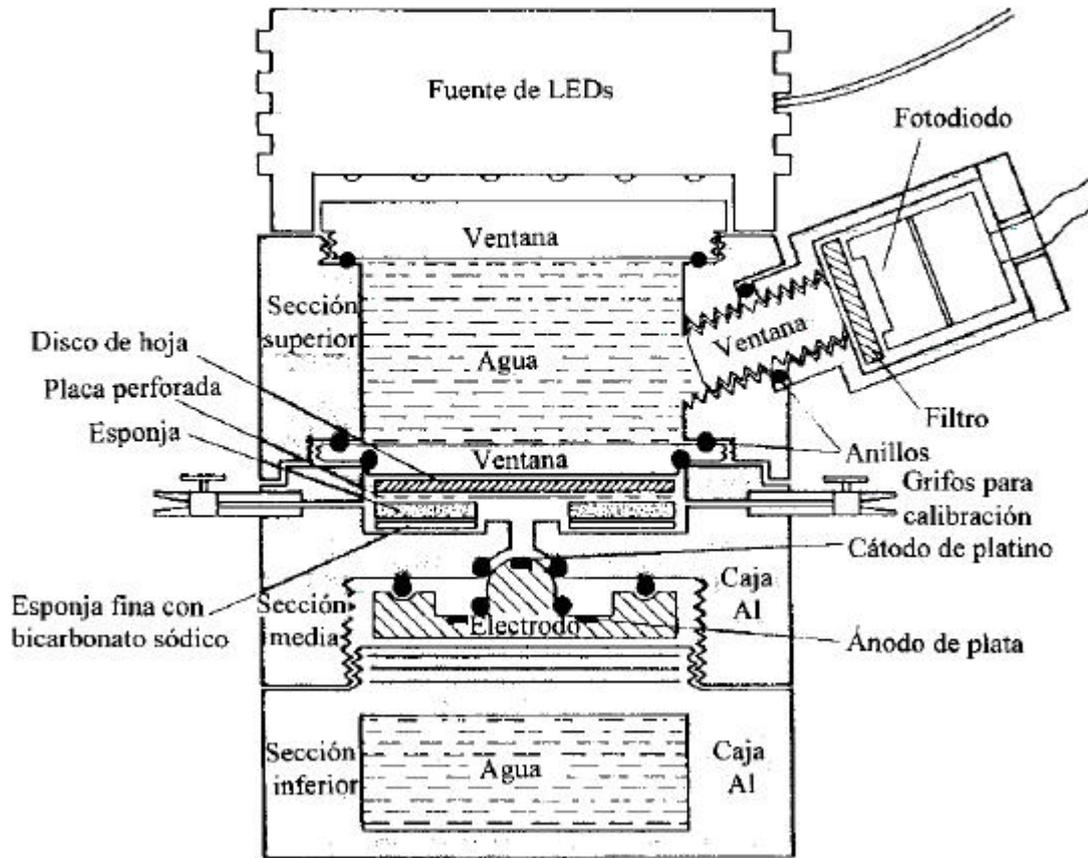


Fig. 3.2.2. Esquema del electrodo de oxígeno de fase gaseosa. El disco de hoja está localizado en la parte media y la temperatura se mantiene constante gracias al agua que circula por encima y por debajo de la cámara foliar (tomado de Delieu & Walker 1983).

3.2.3. MEDIDA DE LA FLUORESCENCIA DE LA CLOROFILA

En el apartado anterior, vimos dos de los métodos que pueden utilizarse para cuantificar la fotosíntesis de una hoja al ser iluminada: medir la disminución del contenido de CO_2 o el aumento de la concentración de O_2 . Estas dos señales, intercambio de CO_2 y O_2 entre la hoja y la fase gaseosa proveen información relativamente directa acerca del proceso.

Otra técnica de estudio es la medida y análisis de la fluorescencia de la clorofila, la cual refleja cambios en el aparato fotosintético, que, aún sin tener información detallada de la bioquímica subyacente, es utilizada como un indicador intrínseco de las reacciones fotosintéticas que ocurren en el cloroplasto (Papageorgiou 1975). Desde que Kautsky &

Hirsch (1931) descubrieron que la intensidad de fluorescencia emitida cuando una hoja es iluminada, presenta cambios característicos en el tiempo: “el efecto Kautsky”, la relación entre la fluorescencia de la clorofila y los mecanismos de fotosíntesis han sido objeto de numerosas investigaciones.

La fluorescencia de la clorofila es luz roja emitida por las hojas durante la fotosíntesis, y representa una pequeña proporción (3 al 5%) de la energía luminosa incidente que no es convertida en energía química o térmica, siendo entonces disipada como luz (Govindjee *et al.* 1987; Hader & Tevini 1987). La luz emitida por la clorofila puede ser medida con un fotomultiplicador o con un fotodiodo.

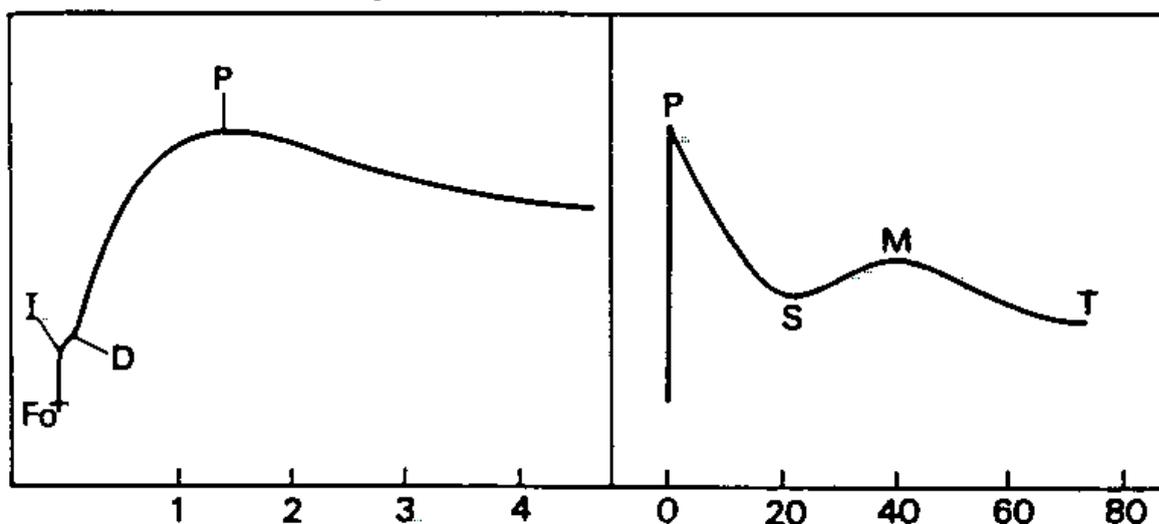


Fig. 3.2.3. Cinética de inducción de la fluorescencia de la clorofila (efecto Kautsky). Representación esquemática de los cambios rápidos (izquierda) y lentos (derecha) en la intensidad de la fluorescencia emitida por la hoja al ser reiluminada después de un período en la oscuridad. Nótese que el eje x es distinto en las dos figuras (tomado de Lavorel & Etienne 1977).

Si se deja una hoja en oscuridad por unos pocos minutos y luego se ilumina, la fluorescencia aumenta rápidamente desde un nivel inicial “Fo” hasta llegar a un pico “P”, pasando por un nivel intermedio “I”, en menos de un segundo, y luego, gradualmente, decae a través de varios picos intermediarios hasta un nivel próximo al nivel “Fo” original, “T”. El análisis detallado de lo que sucede en los primeros segundos o fracciones de segundo (la cinética rápida) puede dar información útil acerca de los procesos primarios de la fotosíntesis (Fig. 3.2.3). En la cinética lenta es posible discernir la influencia de la asimilación fotosintética del carbono (Sivak & Walker 1985).

Existen varios mecanismos que amortiguan (“quench”) la fluorescencia de la clorofila (Kitajima & Butler 1975). Se les puede clasificar en fotoquímicos y no fotoquímicos. En pocas palabras, si la excitación de la clorofila se canaliza como trabajo fotoquímico, no podrá ser disipada como fluorescencia, por ello todas las reacciones fotoquímicas que ocurren en el cloroplasto (fotosíntesis, reducción de nitrito, reacción de Mehler, etc.) afectan a la fluorescencia de la clorofila. La mayor parte del “quenching” fotoquímico está relacionado con el fotosistema II. El transporte fotosintético de electrones puede operar de un modo lineal o cíclico, pero sólo el lineal puede producir fotólisis del agua o reducción del CO₂ (o de otros aceptores de electrones mencionados

más arriba). El “quenching” no fotoquímico es aún más complicado, con unos mecanismos que actúan disipando energía y otros que aumentan la eficiencia de su utilización.

El punto inicial de esta cinética, F_0 , es el nivel al cual la fluorescencia variable comienza a aumentar por encima de la fluorescencia constante y corresponde a la señal de emisión de la fluorescencia cuando el “quenching” fotoquímico es máximo. Cuando la luz incide sobre la hoja, la señal de fluorescencia aumenta hasta que el “quenching” fotoquímico se hace cero. La señal de fluorescencia alcanza un pico (P) antes de empezar a descender lentamente. Si la luz es saturante para la hoja el pico de fluorescencia alcanzado será el máximo y se denomina F_m . La diferencia entre la fluorescencia máxima y la fluorescencia inicial se denomina fluorescencia variable (F_v). La relación F_v/F_m puede ser calculada a partir de los valores obtenidos. Esta relación es proporcional al rendimiento cuántico fotoquímico (Butler & Kitajima 1975) y muestra una alta correlación con el rendimiento cuántico de la fotosíntesis neta de hojas intactas (Björkman & Demmig 1987).

La biofísica de la inducción de la fluorescencia y su papel en los procesos primarios de la fotosíntesis han sido estudiados durante muchos años. Lo que en un principio fue considerado como una señal rica y ambigua (Lavorel & Etienne 1977), la cual daba una información compleja, ha sido catalogada actualmente como un indicador intrínseco de las reacciones fotosintéticas de los cloroplastos en plantas verdes (Schreiber & Bilger 1987).

La medida de fluorescencia es una técnica no destructiva y, por lo tanto, ideal para medidas que requieren repeticiones periódicas. La medida es rápida, lo que conlleva la posibilidad de recolectar una gran cantidad de datos en condiciones de campo. Sin embargo, las medidas de fluorescencia no son absolutas ya que la fluorescencia emitida depende de la intensidad de luz y de la respuesta de la planta a las nuevas condiciones de luz. Muchos de los parámetros de fluorescencia que normalmente se utilizan son relaciones, lo cual nos permite hacer comparaciones.

Las medidas de la fluorescencia de la clorofila se llevaron a cabo con un fluorímetro portátil, PEA (Plant Efficiency Analysis), (Hansatech, U.K.). Ha sido diseñado para su fácil uso, es ligero y totalmente portátil. Las medidas de fluorescencia son realizadas utilizando hojas intactas, adaptadas a la oscuridad.

El sistema consta de las siguientes partes (Fig. 3.2.4):

a) Clips

El primer paso para medir consiste en cubrir la hoja con un pequeño y ligero clip, que posee una pequeña lengüeta que puede tapar la hoja, haciendo posible la adaptación de la hoja a la oscuridad. Este proceso puede transcurrir a diferentes tiempos dependiendo de la especie, de los niveles de luz a los que la planta está sometida antes de pasar a la oscuridad y si la planta, previamente, está o no sometida a estrés. Normalmente son necesarios 30 minutos de adaptación a la oscuridad. Los clips son de plástico blanco para minimizar los efectos del calor, es decir, del posible calentamiento de la hoja cuando el clip está colocado. En la parte interna está cubierto de una fina gomaespuma para minimizar el daño en la estructura foliar.

b) Sensor

El sensor es un montaje óptico que suministra una poderosa iluminación a la hoja y al mismo tiempo, detecta la consecuente señal de fluorescencia. Se conecta a la caja control principal por medio de un cable de 1.5 m. Para realizar la medida, se coloca encima del clip y se abre la lengüeta del mismo.

La iluminación es provista por un grupo de 6 diodos que emiten a alta intensidad de luz (LEDs), los cuales son focalizados sobre la superficie de la hoja. Estos emiten luz roja de una longitud de onda máxima de 650 nm, que es rápidamente absorbida por los cloroplastos de la hoja. Los LEDs tienen la ventaja de ser fuertes, emitiendo bajos niveles de calor y pasando de apagado al máximo de luz en unos microsegundos. Esto es una gran ventaja respecto a otros sistemas de medida que utilizan lámparas y en los que es necesario un tiempo mayor de espera para alcanzar el máximo de luz. Un circuito de retroalimentación (“feedback”) óptico registra y corrige los cambios en la intensidad de salida de los LEDs; estos cambios son producidos por el calentamiento interno en los LEDs, este circuito también es compensado por los cambios de intensidad producidos por la variación de la temperatura ambiente.

El detector está formado por un fotodiodo de alta resolución y un circuito amplificador asociado. El diseño óptico y el sistema de filtros asegura que responda eficazmente a una señal de fluorescencia de longitud de onda más larga y bloquee la luz de longitud de onda más corta reflejada, la cual ha sido utilizada como fuente de iluminación.

c) Caja control

El PEA utiliza un sofisticado microprocesador para todas las funciones del instrumento. El aparato es totalmente sólido y no contiene ensamblajes electromecánicos o partes móviles, que podrían causar problemas de funcionamiento en condiciones de campo. Toda la parte electrónica está localizada y recubierta de un plástico fuerte, diseñado para minimizar la posibilidad de daño en el campo.

La energía es provista por una batería interna recargable. La memoria de la caja control proporciona al aparato la capacidad de proteger, tanto a los datos como al instrumento en periodos en los que la batería falle. Se utiliza un panel frontal impermeable para seleccionar e introducir variables. Además, los niveles de luz y el intervalo de registro son también parámetros seleccionables desde este panel frontal.

La señal de fluorescencia recibida por la unidad sensor durante un registro es digitalizada en la caja control utilizando rápidos convertidores digitales analógicos. El rápido aumento inicial de la señal de fluorescencia es digitalizado a una tasa de 100 lecturas por segundo para obtener una buena resolución del valor F_0 . Después de 2 milisegundos se adopta una adquisición de datos más lenta (15 lecturas por segundo). Finalmente, se selecciona una tasa de 10 lecturas por segundo durante el descenso lento en la señal de fluorescencia hasta llegar al nivel estable terminal. Una vez que el registro es digitalizado se comprimen 5000 datos expresados como voltaje junto con el tiempo al cual han sido obtenidos. Los parámetros de fluorescencia que son automáticamente calculados y mostrados son F_0 , F_m , F_v y la relación F_v/F_m .

F_0 : Para determinar la línea que mejor se fije a través de los datos iniciales registrados al inicio de la iluminación se utiliza un algoritmo. Esta línea de mejor ajuste se extrapola a tiempo cero (el inicio de la iluminación) para determinar F_0 .

F_m : Es el valor máximo obtenido durante el registro.

Fv: Es la componente variable de la fluorescencia, obtenida al restarle al valor de fluorescencia máxima el valor de fluorescencia inicial.

Fv/Fm: Es la fluorescencia variable dividida por la fluorescencia máxima. Esta es una relación útil, que ha mostrado ser proporcional al rendimiento cuántico fotoquímico y muestra un alto grado de correlación con el rendimiento cuántico de la fotosíntesis neta.

El registro puede ser mostrado en cualquier momento, hasta que se realiza un registro posterior. El registro también puede ser guardado en la memoria de la caja control. Mediante una técnica de compresión se reducen los 5000 puntos obtenidos a 150, cuando se procede a salvar los datos dentro de la caja control. Los datos también pueden ser transferidos a una impresora, a un registrador vía una interfase en serie RS232C o a un ordenador compatible IBM PC para un posterior análisis más detallado, almacenamiento y utilización en programas de cálculo o estadísticos. Todas las funciones del instrumento están bajo el control del programa que se encuentra permanentemente almacenado en EPROM.

d) Cargador de batería

La batería, situada en la parte interna de la caja control, puede ser recargada a partir de un suplemento utilizando el cargador, el cual detecta las condiciones de la batería y selecciona una tasa de carga lenta o rápida. El cargador activará automáticamente un modo de carga lento cuando la batería se haya recuperado.

e) Bolsa instrumental

Con el PEA se acompaña una bolsa especial diseñada para el aparato. Tiene una cinta que permite que la bolsa sea colgada alrededor del cuello, lo que hace que el instrumento esté colocado frente al operador para un manejo más fácil y, además, para un mejor transporte. La bolsa tiene una tapa lateral que facilita el acceso a los conectores y al botón de encendido de la caja control. En la parte inferior un pequeño compartimento proporciona espacio para colocar el sensor unidad, los clips, el manual, las notas, etc. Cuando la caja control no está siendo utilizada podrá ser protegida por un tapa superior que se puede quitar en el caso de que se estén tomando medidas, si esta molesta al usuario.

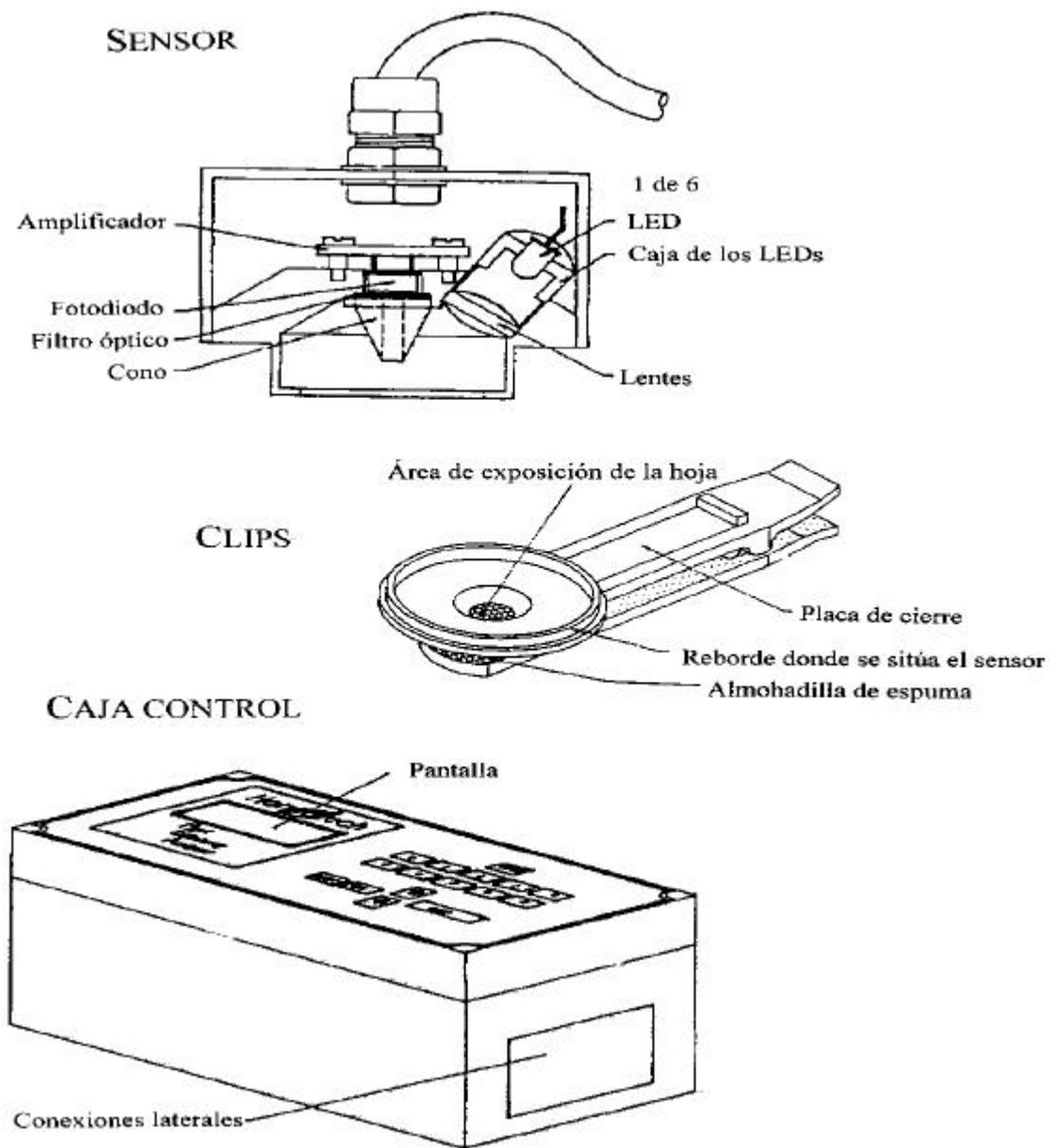


Fig. 3.2.4. Partes del fluorímetro portátil PEA (Hansatech): Sensor, clips y caja control.

4. RESULTADOS

4.1. CARACTERIZACIÓN DEL SITIO DE ESTUDIO Y PATRONES DE DISTRIBUCIÓN FOLIAR

4.1.1. INTRODUCCIÓN

Para abordar el estudio de la respuesta fotosintética de árboles de la laurisilva en condiciones naturales, lo primero que se hizo fue elegir un sitio de estudio. Esta elección, no fue totalmente al azar, ya que necesitábamos que éste estuviera ubicado cerca del laboratorio, que fuera de fácil acceso y que en él, las especies más representativas de la laurisilva, se encontraran próximas entre sí.

Una vez elegido el lugar, se trazaron dos objetivos principales. Primero se procedió a la caracterización de la parcela de estudio, mediante el análisis de las especies arbóreas presentes en la misma; número de individuos de cada especie, altura de los árboles y diámetro a la altura del pecho, aproximadamente a 1.30 m. En segundo lugar, para el estudio de la influencia de los factores de la propia planta sobre la fotosíntesis, fue necesario, no sólo conocer la estructura de la parcela de estudio sino también la distribución de las hojas, así como sus características a lo largo del perfil vertical del bosque. Para ello, se determinaron los patrones de distribución foliar de árboles individuales mediante un estudio destructivo de diferentes árboles representativos del lugar. Posteriormente, gracias al conocimiento detallado de su estructura, la información obtenida a nivel de hoja se pudo extrapolar a nivel de parcela.

Los datos estructurales de esta parcela de estudio nos proporcionarán una base para otros estudios que conduzcan al mayor conocimiento de los procesos fisiológicos relacionados con la supervivencia de estos bosques, así como a la evaluación de los cambios en la estructura del bosque con el tiempo. La relación entre el conocimiento de los procesos fisiológicos y la estructura del bosque nos permitirán predecir, a largo plazo, el desarrollo y la productividad de la laurisilva. Esta secuencia de pasos, desde nivel de parcela hasta modelos más complejos, es la única forma razonable de entender el papel que estos bosques representan en el clima y la hidrología de las islas, así como su posible uso en el seguimiento del calentamiento global terrestre.

4.1.2. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1.2.1. El sitio de estudio

El sitio de estudio está localizado en la isla de Tenerife (Islas Canarias, España) situada a 28°27'32'' de latitud norte y 16°24'20'' de longitud oeste, en el monte de Agua García (Coordenadas UTM: CS626490), aproximadamente a 8.5 Km al SWW de la ciudad de La Laguna y a 2.7 Km al sur del municipio de Tacoronte (Fig. 4.1.1). Se encuentra

situado a una altitud entre 820-830 m y presenta una suave pendiente (12°) de orientación NNE.

Los suelos presentes en el Bosque de Agua García se han formado debido a dos

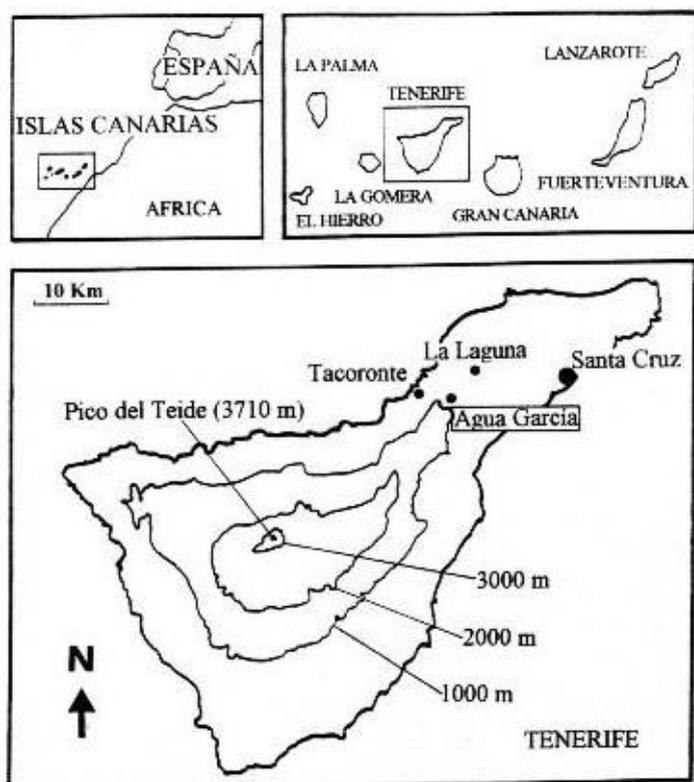


Fig. 4.1.1. Situación de la parcela de estudio en el bosque de Agua García (Tenerife, Islas Canarias).

factores fundamentales, un clima de notoria humedad y la presencia de materiales geológicos que en su inmensa mayoría son recientes. Las formaciones que integran este espacio corresponden a materiales volcánicos, preferentemente lávicos, que pertenecen a la serie III Basáltica o Reciente y están asociados a conos volcánicos. La roca madre del sitio de estudio en concreto, es una mezcla de basaltos olivínicos y ceniza volcánica, con una gran permeabilidad y drenaje. El suelo es un andosol de carácter coluvial cubierto con una capa de 2-3 cm de materia orgánica. El horizonte A (0-45 cm de profundidad) es una arcilla rojiza muy coluvial de carácter crómico debido a la alteración de cenizas volcánicas, que contienen piedras de 5 a 15 cm de diámetro (10-30 % del volumen), muy orgánico y recubierto de una capa de hojarasca en descomposición. El horizonte B (45-90 cm de profundidad) es ándico, limoso, con una estructura escasamente desarrollada, de tipo organo-mineral y con un alto contenido en raíces según un estudio realizado por los doctores C. Concepción Jiménez Mendoza y Antonio Rodríguez Rodríguez del Departamento de Edafología y Geología de la Universidad de La Laguna.

La orientación noreste-suroeste del Monte de Agua García y su ubicación en el noreste de la isla de Tenerife le confieren unas condiciones óptimas para la recepción de los vientos alisios cargados de humedad. Este hecho se ve acentuado por la presencia de niebla durante casi todo el año presentando una humedad relativa media anual del 82.1 % y una precipitación media anual de 756 mm.

El clima del lugar de estudio es húmedo mediterráneo con una temperatura media anual de 13.6 °C, siendo la temperatura media mínima de 10.5 °C y la temperatura media máxima de 16.6 °C (García Gallo & Wildpret de la Torre 1990).

Florísticamente el lugar se encuentra compuesto por las siguientes especies arbóreas: *Laurus azorica* (Seub.) Franco, *Persea indica* (L.) Spreng., *Myrica faya* Ait., *Erica arborea* L. y dos especies de *Ilex* (*I. platyphylla* Webb & Berth. e *I. canariensis* Poivet.), a los cuales acompañan: *Viburnum rigidum* Vent., *Hedera canariensis* Willd.,

Smilax canariensis Willd., *Ranunculus cortusifolius* Willd. y *Asplenium onopteris* L., entre otras.

El sitio de estudio tiene una edad aproximada de 35 años, y rebrotó después de una tala de la vegetación original que allí se encontraba. No existe una gran cantidad de epífitos sobre las hojas y las ramas de los árboles, lo cual es típico en otros lugares con mayor afluencia de nubes. Cerca del sitio de estudio se encuentran árboles mucho más viejos y altos que evidencian el carácter original de este bosque.

4.1.2.2. **Caracterización de la parcela de estudio**

En el lugar de estudio, se creó una parcela de 3390 m². Todos los árboles presentes en la parcela (*Laurus azorica* (Seub.) Franco, *Persea indica* (L.) Spreng., *Myrica faya* Ait.,

Erica arborea L. y las dos especies de *Ilex* (*I. platyphylla* Webb & Berth. e *I. canariensis* Poivet.)), con un diámetro superior a 4 cm, fueron marcados y numerados de forma permanente. En mayo de 1993, se midió el diámetro a la altura del pecho, aproximadamente a 1.30 m (DBH) con una forcípula (el valor resultante era la media de dos medidas realizadas en direcciones perpendiculares) y se midió la altura total de los árboles (Ht) y la altura hasta la base de la copa (Hb) con un medidor de alturas Blume-Leiss. Los árboles se clasificaron en clases de DBH, donde cada clase incluía árboles con DBH en un rango de 2 cm, por ejemplo, la clase de DBH 14 incluía todos los árboles cuyo DBH oscilaba entre 14.0 y 15.9 cm. Así, incluíamos cada árbol particular en una clase de DBH, sabiendo además, su altura media y la distancia media a la base de la corona. Los valores obtenidos a nivel de la parcela se convirtieron a nivel de hectárea.

También se calculó el área basal del tronco (sección de área a la altura del pecho, Abas) y la longitud de la copa ($Lc = Ht - Hb$). A partir de relaciones alométricas se calculó la biomasa aérea en peso seco (Mda) y el volumen de madera (Vta). Debido a que no poseíamos ecuaciones alométricas para el cálculo de Vta de estas especies o especies locales próximas, utilizamos valores de Vta del *Quercus robur* L. y *Quercus borealis* Michx. (Vyskot 1976) y de relaciones alométricas basadas en el DBH (Kestemont 1971; Palat 1991). Los valores de Mda se derivaron de ecuaciones obtenidas para diferentes especies de la laurisilva (Fernández-Palacios *et al.* 1991). Los resultados obtenidos fueron comparados con aquellos obtenidos por Pastor *et al.* (1984) para diferentes especies.

4.1.2.3. Selección de árboles y distribución foliar

Se seleccionaron árboles de manera que representaran el rango de distribuciones de área foliar y de clases sociales encontradas en el lugar. Los árboles utilizados para el estudio de la distribución foliar fueron tomados fuera de la parcela de estudio, pero del mismo tipo y edad que los encontrados en el interior de ella. Los árboles utilizados en el análisis fueron dos árboles de *Laurus azorica*, uno de *Persea indica* y uno de *Erica arborea*.

Estos árboles fueron cortados y depositados suavemente sobre el terreno en posición vertical. Se midió la longitud del tronco principal, para ello el tronco principal fue cortado en secciones hasta llegar a las primeras ramas. Se midió la altura a la cual partían las diferentes ramas principales que presentaba el árbol, así como el ángulo que formaban las ramas con respecto al eje del tronco y su orientación. Una vez hecho un dibujo o esquema general del árbol y de la disposición de sus ramas principales, se cortó para proceder al estudio detallado de cada una de ellas. A cada una de las ramas se les midió el diámetro que presentaban en la base de unión con el tronco principal y en el inicio de la rama donde comenzaban a aparecer las primeras hojas, además, se midió la longitud total de la rama. Se asumió que la disposición de las hojas dentro de la rama presentaban una forma elíptica, en forma de nube, de ahí la terminología de “cloud” (Cermák 1990) y se midió el eje longitudinal y transversal de esta nube.

Una vez que el árbol fue seccionado en diferentes partes y ramas, éstas se llevaron al laboratorio donde se pesaron para obtener el peso fresco, luego todo el material fue colocado en la estufa a 100 °C durante varios días para obtener su peso seco. Para el

estudio de la distribución de las hojas en el árbol, se contó el número de hojas de cada una de las ramas y se calculó el área foliar mediante un medidor de área LI 3100 (LI-COR, Lincoln, USA) y se determinó su peso seco, después de secarlas en la estufa a 100 °C durante 48 h. En el caso de *Erica arborea*, la determinación del área foliar total fue derivada a partir de relaciones alométricas entre el peso seco y el área foliar de una muestra limitada de hojas de cada una de las ramas.

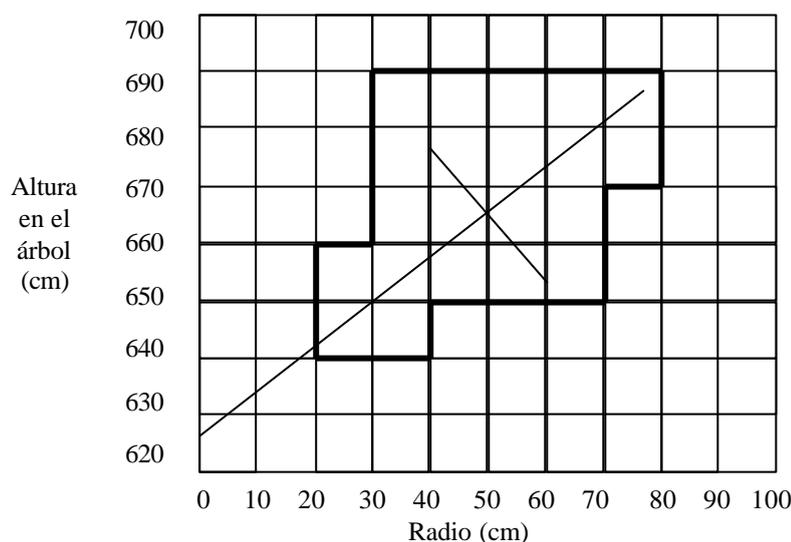


Fig. 4.1.2 Proyección de las nubes de hojas de las ramas sobre una matriz cuadriculada. En el eje de ordenadas se muestra la altura de la rama en el árbol (cm) y en el eje de abscisas el radio (cm).

Para el estudio de la distribución foliar, las hojas, las ramas y sus nubes de hojas asociadas, se rotan de forma imaginaria alrededor del eje del tronco hasta que todas ellas están colocadas sobre el mismo plano, a un lado del árbol. Cada rama se dispone, según su altura y ángulo con respecto al tronco, en una matriz cuadriculada, además, se dibuja el eje longitudinal y transversal de cada nube, transformándose la nube, en el número de cuadrículas que ocupa. Se asume un reparto

uniforme de área foliar, peso seco y número de hojas a lo largo de toda esa nube, de manera que para cada rama, cada cuadrícula toma el mismo valor (Fig. 4.1.2). A partir de esta matriz se puede calcular el perfil vertical y horizontal o radial de los diferentes parámetros foliares analizados (número, área y peso seco), sumando las cuadrículas en vertical o en horizontal, respectivamente.

La distribución vertical de las hojas en la parcela de estudio se estimó a partir de los árboles analizados y del inventario de todos los árboles de la parcela. La ecuación que se aplicó para describir la distribución vertical de las hojas fue la siguiente:

$$Y = a * \exp [-b * (X^{c-d})^2]$$

donde Y es el área foliar de la parcela de estudio (m² en capas de 0.2 m por ha); X es la altura en el árbol (m); y a, b, c y d son las constantes que definen la ecuación (a = 4505.827, b = 0.009612, c = 45.0222 y d = 1.502016).

Los mismos parámetros fueron calculados para los árboles analizados, utilizando la altura como variable independiente.

A partir de los parámetros estimados de los árboles analizados, se generalizó, para las diferentes clases de DBH mediante una correlación lineal con el DBH como variable independiente, asumiendo que todas las especies tienen la misma distribución foliar. La cantidad total de hojas para cada clase de DBH, se calculó multiplicando el valor medio de

cada árbol para cada clase, con el número de árboles de cada clase. El valor total de la parcela fue calculado sumando todas las clases.

También se determinó el índice de área foliar (LAI), la fracción de cielo visible a través del dosel y el ángulo medio de inclinación de las hojas, con un “LAI-2000 Plant Canopy Analyzer” (LI-COR, Lincoln, Neb., USA). Las medidas se realizaron en dos días nublados diferentes. Cada día se realizaron 50 medidas, en la parte superior del dosel vegetal (gracias a la torre de madera situada en la parcela) y dentro de la parcela a lo largo de un transecto. Para evitar el efecto de sombreado del operador en la medida, se utilizó un obturador de 90°.

Debido a que las relaciones alométricas de la mayoría de especies de hoja ancha fueron muy similares entre diferentes parcelas de laurisilva (Fernández-Palacios *et al.* 1991; y por los resultados obtenidos en el presente estudio), se utilizaron las mismas relaciones alométricas para las especies presentes en nuestra parcela de estudio. La única excepción fue *Erica arborea*, que presenta hojas ericoides, cuyas relaciones alométricas se estimaron de forma independiente.

4.1.3. RESULTADOS

4.1.3.1. Estructura de la parcela de estudio

El área basal total de la parcela de estudio fue de 33.7 m² ha⁻¹ encontrándose 1693 árboles por hectárea (Tabla 4.1.1). La especie arbórea más común fue *L. azorica* (38 %) seguida por *E. arborea* (27 %), *M. faya* (17 %), *P. indica* (14 %) y las dos especies de *Ilex* (4 %). Por el contrario, *M. faya* representó la especie con mayor proporción de área basal de la parcela (39 %), seguido por *L. azorica* (26 %), *E. arborea* (20 %), *P. indica* (14 %) e *I. canariensis* e *I. platyphylla* (2 %).

Tabla 4.1.1. Inventario y características del dosel vegetal de la parcela de estudio situada en Agua García en mayo de 1993 (3390 m²).

Variable	<i>M. faya</i>	<i>L. azorica</i>	<i>P. indica</i>	<i>E. arborea</i>	<i>Ilex</i>	Total por parcela	Media por árbol ^b
Densidad de árboles (árboles ha ⁻¹)	286	637	236	461	73	1693	—
Área basal (m ² ha ⁻¹)	13.094	8.627	4.609	6.672	0.736	33.7	0.02
Volumen sobre el suelo (m ³ ha ⁻¹)	95.39	56.01	31.33	43.37	4.48	230.6	0.14
Peso seco sobre el suelo (kg ha ⁻¹)	89.93	45.31	26.83	36.41	3.73	204.2	0.12
Área foliar (m ² ha ⁻¹)	39023	25711	7703	4015	1230	77682	45.9
Peso seco foliar (kg ha ⁻¹)	5540	3650	936	1004	150	11280	6.7
Densidad foliar ^a (10 ³ hojas ha ⁻¹)	26604	17529	3902	—	623	(48658)	28.9

^a El número de hojas de *E. arborea* no fue estimado, por lo que el área total de la parcela () está ligeramente subestimado.

^b Los valores medios por árbol están en las mismas unidades que para una hectárea, pero relacionados con un solo árbol.

En las figuras 4.1.3 y 4.1.4 se representan el número de árboles y el área basal para cada una de las especies, agrupándose los árboles de todas las especies por clases de DBH. El diámetro de los árboles osciló entre 4 y 46 cm de diámetro. El mayor número de árboles se encontraban en la clase de 14 cm de diámetro, mientras que la clase de 16 cm de diámetro tenía la mayor área basal.

La distribución de los diámetros y de las áreas basales mostró un comportamiento asimétrico así, sólo se encontraron unos pocos individuos con diámetro superior a los 35 cm. Teniendo en cuenta el espacio total ocupado por la laurisilva en la parcela de estudio, la concentración media de biomasa fue de 1.17 Kg m^{-3} , mientras que el volumen arbóreo fue de un 0.13 % ($0.0013 \text{ m}^3 \text{ m}^{-3}$).

En la Fig. 4.1.5 se muestra la distribución de las alturas de los árboles según la clase de DBH a la que pertenece. En ella se observa que los árboles más altos son principalmente *M. faya*, y que *L. azorica* y *P. indica* presentan una altura menor, seguidos de las dos especies de *Ilex* y *E. arborea* que son los árboles más bajos. A partir de la gráfica se observan dos comportamientos diferentes, por un lado se observa un cambio gradual de aumento de altura a medida que aumenta el diámetro del árbol, esto ocurre en *M. faya* y *E. arborea*, y por otro lado, se observa un aumento más brusco hasta que se alcanza un umbral, en las otras especies (en *Ilex* esta conducta no es tan clara al no encontrarse ejemplares de gran diámetro).

La capa principal de hojas se encuentra situada entre 10 y 15 m de altura, sólo unos pocos árboles presentan hojas por debajo ($\pm 2 \text{ m}$) o por encima ($\pm 2 \text{ m}$) de esta franja (Fig. 4.1.3).

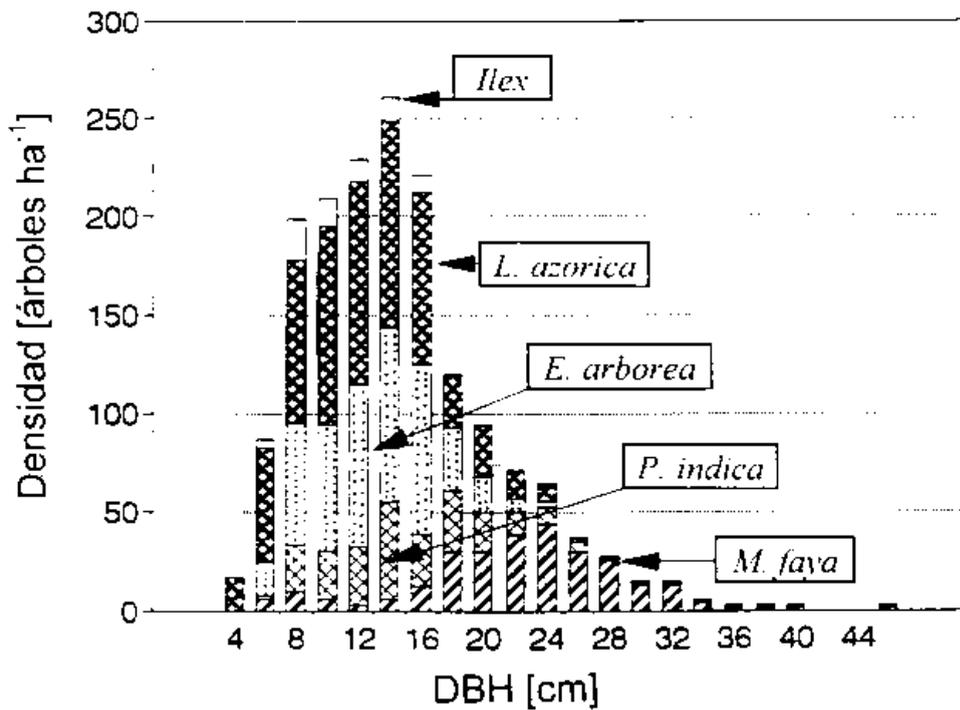


Fig. 4.1.3. Distribución de la densidad arbórea (árbol/hectárea) de todas las especies presentes en la parcela de estudio de Agua García en mayo de 1993, según el diámetro a la altura del pecho (agrupado en clases). La densidad total de la parcela de estudio fue de 1693 árboles ha^{-1} .

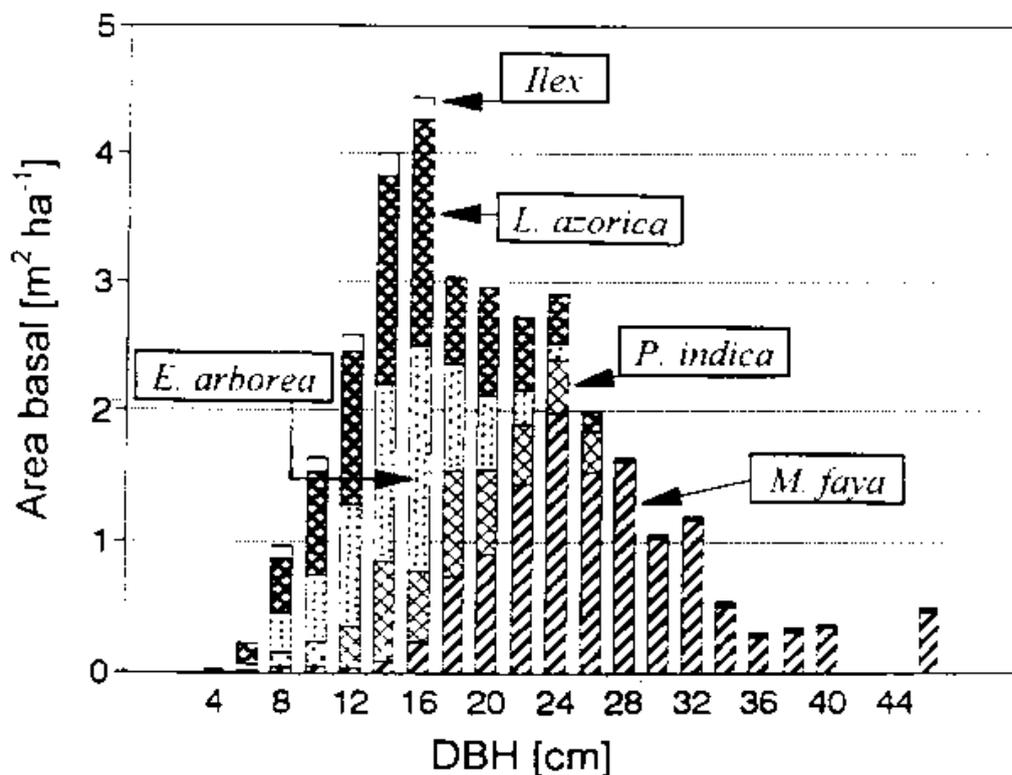


Fig. 4.1.4. Distribución del área basal de todas las especies presentes en la parcela de estudio de Agua García en mayo de 1993 según el diámetro a la altura del pecho (agrupado en clases). El área basal de la parcela de estudio fue de 33.7 $m^2 ha^{-1}$.

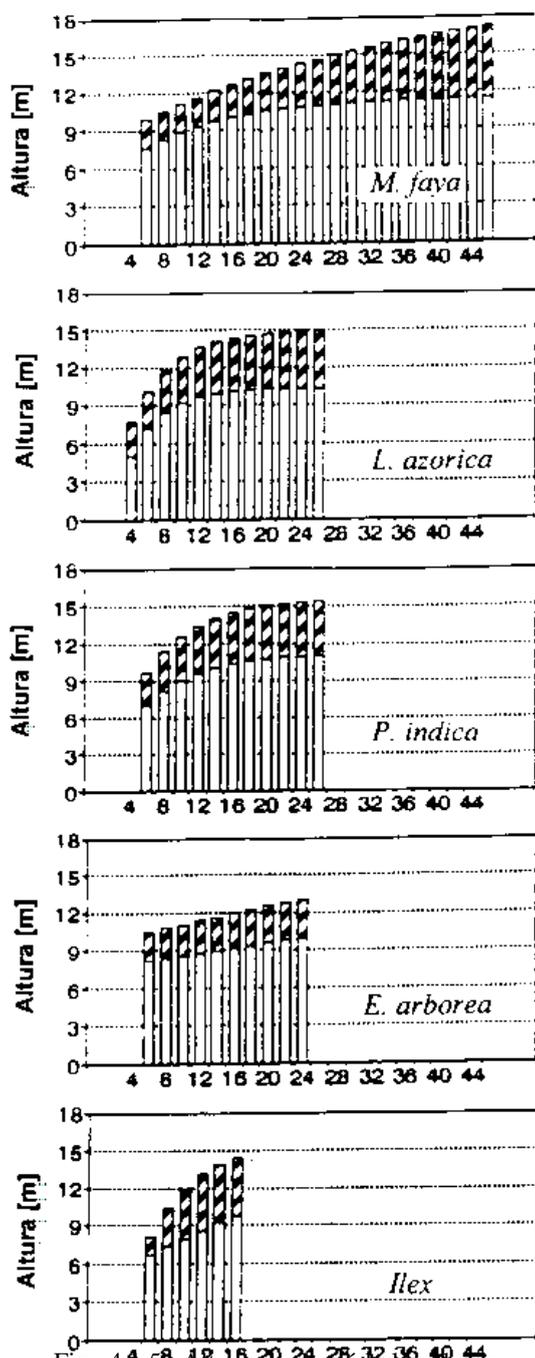


Fig. 4.1.5. Altura de los árboles (barras totales), altura de la copa (barras blancas) y longitud de la copa (barras sombreadas), de árboles de diferentes especies presentes en la parcela de estudio de Agua García según el diámetro a la altura del pecho (agrupados en clases) en mayo de 1993.

diferencias que se observan entre las especies en cuanto a su

4.1.3.2. Arquitectura de los árboles

La forma de las copas de *L. azorica* y *P. indica* fueron similares, *E. arborea* presentó una estructura diferente debido a la forma y el tamaño de sus hojas. Además, *E. arborea* presentó un mayor número de ramificaciones, aunque las ramas eran más finas que en *L. azorica* y *P. indica*. El crecimiento en estas especies se observa principalmente en primavera, aunque, en ocasiones, se puede observar un crecimiento a lo largo del año, debido a las condiciones relativamente uniformes del clima en las islas. La floración es siempre de meristemos laterales, de manera que no afecta a la morfología de los tallos.

Para *L. azorica* y *P. indica*, el ángulo de las ramas osciló entre 10 y 110°, presentando la mayoría de las ramas dos ángulos, 20-30° y 50° (Fig. 4.1.6). Las ramas que presentaban menores ángulos correspondían principalmente a jóvenes tallos en el tronco o en ramas muy largas. No se encontró ningún patrón vertical en el ángulo de las ramas. Por el contrario, la mayoría de las ramas en *E. arborea* tenían un ángulo cercano a 30°.

Muchos árboles de la laurisilva canaria presentan una forma irregular, debido tanto a la heterogeneidad de especies arbóreas que lo forman como a la intensa competencia por la luz, características propias de este tipo de bosque. Las

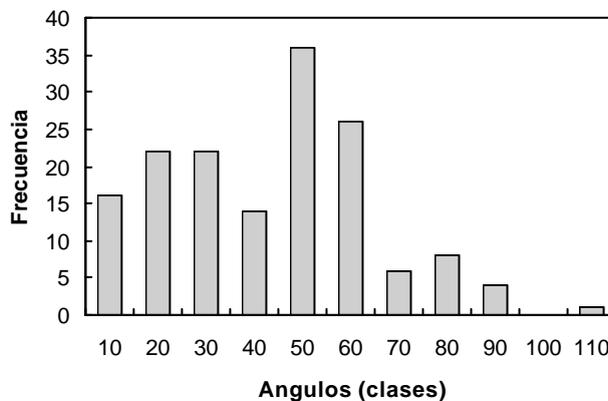


Fig. 4.1.6. Distribución de los ángulos de las ramas de los árboles de hoja ancha (*L. azorica* y *P. indica*) en la parcela de estudio de Agua García.

ramificación, se deben a que los meristemos apicales dañados son reemplazados por ramas laterales.

4.1.3.3. Distribución de las hojas

El patrón vertical de distribución según el área foliar de todos los árboles estudiados presentó una curva de tipo Gauss (Fig. 4.1.7, 4.1.9 y 4.1.11). El árbol de *P. indica* analizado ocupó una posición dominante, presentando un mayor número de hojas en la parte superior, bien iluminada, que va disminuyendo a medida que se desciende en altura, hasta llegar a la parte inferior donde el número de hojas es menor (Figs. 4.1.7 y 4.1.8). De los dos laureles analizados uno ocupó una posición intermedia (Figs. 4.1.9 y 4.1.10) y el otro una posición suprimida (Figs. 4.1.11 y 4.1.12). El laurel con una posición intermedia, presentó una distribución foliar de forma simétrica, tanto vertical como radial. Sin embargo, el otro laurel (suprimido) mostró una mayor concentración de las hojas en la parte inferior.

Cuando se extrapolaron los resultados obtenidos en los árboles analizados a nivel de parcela, se observó que la copa de los árboles de posición social superior era de 2 a 3 veces más grande, y la densidad máxima de su follaje tendía a ser ligeramente mayor que aquella de los árboles de posición social inferior. La máxima densidad de área foliar se encontró a una altura entre 12 y 13 metros, alcanzando $2.3 \text{ m}^2 \text{ m}^{-3}$ (Fig. 4.1.13). La densidad de área foliar media en la capa principal del dosel vegetal, fue de $1.4 \text{ m}^2 \text{ m}^{-3}$. Cuando consideramos la altura desde el suelo hasta la parte superior de los árboles más altos, la densidad de área foliar media fue de $0.45 \text{ m}^2 \text{ m}^{-3}$.

En la tabla 4.1.1 se representan el área foliar, peso seco foliar y densidad foliar por hectárea para cada especie y para la totalidad de la parcela. El índice del área foliar de la parcela de estudio, calculado mediante análisis destructivos (cortando el árbol y contando sus hojas) fue de 7.8 con un error estándar de 15 % (oscilando entre 6.6 y 9). Esto representa aproximadamente, 50 millones de hojas por hectárea, siendo *M. faya* responsable de casi la mitad de ese valor, seguida de *L. azorica*, *P. indica*, *E. arborea* y las dos especies de *Ilex* (Fig. 4.1.14). La proporción de hojas de *E. arborea* en la parcela es menor que la porción de área basal que representa. Esta diferencia se debe al tipo de hojas que presenta, muy pequeñas respecto al área ocupada por las hojas de los otros árboles. La estima realizada con el LAI 2000 nos dio un índice de área por planta (PAI) de 5.5 (error estándar 0.05) del cual aproximadamente un 0.6 es eliminado debido a que representa el área de la silueta (Baldocchi *et al.* 1986; Hutchison *et al.* 1986). La porción de cielo visible debajo del dosel fue de 1.1 % y el ángulo de inclinación medio del follaje fue de 45° .

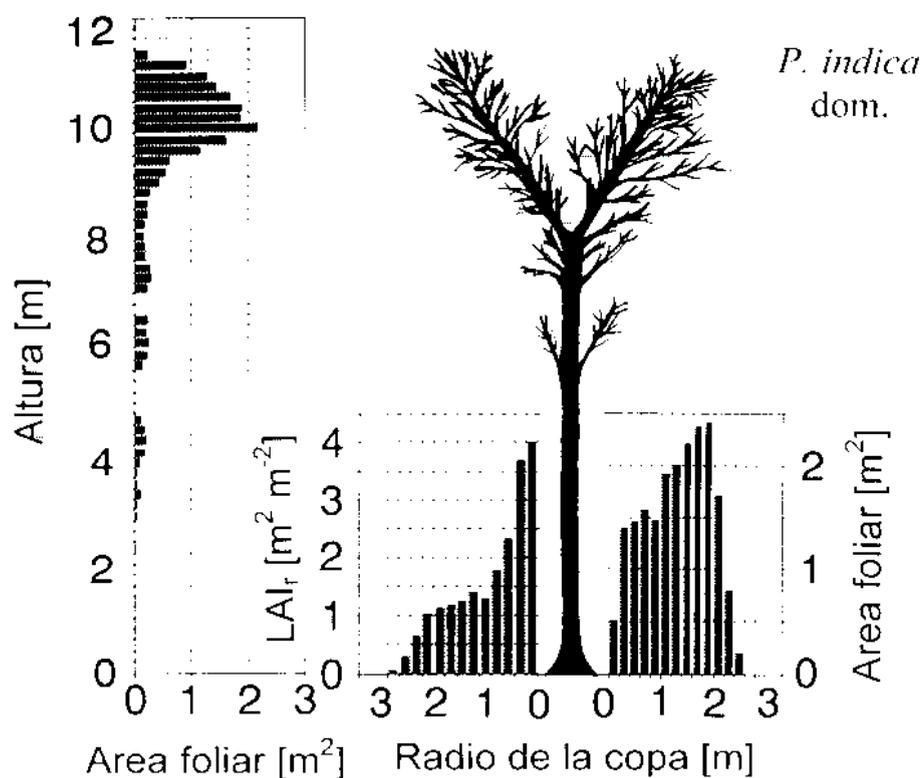


Fig.4.1.7. Representación de las ramas y de la distribución vertical y radial de las hojas en *Persea indica* (posición dominante). En la parte superior izquierda se muestra el diagrama de distribución vertical de las hojas en función del área foliar (en capas de 0.2 m de amplitud). En la parte inferior derecha se muestra el diagrama de distribución radial según el área foliar (en anillos de 0.2 m de grosor con respecto al eje principal) y en la parte inferior izquierda se muestra el índice de área foliar radial.

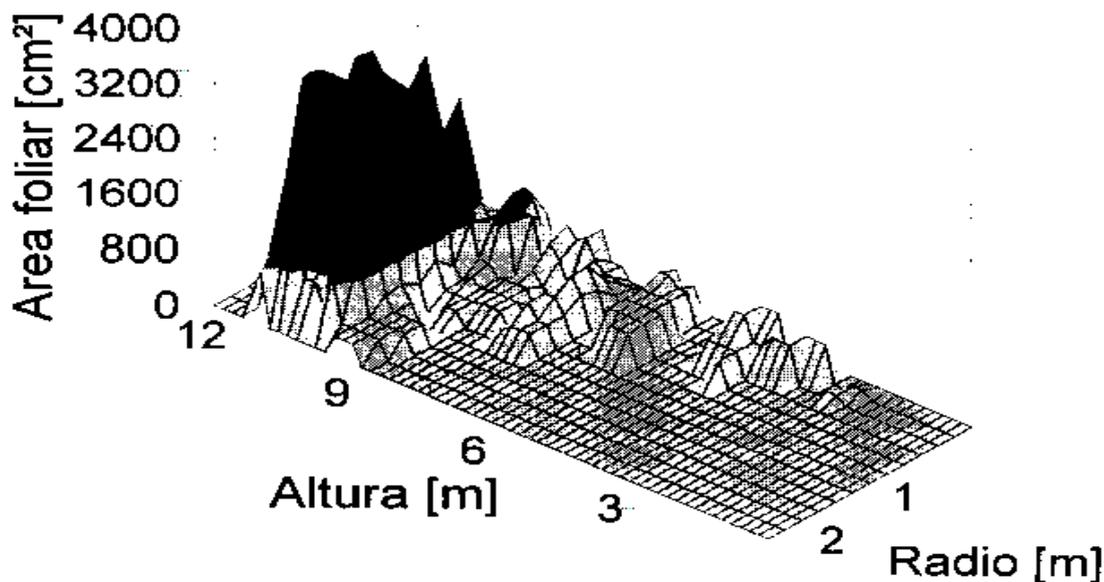


Fig. 4.1.8. Vista frontal de la distribución de área foliar en *Persea indica* (posición dominante) considerando el área foliar acumulativa a diferentes alturas y distancias a partir del eje del tronco principal (0.2 x 0.2 x 0.2 m volumen) proyectado en una matriz tridimensional.

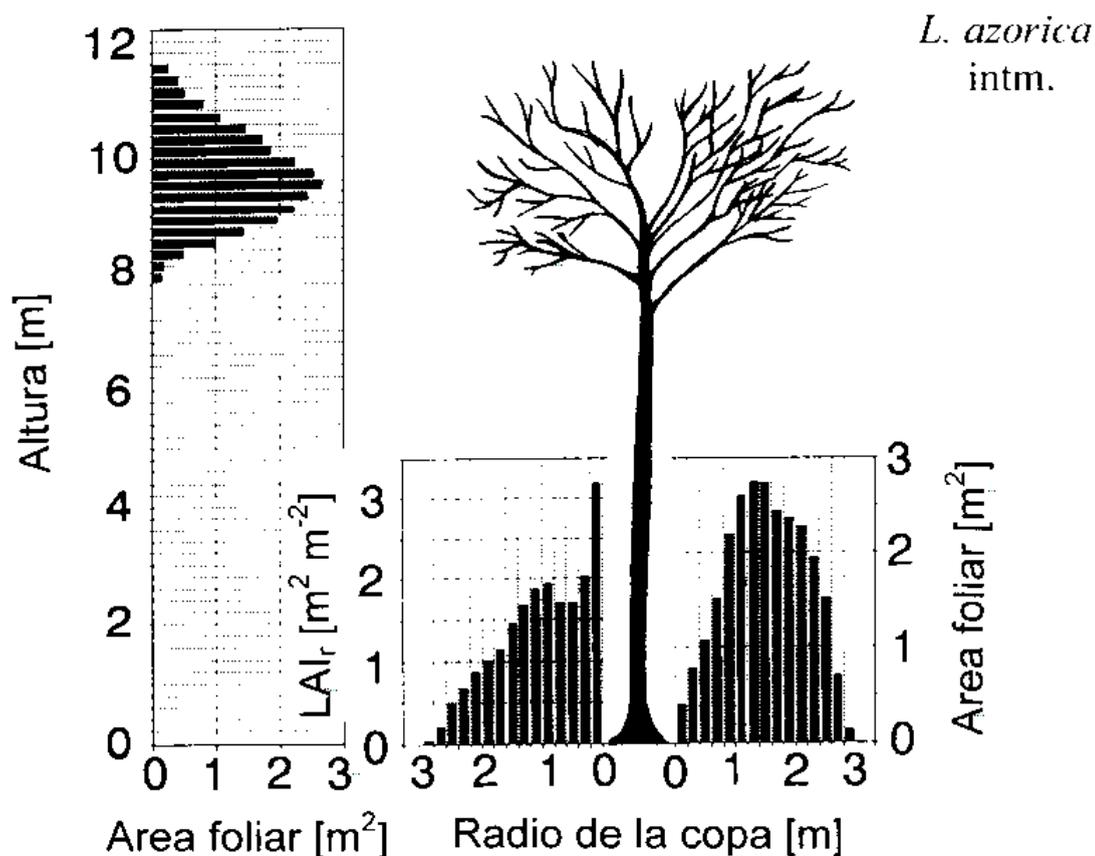


Fig. 4.1.9. Representación de las ramas y de la distribución vertical y radial de las hojas en *Laurus azorica* (posición intermedia). En la parte superior izquierda se muestra el diagrama de distribución vertical de las hojas en función del área foliar (en capas de 0.2 m de amplitud). En la parte inferior derecha se muestra el diagrama de distribución radial según el área foliar (en anillos de 0.2 m de grosor con respecto al eje principal) y en la parte inferior izquierda se muestra el índice de área foliar radial.

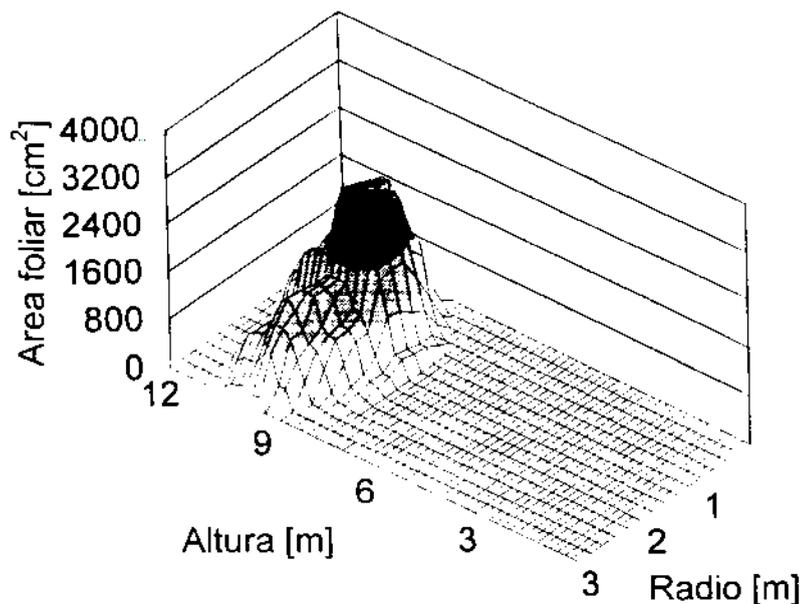


Fig. 4.1.10. Vista frontal de la distribución de área foliar en *Laurus azorica* (posición intermedia) considerando el área foliar acumulativa a diferentes alturas y distancias a partir del eje del tronco principal (0.2 x 0.2 x 0.2 m volumen) proyectado en una matriz tridimensional.

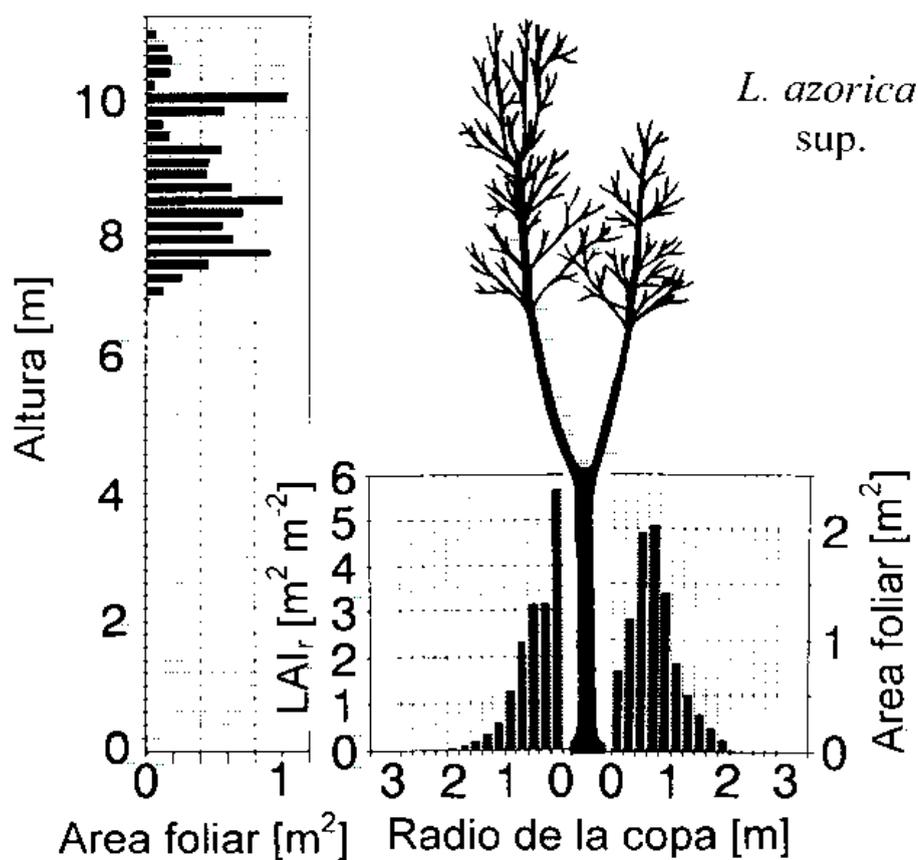


Fig. 4.1.11. Representación de las ramas y de la distribución vertical y radial de las hojas en *Laurus azorica* (posición suprimida). En la parte superior izquierda se muestra el diagrama de distribución vertical de las hojas en función del área foliar (en capas de 0.2 m de amplitud). En la parte inferior derecha se muestra el diagrama de distribución radial según el área foliar (en anillos de 0.2 m de grosor con respecto al eje principal) y en la parte inferior izquierda se muestra el índice de área foliar radial.

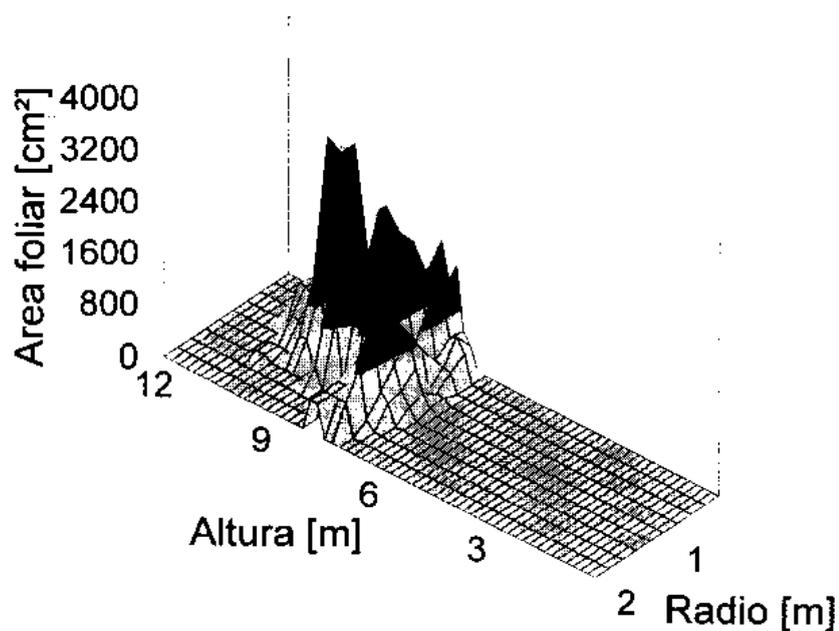


Fig. 4.1.12. Vista frontal de la distribución de área foliar en *Laurus azorica* (posición suprimida) considerando el área foliar acumulativa a diferentes alturas y distancias a partir del eje del tronco principal (0.2 x 0.2 x 0.2 m volumen) proyectado en una matriz tridimensional.

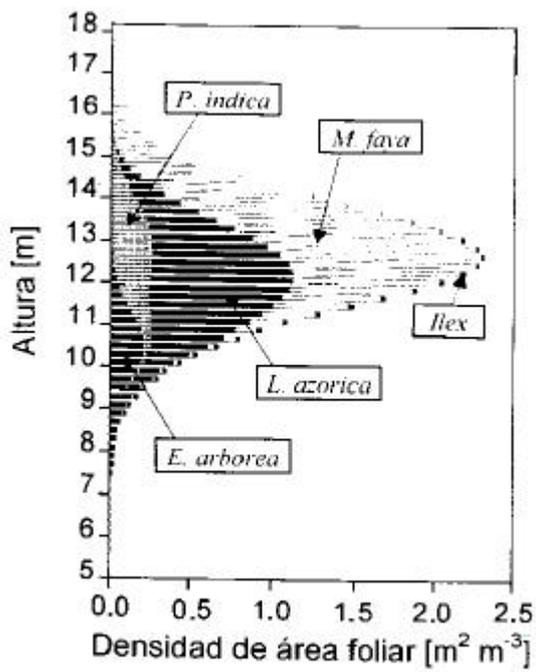


Fig. 4.1.13. Distribución vertical de la densidad de área foliar por especies obtenida en la parcela de estudio de Agua García en mayo de 1993.

Fig. 4.1.14. Índice de área foliar acumulativa por especies en la parcela de estudio de Agua García, mayo de 1993.

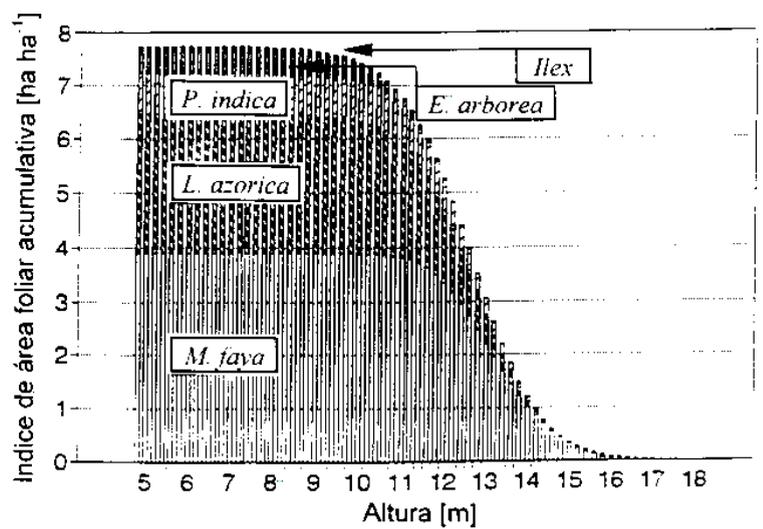


Tabla 4.1.2. Distribución radial de las hojas a partir del eje vertical del tronco principal en *P. indica* de posición dominante, en *L. azorica* de posición intermedia y *L. azorica* de posición suprimida, en función del peso seco y del número de hojas. (PS: peso seco foliar; N: número de hojas).

Distancia radial [m]	Dominante		Intermedia		Suprimida	
	PS [g]	N	PS [g]	N	PS [g]	N
0.2	43	312	51	231	70	498
0.4	130	651	98	445	120	782
0.6	156	775	139	628	204	1294
0.8	181	777	200	906	216	1394
1.0	168	672	306	1391	340	1001
1.2	225	949	369	1668	84	582
1.4	250	1055	394	1776	52	391
1.6	289	1166	396	1785	29	234
1.8	310	1257	358	1609	17	124
2.0	315	1374	348	1565	8	62
2.2	229	1050	333	1504	0	0
2.4	107	463	283	1287	0	0
2.6	25	118	223	1005	0	0
2.8	0	0	105	459	0	0
3.0	0	0	20	83	0	0

La distribución radial del área foliar total, también mostró un patrón en forma de campana de Gauss. La mayor área foliar fue observada aproximadamente a la mitad de distancia entre el eje del tronco y el borde de la corona. En *P. indica* la concentración foliar máxima fue observada en la zona más próxima al perímetro de la corona. (Figs. 4.1.7 y 4.1.8), mientras que, para el laurel que ocupa la posición intermedia, tuvo una distribución radial más simétrica (Figs. 4.1.9 y 4.1.10). El laurel con posición suprimida, tuvo una distribución radial ligeramente más asimétrica (Figs. 4.1.11 y 4.1.12). La distribución radial de las hojas, en función del peso seco y número de hojas, tuvo un patrón similar (Tabla 4.1.2). El índice de área foliar radial para todos los árboles estudiados, mostró que la mayor concentración de hojas se encontraba cerca del eje del tronco y que descendía gradualmente a medida que nos acercábamos al borde de la corona. La diferencia de estos dos patrones refleja como, las hojas más próximas al tronco ocupan una pequeña fracción con respecto a la copa total, siendo así la concentración mayor por unidad de superficie del suelo (Figs. 4.1.7, 4.1.9 y 4.1.11, parte inferior derecha), sin embargo el LAI radial mostró un

Tabla 4.1.3. Densidad foliar máxima por capas horizontales en árboles de hoja ancha con posición dominante, intermedia o suprimida.

Variable	Dominante (<i>P. indica</i>)	Intermedia (<i>L. azorica</i>)	Suprimida (<i>L. azorica</i>)
Área foliar (m ² m ⁻³)	0.51	0.47	0.41
Peso seco (g m ⁻³)	61.12	68.93	57.54
Número (hojas m ⁻³)	275	309	273
Altura ^a (%)	(88-88-88)	(83-83-83)	(90-76-67)

^aAltura, en el árbol, a la que se encuentra el porcentaje máximo de área foliar, peso seco y número de hojas, respectivamente.

valor mucho más alto, próximo al eje de la copa en los árboles con posición suprimida (Figs. 4.1.7, 4.1.9 y 4.1.11, parte inferior izquierda). Este patrón sugirió que los estrechos tallos apicales de los árboles suprimidos, portan una gran cantidad de hojas en el espacio más limitado al cual tienen acceso.

El área, peso seco y número de hojas máximo, fue encontrado en *P. indica* en la capa horizontal que se encuentra a 88 % de su altura, en *L. azorica* de posición intermedia a 83 % y en el *L. azorica* de posición suprimida a diferentes alturas (Tabla 4.1.3). La relación peso seco-área foliar fue de 151 y 104 g m⁻² para los laureles de posición intermedia y suprimida respectivamente, y de 122 g m⁻² para *P. indica* de posición dominante.

El área foliar y el peso seco foliar total para *E. arborea* (DBH=12 cm) fue de 6.92 m² y 1.73 Kg de peso seco, respectivamente. La relación peso seco-área fue de 250 g m⁻². En general, podemos observar como la cantidad total de hojas fue significativamente menor en *E. arborea* respecto a las otras dos especies, pero la relación peso seco-área fue aproximadamente dos veces la observada para las especies de hoja ancha.

4.1.3.4. Relaciones alométricas

La cantidad de hojas se correlacionó con el diámetro basal del tallo o las ramas y se observó como el área foliar aumentó exponencialmente con el diámetro (Fig. 4.1.15). Si quisiéramos determinar la relación entre el área foliar y el diámetro con un error de 30, 20 y 10 % necesitaríamos 1, 2 y 5 tallos para *L. azorica*, mientras que para *P. indica*, debida a su mayor variabilidad, sería necesario 7, 15 y 60 tallos, respectivamente.

4.1.4. DISCUSIÓN

La parcela de estudio en Agua García puede ser considerada como una laurisilva más o menos densa, uniforme, productiva y con una edad media que oscila entre joven y media. Aunque los bosques de laurisilva en Tenerife difieren en las características estructurales, las especies que la componen y edad, el lugar de estudio en Agua García puede ser considerado como un tipo común de laurisilva.

Existen multitud de textos que hablan de la riqueza florística de esta vegetación, sin embargo, la información que existe en cuanto a su biomasa y su estructura es bastante escasa. Por ejemplo, Bramwell & Bramwell (1990) indicaron que *M. faya* es una especie con características de arbusto o de pequeño árbol que alcanza una altura de 10 m. Sin

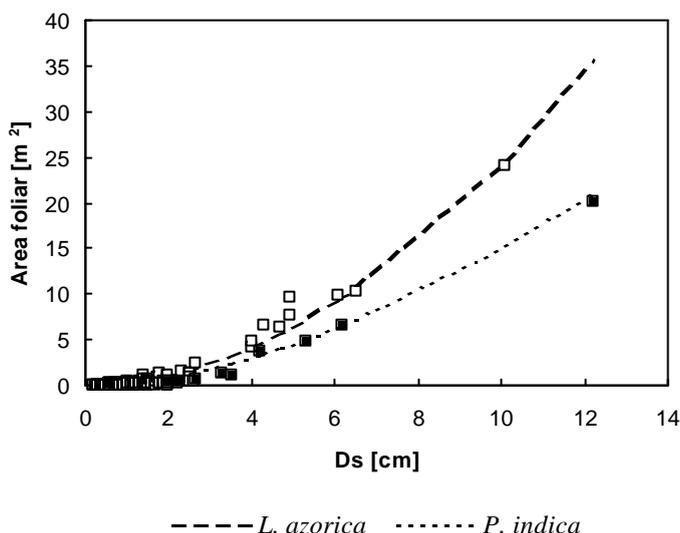


Fig. 4.1.15. Relaciones alométricas de árboles de *L. azorica* y *P. indica*. La gráfica representa el área foliar frente al diámetro de la rama en la parte basal (D_s). Los dos puntos de diámetro máximo corresponden al diámetro a la altura del pecho del árbol (DBH= D_s). Las ecuaciones que se obtienen son para *L. azorica*, $y = 0.286 \times D_s^{1.93}$, $r^2 = 0.97$, SE = 0.47; y para *P. indica*, $y = 0.290 \times D_s^{1.71}$, $r^2 = 0.94$, SE = 0.64; donde y es el área foliar y r^2 el coeficiente de regresión.

embargo, en nuestro sitio de estudio hemos podido encontrar ejemplares de *M. faya* y de *L. azorica* que alcanzan 17.4 m. Esto también fue observado por Kunkel (1991) quien dijo que la *M. faya* puede alcanzar alturas considerables, de hasta más de 20 m.

Los bosques de laurisilva en las Islas Canarias son similares en muchos aspectos a los bosques de hoja ancha y siempreverdes de las zonas subtropicales del este de Asia y de otras regiones. Así, Kira & Shidei (1967) observaron, en un bosque de robles siempreverdes en Japón, una concentración de biomasa de aproximadamente 1.0-1.3 kg m⁻³, valor similar al que nosotros encontramos en nuestra parcela de estudio en Agua García. Kawanabe (1977), estudiando un bosque subtropical en Okinawa (Japón), encontró un valor de biomasa aérea de 193 ton ha⁻¹, el cual difiere sólo en un 5 % del que se obtuvo en Agua García. Este autor también destacó que el rango de biomasa aérea obtenido con diferentes tipos de bosques de hoja ancha y siempreverdes en Japón, oscilaba entre 157 y 323 ton ha⁻¹.

La estructura de las copas de todas las especies estudiadas, se correspondieron al modelo de Rauhs (Hallé *et al.* 1978). Este modelo ha sido utilizado con éxito en especies leñosas que crecen en regiones templadas, subtropicales y tropicales. Este tipo de modelo asume dos premisas. Primero, el sistema de los tallos es simple, muy adaptable, y no está especializado. Segundo, todos los meristemos son iguales y rítmicos y como consecuencia estos meristemos son capaces de responder a gradientes de luz y a posibles daños.

El patrón vertical de la distribución foliar de *L. azorica* y *P. indica* nos mostró la arquitectura de la copa y observamos que fue similar a la de otras especies de hoja ancha que crecen en doseles bastantes cerrados (Vyskot 1976; Baldocchi *et al.* 1986; Cermák 1989). La altura total de los árboles, realmente tiene escasa influencia en el tamaño y la estructura de la corona, la principal influencia sobre ésta última la ejercen la presencia y el tamaño de sus competidores. Así, copas grandes en forma de paraguas abierto es característico de árboles dominantes de especies de hoja ancha en bosques tropicales y templados, mientras que copas estrechas e irregulares son característicos de árboles suprimidos o moribundos (Assmann 1968; Hallé *et al.* 1978). El desarrollo de tallos ortotrópicos con una alta densidad de hojas en árboles suprimidos, les capacita para sobrevivir un mayor tiempo en condiciones de umbría. El patrón de distribución foliar vertical de la copa de los árboles, nos ayuda a interpretar los procesos fisiológicos del árbol y las interacciones de competencia entre los árboles.

El patrón de distribución de área foliar radial, puede ayudarnos a interpretar los datos obtenidos por control remoto, relacionando las densidades foliares o procesos fisiológicos asociados con su correspondiente imagen (Balek *et al.* 1985). La distribución foliar radial también puede estar relacionada con la distribución radial de las raíces (Atger & Edelin 1994) y a menudo, esta relación puede corresponder con patrones de interceptación del agua de lluvia, de la lluvia que llega al suelo a través de las hojas (“throughfall”) y de la que escurre por los troncos (“stemflow”) (Cermák *et al.* 1993).

El índice de área foliar (LAI) es una de las principales características que definen la estructura de un bosque. La medida de este índice con el LAI-2000, en el estudio de plantas de cultivo, ha proporcionado una buena estimación del LAI, sin embargo, éste ha sido frecuentemente subestimado en bosques maduros (Chason *et al.* 1991). Aunque parte de este error puede ser debido a que las medidas fueran hechas en días nublados o luminosos, por lo general esto se explica debido a la naturaleza determinada y compacta del follaje de los árboles del bosque (Stenberg *et al.* 1995). Chason *et al.* (1991) encontraron que era

necesario un factor de 1.86 para convertir las medidas realizadas con el LI-2000 a los valores actuales del LAI medidos en un bosque de "oak hickory". Gower & Norman (1991) utilizaron un factor de 1.48 y 1.67 en bosques de *Larix decidua* y *Picea abies*, respectivamente. En nuestro estudio, en laurisilva canaria en Agua García, hemos encontrado un factor de 1.59.

El valor de LAI de 7.8 encontrado en nuestra parcela de estudio, refleja un follaje muy denso, lo cual es apoyado por los valores tan bajos de fracción de cielo visible a través del dosel obtenidos (1.1 %). El LAI obtenido está dentro del rango (5.4-9.7) encontrado para bosques de hoja ancha y siempreverdes de Japón (Kawanabe 1977; Tadaki 1977), es casi el mismo (8.0) que se obtuvo en un bosque lluvioso virgen de tierras bajas en Malasia (Yoda 1974; Kato *et al.* 1974), y es muy similar (7.4) a un bosque siempreverde estacional virgen en Koh Kong, Khmer (Hozumi *et al.* 1969). Hollinger (1989) encontró un valor de 6.7 en un bosque de montaña siempreverde de hojas ancha en Nueva Zelanda. Los valores de LAI obtenidos en bosques caducos suelen ser más bajos, entre 3 y 6 (Miller 1967; Ford & Newbould 1971; Miller & Lin 1985; Hutchison *et al.* 1986), mientras que en bosques de coníferas siempreverdes estos suelen ser iguales o más altos (Waring 1983).

La biomasa foliar de la parcela de estudio de Agua García fue de 11.3 ton ha⁻¹, lo que representa un 5.5 % de la biomasa aérea. Este valor se encuentra dentro del rango (6.3-12.6 ton ha⁻¹) dado para bosques siempreverdes de hojas anchas de Japón (Kawanabe 1977; Tadaki 1977). Tadaki & Shidei (1963) atribuyeron la menor biomasa foliar detectada en los bosques caducos (alrededor de 3 ton ha⁻¹) a la longevidad de las hojas. El área basal representó el 0.043 % del área foliar y cada metro cuadrado de área foliar representó 2.6 Kg de peso seco de biomasa y un volumen arbóreo de 3 l. Estos datos también se encuentran dentro del rango (0.02-0.10 % y 2.5-4.5 Kg de peso seco) dado por Kawanabe (1977).

La distribución vertical del área foliar del bosque de Agua García indicó que las hojas se encuentran principalmente concentradas en una capa relativamente delgada de 5.5 m de grosor, con una densidad de 1.4 m² m⁻³. Por debajo de los 8 m, el número de hojas fue insignificante. Esto es típico de cubiertas vegetales muy densas y su descripción es muy importante para el conocimiento de los procesos de fotosíntesis y de transpiración que tienen lugar en el dosel vegetal, así como para el conocimiento de la interceptación de la lluvia en los bosques.

Las relaciones alométricas son una herramienta muy útil cuando no se quiere, o no se puede, utilizar técnicas destructivas. El diámetro en la base del tronco o rama se puede utilizar para estimar la cantidad de hojas, sin embargo, existe una mejor relación cuando se aplica el diámetro en el inicio de la parte verde, e incluso el área del xilema funcional para el transporte de savia ("sapwood") (Kaufmann & Troendle 1981; Marchand 1983; Whitehead *et al.* 1984). Dado que en las especies de estudio el área de xilema funcional no se diferencia claramente (Schweingruber 1990) y la medida de su diámetro, en la base de la parte verde, es prácticamente imposible, hemos intentado encontrar relaciones a partir de los diámetros en la base del tronco.

Para *L. azorica* el diámetro basal explicó el 97 % de la variación del área foliar, indicando una buena estimación del área foliar. Sin embargo, las ramas de *P. indica* mostraron una mayor variación, que puede ser debido a la presencia de tallos jóvenes en el

tronco principal, por debajo de la copa (ver Fig. 4.1.7). Estos tallos crecen de forma vertical y su morfología difiere de los tallos que se encuentran dentro de la corona.

4.1.5. CONCLUSIONES¹

Basándonos en el número de árboles, la parcela de estudio se encuentra compuesta principalmente por *L. azorica* (38 %) seguida por *E. arborea* (27 %), *M. faya* (17 %), *P. indica* (14 %) e *I. canariensis* e *I. platyphylla* (4 %). Atendiendo al área basal, *M. faya* representa la especie con mayor proporción (39 %), seguida por *L. azorica* (26 %), *E. arborea* (20 %), *P. indica* (14 %) y las dos especies de *Ilex* (2 %).

El diámetro de los árboles, medido a la altura del pecho, osciló entre 4 y 46 cm. El mayor número de árboles se encontraban en la clase de 14 cm de diámetro, mientras que la clase de 16 cm de diámetro tenía la mayor área basal.

El estudio de las alturas mostró que *M. faya* y *L. azorica* son principalmente los árboles más altos, y *P. indica* presenta una altura menor, seguido de las dos especies de *Ilex* y *E. arborea*, que son los árboles más bajos.

La distribución vertical del área foliar del bosque de Agua García indicó que las hojas se encuentran, principalmente concentradas en una capa relativamente delgada de 5.5 m de grosor, con una densidad de $1.4 \text{ m}^2 \text{ m}^{-3}$.

El índice del área foliar de la parcela de estudio calculado según análisis destructivos fue de 7.8 con un error estándar de 15 % (oscilando entre 6.6 y 9). Sin embargo, la estima realizada con el LAI 2000 nos dio un índice de área por planta (PAI) de 5.5 (error estándar 0.05). El factor entre el LAI obtenido por análisis destructivos y por medidas con el LAI 2000 fue de 1.59. El cálculo del índice de área foliar acumulativo por especie, mostró que *M. faya* es responsable de casi la mitad del valor total, seguida de *L. azorica*, *P. indica*, *E. arborea* y las dos especies de *Ilex*.

¹ Los resultados de este apartado han sido publicados en Morales *et al.* (1996 b; c).

4.2. CARACTERÍSTICAS FOLIARES A LO LARGO DEL PERFIL VERTICAL

4.2.1. INTRODUCCIÓN

La estructura del dosel vegetal de los bosques es el resultado de interacciones y reacciones entre la vegetación y el medio ambiente que le rodea (Campbell & Norman 1989). Las hojas responden a las condiciones de crecimiento de una forma plástica. Así, las características morfológicas y fisiológicas de las hojas varían en función de la profundidad dentro del dosel vegetal como resultado de variaciones microclimáticas, principalmente la reducción de la luz. El conocimiento de estas variaciones a lo largo del tiempo y del espacio son necesarias para cualquier tipo de investigación, desde los estudios de componentes intracelulares hasta los estudios de procesos fisiológicos de todo el dosel vegetal (Jurik 1986).

En este apartado estudiaremos algunas características morfológicas y funcionales de las hojas de *Laurus azorica*, *Persea indica* y *Myrica faya* a lo largo del perfil vertical, con el fin de relacionarlas con las medidas de fotosíntesis, para así tener un mayor conocimiento de las características generales de este bosque.

4.2.2. MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo en la parcela de estudio de Agua García, que fue descrita con detalle en el apartado anterior. Como ya se dijo anteriormente, el índice de área foliar (LAI) de la parcela de estudio es de 7.8, los árboles más altos alcanzaron una altura media de 17.4 m y las hojas se concentraron principalmente en una capa relativamente delgada del dosel, de 5.5 m de grosor, con una densidad de $1.4 \text{ m}^2 \text{ m}^{-3}$.

Una torre de madera de 20 m de altura situada en la parcela de estudio nos permitió acceder a las hojas, tomando muestras cada 0.5 m a lo largo de todo el dosel vegetal. Las hojas seleccionadas estaban totalmente desarrolladas y se encontraban en el primer año de vida. También se tomaron muestras a nivel del suelo (1 m) a partir de plántulas.

El área foliar fue medido utilizando un LI 3100 (LI-COR, Lincoln, USA); el grosor de las hojas fue medido entre los nervios principales en la parte central de la hoja con un micrómetro (Mitutoyo J15 b7502, Japón); el contenido en clorofila se midió a partir de extractos de acetona al 80 % en un espectrofotómetro (UV-160A Shimadzu, Japón) según el método de Arnon (1949). El potencial hídrico fue determinado al mediodía en hojas separadas del árbol utilizando una cámara de presión (PMS Instr. Co. USA); el peso específico foliar (SLW) fue calculado como la relación entre el peso seco de la hoja y el área foliar (g m^{-2}); y el contenido hídrico relativo (RWC) como la relación entre el contenido hídrico actual y el contenido hídrico a saturación, expresado en tanto por ciento. Todas las medidas fueron realizadas en días claros de invierno en donde la temperatura en lo

alto del dosel vegetal al mediodía osciló entre 16 y 18 °C, la humedad relativa entre 60 y 65 % y el máximo de radiación fotosintéticamente activa fue de 1600 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

4.2.3. RESULTADOS

Los valores medios de SLW disminuyeron a lo largo del dosel vegetal, así, los valores obtenidos en la parte inferior del dosel fueron de 35.6, 42.1 y 69.2 % con respecto a la parte superior del dosel en *M. faya*, *P. indica* y *L. azorica*, respectivamente. Los valores de SLW para las plántulas (1 m) fueron de 27.8, 40.6 y 61.8 % en la misma secuencia de especies nombradas (Fig. 4.2.1A).

El valor medio del grosor de la hoja varió enormemente a lo largo del dosel vegetal, principalmente en *M. faya*, en donde el valor máximo fue de 377 μm en la parte superior y el mínimo de 207 μm en la parte inferior, lo cual representa un 54.9 %. Estos valores fueron de 355 μm y 210 μm en *P. indica* (59.1 %) y de 355 μm y 271 μm en *L. azorica* (76.5 %). En las plántulas, el grosor medio foliar fue de 188, 201 y 241 μm en *M. faya*, *P. indica* y *L. azorica*, lo cual representa un 49.8, 56.6 y 67.9 % de los valores máximos, respectivamente (Fig. 4.2.1B).

El área foliar media alcanzó su valor máximo en la parte inferior del dosel vegetal (14.2, 58.6 y 28.6 cm^2 en *M. faya*, *P. indica* y *L. azorica*). Los valores en la parte superior del dosel fueron de 6.9, 25.4 y 10.3 cm^2 , lo cual representa un 48.6, 43.4 y 35.9 % de aquellos obtenidos en la parte inferior, respectivamente (Fig. 4.2.1C). En las plántulas los valores fueron de 25.1, 102.3 y 31.2 cm^2 (27.4, 24.9 y 32.1 %).

El contenido en clorofila por peso seco de hoja aumentó a lo largo del dosel vegetal; la clorofila b aumentó más con respecto a la clorofila a, descendiendo la relación clorofila a/b (Tabla 4.2.1). Cuando el contenido en clorofila fue expresado por unidad de área foliar, éste disminuyó a medida que descendíamos en el dosel vegetal.

Tabla 4.2.1. Variaciones en la relación de Chl a/b y contenido en Chl (a+b) por peso seco y área foliar a diferentes alturas a lo largo del dosel vegetal en *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya*. Entre paréntesis se muestra la desviación estándar.

		Clorofila a/b	Clorofila a+b (g Kg ⁻¹)	Clorofila a+b (g m ⁻²)
Parte superior (18-15 m)	<i>P. indica</i>	2.57 (0.07)	4.03 (0.71)	0.617 (0.16)
	<i>L. azorica</i>	2.75 (0.19)	4.45 (0.38)	0.621 (0.04)
	<i>M. faya</i>	2.10 (0.25)	4.97 (0.77)	0.661 (0.26)
Parte media (15-13 m)	<i>P. indica</i>	2.36 (0.08)	5.44 (1.00)	0.541 (0.60)
	<i>L. azorica</i>	2.66 (0.17)	5.02 (0.51)	0.626 (0.67)
	<i>M. faya</i>	1.98 (0.18)	6.66 (0.22)	0.553 (0.54)
Parte inferior (13-11 m)	<i>P. indica</i>	2.25 (0.20)	5.83 (0.92)	0.414 (0.28)
	<i>L. azorica</i>	2.43 (0.11)	5.13 (0.70)	0.559 (0.88)
	<i>M. faya</i>	2.08 (0.20)	6.87 (0.09)	0.290 (0.15)

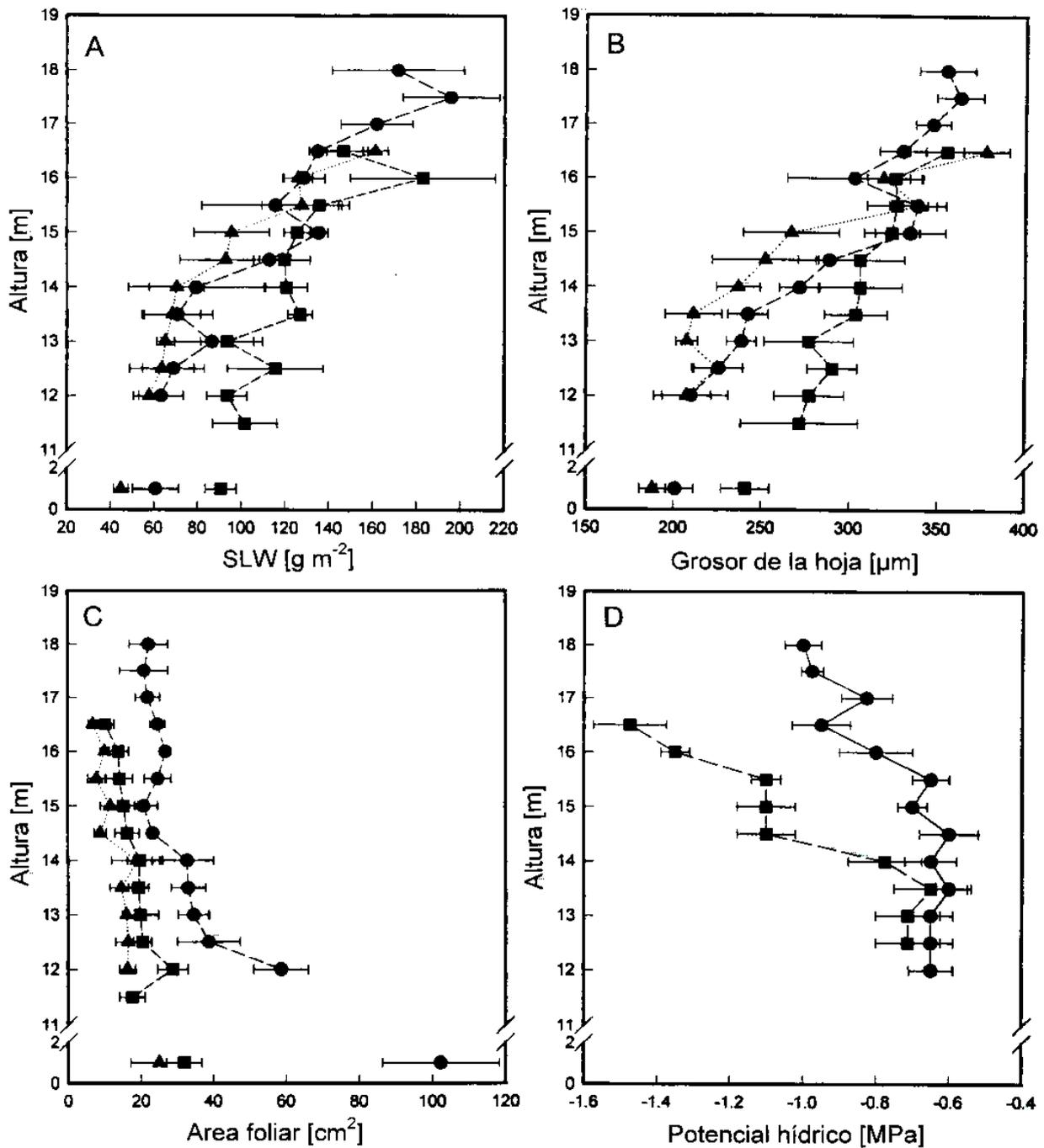


Fig. 4.2.1. Perfiles verticales de diferentes características foliares a lo largo del dosel vegetal en la parcela de estudio en Agua García. A) Peso específico foliar (SLW) en g m^{-2} , B) grosor de la hoja en μm , C) área foliar en cm^2 , y D) potencial hídrico de la hoja (medido al mediodía) en MPa, en función de la altura en la cubierta vegetal en ● *P. indica*, ■ *L. azorica* y ▲ *M. faya*. Cada punto representa el valor medio de 15 medidas (9 para el potencial hídrico) y su desviación standard. Todas las medidas se realizaron en invierno.

Los valores medios del potencial hídrico medido al mediodía mostraron que las hojas de sol, situadas en la parte superior del dosel vegetal, de *L. azorica* eran significativamente diferentes a los de *P. indica* (*L. azorica* mostró valores más negativos que *P. indica*, -1.5 y -1.0 MPa, respectivamente). En la parte inferior del dosel vegetal, donde las condiciones microclimáticas son más constantes, los valores para ambas especies son más similares, oscilando entre -0.6 y -0.8 MPa (Fig. 4.2.1D).

Los valores de RWC aumentaron a medida que descendíamos en el dosel vegetal, aunque esta variación no fue muy marcada, oscilando desde 92 hasta 98 %. Estos valores mostraron una buena correlación frente a los valores de potencial hídrico foliar (Fig. 4.2.2). Además también se observó una buena correlación entre el potencial hídrico y el grosor de la hoja (Fig. 4.2.3).

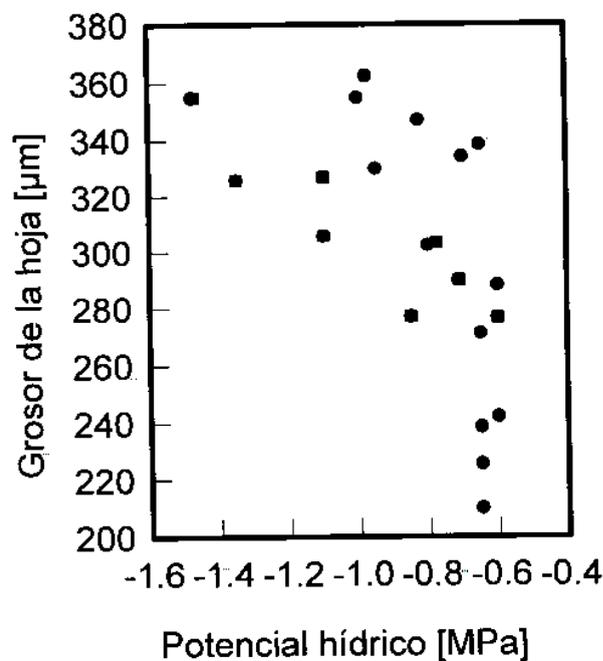
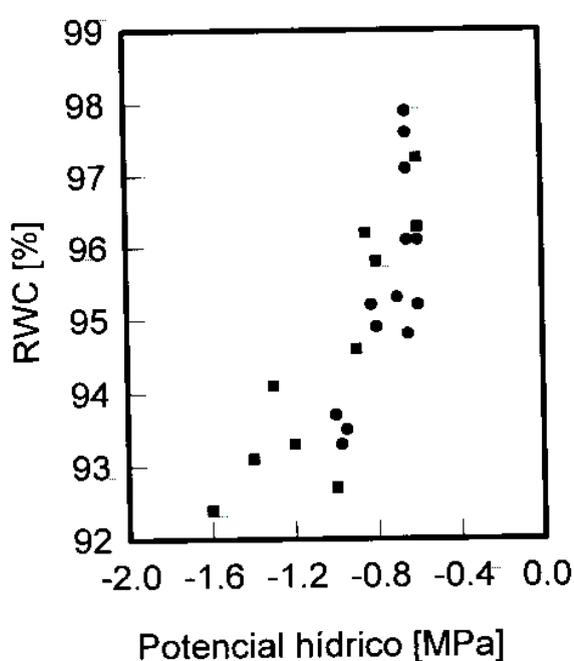


Fig. 4.2.2. Potencial hídrico foliar (WP) en función del contenido hídrico relativo (RWC) en ■ *L. azorica* y ● *P. indica*. Cada punto es el resultado de una medida individual. Las medidas se realizaron al mediodía. Ecuación de regresión: $RWC = 103.45 + 14.136*WP + 4.68*WP^2$, $r^2=0.69$, $p < 0.001$.

Fig. 4.2.3. Potencial hídrico de la hoja (MPa) en función del grosor foliar (μm) en ■ *L. azorica* y ● *P. indica*. Cada punto es el resultado de una medida individual. Las medidas se realizaron al mediodía. Ecuación de regresión: $RWC = 34.803 - 495.98*WP - 197.72*WP^2$, $r^2=0.46$, $p < 0.001$.

4.2.4. DISCUSIÓN

Los valores de SLW obtenidos no mostraron diferencias significativas en las tres especies estudiadas, sólo en la parte inferior del dosel las hojas de *L. azorica* mostraron valores significativamente más altos que las otras dos especies (Fig. 4.2.1A). Estos valores están en concordancia con los valores obtenidos por Medina & Klinge (1983) para bosques tropicales de montaña. Estos autores señalan que las especies siempreverdes poseen valores de SLW más altos que las especies caducas y que la mayor biomasa por unidad de área invertida en las primeras puede ser compensada por una mayor longevidad de sus hojas.

Los valores de SLW descendieron drásticamente a lo largo del dosel vegetal, mostrando un rango entre 210 y 50 g m⁻² (40 si incluimos el estrato de plántulas). El descenso en el peso seco foliar por unidad de área a lo largo del dosel vegetal, también ha sido encontrado por otros autores en otros tipos de bosques (Miller 1967; Kira *et al.* 1969; Coyne & van Cleve 1977; Schulze *et al.* 1977; Hutchison *et al.* 1986; Jurik 1986; Hollinger 1989) y esto ha sido interpretado como una forma de maximizar la fotosíntesis de todo el dosel (Gutschick & Wiegel 1988). Las especies tolerantes a la sombra presentan una gran variación en este parámetro (Ceulemans & Saugier 1991), así nuestros datos indican la gran tolerancia a la sombra de las especies estudiadas, esto es extremadamente importante en el ambiente nublado en el que viven. Aunque esta característica está influenciada por las condiciones de luz donde las hojas se desarrollan, también debemos considerar el factor genético y en este aspecto *L. azorica* sería la menos tolerante a la sombra.

La disminución en SLW, a medida que descendemos en el dosel vegetal, es debido a un descenso en el grosor de la hoja, y a un aumento en el área foliar. Se encontró una correlación positiva, en las tres especies estudiadas, entre el SLW y el grosor de la hoja (Fig. 4.2.4). Esta correlación ha sido descrita anteriormente en dos especies de *Persea* (Morales *et al.* 1992) y también en especies del Amazonia (Sobrado & Medina 1980), en hojas de sol y de sombra de *Quercus ilex* (Wagner *et al.* 1993) y en especies de alta y baja montaña (Körner *et al.* 1989). Sin embargo, Cavelier & Goldstein (1989) no encontraron esta correlación en especies arbóreas de bosques enanos nublados ("elfin cloud forest") ni tampoco Tanner & Kapos (1982) en árboles de los bosques nublados de alta montaña de

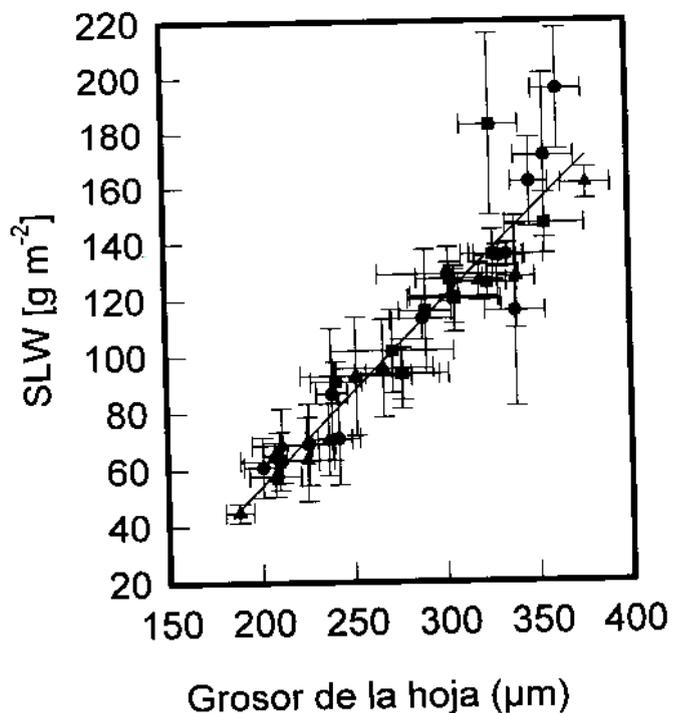


Fig. 4.2.4. El peso específico foliar (g m⁻²) en función del grosor de la hoja (µm). Los datos son tomados de la figura 1. ● *P. indica*, ■ *L. azorica* y ▲ *M. faya*. Ecuación de regresión: $SLW = -78.31 + 0.66 \text{ Grosor}$, $r^2=0.88$, $p<0.001$.

Jamaica. Cavellier & Goldstein (1989) atribuyeron esta falta de correlación a un aumento en los espacios aéreos y en el contenido en agua, más que a un aumento en el peso seco del tejido por unidad de área foliar.

El gran descenso en el grosor de la hoja de las tres especies estudiadas indica una gran plasticidad para adaptarse a cambios en las condiciones climáticas. Para poder cuantificar la variación del grosor como un indicador de la tolerancia a la sombra, Carpenter & Smith (1981) definieron el índice de plasticidad (relación entre la diferencia en el grosor de hojas de sol y de sombra y el grosor de las hojas de sol). Ellos encontraron en los bosques caducos de los Apalaches un valor máximo de 0.29. Si calculamos este índice utilizando los valores medios encontrados, tomando la parte superior del dosel vegetal, entre 15 y 18 m, como las hojas de sol y la parte inferior, entre 11 y 13 m, como las hojas de sombra, obtenemos un índice de plasticidad de 0.38, 0.34 y 0.17 para *M. faya*, *P. indica* y *L. azorica*, respectivamente. Una vez más se corrobora la alta tolerancia a la sombra para estas especies, siendo ligeramente más baja para *L. azorica*.

P. indica presentó el mayor valor de área foliar, y *M. faya* el menor. El área foliar en las tres especies aumentó a medida que descendíamos en el dosel, siendo el aumento mayor en *P. indica* que en las otras especies. Este fenómeno es bien conocido y ha sido registrado en diversos tipos de bosque (Hollinger 1989).

El contenido en clorofila presente en las tres especies estudiadas se encuentra en el rango característico de las plantas de sombra, así como la relación clorofila a/b (Boardman 1977; Lichtenthaler *et al.* 1981; Givnish 1988). El aumento en el contenido en clorofila total por peso seco de hoja (desde 4.03 hasta 6.87 g Kg⁻¹) y el descenso cuando se expresa en unidad de área foliar (0.62 hasta 0.29 g m⁻²), a través del dosel, son comparables a los encontrados por Lichtenthaler (1981; 1983) y Masarovicova & Stefancik (1990) en hojas de sol y de sombra de haya y en diferentes capas del dosel de un bosque de angiospermas (Elias & Masarovicova 1985). Esto hace que la maquinaria fotosintética se adapte mejor a las condiciones más sombrías de la parte inferior del dosel y el descenso general de clorofila total por unidad de área depende de la disminución del grosor de la hoja a través del dosel (Boardman 1977).

Los valores de RWC, durante los días de invierno en que se realizaron las medidas, fueron altos (oscilando entre 98 y 92 %) indicando con ello que los árboles no estaban sujetos a un déficit de saturación hídrica (sólo 2-8 %), con suficiente agua en el suelo. Debido a estas condiciones, el potencial hídrico obtenido no fue muy negativo, sin embargo, se encontraron claras diferencias entre las hojas de sol situadas en la parte superior del dosel para *L. azorica* y *P. indica*, tomando valores más negativos las hojas de *L. azorica*. En la parte inferior del dosel, sólo se encontraron pequeñas diferencias, debido a que las condiciones ambientales eran más uniformes, presentando valores entre -0.6 y -0.8 MPa (Fig. 4.2.1D). Encontramos una buena correlación entre el potencial hídrico foliar y el RWC, así como entre el potencial hídrico y el grosor de la hoja (Figs. 4.2.2 y 4.2.3).

Las enormes variaciones en las características morfológicas y el contenido de pigmentos a lo largo del dosel vegetal están relacionadas con la fuerte atenuación de la luz existente en este bosque, ya que sólo un 2 % de la radiación fotosintéticamente activa que incide llega al suelo (Aschan *et al.* 1994; 1997). Esto significa que, en días claros, las hojas de la parte superior del dosel están expuestas a niveles de radiación muy altos, mientras que las hojas de la parte inferior están expuestas a ambientes muy sombreados. Así, únicamente

aquellas especies que pueden modificar su morfología para adaptarse a estos cambios, son capaces de crecer en este bosque denso, equilibrando el fuerte contraste en la intensidad de luz con un efecto fotohomeostático (Larcher 1995).

La atenuación de la luz también está relacionada con el índice de área foliar acumulativa (LAI) (Cermák 1989; Jones 1992), como vimos en el apartado anterior nuestra parcela de estudio en Agua García presentó un LAI de 7.8. Si comparamos los valores de SLW en función del LAI total por encima de la hoja, podemos observar que el peso específico foliar desciende a medida que aumenta el LAI acumulativo y que la ecuación de regresión resultante es altamente significativa (Fig. 4.2.5).

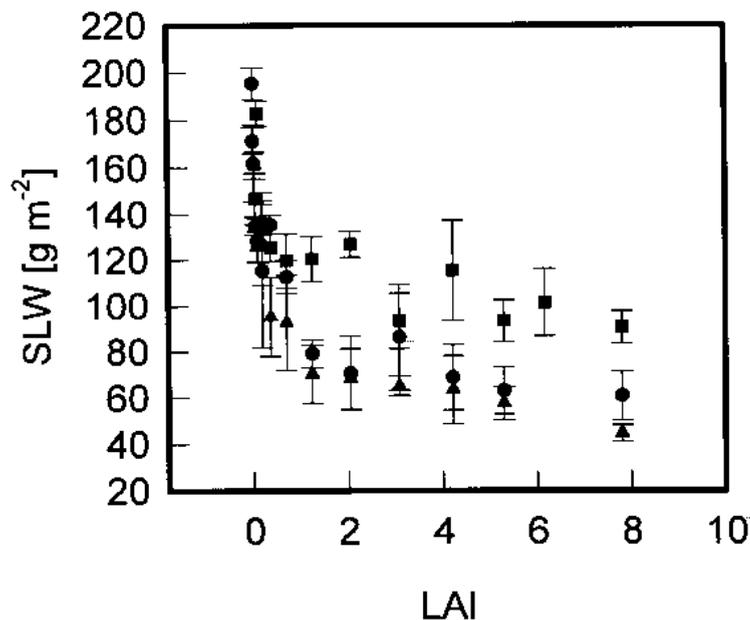


Fig. 4.2.5. Peso específico foliar (SLW) de *P. indica*, *L. azorica* y *M. faya* frente al índice de área foliar total (LAI) por encima de la hoja. Ecuación de regresión: $SLW = a * LAI^b$;
 $a=93.76$, $b=-0.118$ para *P. indica*,
 $a=119.75$, $b=-0.1015$ para *L. azorica*,
 $a=80.484$, $b=-0.218$ para *M. faya*,
 $p < 0.001$ para todas las especies.

4.2.5. CONCLUSIONES²

Las hojas de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* cambian sus características morfológicas de acuerdo con los cambios en las condiciones microclimáticas del denso dosel vegetal donde se desarrollan, mostrando una gran plasticidad.

Las hojas de sol de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* poseen un área foliar más pequeña, un menor contenido hídrico, mayor relación clorofila a/b y son más gruesas que las hojas de sombra.

Las hojas de sol presentan un mayor contenido en clorofila que las hojas de sombra en función del área foliar, si se refiere por peso seco foliar, son las hojas de sombra las que presentan valores más altos.

El contenido en clorofila presente en las tres especies estudiadas se encuentra en el rango característico de las plantas de sombra, así como la relación clorofila a/b.

Aunque muchas de las tendencias encontradas en este estudio parecen ser características generales de los bosques, es importante saber que la laurisilva canaria sigue el patrón general. Además esta gradación en las características de las hojas, nos llevó a realizar las medidas de fotosíntesis en dos categorías de hojas: hojas de sol y hojas de sombra.

² Los resultados de este apartado han sido publicados en Morales *et al.* (1996a).

4.3. INTERCAMBIO GASEOSO EN CONDICIONES NATURALES

4.3.1. INTRODUCCIÓN

A pesar de que en los últimos tiempos se ha producido un gran avance en el conocimiento de los procesos fotosintéticos a nivel de cloroplasto, bioquímico y molecular, y una detallada caracterización del intercambio gaseoso bajo condiciones controladas, el conocimiento de la capacidad fotosintética y el funcionamiento de las hojas en condiciones naturales es todavía muy elemental. Esto es debido principalmente a la enorme variabilidad que nos encontramos en las medidas realizadas en condiciones naturales. Es extremadamente difícil saber si las diferencias obtenidas en el campo son efecto de errores en la medida, si reflejan simples diferencias en el comportamiento de las hojas, o si reflejan una variabilidad dinámica o un control de los procesos globales fotosintéticos (Cheeseman *et al.* 1991). Cualquier aporte que se haga a este respecto será de enorme valor y contribuirá de forma sustancial a su mejor conocimiento.

El objetivo principal de este capítulo es el análisis detallado del intercambio gaseoso en condiciones naturales de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya*, que nos permita determinar el potencial fotosintético *in situ* de estas especies, para ello, analizamos el intercambio gaseoso a lo largo del día en relación con las condiciones ambientales, estudiamos la respuesta de la fotosíntesis neta a la luz, temperatura y a la conductancia estomática, determinamos el porcentaje de reducción de la capacidad fotosintética potencial a lo largo del año e intentamos conocer las bases y la importancia fisiológica de esta reducción. Además, analizamos el control de las interacciones ambientales y fisiológicas con el control bioquímico mediante la relación entre la fotosíntesis neta y la concentración de CO₂ intercelular. Por último, extrapolamos los datos obtenidos a nivel de hoja hasta nivel de parcela, con el fin de obtener una aproximación de la fotosíntesis global que se desarrolla en el bosque de laurisilva.

4.3.2. MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo en hojas desarrolladas del primer año de vida, de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya*, situadas en la parte superior de la cubierta vegetal (hojas de sol) y en la parte inferior (hojas de sombra), en la parcela de estudio descrita en detalle en el apartado anterior. El acceso a las hojas fue posible gracias a una torre de madera de 20 m de altura construida dentro de la parcela.

Las medidas de intercambio gaseoso se realizaron con un analizador de gases por infrarrojo (IRGA), descrito en detalle en el apartado de material y métodos. A lo largo del día, aproximadamente cada hora, desde el amanecer hasta el atardecer, se realizaron ciclos diarios en tres hojas diferentes de cada una de las especies. Esto, a su vez, se llevó a cabo a

lo largo de todo un año (julio de 1994 hasta junio de 1995), siempre que las condiciones climáticas nos lo permitieron, generalmente cada 15 días.

Además, en cada día de medida, se tomaron muestras de suelo dentro de la parcela de estudio a diferentes niveles, con el fin de conocer el contenido hídrico del suelo. Para ello se recogieron muestras a nivel de la superficie, así como a 5 y 10 cms de profundidad, se depositaron en bolsas de plástico herméticamente cerradas y se transportaron inmediatamente al laboratorio en donde fueron pesadas para conocer el peso fresco actual. Posteriormente, se introdujeron en una estufa a 100 °C durante varios días para obtener el peso seco. El contenido hídrico del suelo fue expresado en tanto por ciento de peso seco.

El análisis de las medidas de intercambio gaseoso se hizo primero de una manera global incluyendo todas las medidas realizadas. A partir de este análisis, se obtuvieron las primeras aproximaciones de los rangos óptimos de acción de diferentes parámetros (temperatura foliar, conductancia estomática) y posteriormente, se optimizaron las diferentes respuestas. Así, la curva de respuesta de la Pn a la luz se ajustó a una hipérbola compleja, no rectangular (Ecuación 1):

$$Pn = ((\phi * PPF D + Pn_{max} - ((\phi * PPF D + Pn_{max})^2 - 4 * \phi * Pn_{max})^{1/2}) / 2 * \theta) - Rd$$

donde Pn_{max} es la tasa de fotosíntesis a luz saturante, ϕ es el rendimiento cuántico aparente (en base a los fotones incidentes), θ es el factor de curvatura el cual puede variar entre 0 y 1, y Rd es la respiración de oscuridad.

4.3.3. RESULTADOS

4.3.3.1. Condiciones climáticas

4.3.3.1.1. *Condiciones climáticas del sitio de estudio*

Una primera aproximación de las características climáticas del sitio de estudio fue realizada por García-Gallo & Wildpret de la Torre (1990) mediante el diagrama ombrotérmico de Gaussen, a partir de los datos recogidos en la estación meteorológica situada en la casa forestal próxima a nuestra parcela de estudio (a 550 m aproximadamente), durante los años comprendidos entre 1968 y 1976.

En la actualidad hemos podido obtener los datos meteorológicos de esta misma estación hasta 1996, gracias a lo cual hemos representado el climodiagrama de Walter-Lieth (Walter & Lieth 1960) mostrado en la Fig. 4.3.1, para los años comprendidos entre 1967 y 1997. En el diagrama se representa la tendencia media de un año o, lo que es lo mismo, un año ideal calculado obteniendo las medias de todos los valores homólogos adquiridos por las mismas magnitudes durante n años de observación. En nuestro caso, para el estudio de la temperatura se tienen datos desde 1969 hasta 1996, de los que se tiene un registro completo de 16 años, y para el estudio de la precipitación se tienen datos desde 1967 hasta 1997, en los que se tiene el registro completo de 23 años.

En el eje de abscisas, se representan los meses y en el eje de ordenadas, una división significa 10°C de temperatura o 20 mm de precipitación. En el exterior del eje de ordenadas principal se muestra, de arriba a abajo, la temperatura máxima registrada, la temperatura máxima diaria media del mes más caluroso, la oscilación térmica diaria media, la temperatura mínima diaria media del mes más frío y la temperatura mínima registrada. Sobre el gráfico, de izquierda a derecha, se muestra la localidad, la altura sobre el nivel del mar, la temperatura media anual y la precipitación media anual, debajo entre paréntesis se muestra el número de años de observación de la temperatura y la precipitación.

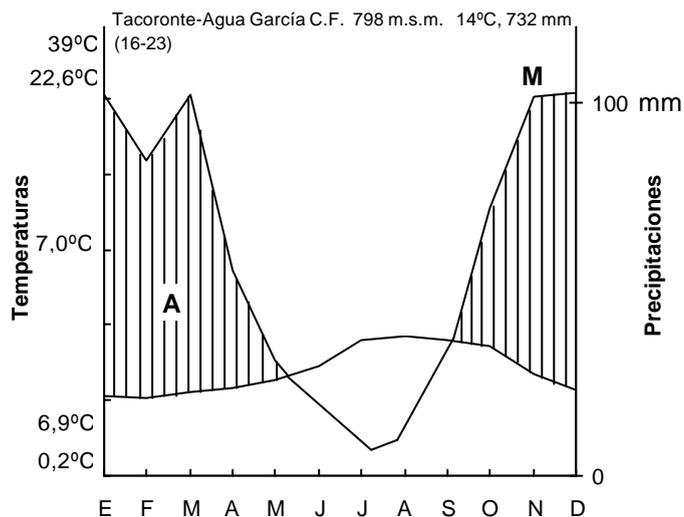


Fig. 4.3.1. Climodiagrama de Walter-Lieth para la estación meteorológica de Tacoronte, Agua García.

muestra el número de años de observación de la temperatura y la precipitación.

La temperatura media y la precipitación anual fue de 14 °C y 732 mm, respectivamente. La temperatura media máxima del mes más cálido fue de 22.6 °C siendo la máxima absoluta registrada de 39 °C. La temperatura media mínima del mes más frío fue de 6.9 °C, siendo la mínima absoluta registrada de 0.2 °C. La oscilación diaria media de la temperatura fue de 7 °C. En la zona punteada en la Fig. 4.3.1, se representa el área seca (S), que en nuestro caso abarca desde mayo hasta septiembre, en la zona rayada

se representa el área húmeda (A) y en la zona negra (M) se simboliza la parte del área húmeda en que las precipitaciones son superiores a 100 mm (a partir de 100 mm, la escala de precipitaciones se reduce en la proporción 1/10).

El análisis de los datos climáticos, mostró que el coeficiente de variación de la temperatura media de los meses intraanual es aproximadamente de un 14 %, mientras que para la precipitación es de un 91.2 %. Esto hace que la temperatura sea un parámetro más representativo para la caracterización de la estacionalidad del sitio de estudio, que la precipitación.

4.3.3.1.2. Condiciones climáticas del año de estudio

Las características climáticas generales del año de estudio (julio de 1994-junio de 1995) se resumen en las Figs. 4.3.2 y 4.3.3. La precipitación registrada en el curso anual de medida fue de 396.5 mm, que equivale a un 54% de la precipitación media típica para el lugar de estudio, lo cual refleja que fue un curso anual bastante seco. A lo largo del año de medida se observa que el período con mayores precipitaciones fue del 26 de febrero hasta el 15 de marzo, en donde se registraron 132 mm, lo que supone un 33 % de la precipitación total. El día con mayor precipitación se registró el 29 de octubre con un valor de 41 mm (Fig. 4.3.2).

La temperatura media fue de 14.4 °C, siendo el valor medio de las máximas de 17.7 °C y el de las mínimas de 11.6 °C. En julio de 1994 se registró la temperatura más alta (32 °C) y la humedad relativa más baja (17 %), lo cual se refleja en valores de déficit de presión parcial de vapor (VPD) de casi 4 KPa. Esto se debe a días con influencia del aire sahariano. El resto del año la humedad relativa estuvo por encima del 90% la mayoría de los días. El período comprendido entre finales de noviembre y principios de febrero registró una baja humedad relativa. La integración de la densidad de flujo fotónico fotosintético (PPFD) diaria mostró claramente como en los meses de invierno la radiación total era menor, ya que los días son más cortos (Fig. 4.3.3).

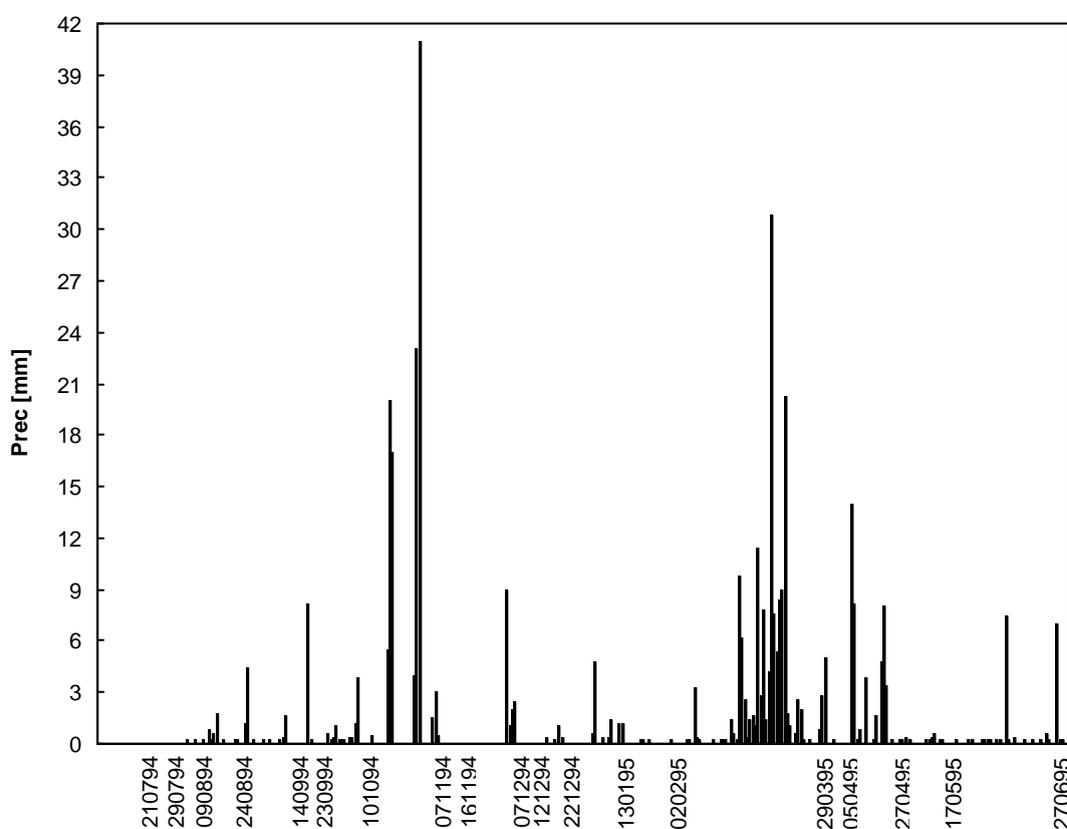


Fig. 4.3.2. Datos de precipitación a lo largo del periodo de estudio en la parcela de investigación en Agua García (julio 94-junio 95). En el eje de abscisas se muestran los días en los que se llevaron a cabo las medidas de intercambio gaseoso.

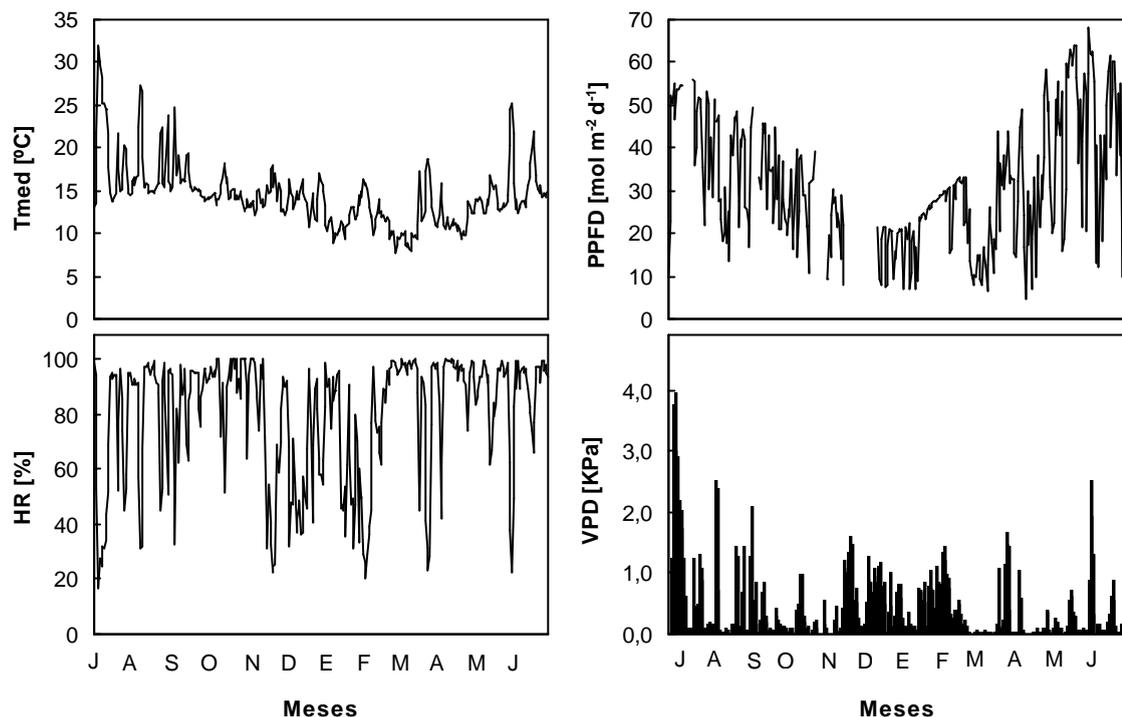


Fig. 4.3.3. Características climáticas del periodo de estudio realizado en la parcela de investigación en Agua García (julio 94-junio 95). Temperatura media diaria, T_{med} ($^{\circ}\text{C}$), densidad de flujo fotónico fotosintético diario, PPFD ($\text{mmol m}^{-2} \text{d}^{-1}$), humedad relativa media diaria (%) y déficit de presión parcial de vapor medio diario, VPD (KPa).

4.3.3.1.3. *Condiciones climáticas de los días de estudio*

Las condiciones climáticas de cada día de medida registradas con la estación meteorológica situada en la parte superior del dosel vegetal, se reflejan en las figuras 4.3.4-22. La mayoría de los días fueron días totalmente despejados con una alta luminosidad, incluso en invierno, en donde se registraron días claros sin nubosidad alguna, aunque eso sí, con temperaturas medias más bajas y altos valores de humedad relativa. En la estación seca (verano) se registraron días con fuerte radiación y temperaturas elevadas, que en la mayoría de los casos se correspondieron con altos valores de VPD. Esto era característico de días con influencia sahariana, comúnmente conocido como tiempo sur.

Las temperaturas medias oscilaron entre 15-20 $^{\circ}\text{C}$, registrándose los valores más altos el 24 de agosto de 1994, con una temperatura media de 23 $^{\circ}\text{C}$ y los valores más bajos el 13 de enero de 1995 con una temperatura media de 11 $^{\circ}\text{C}$. Estas fechas se correspondieron con valores de VPD alto (valor medio del día, alrededor de 1.5 KPa) y bajo (valor medio del día inferior a 0.5 KPa), respectivamente.

Aunque se muestran los días en donde se realizaron medidas completas de cursos diarios, también se realizaron salidas de campo que fueron infructuosas debido a la condiciones climáticas adversas o a problemas técnicos en los aparatos de medida.

El contenido hídrico del suelo (CH) a diferentes profundidades en los diferentes días de medida se muestra en la Fig. 4.3.23. En los meses de junio, julio, agosto y septiembre se observa como el CH medio del suelo a las diferentes profundidades registra

los valores más bajos (por debajo del 30 %), debido a la escasez de lluvia en este período y al aumento de la temperatura y la radiación, además de una bajada en los valores de humedad relativa, siendo las capas más profundas las que presentan mayor contenido en agua. Los valores de CH del suelo más altos se registraron en el mes de noviembre y principios de diciembre, y en el período marzo, abril y mayo, épocas en donde se registraron las mayores lluvias. Desde finales de diciembre hasta febrero, el CH disminuyó relativamente, esto fue debido a la ausencia de lluvias en este período (30-35 %).

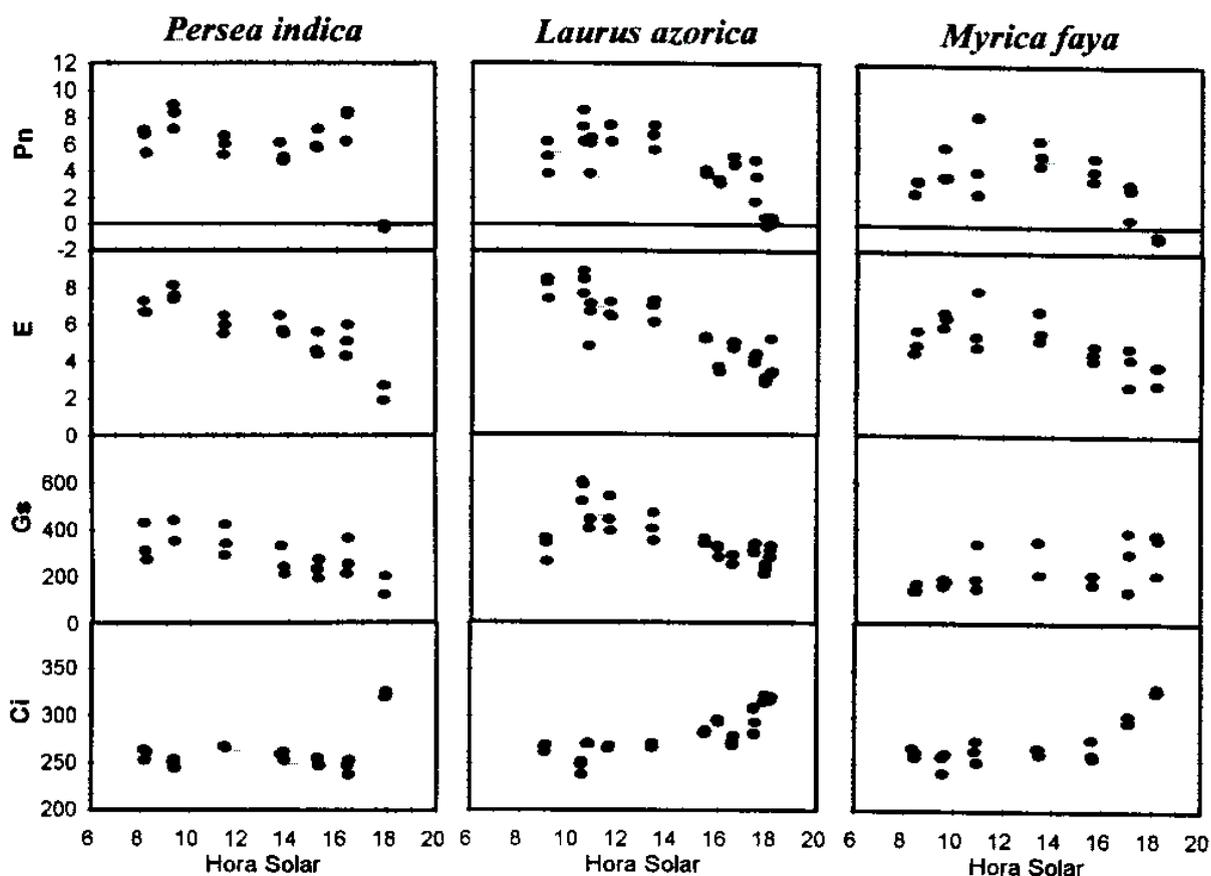
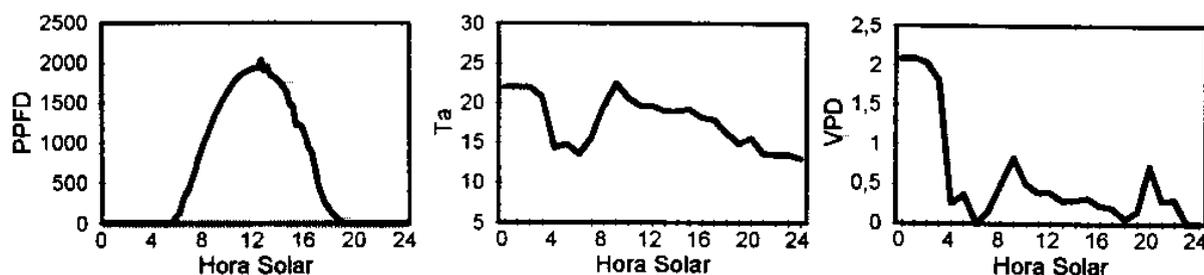


Fig. 4.3.4. Ciclos diarios de factores meteorológicos e intercambio gaseoso en hojas de sol de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* el 21 de julio de 1994. En la parte superior se muestran la densidad de flujo fotónico fotosintético, PPFD ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la temperatura del aire, T_a ($^{\circ}\text{C}$), y el déficit de presión parcial de vapor, VPD (KPa). En la parte inferior se muestran la fotosíntesis neta, P_n ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la transpiración, E ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la conductancia estomática, G_s ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y la concentración interna de CO_2 , C_i (ppm).

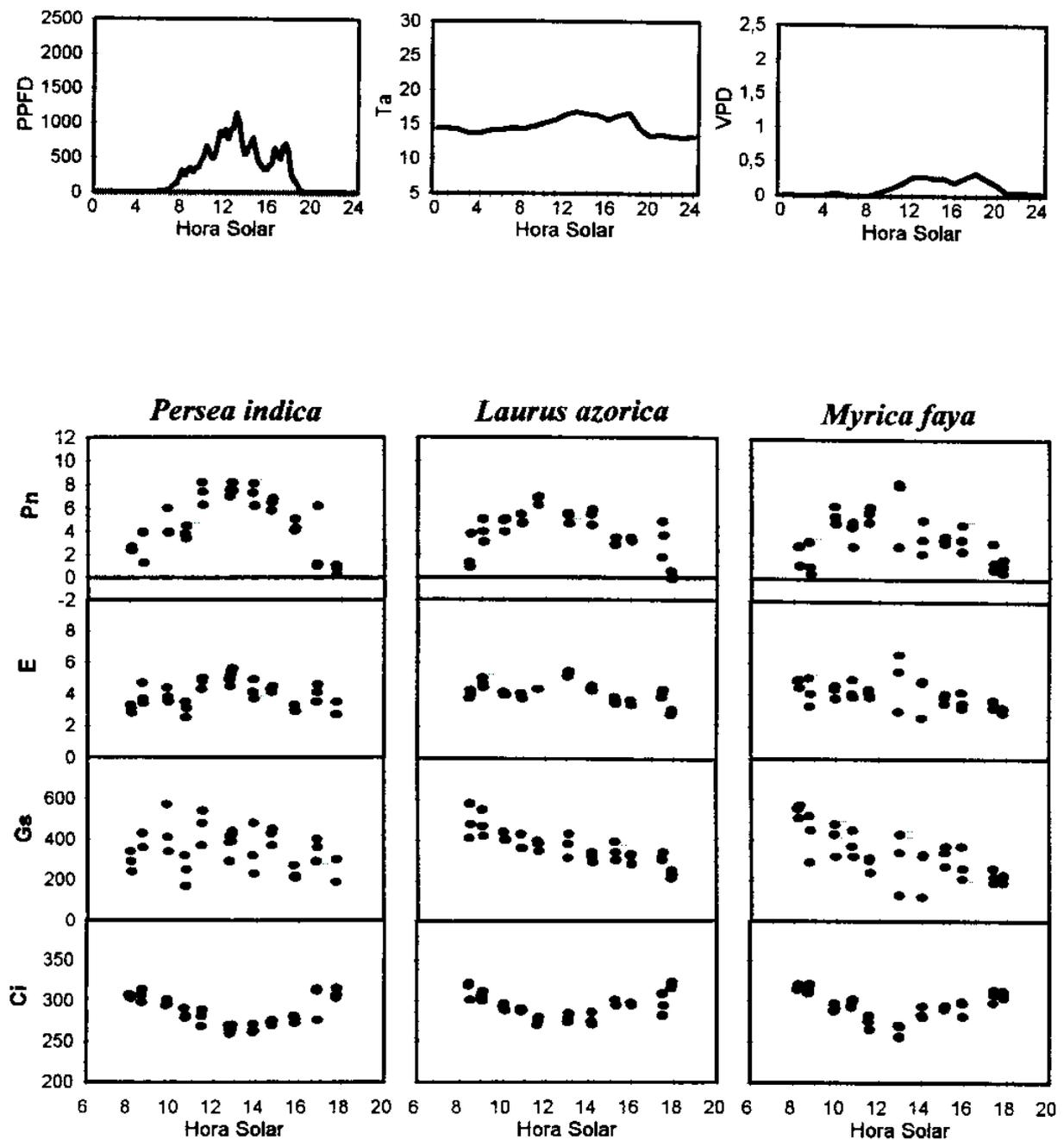


Fig. 4.3.5. Ciclos diarios de factores meteorológicos e intercambio gaseoso en hojas de sol de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* el 29 de julio de 1994. En la parte superior se muestran la densidad de flujo fotónico fotosintético, PPFD ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la temperatura del aire, T_a ($^{\circ}\text{C}$), y el déficit de presión parcial de vapor, VPD (KPa). En la parte inferior se muestran la fotosíntesis neta, P_n ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la transpiración, E ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la conductancia estomática, G_s ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y la concentración interna de CO_2 , C_i (ppm).

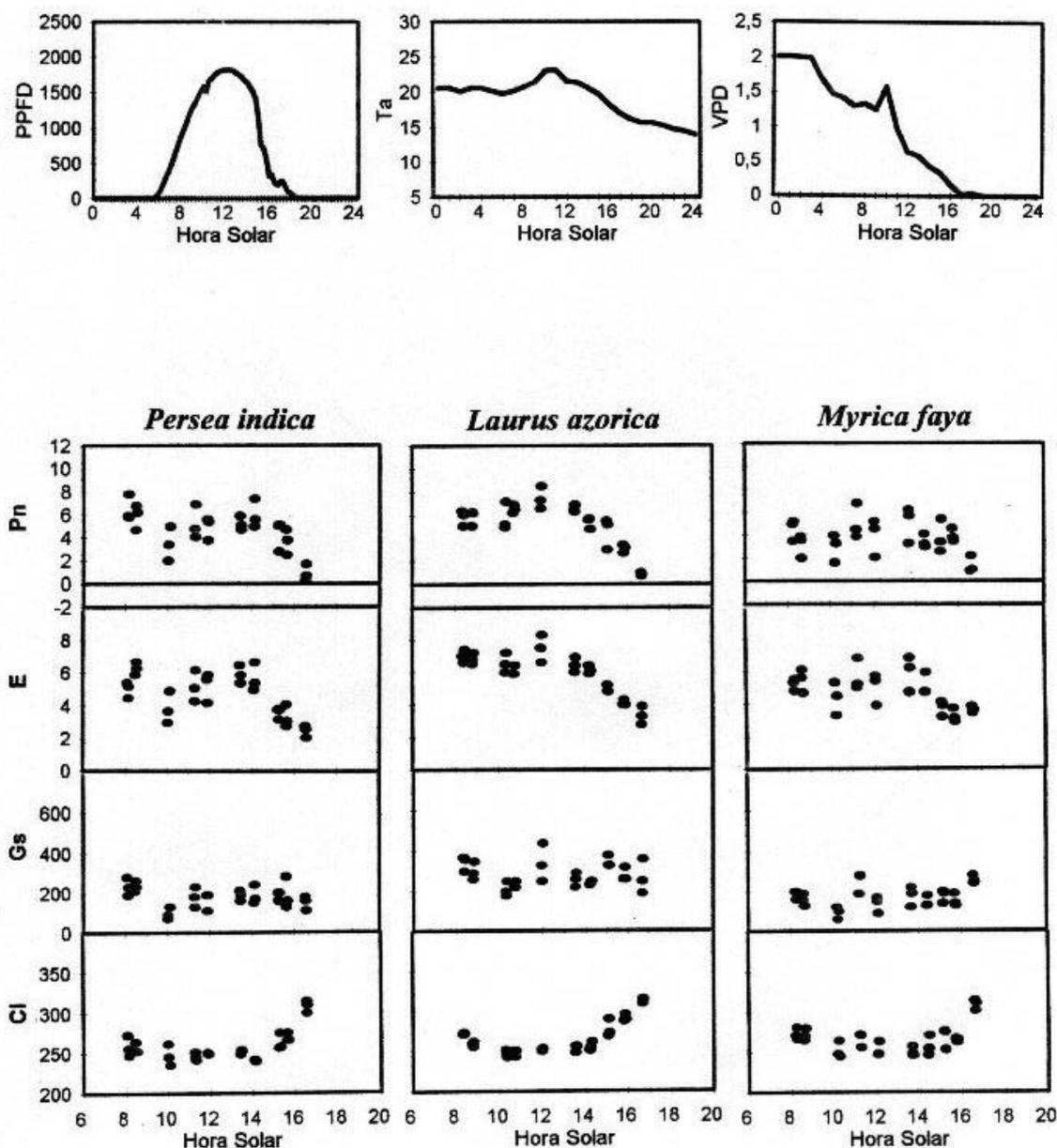


Fig. 4.3.6. Ciclos diarios de factores meteorológicos e intercambio gaseoso en hojas de sol de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* el 9 de agosto de 1994. En la parte superior se muestran la densidad de flujo fotónico fotosintético, PPFD ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la temperatura del aire, T_a ($^{\circ}\text{C}$), y el déficit de presión parcial de vapor, VPD (KPa). En la parte inferior se muestran la fotosíntesis neta, P_n ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la transpiración, E ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la conductancia estomática, G_s ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y la concentración interna de CO_2 , C_i (ppm).

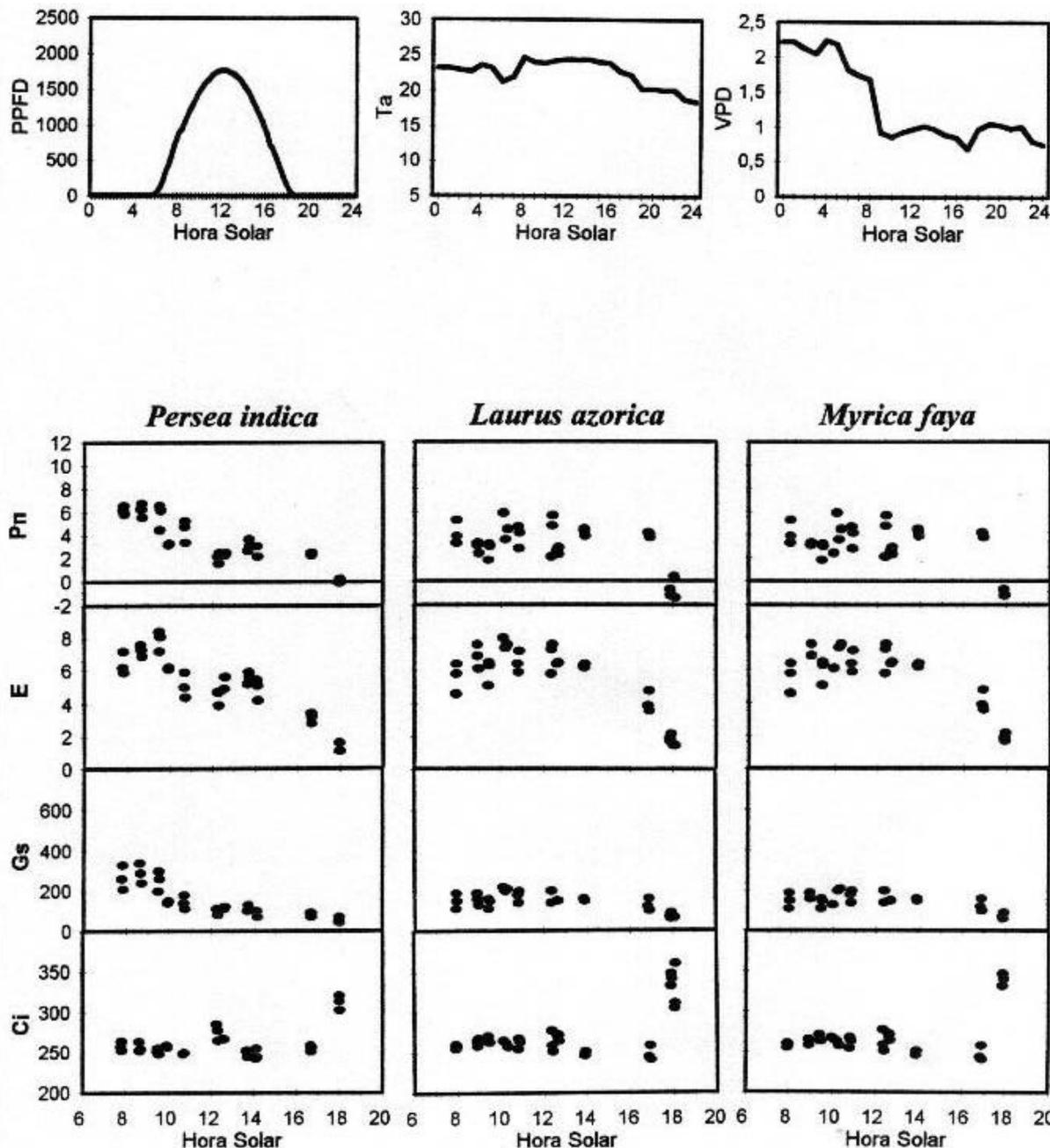


Fig. 4.3.7. Ciclos diarios de factores meteorológicos e intercambio gaseoso en hojas de sol de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* el 24 de agosto de 1994. En la parte superior se muestran la densidad de flujo fotónico fotosintético, PPFD

($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la temperatura del aire, T_a ($^{\circ}\text{C}$), y el déficit de presión parcial de vapor, VPD (KPa). En la parte inferior se muestran la fotosíntesis neta, P_n ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la transpiración, E ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la conductancia estomática, G_s ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y la concentración interna de CO_2 , C_i (ppm).

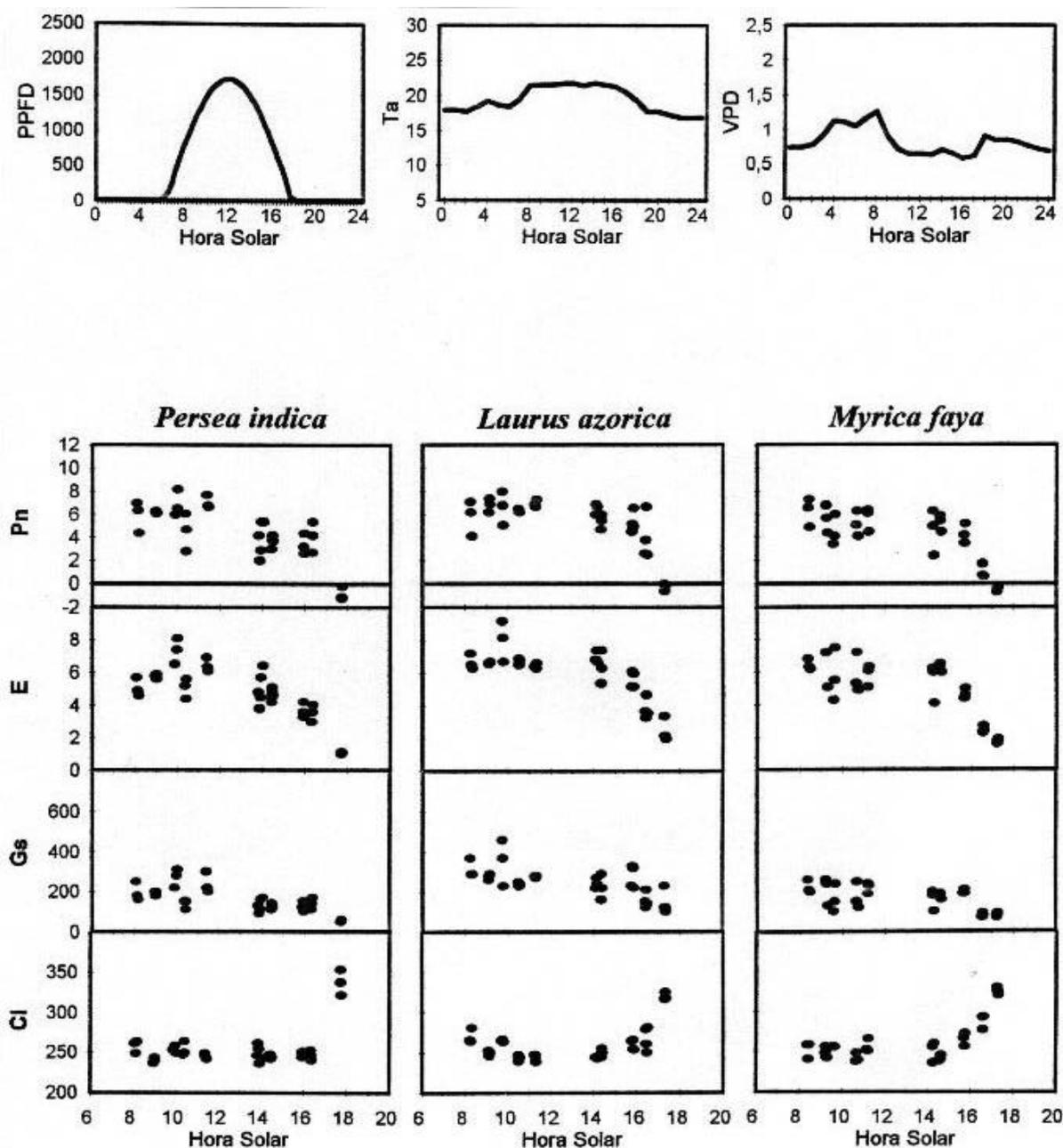


Fig. 4.3.8. Ciclos diarios de factores meteorológicos e intercambio gaseoso en hojas de sol de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* el 14 de septiembre de 1994. En la parte superior se muestran la densidad de flujo fotónico fotosintético, PPFD ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la temperatura del aire, T_a ($^{\circ}\text{C}$), y el déficit de presión parcial de vapor, VPD (KPa). En la parte

inferior se muestran la fotosíntesis neta, P_n ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la transpiración, E ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la conductancia estomática, G_s ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y la concentración interna de CO_2 , C_i (ppm).

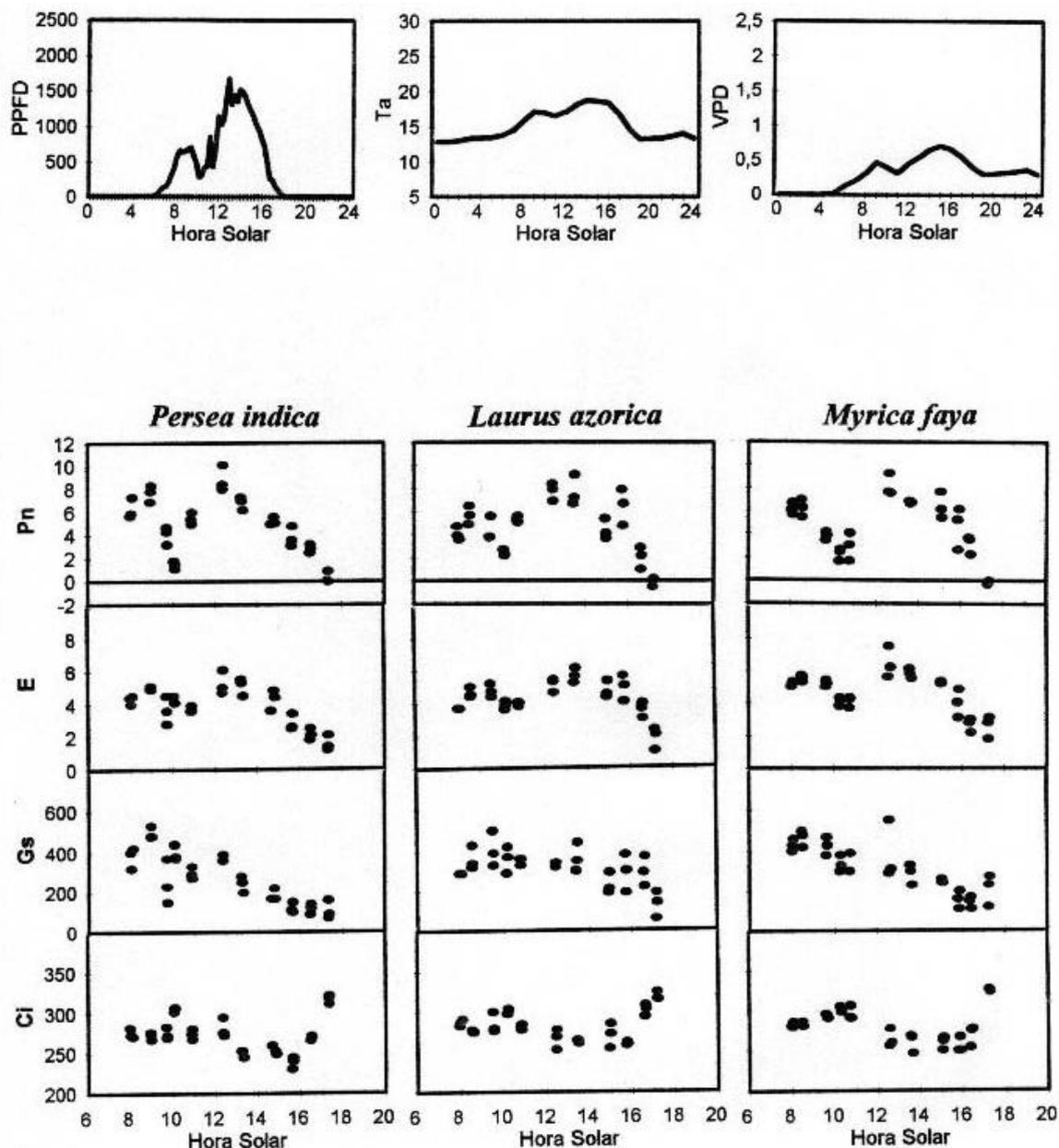


Fig. 4.3.9. Ciclos diarios de factores meteorológicos e intercambio gaseoso en hojas de sol de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* el 23 de septiembre de 1994. En la parte superior se muestran la densidad de flujo fotónico fotosintético, PPFD ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la temperatura del aire, Ta ($^{\circ}\text{C}$), y el déficit de presión parcial de vapor, VPD (KPa). En la parte inferior se muestran la fotosíntesis neta, Pn ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la transpiración, E ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la conductancia estomática, Gs ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y la concentración interna de CO₂, Ci (ppm).

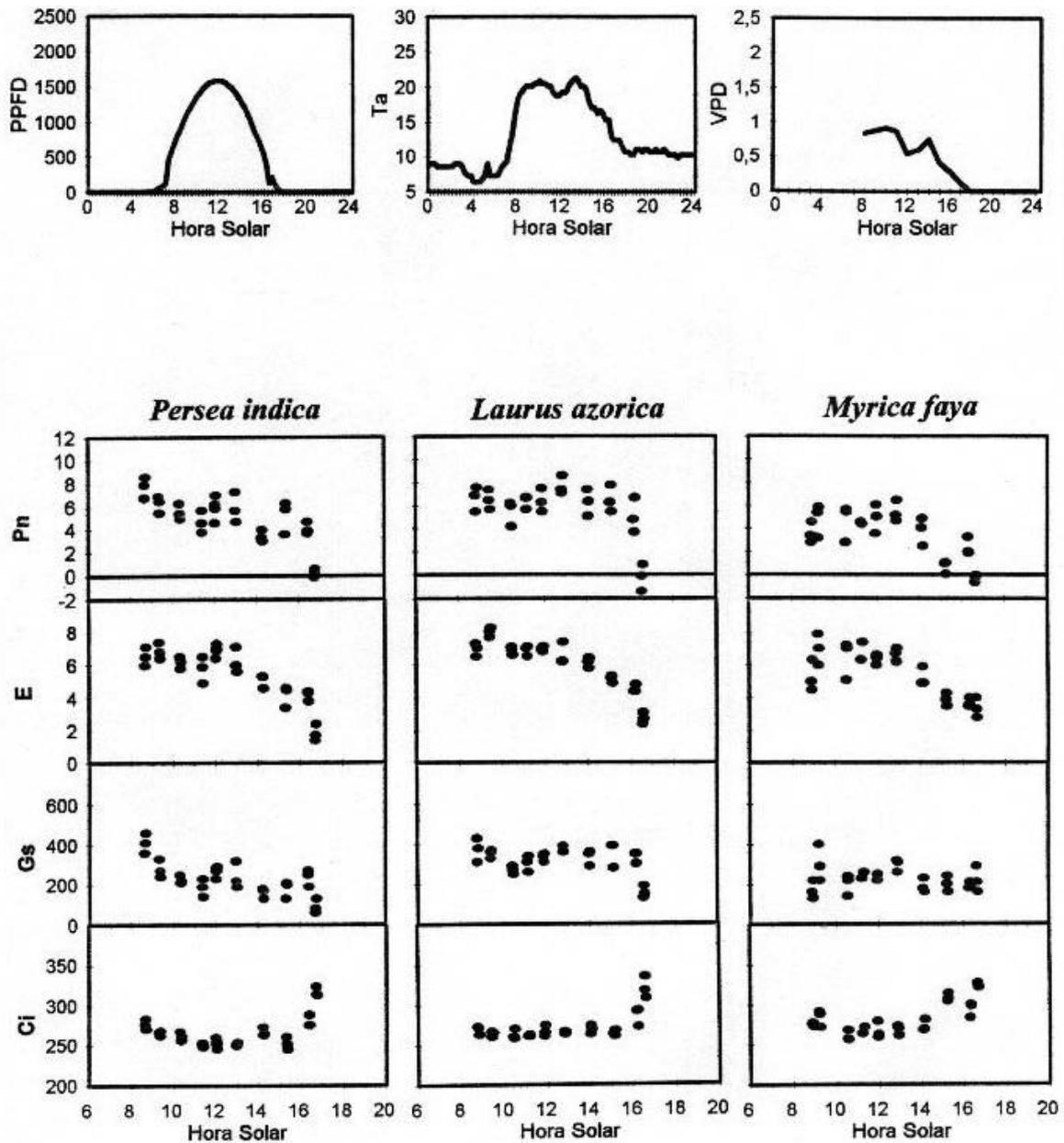


Fig. 4.3.10. Ciclos diarios de factores meteorológicos e intercambio gaseoso en hojas de sol de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* el 10 de octubre de 1994. En la parte superior se muestran la densidad de flujo fotónico fotosintético, PPFD ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la temperatura del aire, T_a ($^{\circ}\text{C}$), y el déficit de presión parcial de vapor, VPD (KPa). En la parte inferior se muestran la fotosíntesis neta, P_n ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la transpiración, E ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la conductancia estomática, G_s ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y la concentración interna de CO_2 , C_i (ppm).

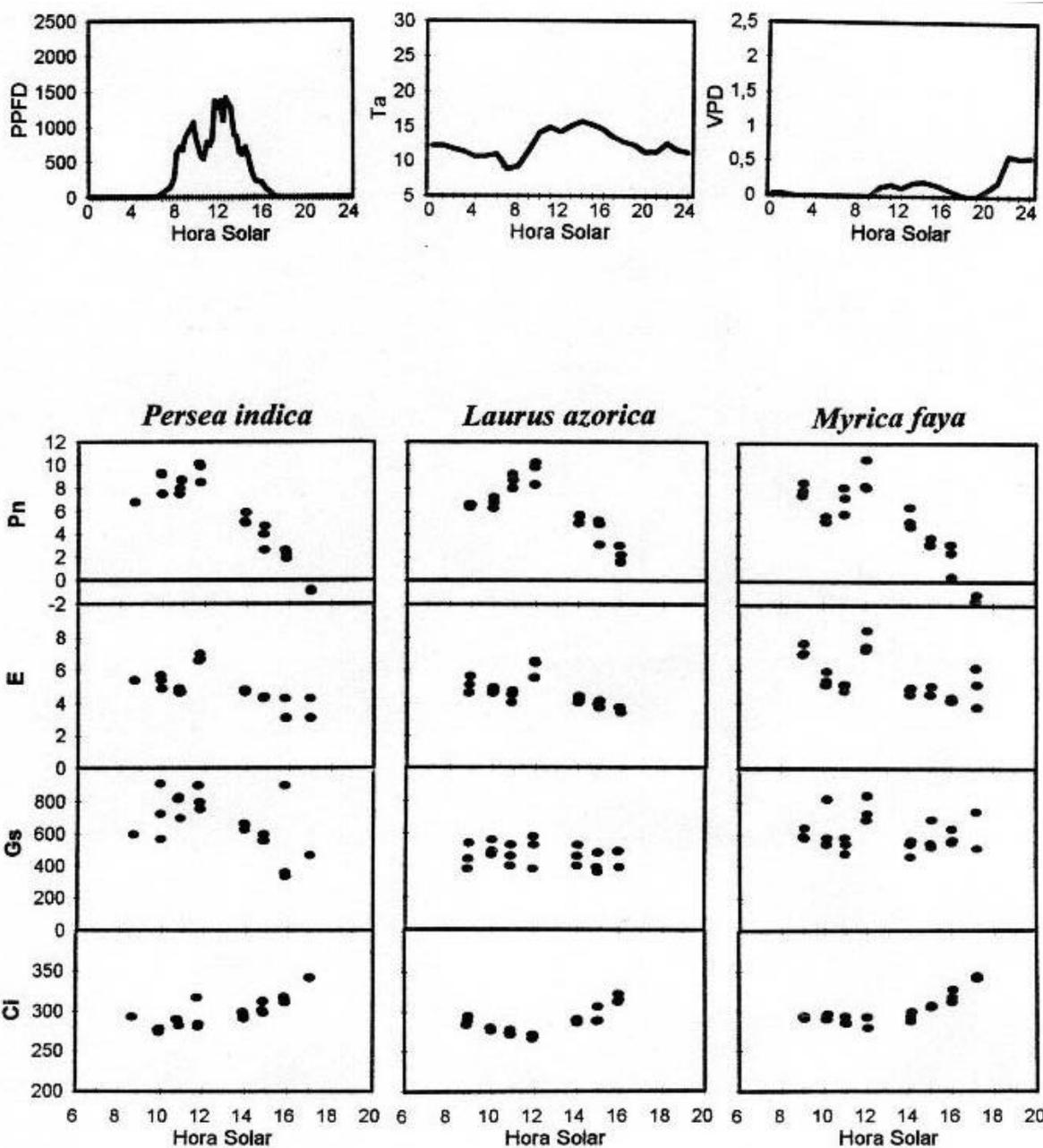


Fig. 4.3.11. Ciclos diarios de factores meteorológicos e intercambio gaseoso en hojas de sol de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* el 7 de noviembre de 1994. En la parte superior se muestran la densidad de flujo fotónico fotosintético, PPFD ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la temperatura del aire, Ta ($^{\circ}\text{C}$), y el déficit de presión parcial de vapor, VPD (KPa). En la parte inferior se muestran la fotosíntesis neta, Pn ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la transpiración, E ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la conductancia estomática, Gs ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y la concentración interna de CO₂, Ci (ppm).

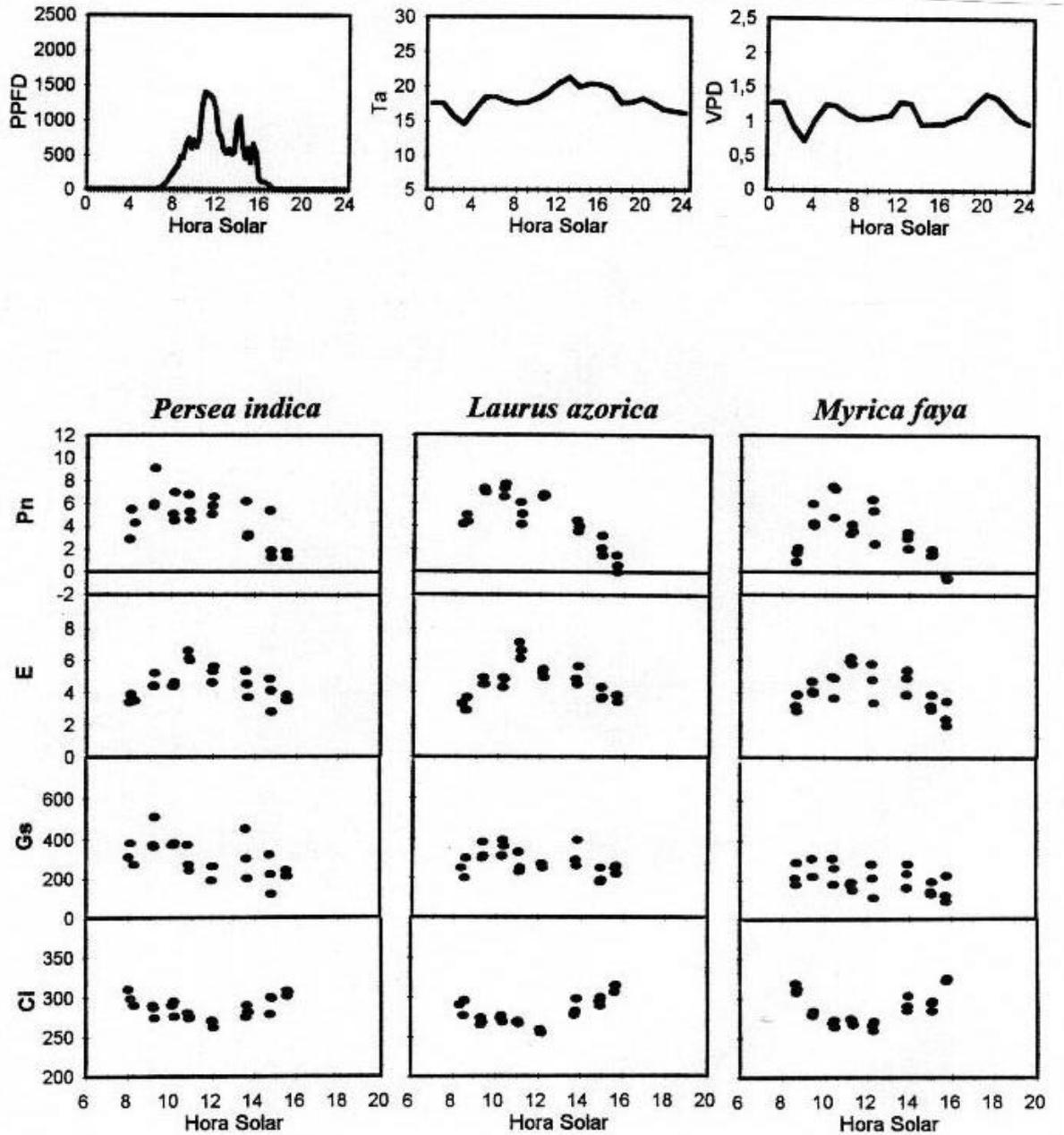


Fig. 4.3.12. Ciclos diarios de factores meteorológicos e intercambio gaseoso en hojas de sol de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* el 16 de noviembre de 1994. En la parte superior se muestran la densidad de flujo fotónico fotosintético, PPFD ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la temperatura del aire, Ta ($^{\circ}\text{C}$), y el déficit de presión parcial de vapor, VPD (KPa). En la parte inferior se muestran la fotosíntesis neta, Pn ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la transpiración, E ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la conductancia estomática, Gs ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y la concentración interna de CO₂, Ci (ppm).

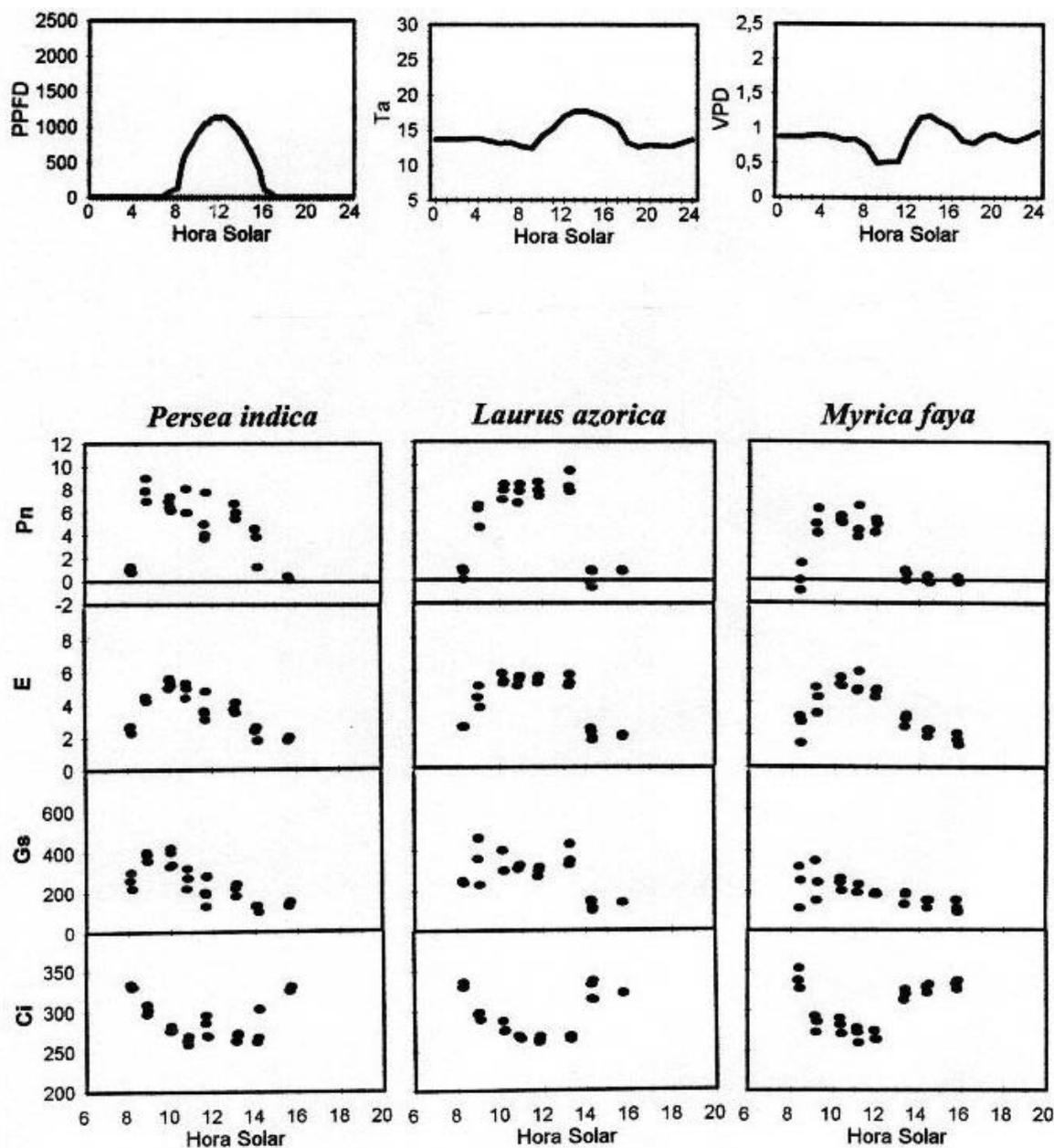


Fig. 4.3.13. Ciclos diarios de factores meteorológicos e intercambio gaseoso en hojas de sol de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* el 7 de diciembre de 1994. En la parte superior se muestran la densidad de flujo fotónico fotosintético, PPFD ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la temperatura del aire, Ta ($^{\circ}\text{C}$), y el déficit de presión parcial de vapor, VPD (KPa). En la parte inferior se muestran la fotosíntesis neta, Pn ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la transpiración, E ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la conductancia estomática, Gs ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y la concentración interna de CO₂, Ci (ppm).

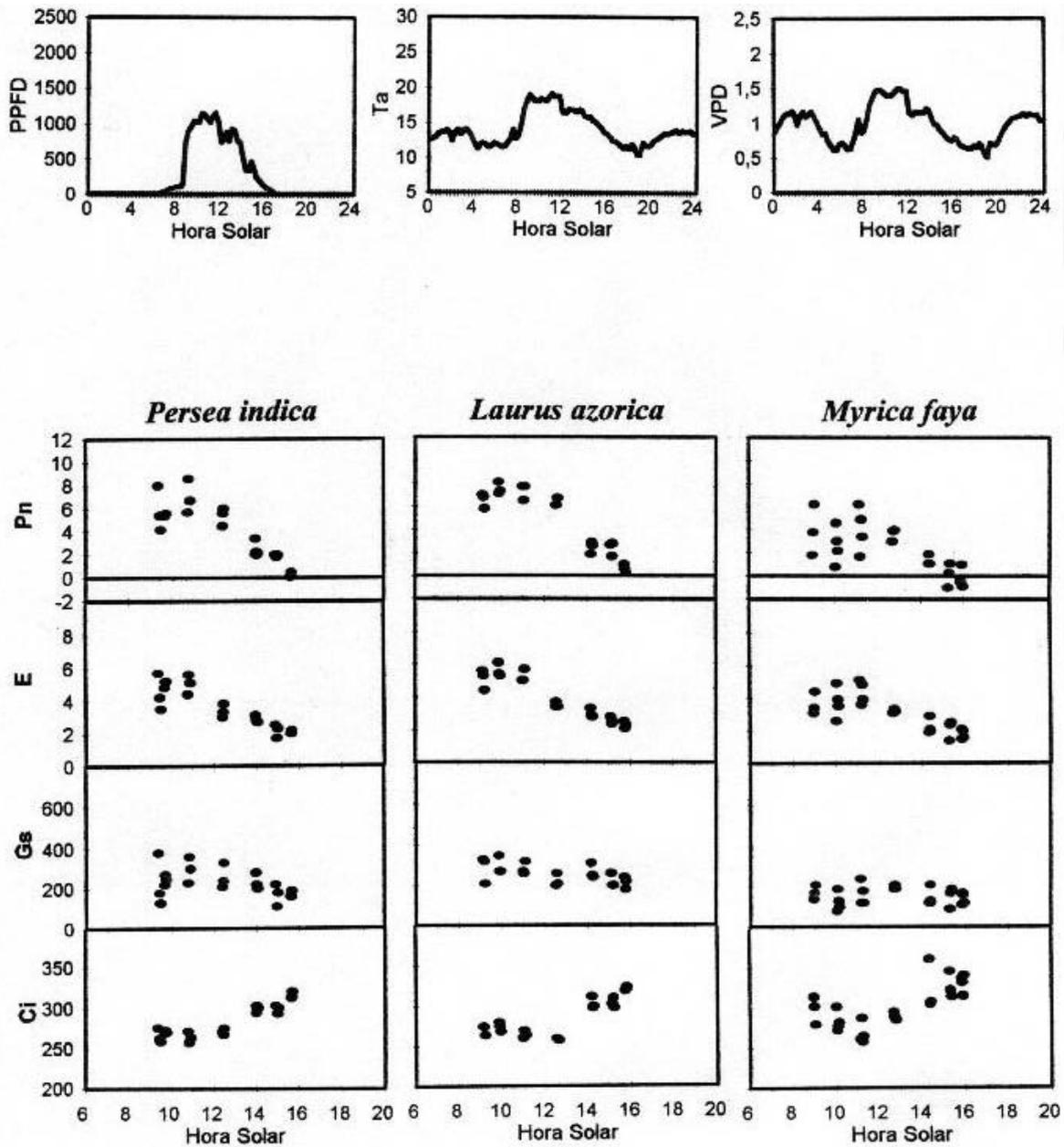


Fig. 4.3.14. Ciclos diarios de factores meteorológicos e intercambio gaseoso en hojas de sol de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* el 12 de diciembre de 1994. En la parte superior se muestran la densidad de flujo fotónico fotosintético, PPFD ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la temperatura del aire, T_a ($^{\circ}\text{C}$), y el déficit de presión parcial de vapor, VPD (KPa). En la parte inferior se muestran la fotosíntesis neta, P_n ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la transpiración, E ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la conductancia estomática, G_s ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y la concentración interna de CO_2 , C_i (ppm).

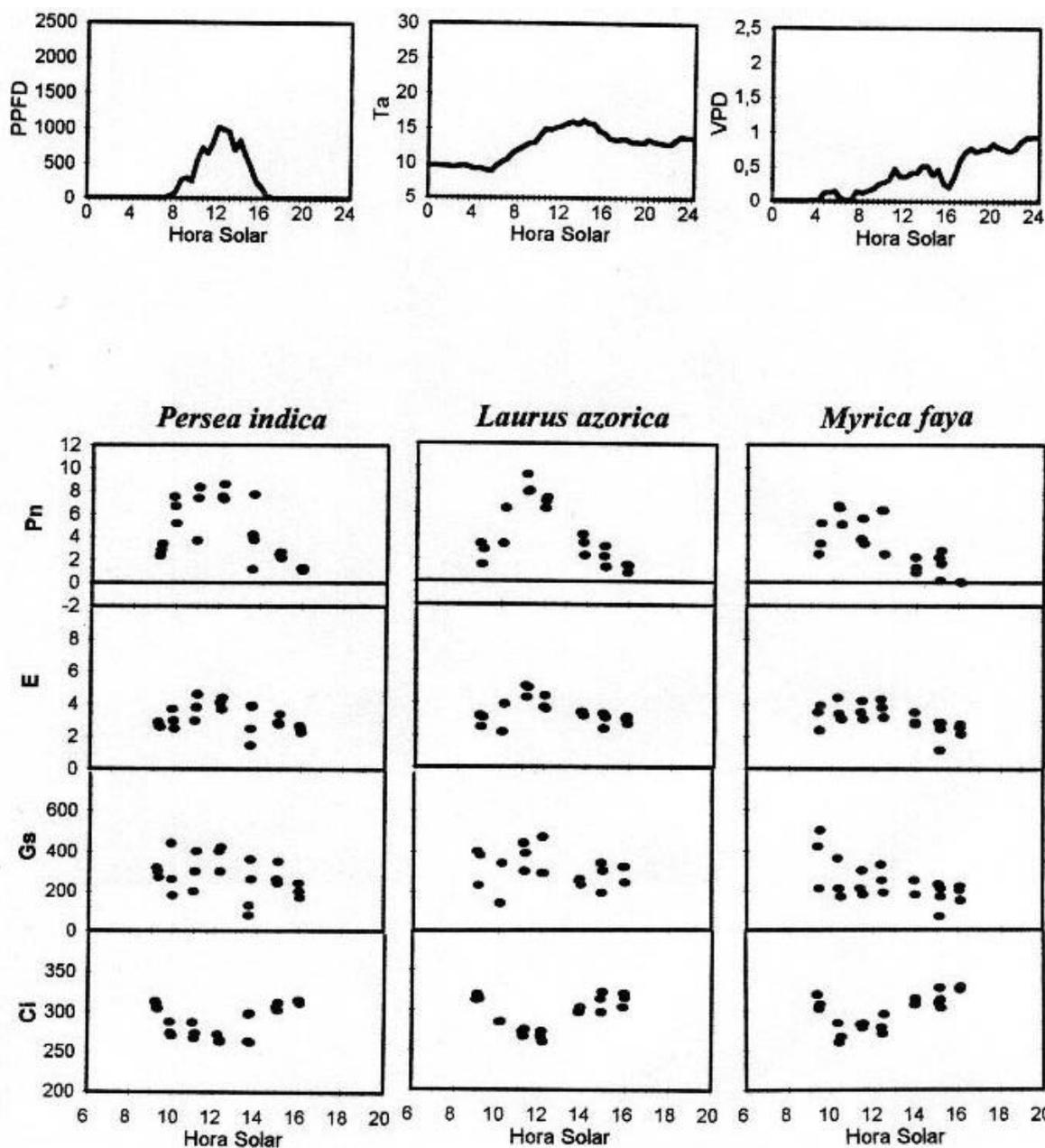


Fig. 4.3.15. Ciclos diarios de factores meteorológicos e intercambio gaseoso en hojas de sol de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* el 22 de diciembre de 1994. En la parte superior se muestran la densidad de flujo fotónico fotosintético, PPFD ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la temperatura del aire, T_a ($^{\circ}\text{C}$), y el déficit de presión parcial de vapor, VPD (KPa). En la parte inferior se muestran la fotosíntesis neta, P_n ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la transpiración, E ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la conductancia estomática, G_s ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y la concentración interna de CO_2 , C_i (ppm).

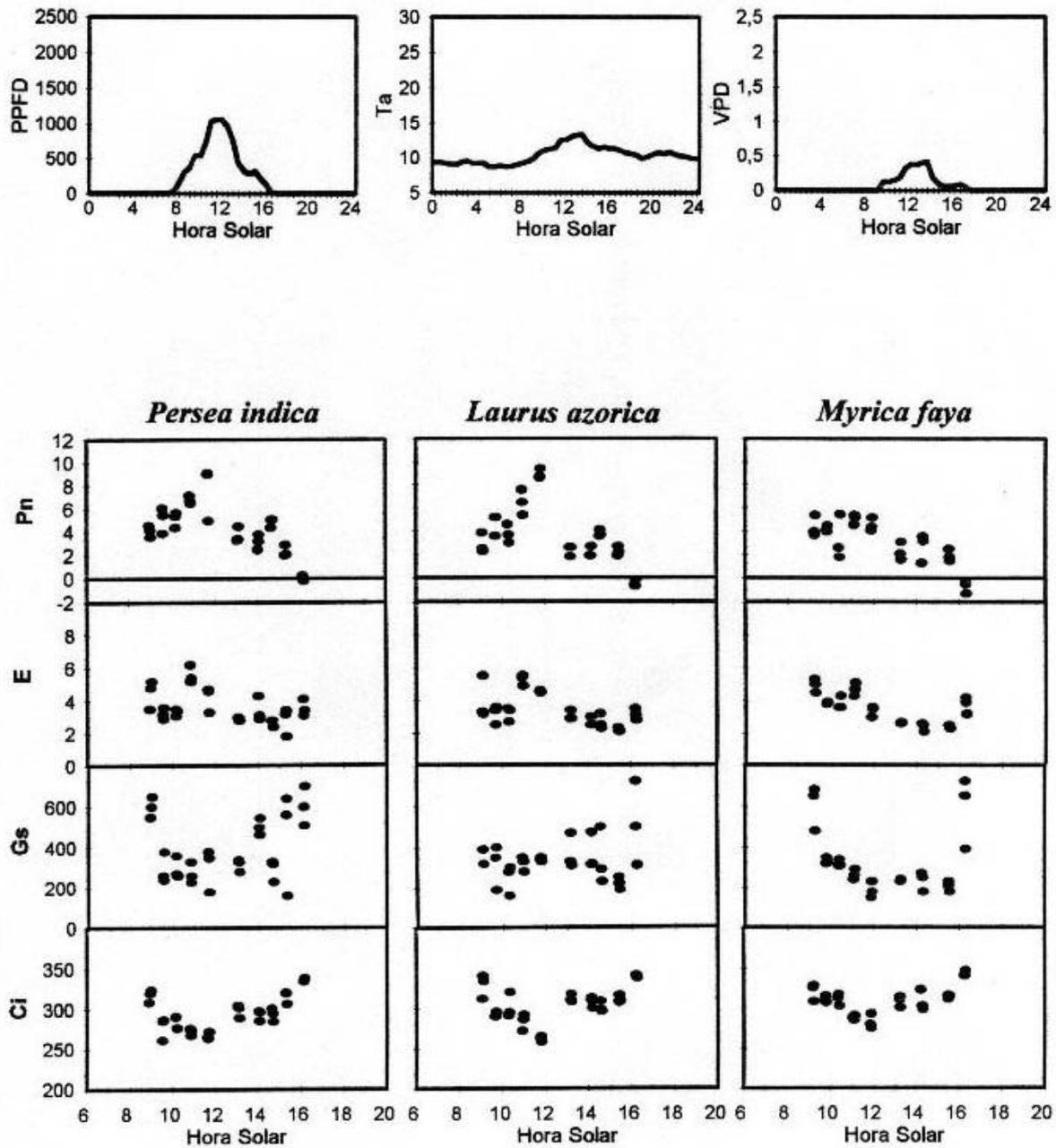


Fig. 4.3.16. Ciclos diarios de factores meteorológicos e intercambio gaseoso en hojas de sol de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* el 13 de enero de 1995. En la parte superior se muestran la densidad de flujo fotónico fotosintético, PPFD ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la temperatura del aire, Ta ($^{\circ}\text{C}$), y el déficit de presión parcial de vapor, VPD (KPa). En la parte inferior se muestran la fotosíntesis neta, Pn ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la transpiración, E ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la conductancia estomática, Gs ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y la concentración interna de CO_2 , Ci (ppm).

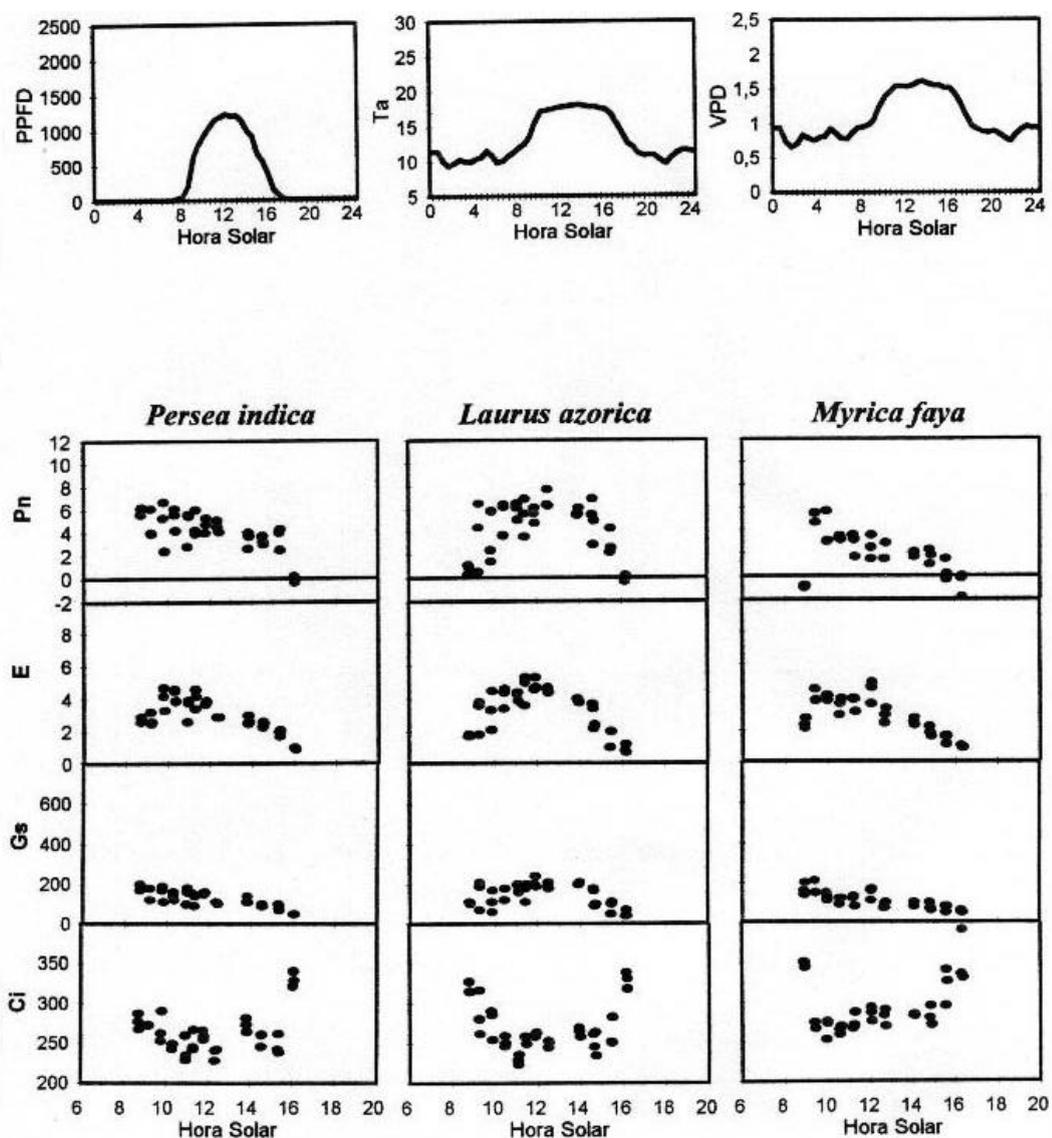


Fig. 4.3.17. Ciclos diarios de factores meteorológicos e intercambio gaseoso en hojas de sol de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* el 2 de febrero de 1995. En la parte superior se muestran la densidad de flujo fotónico fotosintético, PPFD ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la temperatura del aire, T_a ($^{\circ}\text{C}$), y el déficit de presión parcial de vapor, VPD (KPa). En la parte inferior se muestran la fotosíntesis neta, P_n ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la transpiración, E ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la conductancia estomática, G_s ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y la concentración interna de CO_2 , C_i (ppm).

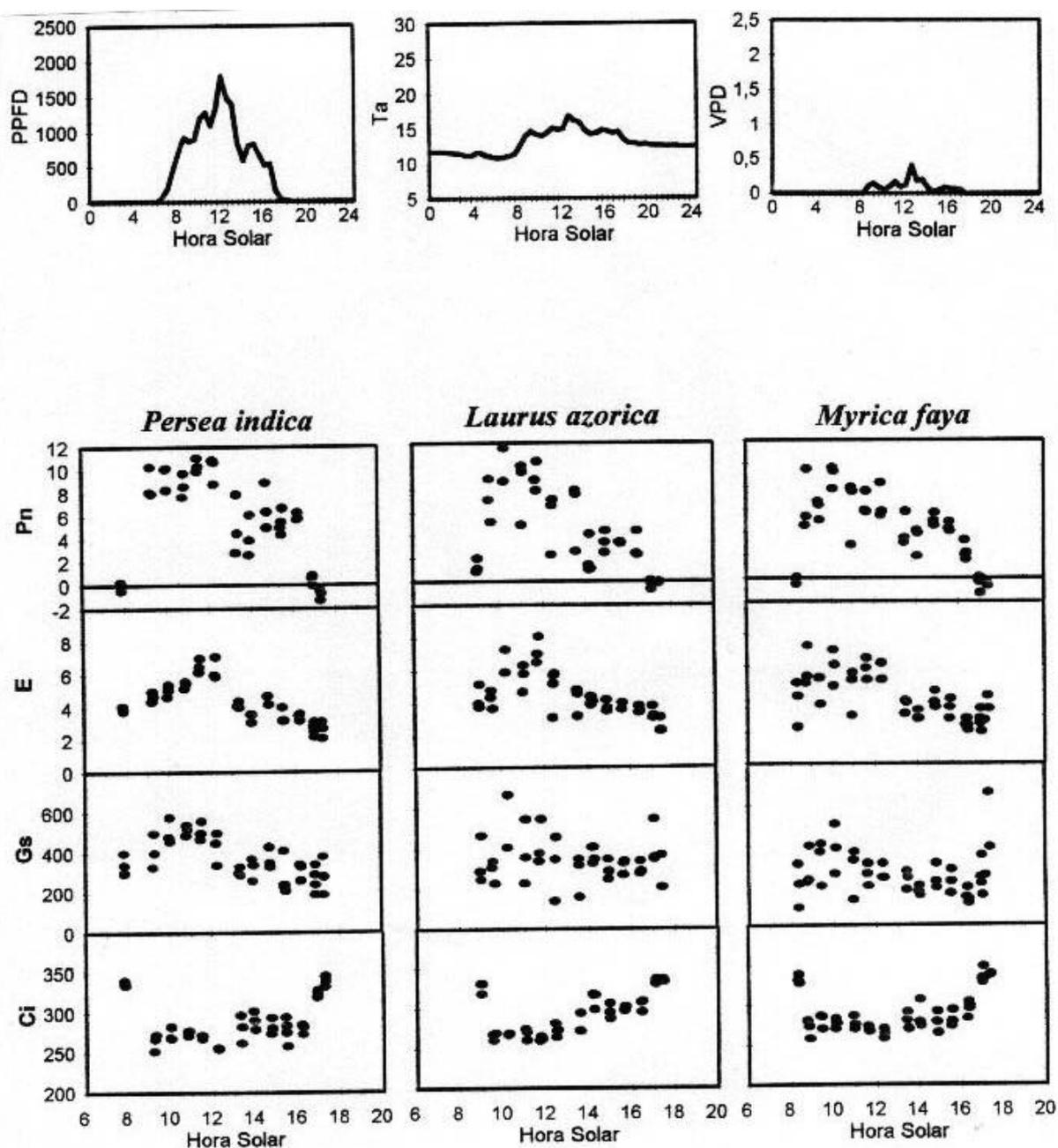


Fig. 4.3.18. Ciclos diarios de factores meteorológicos e intercambio gaseoso en hojas de sol de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* el 29 de marzo de 1995. En la parte superior se muestran la densidad de flujo fotónico fotosintético, PPFD ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la temperatura del aire, T_a ($^{\circ}\text{C}$), y el déficit de presión parcial de vapor, VPD (KPa). En la parte inferior se muestran la fotosíntesis neta, P_n ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la transpiración, E ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la conductancia estomática, G_s ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y la concentración interna de CO_2 , C_i (ppm).

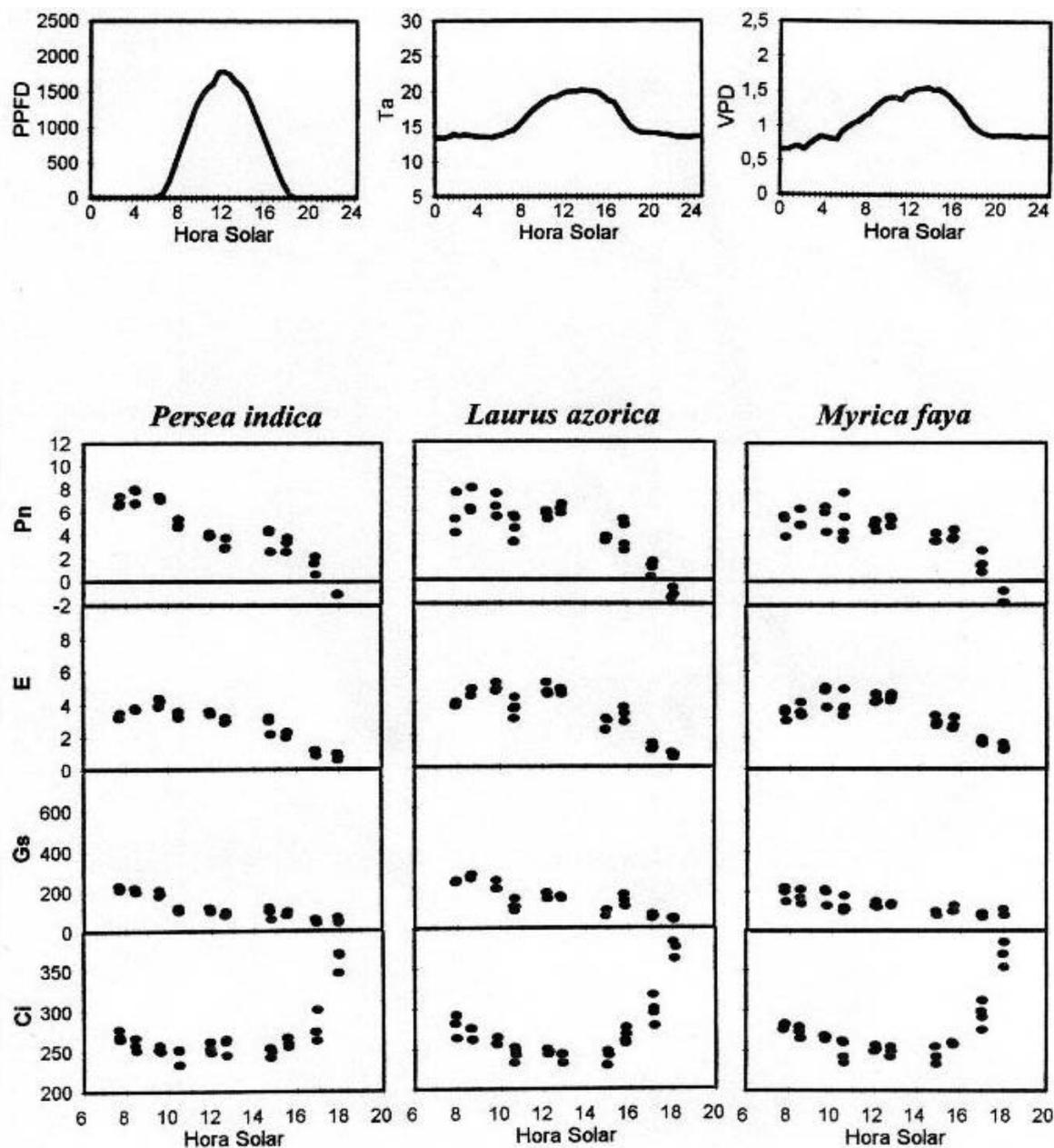


Fig. 4.3.19. Ciclos diarios de factores meteorológicos e intercambio gaseoso en hojas de sol de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* el 5 de abril de 1995. En la parte superior se muestran la densidad de flujo fotónico fotosintético, PPFD ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la temperatura del aire, T_a ($^{\circ}\text{C}$), y el déficit de presión parcial de vapor, VPD (KPa). En la parte inferior se muestran la fotosíntesis neta, P_n ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la transpiración, E ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la conductancia estomática, G_s ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y la concentración interna de CO_2 , C_i (ppm).

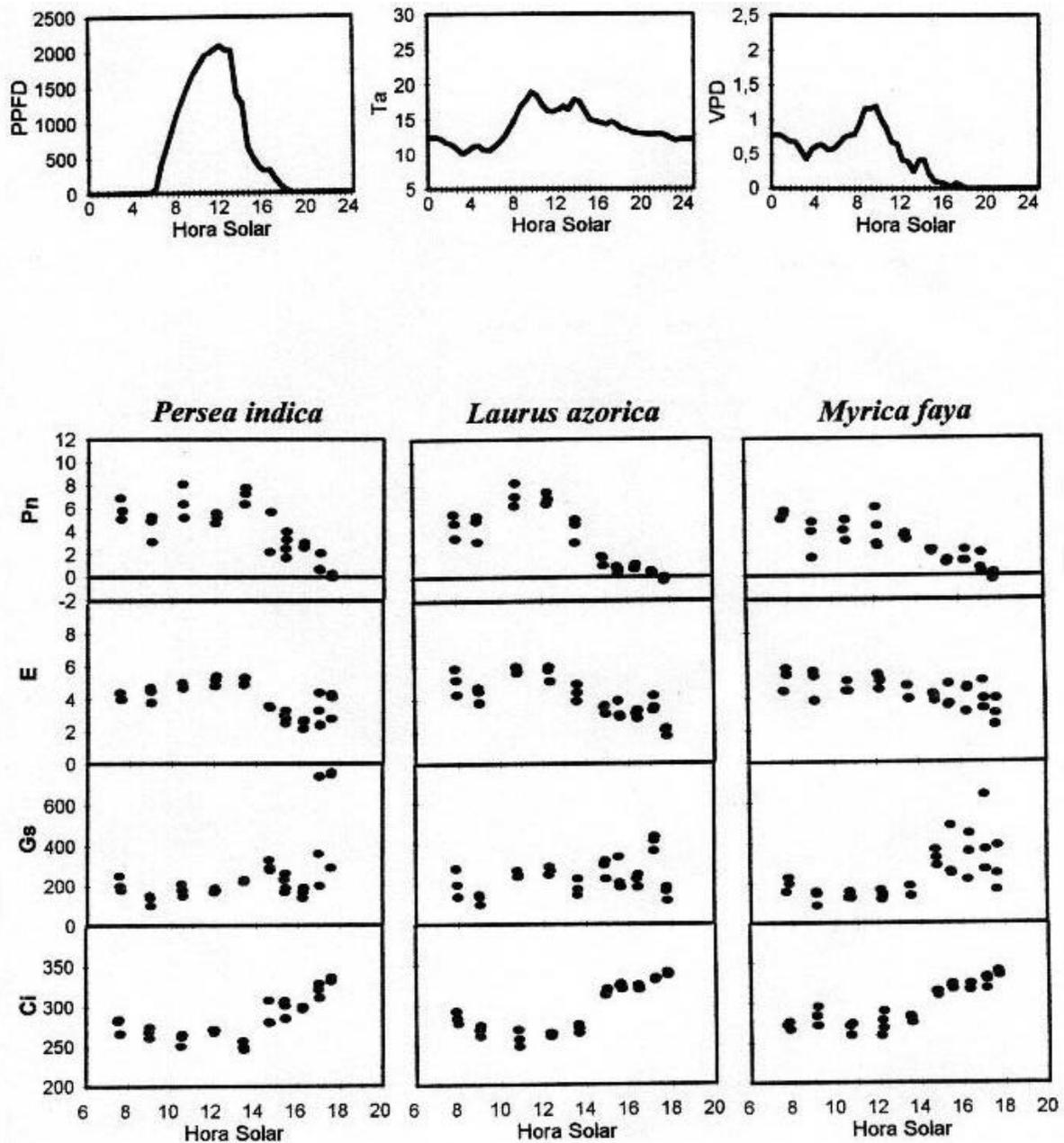


Fig. 4.3.20. Ciclos diarios de factores meteorológicos e intercambio gaseoso en hojas de sol de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* el 27 de abril de 1995. En la parte superior se muestran la densidad de flujo fotónico fotosintético, PPFD ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la temperatura del aire, Ta ($^{\circ}\text{C}$), y el déficit de presión parcial de vapor, VPD (KPa). En la parte inferior se muestran la fotosíntesis neta, Pn ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la transpiración, E ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la conductancia estomática, Gs ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y la concentración interna de CO_2 , Ci (ppm).

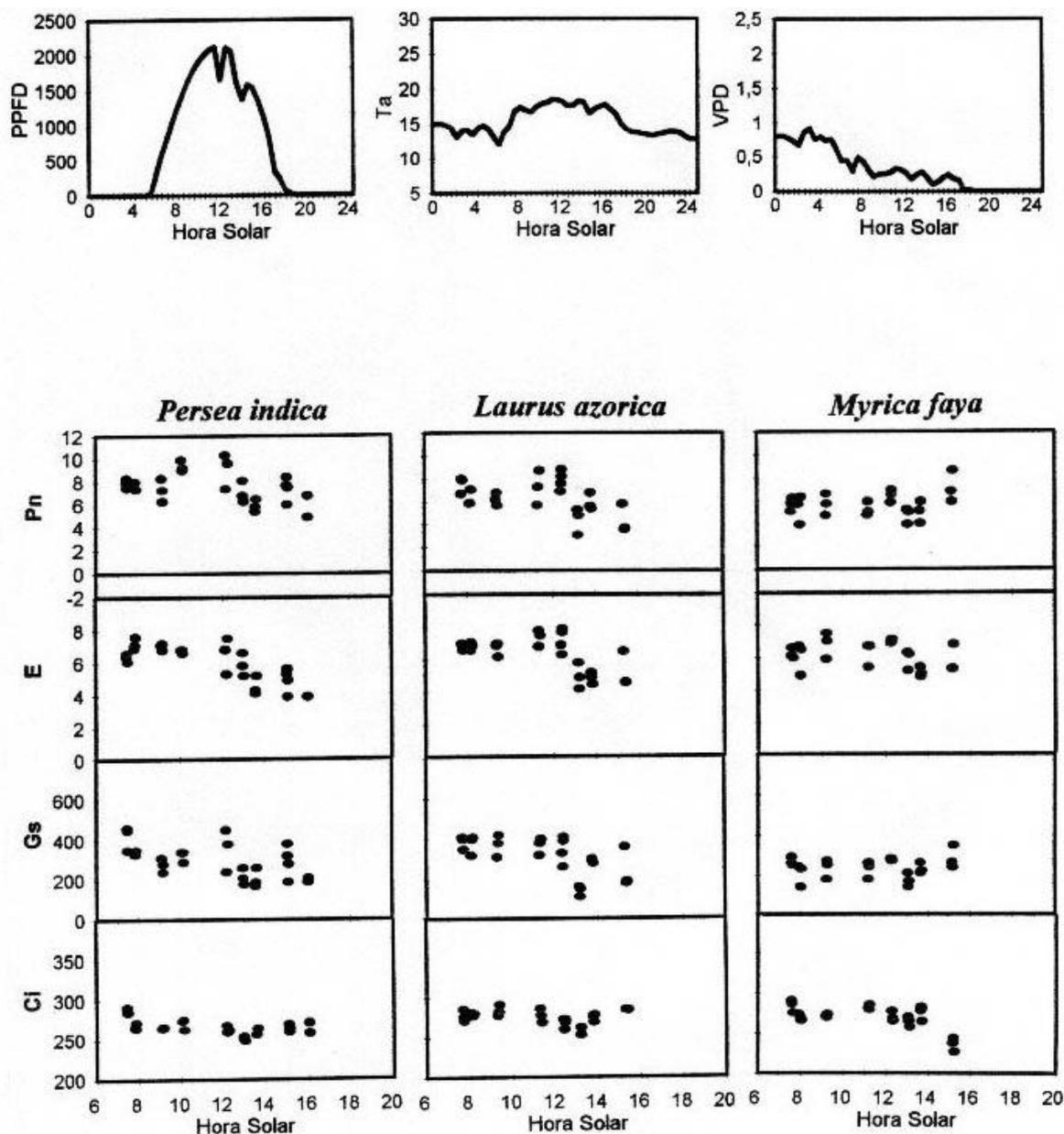


Fig. 4.3.21. Ciclos diarios de factores meteorológicos e intercambio gaseoso en hojas de sol de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* el 17 de mayo de 1995. En la parte superior se muestran la densidad de flujo fotónico fotosintético, PPFD ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la temperatura del aire, T_a ($^{\circ}\text{C}$), y el déficit de presión parcial de vapor, VPD (KPa). En la parte inferior se muestran la fotosíntesis neta, P_n ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la transpiración, E ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la conductancia estomática, G_s ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y la concentración interna de CO_2 , C_i (ppm).

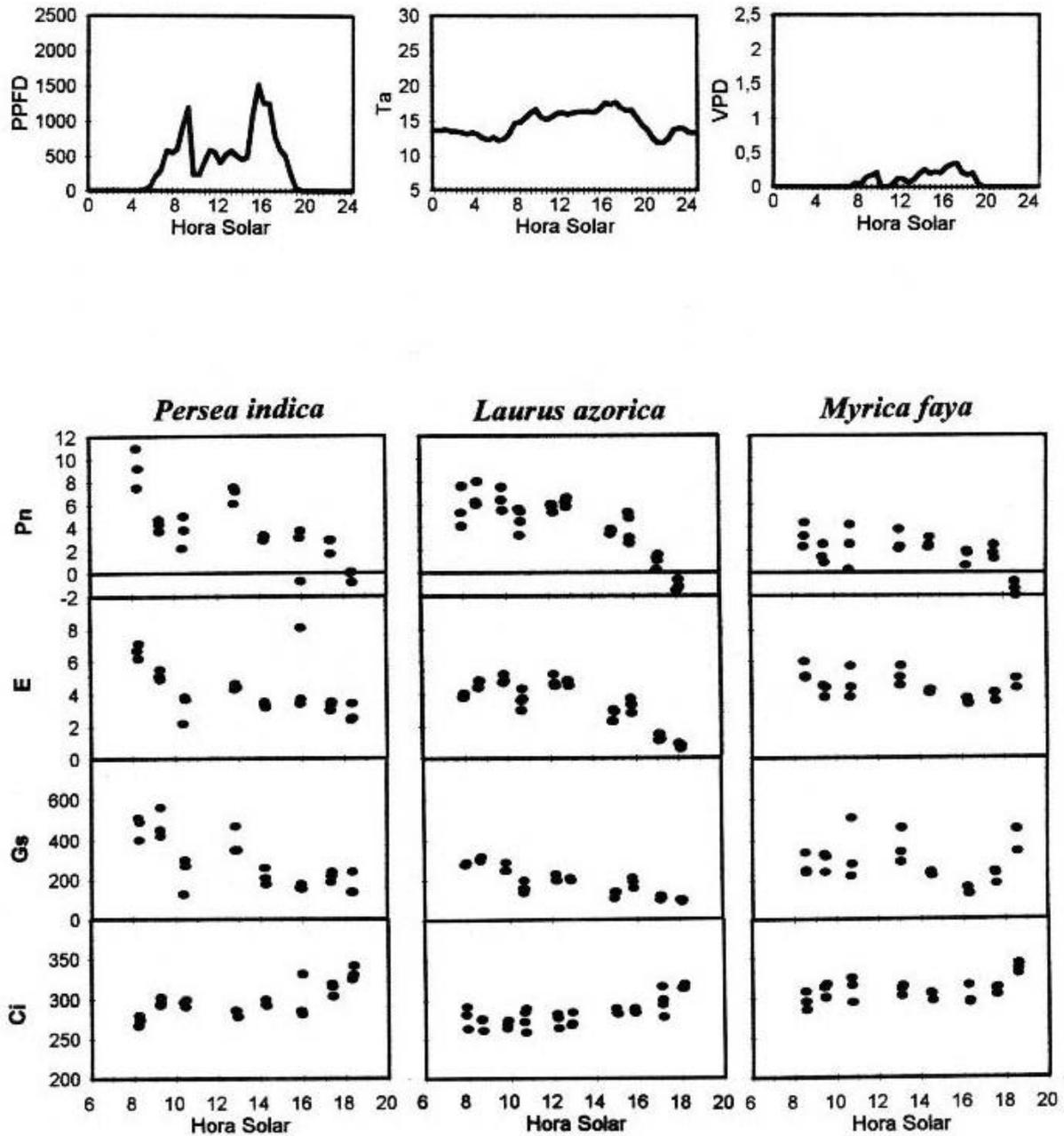


Fig. 4.3.22. Ciclos diarios de factores meteorológicos e intercambio gaseoso en hojas de sol de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* el 27 de junio de 1995. En la parte superior se muestran la densidad de flujo fotónico fotosintético, PPFD ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la temperatura del aire, T_a ($^{\circ}\text{C}$), y el déficit de presión parcial de vapor, VPD (KPa). En la parte inferior se muestran la fotosíntesis neta, P_n ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la transpiración, E ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la conductancia estomática, G_s ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y la concentración interna de CO_2 , C_i (ppm).

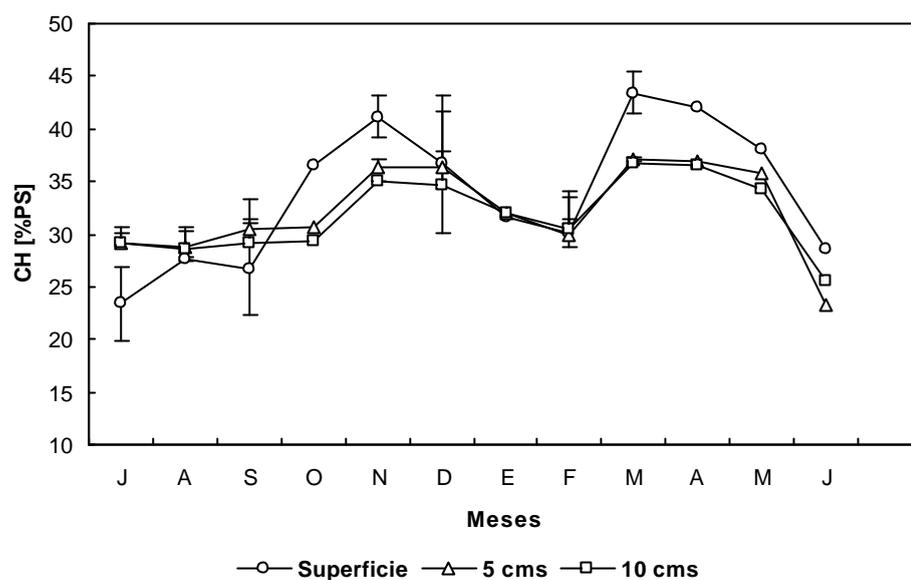


Fig. 4.3.23. Contenido hídrico del suelo (% de peso seco) a lo largo del curso anual de medida (de julio 1994 a junio 1995) en la parcela de estudio de Agua García. Los círculos representan los datos obtenidos a nivel superficial, los triángulos a 5 cms y los cuadrados a 10 cms de profundidad.

4.3.3.2. Medidas de intercambio gaseoso

4.3.3.2.1. Intercambio gaseoso en hojas de sol

4.3.3.2.1.1. Descripción general de los cursos diarios

El estudio de diferentes parámetros fisiológicos (fotosíntesis neta, Pn; transpiración, E; conductancia estomática, Gs; y concentración interna de CO₂, Ci), a lo largo del día, se representan en las Figs. 4.3.4-22. No podemos clasificar los cursos como típicos de estaciones determinadas ya que a lo largo del año las variaciones son más acordes con las condiciones ambientales de cada día.

Por lo general, se observa como en aquellos días donde el VPD es alto, acompañado de altas temperaturas, se produce una limitación estomática reflejado por una disminución de la Gs (por ejemplo: el 9 y 24 de agosto, 2 de febrero, 5 y 27 de abril). En esta situación, se observan bajas tasas de Pn. En días en donde el VPD es bajo, reflejando condiciones de alta humedad ambiental, que por lo general están asociadas a relativamente bajas temperaturas, las tasas de Gs y Pn son las más altas. Así por ejemplo, se observa como los días 7 de noviembre y 29 de marzo, las condiciones ambientales propiciaron las tasas de Pn más altas alcanzadas en las tres especies, mostrando *L. azorica* y *P. indica* valores aproximadamente de 10 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y *M. faya* valores superiores a 8 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, hay que destacar que las medidas realizadas en estos días se hicieron después de los mayores períodos de lluvias acaecidos en el curso anual de estudio. En la Fig. 4.3.24 se muestran los

valores medios de las Pn máximas registradas en cada día de medida, observando como *M. faya* presenta generalmente las Pn más bajas.

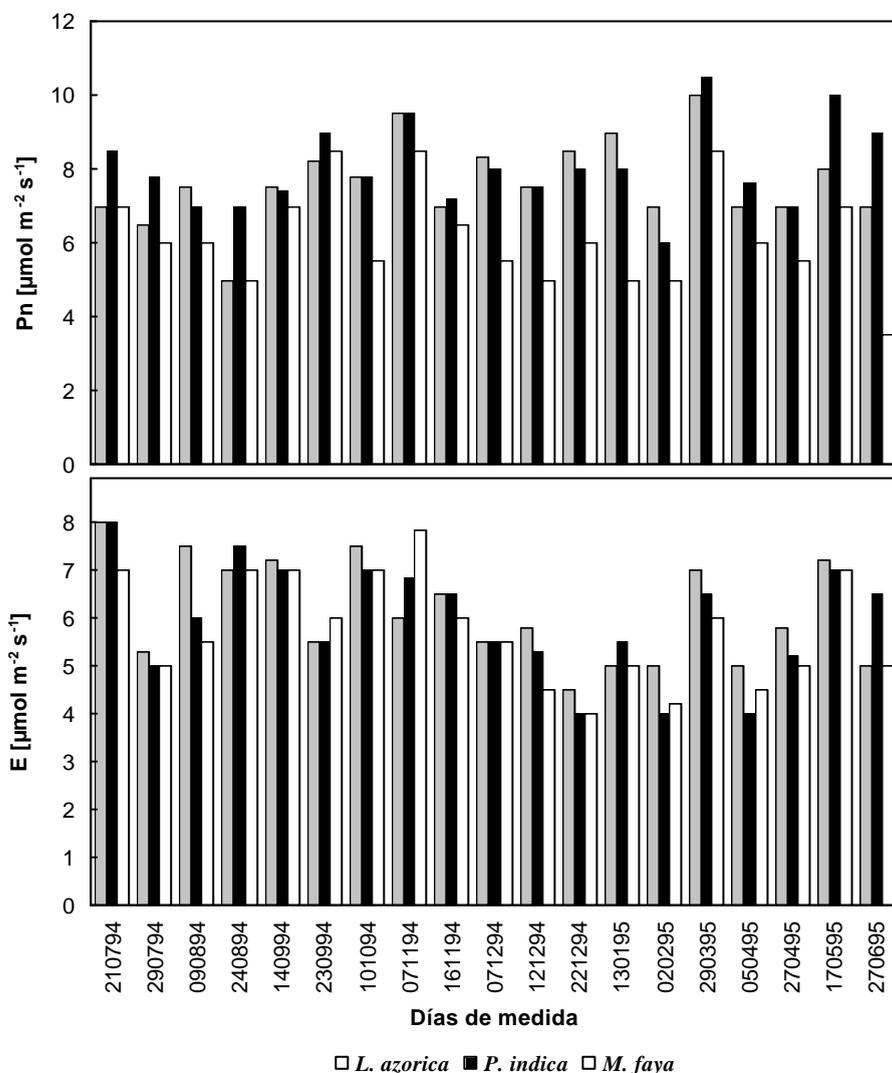


Fig. 4.3.24. Valores medios máximos de Pn ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y E ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) en hojas de sol de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya*, obtenidos en los diferentes días de medida a lo largo del curso anual de estudio. Las barras representan el valor medio de los valores máximos alcanzados en los diferentes días de medida.

Las tasas máximas de E en las tres especies variaron entre 4 y 8 $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. En los días de diciembre, enero y febrero se observaron bajas tasas de E, lo cual está relacionado con las características climáticas, ya que al ser días de invierno en los que alternaban las nubes y claros, o días totalmente despejados pero debido a la inclinación del sol, la intensidad máxima de luz no fue superior a 1200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. También, el 24 de julio las tasas de E fueron muy bajas al ser un día nublado, sin embargo el 5 de abril, día totalmente

luminoso, se registraron tasas bajas de E al permanecer la Gs con valores bajos a partir de las primeras horas de la mañana cuando el VPD comenzó a subir.

Por lo general, *L. azorica* alcanzó tasas de E más altas que *M. faya*, mientras que *P. indica* presentó un comportamiento variable (Fig. 4.3.24).

Los valores de Ci se mantuvieron durante la mayor parte del día más o menos constantes próximos a las 250 ppm en días soleados, y más altas, cerca de las 300 ppm, en los más nublados. Solo se observaron concentraciones mayores en las primeras o en las últimas horas del día, cuando por falta de luz dominaba la respiración.

La temperatura del aire (Ta) a lo largo de los cursos diarios osciló entre $\pm 1.5^{\circ}\text{C}$ con respecto a la temperatura de la hoja (Th). La tendencia general en los diferentes días de medida fue una mayor Ta a primeras horas de la mañana y a últimas horas de la tarde. En el transcurso del día, las hojas se iban calentando haciéndose la diferencia Ta-h negativa (Fig. 4.3.25).

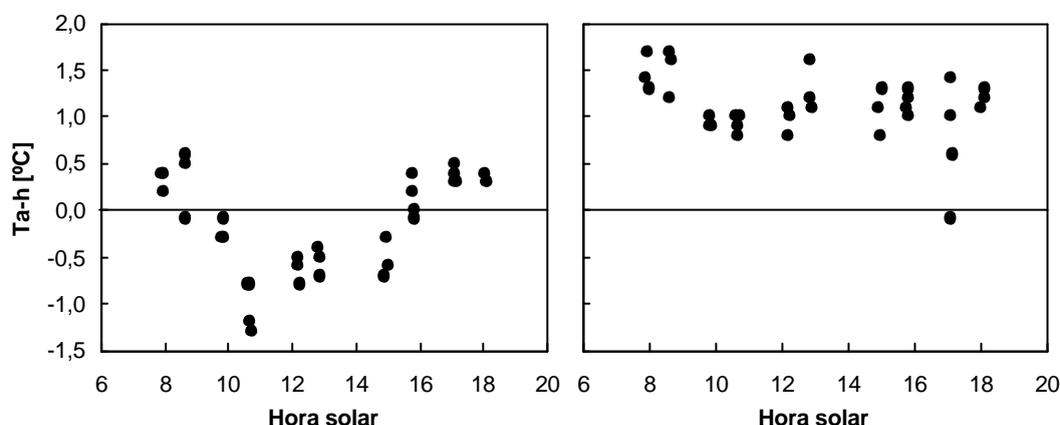


Fig. 4.3.25. Diferencia ($^{\circ}\text{C}$) entre la temperatura del aire y la temperatura de la hoja a lo largo del día en hojas de sol de *L. azorica*. La gráfica de la izquierda corresponde a la diferencia entre los valores obtenidos en un día despejado y la gráfica de la derecha corresponde a un día nublado.

Se observó una muy buena correlación entre PFD y la Th (0.83, 0.84 y 0.87 para *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya*, respectivamente) y entre la Pn y la E (0.72, 0.68 y 0.68 para las mismas especies, respectivamente). También se observó una significativa correlación negativa entre la Pn y Ci (-0.81, -0.61 y -0.76 en el mismo orden de especies que antes).

4.3.3.2.1.2. Análisis global de los datos

Cuando se trabaja en condiciones naturales es necesario aceptar la gran variabilidad de los datos y luego tratar de ver tendencias, relaciones, correlaciones, que nos den luz para su interpretación. La totalidad de los datos para cada especie, fue un registro de 550 medidas recogidas a lo largo de todo el año, incluyendo cada medida 5 parámetros (Pn, E, Gs, Th y Ci), sin contar los meteorológicos.

El primer paso para abordar el estudio fue el análisis global de todos los datos que nos diera las primeras relaciones de importancia fisiológica, para posteriormente, bajo condiciones favorables de un parámetro, ver la influencia de otro.

El análisis bruto de todos los datos ($n=550$) en la respuesta de la P_n a diferentes condiciones ambientales, como luz, temperatura de la hoja (T_h), y fisiológicas, como conductancia estomática (G_s) en hojas de sol de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* se muestra en las Figs. 4.3.26-28. Para este primer análisis, se utilizó el método de la “boundary”, es decir, una vez representada la totalidad de los datos, se trazó una curva por la parte externa a toda esa nube de puntos con el fin de delimitar la conducta, la cual representaría el comportamiento en condiciones óptimas.

La respuesta de la P_n a la luz mostró un comportamiento bastante similar para las tres especies, así alcanzaron el punto de saturación luminoso (PSL) por encima de $750 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, las tasas máximas de P_n ($P_{n_{\text{max}}}$) que se obtuvieron, fueron de 10.5, 11 y $9.5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya*, respectivamente y el rendimiento cuántico aparente (ϕ_{ap}) estimado fue de 0.024 para las tres especies (Fig. 4.3.26).

El estudio de la P_n con respecto a la temperatura foliar mostró que el rango de temperatura óptima de P_n osciló entre $21-26^\circ\text{C}$ para *L. azorica* y *M. faya*, y entre $19-25^\circ\text{C}$ para *P. indica*. Se estableció un rango de temperatura subóptima hasta 14.5°C para *L. azorica* (temperatura a la que se produce un 50 % de reducción de la P_n máxima), y hasta 14°C para *P. indica* y *M. faya*, y un rango de temperatura supraóptima hasta 33.5°C (temperatura a la que se produce un 50 % de reducción de la P_n máxima) para *L. azorica* y *M. faya* y hasta 34°C para *P. indica* (Fig. 4.3.27).

La respuesta de la P_n a la G_s se muestra en la Fig. 4.3.28, aunque a valores de G_s de $200 \text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, la P_n no está totalmente saturada hemos considerado que está próxima a la saturación, aproximadamente a un 80 % de su máximo, por lo que valores superiores a éste los hemos considerado como no limitantes.

La respuesta de la P_n al C_i mostró una correlación negativa, así altas tasas de P_n se correspondieron con bajos niveles de C_i (Fig. 4.3.29).

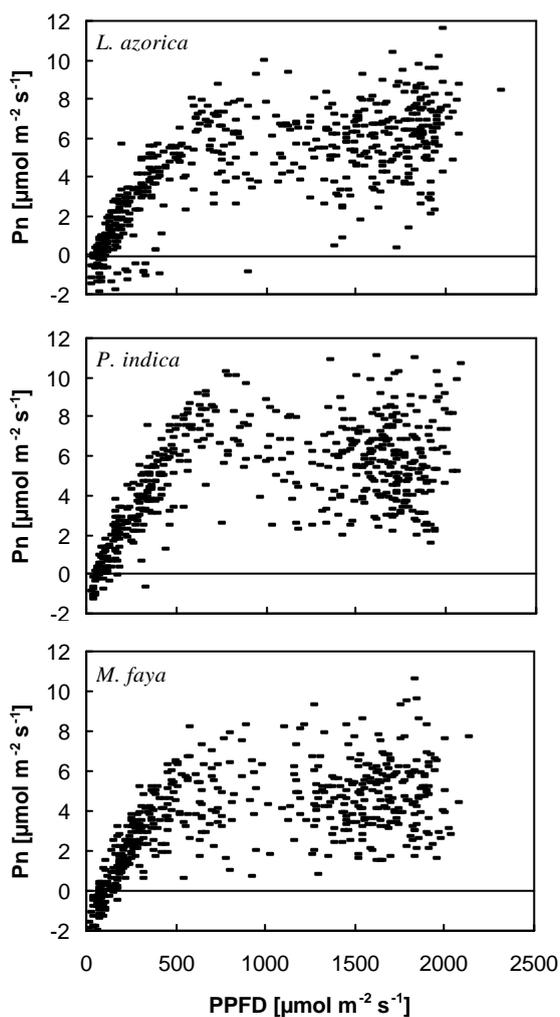


Fig. 4.3.26. Respuesta de la fotosíntesis neta (Pn) a la densidad de flujo fotónico fotosintético (PPFD) en hojas de sol de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya*.

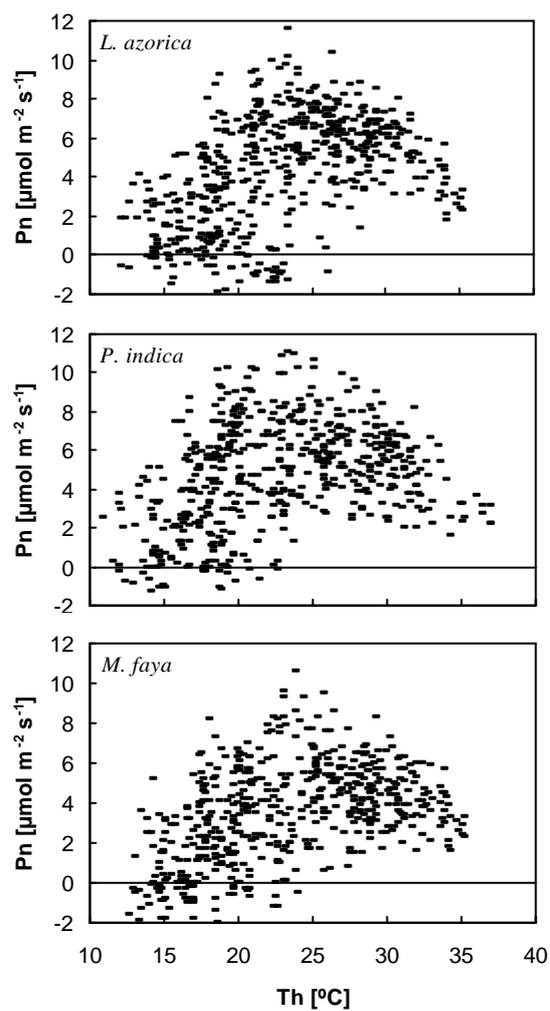


Fig. 4.3.27. Respuesta de la fotosíntesis neta (Pn) a la temperatura de la hoja (Th) en hojas de sol de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya*.

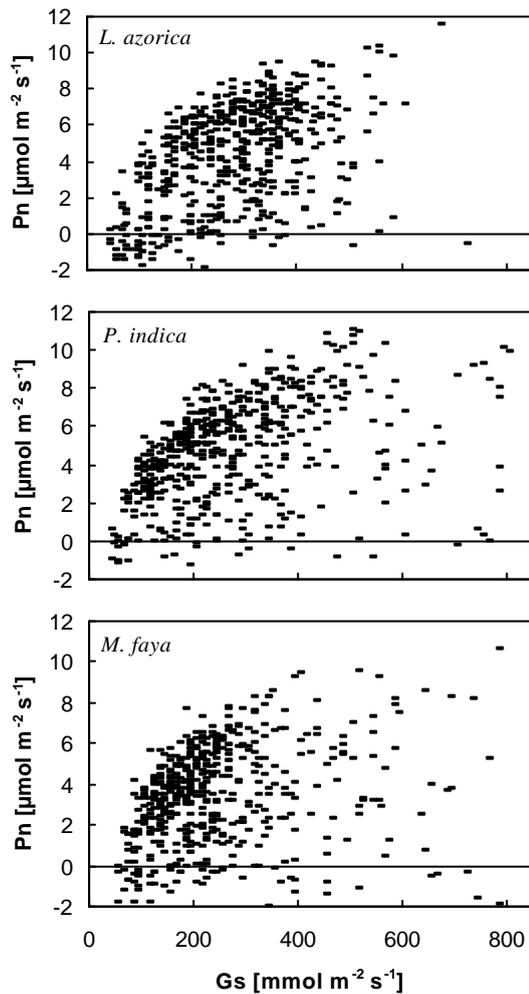


Fig. 4.3.28. Respuesta de la fotosíntesis neta (Pn) a la conductancia estomática (Gs) en hojas de sol de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya*.

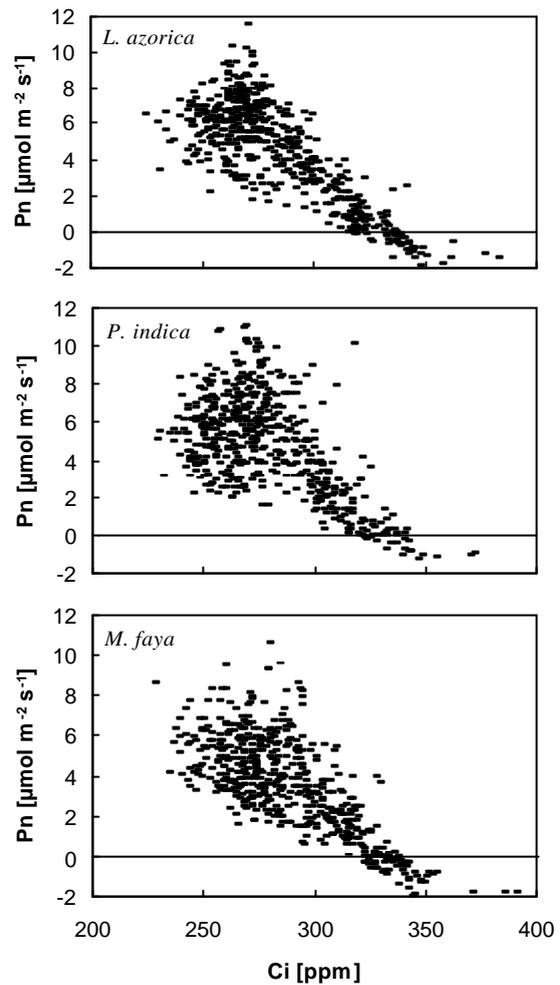


Fig. 4.3.29. Curva de respuesta de la Pn ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) a la concentración interna de CO_2 , Ci (ppm) en hojas de sol de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya*.

4.3.3.2.1.3. Curva de respuesta de la Pn a la PPFD optimizada

El estudio preliminar de todos los datos según el método de la “boundary”, nos permitió restringir el rango óptimo de respuesta de la Pn a diferentes parámetros (temperatura foliar, conductancia estomática y luz).

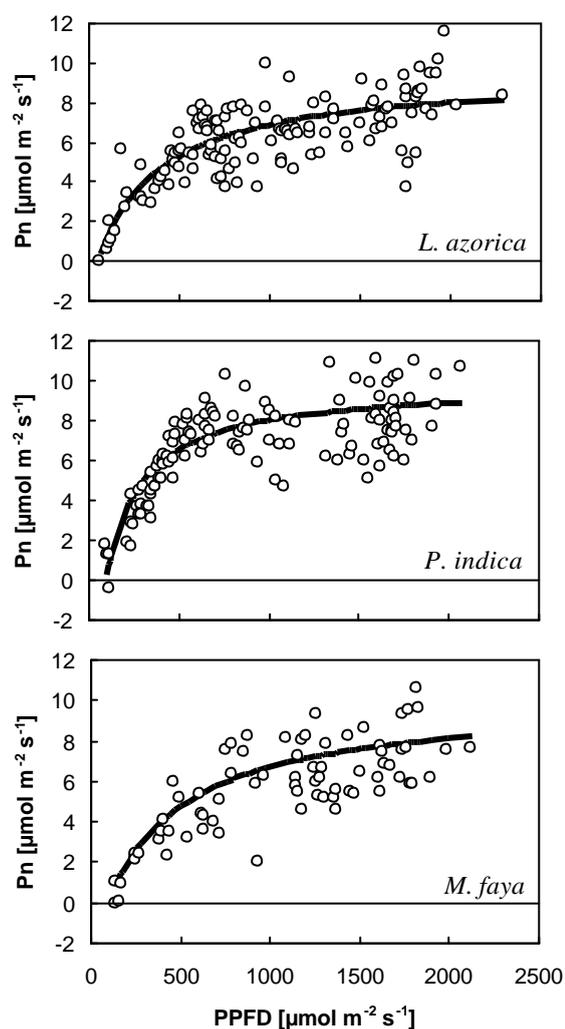


Fig. 4.3.30. Curva de respuesta de la Pn a la luz en hojas de sol de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya*, a temperatura óptima y Gs no limitante. La curva resultante es el ajuste de los puntos según la ecuación 1.

A continuación estudiamos la respuesta de la Pn a la PPFD, para ello, se tomaron únicamente, los datos en los que la temperatura foliar era óptima y la conductancia estomática no suponía una limitación a la fotosíntesis (por encima de $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y las curvas resultantes (Fig. 4.3.30) se ajustaron a una ecuación de una hipérbola compleja, no rectangular (Ecuación 1).

Para las hojas de sol de *L. azorica*, se obtuvo una fotosíntesis máxima (Pn_{max}) de $8 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, el punto de compensación luminoso (PCL) fue de $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y el punto de saturación lumínico (PSL) es decir, la luz para alcanzar la fotosíntesis máxima, se alcanzó por encima de $750 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. El rendimiento cuántico aparente (ϕ_{ap}) fue de 0.020 y la respiración de oscuridad (Rd) de $0.7 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Las hojas de sol de *P. indica* mostraron una Pn_{max} de $8.5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, el ϕ_{ap} fue ligeramente superior a las de *L. azorica* (0.024), mostrando mayores tasas de respiración de oscuridad ($Rd = 2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). El PSL y el PCL fueron de 750 y $75 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectivamente. Las hojas de sol de *M. faya* mostraron los valores de Pn_{max} y ϕ_{ap} más bajos ($7.64 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y 0.015, respectivamente). La Rd fue de $2.2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y los PSL y PCL fueron de 750 y $108.33 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectivamente (Fig. 4.3.30).

4.3.3.2.1.4. Curva de respuesta de la Pn a la Ci optimizada

La curva de respuesta de la Pn a la concentración de CO_2 intracelular (Ci) bajo condiciones naturales mostrada en la Fig. 4.3.29 refleja un funcionamiento complejo y por lo tanto de difícil interpretación. A continuación, presentamos esta misma respuesta bajo condiciones óptimas de luz, temperatura foliar y conductancia estomática (Fig. 4.3.31). Los resultados muestran como los valores de Ci se mantienen constantes entre 250-300 ppm para las tres especies, lo que supone un 74-89 % de los valores de CO_2 atmosférico en el momento de medida.

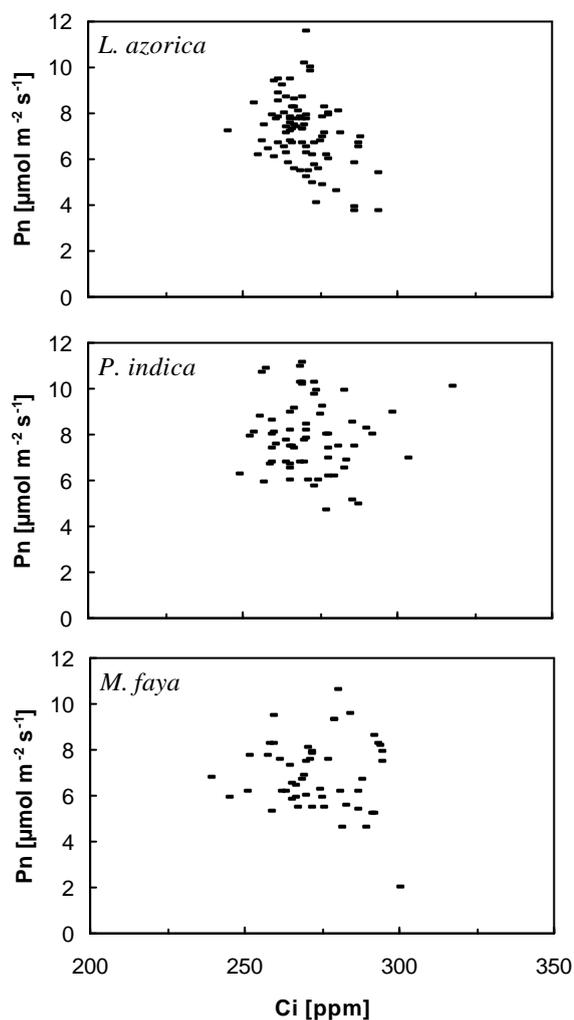


Fig. 4.3.31. Curva de respuesta de la fotosíntesis neta, P_n ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) a la concentración interna de CO_2 , C_i (ppm) en hojas de sol de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya*, a luz saturante, temperatura óptima y conductancia estomática no limitante.

4.3.3.2.1.5. Estacionalidad

Se estudió el grado de reducción del funcionamiento fotosintético con respecto a su potencial, es decir, la variación de los valores de P_n máximos mensuales obtenidos por el método de la “boundary”, en relación con su potencial calculado por el mismo método con los datos de todo el periodo de medida.

Como se puede apreciar de la Fig. 4.3.32, *L. azorica* fue la especie que menor grado de reducción sufrió a lo largo del año (81.4 % con respecto al potencial), seguida de *P. indica* (80.9 %) y en último lugar, *M. faya* (65.9 %). En las tres especies se observa como agosto y febrero fueron los meses en donde se produjo una mayor reducción. En *L. azorica* se observa como por lo general la reducción es bastante homogénea a lo largo del año, no existiendo grandes diferencias entre los meses. Esta merma en la fotosíntesis pudo ser debido a las altas temperaturas y el alto VPD que produjo una limitación estomática, aunque esto no fuera tan patente en *L. azorica*. Sin embargo, en la mayoría de los casos la reducción de la P_n con respecto a su potencial se correspondió, con valores de G_s superiores a $200 \text{ mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, lo cual reflejó que esta reducción no era debido a una limitación estomática (Fig. 4.3.32). Esto podría

indicar un descenso en la P_n como consecuencia de un proceso fotoinhibitorio o un aumento de la fotorrespiración.

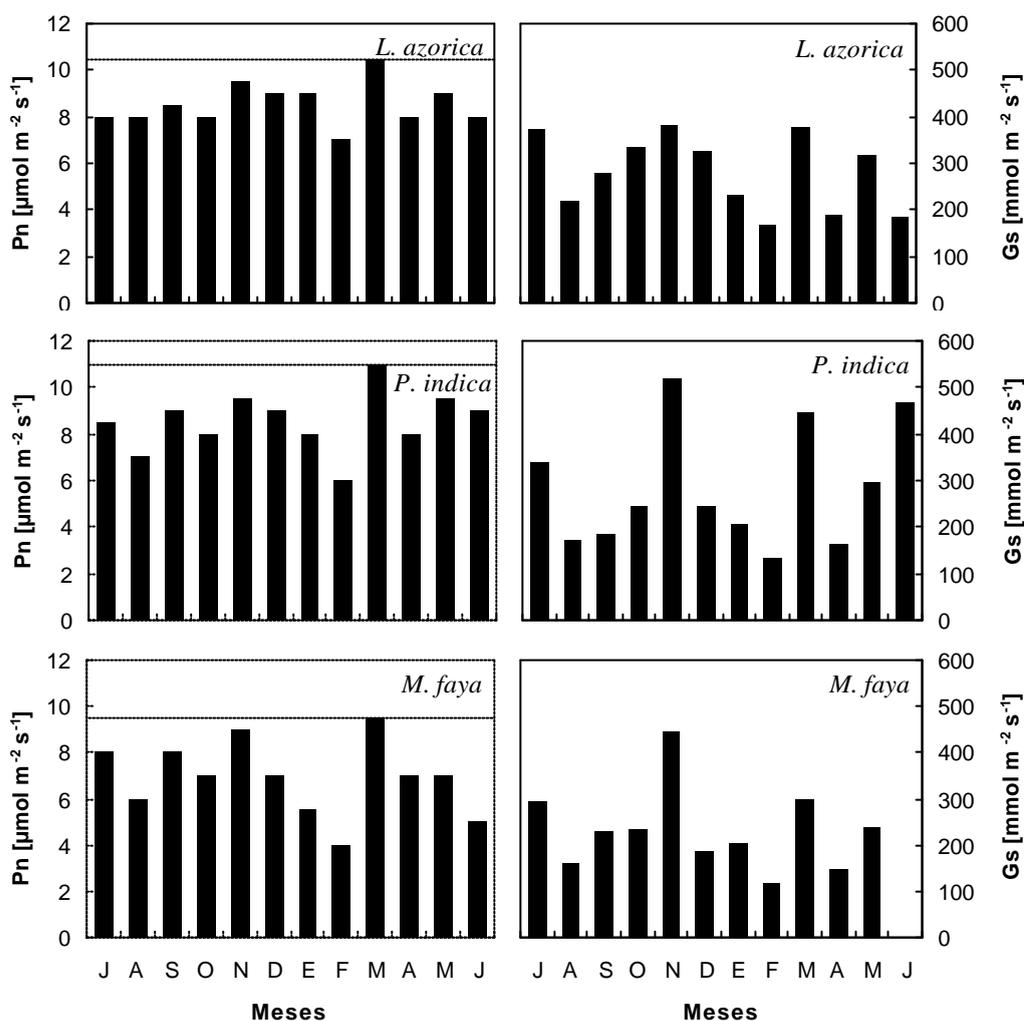


Fig. 4.3.32. Reducción de la Pn máxima mensual, calculada por el método de la "boundary", con respecto a su potencial (marcada por la línea de puntos) a lo largo del curso de medida y Gs media a luz saturante en hojas de sol de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya*.

4.3.3.2.1.6. Fotosíntesis neta y eficiencia en el uso del agua por día

Se integró la Pn realizada durante el día por las hojas de sol de cada especie a lo largo del año de estudio (Fig. 4.3.33). Los resultados reflejaron como, en general, *P. indica* fue la especie que más fotosintetizó por unidad de superficie de hoja, alcanzando valores medios 185 mmol m⁻² d⁻¹, y *M. faya* la que menos, tomando valores medios de 141 mmol m⁻² d⁻¹. En algunas ocasiones la Pn diaria de *L. azorica*, iguala e incluso supera a la de *P. indica*.

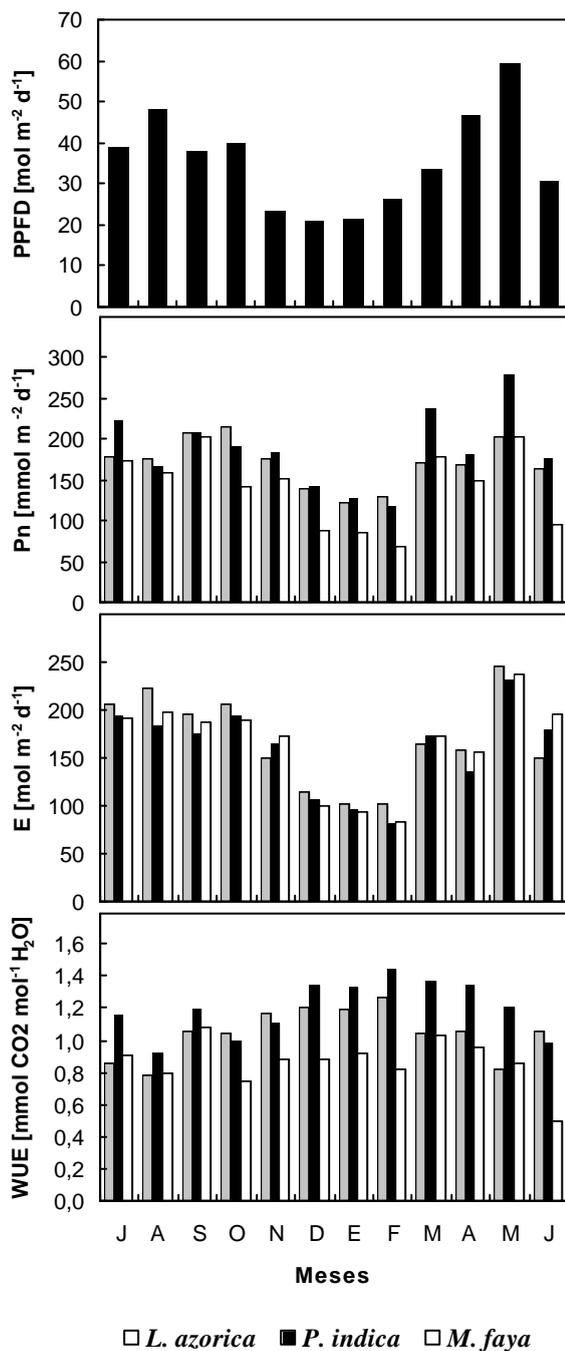


Fig. 4.3.33. Datos integrados diarios de Pn ($\text{mmol m}^{-2} \text{d}^{-1}$), E ($\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$), WUE ($\text{mmol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{H}_2\text{O}$) y PPFD ($\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$) a lo largo del curso anual de medida en hojas de sol de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya*.

Los valores de Pn y de E diarios más bajos, se observaron en el periodo comprendido entre diciembre y febrero, donde los días son más cortos, muchos de ellos nublados y cuando el sol, por su mayor inclinación, disminuye incluso su intensidad (ver Fig. 4.3.33). Los valores de Pn diaria se correlacionaron bien con los de PPFD total del día ($p < 0.001$) (Fig. 4.3.34).

Los valores de la eficiencia en el uso de agua (WUE) a lo largo del año de medida fueron bastante bajos. La tendencia general es que *P. indica* presentó valores de WUE superiores a *L. azorica* y *M. faya* (Fig. 4.3.33). El rango de WUE para las hojas de sol de *P. indica* osciló entre $1.4 \text{ mmol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{H}_2\text{O}$ (alcanzado en el mes de febrero) y $0.9 \text{ mmol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{H}_2\text{O}$ (alcanzado en el mes de agosto). La época en donde se alcanzaron los valores máximos y mínimos para *L. azorica* se correspondieron con los citados para *P. indica*, pero con valores más bajos ($1.25 \text{ mmol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{H}_2\text{O}$ y $0.8 \text{ mmol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{H}_2\text{O}$, respectivamente). *M. faya* mostró a lo largo de todo el año valores de WUE inferiores a 1. Esto refleja que *M. faya* es la especie menos eficiente en el uso del agua.

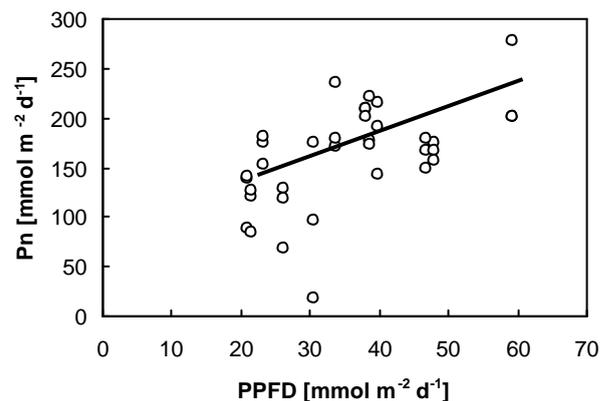


Fig. 4.3.34. Relación entre la Pn diaria ($\text{mmol m}^{-2} \text{d}^{-1}$) y la luz diaria ($\text{mmol m}^{-2} \text{d}^{-1}$). Se muestran los datos de las tres especies. $R=0.573$, $p < 0.001$.

4.3.3.2.1.7. Fotosíntesis neta y eficiencia en el uso del agua por año

La Pn diaria media producida por las hojas de sol a lo largo del curso anual de medida fue de $161.62 \text{ mmol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ y la E de $162.75 \text{ mol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$. En base a esto, podemos calcular la Pn global a lo largo del año, la cual nos da un valor de $59 \text{ mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ año}^{-1}$ ($2.6 \text{ Kg CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ año}^{-1}$). De igual manera se calculó la WUE, siendo de $2.43 \text{ g CO}_2 \text{ Kg}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$.

4.3.3.2.2. *Intercambio gaseoso en hojas de sombra*

4.3.3.2.2.1. Cursos diarios y respuesta de la Pn a la PPFD

También se han estudiado cursos diarios de intercambio gaseoso aunque con menos días de medida, en las hojas de sombra, obteniéndose valores muy homogéneos en los diferentes parámetros, debido a las condiciones meteorológicas más estables, sobretodo a la baja iluminación. Los valores de Gs oscilaron alrededor de $100 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, y los de E entre 2 y $4 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

El análisis de los cursos diarios, en las condiciones de umbría en las que se encuentran estas hojas, mostró que los valores de Pn oscilaron entre -2 y $2 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, esto significa que las hojas de sombra, por lo general, se encuentran, a lo largo del día, con muy bajas tasas de Pn, cerca del punto de compensación o incluso respirando (Fig. 4.3.35). Por lo general, la luz que incidió sobre las hojas de sombra no sobrepasó, a lo largo del día, valores de PPFD superiores a $200 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Para la caracterización de la respuesta fotosintética de las hojas de sombra a la luz, se movieron las ramas de la parte baja del dosel con el fin de que la luz incidiera directamente sobre las hojas de sombra. Se realizaron curvas de respuesta a la luz, desde 0 hasta $2000 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, gracias al uso de unas gasas que se colocaban encima de la ventana de metacrilato de la cámara, para conseguir las diferentes intensidades de luz. En la Fig. 4.3.36 se muestran las curvas de respuesta de la Pn a la luz, resultantes de varios días de medida para las hojas de sombra de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya*. Las tasas máximas de Pn (Pn_{max}) alcanzadas por las hojas de sombra de las tres especies fueron alrededor de $5 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, y el PSL de $500 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

De igual manera que para las hojas de sol, se calculó la Pn media diaria alcanzando un valor de $29.47 \text{ mmol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ para las tres especies. La Pn global anual fue de $10.58 \text{ mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ año}^{-1}$ ($0.47 \text{ Kg CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ año}^{-1}$).

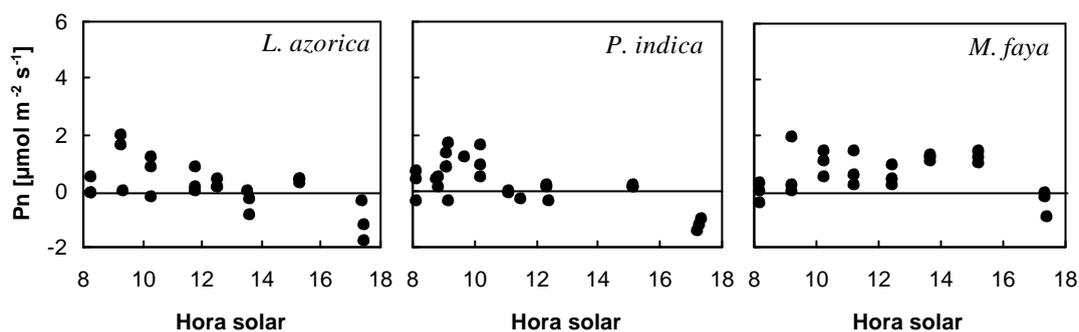


Fig. 4.3.35. Curso diario de fotosíntesis neta (Pn) en las hojas de sombra de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* (5 de abril de 1995). La luz no sobrepasó los $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

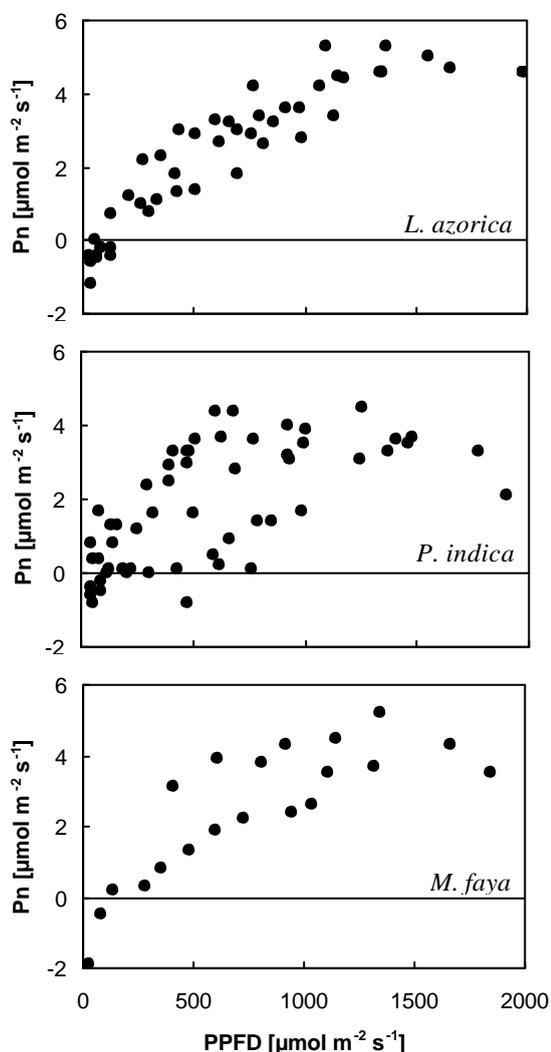


Fig. 4.3.36. Curva de respuesta de la Pn a la luz en hojas de sombra de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya*. Se representan los datos de diferentes días de medida.

4.3.3.2.3. Fotosíntesis a nivel de bosque

La Pn de toda la cubierta vegetal por superficie de suelo, sería máxima si todas las hojas de un árbol fueran igualmente iluminadas, pero esto, obviamente, es algo irreal, ya que las hojas de la parte superior sombrean, irremediablemente, a las hojas situadas en las partes bajas. En base al estudio de las características de nuestra parcela: LAI, grado de interceptación de luz (Aschan *et al.* 1997) y perfil morfológico de las hojas estudiado, asumimos que en el dosel vegetal la relación entre las hojas de sol y las hojas de sombra es de 1.

Como conocemos los valores de Pn tanto de las hojas de sol como de sombra y el LAI de nuestra parcela de estudio (7.8), podemos calcular la Pn por m^2 de suelo. Para el cálculo de la Pn por m^2 de suelo en nuestra parcela podemos desarrollar dos aproximaciones.

4.3.3.2.3.1. Pn por m^2 de suelo asumiendo que todo el dosel vegetal estuviera a luz saturante

A partir de la Pn máxima media para las hojas de sol y de sombra de las tres especies estudiadas, calculada a partir de la

curva optimizada para la luz (7 y 4.5 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectivamente) y conociendo como contribuye cada tipo de hoja en el LAI de la parcela, podemos calcular la Pn por m^2 de suelo que se realiza en ella, la cual nos da un valor de 44.85 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ suelo s}^{-1}$. Este valor, por supuesto, es el valor máximo teórico que se podría obtener en nuestro bosque, asumiendo que a todas las hojas de dosel les llegara una luz saturante para alcanzar sus valores de Pn_{max} y que el resto de las condiciones fueran favorables.

4.3.3.2.3.2. Pn total por m^2 de suelo a partir de datos de Pn diarios

A partir de los datos de Pn integrada por día para las hojas de sol y de sombra de las tres especies, calculamos la Pn media por día para cada tipo de hoja y en base al LAI de la parcela, obtuvimos un valor de 745.25 $\text{mmol CO}_2 \text{ m}^{-2}$ de suelo d^{-1} , o lo que es lo mismo, 8.6 $\mu\text{mol m}^{-2}$ de suelo s^{-1} . Este resultado difiere considerablemente del calculado en el apartado anterior, siendo 5 veces menor, sin embargo, este valor se aproximaría en mayor medida a la Pn real que se produce por m^2 de bosque.

El estudio en detalle de la estructura del dosel vegetal de nuestra parcela, nos permitió conocer el área foliar que aportaba cada una de las especies, gracias a ello podemos conocer el porcentaje que aporta a la Pn total cada una de las tres especies. Así, *M. faya* es la especie que más aporta a la Pn total, 44 %, seguida de *L. azorica* con un 33 %, siendo *P. indica* la especie con menor porcentaje, 10 %. El 13 % restante lo aportan las otras especies que se encuentran dentro de la parcela (*Ilex canariensis*, *Ilex platyphylla*, *Erica arborea*), asumiendo que en todas ellas la Pn sea similar a la registrada en las especies estudiadas.

4.3.4. DISCUSIÓN

En este apartado, hemos analizado las características del intercambio gaseoso en hojas de primer año y totalmente desarrolladas, de sol y de sombra a lo largo de todo un curso anual. Los datos obtenidos son el resultado de medidas puntuales que dan una buena estima del funcionamiento real de las especies de estudio *in situ*.

En general, el estudio de los cursos diarios en las tres especies mostró la típica respuesta de la Pn con respecto a la luz. En algunos días de medida se observó una disminución de la Gs al mediodía o incluso antes, ésta se mantuvo con valores bajos hasta la noche, con lo que no se podría hablar de un típico cierre estomático del mediodía, sin embargo, curvas diarias de Pn con depresión al mediodía se han visto en especies de zonas templadas (Hodges 1967; Dougherty & Hinckley 1981) y en plantas de clima mediterráneo (Tenhunen *et al.* 1981; Pereira *et al.* 1986).

El análisis del funcionamiento fotosintético de las hojas, se estudió por su respuesta a la luz y a la conductancia estomática. La respuesta del funcionamiento fotosintético de las hojas a la luz mostró, tanto en las hojas de sol como de sombra de las tres especies, la conducta típica esperada. Así las hojas de sol alcanzaron PCL, PSL y Rd más altos que las hojas de sombra. La respuesta a la conductancia estomática mostró una limitación de la Pn a Gs inferiores a 200 $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Los bajos valores de Pn encontrados en las hojas de sombra, fueron debidos a la estructura del dosel vegetal de nuestra parcela de estudio, que al ser tan densa (LAI de 7.8 ver apartado 4.1) la atenuación de la luz fue muy intensa. Esto pone de manifiesto la enorme importancia que tienen los cortos periodos de tiempo en que estas hojas están iluminadas por luz intensa a lo largo del día, conocidos en la terminología inglesa como “sunflecks”. La importancia del aprovechamiento de estos cortos e intensos instantes de luz para las hojas de sombra se puso de manifiesto principalmente con los trabajos realizados por Pearcy (1990), en la actualidad existen un gran número de trabajos sobre este aspecto (Le Gouallec *et al.* 1990; Pearcy & Pfitsch 1991; Sims & Pearcy 1993; Pearcy 1994; Pearcy *et al.* 1994; Ögren & Sundin 1996). Uno de los requisitos necesarios para la utilización de esta luz para la fotosíntesis es la rápida y coordinada reacción de los estomas y también de la maquinaria tanto biofísica como bioquímica de la asimilación del CO₂.

Las hojas de sol de bosques lluviosos tropicales presentan un PCL de 12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, y las hojas de sombra entre 6 y 12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Lüttge 1985). Para bosques tropicales, en general, los valores para las hojas de sol de árboles son un poco más altos entre 15-25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y para las hojas de sombra entre 5-10 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. En árboles siempreverdes planifolios no tropicales los valores dados para las hojas de sol oscilan entre 10 y 30 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, y para las hojas de sombra entre 2 y 10 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Larcher 1995). Nuestros valores de PCL bajo condiciones naturales fueron superiores a los valores aquí citados, asemejándose en mayor medida con los PCL dados para árboles planifolios caducos (Larcher 1995). Según Bauer *et al.* (1983) altos PCL reflejan altas tasas de respiración a la luz.

Los PSL para las hojas de sol de nuestras especies también fueron superiores que aquellos citados para bosques lluviosos tropicales, en donde el PSL para las hojas de sol de la parte superior del dosel se encuentra entre 250-370 y para las hojas de sombra de la parte inferior es de 125 (Lüttge 1985). En árboles de bosques tropicales oscila entre 600-1500 para las hojas de sol y 200-300 para las hojas de sombra, este rango es muy similar a las hojas de sol de árboles siempreverdes planifolios no tropicales (600-1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y a las hojas de sombra (100-300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (Larcher 1995), y se encuentran dentro de los valores encontrados para nuestras especies.

Las hojas de sol de la mayoría de los árboles llegan a saturarse con 25-30 % de la luz solar máxima (Sprugel 1989). En nuestro caso, las hojas de sol de las tres especies se saturaron con un 37.5 % de la luz total y las hojas de sombra con un 25% de la luz total.

Por lo general, la fotosíntesis en árboles es bastante variable, su valor máximo en condiciones naturales oscila entre 3 y 30 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Ceulemans & Saugier 1991). El análisis de la respuesta de la Pn a la luz, ya sea por el método de la “boundary” o por el análisis de los datos una vez optimizados, mostró que los valores de Pn_{max} para las hojas de sol y de sombra de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya*, se encontraban dentro del rango citado para especies arbóreas.

La tasa máxima de captura de CO₂ bajo condiciones naturales de CO₂ atmosférico y condiciones óptimas con respecto a todos los otros factores ambientales, es característica de grupos y especies de plantas y es denominada capacidad fotosintética (Am). Ciertas especies arbóreas planifolias como el roble (*Quercus*) y el haya (*Fagus*) tienen capacidades fotosintéticas de sólo 3-6 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, estos valores son mucho más bajos que los obtenidos en especies de valor agronómico u hortícola. La capacidad fotosintética de

árboles planifolios siempreverdes como *Nothofagus fusca* es de $4 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Hollinger 1987), *Quercus ilex* entre $3\text{-}7 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Eckardt *et al.* 1975), *Q. coccifera* es de $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Tenhunen *et al.* 1987), *Eucalyptus behriana* es de $8 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Küppers *et al.* 1987) y *E. microcarpa* fue de $15 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Sharkey 1984).

Nuestras especies de estudio, árboles planifolios siempreverdes, muestran valores de A_m de 8.5, 8 y $7.6 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para las hojas de sol de *P. indica*, *L. azorica* y *M. faya*, respectivamente. Las hojas de sombra de las tres especies mostraron valores que oscilaron entre 4 y $5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Las hojas de sol de bosques lluviosos tropicales presenta una A_m que oscila entre 10 y $16 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, mientras que las hojas de sol de árboles siempreverdes de hoja ancha de las zonas subtropicales y templadas muestran un rango entre 6 y $12 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, aunque en casos excepcionales se han registrados valores de $20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Larcher 1995). Así las hojas de sol de las especies de la laurisilva canaria mostraron valores de A_m más próximos a los árboles siempreverdes de las regiones subtropicales y templadas que a los tropicales. En cuanto a las hojas de sombra, las especies arbóreas tropicales presentan tasas que oscilan entre 5 y $7 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, y en los bosques lluviosos tropicales entre 4 y $5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Lüttge 1985), mientras que aquellas situadas en las regiones subtropicales y templadas son ligeramente inferiores ($2\text{-}4 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (Larcher 1995). Nuestras especies se encontraban entre el límite inferior de los valores de A_m dados para las especies tropicales, y en el límite superior de las especies subtropicales y templadas, ajustándose a los valores dados para bosques lluviosos tropicales. Así tanto en los valores obtenidos para las hojas de sol como de sombra, estas especies presentan una conducta similar a la de los bosques lluviosos tropicales.

Las medidas de intercambio gaseoso que se han llevado a cabo en este estudio no sólo nos dan información de la P_n que presentan estas plantas, sino también de otros parámetros fisiológicos como son la transpiración y la conductancia estomática. Al comienzo de la realización de esta tesis hicimos estudios preliminares sobre la transpiración de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya*, mediante métodos porométricos en colaboración con el equipo del Prof. Lösch (Zöhlen *et al.* 1995). En este trabajo obtuvimos tasas de transpiración máximas en hojas de sol de alrededor de $4 \text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para *L. azorica* y *P. indica*, y de $6 \text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para *M. faya*. Estas tasas se encuentran por debajo de las tasas medias máximas alcanzadas en el presente estudio (superiores a 6 para *L. azorica* y *P. indica*), sin embargo hay que destacar que los días de medida descritos en este trabajo se refieren únicamente a la época de primavera, en nuestro caso vemos una variabilidad en las tasas de transpiración de nuestras especies a lo largo del curso de medida, existiendo días en donde sí se obtuvieron valores de E próximos a los citados en Zöhlen *et al.* (1995).

En un estudio anterior, Höllwarth & Kull (1979) observaron en *L. azorica* y *M. faya* depresiones al mediodía, debidas a un cierre estomático. Además realizaron un estudio comparativo entre *L. azorica* y *M. faya* en dos estaciones con diferentes características climáticas (estación seca y húmeda) mostrando que *L. azorica* presentaba valores de transpiración más altos que *M. faya* en la estación seca, pero no observaron diferencias significativas en la estación húmeda. Bajo estos resultados apuntaron que *M. faya* presenta un mejor control de la transpiración lo cual podría ser importante para su capacidad de competencia, especialmente favoreciéndose como especie de comunidades de sustitución

(Höllwarth & Kull 1979). Estas características no han sido observadas a lo largo del estudio anual, al igual que tampoco fueron observadas por Zöhlen *et al.* (1995).

La variación de las tasas fotosintéticas de árboles siempreverdes a lo largo del año ha sido un factor importante de estudio. Las fluctuaciones de las tasas fotosintéticas durante el invierno varía según la región climática donde nos encontremos pero puede ser importante incluso en zonas templadas. En regiones con inviernos severos la Pn es insignificante, sobre todo cuando las noches con heladas son prolongadas (Larcher & Bauer 1981). En regiones mediterráneas la capacidad fotosintética se reduce, pero sólo, ligeramente durante el invierno, esto ha sido visto en árboles mediterráneos de hojas siempreverdes como es *Olea europaea* (Larcher 1961) y *Arbutus unedo* (Beyschlag *et al.* 1990), en donde los valores de Am disminuyeron significativamente entre diciembre y febrero. Sin embargo, en *Ceratonia siliqua* (algarrobo), árbol propio de las regiones de clima mediterráneo, se observó una disminución de la Pn_{max} en la época del verano (julio-septiembre) alcanzando los valores más bajos a finales de septiembre y los valores más altos a mitad de noviembre (Nunes *et al.* 1992). En el sureste de los Estados Unidos, incluso llegan a incrementar su peso seco en los meses de invierno, indicando una actividad fotosintética en esta época (Kozlowski & Pallardy 1997). En nuestro estudio la variación en la Pn a luz saturante en condiciones naturales a lo largo del curso de estudio fue bastante variable, mostrando valores bajos entre diciembre y febrero, pero también en la época de verano, sobre todo en *P. indica* y *M. faya*.

Si atendemos al estudio a largo plazo de la ganancia de CO₂ y de la WUE, en las hojas de sol de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya*, vemos como la captura de CO₂ mostrada en nuestro estudio (2.6 Kg CO₂ m⁻² año⁻¹ o 16.8 g CO₂ g_{DW}⁻¹ año⁻¹), se asemeja a la que encontraron Zotz & Winter (1994) en *Ceiba pentandra*, un árbol de los bosques de zonas bajas en Panamá, los cuales mostraron un valor de 2.6 Kg CO₂ m⁻² año⁻¹ (21 g CO₂ g_{DW}⁻¹ año⁻¹), aunque en este caso se tuvo en cuenta la respiración de la noche. Sin embargo, estos valores son bastante altos si los comparamos con los valores dados para especies arbóreas de zonas templadas, como son entre 8 y 13 g CO₂ g_{DW}⁻¹ año⁻¹ para *Fagus sylvatica* (Schulze 1970; Künstle & Mitscherlich 1977), 14 g CO₂ g_{DW}⁻¹ año⁻¹ par *Betula verrucosa* Ehrh. (Künstle & Mitscherlich 1977) y 15 g CO₂ g_{DW}⁻¹ año⁻¹ para *Acer campestre* L. (Küppers 1984).

En lo que respecta a la WUE, nuestras especies mostraron valores bastante bajos (2.5 10⁻³ g CO₂ g⁻¹ H₂O) cuando los comparamos con árboles de zonas templadas, por ejemplo *Fagus sylvatica* (8.2 10⁻³ g CO₂ g⁻¹ H₂O, Schulze 1970) y *Acer campestre* (17.1 10⁻³ g CO₂ g⁻¹ H₂O, Küppers 1984) e incluso inferior al obtenido para *Ceiba pentandra* (árbol tropical) que presentó valores de 6.5 10⁻³ g CO₂ g⁻¹ H₂O (Zotz & Winter 1994). Estos bajos valores en WUE en *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* reflejan las altas tasas de transpiración y el bajo control estomático que presentan estas especies como fue descrito por Lösch (1993), en nuestro trabajo previo (Zöhlen *et al.* 1995), y corroborado al medir la transpiración a nivel de árbol completo registrando el flujo de savia (Jiménez *et al.* 1996).

En general, los árboles presentan una baja tasa de crecimiento incluso bajo condiciones óptimas (Lambers 1987). Cuando se comparan diferentes tipos de bosques, los de coníferas de las zonas templadas y boreales, a pesar de tener capacidades fotosintéticas moderadas, pueden alcanzar e incluso exceder la productividad total de los bosques planifolios de zonas templadas y tropicales, (Schulze 1982; Jarvis & Sandford 1986). Esta

diferencia no es debida a la actividad respiratoria, ya que la respiración de las coníferas no es significativamente diferente a las especies planifolias deciduas o perennes. La explicación de la aparente discrepancia entre la capacidad fotosintética y la productividad de un número de especies de coníferas puede ser debida a índices de área foliar (LAI) elevados, alta acumulación de biomasa foliar (Schulze 1982), una eficiente estructura de la cubierta vegetal (Beadle *et al.* 1985; Sprugel 1989) y una mayor longevidad de sus hojas.

El grosor de la hojas y la relación peso-área desciende desde la parte alta hasta la parte baja del dosel vegetal, así especies tolerantes a la sombra presentan una mayor variación entre la parte alta y baja del dosel. Esta característica se encuentra presente en nuestra parcela de estudio. Gutschick & Wiegel (1988) interpretaron esta variación en la relación peso-área como una forma de maximizar la fotosíntesis de todo el dosel vegetal.

El rango de duración de las hojas en el árbol es una característica relevante existiendo una tendencia a tener tasas de fotosíntesis más bajas en especies con hojas más longevas (Ceulemans & Saugier 1991). En el caso de las especies estudiadas no conocemos ningún estudio sobre la longevidad de las hojas, según nuestras observaciones, al menos tres años las hojas de sol y posiblemente más las de sombra, aunque un estudio sistemático y preciso no se ha realizado.

Así en función del estudio de estos parámetros, podemos decir que las características que presenta nuestro bosque son unas bajas tasas de P_n , relacionado con una longevidad media de sus hojas, un alto LAI y una adaptación morfológica de sus hojas a lo largo del dosel como mecanismo de optimización de la ganancia de CO_2 del bosque.

Por último, y gracias al conocimiento de la estructura del dosel vegetal, se intentó dar una aproximación cuantificada de la fotosíntesis global a nivel de dosel. La fotosíntesis a nivel de dosel es básicamente la integración (o la suma) de las tasas fotosintéticas de todas las hojas que lo forman. Así depende de las características de las hojas (área total, orientación hacia la luz, capacidad fotosintética individual) así como de los diferentes factores ambientales, principalmente la luz.

Especies con capacidad fotosintética baja pueden ser muy importantes en el balance del bosque, porque interviene el LAI que aporta la especie en concreto, es decir, puede tener una A_m baja pero al ser su LAI alto proporciona gran fotosíntesis al bosque. En nuestro caso vemos como *P. indica* tiene tasas de $P_{n_{max}}$ algo más altas que *L. azorica* y *M. faya*. Sin embargo en nuestro bosque si atendemos al LAI por especie vemos como *L. azorica* y *M. faya* son las especies que más contribuyen al LAI total de la parcela de estudio. Así es *M. faya* la especie que contribuye en un 44% al P_n total del bosque, *L. azorica* 33% y *P. indica*, 10%.

4.3.5. CONCLUSIONES

El rango de temperatura foliar óptima para la fotosíntesis fue similar para las tres especies estudiadas, oscilando entre 21-26°C (algo más reducido en *P. indica* 19-25°C).

Las curvas de respuesta de la P_n a la luz mostraron que las hojas de sombra de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya*, presentaban puntos de compensación a la luz más bajos, mayor rendimiento cuántico aparente y tasa de respiración en oscuridad más bajas por unidad de área foliar, que las hojas de sol.

La capacidad fotosintética media de las hojas de sol de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* fue de $7 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y de las hojas de sombra de $4.5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, las cuales se encuentran dentro del rango dado para los bosques lluviosos tropicales.

No se encontró una clara estacionalidad en las características de intercambio gaseoso. Las tasas máximas de P_n se correspondieron con los meses de marzo y mayo porque las condiciones ambientales fueron más propicias, más agua en el suelo, y mayor humedad atmosférica. Sin embargo, la E fue similar durante todo el año con la excepción de los meses de verano en que disminuyó.

Los bajos valores de WUE están en conformidad con los altos valores de transpiración y el bajo control estomático, caracteres que las hace dependientes del hábitat húmedo en donde se desarrollan.

4.4. INTERCAMBIO GASEOSO EN CONDICIONES DE CO₂ NO LIMITANTE

4.4.1. INTRODUCCIÓN

Hasta ahora hemos estudiado el intercambio gaseoso que realizan las hojas de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* en condiciones naturales (bajo concentraciones de CO₂ ambiental) mediante la técnica basada en el análisis de gases por infrarrojo. Sin embargo, la fotosíntesis en hojas enteras también puede ser medida mediante la detección, por polarografía, del oxígeno que se libera en el proceso fotosintético con un electrodo de oxígeno. El uso del electrodo de oxígeno en fase gaseosa es ideal para conocer las tasas máximas de fotosíntesis porque puede ser utilizado en condiciones de CO₂ saturante, en donde el metabolismo fotorrespiratorio se encuentra totalmente suprimido (Edwards & Walker 1983; Walker 1988). De igual forma, el estudio de las tasas de oxígeno desprendido a diferentes intensidades luminosas nos dará información sobre el rendimiento cuántico bajo condiciones óptimas.

El rendimiento cuántico de la fotosíntesis, se define como la cantidad de moles de O₂ desprendido, o de CO₂ absorbido, por mol de fotón absorbido en el aparato fotosintético. En nuestro caso estudiaremos el rendimiento cuántico en base a la luz incidente (ϕ_i).

El objetivo de este capítulo es conocer las tasas de fotosíntesis máxima a las que pueden llegar estas especies cuando la concentración de CO₂ ambiental no es un factor limitante. Estos valores de fotosíntesis máxima nos darán información sobre el verdadero potencial fotosintético de estas especies bajo condiciones en donde la fotorrespiración está totalmente inhibida.

4.4.2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se recolectaron hojas de sol y de sombra desarrolladas del primer año de vida, de árboles de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya*, situados en la parcela de estudio en Agua García. El acceso a las partes altas (hojas de sol) y bajas (hojas de sombra) del dosel vegetal fue posible gracias a la torre de madera de 20 m de altura que ya ha sido nombrada con anterioridad.

Las hojas, una vez recolectadas, se llevaban inmediatamente al laboratorio y se ponían en una atmósfera saturante y a temperatura ambiente durante toda la noche. Al día siguiente, se medía el grosor de las hojas entre los nervios principales en la parte central de la hoja con un micrómetro (Mitutoyo J15 b7502, Japón), corroborando con ello que presentaban las características morfológicas propias de las hojas de sol y de sombra. Antes de introducirlas en el electrodo de O₂, se les medía la fluorescencia de la clorofila para constatar que estaban en perfecto estado, luego se cortaba un disco foliar de 10 cm² de superficie y se introducía en la cámara del electrodo. En el caso de *M. faya*, al ser las hojas

de menor tamaño, se calculaba el área exacta que se introducía en la cámara del electrodo, mediante el método de pesada, para hacer posteriormente las correcciones de los valores obtenidos con respecto al área real de medida.

Las medidas de intercambio gaseoso se realizaron con un electrodo de O₂ en fase gaseosa (Hansatech, NE, U.K.), descrito en detalle en el apartado 3.2.2.2., en condiciones de CO₂ saturante. La temperatura de la cámara fue de 25°C, ya que en el estudio del intercambio gaseoso realizado en condiciones naturales observamos que esta temperatura se encuentra dentro del rango de temperatura óptima para la fotosíntesis en las tres especies de estudio.

La hoja, una vez colocada dentro de la cámara del electrodo de O₂, se dejaba 1 h en oscuridad (durante este tiempo se realizaba la calibración), transcurrido el cual se la sometía a un periodo de preiluminación durante 10 min a 125 μmol m⁻² s⁻¹, con el fin de activar la hoja después del largo periodo de oscuridad al que había estado sometida. Después del periodo de preiluminación, se realizaba una curva de luz cuya intensidad luminosa iba desde 0 hasta 900 μmol m⁻² s⁻¹, a través de 15 puntos de medida, con el fin de tener datos suficientes para un buen cálculo del rendimiento cuántico. Basándonos en el procedimiento recomendado por Walker (1987), se realizaron curvas de luz consecutivas intercaladas por periodos de 10 min de oscuridad, hasta conseguir la curva de luz que mostrara los valores de fotosíntesis más altos.

El número de réplicas para cada especie y tipo de hoja fue de 6.

Una vez terminada la medida, los discos foliares se colocaban en una estufa durante 48 h a 100 °C, con el fin de conocer el peso seco y con ello el peso específico foliar (SLW) mediante la relación peso seco por área de hoja.

4.4.3. RESULTADOS

4.4.3.1. Características de las hojas

Las características morfológicas de las hojas estudiadas se correspondieron con los valores dados para las hojas de sol y de sombra de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* en el apartado 4.2. (Tabla 4.4.1). Se observaron diferencias significativas en el grosor de la hoja y

Tabla 4.4.1. Valores medios del grosor de las hojas (μm) y el peso específico foliar, SLW (g m⁻²) en las hojas de sol y de sombra de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya*.

Especie	Tipo de hoja	Grosor	SLW
<i>L. azorica</i>	Sol	330	157.2
	Sombra	246	99.8
<i>P. indica</i>	Sol	342	154.4
	Sombra	210	65.6
<i>M. faya</i>	Sol	363	130.4
	Sombra	217	74

el SLW entre las hojas de sol y de sombra de las tres especies estudiadas.

Las medidas de fluorescencia de la clorofila en las hojas antes de ser analizadas, mostró que éstas se encontraban sanas. Así, los valores medios de Fv/Fm para las hojas de sol y de sombra de *L. azorica* fueron de 0.803 y 0.820; 0.793 y 0.807 para las hojas de sol y de sombra de *P. indica*; y 0.820 y 0.829 para las hojas de sol y de sombra de *M. faya*, respectivamente.

4.4.3.2. Medidas con el electrodo de oxígeno

En la Fig. 4.4.1 se muestra una curva de respuesta a la luz obtenida con el electrodo de oxígeno tal y como la analiza el programa específico (Hansatech, NE, U.K.) incluido en el equipo. El análisis en detalle de la curva nos da información sobre la fotosíntesis máxima ($P_{n_{max}}$), el rendimiento cuántico en base a la luz incidente (ϕ_i), el punto de compensación luminoso (PCL) y la respiración de oscuridad (Rd) en condiciones de CO₂ no limitante.

A partir de todas las curvas obtenidas para cada especie y condición de hoja, se calcularon los valores medios de los parámetros mencionados (Fig. 4.4.2).

Los valores medios de $P_{n_{max}}$ dentro de la misma especie, mostraron como las hojas de sol presentaron valores más altos que las hojas de sombra. El estudio entre especies no reveló grandes diferencias, mostrando las hojas de sol de *P. indica* los valores medios más altos. Los valores más bajos fueron obtenidos por las hojas de sombra de *L. azorica*, con un valor medio de $9.52 \mu\text{mol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

El valor medio de ϕ_i en las especies estudiadas osciló entre 0.0563 obtenido en las hojas de sol de *L. azorica* y 0.0704 para las hojas de sombra de *M. faya*. No se observaron diferencias significativas entre las hojas de sol y de sombra dentro de una misma especie ni entre las diferentes especies, es decir, el rango de ϕ_i era bastante constante en las diferentes especies y tipos de hoja.

Los valores del PCL entre las especies no fueron significativamente diferentes. El análisis según la condición de la hoja, para las tres especies estudiadas, mostró que las hojas de sol presentaron valores significativamente más altos que las hojas de sombra. Así, los valores medios obtenidos para las hojas de sol fueron de $36.1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1} \pm 4.3$ y para las hojas de sombra de $23.1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1} \pm 2.05$. Sin embargo, cuando se compararon los valores del PCL entre especies para el mismo tipo de hoja, no se observaron diferencias significativas.

El estudio de la Rd según la condición de la hoja, mostró que las hojas de sol de *P. indica* y *M. faya* presentaron valores significativamente más altos que las hojas de sombra, sin embargo, en *L. azorica* esta diferencia no fue significativa. Los valores medios de Rd obtenidos para las hojas de sombra fueron de $1.52 \mu\text{mol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} \pm 0.2$ y para las hojas de sol de $2.3 \mu\text{mol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} \pm 0.5$. Los valores medios de Rd para las hojas de sol fueron de 1.7, 2.5 y $2.7 \mu\text{mol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya*, respectivamente.

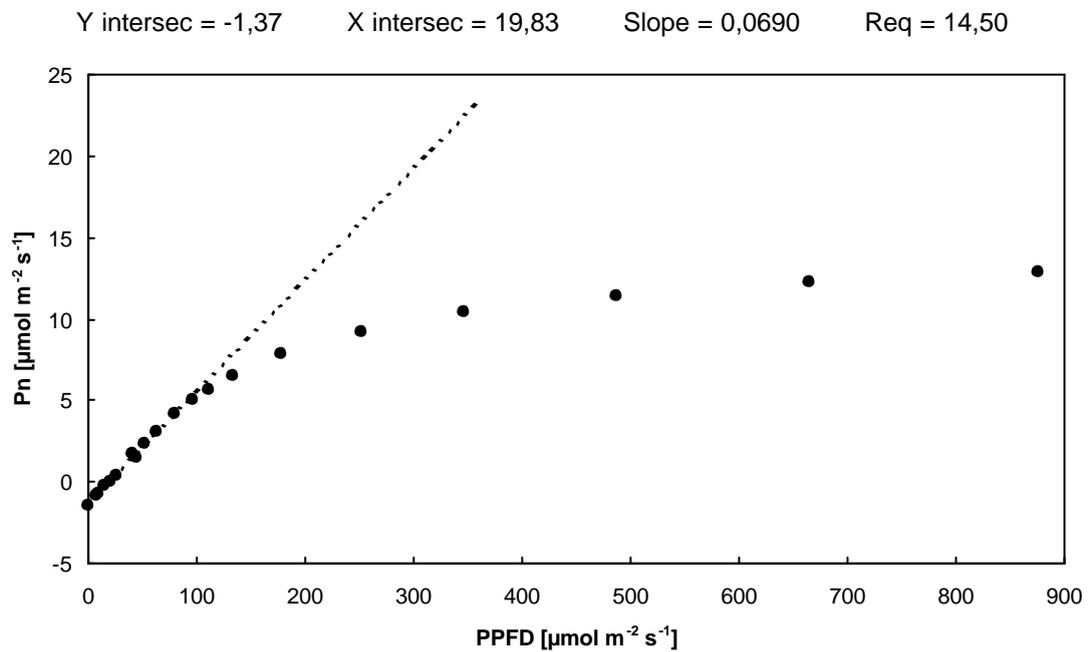
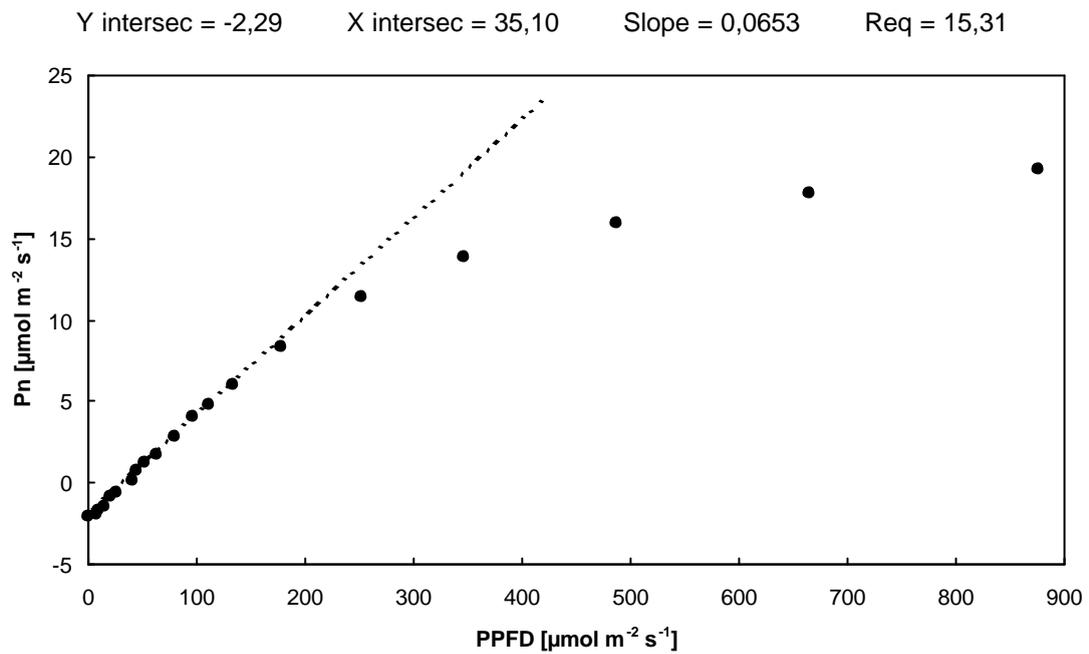


Fig. 4.4.1. Curva de respuesta de la tasa de desprendimiento de oxígeno a la luz en una hoja de sol (gráfica superior) y una hoja de sombra (gráfica inferior) de *P. indica*. En la parte superior de las gráficas se muestra: Y intersec = respiración de oscuridad, X intersec = punto de compensación luminoso, Slope = rendimiento cuántico y Req = requerimiento cuántico.

4.4.4. DISCUSIÓN

Bajo concentraciones de CO₂ ambiental, la relación CO₂/O₂ en el sitio de la rubisco, durante la fotosíntesis máxima, es de aproximadamente 0.025 y con este valor la relación de actividad carboxilasa a oxigenasa es de aproximadamente 2.5. Esto da una tasa de pérdida de CO₂ por fotorrespiración equivalente a un 20 % de la tasa de asimilación fotosintética bruta de CO₂. Cuando la concentración de CO₂ en el aire es 10 veces mayor a la normal la actividad oxigenasa prácticamente se elimina y la pérdida de CO₂ fotorrespiratorio se reduce a menos de un 2 % de la fotosíntesis bruta (Hatch 1992).

Numerosas investigaciones han demostrado una merma en la fotosíntesis, alrededor de un tercio, comparada con la fotosíntesis que se obtiene en ausencia de fotorrespiración (Wu *et al.* 1991). Sin embargo, en nuestro caso, los valores de Pn_{max} obtenidos bajo condiciones de CO₂ no limitante, aumentaron significativamente con respecto a las tasas de fotosíntesis máxima obtenidas en condiciones naturales. En general, los valores de Pn_{max} obtenidos a CO₂ no limitante, para las tres especies, fueron dos veces más altos que aquellos obtenidos bajo condiciones de CO₂ ambiental, siendo *M. faya* la especie que presentó el mayor incremento. Esta diferencia podría reflejar que, en esta especie, la fotorrespiración juega un papel más relevante de manera que, en condiciones de CO₂ ambiental la tasa de fotosíntesis se encuentra algo más reducida que en las otras especies, aunque otros factores ambientales también pueden ser los causantes de la disminución en condiciones naturales.

Si atendemos a las diferencias observadas entre los tipos de hoja según las condiciones de CO₂, se observó que las hojas de sombra presentaron un mayor incremento de Pn que las hojas de sol. Esto también podría ser explicado por un aumento de la fotorrespiración en condiciones naturales como un mecanismo de protección frente al exceso de luz. Estas hojas no se encuentran expuestas a altas intensidades luminosas, por lo que pueden presentar un sistema de pigmentos

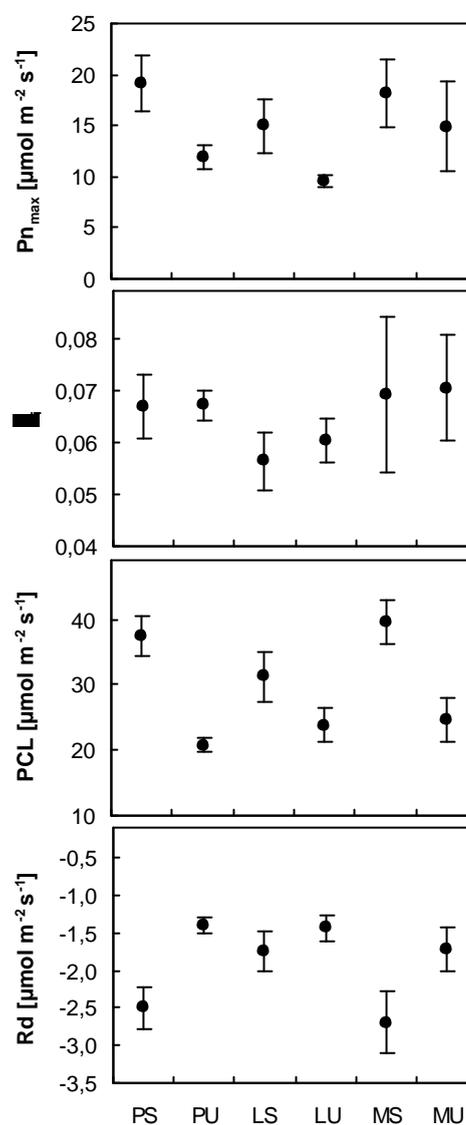


Fig. 4.4.2. Valores medios de fotosíntesis máxima (Pn_{max}), rendimiento cuántico en base a la luz incidente (ϕ_i), punto de compensación luminoso (PCL) y tasa de respiración de oscuridad (Rd) en condiciones de CO₂ no limitante. P: *P. indica*, L: *L. azorica*, M: *M. faya*, S: hojas de sol, U: hojas de sombra. Las barras simbolizan la desviación estándar.

inadecuado para la fotoprotección, de ahí que en condiciones de alta luz reaccionen presentando una mayor fotorrespiración. Se ha visto que en las hojas que sólo reciben los rayos directos del sol durante periodos muy pequeños de tiempo (“sunflecks”), el mecanismo protector no es la disipación de la energía mediante la zeaxantina, ya que no se han observado cambios en el estado de epoxidación de los pigmentos del ciclo de las xantofilas (Königer *et al.* 1995). Por otro lado, se ha demostrado que la fotorrespiración ejerce un papel importante en prevenir la fotoinactivación del transporte electrónico en hojas (Powles & Osmond 1978; Osmond 1981; Powles 1984; Sharp & Boyer 1986), así, es un mecanismo importante para la protección del aparato fotosintético, especialmente en condiciones de alta luz (Heber *et al.* 1996).

Los valores de ϕ_i no mostraron grandes variaciones en las hojas sol y de sombra de las tres especies estudiadas y se encontraron dentro del rango dado por Björkman & Demmig (1987). Estos autores realizaron un estudio del rendimiento cuántico en base a la luz incidente (ϕ_i), mediante medidas en el electrodo de O_2 , en 37 especies C_3 de diferentes grupos taxonómicos y formas de vida, y obtuvieron un valor medio de 0.0891. De las especies estudiadas, 8 eran especies arbóreas siempreverdes que mostraron un valor medio de 0.0898. Nuestros resultados mostraron valores ligeramente inferiores, siendo el valor medio para las tres especies de 0.065. Este valor fue considerablemente mayor en relación con los encontrados en condiciones naturales (ver apartado 4.3.).

L. azorica presentó el valor medio de R_d más bajo, seguido de *P. indica* y *M. faya*. Estos resultados siguieron el mismo orden que los obtenidos en condiciones naturales, aunque sus valores fueron ligeramente más altos.

4.4.5. CONCLUSIONES

Los valores de fotosíntesis en condiciones de CO_2 no limitante fueron aproximadamente el doble de aquellos obtenidos en el campo para las tres especies estudiadas. El incremento fue mayor en las hojas de sombra que en las hojas de sol, y *M. faya* fue la especie que presentó un mayor aumento de sus valores, con respecto a las condiciones naturales. Esto podría indicar un mayor efecto de la fotorrespiración en las hojas de sombra en general, y en las hojas de sol de esta especie en particular, bajo condiciones naturales, aunque cualquier otro factor ambiental también podría ser el responsable. En el futuro sería necesario la realización de estudios encaminados a un mejor conocimiento del proceso fotorrespiratorio en estas plantas en condiciones naturales.

4.5. FOTOINHIBICIÓN EN CONDICIONES NATURALES

4.5.1. INTRODUCCIÓN

En el capítulo anterior, vimos como la luz juega un importante papel en la respuesta de la fotosíntesis máxima. Sin embargo, un exceso de luz puede ser perjudicial para la planta, produciendo daños que, aunque en muchos casos son reversibles, puede llegar a mermar el rendimiento fotosintético. Este fenómeno se conoce con el nombre de fotoinhibición que, en sentido amplio, se puede definir como la inhibición reversible de la fotosíntesis inducida por luz, lo cual abarca la regulación, tanto de los procesos de protección, como de los de daño en el fotosistema II (PSII) (Krause 1988; Ögren & Evans 1992; Leitsch *et al.* 1994).

Actualmente están aumentando los trabajos que hacen referencia al efecto de fotoinhibición en condiciones naturales (para una revisión ver Kyle *et al.* 1987; Baker & Bowyer 1994; Long *et al.* 1994; Demmig-Adams & Adams 1996). El efecto del exceso de luz, acompañado de otros factores de estrés, ha sido registrado por otros autores (Krause 1994; Kyparissis *et al.* 1995). Sin embargo, la fotoinhibición como resultado exclusivo del efecto de la exposición de las hojas a plena luz solar, tiene lugar en condiciones naturales aunque no estén presentes otros factores de estrés asociados. Esto ha sido puesto de manifiesto en numerosos estudios, como por ejemplo en hojas de *Salix* sp. (Ögren 1988; Ögren & Rosenqvist 1992), *Eucalyptus* sp. (Ögren & Evans 1992), *Arbutus unedo* (Demmig-Adams *et al.* 1989), en árboles tropicales (Castro *et al.* 1995; Krause *et al.* 1995; Lovelock & Winter 1996), en palmeras (Araus & Hogan 1994), en varias plantas con metabolismo CAM (Adams 1988; Adams *et al.* 1988), y en herbáceas cultivadas (Bolhàr-Nordenkamp *et al.* 1991).

Las hojas de sol de las especies estudiadas deben soportar condiciones de alta luz durante los días claros y, al mismo tiempo, ser capaces de realizar una fotosíntesis eficiente durante largos periodos de sombra, debido a la presencia de nubes, condición típica de este bosque. Es probable, por tanto, que cuando la absorción de la luz sea mayor que la que puedan procesar a través del transporte electrónico fotosintético, el exceso de fotones produzca moléculas reactivas de oxígeno en los cloroplastos que oxiden moléculas diana, produciendo una disminución del rendimiento cuántico (Asada 1994). Es conocido que el ciclo de las xantofilas juega un papel fotoprotector en las plantas (Demmig-Adams 1990; Demmig-Adams & Adams 1994; Pfündel & Bilger 1994). Se supone que la zeaxantina (Z), formada en condiciones de alta luz por la desepoxidación de la violoxantina (V) vía anteraxantina (A), es capaz de disipar la energía en la antena del PSII y, por lo tanto, de proteger a dicho fotosistema de los radicales libres y el oxígeno singlete generados por la luz (Thiele *et al.* 1996). También, la detoxificación de cualquier oxígeno activado que se pueda formar, puede realizarse por los sistemas antioxidativos que se encuentran en el cloroplasto (Alscher & Hess 1993; Foyer & Mullineaux 1994). La fotorrespiración también juega un papel protector importante (Heber *et al.* 1996).

En este apartado ponemos de manifiesto el grado de fotoinhibición que tienen lugar en las hojas de sol de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya*, al igual que la tasa de recuperación que tienen lugar en condiciones naturales. Como medida de la fotoinhibición se utiliza el descenso en la relación fluorescencia variable respecto de la fluorescencia máxima (F_v/F_m) y se relaciona con las variaciones en la concentración de pigmentos del ciclo de las xantofilas, la concentración de otros pigmentos y el sistema antioxidativo presente en estas especies. La magnitud de la fotorrespiración en relación con la fotoinhibición y el papel que puede jugar en estas especies, merece una mayor atención aunque se ha estudiado indirectamente en el apartado anterior (4.4)

4.5.2. MATERIAL Y MÉTODOS

4.5.2.1. Medidas de fluorescencia

Se realizaron medidas de fluorescencia de la clorofila con el fluorímetro portátil PEA (descrito en detalle en el apartado 3.2) en hojas de sol completamente desarrolladas y en el primer año de vida de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya*, situadas en la parte superior del dosel vegetal en la parcela de estudio de Agua García.

Se hicieron medidas a lo largo del año en los mismos días en que se midió el intercambio gaseoso (apartado 4.3). Posteriormente, se repitieron estas medidas en días en que las condiciones ambientales aumentaban la magnitud del fenómeno. En estos días se midió al mismo tiempo el contenido en pigmentos y en antioxidantes.

Todas las medidas de fluorescencia de la clorofila se hicieron en las hojas *in situ* y después de haber estado, la porción a medir, durante media hora en oscuridad mediante la utilización del clip apropiado (ver sección 3.2.3)

4.5.2.2. Análisis de pigmentos y antioxidantes

En el mismo momento en que se colocaba el clip, para medir la fluorescencia, se tomaron varias hojas similares en edad, posición y exposición al sol e inmediatamente, en el lugar de estudio, se sumergieron en nitrógeno líquido. Posteriormente, se llevaron al laboratorio donde se liofilizaron y se convirtieron en polvo, almacenándose en viales de plástico resistentes a la humedad en un congelador a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, antes de realizarse los análisis bioquímicos. Esta recogida de muestras se realizó coincidiendo con las medidas que se hicieron a primera hora de la mañana y al mediodía.

El estudio de los pigmentos se llevó a cabo mediante el análisis de HPLC en gradiente, según describió Pfeifhofer (1989). La extracción de los pigmentos a partir del polvo se realizó añadiendo acetona y sometiendo la solución a HPLC (cromatografía líquida de alta presión) en gradiente, utilizando como solvente polar acetona:etilacetato (2:1) y como solvente apolar acetonitrilo, agua bidestilada y metanol (100:10:5). La absorbancia de la muestra fue medida a 440 nm.

El tocoferol se determinó siguiendo el método de Wildi & Lütz (1996). Una vez añadida la acetona al polvo, se sometió a un análisis de HPLC isocrático utilizando como solvente el metanol. El tocoferol se detectó directamente por fluorimetría (longitud de onda de excitación 295 nm, longitud de onda de emisión 325 nm). La identificación del tocoferol se realizó por comparación de los diferentes tiempos de retención, mediante comparación con soluciones estándar de alfa, gamma y delta-tocoferol.

El glutation se determinó según Kranner & Grill (1996). El polvo en HCl fue incubado con ditioneitol durante una hora para reducir los grupos tiol. Los grupos sulfhidrilos fueron reducidos con monobromobimane. La separación y determinación de los derivados de tiol se realizó mediante HPLC en gradiente, utilizando como solventes mezclas de metanol, agua y ácido acético. El marcaje de los grupos tiol se determinó mediante fluorimetría (longitud de onda de excitación 380 nm, longitud de onda de emisión 480 nm).

Los ácidos ascórbico y dehidroascórbico se determinaron simultáneamente siguiendo un proceso derivado con ortofenildiamina (Tausz *et al.* 1996). El polvo en ácido metafosfórico se trató con ortofenildiamina y la separación se llevó a cabo mediante HPLC isocrática, utilizando como agente iónico bromuro de hexadeciltrimetilamonio y como solvente metanol acuoso. La absorbancia de la columna fue registrada a 248 y 348 nm para las medidas de ácido ascórbico y su derivado, ácido dehidroascórbico, respectivamente.

El tratamiento estadístico para estudiar la diferencia entre las especies y el momento del muestreo (primera hora de la mañana y mediodía), se estimó mediante un análisis de varianza de dos vías (ANOVA), utilizando especie y tiempo de muestreo como factores independientes. Los resultados con $P < 0.01$ se consideraron no significativos. El tamaño de la muestra en cada momento de medida fue de 12 a 17 para *L. azorica*, 10 para *P. indica* y 8 para *M. faya*. Para las determinaciones de ácido ascórbico y glutation se utilizaron al menos 6 muestras (salvo raras excepciones, que se indican en las leyendas de las figuras correspondientes) para cada especie y tiempo de muestreo.

4.5.3. RESULTADOS

4.5.3.1. Variación de la fluorescencia de la clorofila

Los valores de F_v/F_m a lo largo del año disminuyeron al mediodía, llegando a valores por debajo de 0,70 en los días más luminosos y mostrando menor o ninguna disminución en los días nublados. En las Figs. 4.5.1 y 4.5.2, se presentan los datos de un día de medida extremo, totalmente despejado, siendo uno de los días con mayor número de horas de luz del año (26 de junio de 1996), y en el que se encontraron los valores de F_v/F_m más bajos al mediodía. La temperatura del aire osciló entre 12 °C (a primeras horas de la mañana) y 22 °C (al mediodía), la temperatura media del día fue de 18.1 °C y la humedad relativa media fue de 59.5 %.

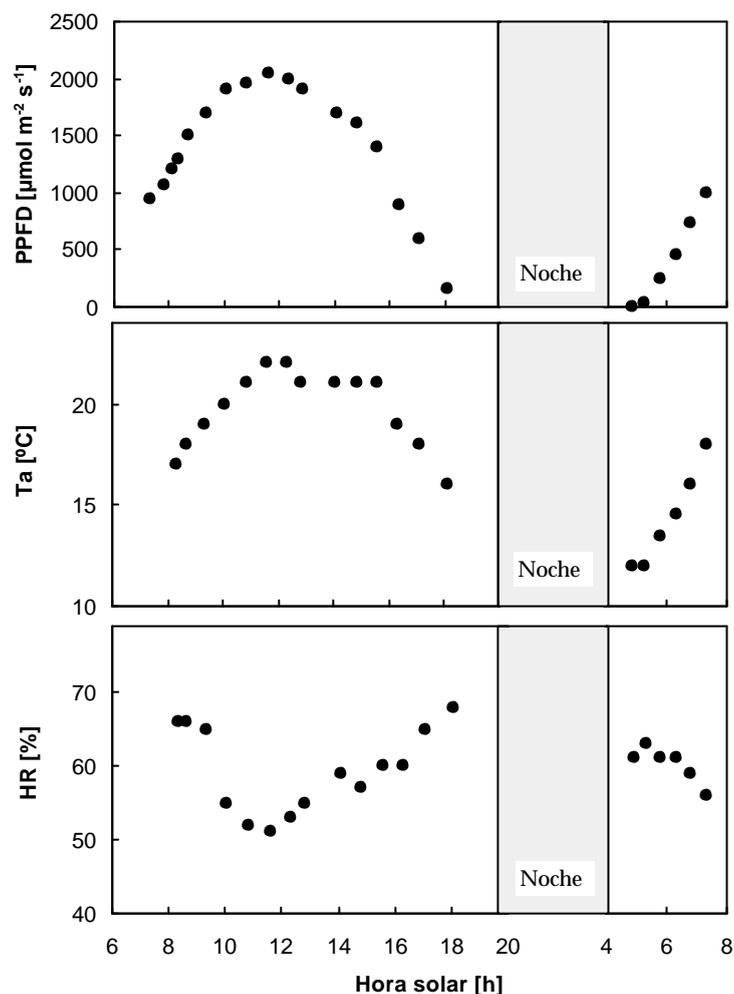


Fig. 4.5.1. Características climáticas del curso diario (26 de junio de 1995): PPFD, radiación fotosintéticamente activa ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); Ta, temperatura del aire ($^{\circ}\text{C}$); y HR, humedad relativa (%).

En la Fig. 4.5.2 se muestra el descenso en los valores de Fv/Fm a lo largo del día en *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya*. La tasa de disminución de los valores de Fv/Fm fue mayor en *L. azorica* y *P. indica*, llegando a alcanzar valores por debajo de 0.65, mientras que los valores de Fv/Fm más bajos registrados en *M. faya* fueron de 0.68. En las tres especies se observó un ligero aumento de los valores de Fv/Fm a medida que iba atardeciendo. En la última medida del día, antes de ponerse el sol, *L. azorica* y, en menor medida (con más desviaciones), *M. faya*, alcanzaron los valores normales obtenidos por la mañana, es decir, se habían recuperado de la fotoinhibición. Sin embargo, este no fue el caso para *P. indica* que siguió mostrando valores por debajo de 0.7. Al día siguiente, las medidas realizadas antes de amanecer mostraron una completa recuperación en las tres especies.

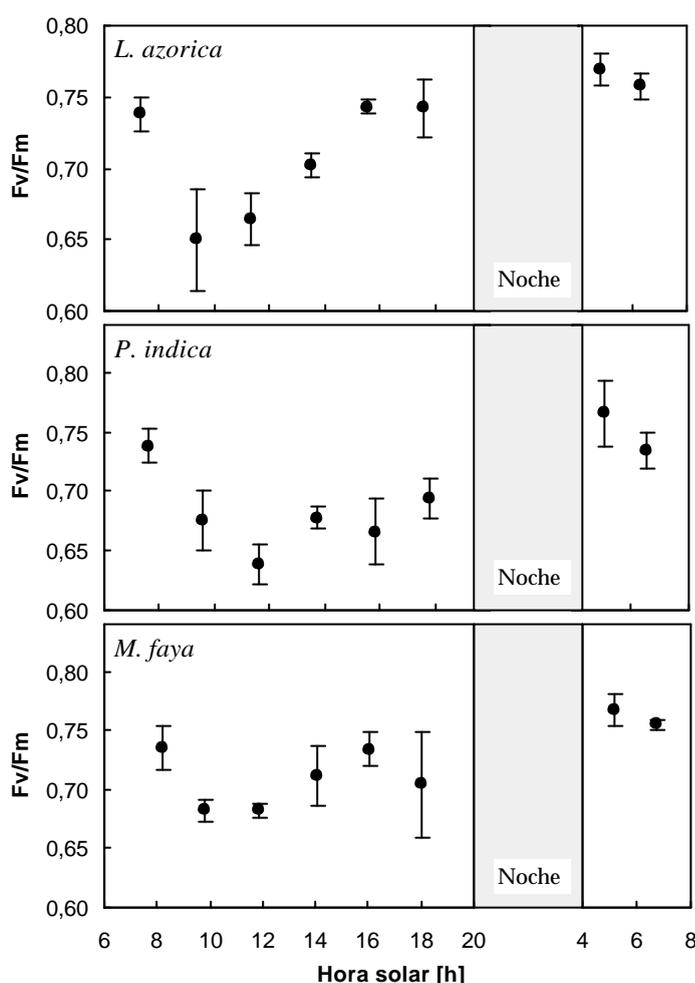


Fig. 4.5.2. Cambios en la relación de Fv/Fm en hojas de sol de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* a lo largo del día.

4.5.3.2. Variación de pigmentos y sistema antioxidativo en relación con la variación de fluorescencia

A continuación se presentan los datos de un día en que se realizaron, al mismo tiempo, las medidas de fluorescencia y la determinación de pigmentos y antioxidantes a primera hora de la mañana y se compararon con los datos más extremos de mediodía. El día en que se realizó el experimento fue similar al anteriormente descrito, totalmente soleado, siendo la densidad de flujo fotónico al mediodía de $1900 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, la temperatura media de 22°C y la humedad relativa del 65 %.

Los valores de Fv/Fm descendieron al mediodía en las tres especies estudiadas, aunque la reducción no fue muy acusada, alcanzando valores por debajo de 0.70 (Fig. 4.5.3 A). Este descenso

se debió más a la bajada de la Fm que a cambios en la Fo (Fig. 4.5.3 B). Junto con la disminución de los valores de Fv/Fm, se produjo un cambio en el ciclo de las xantofilas, siendo el grado de desepoxidación al mediodía mayor en *M. faya* y *P. indica* que en *L. azorica* (Fig. 4.5.4 A). No se encontraron diferencias significativas en el tamaño del “pool” de xantofilas en las medidas de primera hora de la mañana y al mediodía (Fig. 4.5.4 B), aunque si comparamos el tamaño del “pool” en las tres especies, fue mayor en *L. azorica*. No se observaron variaciones en el contenido de neoxantina y luteína durante el día (Fig. 4.5.4 C y D), presentando menor contenido en neoxantina las hojas de *M. faya* y mayor de luteína las hojas de *P. indica*.

La relación clorofila a/b no mostró diferencias significativas entre los valores obtenidos a primera hora de la mañana y al mediodía (Fig. 4.5.5 A), sin embargo se observó una tendencia de pérdida de clorofila total al mediodía en las tres especies, aunque sólo fue significativa en *P. indica* (Fig. 4.5.5 B).

La relación alfa-caroteno/beta-caroteno no varió a lo largo del día, pero sí se pudo apreciar que el contenido total de carotenos fue más bajo en *M. faya*, la cual no presentó alfa caroteno (Fig. 4.5.6).

La concentración total de antioxidantes no presentó cambios significativos entre las primeras horas y el mediodía, excepto para el gamma-tocoferol en *P. indica* encontrándose además, en esta especie, este compuesto en mayor concentración (Fig. 4.5.7 A y B). En *M. faya* el contenido en ascorbato también fue mayor comparado con las otras especies y, en general, podemos decir que el contenido en antioxidantes fue menor en *L. azorica* que en el resto de las especies (Fig. 4.5.7 C y D).

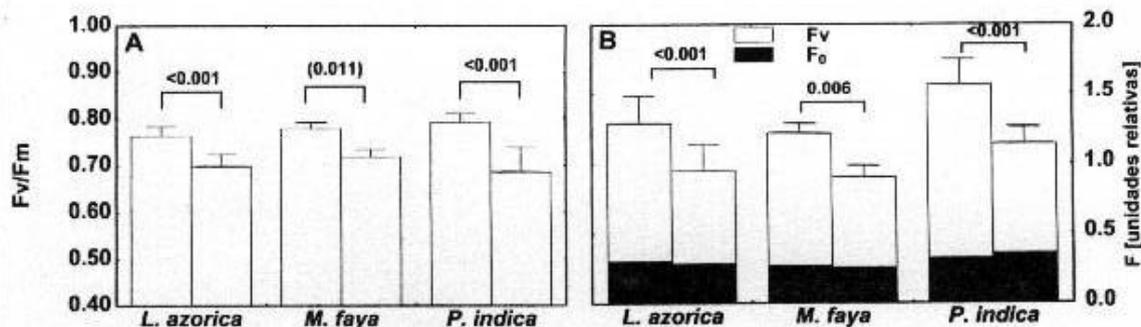


Fig. 4.5.3. Parámetros de fluorescencia obtenidos en hojas de sol de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya*. En las columnas de la izquierda se representan los datos obtenidos a primeras horas de la mañana y en las columnas de la derecha se representan los datos obtenidos al mediodía. A: relación Fv/Fm. B: valores de Fo, Fm y Fv. El análisis estadístico se refiere únicamente a los datos de fluorescencia máxima (Fm = columna total).

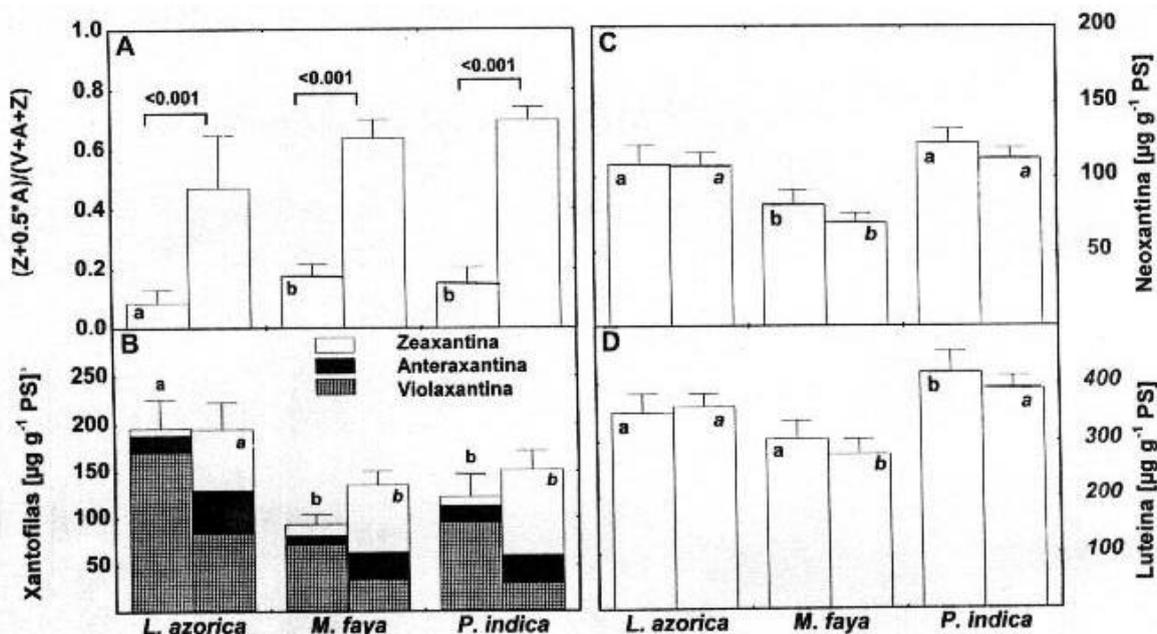


Fig. 4.5.4. Concentraciones de xantofilas, relaciones entre ellas y concentración de otros pigmentos, en hojas de sol de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya*. PS = peso seco de hoja. Las columnas de la izquierda representan los datos obtenidos en la mañana y las columnas de la derecha representan los datos obtenidos al mediodía. Las letras diferentes dentro de las columnas indican diferencias significativas ($P < 0.01$) entre especies en el mismo momento de muestreo. Los valores sobre las columnas indican diferencias significativas entre la mañana y el mediodía dentro de una misma especie (ns = no significativa, $P > 0.01$). A: estado de epoxidación del ciclo de las xantofilas. V = violaxantina, A = anteraxantina, Z = zeaxantina. B: concentraciones de violaxantina, anteraxantina y zeaxantina. C: concentraciones de neoxantina. D: concentración de luteína. Para el análisis estadístico se hace referencia a los

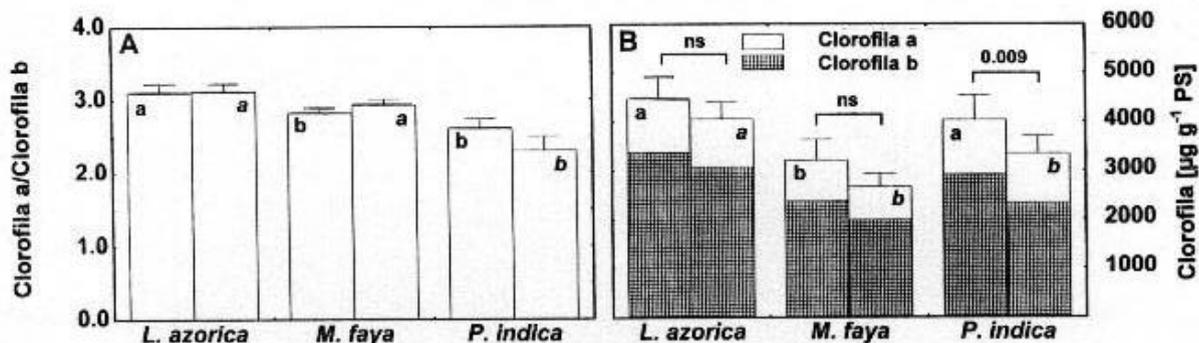
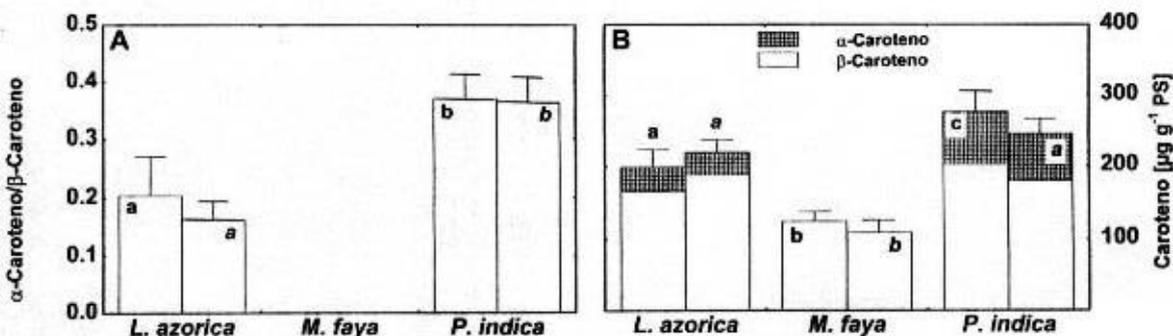


Fig. 4.5.5. Concentraciones de clorofila y relaciones entre las clorofilas a y b en hojas de sol de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya*. PS = peso seco de hoja. Las columnas de la izquierda representan los datos obtenidos en la mañana y las columnas de la derecha representan los datos obtenidos al mediodía. Las letras diferentes dentro de las columnas indican diferencias significativas ($P < 0.01$) entre especies en el mismo momento de muestreo. Los valores sobre las columnas indican diferencias significativas entre la mañana y el mediodía dentro de una misma especie (ns = no significativa, $P > 0.01$). A: relación clorofila a/b. B: concentraciones de clorofila a y b. Para el análisis estadístico se hace referencia al contenido total de clorofila (clorofila a + b).



so
la
as
an
1).
el

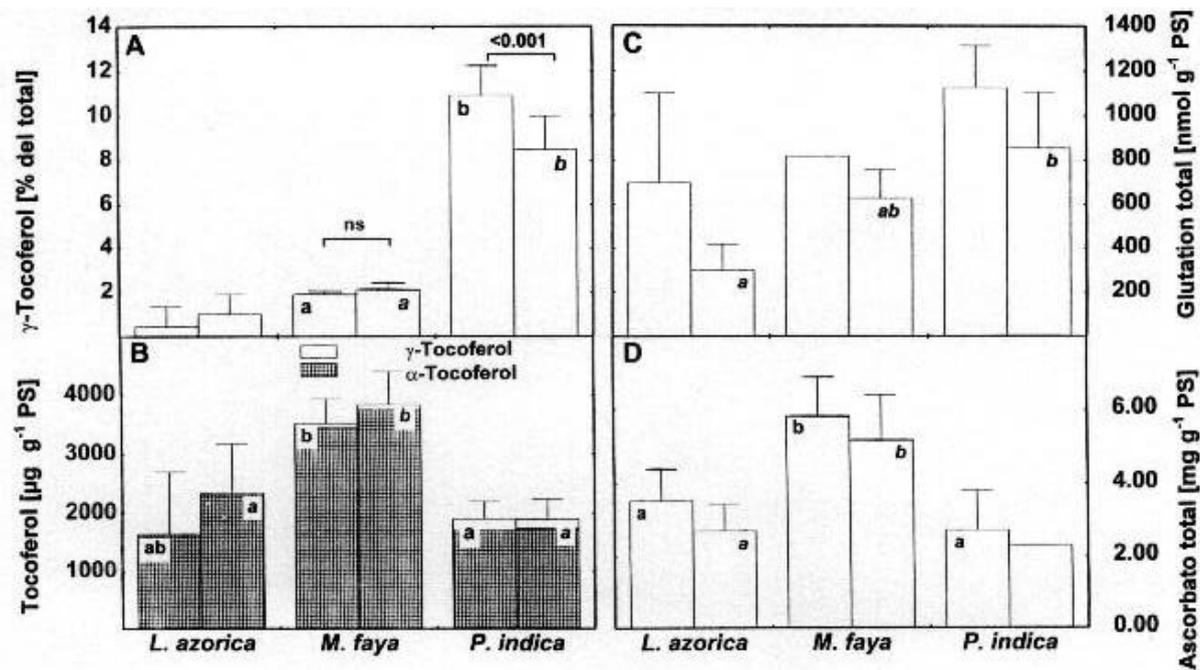


Fig. 4.5.7. Antioxidantes en hojas de sol de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya*. PS = peso seco de hoja. Las columnas de la izquierda representan los datos obtenidos en la mañana y las columnas de la derecha representan los datos obtenidos al mediodía. Las letras diferentes dentro de las columnas indican diferencias significativas ($P < 0.01$) entre especies en el mismo momento de muestreo. Los valores sobre las columnas indican diferencias significativas entre la mañana y el mediodía dentro de una misma especie (ns = no significativa, $P > 0.01$). A: composición de gamma tocoferol. Los datos de *L. azorica* no se incluyeron dentro del análisis estadístico debido a que las muestras de *L. azorica* no presentaron gamma-tocoferol. B: concentraciones de tocoferol. Para el análisis estadístico se hace referencia al contenido total de tocoferol (alfa + gamma-tocoferol). C: concentraciones de glutation (glutation reducido + oxidado). Sólo se analizaron dos muestras de *M. faya* tomadas por la mañana, por lo que no fueron incluidas en el análisis estadístico. D: concentraciones de ácido ascórbico (ascórbico + dehidroascórbico). Sólo se analizaron tres muestras de *P. indica* tomadas al mediodía, por lo que no fueron incluidas en el análisis estadístico.

4.5.4. DISCUSIÓN

El hecho de que los valores de Fv/Fm a lo largo del año, en las tres especies, experimentaran un descenso al mediodía cuando las condiciones de luz fueron altas, nos indicó que se estaba produciendo un descenso en el rendimiento cuántico (Björkman & Demmig 1987), que podía estar asociado a un proceso fotoinhibitorio. Sin embargo, para poder estar seguros de que se trataba de ello, y no de cualquier otro estrés presente en la planta, fue necesario estudiar su relación con los sistemas fotoprotectores. Aunque las variaciones a lo largo del día en la concentración de antioxidantes no fueron muy claras, sí se encontró una variación en el estado de epoxidación de los pigmentos del ciclo de las xantofilas concomitante con los descensos de la Fv/Fm. La implicación del ciclo de las xantofilas en la disipación de la energía del PSII, como protección de la fotonhibición, está bien establecida (Demmig-Adams & Adams 1996; Gilmore 1997).

Los cambios en los valores de fluorescencia a lo largo del día reflejaron un tipo de fotoinhibición “dinámica”, siguiendo la terminología de Osmond (1994) y Osmond &

Grace (1995). En el caso de *L. azorica* y *M. faya* la recuperación de la fotoinhibición fue total a últimas horas de la tarde, mientras que *P. indica* necesitó más tiempo para alcanzar los valores normales de Fv/Fm, estando totalmente recuperada a primera hora del día siguiente. El fenómeno de fotoinhibición en condiciones naturales, sin otro factor de estrés añadido, ha sido registrado en otras especies (Araus & Hogan 1994; Castro *et al.* 1995; Krause *et al.* 1995; Lovelock & Winter 1996) y posiblemente esté asociado con alguna pérdida de productividad (Ögren & Sjöström 1990), sin embargo, protege al aparato fotosintético de un severo daño.

Aunque los datos de fluorescencia mostraron que la magnitud de la fotoinhibición fue similar en las tres especies, se pudo establecer un orden decreciente en *P. indica*, *L. azorica* y *M. faya*. El mayor grado de desepoxidación en las primeras horas de la mañana, observado en *P. indica*, y *L. azorica* (Fig. 4.5.4), puede significar una mayor protección en éstas dos especies durante estas primeras horas, debido a la conservación de la zeaxantina y anteraxantina durante la noche (Adams & Demmig-Adams 1994).

La falta de variación en la concentración de luteína y neoxantina durante el día también fue observada por Wildi & Lütz (1996) en plantas alpinas, la acumulación de estos pigmentos no parece estar influenciada por diferencias en la luz de una forma consistente (Demmig-Adams & Adams 1992). Tampoco se observó variación en la relación alfa caroteno/beta caroteno, sin embargo, sí se observó en algunas coníferas (Ida 1981; Grill & Pfeifhofer 1985) y sólo se detectó la pérdida significativa de clorofila en *P. indica*, lo que indica que esta especie no sólo sufrió fotoinhibición, sino un comienzo de fotodestrucción de sus moléculas de clorofila, aunque de magnitud muy pequeña.

Los cambios diarios en el rendimiento cuántico, en el estado de epoxidación de los pigmentos del ciclo de las xantofilas y en el contenido en clorofilas, no se correspondieron con cambios significativos en la concentración total de antioxidantes, excepto para gamma-tocoferol en *P. indica* (Fig. 4.5.7). Esto está en contradicción con los resultados mostrados por Wildi & Lütz (1996), quienes encontraron un aumento en algunos antioxidantes al mediodía en plantas alpinas. Sin embargo, las condiciones de bajas temperaturas presentes en los Alpes difieren en gran medida de nuestras condiciones de campo, en donde la fotoinhibición tiene lugar a plena luz solar con la ausencia de otros factores de estrés.

Las diferencias cualitativas entre especies, en lo que respecta a la cantidad y composición de los pigmentos y antioxidantes, es bastante notoria. *M. faya* y, en menor medida, *P. indica* parecen tener un sistema antioxidativo más desarrollado que *L. azorica*, sin embargo esta última especie presenta un mayor "pool" de xantofilas. Parece como si la energía fuera disipada más eficientemente en *L. azorica* y por eso presenta el sistema antioxidativo menos desarrollado.

M. faya no presentó alfa-caroteno, y la concentración de neoxantina fue menor, mientras que *P. indica* presentó mayores cantidades de luteína y cantidades apreciables de gamma-tocoferol. El contenido y el papel de cada uno de estos compuestos está siendo objeto de muchos estudios en los últimos años, sin estar del todo claro el comportamiento según los tipos de plantas (Königer *et al.* 1995). La ausencia de alfa-caroteno en *M. faya*, viviendo en las mismas condiciones que las otras dos especies, no está clara. Este pigmento está relacionado con procesos de aclimatación al sol y a la sombra (Demmig Adams & Adams 1992). Las plantas que viven en el sotobosque, con mínimas cantidades de luz, tienen altos niveles de alfa-caroteno y pequeños "pools" de pigmentos del ciclo de las

xantofilas (Königer *et al.* 1995), esto es justo lo contrario de lo que ocurre en *M. faya*, lo que nos puede indicar que las hojas de esta especie son las más adaptadas a condiciones de sol, lo que corrobora los datos obtenidos mediante el intercambio gaseoso, con puntos de compensación luminosos mayores y menor rendimiento cuántico que el resto de las especies.

Es necesario el estudio más detallado a lo largo del año y también en las hojas de sombra, para tener un mejor conocimiento de los posibles mecanismos de estas tres especies en la fotoprotección del aparato fotosintético frente al exceso de luz.

4.5.5. CONCLUSIONES³

Las hojas de sol de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* sufren fotoinhibición a lo largo del año en condiciones naturales, lo que refleja una respuesta dinámica en la regulación del sistema fotosintético a un exceso de absorción de luz.

El grado de fotoinhibición a lo largo del día fue mayor en *P. indica* y *L. azorica* que en *M. faya*. La tasa de recuperación fue alta en las tres especies, siendo *P. indica* la que presenta siempre valores más bajos.

La disminución de F_v/F_m , estuvo acompañada de un cambio en el ciclo de las xantofilas. El tamaño del “pool” de xantofilas no cambió significativamente entre la mañana y el mediodía, sin embargo *P. indica* y *M. faya* presentaron un mayor grado de desepoxidación al mediodía que *L. azorica*.

La relación clorofila a/b y alfa/beta caroteno no varió a lo largo del día. Una característica a destacar fue la ausencia de alfa-caroteno en las hojas de sol de *M. faya* y un mayor “pool” de xantofilas, lo que la hace más adaptada a condiciones de sol.

Los cambios en la eficiencia fotosintética, el estado de epoxidación de los pigmentos del ciclo de las xantofilas y el contenido en pigmentos a lo largo del día, no estuvieron acompañados de cambios en la concentración total de antioxidantes, excepto para el gamma-tocoferol en *P. indica*.

³ Parte de los resultados de este apartado han sido publicados en Morales *et al.* (1997).

4.6. RESISTENCIA DEL APARATO FOTOSINTÉTICO A LAS TEMPERATURAS EXTREMAS

4.6.1. INTRODUCCIÓN

Todas las especies vegetales presentan un rango de temperatura específico en el que realizan todas sus funciones vitales. El exceso de calor y de frío, dependiendo de su intensidad y duración, dañan la actividad metabólica, el crecimiento y la viabilidad de las plantas, y así, establecen límites en la distribución de las especies. Fuera de este rango, los procesos vitales se reducen reversiblemente a una velocidad mínima, e incluso pueden llegar a alcanzar un límite letal, el cual es característico no sólo de cada especie sino de diferentes órganos y tejidos, produciéndose daños permanentes. Cuando se sobrepasa el umbral crítico de temperatura, las estructuras celulares se pueden dañar tan repentinamente que se paralizan y el protoplasma muere inmediatamente. En otros casos el daño se puede desarrollar gradualmente hasta cesar las funciones vitales importantes, momento en el que se produce la muerte celular. Por ello, la resistencia a altas o bajas temperaturas es una ventaja para las plantas, especialmente para aquellas que deben evitar la competencia ya que no pueden establecerse por sí solas bajo condiciones de temperaturas favorables y se encuentran presentes sólo en lugares abiertos y hábitats con condiciones climáticas extremas (Larcher 1982).

En general, las plantas terrestres pueden vivir en un amplio rango de temperaturas, son euritéricas, sólo producen materia orgánica entre 5 y 40 °C aproximadamente, dentro de este grupo las plantas tropicales son más sensibles y se dañan a temperaturas por debajo de 10 ó 15 °C. Por el contrario, las plantas acuáticas tienen un rango de temperaturas más reducido, son plantas estenotéricas (Sutcliffe 1979).

El frío daña a las plantas dentro de un amplio rango de temperaturas, dependiendo del genotipo y del ambiente. Esto ha llevado a clasificar a las especies vegetales en tres grupos según su resistencia a las bajas temperaturas (Larcher 1980a):

a) Plantas sensibles a bajas temperaturas: sufren daños letales a temperaturas unos pocos grados por encima del punto de congelación. Este grupo incluye algas de océanos templados, algunos hongos y ciertas herbáceas y plantas vasculares de origen tropical y subtropical.

b) Plantas sensibles a la congelación: pueden tolerar bajas temperaturas mientras no exista formación de hielo intracelular. Estas plantas se protegen del daño por mecanismos que retrasan la congelación, por ejemplo, en las épocas más frías acumulan sustancias osmóticamente activas que posibilitan el superenfriamiento. Este grupo incluye algas, árboles tropicales y subtropicales y especies de regiones templadas.

c) Plantas tolerantes a la congelación: soportan la congelación extracelular y la deshidratación del tejido asociada a dicha congelación. Forman parte de este grupo, musgos, líquenes, algas y plantas perennes de regiones frías.

Los daños que produce el frío en especies sensibles son: Transiciones en la fase lipídica de la membrana; inhibición de la fotosíntesis, respiración y degradación de membranas; variación en el reparto de asimilados; alteración de las vías metabólicas y acumulación de productos tóxicos; inhibición de la germinación; deshidratación de los tejidos vegetales; y disminución del crecimiento.

En el caso de la resistencia de las plantas a las altas temperaturas, éstas pueden desarrollar diferentes estrategias. Así, algunas plantas evitan un sobrecalentamiento de las hojas impidiendo la luz solar directa (constitutional avoidance of heat stress). Otras, presentan altas tasas de transpiración que provocan un enfriamiento de la planta (functional avoidance), sin embargo esta estrategia se puede llevar a cabo siempre y cuando exista suficiente agua disponible.

La tolerancia al calor del protoplasma es una propiedad altamente específica; especies del mismo género pueden diferir marcadamente a este respecto, e incluso diferentes órganos y tejidos dentro de la misma planta son resistentes al calor de diferente forma. A lo largo del tiempo se han desarrollado diferencias en las resistencias a las altas temperaturas en relación con las condiciones del área de distribución y del origen geográfico de las especies. Así las plantas de regiones frías (tundra, alta montaña) son claramente más sensibles al calor que las de regiones templadas, las cuales son a su vez, más sensibles que las plantas tropicales y de desiertos.

Las plantas se pueden clasificar según su resistencia a las altas temperaturas en tres tipos (Larcher 1995):

a) Especies sensibles al calor: Este grupo comprende todas las especies que son dañadas entre 30-40 °C o a lo mas 45 °C. Estas especies sólo pueden colonizar hábitats en los cuales no exista un sobrecalentamiento, o al menos donde puedan mantener su propia temperatura mediante enfriamiento por medio de la transpiración.

b) Eucariotas relativamente resistentes al calor: Las plantas situadas en sitios secos y soleados son capaces de adquirir cierta resistencia al calor. Ellas pueden sobrevivir temperaturas de 50-60 °C durante media hora.

c) Procariotas tolerantes al calor: Algunos procariotas pueden soportar temperaturas extremadamente altas, por encima de 75 °C. Todos estos organismos tienen sus membranas celulares, ácidos nucleicos y proteínas especialmente resistentes.

La resistencia a altas y bajas temperaturas puede cambiar a lo largo del tiempo, es decir, se produce una aclimatación basada en ajustes fenotípicos frente a cambios estacionales (Hellergrén & Öquist 1990). Esta aclimatación a las altas temperaturas tiene lugar rápidamente, en horas; así por ejemplo, en días calurosos, la resistencia al calor es más alta por la tarde que por la mañana.

En muchas plantas la resistencia al calor sigue un ciclo anual, que está coordinado con los procesos de desarrollo y con la temperatura del aire. Así durante el período de crecimiento todas las plantas son mas sensibles al calor. En las plantas terrestres existen plantas cuya resistencia aumenta sólo en verano, mientras que otras adquieren mayor resistencia en el momento de la dormancia invernal. Sin embargo, existen ciertas plantas, que presentan una paradoja desde el punto de vista ecológico, ya que su resistencia al calor viene gobernada por su estado de desarrollo más que por la temperatura ambiente. Por

último, también hay que destacar, aquellas plantas que no presentan variación estacional alguna.

El objetivo de este capítulo es determinar los límites de resistencia a la temperatura, del aparato fotosintético, y relacionarlos con los límites de daño general que experimentan las hojas de *Laurus azorica*, *Persea indica* y *Myrica faya*, al mismo tiempo que dilucidar el tipo de estrategia que desarrollan estas especies para soportar las temperaturas extremas.

4.6.2. METODOLOGÍA

Aunque un gran número de tests son utilizados para identificar el daño, ninguno de ellos tiene una aplicación general. Así dependiendo del objetivo del científico y de la información que quiera obtener se selecciona un método u otro. En principio hay que distinguir entre daños funcionales y fenómenos necróticos (Larcher 1987). En el primer caso es importante saber si los daños son reversibles o producirán la muerte. El diagnóstico de daños funcionales son analizados por inhibición de la fotosíntesis, anomalías en el proceso respiratorio e inhibición en el crecimiento. Los fenómenos necróticos pueden ser analizados mediante la rotura de las membranas o el cese de las actividades enzimáticas.

Tanto para el estudio de las bajas como de las altas temperaturas, estudiaremos las alteraciones funcionales mediante el análisis de la fluorescencia de la clorofila y detectaremos los fenómenos necróticos mediante el análisis de la pérdida de electrolitos medido por conductividad eléctrica y mediante la valoración visual de los daños. De esta manera, se realizaron medidas de la fluorescencia de la clorofila para estudiar el daño en el aparato fotosintético y para su mejor interpretación se combinaron con el análisis de la pérdida de electrolitos en los tejidos dañados, indicaron el daño a nivel de membrana, y con un análisis de valoración visual de los daños en las hojas.

- Medida de la fluorescencia de la clorofila

Después de someter las hojas al tratamiento térmico específico, que se describirá en detalle en los siguientes apartados, se midió la fluorescencia de la clorofila (ver apartado 3.2.3.).

- Medida de la conductividad eléctrica: Análisis de la pérdida de electrolitos.

Después de someter las muestras al citado tratamiento térmico, y tras 24 horas en oscuridad, a temperatura ambiente y atmósfera saturante, 0.1 g de peso fresco de la muestra (una vez eliminados los nervios principales y secundarios) fueron colocados en tubos con 3 ml de agua bidestilada y almacenados durante 24 h a temperatura ambiente en oscuridad, transcurrida la cual se midió la conductividad eléctrica (C1). Las muestras eran luego eliminadas de los tubos e inmersas en nitrógeno líquido y colocadas nuevamente en tubos con 3 ml de agua bidestilada durante 24 h a la temperatura ambiente en oscuridad y medida nuevamente la conductividad (C2).

La conductividad eléctrica de ambas soluciones (C1 y C2) fue medida a 25 °C con un conductivímetro (Dist 4 Hanna, Hanna Instruments (Mauritius) Ltd.). Ya que todas las muestras van a sufrir una pérdida de electrolitos debido al corte, Flint *et al.* (1967) sugirieron que la conductividad debería ser analizada como un índice de daño (It) donde los valores de It de las muestras sometidas a tratamiento térmico son sopesados con los valores de las muestras control, esto permite la eliminación del efecto de la pérdida de electrolitos debido al corte, así It será igual a “0” en tejidos no dañados y valdrá “100” en tejidos totalmente dañados (Read & Hill 1988). La fórmula utilizada para calcular el daño en el tejido fue:

$$It = 100 * (Rt - Ro) / (1 - Ro)$$

Donde Rt es la relación entre la conductividad medida después del tratamiento térmico y la suma de ésta con la conductividad medida después del tratamiento con nitrógeno líquido, es decir, $C1/(C1+C2)$ y Ro es la misma relación anterior para la muestra control.

Nosotros analizamos el grado de daños mediante dos términos, LT₀, temperatura a la que todavía no se ha producido daño, donde It toma valores inferiores al 10 % y LT₅₀ la temperatura a la cual el 50 % de los electrolitos han salido de las hojas.

- Análisis de daños por valoración visual.

Una vez que la hoja era sometida al tratamiento térmico fueron colocadas a saturación durante toda la noche a temperatura ambiente, transcurrida la cual se realizó una valoración visual de los daños. El grado de necrosis en las hojas fue estimado después de que las hojas alcanzaron la necrosis máxima. La extensión de las manchas necróticas fue vista en las hojas y estimada, después de un total desarrollo de los síntomas. Los valores límite fueron denominadas (Larcher 1990) como LT_i, temperatura de daño incipiente, es decir la temperatura a la cual empiezan los primeros daños; LT₅₀, temperatura a la cual el 50 % de la hoja está dañada y LT₁₀₀, temperatura a la cual se observa un daño del 100 % en las hojas.

4.6.3. RESISTENCIA DEL APARATO FOTOSINTÉTICO A LAS BAJAS TEMPERATURAS

El estudio de la resistencia de las plantas a las bajas temperaturas ha sido abordado de forma muy diferente por multitud de autores. La bibliografía sobre este tema es muy amplia pero a la vez muy divergente, en el sentido de que no existe una metodología generalizada para poder comparar los resultados obtenidos por diferentes autores. Factores como la tasa de enfriamiento, el tiempo de duración de los tratamientos térmicos y las características del material vegetal de estudio, es decir, planta completa, hoja entera o un fragmento de la misma, determina la alta heterogeneidad de los resultados. Frente a este hecho decidimos caracterizar el límite de resistencia de la hoja a las bajas temperaturas mediante la exposición durante 30 min a diferentes temperaturas, tiempo que ha sido utilizado como estándar para la realización de tests de resistencia. Esto se llevó a cabo en distintos tipos de hoja (hojas de sol y de sombra) y en dos épocas contrastadas del año (estación seca y húmeda) para determinar su posible variabilidad no sólo interespecífica sino estacional.

Una vez conocido el límite de resistencia, nos preguntamos qué mecanismo de resistencia desarrollaban estas especies a las bajas temperaturas. Y por último, pese a que 30 min de tratamiento es el tiempo estándar en los test de resistencia, quisimos ver como afectaba el tiempo de exposición a esas bajas temperaturas, para relacionarlo con la eficacia del mecanismo que presentaban.

Por todo ello vamos a distinguir tres apartados dentro del estudio de la resistencia del aparato fotosintético a las bajas temperaturas:

- Caracterización del límite de resistencia a las bajas temperaturas, así como el tipo de resistencia.
- Mecanismo de resistencia a las bajas temperaturas.
- Efecto del tiempo de exposición a las bajas temperaturas.

4.6.3.1. Límite de resistencia del aparato fotosintético a las bajas temperaturas: variaciones intra, interespecíficas y estacionales.

La fotosíntesis es uno de los principales procesos afectado por las bajas temperaturas. La exposición de las hojas a temperaturas críticas produce un daño irreversible en el aparato fotosintético. Como ya se dijo en el apartado 1.4.4, la medida de fluorescencia de la clorofila se ha utilizado durante muchos años como un método sensible, eficaz y rápido para la detección y el estudio de las perturbaciones inducidas por las bajas temperaturas, tanto en plantas sensibles al frío como en plantas resistentes al frío pero sensibles a temperaturas por debajo de cero.

Por otro lado, la medida de la pérdida de electrolitos de hojas tratadas a bajas temperaturas es un procedimiento establecido para determinar su tolerancia a dichas temperaturas. Entre los primeros trabajos para cuantificar el daño de los tejidos a bajas

temperaturas se encuentran los experimentos de Dexter *et al.* (1932) quienes compararon la salida de electrolitos de muestras congeladas y no congeladas.

Otra técnica complementaria para el estudio de la respuesta del tejido a las bajas temperaturas es evaluar el grado de daño mediante la valoración visual de la proporción de tejido dañado tomando como referencia el tejido totalmente sano (Larcher 1990).

El objetivo de este apartado es caracterizar el límite de resistencia a las bajas temperaturas de *Laurus azorica*, *Persea indica* y *Myrica faya*, combinando medidas de fluorescencia de la clorofila como análisis de daño en el aparato fotosintético, análisis de pérdida de electrolitos como índice de daño a nivel de integridad de membrana y valoración visual del daño en las hojas. A la vez, se intenta determinar si existe una diferencia intraespecífica entre las hojas de sol y de sombra, así como determinar la existencia de una estacionalidad en la respuesta a las bajas temperaturas.

4.6.3.1.1. *Material y métodos*

Se tomaron hojas de la parte superior (hojas de sol) y de la parte inferior (hojas de sombra) de la copa de árboles adultos de más de 15 m de altura de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya*, en la parcela de estudio de Agua García. El acceso a las hojas fue posible gracias a la torre de madera construida al efecto.

En el estudio climático de la zona de estudio mostrado en detalle en el apartado 4.3.1, se observa claramente la existencia de dos estaciones: una cálida y seca, comprendida entre junio y septiembre y una estación fría y húmeda, entre octubre y mayo.

Con el fin de estudiar una posible variación estacional en la respuesta de las plantas a las bajas temperaturas se tomaron muestras en diferentes épocas entre 1994 y 1996. Así, las hojas de *L. azorica* fueron cogidas en agosto de 1994 como referencia de la estación seca y en marzo de 1996 como referencia de la estación húmeda. Las hojas de *P. indica* fueron cogidas en junio de 1994 (estación seca) y marzo de 1996 (estación húmeda), y las hojas de *M. faya* fueron tomadas en febrero de 1994 (estación húmeda) y septiembre de 1996 (estación seca). Las características climáticas del mes de toma de las muestras foliares de las distintas especies se resumen en la tabla 4.6.3.1.

Tabla 4.6.3.1. Cuadro de temperaturas y precipitación de los meses en que se tomaron muestras.

Mes Año	Febrero 1994	Junio 1994	Agosto 1994	Marzo 1996	Septiembre 1996
Prec. [mm]	2.5	88.5	2	203	54
Tmedia [°C]	10	12.8	17.5	10.6	17.2
Tmax media [°C]	13.8	16.4	20.9	14.7	21
Tmin media [°C]	6.2	9.3	14.6	7.2	13.4
Tmax abs. [°C]	19.8	23.2	32.7	20	28
Tmin abs. [°C]	2.6	4	11.7	3	9.5

Las hojas, completamente desarrolladas y en el primer año de vida, se llevaron inmediatamente al laboratorio, donde se lavaron con agua destilada y se pusieron a saturación durante toda la noche a temperatura ambiente (20 °C). Al día siguiente, antes de someter las hojas a los diferentes tratamientos térmicos, se midió la fluorescencia de la clorofila a cada una de ellas para conocer los valores control de los diferentes parámetros de fluorescencia. Posteriormente, las hojas fueron colocadas en un baño con control de la temperatura, durante 30 min, en completa oscuridad y a la temperatura de estudio. Las temperaturas de estudio fueron desde 20 hasta 0 °C con pasos de 5K y desde 0 a -20 °C con pasos de 2K en el experimento realizado en 1994. En 1996 el experimento se repitió pero sólo desde 0 hasta -12 °C en pasos de 2 K, ya que el estudio anterior no mostraba ningún tipo de daño desde 20 hasta 0 °C.

Para comprobar que los valores obtenidos a 0 °C en 1996 no se desviaban de los valores control se aplicó una T de Student (datos apareados), corroborándose efectivamente que a esa temperatura las hojas no habían sufrido daño alguno, ya que no se observó una desviación significativa con los valores control.

Inmediatamente después del tratamiento térmico se midió la fluorescencia de la clorofila en las hojas (a esta medida nos referiremos siempre como medida en el momento del tratamiento (M)). Con el fin de estudiar el grado y extensión del daño, a estas mismas hojas se les midió de nuevo la fluorescencia de la clorofila, después de estar a atmósfera saturante, temperatura ambiente y oscuridad durante 24 h (a esta medida nos referiremos siempre como medida tras 24 h (Rec)). Tras las 24 h, también se valoró el daño visual de las muestras.

En 1996 además, fue posible evaluar el efecto de las bajas temperaturas sobre la integridad física de las membranas mediante la valoración de pérdida de electrolitos por medidas de conductividad eléctrica (técnica descrita en detalle en el apartado anterior).

En cada uno de los experimentos se realizaron tres réplicas para cada especie, tipo de hoja, época y temperatura de estudio.

Los resultados obtenidos con la técnica de la fluorescencia de la clorofila fueron analizados estadísticamente mediante un análisis de la varianza multifactorial. Los programas estadísticos utilizados fueron SPSS (versión 6.1 Windows) y STATGRAPHICS (versión 5.0).

Los valores control de los parámetros de fluorescencia estudiados mostraron diferencias según la especie, condición de la hoja y época del tratamiento (Tabla 4.6.3.2.).

Esta variabilidad en los valores control hizo necesario que antes de realizar cualquier estudio estadístico, los valores obtenidos con los diferentes parámetros fueran relativizados (diferencia entre el valor control y el valor del parámetro de fluorescencia a estudio), para evitar obtener conclusiones de posibles efectos no reales.

Como el objetivo del trabajo tiene la finalidad de estudiar la evolución del daño según la temperatura para diferentes especies, tipo de hoja y época del experimento, se procedió a elaborar un modelo global que explicara dichas diferencias y sus posibles interacciones, sin embargo este modelo implicaría el estudio de triples interacciones (por ejemplo, dentro de cada especie el comportamiento frente a la temperatura según el tipo de hoja), cuya interpretación sería bastante difícil. Este modelo ha sido construido con los factores principales (especie, temperatura, tipo de hoja y época) y las interacciones dobles,

con el fin de estudiar las diferencias entre *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya*, por lo que sólo se analizó el efecto simple de dicho factor (especie).

Teniendo en cuenta que el diseño experimental incluye tres réplicas para cada tipo de hoja, época y tratamiento térmico fue factible el estudio de una forma individualizada para cada una de las especies.

Los resultados obtenidos de los diferentes parámetros de fluorescencia en el estudio individual de cada especie, tanto medidos en el momento del tratamiento como después de 24 h, se analizaron estadísticamente mediante un análisis de varianza de 3 vías. El modelo que se obtuvo incluía los tres factores principales; tipo de hoja, tratamiento térmico y época del experimento, y todas las interacciones dobles. Tanto los factores principales como las interacciones significativas (al 5%) fueron analizados con un contraste a posteriori tipo Tukey a dicho nivel de significación.

4.6.3.1.2. **Resultados**

4.6.3.1.2.1. Medidas de la fluorescencia de la clorofila

Los valores control de los diferentes parámetros de fluorescencia estudiados fueron diferentes debido a la especie, tipo de hoja y época en la que se realizó el experimento (Tabla 4.6.3.2.).

Tabla 4.6.3.2. Valores control de los diferentes parámetros de fluorescencia analizados (Fo, Fm, Fv/Fm, Fs y Rfd) en hojas de sol y de sombra en *Laurus azorica*, *Persea indica* y *Myrica faya* medidos en la estación seca (S) y húmeda (H). Los valores representan la media con su desviación standard.

	Tipo	Época	Fo	Fm	Fv/Fm	Fs	Rfd
<i>Laurus azorica</i>	Sol	Agosto 94	0.288±0.01	1.462±0.05	0.803±0.00	0.424±0.01	2.320±0.67
	Sombra	[S]	0.215±0.02	1.240±0.09	0.826±0.01	0.364±0.02	2.431±0.17
	Sol	Marzo 96	0.316±0.03	1.599±0.21	0.801±0.02	0.393±0.04	2.476±0.33
	Sombra	[H]	0.327±0.02	2.106±0.19	0.844±0.01	0.631±0.08	2.066±0.35
<i>Persea indica</i>	Sol	Junio 94	0.195±0.01	1.001±0.02	0.804±0.00	0.310±0.02	2.265±0.30
	Sombra	[S]	0.270±0.01	1.352±0.05	0.799±0.01	0.462±0.04	1.971±0.32
	Sol	Marzo 96	0.347±0.04	1.712±0.23	0.790±0.09	0.516±0.06	2.847±0.32
	Sombra	[H]	0.333±0.03	1.856±0.20	0.819±0.01	0.551±0.06	2.348±0.21
<i>Myrica faya</i>	Sol	Sept 96	0.248±0.02	1.427±0.13	0.825±0.01	0.351±0.03	3.346±0.14
	Sombra	[S]	0.277±0.02	1.794±0.14	0.845±0.00	0.645±0.09	1.777±0.28
	Sol	Febrer 94	0.157±0.00	0.843±0.01	0.813±0.00	0.259±0.01	2.261±0.14
	Sombra	[H]	0.215±0.01	1.207±0.09	0.818±0.01	0.434±0.06	1.828±0.21

La respuesta a las bajas temperaturas se estudió mediante el análisis de diferentes parámetros de fluorescencia. Parámetros de cinética rápida: fluorescencia inicial (Fo), fluorescencia máxima (Fm) y la relación fluorescencia variable-fluorescencia máxima (Fv/Fm) y parámetros de cinética lenta: fluorescencia terminal (Fs) y el índice Rfd (Fm-Fs/Fs).

Desde la figura 4.6.3.1 hasta la figura 4.6.3.6, se muestran los resultados obtenidos con los diferentes parámetros de fluorescencia estudiados a lo largo del tratamiento

térmico en hojas de sol y de sombra de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* en 1994 (*L. azorica* y *P. indica* en la estación seca y *M. faya* en la estación húmeda) medidos en el momento del tratamiento y después de 24 h. Desde la figura 4.6.3.7 hasta la figura 4.6.3.12, se muestran los mismos parámetros estudiados en 1996 (*L. azorica* y *P. indica* en la estación húmeda y *M. faya* en la estación seca). Hay que destacar la diferencia en el rango de temperaturas estudiados entre una época y otra, ya que como se mencionó antes, en 1994 el rango de temperatura estudiado fue desde 20 °C hasta -20 °C con pasos de 2K, mientras que en 1996 el rango fue desde 0 °C hasta -12 °C.

En todas las figuras se puede observar como, al ir descendiendo la temperatura llega un valor a partir del cual los parámetros de fluorescencia comienzan a desviarse. En los parámetros de cinética rápida, se produce una bajada en los valores de F_m y un aumento en los valores de F_o , lo cual se refleja en un descenso de la relación F_v/F_m . Esta conducta, aunque a veces no tan evidente en el estudio en el momento, es totalmente clara después de 24 h del tratamiento térmico. En los parámetros de cinética lenta, se observa un aumento en la F_s , que junto con la ligera bajada en F_m produce una disminución en el índice R_{fd} , medido en el momento del tratamiento. En el estudio después de 24 h, no se observa un aumento de F_s , esto se debe a que el valor de F_m ha sido muy bajo, poniéndose claramente de manifiesto con el índice R_{fd} .

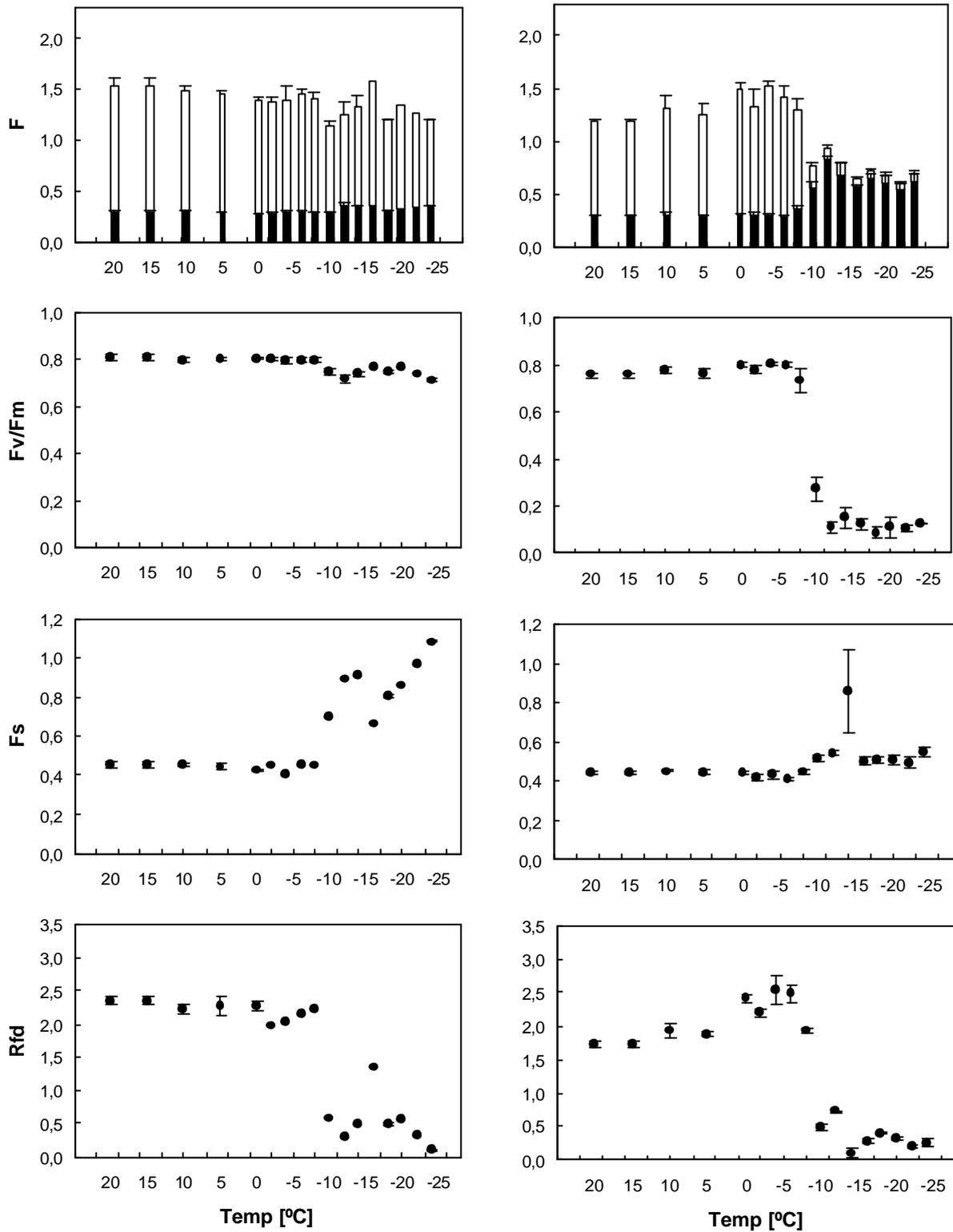


Fig. 4.6.3.1. Cambios en diferentes parámetros de fluorescencia a lo largo del tratamiento a bajas temperaturas en hojas de sol de *Laurus azorica* en la estación seca (agosto de 1994). En la columna de la izquierda se muestran las medidas realizadas inmediatamente después de los 30 min en cada una de las temperaturas y en la columna de la derecha se muestran las medidas realizadas tras estar, esas mismas hojas, toda la noche a temperatura ambiente, atmósfera saturante y oscuridad después de realizado el tratamiento térmico. Los puntos representan la media de 5 determinaciones en 5 hojas diferentes con su desviación standard. En las gráficas superiores se muestran los valores de fluorescencia (F), siendo Fm, barras completas; Fo, parte sombreada; y Fv, parte blanca.

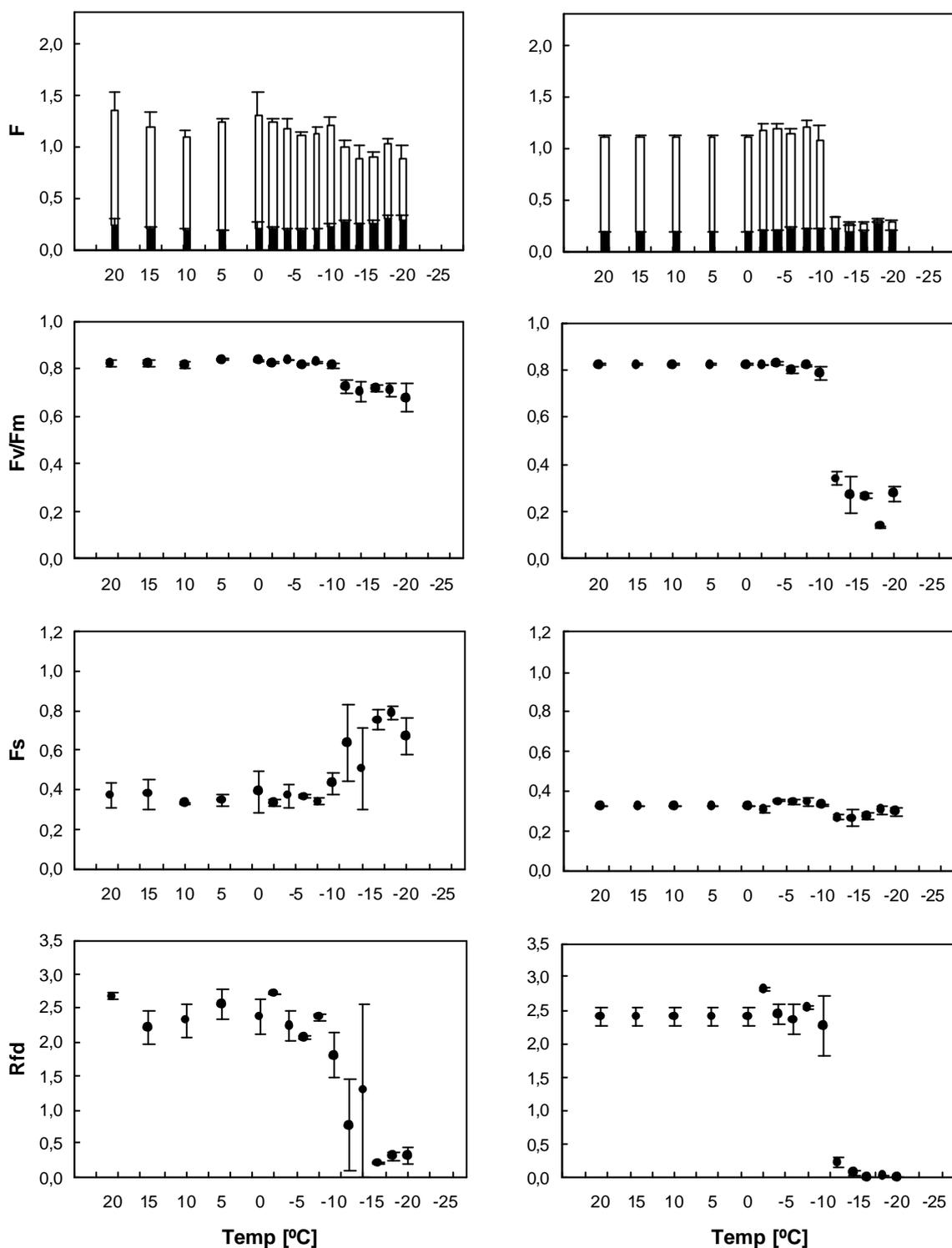


Fig. 4.6.3.2. Cambios en diferentes parámetros de fluorescencia a lo largo del tratamiento a bajas temperaturas en hojas de sombra de *Laurus azorica* en la estación seca (agosto de 1994). En la columna de la izquierda se muestran las medidas realizadas inmediatamente después de los 30 min en cada una de las temperaturas y en la columna de la derecha se muestran las medidas realizadas tras estar, esas mismas hojas, toda la noche a temperatura ambiente, atmósfera saturante y oscuridad después de realizado el tratamiento térmico. Los puntos representan la media de 5 determinaciones en 5 hojas diferentes con su desviación standard. En las gráficas superiores se muestran los valores de fluorescencia (F), siendo Fm, barras completas; Fo, parte sombreada; y Fv, parte blanca.

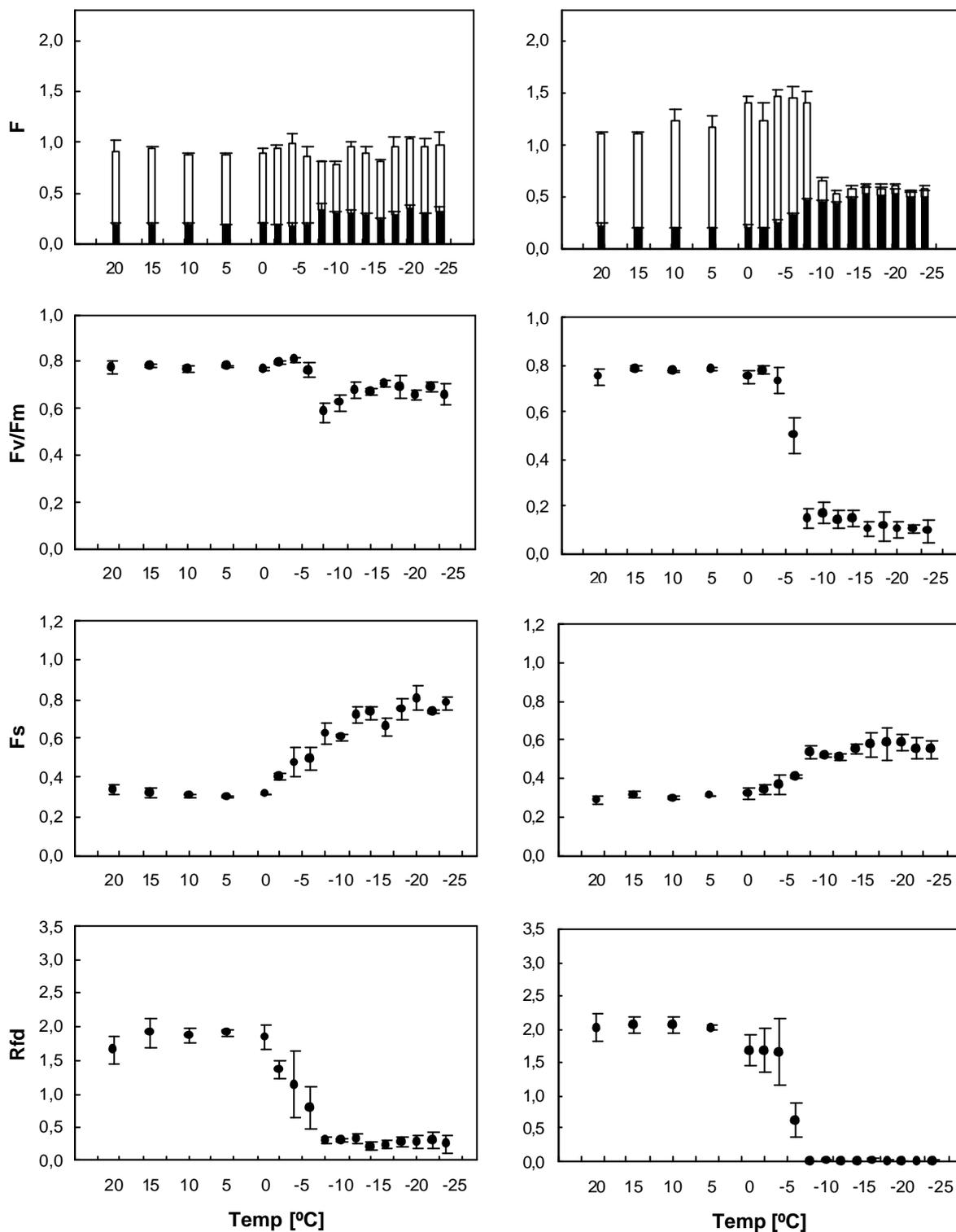


Fig. 4.6.3.3. Cambios en diferentes parámetros de fluorescencia a lo largo del tratamiento a bajas temperaturas en hojas de sol de *Persea indica* en la estación seca (junio de 1994). En la columna de la izquierda se muestran las medidas realizadas inmediatamente después de los 30 min en cada una de las temperaturas y en la columna de la derecha se muestran las medidas realizadas tras estar, esas mismas hojas, toda la noche a temperatura ambiente, atmósfera saturante y oscuridad después de realizado el tratamiento térmico. Los puntos representan la media de 5 determinaciones en 5 hojas diferentes con su desviación standard. En las gráficas superiores se muestran los valores de fluorescencia (F), siendo Fm, barras completas; Fo, parte sombreada; y Fv, parte blanca.

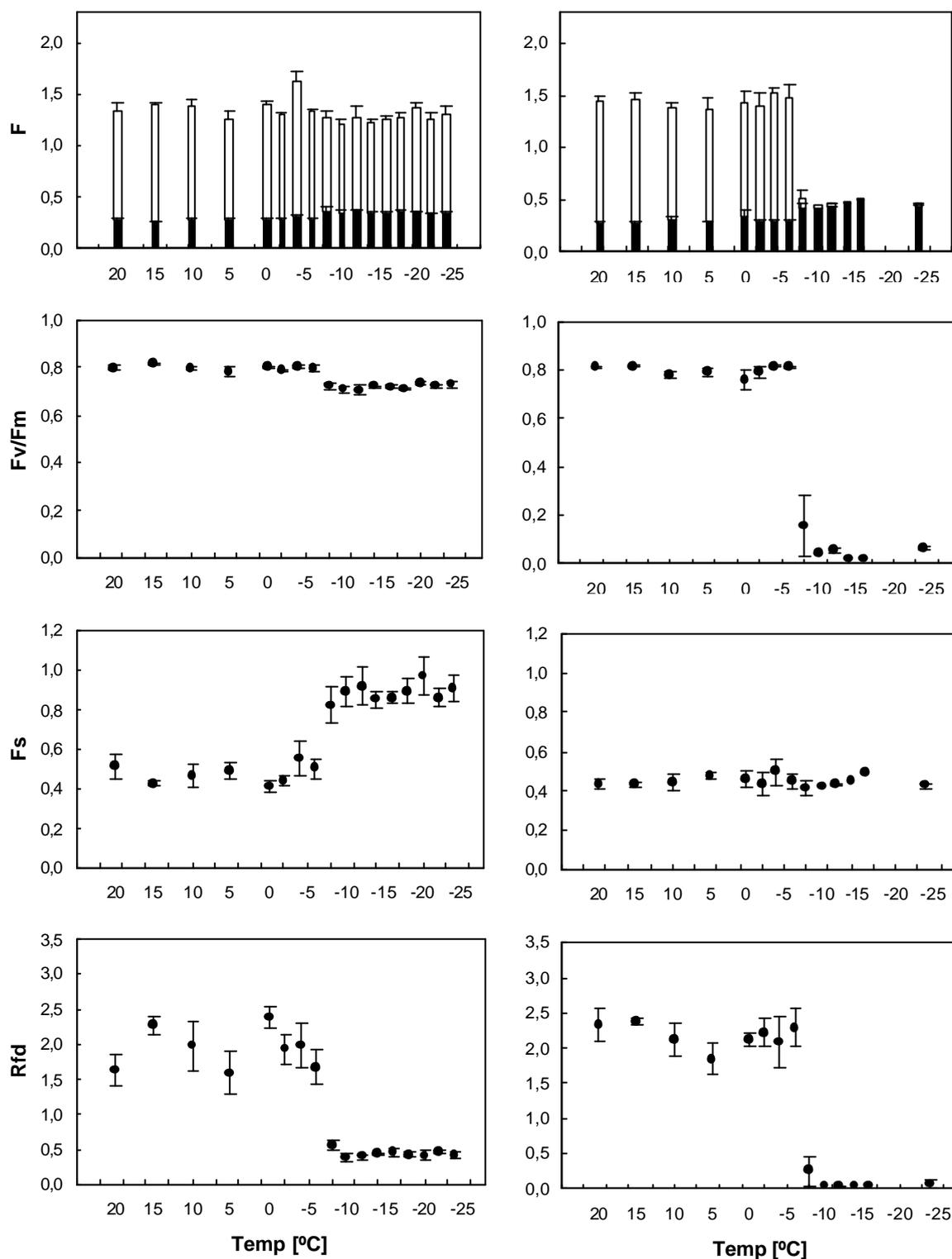


Fig. 4.6.3.4. Cambios en diferentes parámetros de fluorescencia a lo largo del tratamiento a bajas temperaturas en hojas de sombra de *Persea indica* en la estación seca (junio de 1994). En la columna de la izquierda se muestran las medidas realizadas inmediatamente después de los 30 min en cada una de las temperaturas y en la columna de la derecha se muestran las medidas realizadas tras estar, esas mismas hojas, toda la noche a temperatura ambiente, atmósfera saturante y oscuridad después de realizado el tratamiento térmico. Los puntos representan la media de 5 determinaciones en 5 hojas diferentes con su desviación standard. En las gráficas superiores se muestran los valores de fluorescencia (F), siendo Fm, barras completas; Fo, parte sombreada; y Fv, parte blanca.

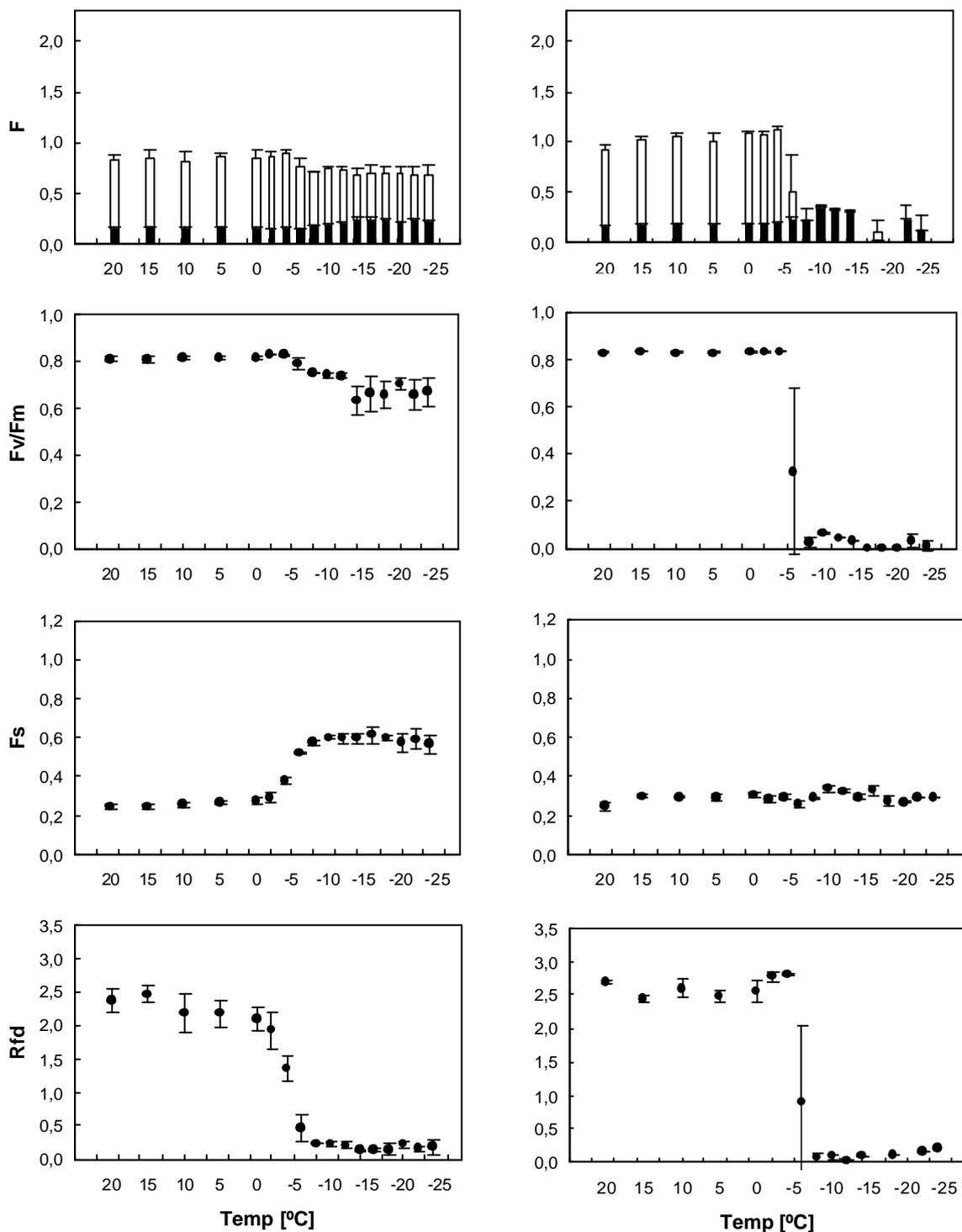


Fig. 4.6.3.5. Cambios en diferentes parámetros de fluorescencia a lo largo del tratamiento a bajas temperaturas en hojas de sol de *Myrica faya* en la estación húmeda (febrero de 1994). En la columna de la izquierda se muestran las medidas realizadas inmediatamente después de los 30 min en cada una de las temperaturas y en la columna de la derecha se muestran las medidas realizadas tras estar, esas mismas hojas, toda la noche a temperatura ambiente, atmósfera saturante y oscuridad después de realizado el tratamiento térmico. Los puntos representan la media de 5 determinaciones en 5 hojas diferentes con su desviación standard. En las gráficas superiores se muestran los valores de fluorescencia (F), siendo Fm, barras completas; Fo, parte sombreada; y Fv, parte blanca.

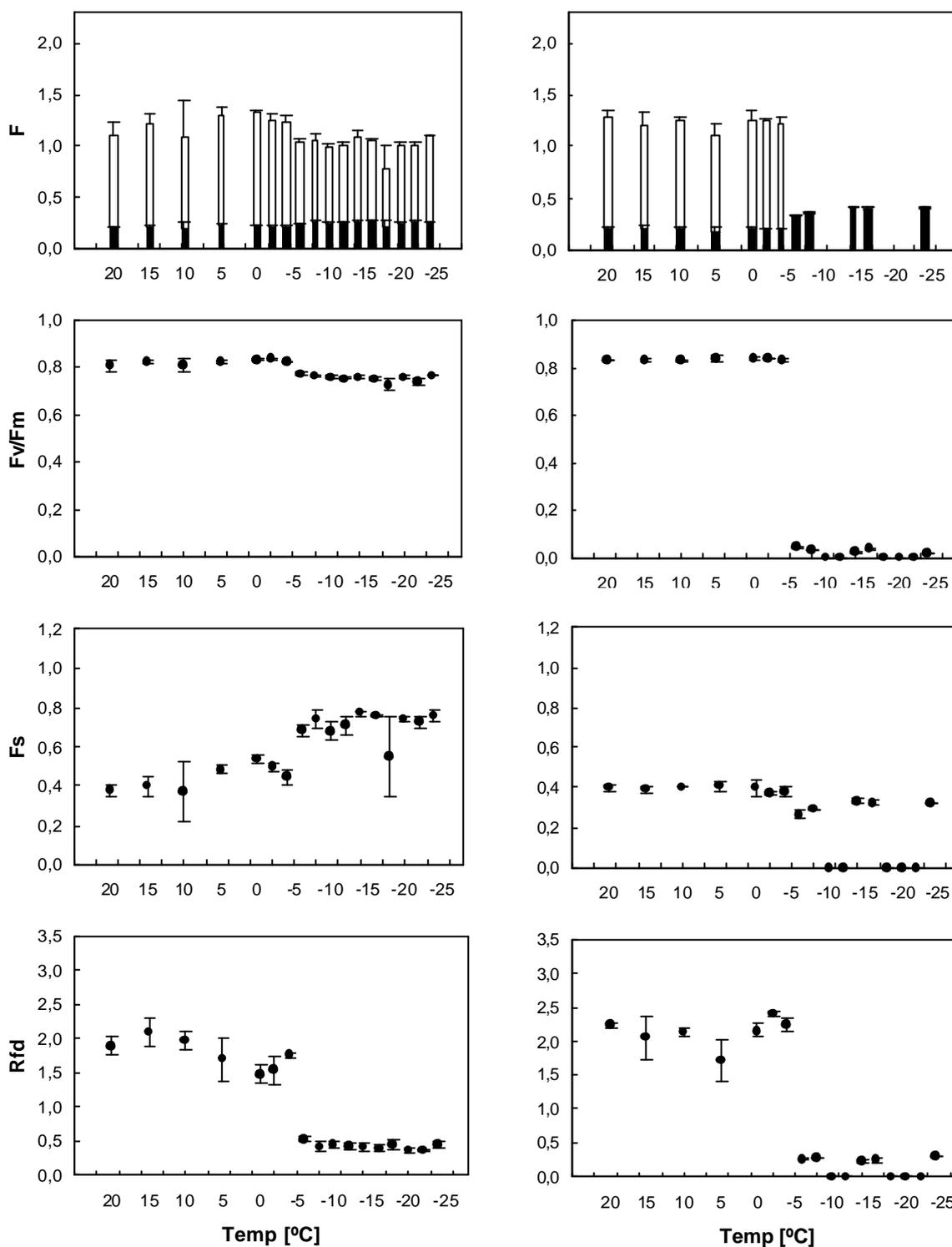


Fig. 4.6.3.6. Cambios en diferentes parámetros de fluorescencia a lo largo del tratamiento a bajas temperaturas en hojas de sombra de *Myrica faya* en la estación húmeda (febrero de 1994). En la columna de la izquierda se muestran las medidas realizadas inmediatamente después de los 30 min en cada una de las temperaturas y en la columna de la derecha se muestran las medidas realizadas tras estar, esas mismas hojas, toda la noche a temperatura ambiente, atmósfera saturante y oscuridad después de realizado el tratamiento térmico. Los puntos representan la media de 5 determinaciones en 5 hojas diferentes con su desviación standard. En las gráficas superiores se muestran los valores de fluorescencia (F), siendo Fm, barras completas; Fo, parte sombreada; y Fv, parte blanca.

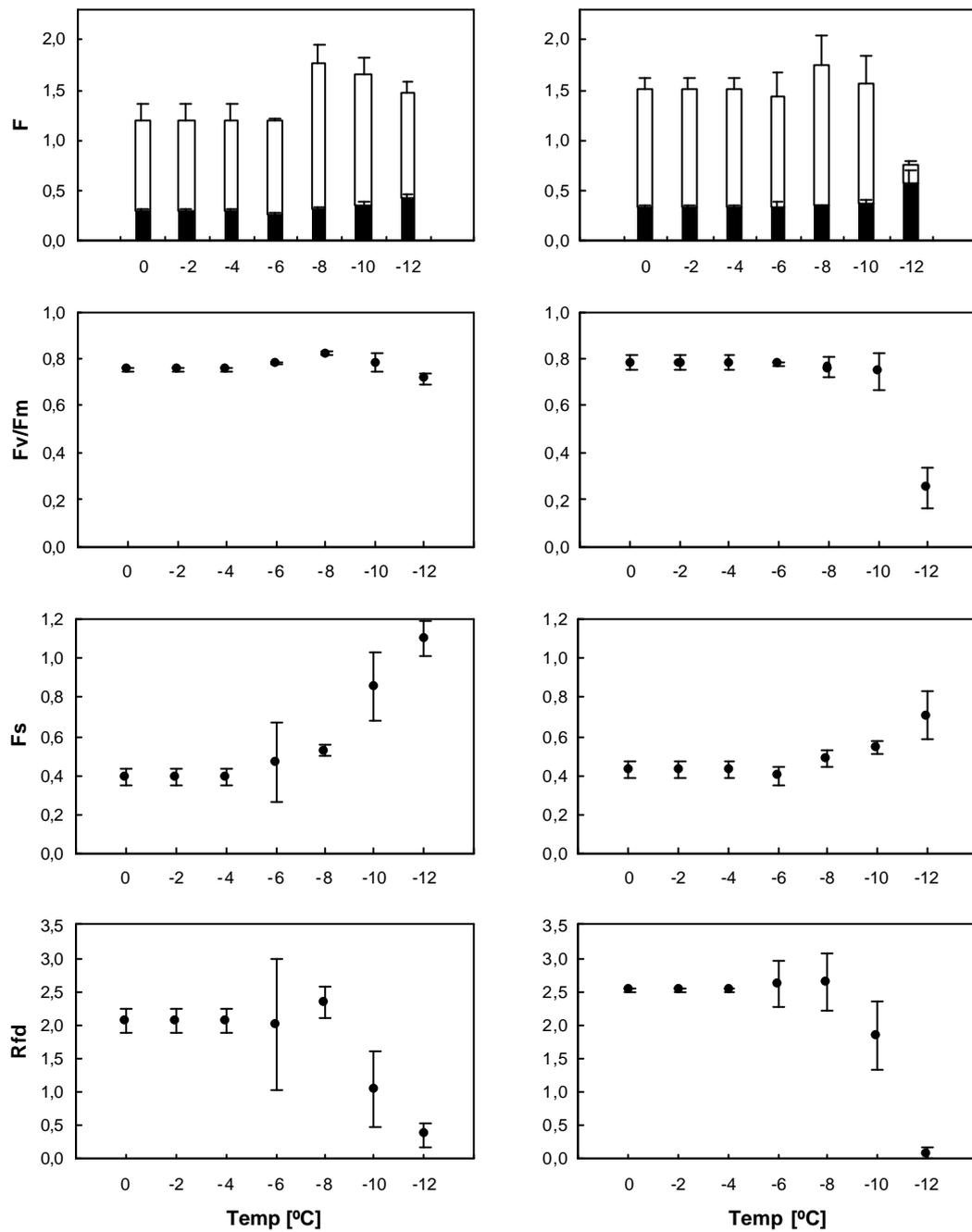


Fig. 4.6.3.7. Cambios en diferentes parámetros de fluorescencia a lo largo del tratamiento a bajas temperaturas en hojas de sol de *Laurus azorica* en la estación húmeda (marzo de 1996). En la columna de la izquierda se muestran las medidas realizadas inmediatamente después de los 30 min en cada una de las temperaturas y en la columna de la derecha se muestran las medidas realizadas tras estar, esas mismas hojas, toda la noche a temperatura ambiente, atmósfera saturante y oscuridad después de realizado el tratamiento térmico. Los puntos representan la media de 5 determinaciones en 5 hojas diferentes con su desviación standard. En las gráficas superiores se muestran los valores de fluorescencia (F), siendo Fm, barras completas; Fo, parte sombreada; y Fv, parte blanca.

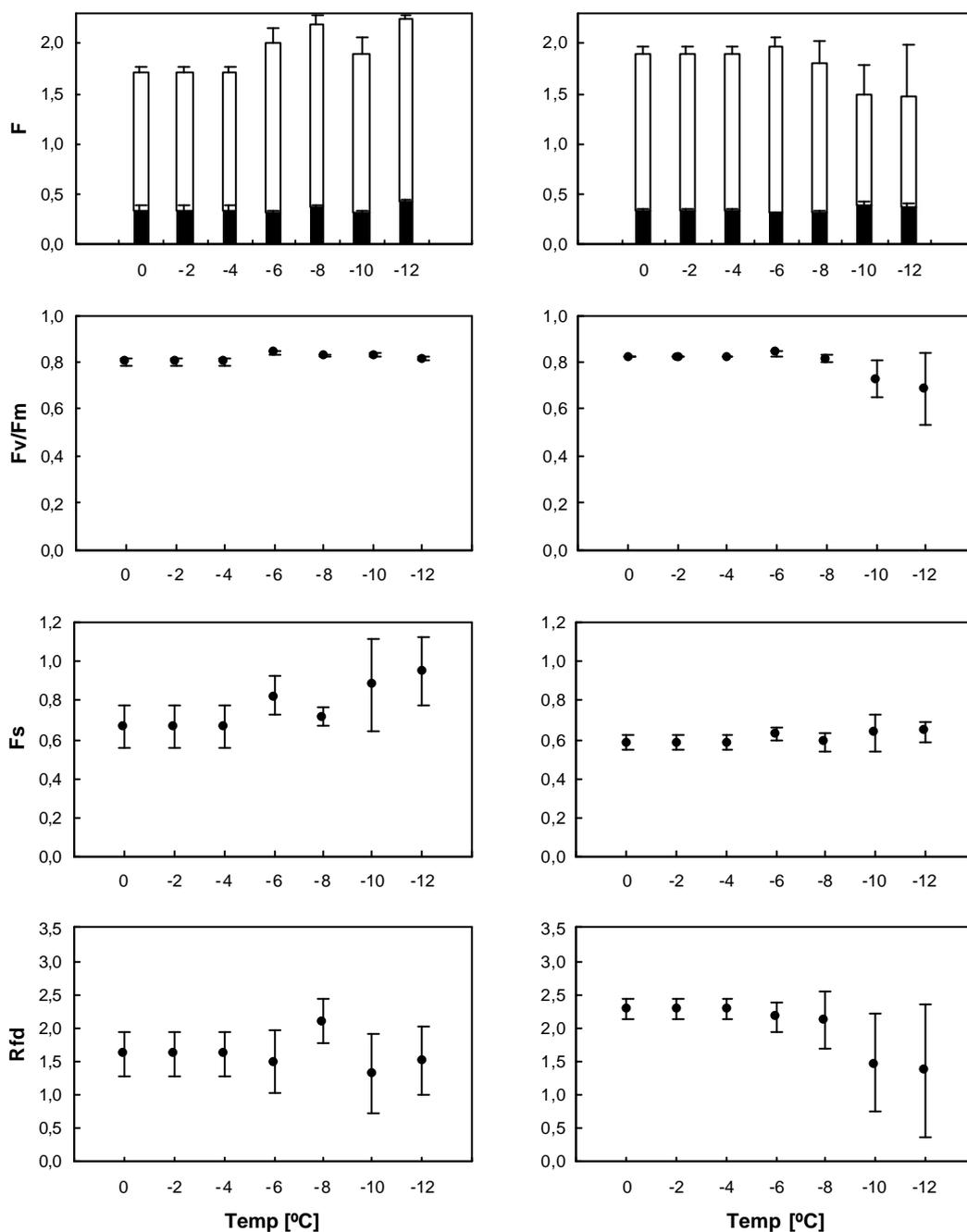


Fig. 4.6.3.8. Cambios en diferentes parámetros de fluorescencia a lo largo del tratamiento a bajas temperaturas en hojas de sombra de *Laurus azorica* en la estación húmeda (marzo de 1996). En la columna de la izquierda se muestran las medidas realizadas inmediatamente después de los 30 min en cada una de las temperaturas y en la columna de la derecha se muestran las medidas realizadas tras estar, esas mismas hojas, toda la noche a temperatura ambiente, atmósfera saturante y oscuridad después de realizado el tratamiento térmico. Los puntos representan la media de 5 determinaciones en 5 hojas diferentes con su desviación standard. En las gráficas superiores se muestran los valores de fluorescencia (F), siendo Fm, barras completas; Fo, parte sombreada; y Fv, parte blanca.

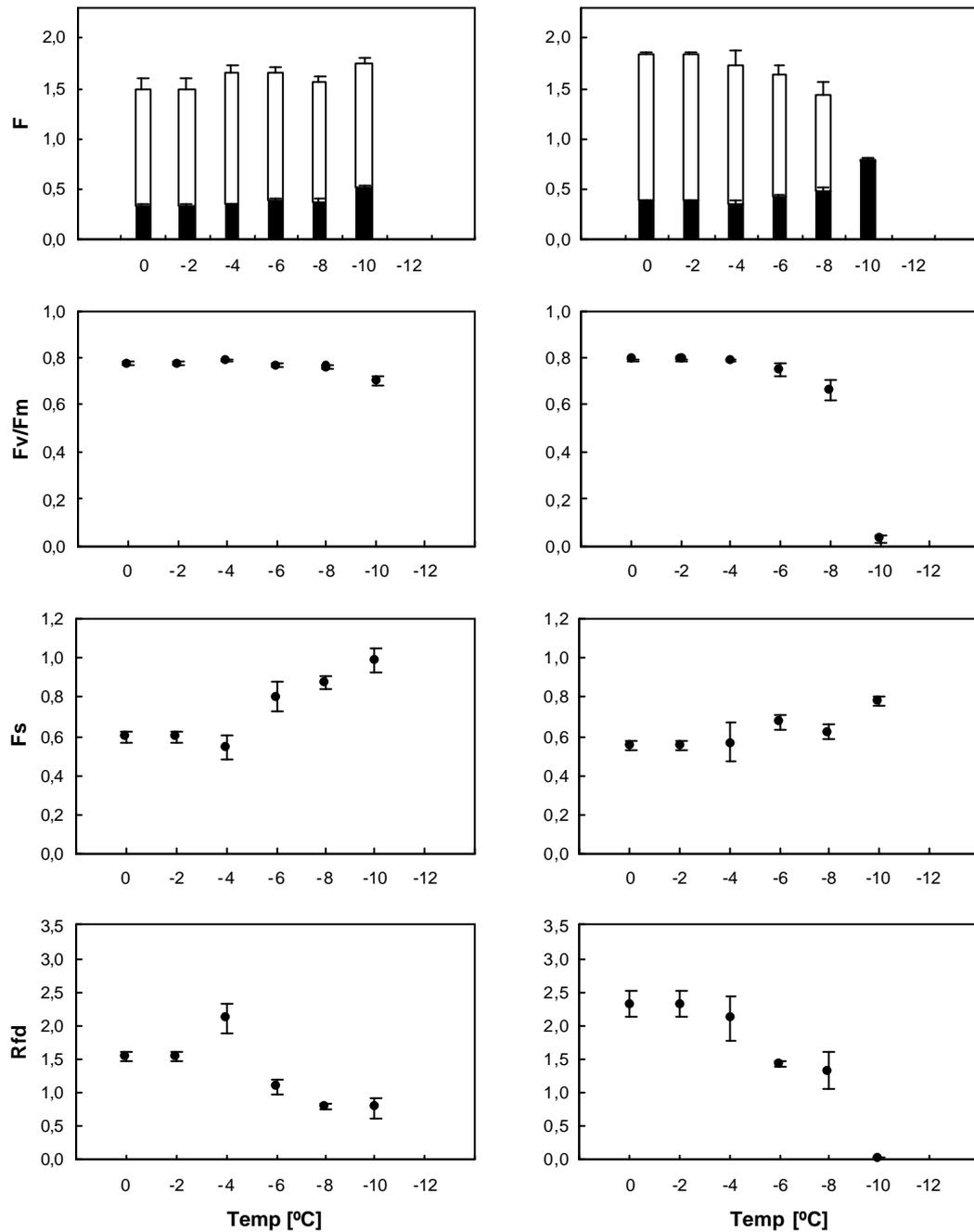


Fig. 4.6.3.9. Cambios en diferentes parámetros de fluorescencia a lo largo del tratamiento a bajas temperaturas en hojas de sol de *Persea indica* en la estación húmeda (marzo de 1996). En la columna de la izquierda se muestran las medidas realizadas inmediatamente después de los 30 min en cada una de las temperaturas y en la columna de la derecha se muestran las medidas realizadas tras estar, esas mismas hojas, toda la noche a temperatura ambiente, atmósfera saturante y oscuridad después de realizado el tratamiento térmico. Los puntos representan la media de 5 determinaciones en 5 hojas diferentes con su desviación standard. En las gráficas superiores se muestran los valores de fluorescencia (F), siendo Fm, barras completas; Fo, parte sombreada; y Fv, parte blanca.

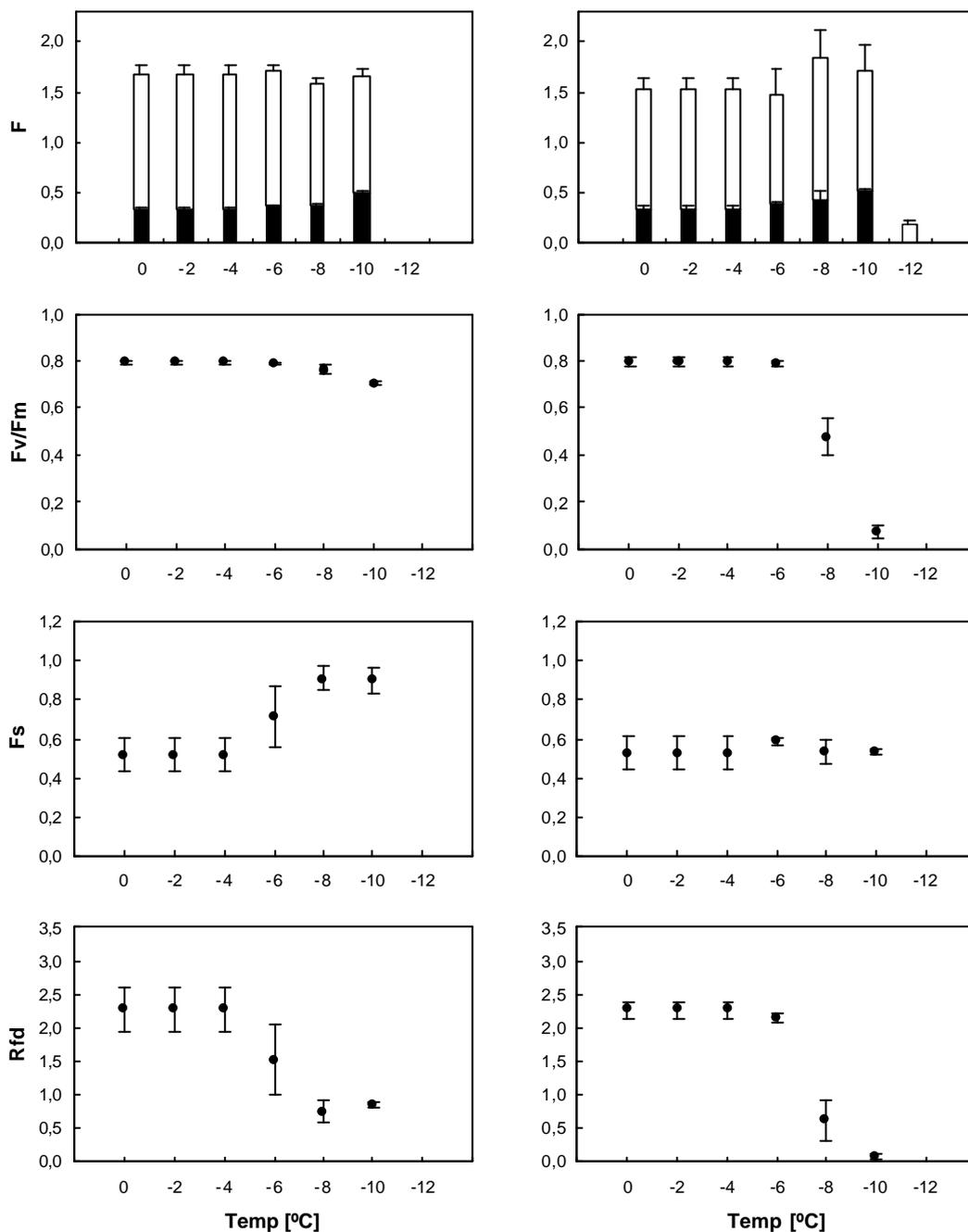


Fig. 4.6.3.10. Cambios en diferentes parámetros de fluorescencia a lo largo del tratamiento a bajas temperaturas en hojas de sombra de *Persea indica* en la estación húmeda (marzo de 1996). En la columna de la izquierda se muestran las medidas realizadas inmediatamente después de los 30 min en cada una de las temperaturas y en la columna de la derecha se muestran las medidas realizadas tras estar, esas mismas hojas, toda la noche a temperatura ambiente, atmósfera saturante y oscuridad después de realizado el tratamiento térmico. Los puntos representan la media de 5 determinaciones en 5 hojas diferentes con su desviación standard. En las gráficas superiores se muestran los valores de fluorescencia (F), siendo Fm, barras completas; Fo, parte sombreada; y Fv, parte blanca.

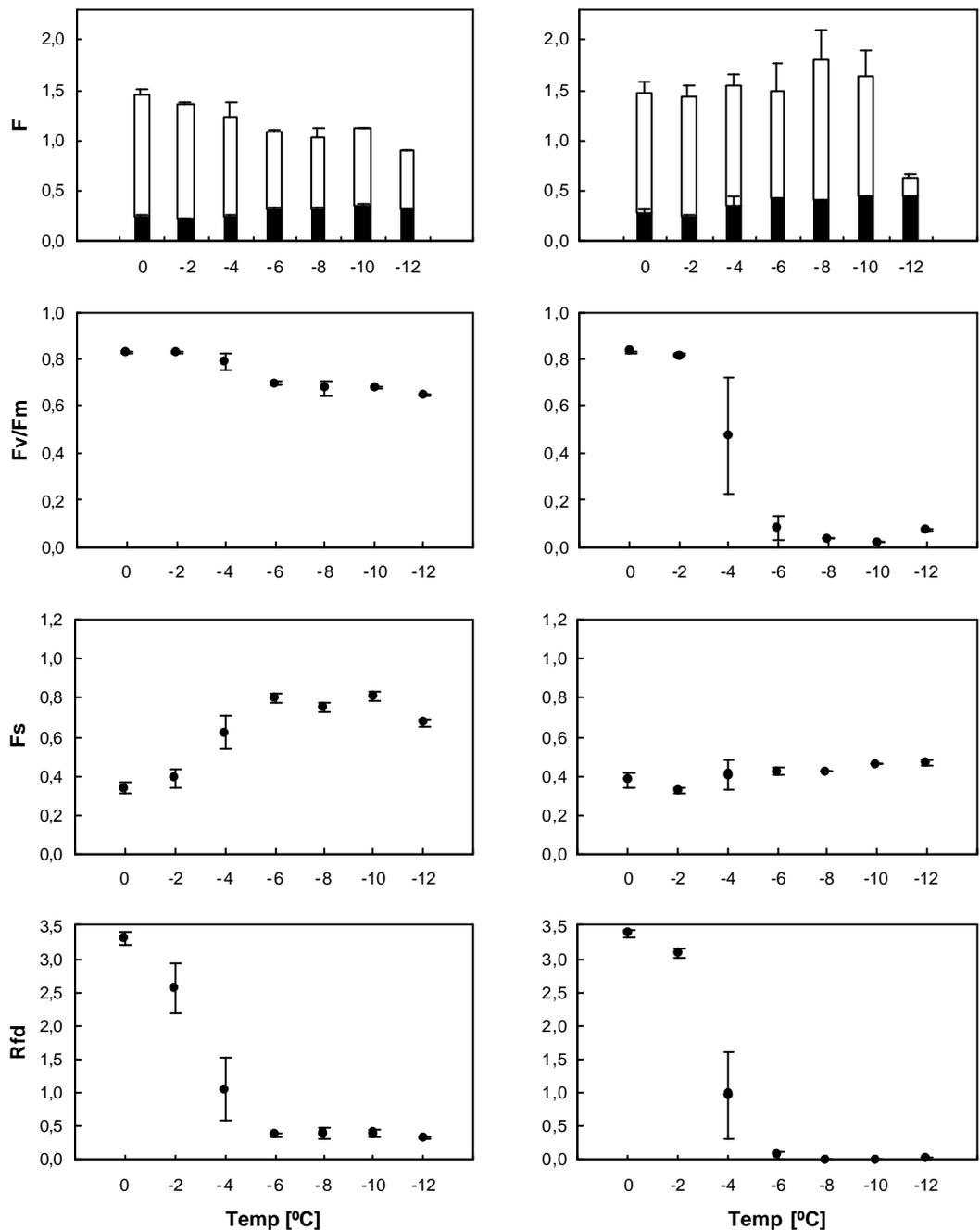


Fig. 4.6.3.11. Cambios en diferentes parámetros de fluorescencia a lo largo del tratamiento a bajas temperaturas en hojas de sol de *Myrica faya* en la estación seca (septiembre de 1996). En la columna de la izquierda se muestran las medidas realizadas inmediatamente después de los 30 min en cada una de las temperaturas y en la columna de la derecha se muestran las medidas realizadas tras estar, esas mismas hojas, toda la noche a temperatura ambiente, atmósfera saturante y oscuridad después de realizado el tratamiento térmico. Los puntos representan la media de 5 determinaciones en 5 hojas diferentes con su desviación standard. En las gráficas superiores se muestran los valores de fluorescencia (F), siendo Fm, barras completas; Fo, parte sombreada; y Fv, parte blanca.

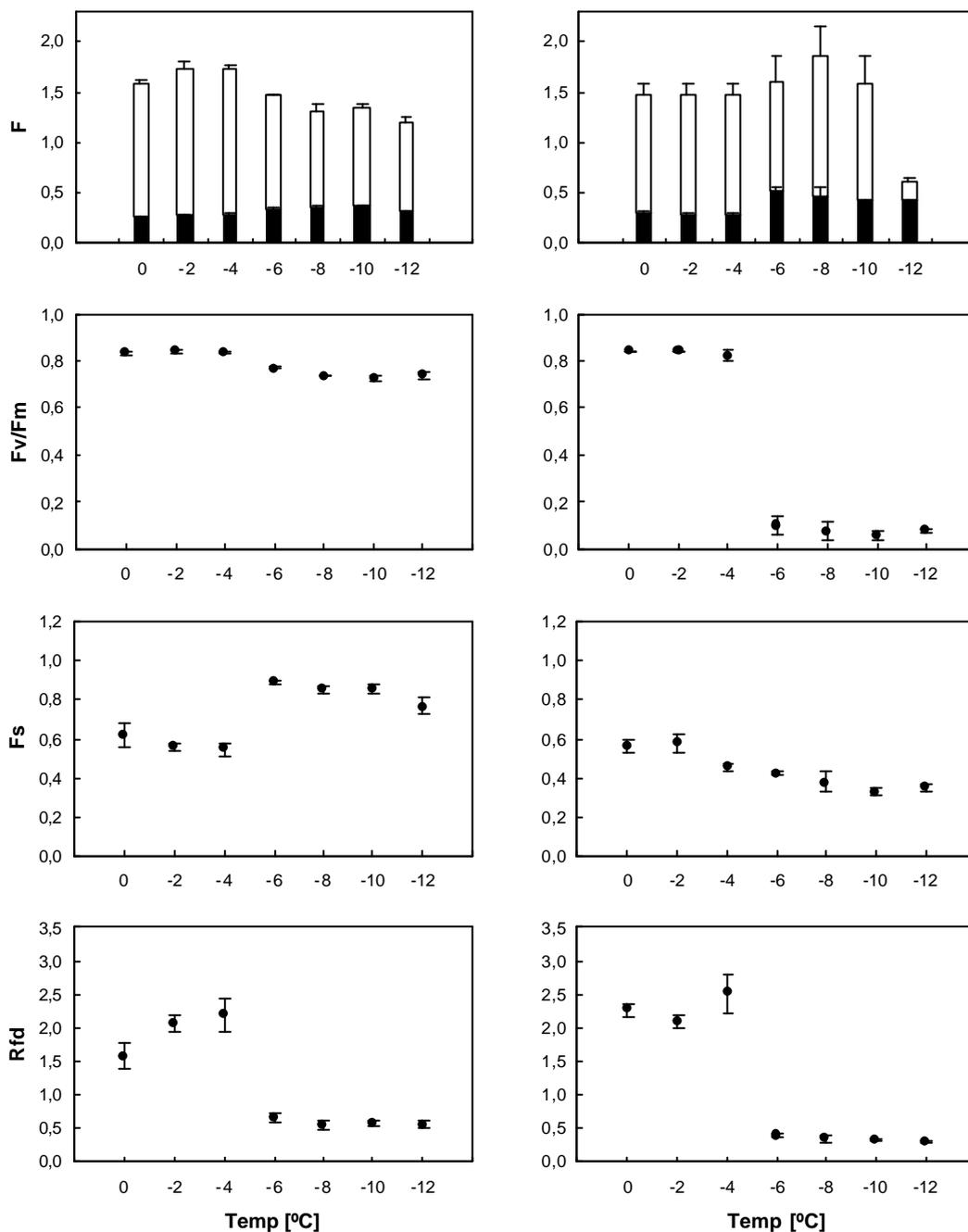


Fig. 4.6.3.12. Cambios en diferentes parámetros de fluorescencia a lo largo del tratamiento a bajas temperaturas en hojas de sombra de *Myrica faya* en la estación seca (septiembre de 1996). En la columna de la izquierda se muestran las medidas realizadas inmediatamente después de los 30 min en cada una de las temperaturas y en la columna de la derecha se muestran las medidas realizadas tras estar, esas mismas hojas, toda la noche a temperatura ambiente, atmósfera saturante y oscuridad después de realizado el tratamiento térmico. Los puntos representan la media de 5 determinaciones en 5 hojas diferentes con su desviación standard. En las gráficas superiores se muestran los valores de fluorescencia (F), siendo F_m, barras completas; F_o, parte sombreada; y F_v, parte blanca.

MODELO GLOBAL

El análisis de varianza de 4 vías (modelo global) mostró que existían diferencias entre las especies, aunque éstas variaban según el parámetro de fluorescencia estudiado y el momento de la medida (momento o recuperación) (Tabla 4.6.3.3).

Tabla 4.6.3.3. Diferencias entre *Laurus azorica* (1), *Persea indica* (2) y *Myrica faya* (3) en la respuesta a las bajas temperaturas medidos con diferentes parámetros de fluorescencia, inmediatamente después del tratamiento térmico (M) y 24 h después del tratamiento a temperatura ambiente y atmósfera saturante (Rec).

	Fo		Fm			Fv/Fm		Fs		Rfd	
M	1	X		1	X	X	1	X		1	X
	2		X	2		X	2		X	2	X
	3			X	3	X	3	X	3	X	3
Rec	1	X		1	X		1	X		1	X
	2		X	2		X	2		X	2	X
	3		X	3			X	3		X	3

Como se puede apreciar en la tabla se observan, dependiendo del parámetro de estudio, dos comportamientos diferentes. Fo medido en el momento y Fm, Fv/Fm y Fs medido después de 24 h muestran que las tres especies estudiadas tienen comportamientos significativamente diferentes en su respuesta a las bajas temperaturas. Sin embargo Fv/Fm, Fs y Rfd medidos en el momento del tratamiento y Fo y Rfd medidos después de 24h, muestran que *L. azorica* es significativamente diferente a *P. indica* y a *M. faya*, mientras que las dos últimas tienen un comportamiento similar. Los resultados obtenidos con el parámetro Fm medido en el momento del tratamiento fueron bastante contradictorios, lo cual se observará a lo largo de todo el estudio.

MODELO INDIVIDUAL

A continuación se presenta el estudio estadístico realizado para cada especie explicando los resultados obtenidos con los diferentes factores e interacciones (Tablas 4.6.3.4, 4.6.3.5 y 4.6.3.6).

Tabla 4.6.3.4. Resumen de los resultados obtenidos en el análisis de varianza de tres vías en los diferentes parámetros de fluorescencia medidos en hojas de sol y de sombra (Tipo) de *Laurus azorica* en dos épocas diferentes; estación seca y húmeda (Época). Los datos son los valores de *F* de Snedecor de los diferentes parámetros de fluorescencia (Fo, Fm, Fv/Fm, Fs y Rfd) medidos en el momento del tratamiento (M) y tras 24 h (Rec). * P<0.05; ** P<0.01; *** P<0.001; NS = no significativa.

	Fo		Fm		Fv/Fm		Fs		Rfd	
	M	Rec	M	Rec	M	Rec	M	Rec	M	Rec
Temperatura	10.8 ***	20.8 ***	3.0 *	13.4 ***	19.7 ***	47.9 ***	15.6 ***	7.7 ***	12.9 ***	23.3 ***
Tipo	NS	44.8 ***	NS	NS	NS	20.7 ***	NS	71.1 ***	40.8 ***	40.1 ***
Época	NS	NS	4.1 *	NS	NS	8.5 **	12.8 ***	13.0 ***	9.0 **	30.5 ***
Temp x Tipo	NS	15.5 ***	NS	NS	NS	6.2 ***	2.6 *	9.1 ***	NS	NS
Temp x Época	NS	2.9 *	8.1 ***	NS	8.4 ***	5.3 ***	NS	3.2 **	NS	NS
Tipo x Época	NS	10.2 **	NS	NS	NS	NS	NS	3.7 *	14.3 ***	15.2 ***

Tabla 4.6.3.5. Resumen de los resultados obtenidos en el análisis de varianza de tres vías en los diferentes parámetros de fluorescencia medidos en hojas de sol y de sombra (Tipo) de *Persea indica* en dos épocas diferentes; estación seca y húmeda (Época). Los datos son los valores de *F* de Snedecor de los diferentes parámetros de fluorescencia (Fo, Fm, Fv/Fm, Fs y Rfd) medidos en el momento del tratamiento (M) y tras 24 h (Rec). * P<0.05; ** P<0.01; *** P<0.001; NS = no significativa.

	Fo		Fm		Fv/Fm		Fs		Rfd	
	M	Rec	M	Rec	M	Rec	M	Rec	M	Rec
Temperatura	53.3 ***	60.1 ***	18.5 ***	115.8 ***	39.4 ***	245.8 ***	36.7 ***	5.0 ***	55.6 ***	117.5 ***
Tipo	NS	29.7 ***	NS	15.0 ***	NS	NS	NS	110.3 ***	79.1 ***	99.4 ***
Época	4.3 *	NS	44.6 ***	9.3 **	NS	10.8 **	8.1 **	NS	59.0 ***	NS
Temp x Tipo	3.1 *	7.7 ***	NS	15.7 ***	3.0 *	4.2 ***	NS	8.2 ***	NS	7.2 ***
Temp x Época	5.0 ***	7.5 ***	17.3 ***	7.6 ***	8.1 ***	16.3 ***	3.0 *	NS	15.5 ***	2.7 *
Tipo x Época	NS	NS	35.2 ***	9.9 ***	17.8 ***	6.9 *	8.8 **	NS	NS	NS

Tabla 4.6.3.6. Resumen de los resultados obtenidos en el análisis de varianza de tres vías en los diferentes parámetros de fluorescencia medidos en hojas de sol y de sombra (Tipo) de *Myrica faya* (especies) en dos épocas diferentes; estación seca y húmeda (Época). Los datos son los valores de *F* de Snedecor de los diferentes parámetros de fluorescencia (Fo, Fm, Fv/Fm, Fs y Rfd) medidos en el momento del tratamiento (M) y tras 24 h (Rec). * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; NS = no significativa.

	Fo		Fm		Fv/Fm		Fs		Rfd	
	M	Rec	M	Rec	M	Rec	M	Rec	M	Rec
Temperatura	47.8 ***	56.3 ***	33.9 ***	154.0 ***	95.7 ***	151.0 ***	137.3 ***	125.6 ***	135.9 ***	110.0 ***
Tipo	NS	NS	4.5 *	47.9 ***	12.8 ***	NS	139.5 ***	199.2 ***	353.9 ***	109.6 ***
Época	72.8 ***	9.1 **	136.2 ***	178.5 ***	146.3 ***	4.0 *	NS	10.5 **	26.1 ***	43.7 ***
Temp x Tipo	NS	4.1 **	NS	5.3 ***	NS	NS	13.1 ***	NS	19.8 ***	4.2 ***
Temp x Época	15.3 ***	4.9 ***	4.2 ***	7.2 ***	6.7 ***	NS	7.7 ***	NS	3.4 **	3.0 *
Tipo x Época	11.8 ***	NS	NS	5.6 *	11.8 ***	5.2 *	83.1 ***	24.5 ***	105.8 ***	74.8 ***

Como se puede apreciar de las tablas 4.6.3.4, 4.6.3.5 y 4.6.3.6 se observa una variabilidad en el modelo obtenido para cada una de las especies, dependiendo de los parámetros a estudio, ya sea en los parámetros de cinética rápida como en los parámetros de cinética lenta. Así, en unos casos dieron significativos unos factores principales e interacciones dobles y en otros casos dieron otros diferentes.

Aquellos factores principales e interacciones dobles que dieron significativos en el modelo fueron analizados en detalle mediante un contraste a posteriori.

- Análisis de los factores principales.

Los parámetros de cinética lenta (Fs y Rfd) mostraron, ya sea medido en el momento del tratamiento como 24 h después, ser indicadores más sensibles del daño que los parámetros de cinética rápida (Fo, Fm y Fv/Fm). Así con los parámetros de cinética lenta, *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* mostraron daño a -10, -6 y -4 °C, respectivamente. Mientras que con los parámetros de cinética rápida *L. azorica* mostró daño a -12 °C cuando se midió en el momento y a -10 °C después de 24h, *P. indica* mostró daño a -8 °C y *M. faya* a -6 °C, tanto en el momento como tras 24 h (Fig. 4.6.3.13).

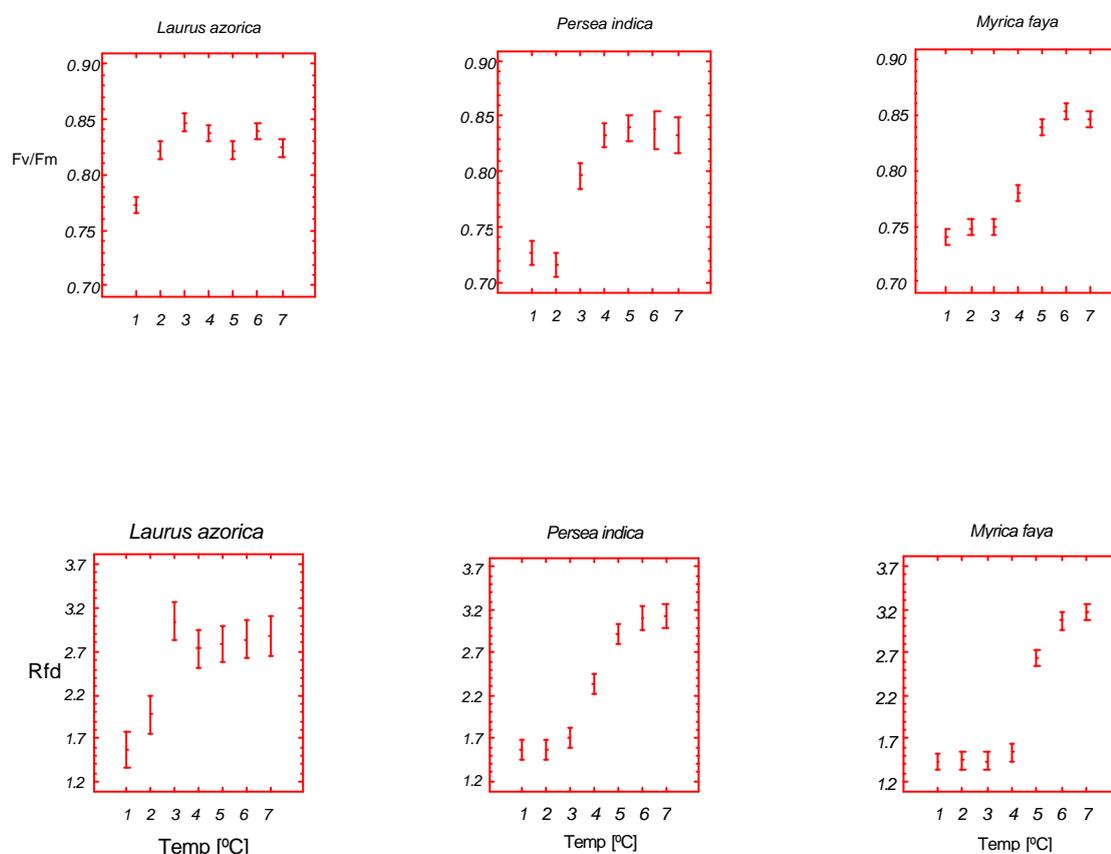


Fig. 4.6.3.13. Respuesta al tratamiento térmico de Fv/Fm y Rfd medidos en el momento del tratamiento en *Laurus azorica*, *Persea indica* y *Myrica faya*. Los números en el eje de abscisas indican las diferentes temperaturas de tratamiento (1=-12°C; 2=-10°C; 3=-8°C; 4=-6°C; 5=-4°C; 6=-2°C; 7=0°C).

El estudio del tipo de hoja reflejó que, aunque por lo general, los parámetros de cinética rápida medidos en el momento del tratamiento no mostraron diferencias significativas entre las hojas de sol y de sombra (en *M. faya* una ligera desviación hacia un mayor daño en las hojas de sol), los parámetros de cinética lenta medidos en el momento y, en general, todos los parámetros estudiados tras 24 h, mostraron que las hojas de sol eran más dañadas por las bajas temperaturas que las hojas de sombra. En la Fig. 4.6.3.14 se muestra un ejemplo de este comportamiento mediante el análisis de Rfd medido en el momento del tratamiento.

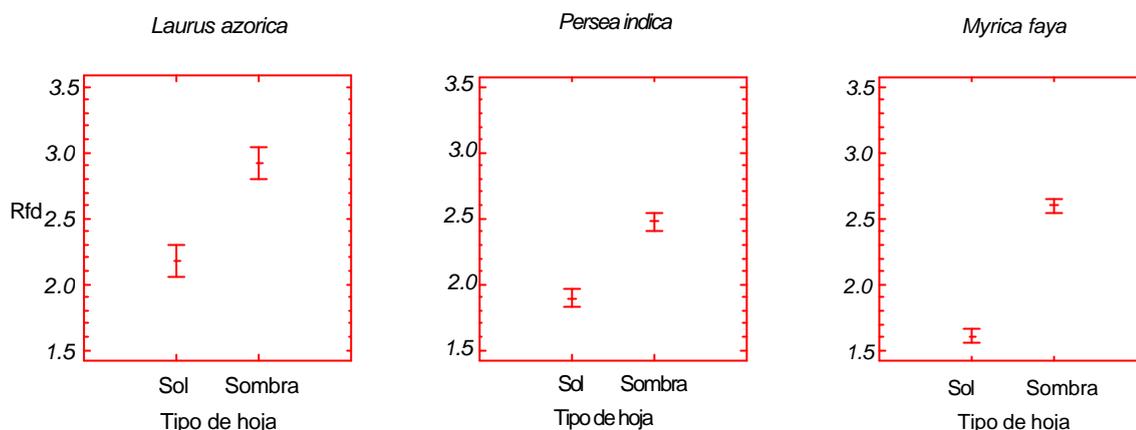


Fig. 4.6.3.14. Respuesta a las bajas temperaturas de Rfd medido en el momento del tratamiento según el tipo de hoja (sol y sombra) en *Laurus azorica*, *Persea indica* y *Myrica faya*.

A pesar de que en algunos de los parámetros estudiados no se observaron diferencias significativas en la respuesta a las bajas temperaturas según la época de tratamiento, en general se pudo observar un mayor daño de las hojas durante la estación seca (Fig. 4.6.3.15). En *P. indica* se observó un mayor daño en la estación húmeda que en la estación seca, sin embargo este resultado que en principio podría parecer contradictorio, puede ser debido a que la época de la toma de muestra, pese a ser junio (mes perteneciente a la estación seca), tuvo características más propias de meses invernales (ver tabla 4.6.3.1).

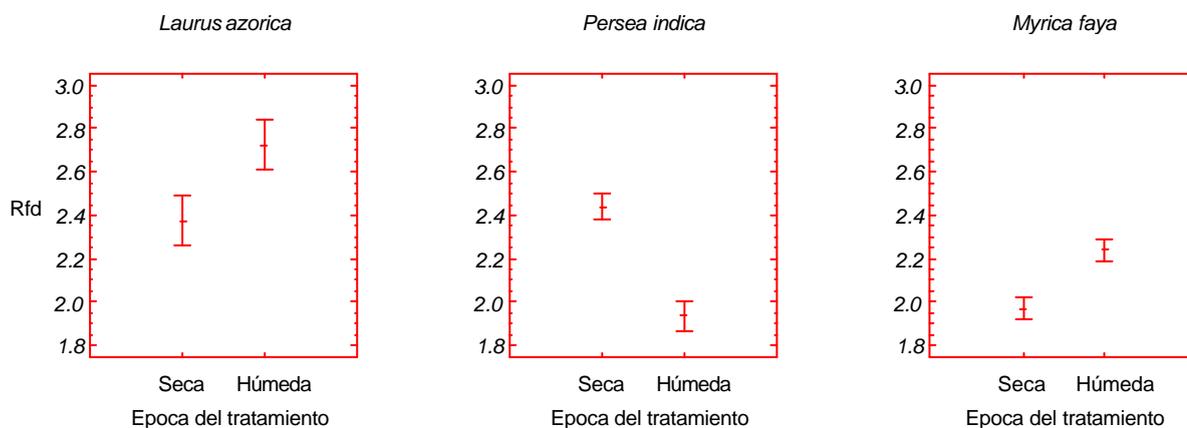


Fig. 4.6.3.15. Respuesta a las bajas temperaturas de Rfd medido en el momento del tratamiento según la época del tratamiento (estación seca y húmeda) en *Laurus azorica*, *Persea indica* y *Myrica faya*.

- Análisis de las interacciones dobles.

Interacción tratamiento térmico x tipo de hoja

La interacción tratamiento térmico x tipo de hoja no mostró diferencias significativas en los parámetro de cinética rápida y Rfd medidos en el momento del tratamiento para *L. azorica*, sin embargo para el resto de los parámetros se observó un daño a -10 °C en las hojas de sol y a -12 °C en las hojas de sombra. En la Fig. 4.6.3.16 se muestran los resultados obtenidos con el parámetro Fv/Fm medido después de 24 h.

P. indica mostró que las hojas de sol eran dañadas a -6 °C y las hojas de sombra a -8 °C, tanto en los parámetros de cinética lenta como rápida, medidos 24 h después del tratamiento (Fig. 4.6.3.17), mientras que los parámetros medidos en el momento no mostraron diferencias o si lo hicieron, fueron poco significativas siendo las hojas de sol y de sombra dañadas a -10 °C (Fig. 4.6.3.18).

Aunque para *M. faya*, algunos de los parámetros de fluorescencia no mostraron diferencias significativas en esta interacción, otros mostraron que las hojas de sol se dañaban a -4 °C y las hojas de sombra a -6 °C. En la Fig. 4.6.3.19 se muestran los resultados obtenidos en el análisis de Rfd medido después de 24 h.

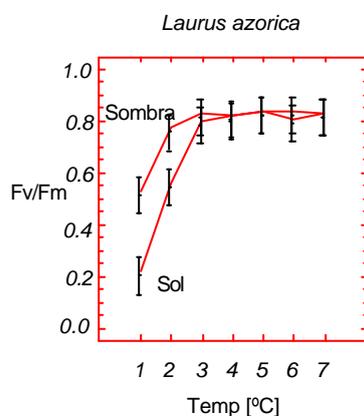


Fig. 4.6.3.16. Estudio de la interacción entre el tratamiento térmico y el tipo de hoja (sol y sombra) según el análisis de Fv/Fm medido después de 24 del tratamiento en *Laurus azorica*. Los números en el eje de abscisas indican las diferentes temperaturas de tratamiento (1=-12°C; 2=-10°C; 3=-8°C; 4=-6°C; 5=-4°C; 6=-2°C; 7=0°C).

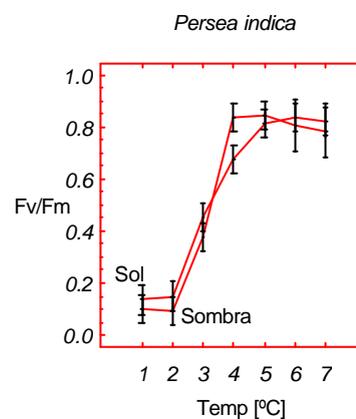


Fig. 4.6.3.17. Estudio de la interacción entre el tratamiento térmico y el tipo de hoja (sol y sombra) según el análisis de Fv/Fm medido después de 24 h del tratamiento en *Persea indica*. Los números en el eje de abscisas indican las diferentes temperaturas de tratamiento (1=-12°C; 2=-10°C; 3=-8°C; 4=-6°C; 5=-4°C; 6=-2°C; 7=0°C).

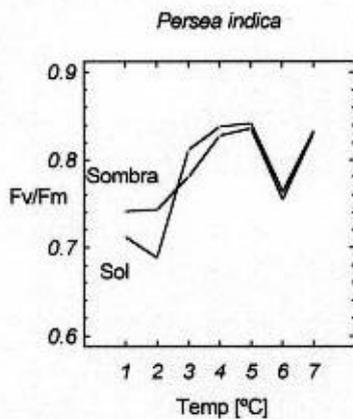


Fig. 4.6.3.18. Estudio de la interacción entre el tratamiento térmico y el tipo de hoja (sol y sombra) según el análisis de Fv/Fm medido en el momento del tratamiento en *Persea indica*. Los números en el eje de abscisas indican las diferentes temperaturas de tratamiento (1=-12°C; 2=-10°C; 3=-8°C; 4=-6°C; 5=-4°C; 6=-2°C; 7=0°C).

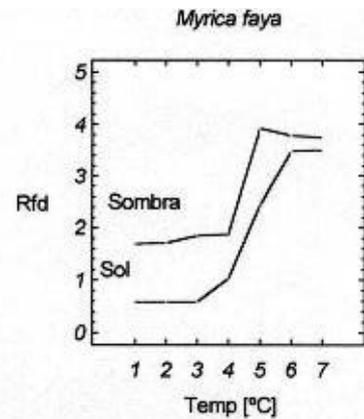


Fig. 4.6.3.19. Estudio de la interacción entre el tratamiento térmico y el tipo de hoja (sol y sombra) según el análisis de Rfd medido después de 24h del tratamiento en *Myrica faya*. Los números en el eje de abscisas indican las diferentes temperaturas de tratamiento (1=-12°C; 2=-10°C; 3=-8°C; 4=-6°C; 5=-4°C; 6=-2°C; 7=0°C).

Interacción tratamiento térmico x época del tratamiento

La interacción tratamiento térmico x época del experimento en *L. azorica* no fue significativa en algunos de los parámetros de fluorescencia estudiados, otros (Fm, Fv/Fm en el momento y Fo, Fv/Fm y Fs después de 24 h), sin embargo, mostraron diferencias significativas, observándose que en la estación seca las hojas se dañaban a -10 °C y en la estación húmeda a -12 °C. En la Fig. 4.6.3.20 se muestran los resultados obtenidos en el análisis de Fv/Fm medido después de 24 h de tratamiento.

En términos generales, la respuesta de *P. indica* a la temperatura en ambas épocas es prácticamente la misma; aunque para el parámetro Rfd medido en el momento del tratamiento la temperatura a la cual comenzaba el daño se producía ligeramente antes en la estación seca que en la estación húmeda (Fig. 4.6.3.21).

M. faya mostró, por lo general, una tendencia a estar dañada a -4 °C en la estación seca y a -6 °C en la estación húmeda. En la Fig. 4.6.3.22 se muestran los resultados obtenidos en el análisis de Rfd medido en el momento del tratamiento.

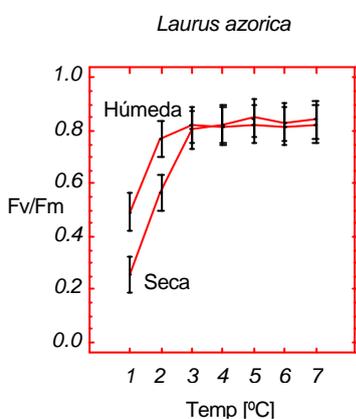


Fig. 4.6.3.20. Estudio de la interacción entre el tratamiento térmico y la época del tratamiento (estación seca y húmeda) según el análisis de Fv/Fm medido después de 24h del tratamiento en *Laurus azorica*. Los números en el eje de abscisas indican las diferentes temperaturas de tratamiento (1=-12°C; 2=-10°C; 3=-8°C; 4=-6°C; 5=-4°C; 6=-2°C; 7=0°C).

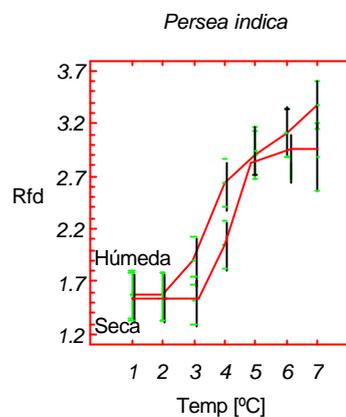
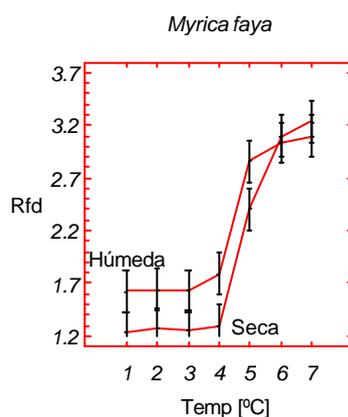


Fig. 4.6.3.21. Estudio de la interacción entre el tratamiento térmico y la época del tratamiento (estación seca y húmeda) según el análisis de Rfd medido en el momento del tratamiento en *Persea indica*. Los números en el eje de abscisas indican las diferentes temperaturas de tratamiento (1=-12°C; 2=-10°C; 3=-8°C; 4=-6°C; 5=-4°C; 6=-2°C; 7=0°C).

Fig. 4.6.3.22. Estudio de la interacción entre el tratamiento térmico y la



época del tratamiento (estación seca y húmeda) según el análisis de Rfd medido en el momento del tratamiento en *Myrica faya*. Los números en el eje de abscisas indican las diferentes temperaturas de tratamiento (1=-12°C; 2=-10°C; 3=-8°C; 4=-6°C; 5=-4°C; 6=-2°C; 7=0°C).

Interacción tipo de hoja x época del experimento

La interacción tipo de hoja x época del experimento, aunque siendo no significativa en algunos de los parámetros estudiados, reflejaba que en la estación seca son más dañadas las hojas de sol, mientras que en la estación húmeda no se aprecia una diferencia tan clara entre las hojas de sol y de sombra (Fig. 4.6.3.23 y 4.6.3.24).

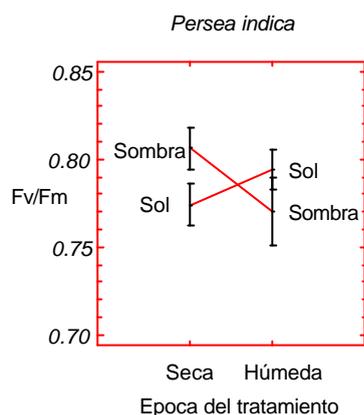


Fig. 4.6.3.23. Estudio de la interacción entre el tipo de hoja (sol y sombra) y la época del tratamiento según el análisis de Fv/Fm medido en el momento en *Persea indica*.

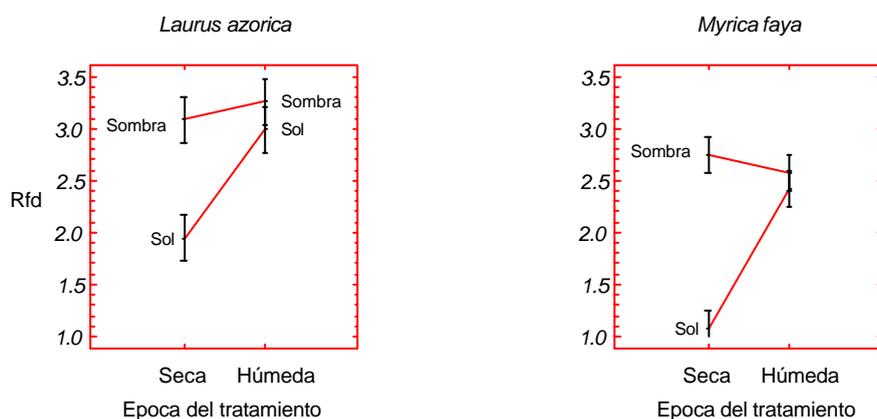


Fig. 4.6.3.24. Estudio de la interacción entre el tipo de hoja (sol y sombra) y la época del tratamiento (estación seca y húmeda) según el análisis de Rfd después de 24h del tratamiento en *Laurus azorica* y *Myrica faya*

4.6.3.1.2.2. Medidas de conductividad eléctrica

Las medidas de conductividad eléctrica nos dan idea de la integridad de la membrana a lo largo del tratamiento térmico, así la rotura de la misma provoca una pérdida de electrolitos detectada por un aumento en la conductividad eléctrica. Las medidas de conductividad de eléctrica se realizaron en el experimento llevado a cabo en 1996.

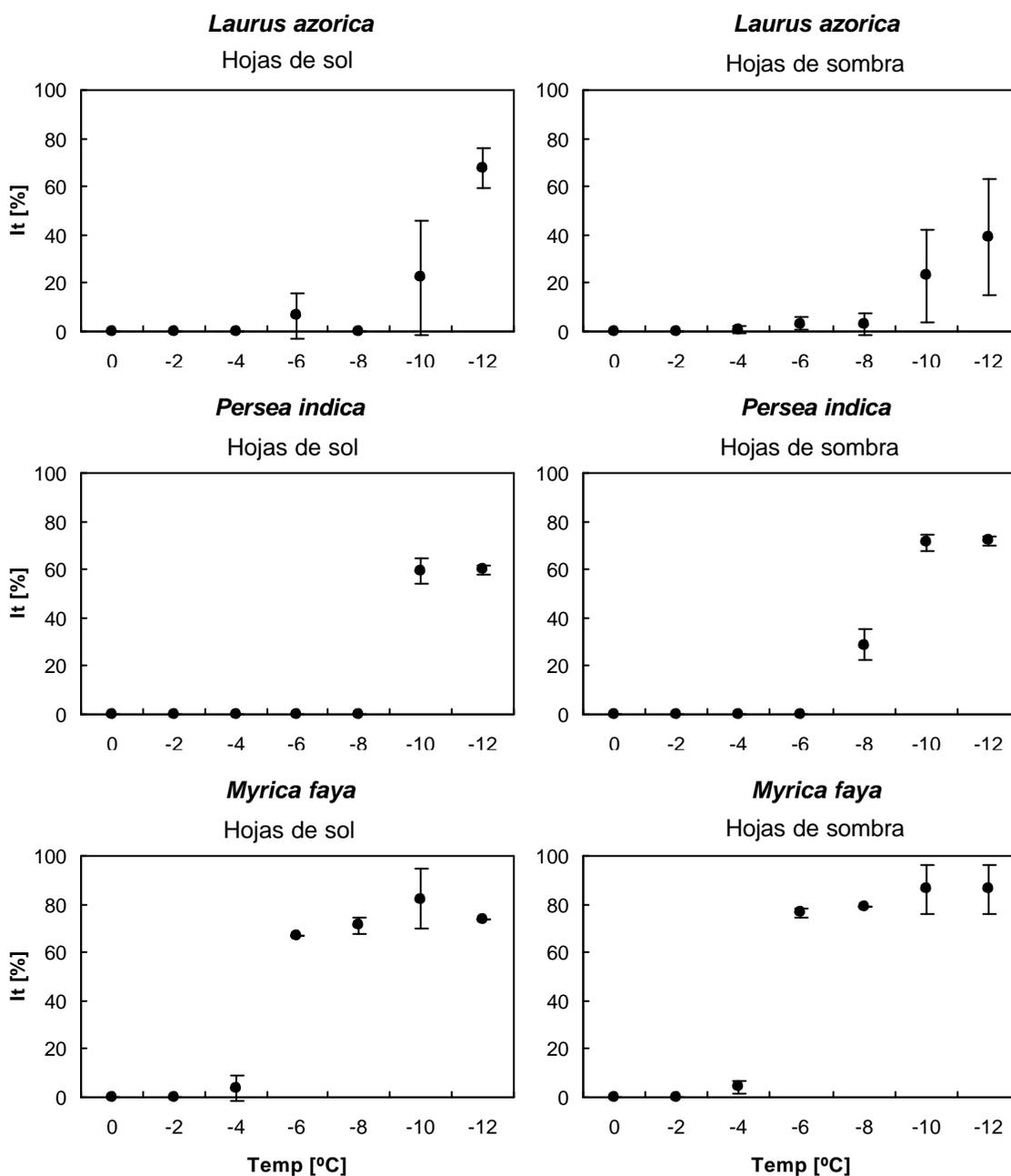


Fig. 4.6.3.25. Índice de daño (It) en respuesta a bajas temperaturas en hojas de sol y de sombra de *Laurus azorica*, *Persea indica* y *Myrica faya*. Los símbolos representan el valor medio de tres réplicas con su desviación estándar.

Los resultados obtenidos a lo largo del tratamiento a bajas temperaturas se muestran en la Fig. 4.6.3.25. Las hojas de sol y de sombra de *L. azorica* no mostraron daño debido a las bajas temperaturas hasta $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ mientras que, *M. faya* no mostró daño hasta $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Sin embargo, *P. indica* mostró una ligera diferencia entre las hojas de sol y de sombra, siendo el límite térmico sin daño a $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $-6\text{ }^{\circ}\text{C}$, respectivamente. Posiblemente la pérdida de electrolitos detectada a temperaturas por debajo de las descritas indican la formación de hielo en las estructuras de la hoja, lo cual conlleva la consecuente rotura de las membranas.

Los valores de LT_{50} fueron obtenidos en hojas de sol y de sombra de *L. azorica* a $-11\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $-13\text{ }^{\circ}\text{C}$ y en *P. indica* a $-9.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $-9\text{ }^{\circ}\text{C}$, respectivamente. En *M. faya* los valores de LT_{50} se observaron a $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ en ambos tipos de hojas.

4.6.3.1.2.3. Valoración visual del daño

El daño en la hoja como consecuencia de las bajas temperaturas se desarrolló de una manera gradual, en donde los primeros síntomas detectados eran el enrojecimiento del nervio central y secundarios, seguido de infiltraciones en el limbo de la hoja que al principio se presentaban dispersas cubriendo una superficie pequeña la cual iba aumentando a medida que disminuía la temperatura. A temperaturas extremas se observó una necrosis en la totalidad de la hoja tomando, tanto el limbo foliar como los nervios central y secundarios, una coloración marrón. En la Tabla 4.6.3.7 se muestra los resultados obtenidos mediante la valoración visual del daño.

La temperatura de daño incipiente por bajas temperaturas, es decir la temperatura a la cual aparecen los primeros daños, LT_i , fue observado en la estación húmeda a $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ tanto en hojas de sol como de sombra de *L. azorica*, mientras que en el experimento llevado a cabo en la estación seca el daño incipiente para esta especie fue a $-6\text{ }^{\circ}\text{C}$.

P. indica mostró un comportamiento variable entre el tipo de hoja y la época en que se realizó el experimento. Las hojas de sombra presentaron un daño incipiente aproximadamente a $-6\text{ }^{\circ}\text{C}$, mientras que las hojas de sol mostraron un daño incipiente en la estación seca a $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ y en la estación húmeda por encima de $-6\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Tanto las hojas de sol como de sombra de *M. faya* mostraron un daño inicial a la misma temperatura siendo en la estación húmeda a $-6\text{ }^{\circ}\text{C}$ y a $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ en la estación seca.

Aunque por lo general se fue observando un daño gradual a medida que bajaba la temperatura, en ocasiones se apreció en *P. indica* y *M. faya* un salto brusco en el daño, pasando de estar totalmente sana, es decir sin síntoma visible de daño, a presentar un 50% o incluso hasta un 100% de daño.

Tabla 4.6.3.7. Valoración visual del daño a bajas temperaturas según la época en el que se llevó a cabo el experimento (estación seca y estación húmeda) en *Laurus azorica*, *Persea indica* y *Myrica faya*. Los símbolos significan: (-) la temperatura más baja sin daño, LT₀; (+) la temperatura de daño incipiente, a la cual aparecen los primeros daños, LT₁; (++) la temperatura a la que se produce el 50% de daño, LT₅₀; y (+++) la temperatura en que se produce un 90-100% de daño, LT₁₀₀.

ESTACION HUMEDA

		-2 °C	-4 °C	-6 °C	-8 °C	-10 °C	-12 °C
<i>Laurus azorica</i>	Sol	-	-	-	+	++	+++
	Sombra	-	-	-	+	+	++
<i>Persea indica</i>	Sol	-	-	-	++	+++	+++
	Sombra	-	-	+	++	+++	+++
<i>Myrica faya</i>	Sol	-	-	+	++	+++	+++
	Sombra	-	-	+++	+++	+++	+++

ESTACION SECA

		-2 °C	-4 °C	-6 °C	-8 °C	-10 °C	-12 °C
<i>Laurus azorica</i>	Sol	-	-	+	++	++	+++
	Sombra	-	-	+	+	++	+++
<i>Persea indica</i>	Sol	-	+	++	+++	+++	+++
	Sombra	-	-	-	+++	+++	+++
<i>Myrica faya</i>	Sol	-	++	+++	+++	+++	+++
	Sombra	-	+	+++	+++	+++	+++

4.6.3.1.3. *Discusión*

Los valores control de los diferentes parámetros de fluorescencia estudiados fueron diferentes según la especie, el tipo de hoja y la época en la que se realizó el experimento.

Dentro de una misma planta se pueden caracterizar dos tipos de hojas según el régimen de luz en el que se desarrollan, así hablamos de hojas de sol que son aquellas hojas que están sometidas a un mayor régimen de luz por encontrarse situadas en la parte superior o en las partes más externas, las cuales reciben más luz que las hojas de sombra, situadas en la parte inferior o interna de la planta. Esta disposición hace que presenten características morfológicas y funcionales diferentes. Así, las hojas de sol presentan una mayor respuesta fotosintética frente a la luz, una mayor relación clorofila a/b, cloroplastos más pequeños, un mayor grosor y una mayor relación área-masa foliar (Givnish 1987). Todas estas diferencias anatómicas y estructurales, tanto a nivel de cloroplasto (aparato fotosintético) como a nivel de hoja, hacen que los valores control de los parámetros de fluorescencia estudiados sean diferentes (Schreiber *et al.* 1977; Björkman & Demmig 1987), siendo los valores Fv/Fm para las hojas de sombra mayor que para las hojas de sol.

En hojas adaptadas a la oscuridad, como es el caso de nuestros experimentos, un descenso en la eficiencia del PSII, medido como disminución en F_v/F_m , se produce sólo cuando el daño por las bajas temperaturas es muy severo (Somersalo & Krause 1990). La disminución de F_v/F_m estuvo asociada a un descenso de F_m y un aumento de F_o . Estos cambios en la cinética de fluorescencia desde F_o hasta F_m refleja un daño en el sistema de transporte electrónico, a nivel de flujo de electrones desde Q_a al pool de plastoquinonas (Bradbury *et al.* 1985). Welander *et al.* (1994), también observaron un aumento de F_o en *Picea abies* a temperaturas por debajo de cero. Los parámetros de cinética lenta: F_s y R_{fd} , mostraron ser indicadores más sensibles del daño a bajas temperaturas que los parámetros de cinética rápida (F_o , F_m y F_v/F_m). Estos resultados muestran como la fase de asimilación del carbono (ciclo de Calvin) se ve afectada antes de que ocurran perturbaciones en la actividad del PSII, a nivel del transporte electrónico.

Algunos autores han encontrado los mismos resultados comparando la temperatura límite a la cual no se ha producido un daño irreversible (LT_0), medido mediante la técnica de la fluorescencia de la clorofila, con la temperatura a la cual hay un 50% de daño (LT_{50}) calculado por conductividad eléctrica (Clement & van Hasselt 1996).

Steffen *et al.* (1989) demostraron que después de someter las hojas a temperaturas por debajo de cero, el primer cambio ocurre a nivel de membrana plasmática. Como consecuencia, la salida de iones y de compuestos tóxicos de la célula provoca una alteración del interior celular, que puede afectar el funcionamiento de otros orgánulos como cloroplastos y mitocondrias (Senser & Beck 1979; Krause *et al.* 1988; Steffen *et al.* 1989).

La disminución de la eficiencia fotoquímica después de la congelación no implica necesariamente una rotura de la membrana tilacoidal ya que la membrana tilacoidal no es el primer lugar de daño por congelación (Sundbom *et al.* 1982; Barnes & Wilson 1984; Adams & Perkins 1993; Boudet *et al.* 1993). Sin embargo, en nuestro estudio se observa como los valores de LT_0 obtenidos mediante el estudio de la fluorescencia de la clorofila no se solaparon con el LT_{50} sino con el LT_0 , calculado por conductividad eléctrica, e incluso, en las hojas de sol de *P. indica*, el daño en el aparato fotosintético ocurre mucho antes ($-6\text{ }^\circ\text{C}$) de que se observen cambios en las medidas de conductividad ($LT_{50} = -9.5\text{ }^\circ\text{C}$) (comparar la fig. 4.6.3.25 con el tratamiento correspondiente en hojas de sol y de sombra en la fig. 4.6.3.17), lo que indica que el aparato fotosintético se daña incluso antes de que cambie el ambiente celular como consecuencia de la rotura del plasmalema.

En cuanto a la valoración visual como técnica para detectar el daño a bajas temperaturas, resultó ser un sensible indicador de daño en las tres especies estudiadas. En general, se observaron síntomas de daño en las hojas antes que los detectados con los otros dos métodos, sin embargo este hecho, que podría ser considerado trivial, no es una conducta general en todas las especies vegetales. Así por ejemplo, en coníferas o gramíneas el daño visual no se detecta hasta un estado muy avanzado del daño (Strand & Öquist 1988). En *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* se detectan los primeros síntomas de daño mediante un enrojecimiento del nervio central, sin embargo este daño no es detectado por medidas de fluorescencia ni por conductividad eléctrica, porque ambos métodos estudian el daño que se produce en el mesófilo, y sólo, cuando el daño afecta a

una porción considerable de la hoja es cuando detectamos los primeros síntomas de daño por estos dos métodos.

El estudio de los daños de las tres especies a las bajas temperaturas mostró que estas especies no son sensibles al frío pero sí a la congelación. *L. azorica* es la especie más resistente, produciéndose un daño irreversible en el aparato fotosintético a -10°C , seguido de *P. indica* a -6°C , y *M. faya* a -4°C . Los resultados obtenidos para *P. indica* coinciden con los descritos por Larcher *et al.* (1991b) en el que se comparan dos especies del mismo género; *Persea indica* y *Persea americana*, describiendo el daño para ambas especies a -6°C . Estos resultados muestran como las tres especies estudiadas son especies resistentes a las bajas temperaturas. La gradación en la resistencia de las tres especies, fue la misma con las tres técnicas usadas en el experimento. Los resultados obtenidos para *M. faya* difieren de los obtenidos por Larcher (1980b) el cual mostró que el daño grave en las hojas de *M. faya* oscilaba entre -7.5 y -10°C , esta diferencia podría ser debida a diferencias en el material vegetal, no hay que olvidar que las hojas en nuestro estudio, son hojas totalmente desarrolladas de primer año y que proceden de árboles adultos de más de 15 m de altura. Otras especies del género *Myrica* situadas en regiones subtropicales como *Myrica rubra* mostraron daño a -10°C , frente a *Myrica californica* situada en regiones templadas y cálidas y bajo climas marítimos que es dañada a -15°C (Sakai 1978).

Se observó una tendencia en las hojas de sol a resistir menos que las hojas de sombra. Probablemente esto se debe a que, en condiciones naturales, las hojas de sol son hojas que se encuentran más expuestas a los factores ambientales, de manera que cualquier factor añadido produce daños más graves, mientras que las hojas de sombra debido a las características propias de este tipo de bosque se encuentran siempre en unas condiciones más homogéneas, menos oscilantes.

El estudio de los parámetros de fluorescencia de la clorofila mostró que en la estación seca, algo más cálida, las hojas resistían significativamente menos que en la estación húmeda. Esta diferencia en la resistencia a las bajas temperaturas en función de la época, aunque significativa, sólo fue de 2K, sin embargo es de esperar que en condiciones climáticas tan homogéneas como las que se encuentran en la laurisilva, no exista realmente una aclimatación como en otros lugares con fríos inviernos. En *P. indica* no se observó una diferencia entre las dos épocas en las que se realizó el experimento, ello se debe a que el mes de toma de la estación seca, pese a que fue Junio, presentó características climáticas propias de la estación húmeda.

4.6.3.2. Estudio del mecanismo de resistencia a las bajas temperaturas

4.6.3.2.1. Introducción

Las hojas de los árboles tropicales se dañan severamente a temperaturas ligeramente por debajo de 0°C, son así plantas sensibles a la congelación, aunque algunas de ellas pueden ser sensibles al frío (Sakai & Larcher 1987). Por el contrario, las plantas de origen templado tienen la capacidad de desarrollar una resistencia a la congelación, la cual las capacita para sobrevivir a las bajas temperaturas invernales.

En el apartado anterior veíamos como *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* eran especies resistentes al frío, mostrando daños a temperaturas por debajo de cero. Para sobrevivir a temperaturas por debajo de cero las plantas pueden desarrollar dos mecanismos diferentes: evitar la congelación de sus tejidos o tolerar la formación de hielo en ellos. Las plantas evitan la congelación mediante un superenfriamiento que previene la formación de hielo en sus tejidos o por la disminución de su punto de congelación. Ambos mecanismos pueden detectarse mediante el registro de la temperatura de la planta cuando ésta se enfría progresivamente a temperaturas por debajo de cero.

Como se ha mencionado en el capítulo anterior, la resistencia a la congelación se puede valorar por exposición de la planta completa o parte de ella en un rango de temperaturas congelantes, evaluando la respuesta de la planta o tejido y luego expresando la respuesta de una forma cuantitativa (Ritchie 1991). Aunque se han utilizado muchos métodos, la respuesta a las temperaturas congelantes se valora, comúnmente, evaluando el daño visible o mortalidad, expresado como la proporción de daño en comparación con las plantas sanas, o evaluando la pérdida de electrolitos por medidas de conductividad relativa (Wilner 1960) o índice de daño (Flint *et al.* 1967). Varios autores han utilizado la técnica de la fluorescencia de la clorofila, relacionando así el efecto de las temperaturas congelantes con la fotosíntesis (Klosson & Krause 1981; Strand & Öquist 1985; Bolhàr-Nordenkamp & Lechner 1988).

Combinando cualquiera de estos métodos indicativos de daño con el registro de la temperatura de la planta cuando ésta se enfría progresivamente a temperaturas por debajo de cero (análisis térmico diferencial), se puede determinar si el mecanismo de resistencia a temperaturas por debajo de cero se debe a la capacidad de la planta para evitar la congelación del agua en sus tejidos o para tolerarla (Larcher 1982).

El objetivo de este apartado es conocer el mecanismo de resistencia al frío de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* mediante el análisis térmico diferencial (DTA) combinado con técnicas de fluorescencia de la clorofila, conductividad eléctrica y valoración visual del daño.

4.6.3.2.2. *Material y métodos*

Se tomaron hojas desarrolladas del primer año de vida de la parte superior (hojas de sol) y de la parte inferior (hojas de sombra) del dosel vegetal de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* de árboles adultos de más de 15 m de altura, en la parcela de estudio de Agua García (descrita en detalle en el capítulo 2). El acceso a las hojas fue posible gracias a la torre de madera construida al efecto. Las muestras fueron tomadas en marzo de 1997 (Estación húmeda y fría).

Las hojas se llevaron inmediatamente al laboratorio donde fueron lavadas con agua destilada y puestas a saturación durante toda la noche a temperatura ambiente (20 °C).

4.6.3.2.2.1. Análisis de la formación de hielo en el tejido

El estudio del inicio y del progreso de la formación de hielo fue determinado por análisis térmico diferencial (DTA). Este método está basado en la detección de un aumento de temperatura en el momento de la formación de hielo en el tejido, mediante el registro de la diferencia de temperatura entre la muestra viva y la muestra de referencia seca (Burke *et al.* 1976). Para ello, se adosaron al envés del fragmento de hoja viva (4 x 1.5 cm) y al de referencia dos termopares, dichos fragmentos se cubrieron por ambos lados con una espuma de 2 cm de grosor evitando así la pérdida de calor hacia los alrededores (Larcher *et al.* 1991a). Las muestras colocadas en bolsas de plástico se introducían en un baño temostatado a -4 °C durante 10 min, y luego se enfriaban hasta -22 °C a una tasa de 18 K h⁻¹. Un registro continuo (cada segundo) de ambas temperaturas se realizó con un registrador de datos (Delta-T, Burwell, Cambridge, UK) y la comparación de las mismas a lo largo del tiempo y su representación gráfica permitió detectar el aumento de temperatura del tejido debido al proceso exotérmico en la formación del hielo. Se analizaron 5 muestras por cada especie y tipo de hoja.

El análisis detallado de las gráficas permitió evaluar los siguientes parámetros:

Temperatura de superenfriamiento, T_{sc} , es decir la temperatura a la cual se interrumpe el estado de superenfriamiento espontáneamente (Kaku 1964), manifestándose como un repentino aumento de temperatura.

Temperatura máxima de liberación de energía, T_{ep} , es decir la temperatura de congelación de la hoja a la cual la liberación de calor por cristalización llega a su máximo.

Rango de superenfriamiento, R_{sc} , es decir la diferencia entre la temperatura máxima de liberación de energía y la temperatura límite de superenfriamiento ($T_{ep} - T_{sc}$).

Temperatura de referencia cuando la hoja alcanza el punto de congelación, $T_{ref_{ep}}$.

Máxima liberación de energía, K_{max} , es decir la diferencia entre la temperatura de congelación y la de referencia ($T_{ep} - T_{ref_{ep}}$).

Intervalo de temperatura en el cual se produce el proceso de congelación.

4.6.3.2.2.2. Determinación del daño a temperaturas por debajo de cero

Para determinar el daño a temperaturas por debajo de cero se enfriaron 10 hojas enteras a la misma tasa utilizada para el análisis térmico diferencial descrito anteriormente, en ellas se midió la fluorescencia de la clorofila antes de ser introducidas en el baño (valores control) y durante el proceso de enfriamiento, sacando una hoja cada vez que la temperatura disminuía 2K y así hasta llegar a -22 °C. Estas hojas, una vez medidas, se colocaron en una atmósfera saturada y temperatura ambiente durante 24 h y se midió de nuevo la fluorescencia de la clorofila. Después, se valoraban los daños visibles y se preparaban las muestras para las medidas de conductividad eléctrica.

Además del registro de la disminución de la temperatura observado en el baño, se colocó un termopar a una de las 10 hojas para conocer la temperatura a la que se producía la formación de hielo bajo estas condiciones (hoja entera).

Este experimento se realizó tres veces por cada tipo de hoja y especie.

4.6.3.2.3. *Resultados*

El análisis de formación de hielo en el tejido y la determinación de daño se realizó en muestras con diferente tamaño. Así, mientras el DTA se realizó en fragmentos de hoja, la valoración de daño se realizó en hoja entera. Esto, como veremos a continuación, va a ser un factor determinante en la discrepancia observada, a primera vista, en los resultados obtenidos por ambos métodos. Hay que aclarar que ambos protocolos fueron desarrollados con una finalidad diferente. Con el DTA pretendíamos estudiar el patrón de congelación que presentan estas especies, no valorar el punto exacto en el que se producía la formación de hielo, en sí, sino conocer cómo tenía lugar la formación de hielo en el tejido. Con la determinación del daño por cualquiera de las tres técnicas empleadas (fluorescencia de la clorofila, conductividad eléctrica y valoración visual), utilizamos la misma tasa de enfriamiento, pero en este caso trabajamos a nivel de hoja entera, tal y como lo habíamos hecho en el capítulo anterior, con el uso de termopares adosados a la hoja, con el fin de detectar el aumento de temperatura producido por la formación del hielo en estas condiciones y así conocer qué mecanismo de resistencia presentaban nuestras especies.

4.6.3.2.3.1. Análisis de la formación de hielo en el tejido

El patrón de congelación de cualquier órgano de la planta, depende de las características anatómicas, del estado de aclimatación en el que se encuentra, del contenido en agua y de la velocidad de enfriamiento. Así Sakai & Larcher (1987) distinguen tres tipos de patrones de congelación:

- Congelación continua. Se detecta la formación de un sólo pico de gran amplitud. Esta tiene lugar en tejidos homogéneos como por ejemplo el parénquima y en partes de la

planta que presenta una estructura uniforme, como es el caso en hojas con cavidades intercelulares unidas.

- Congelación secuencial. Se produce la formación de muchos picos de pequeño tamaño. Esto tiene lugar, por ejemplo, en hojas altamente septadas donde la congelación se va desarrollando en partes de la hoja antes de su completa congelación.

- Congelación discontinua. Se produce la formación de dos picos claramente diferenciados. Un pico inicial a temperaturas más altas, HTE, que refleja la formación de hielo extracelular y un pico a temperaturas más bajas, LTE, que indica la formación de hielo intracelular.

Los resultados del análisis térmico diferencial, en las tres especies estudiadas y en los distintos tipo de hoja, mostraron la formación de un sólo pico de liberación de energía, a la tasa de enfriamiento llevada a cabo en el experimento (Figs. 4.6.3.26-28).

Bajo nuestras condiciones de estudio, en fragmentos de hoja, las temperaturas medias de superenfriamiento fueron de $-14.82\text{ °C} \pm 0.81$ para *Persea indica*, $-13.35\text{ °C} \pm 1.63$ para *Laurus azorica* y $-6.89\text{ °C} \pm 0.80$ para *Myrica faya*. No se observaron diferencias significativas en la temperatura de superenfriamiento, entre las hojas de sol y de sombra en *Persea indica* y *Myrica faya*, sin embargo las hojas de sol de *Laurus azorica* mostraron temperaturas de superenfriamiento más altas que las hojas de sombra (Tabla 4.6.3.8).

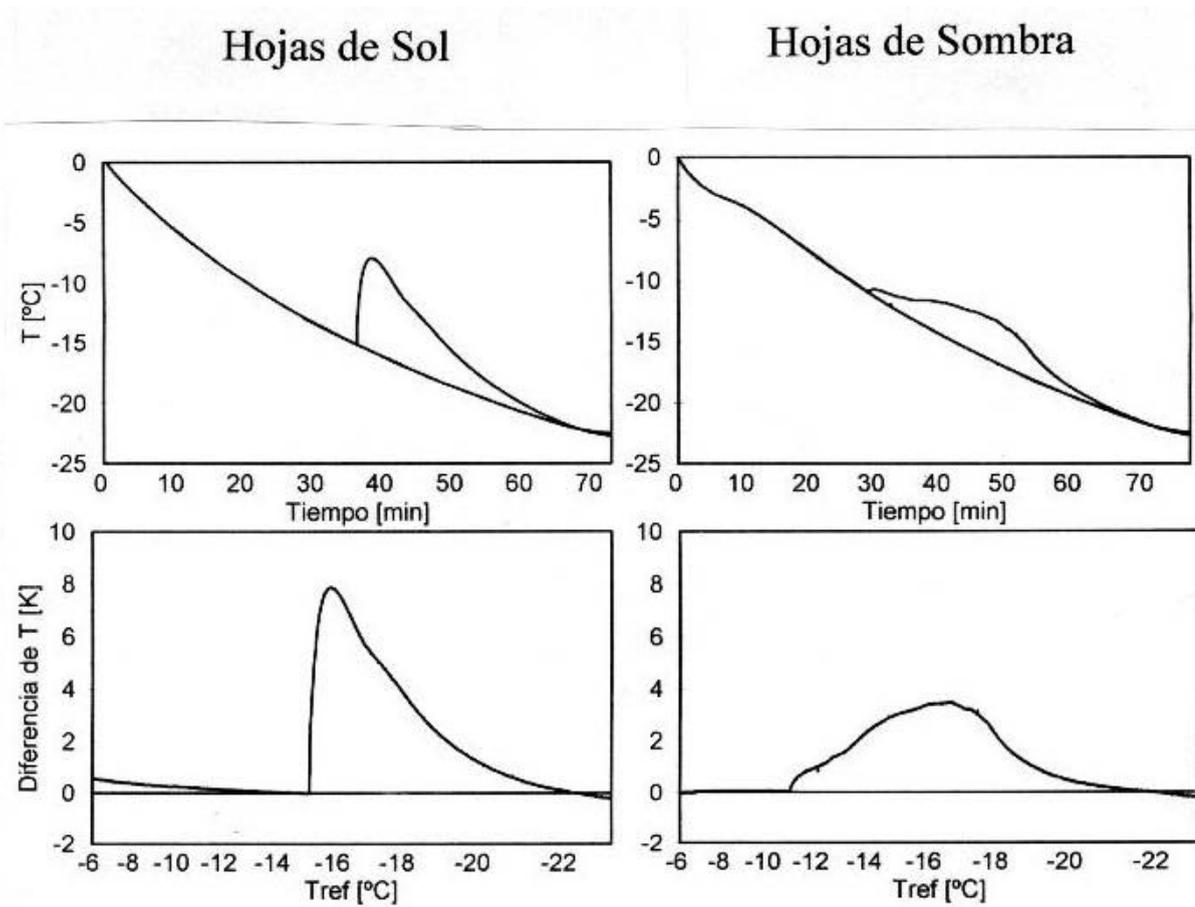


Fig. 4.6.3.26. Análisis de la formación de hielo en hojas de sol y de sombra de *Laurus azorica*. Gráfica superior: patrón de congelación de una muestra ejemplo. Nótese el registro tanto de la muestra viva como de la seca (referencia). Gráfica inferior: perfil del análisis térmico diferencial (DTA).

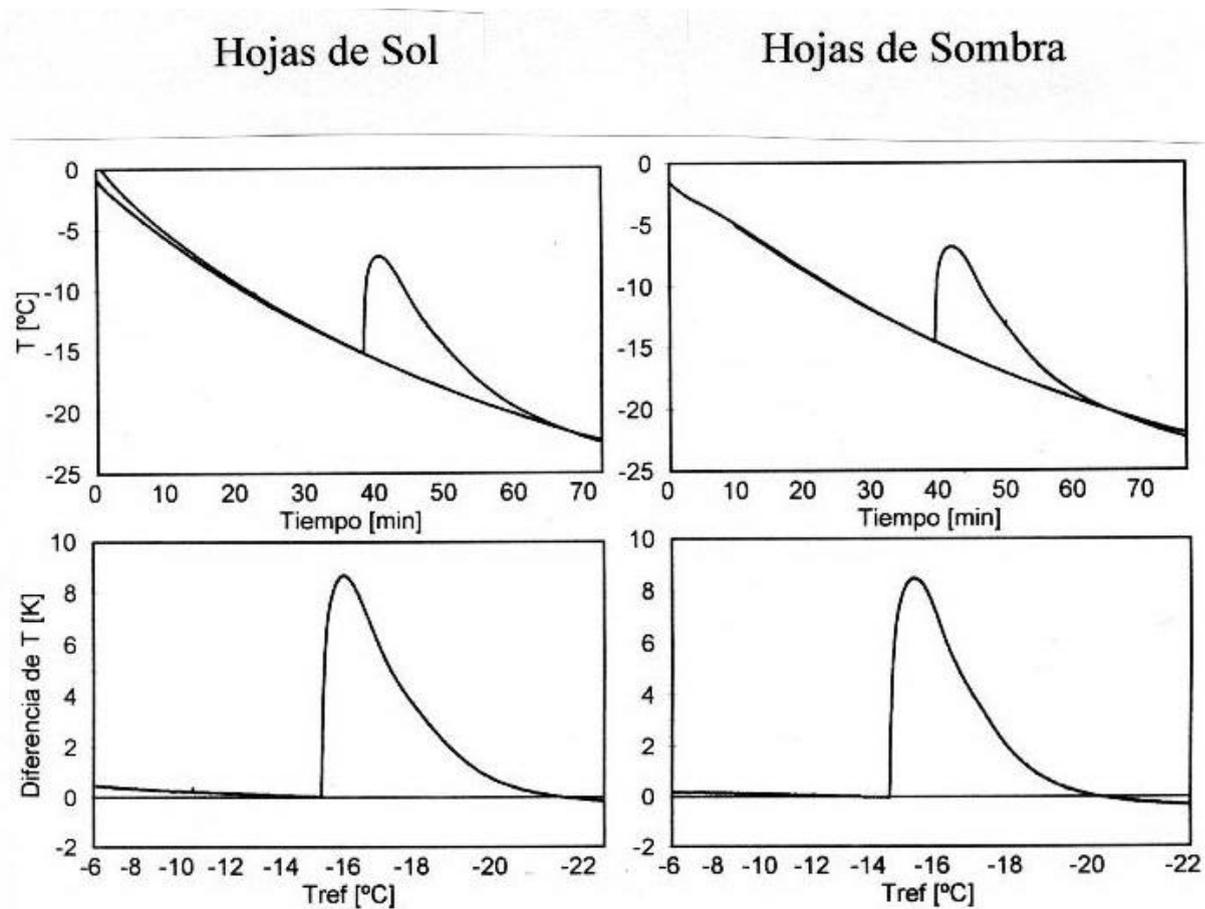


Fig. 4.6.3.27. Análisis de la formación de hielo en hojas de sol y de sombra de *Persea indica*. Gráfica superior: patrón de congelación de una muestra ejemplo. Nótese el registro tanto de la muestra viva como de la seca (referencia). Gráfica inferior: perfil del análisis térmico diferencial (DTA).

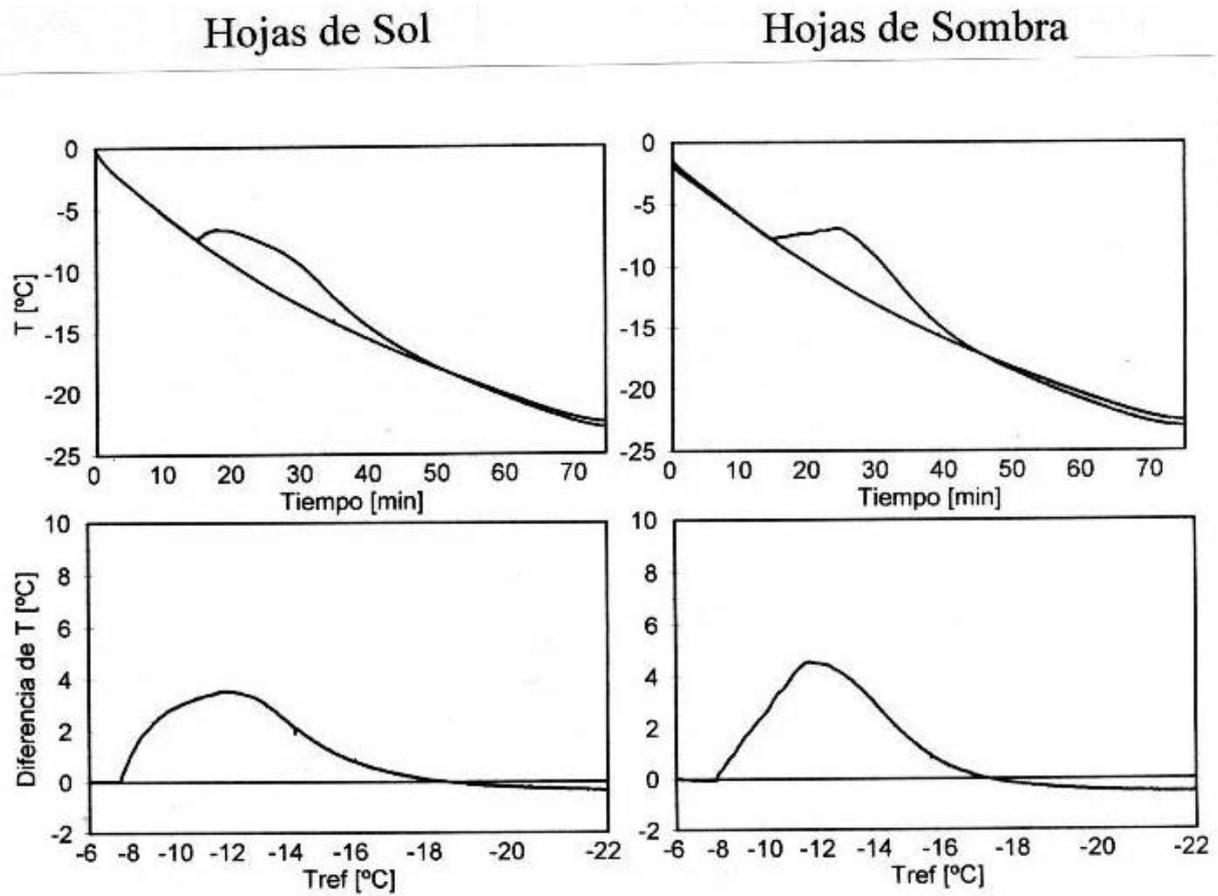


Fig. 4.6.3.28. Análisis de la formación de hielo en hojas de sol y de sombra de *Myrica faya*. Gráfica superior: patrón de congelación de una muestra ejemplo. Nótese el registro tanto de la muestra viva como de la seca (referencia). Gráfica inferior: perfil del análisis térmico diferencial (DTA).

Tabla 4.6.3.8. Parámetros derivados del estudio del análisis térmico diferencial en fragmentos de hojas de sol y de sombra de *Laurus azorica*, *Persea indica* y *Myrica faya*. Los valores son la media de 5 réplicas por especie y tipo de hoja con su desviación standard.

Especie	Tipo	T _{sc}	R _{sc}	T _{ep}	Tref _{ep}	K _{max}	Intervalo
<i>L. azorica</i>	Sol	-14,7±0,4	6,5±0,6	-8,2±0,3	-15,5±0,3	7,3±0,6	7,3±0,3
	Sombra	-12,0±1,0	1,5±0,8	-13,2±0,2	-16,8±0,3	3,5±0,1	9,2±1,0
<i>P. indica</i>	Sol	-15,0±0,2	7,8±0,2	-7,2±0,0	-15,8±0,2	8,6±0,1	6,4±0,2
	Sombra	-14,7±1,1	7,6±0,4	-7,1±0,4	-15,6±1,0	8,4±0,7	6,0±0,6
<i>M. faya</i>	Sol	-6,5±0,9	1,6±0,9	-8,2±0,1	-11,6±0,5	3,4±0,6	11,3±0,8
	Sombra	-7,2±0,6	0,8±0,6	-7,5±0,4	-11,7±0,2	4,2±0,3	10,3±1,4

Las hojas de todas las especies estudiadas presentaron capacidad de superenfriamiento y una bajada en el punto crioscópico como mecanismos para evitar el daño por congelación (Figs. 4.6.3.26-28).

Tanto las hojas de sol como de sombra de *Persea indica* y las hojas de sol de *Laurus azorica* mostraron un rango de superenfriamiento, R_{sc}, y una liberación máxima de energía, K_{max}, significativamente superiores a las hojas de sombra de *Laurus azorica* y a las hojas de sol y de sombra de *Myrica faya*.

El análisis de los distintos parámetros y de los patrones de congelación fueron diferentes según la especie y condición de la hoja, revelando diferencias en la anatomía, morfología y contenido hídrico de la muestra. Las curvas con un pico exotérmico muy acusado indican una formación de hielo muy rápida y homogénea, mientras que las curvas más planas (*Myrica faya* y hojas de sombra de *Laurus azorica*) indican que existen barreras que frenan la formación del hielo, realizándose la congelación de una manera secuencial lo que trae consigo un aumento en el intervalo de congelación (Fig. 4.6.3.26-28 y Tabla 4.6.3.8).

4.6.3.2.3.2 Determinación del daño en el tejido

La fluorescencia de la clorofila es un sensible indicador para estudiar los efectos de las bajas temperaturas sobre el aparato fotosintético (Krause & Klosson 1983). A partir de las curvas de inducción de la cinética de la fluorescencia y de los parámetros de fluorescencia asociados se puede obtener información sobre el estado funcional del aparato fotosintético durante el enfriamiento y la congelación (Krause *et al.* 1988). Así las alteraciones en las cinéticas de inducción a las bajas temperaturas reflejan cambios en el estado físico de las membranas tilacoidales (Terzaghi *et al.* 1989) y en la limitación del transporte electrónico en los cloroplastos (Baker *et al.* 1983).

Las cinéticas típicas para el estado superenfriado y congelado de hojas han sido caracterizadas por Larcher & Nagele (1985) y por Larcher *et al.* (1991a). Este mismo tipo de cinéticas fue observado en nuestras hojas a lo largo del enfriamiento en *Laurus azorica*, *Persea indica* y *Myrica faya*.

En la Fig. 4.6.3.29 se presenta, como ejemplo, las curvas de inducción de la fluorescencia de la clorofila en hojas de sol de *Myrica faya*, en el estado superenfriado (-6°C) y en el estado congelado (-8°C), tanto en el momento (M) como tras 24 horas del tratamiento (Rec). Comparando dichas curvas se puede detectar el estado de superenfriamiento, observando que la pendiente de la curva entre F_m y F_s disminuye considerablemente en el momento (curva M), volviendo luego a su inclinación normal tras dejar la hoja 24 h a temperatura ambiente (curva Rec), ya que no se han producido daños irreversibles en el aparato fotosintético en el estado superenfriado. Cuando se produce la congelación, la pendiente de la curva desaparece totalmente, tanto en el momento como después de su descongelación (Rec), como consecuencia del daño letal irreversible en los tejidos.

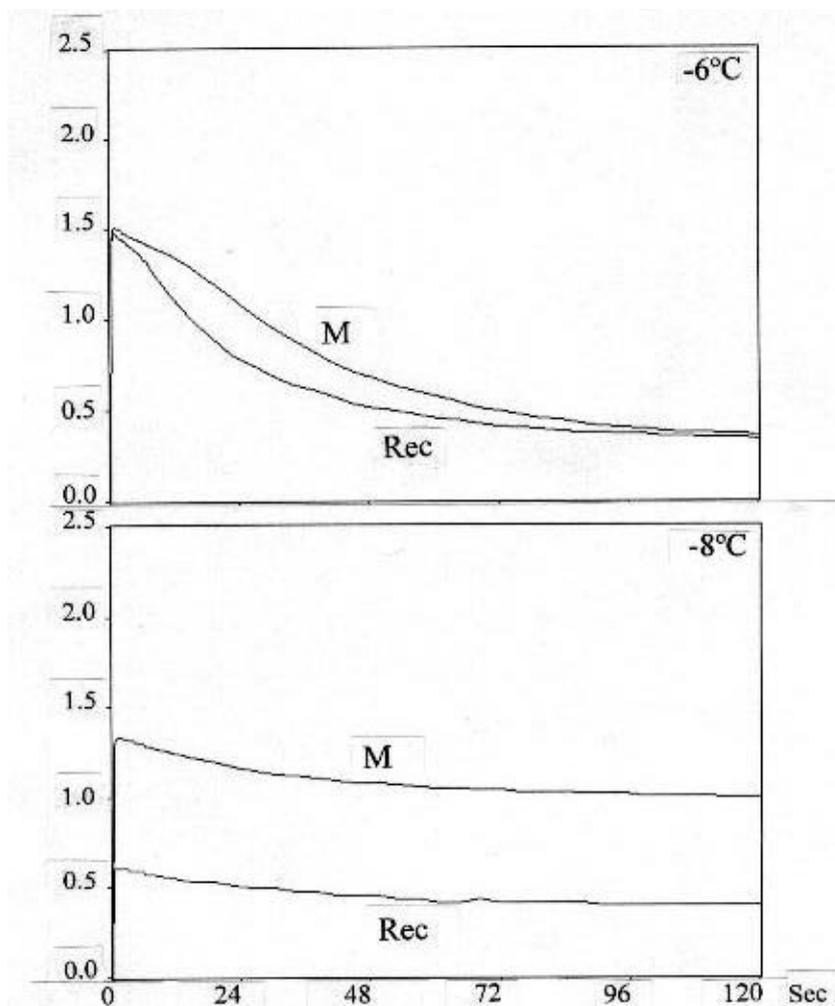


Fig. 4.6.3.29. Curva de inducción de la cinética de fluorescencia en hojas de sol de *Myrica faya* durante el proceso de enfriamiento. Las cinéticas a -6°C representan el estado de superenfriamiento, y las cinéticas a -8°C representan el tejido congelado. La letra M indica la curva de inducción registrada inmediatamente después del tratamiento térmico y la letra Rec muestra la curva registrada después de 24 h del tratamiento.

El análisis de los diferentes parámetros de fluorescencia, tanto los que reflejan la cinética rápida de la curva como los que reflejan la cinética lenta, mostraron daño a -12°C, -10°C y -8°C en *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya*, respectivamente. En la Fig. 4.6.3.30 y 31 se muestran los resultados obtenidos en el análisis de Fv/Fm y Rfd después de 24 h del tratamiento.

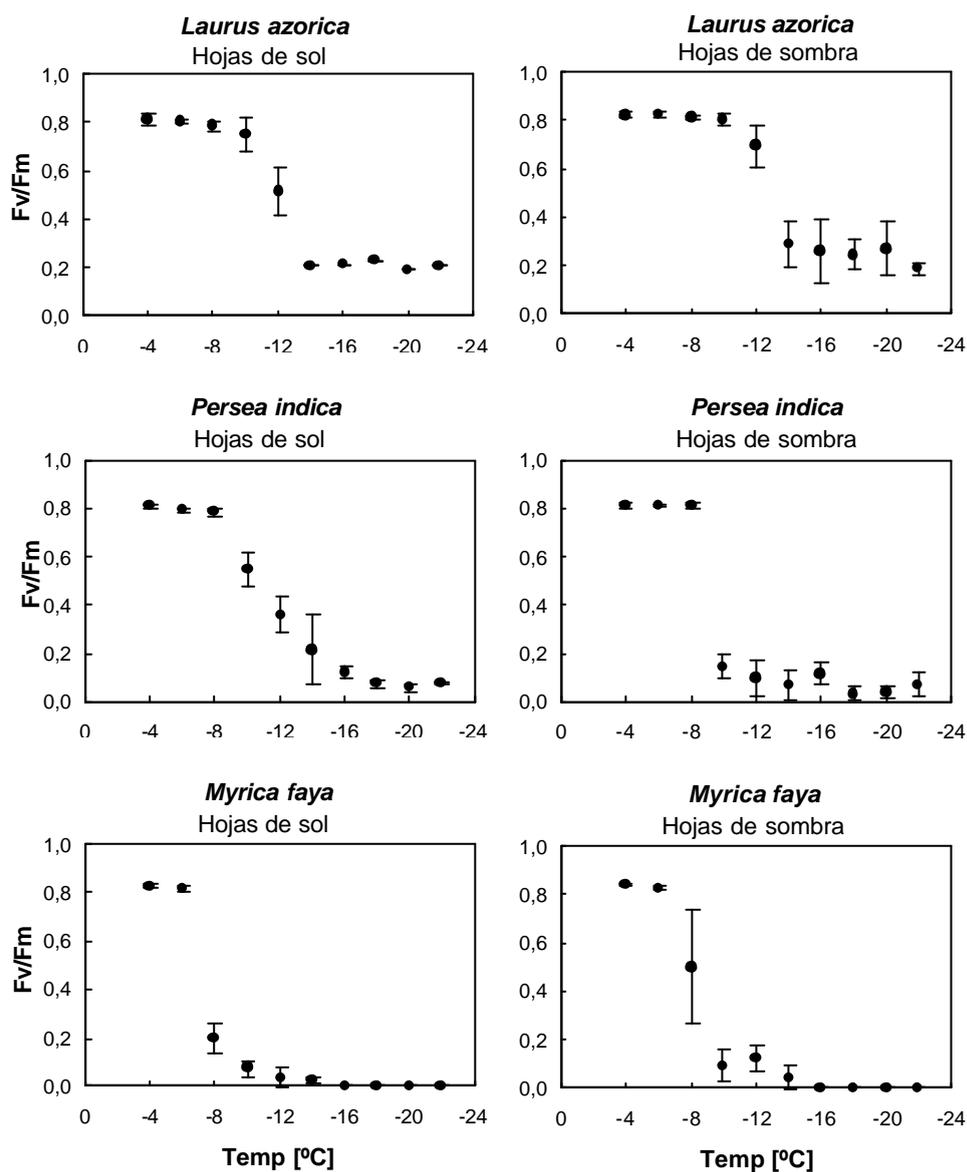


Fig. 4.6.3.30. Respuesta de las hojas de sol y de sombra de *Laurus azorica*, *Persea indica* y *Myrica faya* a las bajas temperaturas, según el análisis de Fv/Fm medido después de 24 h del tratamiento. La tasa de enfriamiento fue de 18 K h⁻¹. Los valores representan la media de tres réplicas y su desviación estándar.

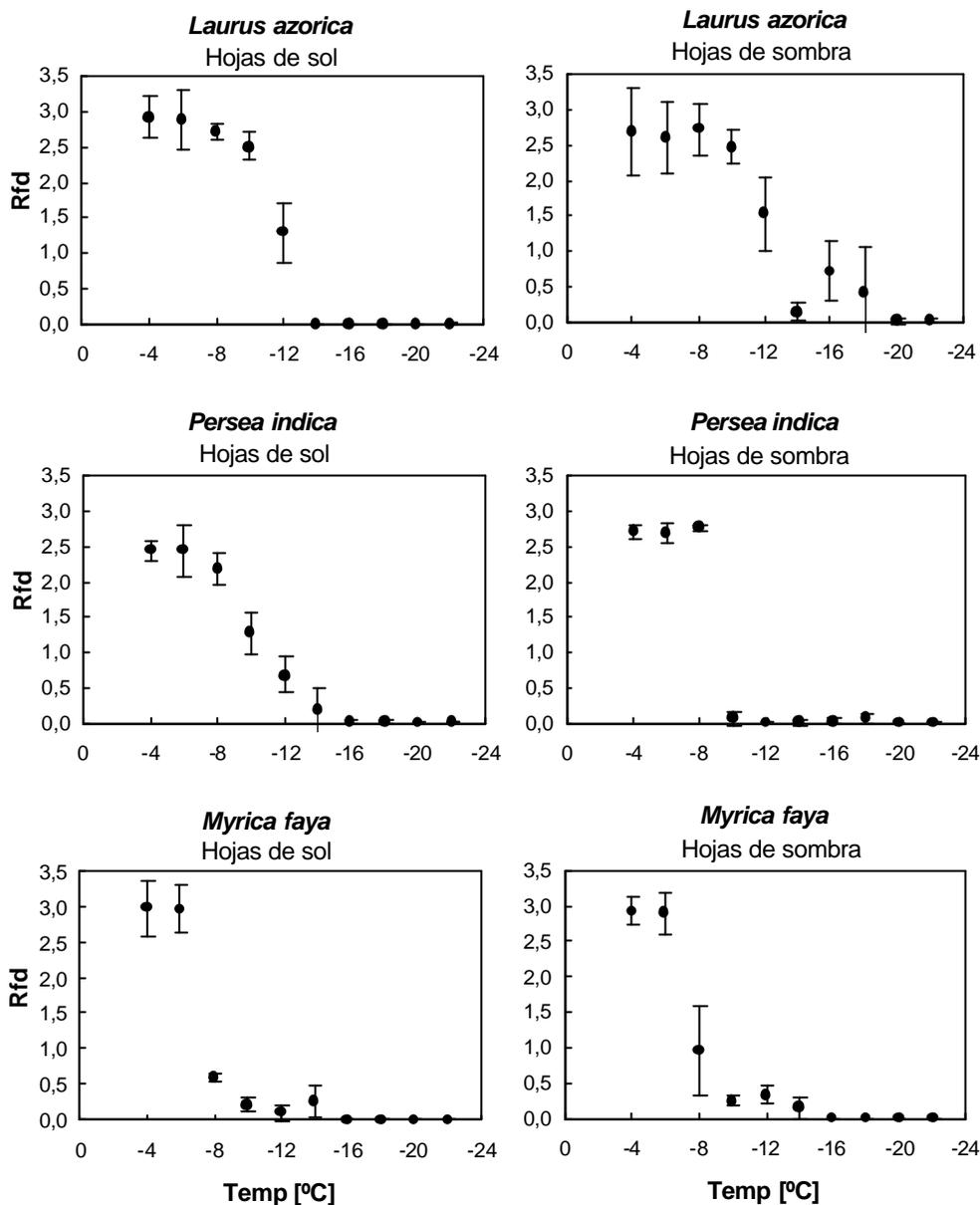


Fig. 4.6.3.31. Respuesta de las hojas de sol y de sombra de *Laurus azorica*, *Persea indica* y *Myrica faya* a las bajas temperaturas, según el análisis de Rfd medido después de 24 h del tratamiento. La tasa de enfriamiento fue de 18 K h^{-1} . Los valores representan la media de tres réplicas y su desviación estándar.

El daño detectado por fluorescencia estaba relacionado con la formación de hielo detectada por el termopar. Se vio que los primeros síntomas de daño observados con la fluorescencia se detectaban de manera simultánea a la formación de hielo y que los daños progresaban rápidamente de manera que en 2-4 K ya eran irreversibles.

El estudio de la conductividad eléctrica reflejó que no se produce rotura de membrana o pérdida de electrolitos, tanto en hojas de sol como de sombra, hasta temperaturas por debajo de $-10 \text{ }^{\circ}\text{C}$, $-8 \text{ }^{\circ}\text{C}$ y -6°C para *Laurus azorica*, *Persea indica* y *Myrica faya*, respectivamente (Fig. 4.6.3.32), lo cual se relaciona con los daños observados con las medidas de fluorescencia de la clorofila.

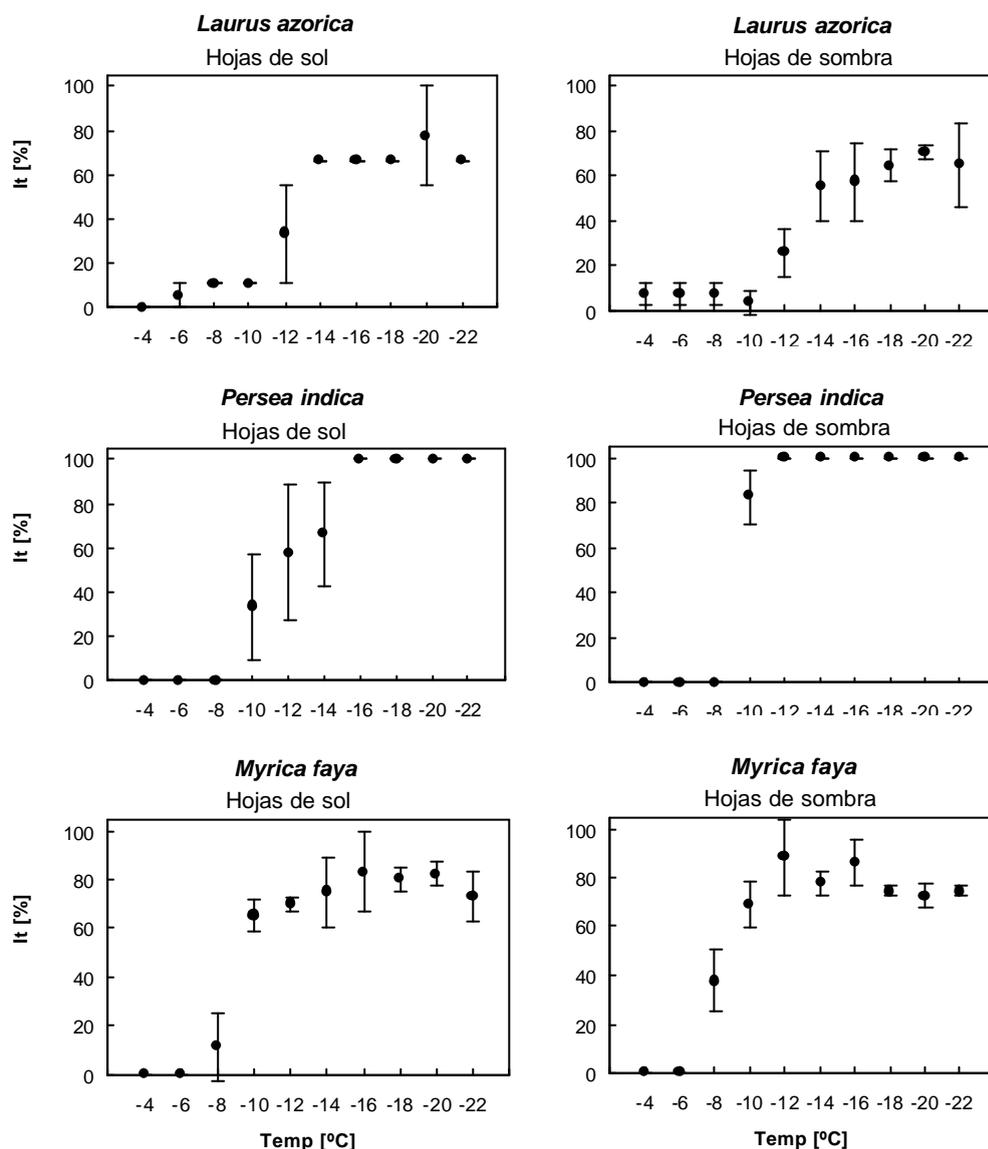


Fig. 4.6.3.32. Índice de daño (It) de las hojas de sol y de sombra de *Laurus azorica*, *Persea indica* y *Myrica faya* a las bajas temperaturas. La tasa de enfriamiento fue de 18 K h⁻¹. Los valores representan la media de tres réplicas y su desviación estándar.

La valoración visual de los daños se muestra en la Tabla 4.6.3.9. En ella se observa como el daño detectado por fluorescencia y conductividad se correlacionan bastante bien con la temperatura a la que visualmente se detecta un 50% de daño. Al igual que en el experimento de 30 min de exposición a bajas temperaturas, el inicio de daño visual se detectó antes que cualquier cambio en las medidas de fluorescencia o conductividad eléctrica, debido a que el daño incipiente aparece principalmente a nivel de un enrojecimiento del nervio central que no afecta en gran medida al mesófilo de la hoja.

Tabla 4.6.3.9.. Valoración visual del daño a bajas temperaturas en *Laurus azorica*, *Persea indica* y *Myrica faya*. Los símbolos significan: (-) la temperatura más baja sin daño, LT₀; (+) la temperatura de daño incipiente, a la cual aparecen

los primeros daños, LT_{10} ; (++) la temperatura a la que se produce el 50% de daño, LT_{50} ; y (+++) la temperatura en que se produce un 90-100% de daño, LT_{100} .

		-6 °C	-8 °C	-10 °C	-12 °C	-14 °C	-16°C	-18°C	-20 °C
<i>Laurus azorica</i>	Sol	-	-	+	++	+++	+++	+++	+++
	Sombra	-	-	+	++	+++	+++	+++	+++
<i>Persea indica</i>	Sol	-	-	++	+++	+++	+++	+++	+++
	Sombra	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Myrica faya</i>	Sol	-	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	Sombra	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

4.6.3.2.3. *Discusión*

La formación de hielo en los tejidos depende de la tasa de enfriamiento, del tiempo de exposición a bajas temperaturas, de la presencia de nucleantes (sustancias que favorecen la formación de hielo) y del tamaño del fragmento vegetal expuesto al enfriamiento. Si observamos la formación de hielo detectado con el DTA (fragmento de hoja), vemos que ésta tuvo lugar a temperaturas más bajas que cuando el experimento se realizó con una hoja entera, esto se debe al tamaño de la muestra. Los núcleos de hielo son poco frecuentes y se encuentran distribuidos irregularmente por los tejidos. Cuando la muestra es grande la probabilidad de que exista un núcleo de hielo es mayor, favoreciendo que se desarrolle la nuclearización.

Mediante el análisis térmico diferencial (DTA) detectamos la presencia de un estado de superenfriamiento en las tres especies estudiadas. Las hojas de todas las especies estudiadas presentaron capacidad de superenfriamiento y una bajada en el punto crioscópico como mecanismos para evitar el daño por congelación.

Algunos autores ponen en duda la existencia del superenfriamiento en condiciones naturales debido a que el viento, la nieve, bacterias y otros factores nuclearizantes favorecen la formación de hielo (Ashworth *et al.* 1985; Clement & van Hasselt 1996), para dilucidar si en condiciones de nuclearización se puede dar el superenfriamiento en estas hojas, se realizó el mismo experimento (con igual tasa de enfriamiento y en hoja entera) pero con las hojas completamente húmedas (datos no mostrados) y los resultados obtenidos fueron similares a los anteriores, lo que indica que sí se produjo superenfriamiento también en estas condiciones.

Se ha visto el inicio de formación de hielo en el tejido por los cambios en las cinéticas de inducción de la fluorescencia (Larcher & Nagele 1985; Larcher *et al.* 1991a). Incluso aún antes de que empiece a formarse el hielo, el pico de fluorescencia se retrasa y el descenso de la fluorescencia, después de este pico, desaparece. Tan pronto como se forma el hielo en el tejido, la fluorescencia de la clorofila alcanza su máximo (Melcarek & Brown 1979). Si las células del mesófilo han sobrevivido a las bajas temperaturas impuestas, reaparecerán las cinéticas típicas después del deshielo. Un daño parcial en la función fotosintética refleja un rendimiento más bajo, mientras que una congelación total del tejido hace que la fluorescencia variable desaparezca después del deshielo (Larcher 1994). Al analizar los parámetros de la fluorescencia en las tres especies de estudio se

detectó el daño, tanto en el momento como después de 24 horas del tratamiento, incluso se pudo detectar el estado de superenfriamiento analizando las cinéticas de fluorescencia, ya que la disminución en la pendiente de la curva de bajada en el momento, tal y como se observa en la figura 4.6.3.29, refleja claramente su existencia, si bien las curvas no son tan demostrativas como las mostradas por Larcher (1994), debido a la diferencia de fluorímetros empleados y a las condiciones de experimentación, pero siguen la misma tendencia.

El estudio del daño por medidas de fluorescencia, análisis de conductividad eléctrica y valoración visual reveló que, el daño mostrado por los parámetros de fluorescencia y por medidas de conductividad eléctrica se correspondía con la formación de hielo en el tejido. En el caso de la valoración visual ésta se correspondía más con la temperatura a la cual se observa un 50 % de daño en la hoja que con la temperatura que producía el daño incipiente. Estos resultados muestran como *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* son especies sensibles a la congelación, produciéndose el daño a la misma temperatura en que se produce la formación de hielo en el tejido. Así las hojas de estas tres especies arbóreas de la laurisilva canaria presentan el mismo comportamiento que las hojas de árboles y arbustos siempreverdes mediterráneos las cuales se dañan a temperaturas que oscilan entre -10 °C y -15 °C (Larcher 1980b). Presentan, en cuanto a su respuesta a las bajas temperaturas, una posición intermedia entre las plantas tropicales y subtropicales sensibles a la congelación, dañándose a temperaturas ligeramente por debajo de cero y las plantas de regiones templadas con dormancia invernal que son tolerantes a la congelación.

Si comparamos la resistencia de estas tres especies vemos como *L. azorica* resiste temperaturas más bajas, esto puede estar relacionado con que esta especie presenta un ajuste osmótico frente a la sequía. Cuando se empieza a formar el hielo en el tejido se produce un fenómeno de deshidratación, si estas especies presentan osmoregulación frente a la sequía, pueden bajar su punto crioscópico mediante la síntesis y acumulación de sustancias osmóticamente activas, tales como la prolina.

Las tres especies estudiadas presentaron un patrón de congelación con un sólo pico de liberación de energía, es decir, desarrollaron una congelación continua. Sin embargo, se observan ligeras diferencias en los patrones de congelación entre las especies, quizás basadas en diferencias anatómicas y estructurales.

Para que tenga lugar un superenfriamiento efectivo se necesitan una serie de requerimientos estructurales como son: células pequeñas, espacios intercelulares pequeños, paredes celulares rígidas y barreras contra la nucleación, como puede ser la presencia de septos (Hong & Sucoff 1980; Ishikawa 1984; Sakai & Larcher 1987). Así, se ha visto que *Laurus nobilis* presenta un patrón de congelación secuencial debido a que sus hojas son altamente septadas, de manera que la hoja tarda más tiempo en congelarse totalmente (Sakai & Larcher 1987). La anatomía de las hojas de *Persea indica* está descrita en un trabajo realizado por Morales *et al.* (1992), donde se muestra el mesófilo dividido por las prolongaciones de las vainas de los haces a modo de septos, lo que contribuye a evitar que una posible nuclearización se propague eficazmente. Para profundizar en las causas de las diferencias entre las especies, será preciso realizar estudios anatómicos en las otras dos especies, tema que será objeto de un futuro trabajo y que se escapa de los principales objetivos de esta Tesis.

4.6.3.3. Efecto del tiempo a las bajas temperaturas

4.6.3.3.1. *Introducción*

Es bien conocido que cuanto más bajas sean las temperaturas y cuanto mayor sea el tiempo de exposición mayor será el daño (Larcher 1994). Bajo esta premisa quisimos conocer el daño producido en *Laurus azorica*, *Persea indica* y *Myrica faya* según el tiempo de exposición a las bajas temperaturas.

De los estudios anteriores sabíamos que nuestras especies eran resistentes al frío, pero sensibles a la congelación desarrollando un estado de superenfriamiento como mecanismo de resistencia. El estado superenfriado puede ser transitorio o persistente. Así por ejemplo, en el parénquima, con células grandes y bien hidratadas, y en los vasos del xilema, el estado superenfriado es muy lábil y rara vez se mantiene más de unas pocas horas, esto proporciona sólo una protección temporal, siendo un mecanismo bastante arriesgado (Goldstein *et al.* 1985; Rada *et al.* 1985), de manera que si las condiciones térmicas son muy extremas o permanecen durante un largo período de tiempo se produce la muerte de la planta. Sin embargo, en tejidos con paredes celulares densas y gruesas se forman barreras que impiden la nuclearización, desarrollándose un estado superenfriado persistente que puede mantenerse hasta que la temperatura cae por debajo de un umbral característico. En algunas hojas es posible detectar un superenfriamiento profundo y persistente (persistent deep supercooling) hasta -10 y -12 °C (Sakai & Larcher 1987).

El objetivo de este apartado es estudiar como afectan las bajas temperaturas según el tiempo de exposición y conocer el tipo de superenfriamiento presente en estas especies.

4.6.3.3.2. *Material y métodos*

Se tomaron hojas de sol y de sombra de *Laurus azorica*, *Persea indica* y *Myrica faya* en el campo y se llevaron al laboratorio donde se colocaron a temperatura ambiente y atmósfera saturante toda la noche. Al día siguiente se midió la fluorescencia de la clorofila a las hojas (valores control) y se sometieron a los diferentes tiempos de exposición para cada temperatura, midiéndose inmediatamente la fluorescencia de la clorofila. Esas mismas hojas se dejaron a temperatura ambiente y atmósfera saturante toda la noche y se les midió nuevamente la fluorescencia de la clorofila, realizándose también la valoración visual de los daños. Posteriormente se prepararon las muestras para el análisis de la conductividad eléctrica.

Las temperaturas de estudio fueron desde 0 hasta -12 °C en pasos de 2 K y los tiempos de exposición fueron 30 min, 1, 4, 6 y 24 h. Las medidas de pérdida de electrolitos por rotura de membrana se llevaron a cabo mediante el estudio del índice de daño (It) según Flint *et al.* (1967).

Los resultados obtenidos con la técnica de la fluorescencia de la clorofila fueron analizados estadísticamente mediante un análisis de la varianza multifactorial.

Para el análisis del comportamiento de estas tres especies según el tiempo de exposición a bajas temperaturas se aplicó un análisis de varianza de 4 vías (especie, tipo de hojas, temperatura de tratamiento, tiempo de exposición).

Teniendo en cuenta que el diseño experimental incluye tres réplicas para cada tratamiento térmico y tiempo de exposición fue factible el estudio de una manera individualizada para cada una de las especies y tipo de hoja.

En base a los resultados obtenidos con el estudio de las bajas temperaturas a 30 min de exposición, en el cual se observó que los parámetros de cinética lenta eran indicadores más sensibles del daño, se realizó, en esta ocasión, el análisis del índice Rfd medido después de 24h del tratamiento como parámetro indicador de daño. Así, los resultados obtenidos con este parámetro, fueron analizados individualmente para cada especie y tipo de hoja mediante un análisis de varianza de 2 vías. El modelo que se obtuvo incluía los dos factores principales, tratamiento térmico y tiempo de exposición, así como su interacción. Tanto los factores principales como las interacciones que mostraron ser significativas (al 5%) fueron analizados con un contraste a posteriori tipo Tukey a dicho nivel de significación.

Además, se desarrolló un modelo de regresión no lineal basado en el modelo logístico, el cual ha sido modificado para dos variables independientes (temperatura de tratamiento y tiempo de exposición).

4.6.3.3.3. **Resultados**

4.6.3.3.3.1. Medidas de fluorescencia de la clorofila

El análisis de la varianza de 4 vías, diseñado para estudiar las diferencias en el daño de las tres especies estudiadas según el parámetro Rfd medido después de 24 h, mostró claramente que *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* tenían una resistencia diferente, siendo *Laurus azorica* la especie más resistente y *Myrica faya* la especie más sensible. Estos resultados corroboran aquellos obtenidos en el apartado anterior con 30 min de exposición.

El efecto del tratamiento térmico en relación al tipo de hoja (sol y sombra) en las tres especies es mostrado en la Fig. 4.6.3.33, en ella se refleja como las hojas de sol de *L. azorica* se dañan a -6 °C, mientras que las de sombra a -8 °C. En *P. indica* y *M. faya* no se observaron diferencias entre sol y sombra siendo dañadas a -6 °C y -4 °C, respectivamente.

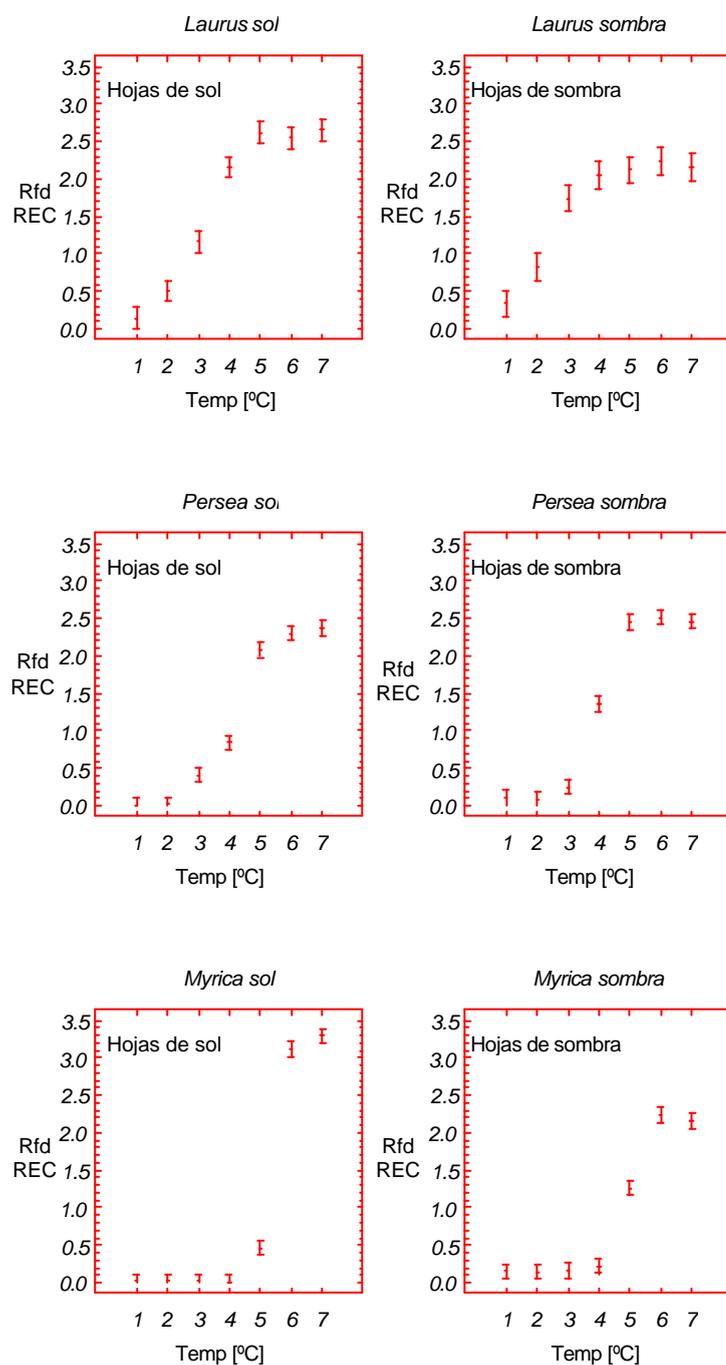


Fig. 4.6.3.33. Efecto del tratamiento térmico a bajas temperaturas en hojas de sol y de sombra de *Laurus azorica*, *Persea indica* y *Myrica faya*. Los números en el eje de abscisas indican los diferentes tratamientos de temperatura (1=12°C; 2=10°C; 3=8°C; 4=6°C; 5=4°C; 6=2°C; 7=0°C).

La interacción entre el tiempo de exposición y el tratamiento térmico mostró la temperatura y el tiempo a partir de los cuales las especies de estudio empiezan a sufrir daño (Fig. 4.6.3.34). Así las hojas de sol de *Laurus azorica* mostraron daño a partir del

tratamiento de 24 h a -6 °C, 1h a -8 °C y 30 min a -10 °C, sin embargo, las hojas de sombra fueron un poco más resistentes, dañándose al tratamiento de 4 h a -8 °C y 30 min a -10 °C.

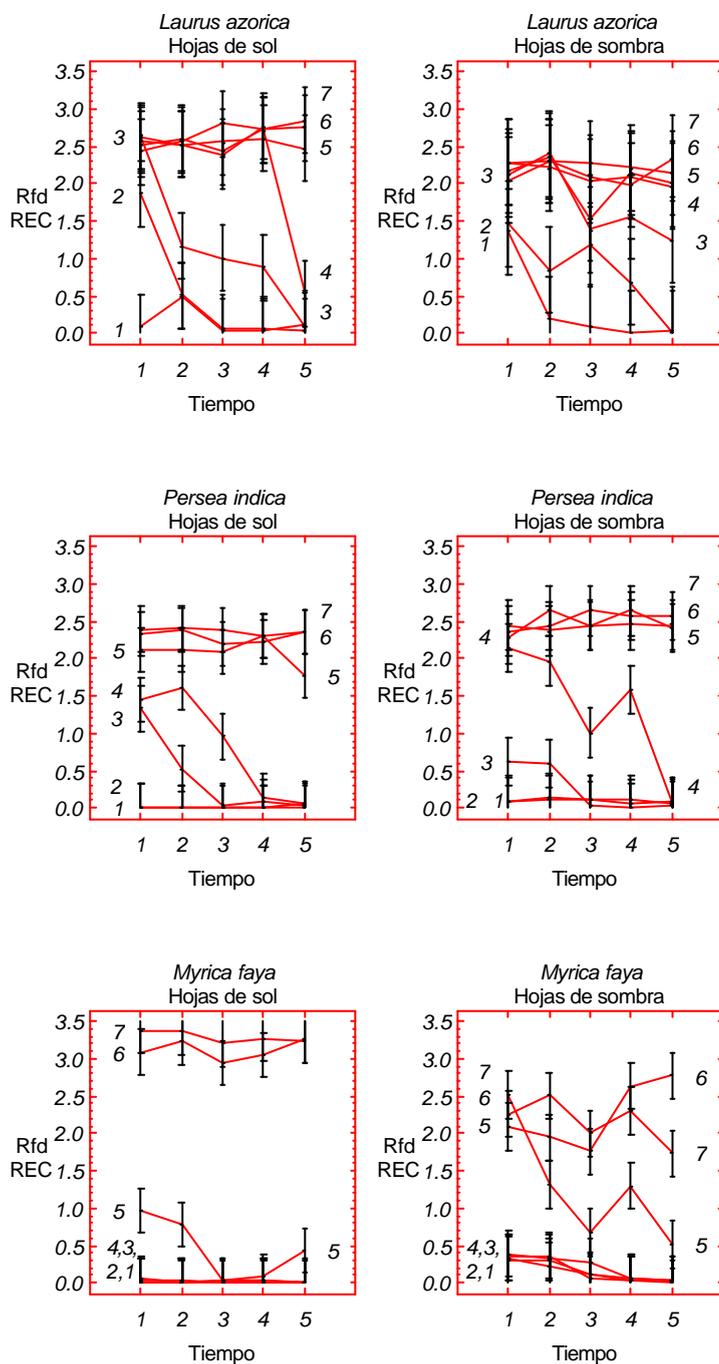


Fig. 4.6.3.34. Estudio de la interacción tratamiento térmico x tiempo de exposición a las bajas temperaturas según el análisis de Rfd después de 24 h del tratamiento, en hojas de sol y de sombra de *Laurus azorica*, *Persea indica* y *Myrica faya*. Los números en el eje de abscisas representan los diferentes tiempos de exposición a una temperatura determinada (1= 30min, 2= 1h, 3= 4h, 4=6h, 5=24h). Los números insertos dentro de la gráfica reflejan las diferentes temperaturas de tratamiento (1=-12°C; 2=-10°C; 3=-8°C; 4=-6°C; 5=-4°C; 6=-2°C; 7=0°C).

Las hojas de sol de *P. indica* mostraron daño a partir de 24h a -4 °C y 30 min a -6 °C, mientras que las hojas de sombra se dañaron a 4 h a -6 °C y a 30 min a -8 °C. Las hojas de sol de *M. faya* se dañaron a 30 min a -4 °C, mientras que las hojas de sombra se dañaron a 1h a -4 °C y 30 min a -6 °C. En general se observó que las hojas de sombra de las tres especies eran ligeramente más resistentes que las hojas de sol.

A partir de los datos de Rfd medidos después de 24 h, se desarrolló un modelo de regresión no lineal basado en el modelo logístico pero modificado para las dos variables de estudio (temperatura de tratamiento y tiempo de exposición). El modelo resultante fue:

$$Rfd_{REC}(\text{estimado}) = A / (1 + B_0 * B_1^{(B_2 * X + B_3 * Y + B_4)})$$

en donde X es la temperatura de tratamiento, Y es el tiempo de exposición y A, B₀, B₁, B₂, B₃ y B₄ son los diferentes coeficientes estimados.

El modelo resultante para cada especie y tipo de hoja se resume en la Tabla 4.6.3.10.

Tabla 4.6.3.10. Valores de los coeficientes estimados (A, B₀, B₁, B₂, B₃ y B₄) y del coeficiente de correlación múltiple (R²) obtenidos del modelo no lineal resultante del estudio de Rfd medido después de 24 h, cuando hojas de sol y de sombra de *Laurus azorica*, *Persea indica* y *Myrica faya*, son sometidas a diferentes tiempos de exposición a temperaturas por debajo de cero.

	<i>Laurus azorica</i>		<i>Persea indica</i>		<i>Myrica faya</i>	
	Hojas de sol	Hojas de sombra	Hojas de sol	Hojas de sombra	Hojas de sol	Hojas de sombra
A	2.6362	2.1801	2.3728	2.4999	3.2749	2.2112
B ₀	3.1622	10.3622	6.6243	7.2311	4.2034	13.6219
B ₁	1.5242	1.3594	1.6854	2.3557	2.2377	1.9437
B ₂	-5.3846	-5.6327	-4.1421	-4.0245	-6.0947	-6.2170
B ₃	0.4133	0.2945	0.1643	0.1488	0.0286	0.1350
B ₄	10.8126	2.6453	12.3668	12.3728	30.7454	25.6585
R ²	0.8338	0.6886	0.8983	0.9307	0.9667	0.8426

En la Fig. 4.6.3.35 se observa el modelo tridimensional de respuesta de Rfd medido después de 24 del tratamiento a diferentes temperaturas y tiempo de exposición.

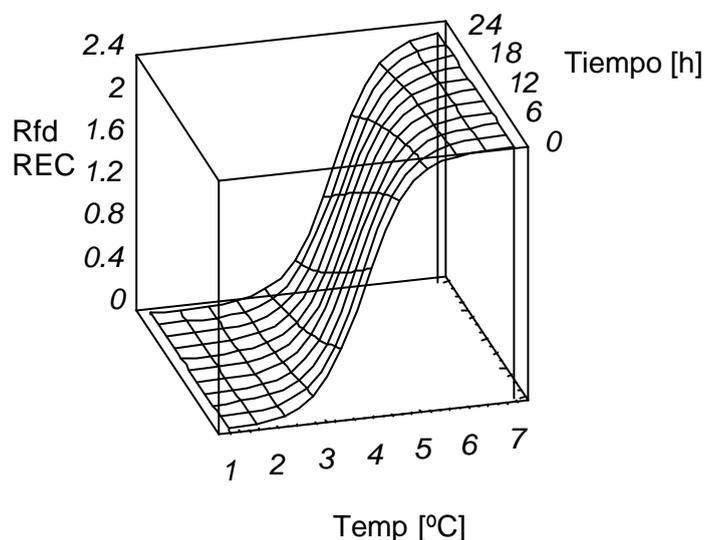


Fig. 4.6.3.35. Modelo tridimensional de la respuesta de Rfd medido después de 24 h del tratamiento, a diferentes temperaturas y tiempo de exposición, en hojas de sol de *Persea indica*. Las diferentes temperaturas de tratamiento son: 1=-12°C; 2=-10°C; 3=-8°C; 4=-6°C; 5=-4°C; 6=-2°C; 7=0°C.

4.6.3.3.3.2. Medidas de conductividad eléctrica

En la Fig. 4.6.3.36 se puede observar como las hojas de sol de *L. azorica* no sufren daño con 30 min de exposición hasta -10 °C, sin embargo con 24 h a -6 °C se produjo una salida de electrolitos. En las hojas de sombra, aunque el daño con 30 min también tiene lugar a -10 °C, se ven dañadas con 1h a -8 °C. Esto refleja como las hojas de sol de *L. azorica* son dañadas antes que las hojas de sombra.

En las hojas de sol de *P. indica* el daño fue mucho más brusco, pasando de estar sanas con 30 min a -8°C a presentar un daño del 50% con 30 min a -10 °C. Sin embargo, en las hojas de sombra, el daño con 30 min fue observado con -8 °C. A lo largo del tiempo las hojas de sol y de sombra se dañaron a 4 h a -6 °C (Fig. 4.6.3.37).

En *M. faya* tanto las hojas de sol como de sombra presentaron un comportamiento similar, observándose el daño a 1 h a -4 °C (Fig. 4.6.3.38).

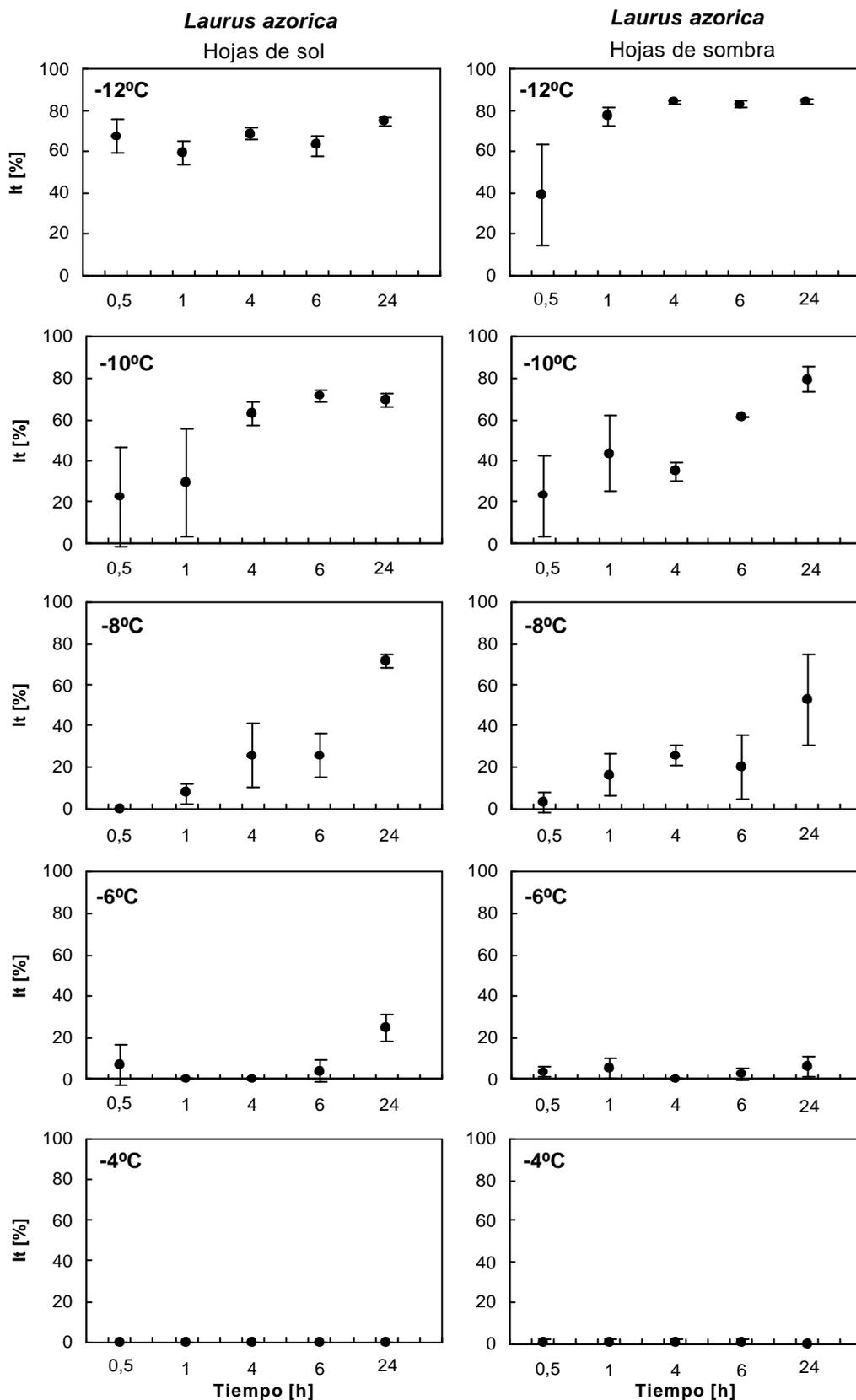


Fig. 4.6.3.36. Índice de daño (It) obtenido en hojas de sol y de sombra de *Laurus azorica* sometidas a diferentes tiempos de exposición y a varias temperaturas. Los valores representan la media de tres réplicas y su desviación estándar.

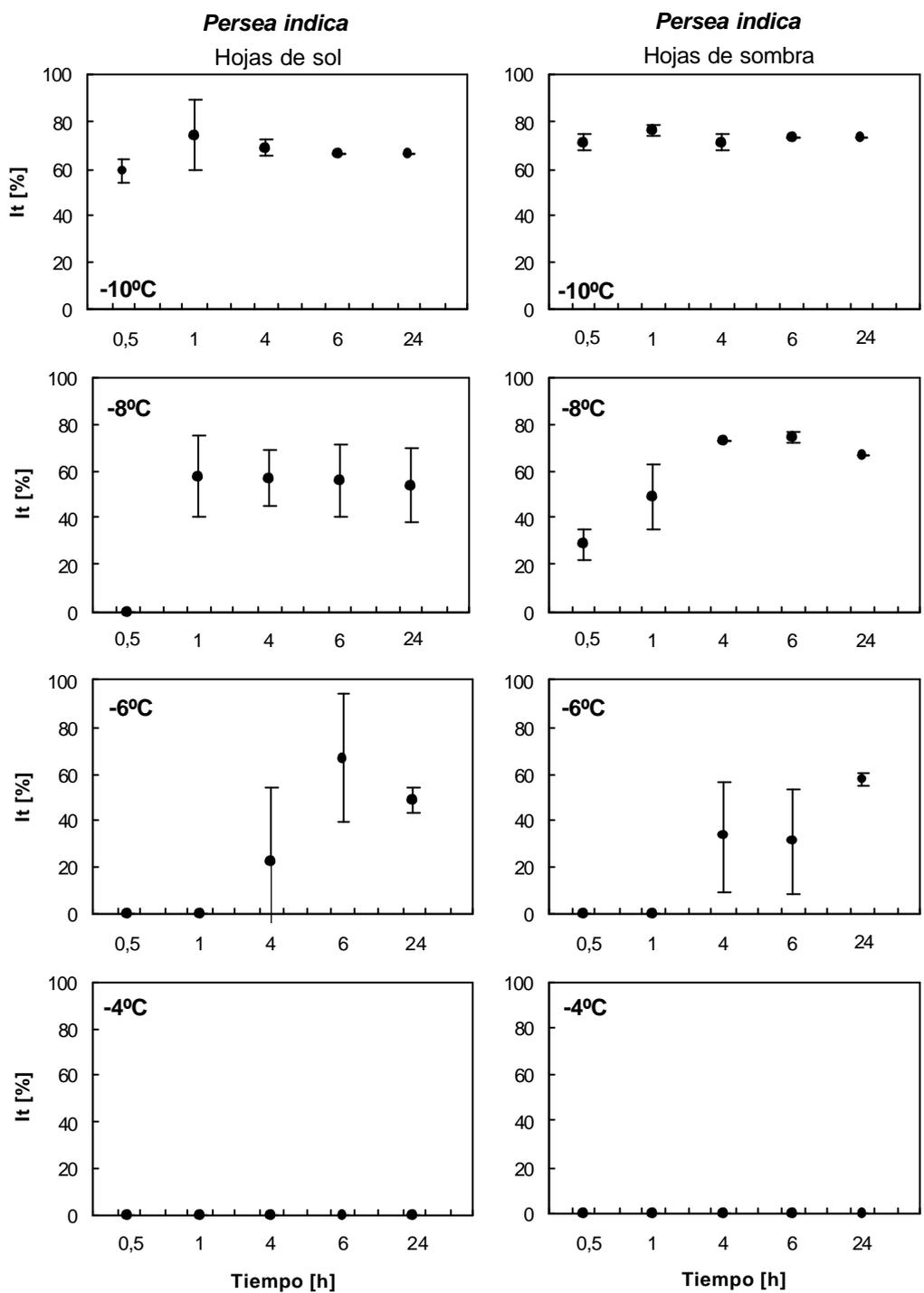


Fig. 4.6.3.37. Índice de daño (It) en hojas de sol y de sombra de *Persea indica* sometidas a diferentes tiempos de exposición y bajas temperaturas. Los valores representan la media de tres réplicas y su desviación estándar.

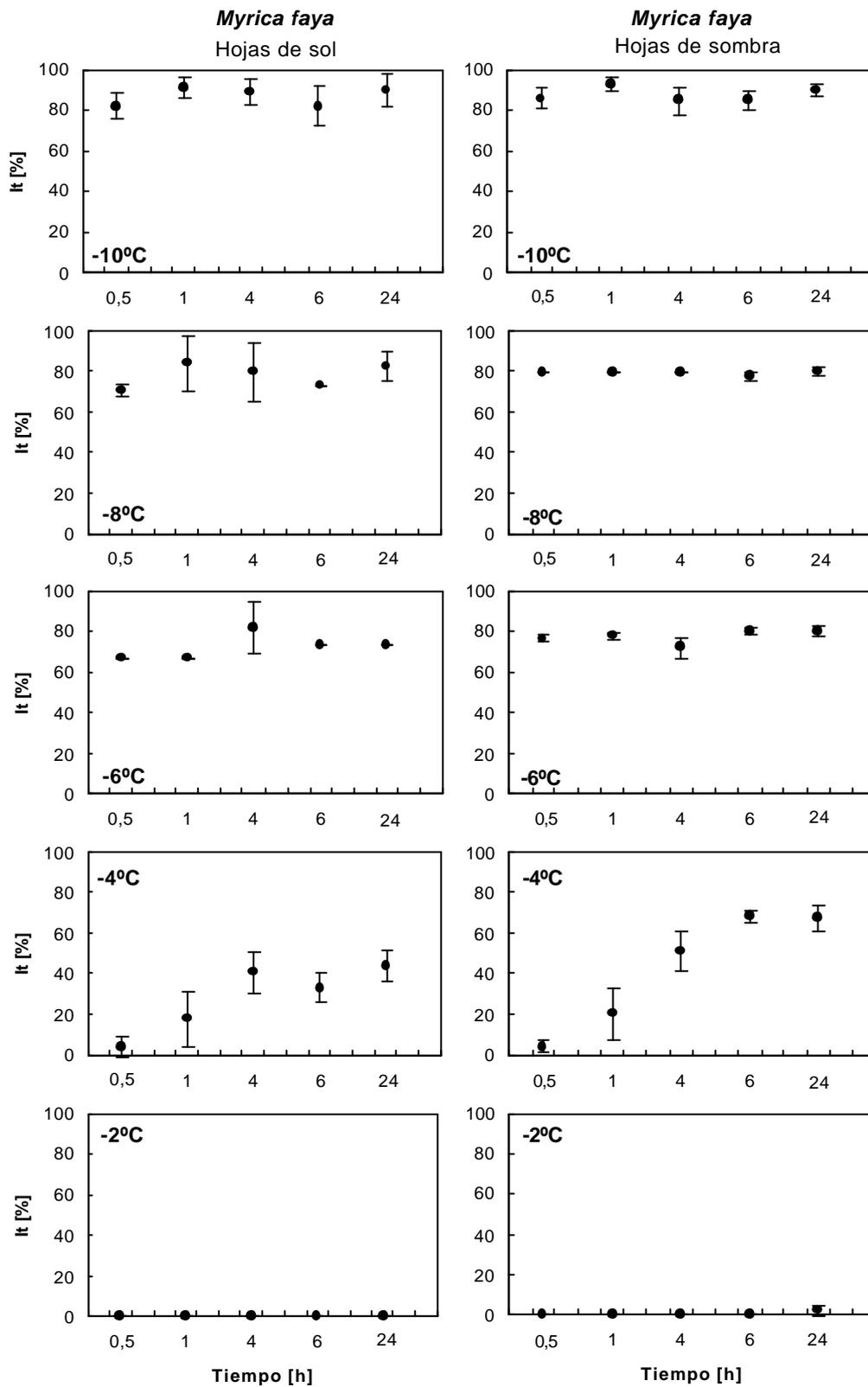


Fig. 4.6.3.38. Índice de daño (It) en hojas de sol y de sombra de *Myrica faya* sometidas a diferentes tiempos de exposición y diferentes temperaturas. Los valores representan la media con su desviación estándar.

Al igual que en los apartados anteriores se observa, en general, una correlación entre el daño detectado por medidas de fluorescencia de la clorofila y por conductividad eléctrica.

4.6.3.3.3. Valoración visual

La evaluación visual de los daños en las distintas especies y tipo de hoja, a lo largo del tratamiento térmico y según el tiempo de exposición, se resume en las siguientes tablas (Tabla 4.6.3.11-16).

Tabla 4.6.3.11. Valoración visual de daño a bajas temperaturas a diferentes tiempos de exposición en hojas de sol de *Laurus azorica*. Los símbolos significan: (-) la temperatura más baja sin daño LT_0 ; (+) la temperatura de daño incipiente, a la cual aparecen los primeros daños, LT_1 ; (++) la temperatura a la que se produce el 50% de daño, LT_{50} ; y (+++) la temperatura en que se produce un 90-100% de daño, LT_{100} .

Temperatura de tratamiento	Tiempo de exposición				
	30 min	1 h	4 h	6 h	24 h
-12°C	+++	+++	+++	+++	+++
-10°C	++	+++	+++	+++	+++
-8°C	+	+	++	++	+++
-6°C	-	-	+	+	++
-4°C	-	-	-	-	-

Tabla 4.6.3.12. Valoración visual de daño a bajas temperaturas a diferentes tiempos de exposición en hojas de sombra de *Laurus azorica*. Los símbolos significan: (-) la temperatura más baja sin daño, LT_0 ; (+) la temperatura de daño incipiente, a la cual aparecen los primeros daños, LT_1 ; (++) la temperatura a la que se produce el 50% de daño, LT_{50} ; y (+++) la temperatura en que se produce un 90-100% de daño, LT_{100} .

Temperatura de tratamiento	Tiempo de exposición				
	30 min	1 h	4 h	6 h	24 h
-12°C	++	+++	+++	+++	+++
-10°C	+	++	+++	+++	+++
-8°C	+	+	++	++	++
-6°C	-	-	+	+	+
-4°C	-	-	-	-	-

Tabla 4.6.3.13. Valoración visual de daño a bajas temperaturas a diferentes tiempos de exposición en hojas de sol de *Persea indica*. Los símbolos significan: (-) la temperatura más baja sin daño, LT_0 ; (+) la temperatura de daño incipiente, a la cual aparecen los primeros daños, LT_i ; (++) la temperatura a la que se produce el 50% de daño, LT_{50} ; y (+++) la temperatura en que se produce un 90-100% de daño, LT_{100} .

Temperatura de tratamiento	Tiempo de exposición				
	30 min	1 h	4 h	6 h	24 h
-10°C	+++	+++	+++	+++	+++
-8°C	++	+++	+++	+++	+++
-6°C	-	-	-	-	++
-4°C	-	-	-	-	++
-2°C	-	-	-	-	-

Tabla 4.6.3.14. Valoración visual de daño a bajas temperaturas a diferentes tiempos de exposición en hojas de sombra de *Persea indica*. Los símbolos significan: (-) la temperatura más baja sin daño, LT_0 ; (+) la temperatura de daño incipiente, a la cual aparecen los primeros daños, LT_i ; (++) la temperatura a la que se produce el 50% de daño, LT_{50} ; y (+++) la temperatura en que se produce un 90-100% de daño, LT_{100} .

Temperatura de tratamiento	Tiempo de exposición				
	30 min	1 h	4 h	6 h	24 h
-10°C	+++	+++	+++	+++	+++
-8°C	++	+++	+++	+++	+++
-6°C	+	++	+++	+++	+++
-4°C	-	-	-	-	+
-2°C	-	-	-	-	-

Tabla 4.6.3.15. Valoración visual de daño a bajas temperaturas a diferentes tiempos de exposición en hojas de sol de *Myrica faya*. Los símbolos significan: (-) la temperatura más baja sin daño, LT_0 ; (+) la temperatura de daño incipiente, a la cual aparecen los primeros daños, LT_i ; (++) la temperatura a la que se produce el 50% de daño, LT_{50} ; y (+++) la temperatura en que se produce un 90-100% de daño, LT_{100} .

Temperatura de tratamiento	Tiempo de exposición				
	30 min	1 h	4 h	6 h	24 h
-10°C	+++	+++	+++	+++	+++
-8°C	+++	+++	+++	+++	+++
-6°C	+++	+++	+++	+++	+++
-4°C	++	++	+++	+++	+++
-2°C	-	-	-	-	-

Tabla 4.6.3.16. Valoración visual de daño a bajas temperaturas a diferentes tiempos de exposición en hojas de sombra de *Myrica faya*. Los símbolos significan: (-) la temperatura más baja sin daño, LT₀; (+) la temperatura de daño incipiente, a la cual aparecen los primeros daños, LT_i; (++) la temperatura a la que se produce el 50% de daño, LT₅₀; y (+++) la temperatura en que se produce un 90-100% de daño, LT₁₀₀.

Temperatura de tratamiento	Tiempo de exposición				
	30 min	1 h	4 h	6 h	24 h
-10°C	+++	+++	+++	+++	+++
-8°C	+++	+++	+++	+++	+++
-6°C	+++	+++	+++	+++	+++
-4°C	+	++	+++	+++	+++
-2°C	-	-	-	-	+

El grado de tejido necrosado para cada temperatura aumentó con el descenso de la temperatura y el tiempo de exposición. Así en *Laurus azorica*, tanto en hojas de sol como de sombra no se detectó daño alguno hasta por encima de una exposición de 1 h a -6°C. En *Persea indica* las hojas de sol no sufrieron daño hasta 24 h a -4°C y las hojas de sombra hasta 6 h a -4°C. En las hojas de sol de *Myrica faya* no se observó daño hasta 24 h a -2°C y en las hojas de sombra hasta 6h a -2°C. Como se puede observar, las hojas de sombra de *Persea indica* y *Myrica faya* fueron dañadas antes que las hojas de sol. Sin embargo las medidas de conductividad eléctrica no reflejó estas diferencias entre hojas de sol y de sombra de una misma especie, para *Persea indica* y *Myrica faya*.

Al igual que en los dos apartados anteriores, se observó que el daño visual incipiente ocurría antes que el daño en el aparato fotosintético, medido mediante el análisis de la fluorescencia de la clorofila, y que la pérdida de la integridad física de la membrana, medida como conductividad eléctrica. Sin embargo, la temperatura en la que visualmente se ha producido un 50% de daño se correlacionó perfectamente con el daño detectado por fluorescencia y conductividad eléctrica.

4.6.3.3.4. Discusión

Los resultados del efecto del tiempo de exposición a bajas temperaturas estudiado por análisis de fluorescencia de la clorofila, conductividad eléctrica y valoración visual, mostraron como las hojas desarrolladas de primer año de árboles adultos de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* no presentaron daño alguno hasta que fueron sometidas durante varias horas a temperaturas por debajo de cero. El tiempo y temperatura de daño varió dependiendo de la especie y el tipo de hoja.

Ebel & Kümmel (1985) encontraron que con plantas enteras de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* no mostraron daño visible alguno después de una noche a -5°C. Esto podría apoyar la idea de que presentan un superenfriamiento persistente.

Ejemplos de plantas cuyas hojas presentan un estado superenfriado persistente (al menos en el estado aclimatado) los podemos encontrar en árboles esclerófilos mediterráneos como *Olea europaea* (Larcher 1963; 1970), ciertas plantas de montañas tropicales como por ejemplo, especies de los géneros *Espeletia* y *Polylepis* (Larcher 1975; Larcher & Wagner 1976; Goldstein *et al.* 1985; Rada *et al.* 1985), en palmeras de regiones cálidas y templadas y subtropicales (Larcher 1980b; Larcher & Winter 1981) y en *Trachycarpus fortunei* y bambúes (Ishikawa 1984).

4.6.4. RESISTENCIA DEL APARATO FOTOSINTÉTICO A LAS ALTAS TEMPERATURAS

En este apartado intentamos caracterizar el límite de resistencia del aparato fotosintético a las altas temperaturas, para así conocer el tipo de resistencia que desarrollan estas especies. Además, estudiamos como afecta el tiempo de exposición a estas temperaturas extremas.

4.6.4.1. Límite de resistencia del aparato fotosintético a las altas temperaturas

4.6.4.1.1. *Introducción*

La respuesta de las plantas a las altas temperaturas limita su distribución geográfica debido a efectos en el metabolismo y viabilidad de la célula (Levit 1980). En particular, las altas temperaturas influyen en la tasa fotosintética y respiratoria y además en la integridad estructural de las membranas (Björkman *et al.* 1980).

En condiciones naturales la temperatura de las hojas pueden alcanzar 40 °C, e incluso más, especialmente si las plantas están sometidas a un estrés hídrico (para una revisión ver Berry & Björkman 1980). Temperaturas superiores a 30 °C provocan una disminución tanto de la capacidad como del rendimiento cuántico de la asimilación del CO₂. La inactivación de la actividad fotosintética es un resultado directo del efecto de la temperatura en la integridad del sistema fotosintético (Krause & Santarius 1975).

La inhibición de la fotosíntesis a nivel fisiológico está correlacionado con la pérdida de la capacidad de transferencia de electrones del PSII de la membranas tilacoidales. Las altas temperaturas afectan en primer lugar al sitio de fotooxidación del PSII (Yamashita & Butler 1968) y al descenso en la emisión de la fluorescencia variable. Esto último refleja el flujo de electrones a través del PSII y está regulada por el estado de oxidación-reducción (estado redox) del PSII (Bradbury & Baker 1981).

Muchos investigadores consideran que los parámetros de la fluorescencia de la clorofila son indicadores sensibles a altas temperaturas de las alteraciones estructurales y funcionales del aparato fotosintético (Renger & Schreiber 1986; Havaux *et al.* 1991; Krause & Weis 1991). El PSII es, probablemente, el componente más termolábil de la fotosíntesis (Berry & Raison 1981). La desnaturalización del PSII en hojas que han sido

calentadas lentamente provoca un rápido aumento en la emisión de la fluorescencia de la clorofila cuando es registrada a baja luz (Schreiber & Berry 1977), esto ha sido utilizado como una forma de medida de la resistencia de las plantas al calor (Smillie & Nott 1979; Havaux *et al.* 1988). El brusco aumento de la fluorescencia inicial, a las mismas temperaturas extremas a las cuales la integridad del proceso fotosintético es inhibido, es el resultado de una merma en la transferencia de la energía de excitación de los centros de reacción del PSII (Schreiber & Berry 1977; Yordanov & Weis 1984). Así, las características de la emisión de fluorescencia muestra cómo los cambios morfológicos están relacionados con la eficacia en la transferencia de energía entre los complejos de pigmentos (Armond *et al.* 1978; Schreiber & Armond 1978). Como consecuencia, el daño producido por el calor en el sistema fotosintético implica tanto una disociación física como funcional de los LHCII que son los centros de reacción del PSII (Armond *et al.* 1979), es decir, el calor produce la inactivación del PSII, por una separación física de los pigmentos colectores de luz periféricos (LHCII) de los complejos del PSII (Schreiber & Berry 1977; Armond *et al.* 1978; Gounaris *et al.* 1984; Sundby *et al.* 1986) y una desorganización del sistema de desprendimiento de oxígeno a partir de la rotura del agua con la liberación de iones manganeso y de proteínas extrínsecas (Nash *et al.* 1985; Enami *et al.* 1994). Se asume que estos efectos son el resultado de cambios en las interacciones lípidos-proteínas asociados con una alta fluidez lipídica a altas temperaturas, lo que provoca una desorganización de las estructuras supramoleculares del PSII (Berry & Björkman 1980). De acuerdo con esta idea, existen observaciones que muestran como los cambios en el medio ambiente que rodea a los lípidos del PSII tienen una importancia estructural (Webb & Green 1991) y que los cambios en la composición de los lípidos de membrana están asociados con cambios en la termoestabilidad del PSII (Thomas *et al.* 1986; Kunst *et al.* 1989).

El límite de tolerancia de una especie puede ser definido de varias formas; a) como la temperatura a la cual aparecen los primeros daños en cualquier función, b) como la temperatura a la cual el porcentaje de tejido dañado es bajo (10-20 %) o medio (Levitt 1980), c) la temperatura a la cual muere una población entera de organismos unicelulares. Así, podemos observar como la estimación de la tolerancia puede variar dependiendo de si el límite de tolerancia es calculado como el 50% de daño, lo cual lleva consigo una mayor variabilidad, o si es fijado a la temperatura justo antes del inicio del daño (Biebl 1964) o a la temperatura que causa un 10-20 % de daño (Kappen 1964). Debido a esta variabilidad en la presentación de los datos y para poder compararlos con resultados de resistencia al calor realizados en otros bosques hemos creído conveniente mostrar ambos valores, es decir, la temperatura a la cual se produce un daño inferior al 10 % (LT_0) y la temperatura a la que se produce un 50% (LT_{50}).

En muchas plantas la resistencia al calor presenta un comportamiento estacional, relacionado también con el proceso de desarrollo y con la temperatura del aire. Así, durante el período de crecimiento activo todas las plantas son más sensibles a las altas temperaturas. Entre las plantas terrestres existen especies que aumentan su resistencia sólo en verano, mientras que otras adquieren su máximo de resistencia en el período de dormancia invernal. Finalmente, existen algunas plantas que no presentan fluctuaciones en la resistencia al calor a lo largo del año (Larcher 1995). En la laurisilva canaria, debido a

sus condiciones climáticas homogéneas, no es de esperar una marcada variación estacional. Así, uno de los propósitos al caracterizar la resistencia de estas especies a las altas temperaturas es conocer no sólo los límites de resistencia, sino también su variación a lo largo del año, tomando como referencia las dos estaciones marcadas existentes en estas islas, una estación húmeda y fría y una estación cálida y templada.

4.6.4.1.2. *Material y métodos*

Se tomaron hojas de sol y de sombra, de primer año y totalmente desarrolladas de árboles adultos de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya*. La recolección se hizo principalmente en dos épocas del año, en dos años diferentes; a finales de invierno de 1994 (febrero-mayo) y a finales de verano de 1996 (octubre 1996).

Así, las hojas de *L. azorica* fueron cogidas en febrero de 1992 y octubre de 1996, las hojas de *P. indica* en mayo de 1994 y octubre de 1996, y las hojas de *M. faya* fueron tomadas en marzo de 1994 y octubre de 1996. como muestras de la estación húmeda y de la estación seca, respectivamente. Las características climáticas del mes de recolección de las muestras foliares de las distintas especies se resumen en la siguiente tabla (Tabla 4.6.4.1).

Tabla 4.6.4.1. Cuadro de temperaturas y precipitación de los meses en que se tomaron muestras.

Mes	Febrero	Marzo	Mayo	Octubre
Año	1992	1994	1994	1996
Prec. [mm]	76.8	116.5	88.5	0
Tmedia [°C]	9.4	10.2	12.8	18.1
Tmax media [°C]	13	13.2	16.4	22.6
Tmin media [°C]	5.7	7.1	9.3	13.6
Tmax abs. [°C]	18.2	18.6	23.2	30
Tmin abs. [°C]	2.2	3	4	8.5

Las hojas, completamente desarrolladas y en el primer año de vida, se llevaron inmediatamente al laboratorio donde fueron lavadas con agua destilada y puestas a saturación durante toda la noche a temperatura ambiente (20 ° C). Al día siguiente, antes de someter las hojas a los diferentes tratamientos térmicos, se midió la fluorescencia de la clorofila a cada una de ellas para conocer los valores control de los diferentes parámetros de fluorescencia. Posteriormente las hojas fueron colocadas en un baño con control de la temperatura, durante 30 min, en completa oscuridad y a la temperatura de estudio. Las temperaturas de estudio fueron desde 20 hasta 40 °C con pasos de 5K y desde 40 a 50 °C con pasos de 2K.

Inmediatamente después del tratamiento térmico se midió la fluorescencia de la clorofila en las hojas (a esta medida nos referiremos siempre como medida en el momento del tratamiento (M)). Con el fin de estudiar el grado y extensión del daño, a estas mismas hojas se les midió de nuevo la fluorescencia de la clorofila después de estar a atmósfera

saturante, temperatura ambiente y oscuridad durante 24 h (a esta medida nos referiremos siempre como medida tras 24 h (Rec)). Tras las 24 h, también se valoró el daño visual de las muestras.

En 1996 además, fue posible evaluar el efecto de las bajas temperaturas sobre la integridad física de las membranas mediante la valoración de pérdida de electrolitos por medidas de conductividad eléctrica (técnica descrita en detalle en el apartado 4.6.2.).

En cada uno de los experimentos se realizaron tres réplicas para cada especie, tipo de hoja, época y temperatura de estudio.

Los resultados obtenidos con la técnica de la fluorescencia de la clorofila fueron analizados estadísticamente mediante un análisis de la varianza multifactorial.

Los valores control de los parámetros de fluorescencia estudiados mostraron diferencias según la especie, condición de la hoja y época del tratamiento (Tabla 4.6.4.2.).

Esta variabilidad en los valores control hizo necesario, que antes de realizar cualquier estudio estadístico, los valores obtenidos con los diferentes parámetros fueran relativizados (diferencia entre el valor control y el valor del parámetro de fluorescencia a estudio) para evitar obtener posibles conclusiones no reales.

Como el objetivo del trabajo tiene la finalidad de estudiar la evolución del daño según la temperatura para diferentes especies, tipo de hoja y época del experimento, se procedió a elaborar un modelo global que explicara dichas diferencias y sus posibles interacciones. Sin embargo, este modelo implicaría el estudio de interacciones triples (por ejemplo, dentro de cada especie el comportamiento frente a la temperatura según el tipo de hoja) cuya interpretación sería bastante difícil. Así, este modelo ha sido construido con los factores principales (especie, temperatura, tipo de hoja y época) y las interacciones dobles, con el fin de estudiar las diferencias entre *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya*, por lo que sólo se analizó el efecto simple de dicho factor (especie).

Teniendo en cuenta que el diseño experimental incluye tres réplicas para cada tipo de hoja, época y tratamiento térmico, fue factible el estudio de una forma individualizada para cada una de las especies.

Los resultados obtenidos de los diferentes parámetros de fluorescencia en el estudio individual de cada especie, tanto medidos en el momento del tratamiento como después de 24 h, se analizaron estadísticamente mediante un análisis de varianza de 3 vías. El modelo que se obtuvo incluía los tres factores principales; tipo de hoja, tratamiento térmico y época del experimento, y todas las interacciones dobles. Tanto los factores principales como las interacciones significativas (al 5%) fueron analizados con un contraste a posteriori tipo Tukey a dicho nivel de significación.

Adicionalmente para estudiar si los valores de Rfd medios se desviaban significativamente de los valores críticos de 2.5 y 1 dados por Lichtenthaler (1988), se realizó un test de Student de doble cola.

4.6.4.1.3. **Resultados**

4.6.4.1.6.1. Medidas de la fluorescencia de la clorofila

Los valores control de los diferentes parámetros de fluorescencia estudiados fueron diferentes debido a la especie, tipo de hoja y época en la que se realizó el experimento (Tabla 4.6.4.2). Esto se debe, como ya se explicó en el apartado anterior, a variaciones intrínsecas de cada una de las especies, a las diferencias anatómicas y estructurales entre las hojas de sol y de sombra y al estado de desarrollo en el que se encuentre el material vegetal de estudio (Schreiber *et al.* 1977; Björkman & Demmig 1987). Todas estas características hacen que los valores control de los parámetros de fluorescencia estudiados sean diferentes.

Tabla 4.6.4.2. Valores control de los diferentes parámetros de fluorescencia analizados (Fo, Fm, Fv/Fm, Fs y Rfd) en hojas de sol y de sombra en *Laurus azorica*, *Persea indica* y *Myrica faya* medidos en la estación seca (S) y húmeda (H). Los valores representan la media con su desviación standard.

	Tipo	Epoca	Fo	Fm	Fv/Fm	Fs	Rfd
<i>Laurus azorica</i>	Sol	Febrer 92	0.240±0.03	1.257±0.17	0.807±0.02	0.327±0.04	2.841±0.34
	Sombra	[H]	0.267±0.02	1.563±0.20	0.828±0.01	0.468±0.08	2.375±0.35
	Sol	Octub 96	0.333±0.02	1.728±0.19	0.806±0.01	0.368±0.02	3.635±0.20
	Sombra	[S]	0.348±0.02	2.215±0.17	0.842±0.01	0.547±0.04	2.924±0.11
<i>Persea indica</i>	Sol	Mayo 94	0.197±0.00	0.883±0.04	0.775±0.01	0.300±0.03	1.967±0.22
	Sombra	[H]	0.281±0.04	1.351±0.06	0.792±0.03	0.423±0.06	1.852±0.32
	Sol	Octub 96	0.344±0.02	1.802±0.22	0.806±0.02	0.523±0.05	2.414±0.33
	Sombra	[S]	0.348±0.03	1.930±0.19	0.818±0.01	0.509±0.04	2.715±0.20
<i>Myrica faya</i>	Sol	Feb 94	0.165±0.01	0.874±0.05	0.811±0.01	0.244±0.01	2.588±0.26
	Sombra	[H]	0.223±0.01	1.217±0.15	0.815±0.02	0.408±0.05	1.988±0.24
	Sol	Octub 96	0.248±0.01	1.471±0.10	0.831±0.01	0.359±0.04	3.085±0.27
	Sombra	[S]	0.294±0.02	1.829±0.33	0.839±0.01	0.492±0.04	2.709±0.25

La respuesta a las altas temperaturas fue estudiado mediante el análisis de diferentes parámetros de fluorescencia. Parámetros de cinética rápida: fluorescencia inicial (Fo), fluorescencia máxima (Fm) y la relación fluorescencia variable-fluorescencia máxima (Fv/Fm); y parámetros de cinética lenta: fluorescencia terminal (Fs) y el índice Rfd (Fm-Fs/Fs).

El estudio de la fluorescencia de la clorofila reveló cómo el patrón de las curvas de fluorescencia de la clorofila fue afectado por las altas temperaturas, esto se observa claramente en las Figs. 4.6.4.1-9, que se muestran en páginas posteriores.

Se observaron cinéticas de fluorescencia normales hasta 40 °C, por encima de esta temperatura y dependiendo de la especie y estación se observaron claros cambios en la cinética.

La fluorescencia inicial, Fo, refleja el estado de la clorofila antena y es una medida de la distribución de energía al PSII y de la eficacia en la captura de energía de excitación

en el P680. Un aumento de Fo se detectó en todas las especies estudiadas a medida que se aumentaba la temperatura.

MODELO GLOBAL

El análisis de varianza de 4 vías (modelo global) mostró un comportamiento diferente entre las especies según el parámetro de fluorescencia estudiado y el momento de la medida (momento o recuperación) (Tabla 4.6.4.3).

Tabla 4.6.4.3. Diferencias entre *Laurus azorica* (1), *Persea indica* (2) y *Myrica faya* (3) en la respuesta a las altas temperaturas medidos con diferentes parámetros de fluorescencia, inmediatamente después del tratamiento térmico (M) y 24 h después del tratamiento a temperatura ambiente y atmósfera saturante (Rec).

	Fo		Fm		Fv/Fm		Fs		Rfd		
M	1	X	1	X	1	X	1	X	1	X	
	2		X	2		X	2		X	2	X
	3			X	3	X	3		X	3	X
Rec	1	X		1	X		1	X		1	X
	2		X	2		X	2		X	2	X
	3		X	3	X		3	X		X	3

Como se puede apreciar en la tabla, *L. azorica* y *P. indica* tienen comportamientos diferentes en su respuesta a las altas temperaturas, mientras que *M. faya* tiene un comportamiento bastante variable según el parámetro analizado. El parámetro Fv/Fm medido en el momento y después de 24 h muestra que, con los datos que tenemos, no podemos decir que *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* sean diferentes, sino más bien que muestran un comportamiento similar si nos fijamos en este parámetro,

MODELO INDIVIDUAL

A continuación se presenta el estudio estadístico realizado para cada especie, explicando los resultados obtenidos con los diferentes factores e interacciones (Tablas 4.6.4.4-6).

Tabla 4.6.4.4. Resumen de los resultados obtenidos en el análisis de varianza de tres vías, en la respuesta a altas temperaturas de los diferentes parámetros de fluorescencia medidos en hojas de sol y de sombra (Tipo) de *Laurus azorica* en dos épocas diferentes; estación seca y húmeda (Época). Los datos son los valores de la *F* de Snedecor de los diferentes parámetros de fluorescencia (Fo, Fm, Fv/Fm, Fs y Rfd) medidos en el momento del tratamiento (M) y tras 24 h (Rec). * P<0.05; ** P<0.01; *** P<0.001; NS = no significativa.

	Fo		Fm		Fv/Fm		Fs		Rfd	
	M	Rec	M	Rec	M	Rec	M	Rec	M	Rec
Temperatura	132.4 ***	61.3 ***	57.7 ***	41.4 ***	126.8 ***	78.7 ***	25.8 ***	19.5 ***	79.3 ***	92.0 ***
Tipo	75.2 ***	105.9 ***	4.3 *	36.1 ***	27.4 ***	18.0 ***	60.2 ***	40.1 ***	109.5 ***	54.5 ***
Época	NS	29.5 ***	78.8 ***	69.8 ***	11.4 ***	NS	NS	4.0 *	36.5 ***	79.2 ***
Temp x Tipo	10.1 ***	19.9 ***	10.4 ***	7.1 ***	2.7 **	3.6 ***	10.9 ***	4.7 ***	7.2 ***	6.0 ***
Temp x Época	2.8 **	2.8 **	11.1 ***	5.6 ***	3.2 **	2.5 *	NS	NS	NS	2.6 **
Tipo x Época	8.76 **	9.9 **	NS	NS	8.6 **	17.3 ***	NS	9.3 **	NS	NS

Tabla 4.6.4.5. Resumen de los resultados obtenidos en el análisis de varianza de tres vías, en la respuesta a altas temperaturas de los diferentes parámetros de fluorescencia medidos en hojas de sol y de sombra (Tipo) de *Persea indica* en dos épocas diferentes; estación seca y húmeda (Época). Los datos son los valores de la *F* de Snedecor de los diferentes parámetros de fluorescencia (Fo, Fm, Fv/Fm, Fs y Rfd) medidos en el momento del tratamiento (M) y tras 24 h (Rec). * P<0.05; ** P<0.01; *** P<0.001; NS = no significativa.

	Fo		Fm		Fv/Fm		Fs		Rfd	
	M	Rec	M	Rec	M	Rec	M	Rec	M	Rec
Temperatura	43.6 ***	28.6 ***	17.5 ***	41.2 ***	84.5 ***	129.9 ***	7.5 ***	15.7 ***	46.3 ***	93.3 ***
Tipo	NS	NS	NS	7.4 **	76.9 ***	26.7 ***	NS	NS	12.8 ***	27.7 ***
Época	29.8 ***	NS	11.7 ***	67.5 ***	33.8 ***	123.2 ***	6.7 *	27.6 ***	60.3 ***	163.2 ***
Temp x Tipo	2.1 *	4.5 ***	2.0 *	4.4 ***	7.4 ***	4.7 ***	NS	NS	3.8 ***	5.6 ***
Temp x Época	NS	NS	4.6 ***	15.7 ***	8.6 ***	22.7 ***	4.2 ***	7.4 ***	13.8 ***	25.5 ***
Tipo x Época	35.0 ***	48.0 ***	21.6 ***	5.5 *	15.2 ***	4.4 *	17.5 ***	45.0 ***	NS	10.1 **

Tabla 4.6.4.6. Resumen de los resultados obtenidos en el análisis de varianza de tres vías, en la respuesta a altas temperaturas de los diferentes parámetros de fluorescencia medidos en hojas de sol y de sombra (Tipo) de *Myrica faya* en dos épocas diferentes; estación seca y húmeda (Época). Los datos son los valores de la *F* de Snedecor de los diferentes parámetros de fluorescencia (Fo, Fm, Fv/Fm, Fs y Rfd) medidos en el momento del tratamiento (M) y tras 24 h (Rec). * P<0.05; ** P<0.01; *** P<0.001; NS = no significativa.

	Fo		Fm		Fv/Fm		Fs		Rfd	
	M	Rec	M	Rec	M	Rec	M	Rec	M	Rec
Temperatura	174.2 ***	61.9 ***	42.9 ***	83.5 ***	206.3 ***	150.0 ***	23.3 ***	9.0 ***	99.1 ***	56.2 ***
Tipo	NS	4.1 *	27.1 **	33.3 ***	5.8 *	7.0 **	NS	12.7 ***	17.1 ***	19.4 ***
Época	43.9 ***	38.3 ***	239.8 ***	97.8 ***	19.4 ***	NS	21.0 ***	6.5 *	NS	28.2 ***
Temp x Tipo	5.9 ***	3.3 **	7.4 ***	2.6 **	4.7 ***	3.2 **	3.0 **	2.1 *	7.3 ***	5.6 ***
Temp x Época	5.7 ***	7.0 ***	12.4 ***	6.4 ***	12.8 ***	2.7 **	NS	NS	11.9 ***	NS
Tipo x Época	13.9 ***	10.8 ***	NS	5.1 *	NS	NS	NS	36.3 ***	6.8 *	20.2 ***

En las tablas 4.6.4.4-6 se observa una variabilidad en el modelo obtenido para cada una de las especies, dependiendo de los parámetros de estudio, ya sea en los parámetros de cinética rápida o en los parámetros de cinética lenta. Así, en unos casos mostraron ser significativos unos factores principales e interacciones dobles y en otros casos dieron otros diferentes.

Aquellos factores principales e interacciones dobles que dieron significativos en el modelo, fueron analizados en detalle, mediante un contraste a posteriori tipo Tukey al 5%.

- Análisis de los factores principales.

Los parámetros de cinética rápida (Fo, Fm y Fv/Fm) mostraron ser indicadores más sensibles del daño a las altas temperaturas que los parámetros de cinética lenta (Fig. 4.6.4.1). Así, con los parámetros de cinética rápida *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* mostraron daño a 42°C medido en el momento del tratamiento y a 44 °C después de 24 h. Mientras que con los parámetros de cinética lenta (Fs y Rfd) las tres especies mostraron daño a 48 °C, tanto en el momento como tras 24 h (Fig. 4.6.4.2).

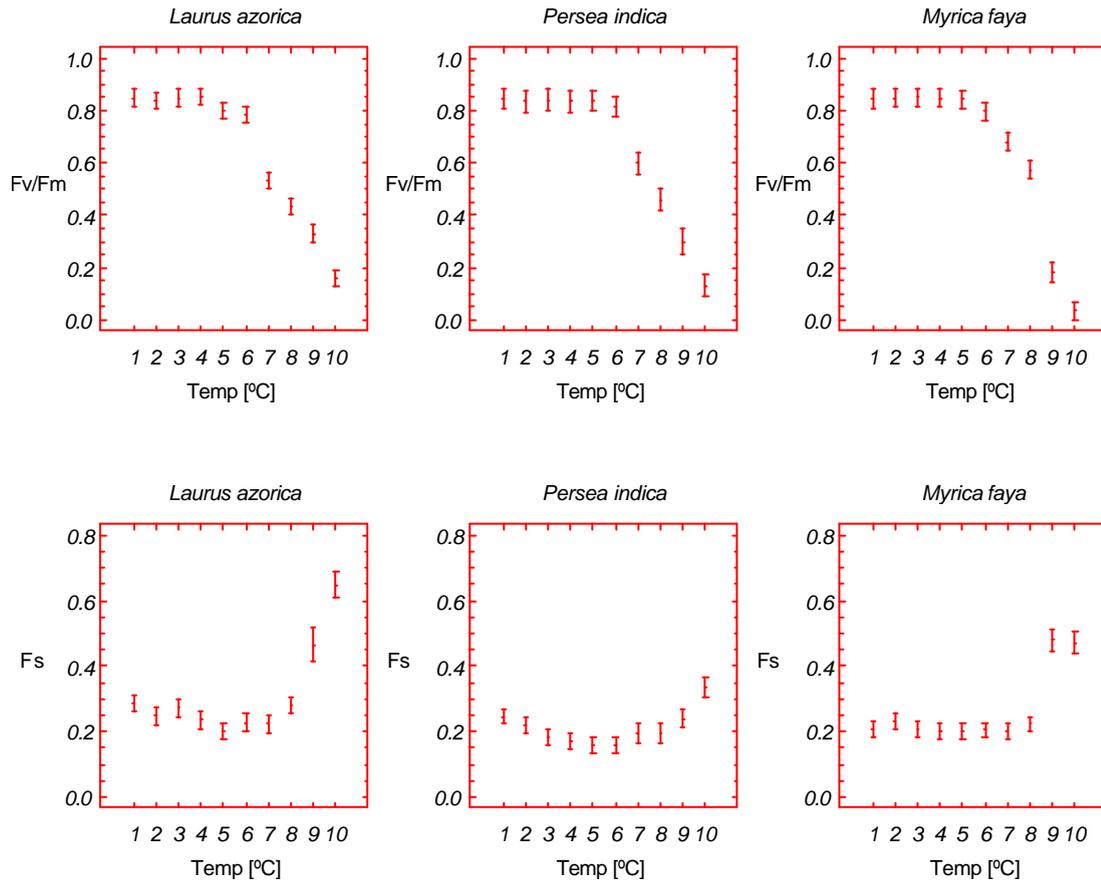


Fig. 4.6.4.1. Respuesta de *Laurus azorica*, *Persea indica* y *Myrica faya* a las altas temperaturas según el análisis de Fv/Fm medido después de 24h y de Fs medido en el momento del tratamiento. Los números en el eje de abscisas indican las diferentes temperaturas de tratamiento (1=20°C; 2=25°C; 3=30°C; 4=35°C; 5=40°C; 6=42°C; 7=44°C; 8=46°C; 9=48°C; 10=50°C).

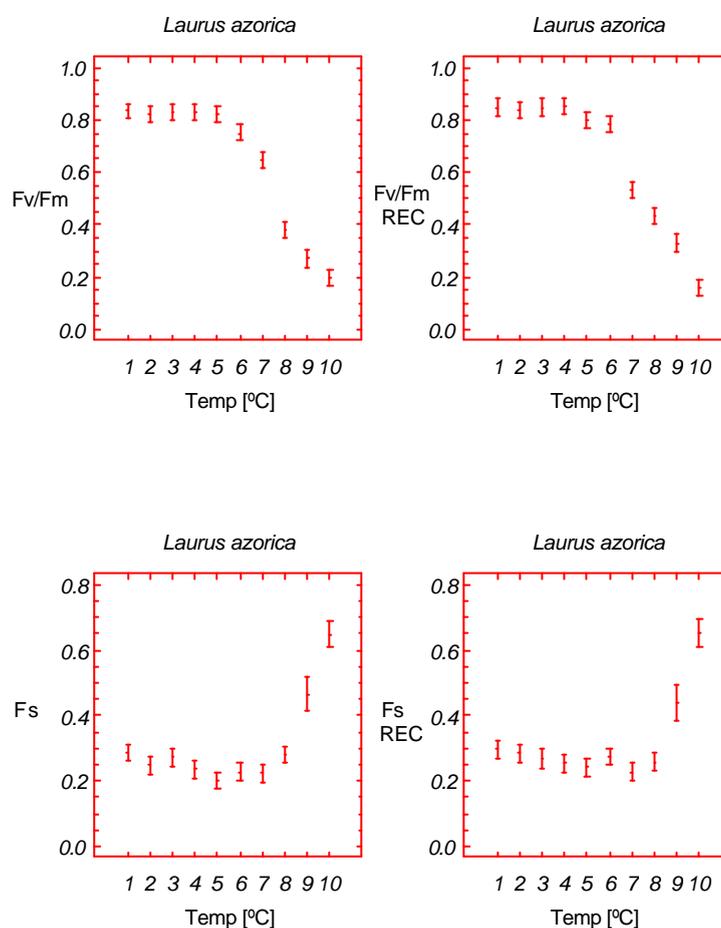


Fig. 4.6.4.2. Sensibilidad de los diferentes parámetros de fluorescencia analizados (Fv/Fm y Fs) medidos en el momento del tratamiento y después de 24h en la respuesta de *Laurus azorica* a las altas temperaturas. Los números en el eje de abscisas indican las diferentes temperaturas de tratamiento (1=20°C; 2=25°C; 3=30°C; 4=35°C; 5=40°C; 6=42°C; 7=44°C; 8=46°C; 9=48°C; 10=50°C).

El estudio del tipo de hoja reflejó que, aunque en ocasiones no se observaron diferencias significativas entre las hojas de sol y de sombra de las tres especies estudiadas, por lo general se observa que las hojas de sol de *L. azorica* y *P. indica* se dañaban más por las altas temperaturas que las hojas de sombra. *M. faya* tuvo un comportamiento contrario, detectándose un mayor daño en las hojas de sombra que en las hojas de sol. En la Fig. 4.6.4.3 se muestra un ejemplo de este comportamiento mediante el análisis de Fv/Fm medido después de 24 h del tratamiento en las tres especies.

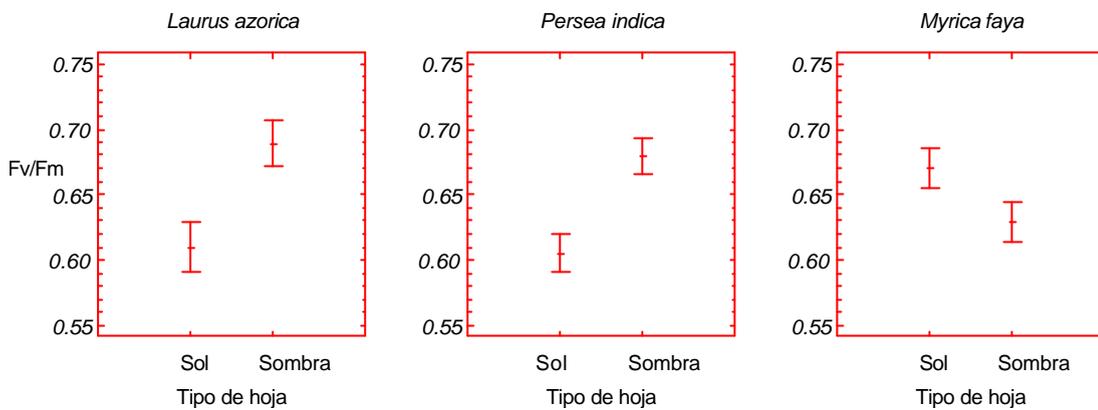


Fig. 4.6.4.3. Respuesta a las altas temperaturas de las hojas de sol y de sombra de *Laurus azorica*, *Persea indica* y *Myrica faya* según el análisis de Fv/Fm medido después de 24 h del tratamiento.

A pesar de que en algunos de los parámetros estudiados no se observaron diferencias significativas en la respuesta a las altas temperaturas según la época de tratamiento, en general se pudo observar un mayor daño de las hojas durante la estación seca (Fig. 4.6.4.4).

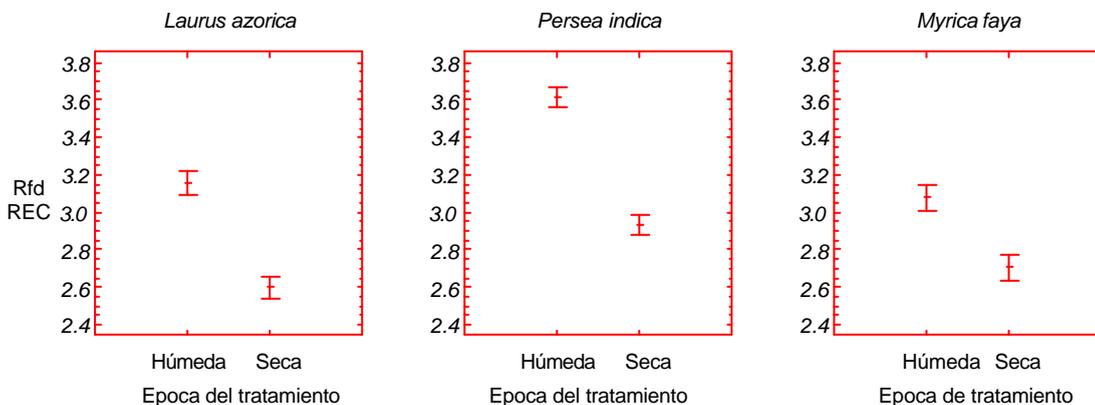


Fig. 4.6.4.4. Respuesta a las altas temperaturas según la época del tratamiento en *Laurus azorica*, *Persea indica* y *Myrica faya* mediante el análisis de Rfd medido después de 24h del tratamiento.

- Análisis de las interacciones dobles.

Interacción tratamiento térmico x tipo de hoja

La interacción del tratamiento térmico frente al tipo de hoja mostró diferencias significativas en la respuesta de las hojas de sol y de sombra al tratamiento térmico. Así, en el análisis de los parámetros de cinética rápida, las hojas de sol de *Laurus azorica* se dañaron a 42°C, mientras que las hojas de sombra a 46°C. Las hojas de sol de *Persea indica* se dañaron a 44°C y las de sombra a 46°C. Por el contrario, las hojas de sol de *Myrica faya* se dañaron a temperaturas más altas, 46°C, que las hojas de sombra, que se dañaron a 44°C. En la Fig. 4.6.4.5 se muestran los resultados obtenidos con el parámetro Fv/Fm medido en el momento del tratamiento.

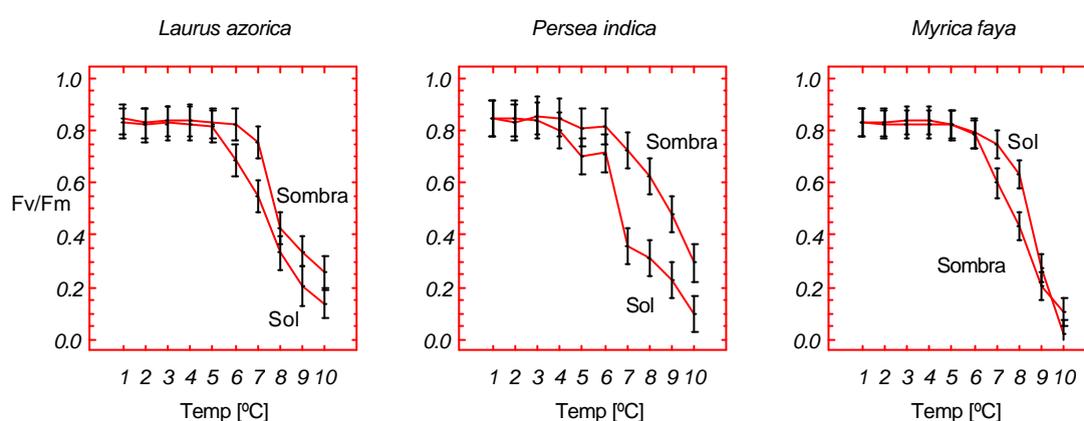


Fig. 4.6.4.5. Estudio de la interacción entre el tratamiento térmico a altas temperaturas y el tipo de hoja (hojas de sol y de sombra) según el análisis de Fv/Fm medido en el momento del tratamiento en *Laurus azorica*, *Persea indica* y *Myrica faya*. Los números en el eje de abscisas indican las diferentes temperaturas de tratamiento (1=20°C; 2=25°C; 3=30°C; 4=35°C; 5=40°C; 6=42°C; 7=44°C; 8=46°C; 9=48°C; 10=50°C).

Interacción tratamiento térmico x época del tratamiento

La interacción del tratamiento térmico con la época del experimento mostró, en general, diferencias significativas en la respuesta de estas especies a las altas temperaturas, según la época en que se realizó el experimento. En las tres especies se observa como en la estación seca las hojas son más sensibles a las altas temperaturas que la estación húmeda. En la Fig. 4.6.4.6 se muestra la respuesta de *L. azorica* y *P. indica* según el análisis de Fv/Fm medido en el momento del tratamiento.

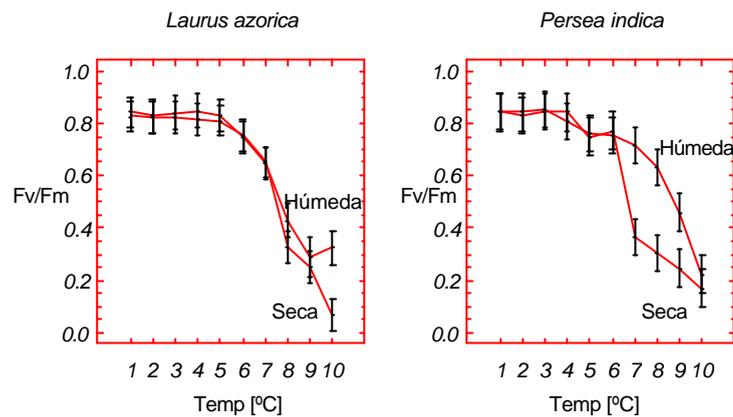


Fig. 4.6.4.6. Estudio de la interacción entre el tratamiento térmico a altas temperaturas y la época del tratamiento (estación seca y húmeda) según el análisis de Fv/Fm medido en el momento del tratamiento en *Laurus azorica* y *Persea indica*. Los números en el eje de abscisas indican las diferentes temperaturas de tratamiento (1=20°C; 2=25°C; 3=30°C; 4=35°C; 5=40°C; 6=42°C; 7=44°C; 8=46°C; 9=48°C; 10=50°C).

M. faya mostró, por lo general, una tendencia a estar dañada a 42°C en la estación seca y a 44°C en la estación húmeda. En la Fig. 4.6.4.7 se muestran los resultados obtenidos en el análisis de Fm medido después de 24 h del tratamiento.

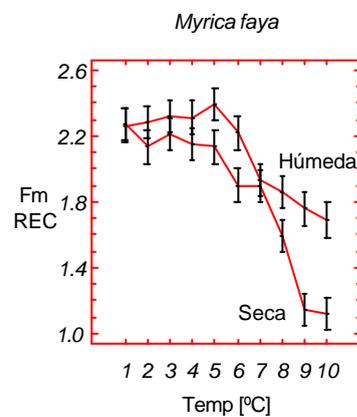


Fig. 4.6.4.7. Estudio de la interacción entre el tratamiento térmico a altas temperaturas y la época del tratamiento (estación seca y húmeda) según el análisis de Fm medido después de 24 h del tratamiento en *Myrica faya*. Los números en el eje de abscisas indican las diferentes temperaturas de tratamiento (1=20°C; 2=25°C; 3=30°C; 4=35°C; 5=40°C; 6=42°C; 7=44°C; 8=46°C; 9=48°C; 10=50°C).

Interacción tipo de hoja x época del experimento

La interacción del tipo de hoja con la época del experimento, aunque siendo no significativa en algunos de los parámetros estudiados, reflejaba que en la estación húmeda se dañan más las hojas de sol. Y en la estación seca se dañan más las hojas de sombra (*P. indica* y *M. faya*) o no se aprecia una diferencia clara entre las hojas de sol y de sombra, como es el caso de *Laurus azorica* (Fig. 4.6.4.8). Mientras que no se observó una diferencia tan clara, dependiendo de la estación, en las hojas de sol; las hojas de sombra se dañaron significativamente más en la estación seca (Fig. 4.6.4.8).

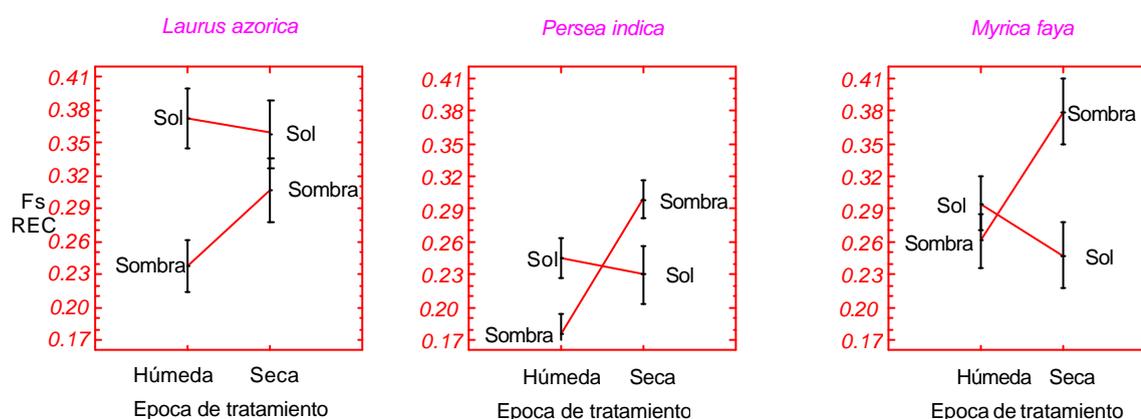


Fig. 4.6.4.8. Estudio de la interacción entre el tipo de hoja (sol y sombra) y la época del tratamiento (estación seca y húmeda) a las altas temperaturas, según el análisis de F_s medido después de 24 h del tratamiento en *Laurus azorica*, *Persea indica* y *Myrica faya*.

4.6.4.1.3.2. Medidas de conductividad eléctrica

Las medidas de conductividad eléctrica detectan la salida de electrolitos de la membranas, dándonos idea de la integridad de las mismas. Esta medidas se realizaron únicamente en 1996, en la época perteneciente a la estación seca.

Los resultados obtenidos a lo largo del tratamiento a altas temperaturas se muestran en la Fig. 4.6.4.9. Las hojas de sol y de sombra de *Laurus azorica* no mostraron daño hasta 50 °C y 52 °C inclusive, respectivamente. En *Persea indica* tanto las hojas de sol como las de sombra, no mostraron daño hasta 50 °C y en *Myrica faya* hasta 48 °C.

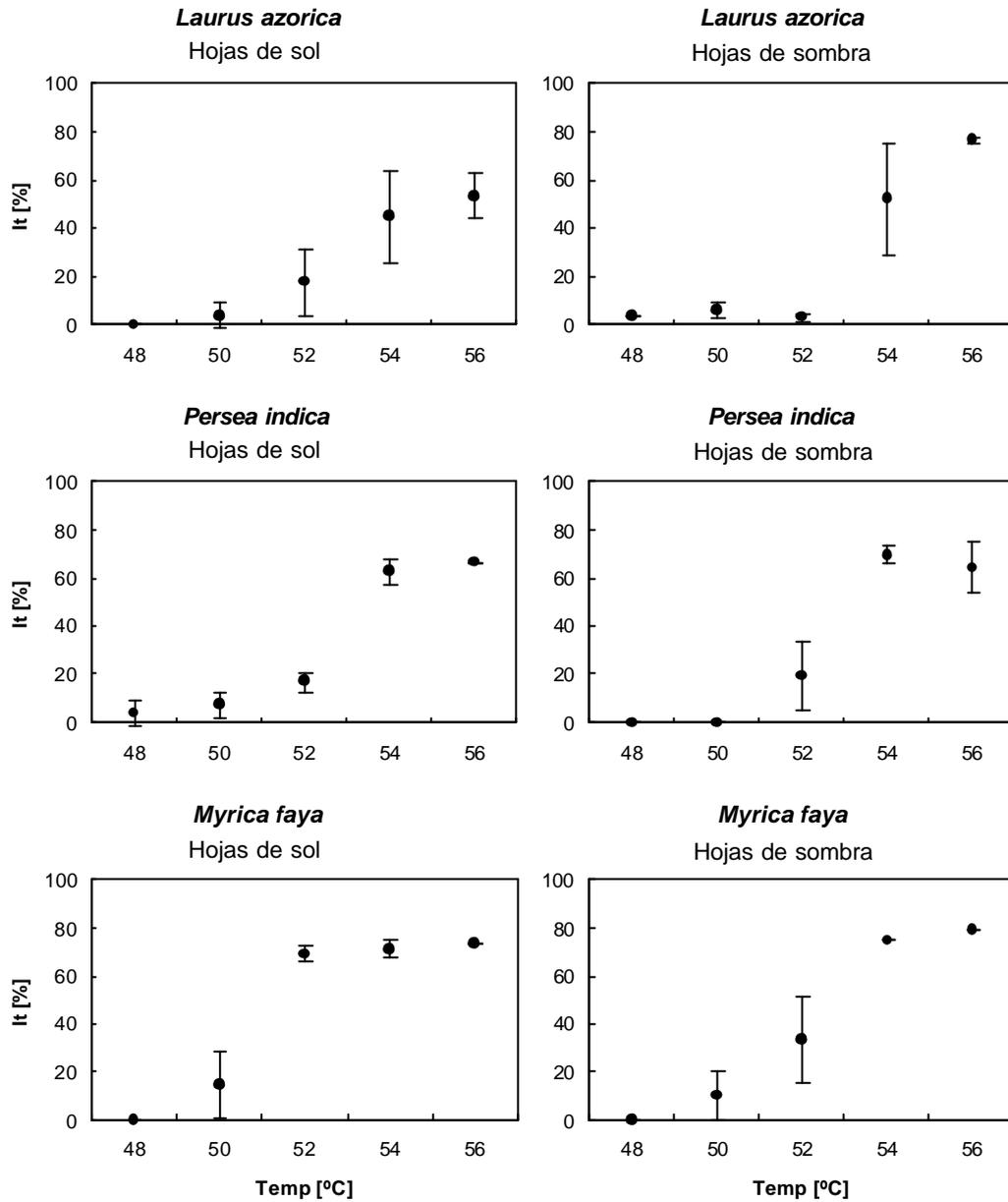


Fig. 4.6.4.9. Índice de daño (It) en respuesta a altas temperaturas en hojas de sol y de sombra de *Laurus azorica*, *Persea indica* y *Myrica faya*. Los símbolos representan el valor medio de tres réplicas y su desviación estándar.

Las temperaturas que produjeron un 50% de daño en las tres especies fueron: para *L. azorica* 54 °C, tanto para las hojas de sol como de sombra, 53 °C, aproximadamente, para hojas de sol y de sombra de *P. indica* y esta misma temperatura para las hojas de sombra de *M. faya*. Las hojas de sol de *M. faya* alcanzaron valores de LT₅₀ a 51 °C (Tabla 4.6.4.7).

Tabla 4.6.4.7. Temperatura límite sin daño (LT₀) y temperatura a la cual el 50 % de electrolitos ha salido de la hoja (LT₅₀) en *Laurus azorica*, *Persea indica* y *Myrica faya* en 1996 (estación seca). Los valores son la media de 5 réplicas.

		LT ₀	LT ₅₀
<i>Laurus azorica</i>	Sol	50	54
	Sombra	52	54
<i>Persea indica</i>	Sol	50	53,5
	Sombra	50	53,3
<i>Myrica faya</i>	Sol	48	51,5
	Sombra	48	52,8

4.6.4.1.3.3. Valoración visual

En la Tabla 4.6.4.8 se resumen los resultados obtenidos por valoración visual del daño en las distintas especies, según el tipo de hoja y la época en la que se llevó a cabo el experimento. El daño en la hoja se desarrolló de una forma gradual, empezando con un enrojecimiento de los nervios, seguido de la aparición de infiltraciones más o menos dispersas a lo largo del mesófilo a medida que aumentaba la temperatura, hasta llegar, a temperaturas extremas, a una necrosis total, tomando la hoja un color marrón.

En la estación húmeda, los daños iniciales fueron observados en las hojas de sol de *Laurus azorica* a 46 °C y en las hojas de sombra a 50 °C. *Persea indica* mostró unos resultados similares viéndose el daño inicial en las hojas de sol a 46 °C y en las hojas de sombra a 48 °C. *Myrica faya* fue la especie más sensible mostrando los primeros daños a 44 °C en las hojas de sol y a 42 °C en las hojas de sombra.

Estos resultados cambiaron significativamente en la estación seca. Así, *L. azorica* no mostró daños visibles a lo largo de todo el tratamiento térmico, tanto para las hojas de sol como de sombra. Este mismo efecto se detectó en las hojas de sol de *P. indica*. Las hojas de sombra de *P. indica* mostraron daños iniciales a 54 °C, mientras que tanto las hojas de sol como de sombra de *M. faya* no mostraron daños hasta 50 °C.

Tabla 4.6.4.8. Valoración visual del daño por altas temperaturas en *Laurus azorica*, *Persea indica* y *Myrica faya*. Los símbolos significan: (-) la temperatura más alta sin daño, LT_0 ; (+) la temperatura de daño incipiente a la cual aparecen los primeros daños, LT_i ; (++) la temperatura en la que se observa el 50% de daño, LT_{50} ; y (+++) la temperatura en la que se observa un 90-100% de daño, LT_{100} .

ESTACIÓN SECA (1996)

		46 °C	48 °C	50 °C	52 °C	54 °C	56 °C
<i>Laurus azorica</i>	Sol	-	-	-	-	-	++
	Sombra	-	-	-	-	-	++
<i>Persea indica</i>	Sol	-	-	-	-	-	+++
	Sombra	-	-	-	-	+	+++
<i>Myrica faya</i>	Sol	-	-	+	++	+++	+++
	Sombra	-	-	+	-	++	+++

ESTACIÓN HÚMEDA (1992-94)

		42 °C	44 °C	46 °C	48 °C	50 °C	52 °C	54 °C	56 °C
<i>Laurus azorica</i>	Sol	-	-	+	++	++	++	+++	+++
	Sombra	-	-	-	-	+	++	+++	+++
<i>Persea indica</i>	Sol	-	-	+	+	++	+++	+++	+++
	Sombra	-	-	-	+	++	+++	+++	+++
<i>Myrica faya</i>	Sol	-	+	++	++	+++	+++	+++	+++
	Sombra	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

4.6.4.1.4. *Discusión*

Las altas temperaturas producen alteraciones en el estado fisicoquímico de las membranas celulares y en la conformación de las proteínas. Estas alteraciones pueden, en un principio, ser reversibles, o en caso extremos, ser letales. Las membranas tilacoidales son especialmente sensibles a las altas temperaturas. Así, uno de los primeros síntomas de daño por altas temperaturas son las alteraciones producidas en la fotosíntesis (Larcher 1995), principalmente a nivel del PSII. Esto hace que la fluorescencia de la clorofila sea una técnica eficaz en el estudio de la respuesta a las altas temperaturas.

El efecto de las altas temperaturas sobre la fluorescencia de la clorofila tiene lugar ya sea por una aceleración directa de la velocidad de las reacciones, debido al aumento de la energía cinética de las moléculas, o por inactivación de algunas reacciones enzimáticas durante los 30 min de incubación de las muestras. Además, los efectos de la temperatura afectan tanto a los procesos fotofísicos de transformación y migración de la energía de excitación como a las reacciones fotoquímicas y a las reacciones fotosintéticas de oscuridad.

Los resultados mostraron cómo los parámetros que reflejan la cinética rápida de la fluorescencia (F_0 , F_m , F_v/F_m) son indicadores más sensibles del daño por calor que los parámetros de cinética lenta. Cuando se estudió la diferencia entre los resultados obtenidos en el momento y después de 24 h del tratamiento térmico, se observó que, midiendo en el

momento con los parámetros de cinética rápida, se detectaba el daño 2K antes que midiendo tras 24 h de tratamiento. Esto indicaba que, por lo general, *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* empezaban a sufrir daño a 42 °C, pero este era reversible. Sólo cuando se alcanzaban temperaturas de 44°C, o superiores, el daño era irreversible. Así *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* son plantas sensibles al calor.

El aumento de F_o se correlacionó bastante bien con la temperatura crítica que daña irreversiblemente el aparato fotosintético. Esto también fue encontrado por Bilger *et al.* (1985) y Schreiber & Bilger (1987). Según Briantais *et al.* (1986) el aumento de F_o podría ser interpretado como una reducción en la eficacia del transporte de energía desde la clorofila *a* antena a los centros de reacción del PSII, y/o a una perturbación en la función de este último. Schreiber & Armond (1978) sugirieron que tratamientos térmicos preliminares con un aumento gradual de la temperatura permite, probablemente, en mayor medida, la disociación de los complejos LHCP de los centros de reacción del PSII, lo cual provoca un aumento en los niveles de F_o . Sin embargo, Ducruet & Lemoine (1985) consideraron que el aumento de F_o debido a las altas temperaturas no está relacionado con la desconexión de los LHCP de los centros de reacción del PSII, sino que podría estar relacionado con el estado redox de la *Q_a*. Teniendo en cuenta esto, Bukhov *et al.* (1990) mostraron que el aumento de F_o después de un precalentamiento, aumentando gradualmente la temperatura, fue debido principalmente a un cambio en el equilibrio del estado redox del PSII, y no debido solamente a una separación de la clorofila *a/b* que forma parte de la antena de los centros de reacción del PSII. Estos autores asumieron que el aumento de F_o era debido a centros del PSII inactivos.

Al igual que fue descrito por Georgieva & Yordanov (1994) y Klinkovsky & Naus (1994), se detectó un aumento de F_o y una disminución de F_m a medida que se aumentó la temperatura. A altas temperaturas, F_v/F_m comienza a descender fuertemente, lo que refleja una perturbación en el sistema de rotura del agua y una caída en la donación de electrones al PSII (Berry & Björkman 1980; Santarius & Weis 1988). El rendimiento cuántico fotosintético desciende en proporción al aumento en la inactivación del PSII.

En cuanto a la respuesta a las altas temperaturas entre las hojas de sol y de sombra, se observa como las hojas de sol de *L. azorica* y *P. indica* son más dañadas que las hojas de sombra. Esto se puede explicar si pensamos que estas dos especies son características de una laurisilva propiamente dicha, en donde su óptimo de distribución se encuentra siempre en zonas de temperaturas muy suaves, con poca oscilación térmica, así las hojas de sol, al estar situadas en las partes más externas del árbol se encuentran sometidas a condiciones desfavorables, de manera que un estrés añadido las daña en mayor medida. Sin embargo, las hojas de sombra de *Myrica faya* se dañaron más que las hojas de sol, esto podría explicarse si pensamos que esta especie es una especie de transición, que aunque forma parte de la laurisilva, es característica del fayal-brezal, adaptada a situaciones más abiertas, con una mayor luz y una mayor temperatura, que haría que sus hojas de sol estén más adaptadas a altas temperaturas que las hojas de sombra.

La respuesta a las altas temperaturas varió según la época en la que se llevó a cabo el tratamiento, así se observó un mayor daño en la estación seca que en la estación húmeda. Esto confirma, de nuevo, la adaptación de estas especies a las condiciones climáticas de estas islas, suavizadas por los vientos alisios. La estación seca supone una época limitante,

en donde temperaturas más elevadas y humedades relativas más bajas hacen que este tipo de bosque no se encuentre en su estado óptimo.

Como ya se ha mencionado anteriormente, la membrana tilacoidal es muy sensible a las altas temperaturas, sin embargo las membranas que envuelven el cloroplasto son más resistentes al calor (Krause & Santarius 1975).

El análisis de conductividad eléctrica realizado en octubre de 1996 (estación seca), mostró que *L. azorica* y *P. indica* sufrieron daño a temperaturas más altas que *M. faya*. El análisis visual se correspondió bastante bien con el índice de daño medido por conductividad eléctrica.

El límite de temperatura medido como LT_{50} , en hojas de especies leñosas siempreverdes de los subtrópicos se encuentra entre 50-60 °C (Larcher 1995), estos valores se encuentran dentro del rango de temperatura observado para las tres especies.

Los valores de resistencia a altas temperaturas calculados a finales de verano (1996) por medidas de conductividad eléctrica y por valoración visual en *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* fueron similares a aquellos obtenidos por Lösch (1980), quién estudió, mediante valoración visual, la resistencia a las altas temperaturas de diferentes plantas existentes en la laurisilva canaria y mostró que *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* se dañaban fuertemente por encima de 56 °C, 54 °C y 48 °C, respectivamente. Se observa un ligero aumento en la resistencia al daño comparado con nuestros resultados debido, probablemente, a la época en la que se llevó a cabo el experimento y/o a la metodología utilizada.

En *L. azorica* y *P. indica* los daños iniciales observados mediante los parámetros de fluorescencia difieren de los datos obtenidos por valoración visual y por medida de la conductividad eléctrica en un rango de 6-8 K. Mientras que en *M. faya* esta diferencia fue de 4K.

Según Bilger *et al.* (1985) existe una clara correlación entre la temperatura crítica en la que se produce un aumento de fluorescencia que corresponde a un 50% de daño y el 50% de daño calculado visualmente, debido a 30 min de exposición a altas temperaturas. Larcher *et al.* (1990), sin embargo, no observó esta correlación tan claramente. En nuestro caso, se detectaron cambios irreversibles en los parámetros de fluorescencia, antes que los primeros daños detectados visualmente o por pérdida de electrolitos.

Los resultados del estudio a altas temperaturas mostraron que *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* son especies sensibles al calor, en las que tienen lugar daños irreversibles del aparato fotosintético a la misma temperatura para las tres especies, aproximadamente a 44 °C. Sin embargo, la pérdida de integridad de las membranas tiene lugar a temperaturas más altas, mostrándose diferencias entre las especies. *L. azorica* y *P. indica* se dañan a temperaturas más altas que *M. faya*, esto puede ser debido a las diferentes características foliares de estas especies. *L. azorica* y *P. indica* son especies con hojas duras, coriáceas, en donde el esclerénquima se encuentra bien desarrollado. Lösch (1980) demostró que existía una correlación entre la resistencia a las altas temperaturas y el grado de esclerofilia de las hojas. Esto es apoyado por nuestros resultados que muestran que *L. azorica* y *P. indica*, especies más esclerófilas que *M. faya*, muestran una mayor resistencia a las altas temperaturas.

Larcher *et al.* (1991b) estudió los efectos de las altas temperaturas en la actividad fotosintética de *P. indica* mediante el uso de la fluorescencia de la clorofila, mostrando que el límite térmico para la actividad fotosintética es de 43 °C y que el daño irreversible

aparece por encima de 48 °C. El valor de LT₅₀ medido por valoración visual, fue a 50 °C. Este estudio fue realizado en la estación fría y está en acuerdo con nuestros resultados obtenidos a finales de invierno.

4.6.4.2. Efecto del tiempo a las altas temperaturas

4.6.4.2.1. *Introducción*

El efecto a las altas temperaturas depende del tiempo de exposición a esas temperaturas extremas, es decir, el efecto del calor obedece a la “ley de la dosis” (Belehrádek 1957), menos calor durante un tiempo largo produce mayor daño que temperaturas más altas durante menos tiempo. Bajo esta premisa quisimos conocer como era la respuesta de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* en función del tiempo de exposición y elaboramos un modelo matemático que muestra el comportamiento de estas especies a las altas temperaturas.

4.6.4.2.2. *Material y métodos*

El experimento se llevó a cabo en octubre de 1996 (estación seca).

Se tomaron hojas de sol y de sombra de las tres especies (*Laurus azorica*, *Persea indica* y *Myrica faya*) en el campo y se llevaron al laboratorio donde fueron colocadas toda la noche a temperatura ambiente y atmósfera saturada. Al día siguiente se medía la fluorescencia de la clorofila en las hojas (valores control) y se sometían a los diferentes tiempos de exposición para cada temperatura y se les medía inmediatamente la fluorescencia de la clorofila. Se dejaban esas mismas hojas a temperatura ambiente y atmósfera saturante toda la noche y se les medía nuevamente la fluorescencia de la clorofila y se hacía la valoración visual de los daños. Posteriormente se preparaban las muestras para el análisis de la conductividad eléctrica.

Las temperaturas de estudio fueron desde 20 hasta 46°C en pasos de 2 K y los tiempos de exposición fueron 30 min, 1, 4, 6 y 24 h. Las medidas de pérdida de electrolitos por rotura de membrana se llevaron a cabo mediante el estudio del índice de daño (It) según Flint *et al.* (1967).

Los resultados obtenidos con la técnica de la fluorescencia de la clorofila fueron analizados estadísticamente mediante un análisis de la varianza multifactorial.

Para el análisis del comportamiento de estas tres especies según el tiempo de exposición a bajas temperaturas se aplicó un análisis de varianza de 4 vías (especie, tipo de hojas, temperatura de tratamiento, tiempo de exposición).

Teniendo en cuenta que el diseño experimental incluye tres réplicas para cada tratamiento térmico y tiempo de exposición fue factible el estudio de una forma individualizada para cada una de las especies y tipo de hoja.

En base a los resultados obtenidos con el estudio de las bajas temperaturas a 30 min de exposición, en el cual se observó que los parámetros de cinética rápida eran indicadores más sensibles del daño, se realizó, en esta ocasión, el análisis del índice Fv/Fm medido después de 24h del tratamiento como parámetro indicador de daño. Así, los resultados obtenidos con el parámetro Fv/Fm medido después de 24 h se analizó individualmente para cada especie y tipo de hoja mediante un análisis de varianza de 2 vías. El modelo que se obtuvo incluía los dos factores principales; tratamiento térmico y tiempo de exposición, y su interacción. Tanto los factores principales como la interacción que dieron significativas (al 5%) fueron analizados con un contraste a posteriori tipo Tukey a dicho nivel de significación.

Además, se desarrolló un modelo de regresión no lineal basado en el modelo logístico, el cual ha sido modificado para dos variables independientes (temperatura de tratamiento y tiempo de exposición).

4.6.4.2.3. **Resultados**

4.6.4.2.3.1. Medidas de fluorescencia de la clorofila

El análisis de la varianza de 4 vías diseñado para estudiar las diferencias en el comportamiento de las tres especies estudiadas, según el parámetro Fv/Fm medido después de 24 h, mostró que no existía una diferencia significativa entre *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya*. Estos resultados apoyan aquellos obtenidos en el apartado anterior con 30 min de exposición.

El efecto del tratamiento térmico en las tres especies y tipo de hoja se muestra en la Fig. 4.6.4.10, en ella se refleja como las hojas de sol de *L. azorica* se dañan a 40 °C mientras que las hojas de sombra a 42 °C. En *P. indica* no se observaron diferencias entre sol y sombra sufriendo daño a 40 °C. Las hojas de sol de *M. faya* se dañaron a 42 °C, mientras que las hojas de sombra lo hicieron a 40 °C.

La interacción entre el tiempo de exposición y el tratamiento térmico mostró la temperatura y el tiempo a partir de los cuales empiezan a sufrir daño las especies estudiadas (Fig. 4.6.4.11). Así, las hojas de sol de *Laurus azorica* mostraron daño a partir de 24h a 40°C, 4h a 42°C y 30 min a 44°C, sin embargo las hojas de sombra fueron un poco más resistentes dañándose a 24h a 42°C, 1 h a 44°C y 30 min a 46°C.

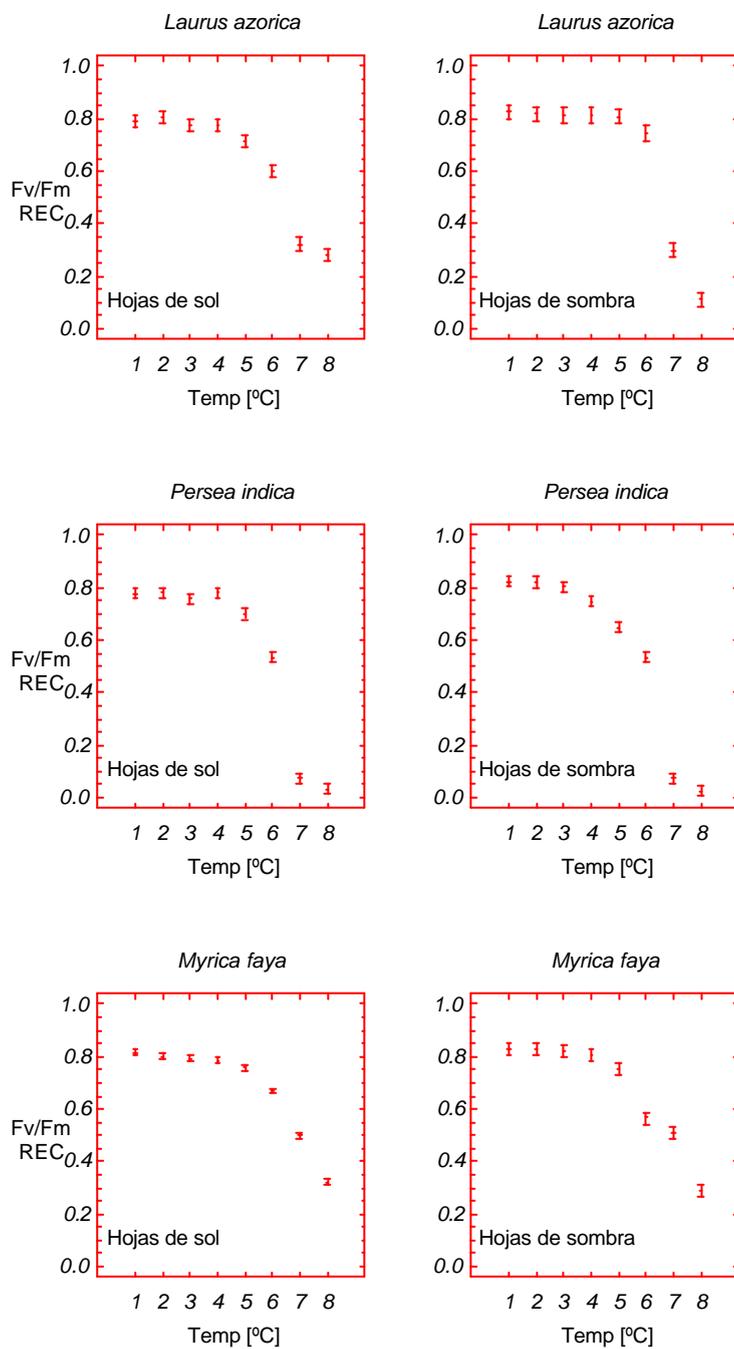


Fig. 4.6.4.10. Efecto del tratamiento térmico a altas temperaturas, según el análisis de Fv/Fm medido después de 24 h del tratamiento, en hojas de sol y de sombra de *Laurus azorica*, *Persea indica*. Los números en el eje de abscisas indican las diferentes temperaturas de tratamiento (1=20°C; 2=25°C; 3=30°C; 4=35°C; 5=40°C; 6=42°C; 7=44°C; 8=46°C).

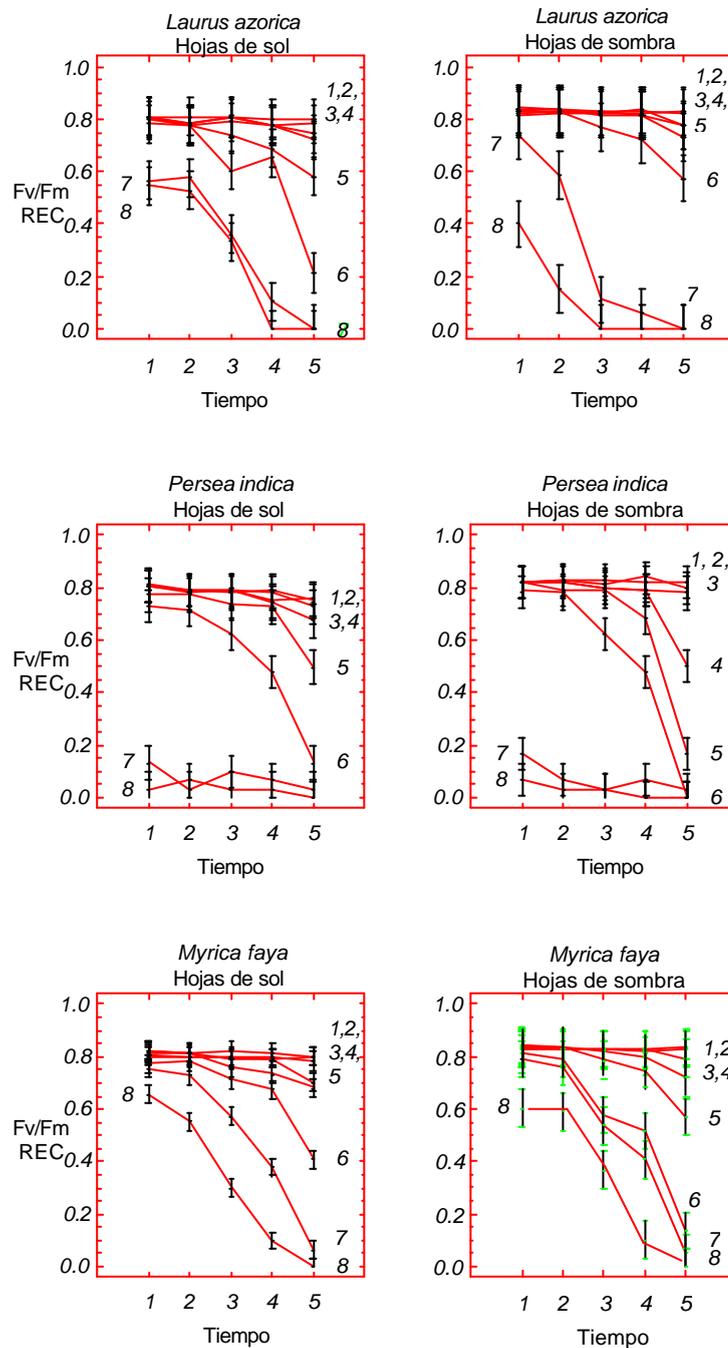


Fig. 4.6.4.11. Estudio de la interacción tratamiento térmico x tiempo de exposición a las altas temperaturas según el análisis de Fv/Fm medido después de 24 h del tratamiento, en hojas de sol y de sombra de *Laurus azorica*, *Persea indica* y *Myrica faya*. Los números en el eje de abscisas representan los diferentes tiempos de exposición a una temperatura determinada (1=30min; 2=1h; 3=4h; 4=6h; 5=24h). Los números insertos dentro de la gráfica reflejan las diferentes temperaturas de tratamiento (1=20°C; 2=25°C; 3=30°C; 4=35°C; 5=40°C; 6=42°C; 7=44°C; 8=46°C).

Las hojas de sol de *Persea indica* mostraron daño a partir de 24h a 40°C, 4 h a 42°C y 30 min a 44°C, mientras que las hojas de sombra se dañaron a 24 h a 35°C, 6 h a 40°C, 4 h a 42°C y 30 min a 44°C. Las hojas de sol de *Myrica faya* se dañaron a 24 h 42°C, 4 h a

44°C y 30 min a 46°C, mientras que las hojas de sombra se dañaron a 24 h a 40°C, 4 h a 42°C, 4h a 44°C y 30 min a 46°C.

A partir de los datos de Fv/Fm medidos después de 24 h, se desarrolló un modelo de regresión no lineal basado en el modelo logístico pero modificado para las dos variables de estudio (temperatura de tratamiento y tiempo de exposición). El modelo resultante fue:

$$Fv/Fm_{REC} \text{ (estimado)} = A / (1 + B_0 * B_1^{(B_2 * X + B_3 * Y + B_4)})$$

en donde X es la temperatura de tratamiento, Y es el tiempo de exposición y A, B₀, B₁, B₂, B₃ y B₄ son los diferentes coeficientes estimados.

El modelo resultante para cada especie y tipo de hoja se resume en la Tabla 4.6.4.9.

Tabla 4.6.4.9. Valores de los coeficientes estimados (A, B₀, B₁, B₂, B₃ y B₄) y del coeficiente de correlación múltiple (R²) obtenidos del modelo no lineal resultante en el estudio de Rfd medido después de 24 h, cuando hojas de sol y de sombra de *Laurus azorica*, *Persea indica* y *Myrica faya*, son sometidas a diferentes tiempos de exposición a altas temperaturas.

	<i>Laurus azorica</i>		<i>Persea indica</i>		<i>Myrica faya</i>	
	Hojas de sol	Hojas de sombra	Hojas de sol	Hojas de sombra	Hojas de sol	Hojas de sombra
A	0.7970	0.8228	0.7754	0.8114	0.7977	0.8241
B ₀	2.9550	4.8065	0.2963	38.7424	0.0003	0.0593
B ₁	11.9163	21.2016	10.5202	74.6430	1.1674	1.0665
B ₂	0.5135	0.9480	1.5380	0.9150	10.6011	21.7739
B ₃	0.0546	0.0437	0.0892	0.0975	1.0859	2.6710
B ₄	-4.4382	-7.3007	-9.5879	-6.9862	-35.2651	-132.8645
R ²	0.8347	0.8462	0.9655	0.9717	0.9007	0.8813

En la Fig. 4.6.4.12. se observa el modelo tridimensional según la respuesta de Fv/Fm medido después de 24 horas del tratamiento a diferentes temperaturas y tiempos de exposición obtenido para las hojas de sombra de *Myrica faya*.

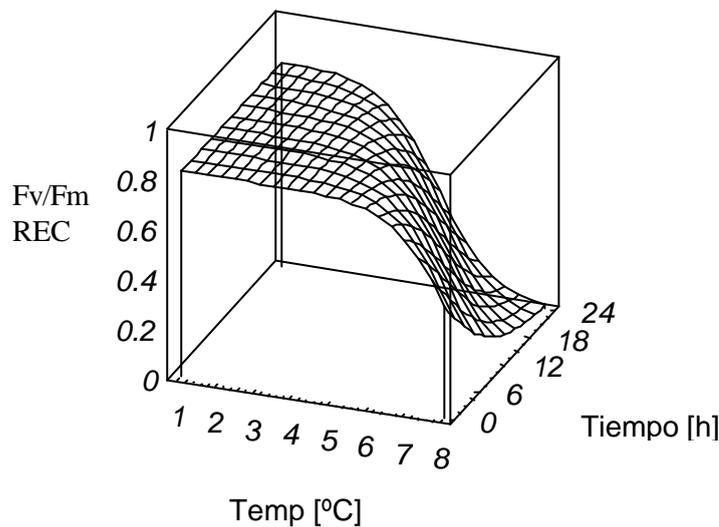


Fig. 4.6.4.12. Modelo tridimensional de la respuesta de Fv/Fm medido después de 24 h de tratamiento, a diferentes temperaturas y tiempo de exposición, en hojas de sombra de *Myrica faya*. Las diferentes temperaturas de tratamiento son: 1=20°C; 2=25°C; 3=30°C; 4=35°C; 5=40°C; 6=42°C; 7=44°C; 8=46°C).

4.6.4.2.3.2. Medidas de conductividad eléctrica

Los resultados obtenidos con las medidas de conductividad eléctrica se muestran en la Fig. 4.6.4.13. Se observa como las hojas de sol y de sombra de *L. azorica* sufren daño con 24 h a 44°C, sin embargo a los 46°C las hojas de sol comienzan a dañarse a 4 h, mientras que en las hojas de sombra no se detecta una salida significativa de electrolitos hasta las 24 h a 46°C. Esto refleja como las hojas de sol de *Laurus azorica* son dañadas ligeramente antes que las hojas de sombra.

En *M. faya* tanto las hojas de sol como de sombra presentaron un comportamiento similar, observándose el daño a 24 h a 44°C y a 4 h a 46°C (Fig. 4.6.4.14).

Como vimos en el estudio de 30 min, se observa claramente que no existe una correlación entre el daño detectado por medidas de fluorescencia de la clorofila y por conductividad eléctrica. El daño detectado por conductividad eléctrica refleja una rotura de las membranas celulares.

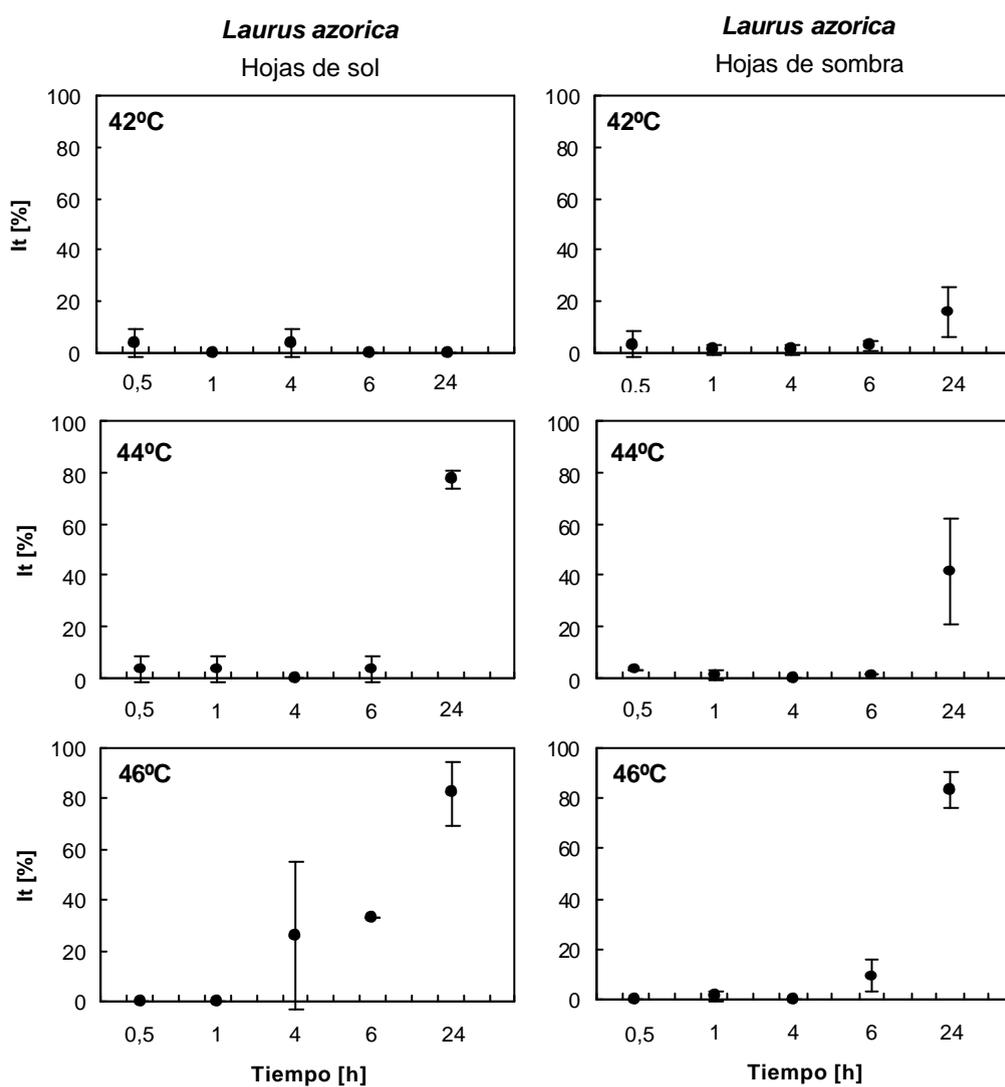


Fig. 4.6.4.13. Índice de daño (It) en hojas de sol y de sombra de *Laurus azorica* sometidas a diferentes tiempos de exposición a altas temperaturas.

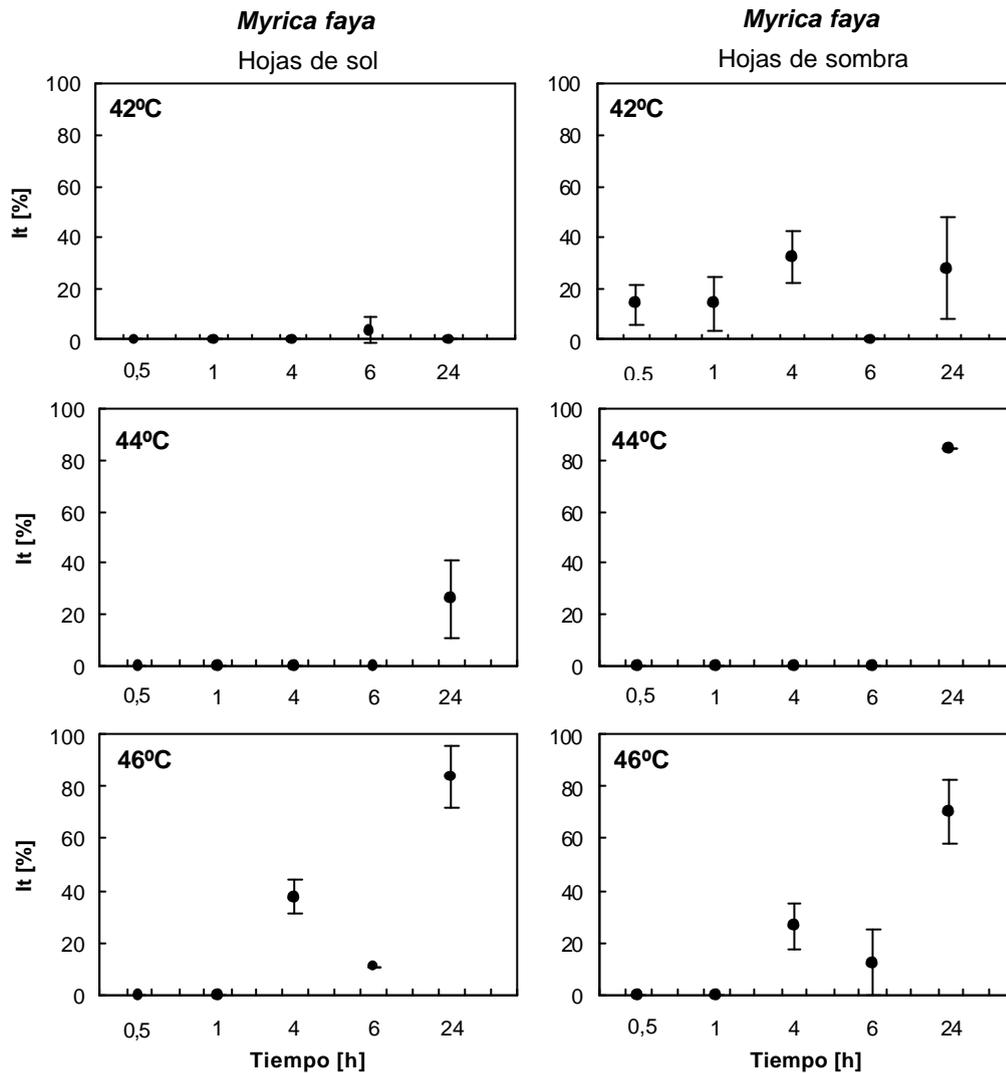


Fig. 4.6.4.14. Índice de daño (It) en hojas de sol y de sombra de *Myrica faya* sometidas a diferentes tiempos de exposición a altas temperaturas.

4.6.4.2.3.3. Valoración visual

La evaluación visual de los daños en las distintas especies y tipo de hoja, a lo largo del tratamiento térmico y según el tiempo de exposición, se resume en las siguientes tablas (Tablas 4.6.4.10-15).

Tabla 4.6.4.10. Valoración visual de daño a altas temperaturas a diferentes tiempos de exposición en hojas de sol de *Laurus azorica*. Los símbolos significan: (-) la temperatura más alta sin daño, LT₀; (+) la temperatura de daño incipiente, a la cual aparecen los primeros daños, LT_i; (++) la temperatura a la que se produce el 50% de daño, LT₅₀; y (+++) la temperatura en que se produce un 90-100% de daño, LT₁₀₀.

Temperatura de tratamiento	Tiempo de exposición				
	30 min	1 h	4 h	6 h	24 h
35°C	-	-	-	-	+
40°C	-	-	-	-	+
42°C	-	-	-	-	+
44°C	-	-	+	+	+++
46°C	-	-	+	++	+++

Tabla 4.6.4.11. Valoración visual de daño a altas temperaturas a diferentes tiempos de exposición en hojas de sombra de *Laurus azorica*. Los símbolos significan: (-) la temperatura más alta sin daño, LT₀; (+) la temperatura de daño incipiente, a la cual aparecen los primeros daños, LT_i; (++) la temperatura a la que se produce el 50% de daño, LT₅₀; y (+++) la temperatura en que se produce un 90-100% de daño, LT₁₀₀.

Temperatura de tratamiento	Tiempo de exposición				
	30 min	1 h	4 h	6 h	24 h
35°C	-	-	-	-	-
40°C	-	-	-	-	+
42°C	-	-	-	-	+
44°C	-	-	-	-	++
46°C	-	-	-	+	+++

Tabla 4.6.4.12. Valoración visual de daño a altas temperaturas a diferentes tiempos de exposición en hojas de sol de *Persea indica*. Los símbolos significan: (-) la temperatura más alta sin daño, LT₀; (+) la temperatura de daño incipiente, a la cual aparecen los primeros daños, LT_i; (++) la temperatura a la que se produce el 50% de daño, LT₅₀; y (+++) la temperatura en que se produce un 90-100% de daño, LT₁₀₀.

Temperatura de tratamiento	Tiempo de exposición				
	30 min	1 h	4 h	6 h	24 h
35°C	-	-	-	-	-
40°C	-	-	-	-	-
42°C	-	-	-	-	+
44°C	-	-	-	-	+
46°C	+	++	++	++	+++

Tabla 4.6.4.13. Valoración visual de daño a altas temperaturas a diferentes tiempos de exposición en hojas de sombra de *Persea indica*. Los símbolos significan: (-) la temperatura más alta sin daño, LT_0 ; (+) la temperatura de daño incipiente, a la cual aparecen los primeros daños, LT_i ; (++) la temperatura a la que se produce el 50% de daño, LT_{50} ; y (+++) la temperatura en que se produce un 90-100% de daño, LT_{100} .

Temperatura de tratamiento	Tiempo de exposición				
	30 min	1 h	4 h	6 h	24 h
35°C	-	-	-	-	-
40°C	-	-	-	-	+
42°C	-	-	-	+	+
44°C	-	-	-	-	++
46°C	+	+	++	++	+++

Tabla 4.6.4.14. Valoración visual de daño a altas temperaturas a diferentes tiempos de exposición en hojas de sol de *Myrica faya*. Los símbolos significan: (-) la temperatura más alta sin daño, LT_0 ; (+) la temperatura de daño incipiente, a la cual aparecen los primeros daños, LT_i ; (++) la temperatura a la que se produce el 50% de daño, LT_{50} ; y (+++) la temperatura en que se produce un 90-100% de daño, LT_{100} .

Temperatura de tratamiento	Tiempo de exposición				
	30 min	1 h	4 h	6 h	24 h
35°C	-	-	-	-	-
40°C	-	-	-	-	-
42°C	-	-	-	-	+
44°C	-	-	-	-	+++
46°C	-	-	+	+	+++

Tabla 4.6.4.15. Valoración visual de daño a altas temperaturas a diferentes tiempos de exposición en hojas de sombra de *Myrica faya*. Los símbolos significan: (-) la temperatura más alta sin daño, LT_0 ; (+) la temperatura de daño incipiente, a la cual aparecen los primeros daños, LT_i ; (++) la temperatura a la que se produce el 50% de daño, LT_{50} ; y (+++) la temperatura en que se produce un 90-100% de daño, LT_{100} .

Temperatura de tratamiento	Tiempo de exposición				
	30 min	1 h	4 h	6 h	24 h
35°C	-	-	-	-	-
40°C	-	-	-	-	+
42°C	-	-	-	-	+
44°C	-	-	-	-	++
46°C	-	-	+	-	+++

El grado de necrosis del tejido para cada temperatura aumentó con el aumento de la temperatura y el tiempo de exposición. Así en *L. azorica*, tanto en hojas de sol como de

sombra no se detectó daño alguno hasta por encima de una exposición de 1 h a -6°C. En *P. indica* las hojas de sol no sufrieron daño a 24 h a 40°C y a 30 min a 42°C, y las hojas de sombra a 6 h a 40°C, 4 h a 42°C y 30 min a 44°C. En las hojas de sol de *M. faya* no se observó daño a 24 h a 40°C, 6 h a 42°C, 6 h a 44°C y 1 h a 46°C, y en las hojas de sombra a 6 h a 42°C, 6 h a 44°C y 1 h a 46°C. Como se puede observar, las hojas de sol de *L. azorica* y *P. indica* se dañaron antes que las hojas de sombra. En el caso de *M. faya* no se detectó una diferencia tan clara entre las hojas de sol y de sombra.

Comparando los resultados obtenidos por medidas de conductividad eléctrica y por valoración visual se observó que existía una buena correlación entre ambos métodos.

4.6.4.2.4. *Discusión*

Los resultados del efecto del tiempo de exposición a altas temperaturas estudiado por análisis de fluorescencia de la clorofila, conductividad eléctrica y valoración visual, mostraron como las hojas desarrolladas de primer año de árboles adultos de *Laurus*, *Persea* y *Myrica* no presentaron daño alguno hasta que fueron sometidas durante varias horas a temperaturas por encima de 40°C. El tiempo y temperatura de daño varió dependiendo de la especie y del tipo de hoja.

4.6.5. CONCLUSIONES

El estudio de la resistencia del aparato fotosintético a las temperaturas extremas mostró que para las bajas temperaturas los parámetros de cinética lenta de la fluorescencia de la clorofila fueron indicadores más sensibles del daño, mientras que para las altas resultaron más sensibles los parámetros de cinética rápida. El análisis visual de los daños a bajas temperaturas fue incluso más sensible que la fluorescencia, coincidiendo ésta última con la rotura de la membrana. Sin embargo, para altas temperaturas la fluorescencia fue el método más eficaz.

El límite de resistencia a las bajas temperaturas, mediante tratamientos de 30 minutos, mostró que *L. azorica* era la especie más resistente, sufriendo daños a -10 °C, mientras que *P. indica* se dañaba a -6 °C y *M. faya* a -4 °C.

Las hojas de las tres especies presentaron capacidad de superenfriamiento y una bajada en el punto crioscópico como mecanismos para evitar el daño por congelación. Las tres especies mostraron ser plantas resistentes al frío pero sensibles a la congelación.

El estudio de la resistencia del aparato fotosintético a altas temperaturas mostró que las tres especies sufrían daños a temperaturas por encima de 44 °C. Así podemos decir, por tanto, que las tres especies estudiadas son sensibles al calor.

El análisis comparativo entre los diferentes tipos de hoja, tanto para altas como para bajas temperaturas, reveló que las hojas de sol resisten menos que las hojas de sombra, exceptuando las hojas de sombra de *M. faya* que, en el tratamiento a altas temperaturas, sufrieron mayor daño. Esto podría indicar que *M. faya* es una especie más adaptada a espacios con mayor luz y temperatura.

Tanto para altas como para bajas temperaturas, el estudio de la resistencia del aparato fotosintético en diferentes épocas del año, para las tres especies, mostró que en la estación seca las hojas resistían significativamente menos que en la estación húmeda.

Los resultados del tiempo de exposición a bajas y altas temperaturas, mostraron que las hojas de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* no presentaban daño alguno en el aparato fotosintético hasta que fueron sometidas durante varias horas a temperaturas por debajo de 0 °C y por encima de 40°C.

5-CONCLUSIONES

1.- Se ha establecido una parcela experimental en el bosque de Madre del Agua (Agua García) en la que se encuentran seis especies arbóreas: *L. azorica* (38 %), *E. arborea* (27 %), *M. faya* (17 %), *P. indica* (14 %), *I. canariensis* e *I. platyphylla* (4 %). Atendiendo al área basal, *M. faya* representa la especie con mayor proporción (39 %), seguida por *L. azorica* (26 %), *E. arborea* (20 %), *P. indica* (14 %) y las dos especies de *Ilex* (2 %). Al clasificar los árboles en base a su altura media, los ejemplares de *M. faya* resultaron ser más altos, seguidos de *L. azorica*, *P. indica*, las dos especies de *Ilex* y *E. arborea*.

2.- Se estudió la distribución foliar vertical de los árboles mostrando que las hojas se encuentran concentradas, principalmente, en una capa relativamente delgada de 5.5 m de grosor, con una densidad media de $1.4 \text{ m}^2 \text{ m}^{-3}$. El índice de área foliar (LAI) fue de 7.8. *M. faya* fue responsable de casi la mitad de ese valor, seguida de *L. azorica*, *P. indica*, *E. arborea* y las dos especies de *Ilex*. Este valor se encuentra dentro del rango dado para laurisilvas de Japón, siendo más alto que los encontrados en bosques de hoja caduca y más bajo que los de muchas coníferas.

3.- Se estudiaron las características foliares de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* a lo largo del perfil vertical del bosque, observándose que con la profundidad, se incrementaron el área y el contenido en clorofilas (en relación al peso seco), mientras que el grosor y el peso específico foliar disminuyeron, y el potencial hídrico fue alcanzando valores menos negativos, lo que muestra una gran plasticidad para adaptarse a las distintas condiciones microclimáticas.

4.- Las características fotosintéticas encontradas en las hojas de las tres especies fueron parecidas, mostrando valores de Pn_{\max} (11, 10.5 y $9.5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para *P. indica*, *L. azorica* y *M. faya*, respectivamente) y PSL similares a los de especies que viven en bosques tropicales. Sus WUE extremadamente bajos están de acuerdo con los altos valores de transpiración y escaso control estomático, características que las hace dependientes del hábitat húmedo donde se desarrollan.

5.- No se encontró una clara estacionalidad en las características de intercambio gaseoso debido a la uniformidad del clima. Sin embargo, se encontraron variaciones entre los distintos meses, según las condiciones ambientales. Al integrar la Pn realizada durante el día por las hojas de sol de cada especie a lo largo del curso de estudio, los resultados reflejaron que *P. indica* fue la especie que más fotosintetizó por unidad de superficie de hoja, alcanzando valores medios próximos a $185 \text{ mmol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, y *M. faya* la especie con menores tasas de Pn diaria, tomando valores medios de $141 \text{ mmol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$. Se observó una buena correlación entre los valores diarios de Pn y PPFD.

6.- En base al estudio de las características de nuestra parcela: LAI, grado de interceptación de luz, y perfil morfológico de las hojas estudiado, se ha calculado la Pn por área de bosque, a partir de datos de Pn media diaria, dando un valor de $8.6 \mu\text{mol m}^{-2}$ de suelo

s⁻¹. La escasez de estudios, basados en la misma metodología, hace difícil su comparación con otros tipos de bosques, sin embargo, en este estudio damos una primera aportación de la Pn que tiene lugar en la laurisilva canaria.

7.- El incremento de los valores de fotosíntesis en condiciones de CO₂ no limitante fue mayor en *M. faya* lo que podría indicar un mayor efecto de la fotorrespiración en ella.

8.- Las hojas de sol de las tres especies estudiadas sufrieron fotoinhibición a lo largo del año en condiciones naturales, produciendo una disminución en el rendimiento cuántico que se puso de manifiesto mediante la fluorescencia de la clorofila y por el cambio en el estado de epoxidación del ciclo de las xantofilas. No observándose cambios en la concentración total de antioxidantes ni de otros pigmentos. El grado de fotoinhibición a lo largo del día fue mayor en *P. indica* y *L. azorica* que en *M. faya*, y revirtió después de unas pocas horas de oscuridad, dando idea del dinamismo de este fenómeno (fotoinhibición dinámica).

9.- El estudio de la resistencia del aparato fotosintético a las temperaturas extremas mostró que para las bajas temperaturas los parámetros de cinética lenta de la fluorescencia de la clorofila fueron indicadores más sensibles del daño, mientras que para las altas resultaron más sensibles los parámetros de cinética rápida. El análisis visual de los daños a bajas temperaturas fue incluso más sensible que la fluorescencia, coincidiendo ésta última con la rotura de la membrana. Sin embargo, para altas temperaturas la fluorescencia fue el método más eficaz.

10.- El estudio de la resistencia del aparato fotosintético a bajas temperaturas, con tratamientos estándar de 30 min, mostró que *L. azorica* fue la especie más resistente, dañándose a -10 °C, seguida de *P. indica* a -6 °C y *M. faya* a -4 °C. En general, se observó una tendencia en las hojas de sol a resistir menos que las hojas de sombra. El estudio en diferentes épocas del año, para las tres especies, mostró que en la estación seca las hojas resistían significativamente menos que en la estación húmeda.

11.- Las hojas de las tres especies presentaron capacidad de superenfriamiento y una bajada en el punto crioscópico como mecanismos para evitar el daño por congelación. Las tres especies mostraron ser plantas resistentes al frío pero sensibles a la congelación.

12.- El estudio de la resistencia del aparato fotosintético a altas temperaturas, con tratamientos estándar de 30 min, mostró que las tres especies sufrían daños a temperaturas por encima de 44 °C. Así podemos decir, por tanto, que las tres especies estudiadas son sensibles al calor. En general, las hojas de sol se dañaron más que las hojas de sombra en *L. azorica* y *P. indica*, sin embargo las hojas de sombra de *M. faya* sufrieron mayor daño que las hojas de sol, esto indica que es una especie más adaptada a espacios con mayor luz y temperatura. La resistencia a las altas temperaturas varió según las épocas en que se llevó a cabo el tratamiento, así se observó un mayor daño en la estación seca que en la estación húmeda.

13.- Los resultados del tiempo de exposición a bajas y altas temperaturas, mostraron que las hojas de *L. azorica*, *P. indica* y *M. faya* no presentaban daño alguno en el aparato

fotosintético hasta que fueron sometidas durante varias horas a temperaturas por debajo de 0 °C y por encima de 40°C.

14.- Independientemente de las pequeñas diferencias en la resistencia del aparato fotosintético a las temperaturas extremas entre especies, época y condición de hoja, los rangos encontrados mostraron que, en cuanto a la respuesta a las bajas temperaturas, las tres especies ocupan una posición intermedia entre las plantas tropicales y subtropicales sensibles a la congelación y las plantas de las regiones templadas, asemejándose a los árboles y arbustos siempreverdes mediterráneos. En su respuesta a las altas temperaturas se asemejan a los árboles siempreverdes subtropicales.

15.- Finalmente, concluimos que, *P. indica* es una especie más característica de zonas umbrías, corroborado por el mayor grado de fotoinhibición, mientras que *M. faya* está más adaptada a zonas abiertas, como lo demuestran sus altos PCL, Rd, menor grado de fotoinhibición y mayor resistencia del aparato fotosintético a altas temperaturas.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Adams G.T. & Perkins T.D. (1993). Assessing cold tolerance in *Picea* using chlorophyll fluorescence. *Environmental and Experimental Botany* 33: 377-382.
- Adams III W.W. (1988). Photosynthetic acclimation and photoinhibition of terrestrial and epiphytic CAM tissues growing in full sunlight and deep shade. *Australian Journal of Physiology* 15: 123-134.
- Adams III W.W. & Demmig-Adams B. (1994). Carotenoid composition and down regulation of photosystem II in three conifer species during the winter. *Physiologia Plantarum* 92: 451-458.
- Adams III W.W., Terashima I., Bruognoli E. & Demmig B. (1988). Comparison of photosynthesis and photoinhibition in the CAM vine *Hoya australis* and several C₃ vines growing on the coast of eastern Australia. *Plant, Cell and Environment* 11: 173-178.
- Ajtay G.L., Ketner P. & Duvigneaud P. (1979). Terrestrial primary production and phytomass. In: *The Global Carbon Cycle*. Bolin N., Degens E.T., Kempe S. & Ketner P., eds. Wiley, Chichester, pp. 129-181.
- Alscher R.G. & Hess J.L. (1993). *Antioxidants in higher plants*. CRC Press, Boca Raton.
- Araus J.L. & Hogan K.P. (1994). Leaf structure and patterns of photoinhibition in two neotropical palms in clearings and forest understory during the dry season. *American Journal of Botany* 81 (6): 726-738.
- Armond P., Björkman O. & Staehelin L. (1979). Dissociation of supramolecular complexes in chloroplast membranes: A manifestation of heat damage to the photosynthetic apparatus. *Carnegie Institute Washington Year Book* 78: 153-157.
- Armond P.A., Schreiber U. & Björkman O. (1978). Photosynthesis acclimation to temperature in the desert shrub, *Larrea divaricata*. II. Light-harvesting efficiency and electron transport. *Plant Physiology* 61: 411-415.
- Arnon D.I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology* 24: 1-15.
- Asada K. (1994). Mechanisms for scavenging reactive molecules generated in chloroplasts under light stress. In: *Photoinhibition of photosynthesis from molecular mechanisms to the field*. Baker N.R. & Bowyer J.R., eds. Bios Scientific Publishers, Lancaster. pp. 129-142.

- Aschan G., Jiménez M.S., Morales D. & Lösch R. (1994). Aspectos microclimáticos de un bosque de laurisilva en Tenerife. *Vieraea*. 23: 125-141.
- Aschan G., Lösch R., Jiménez M.S. & Morales D. (1997). Energiebilanz von Waldbeständen in nicht-idealem Gelände-Abschätzungen auf der Grundlage von standörtlicher Klimaerfassung und flankierenden Gaswechselformen am Beispiel eines Lorbeerwaldbestandes auf Teneriffa. *EcoSys Supplement* 20: 145-160.
- Ashworth E.N., Davis G.A. & Anderson J.A. (1985). Factors affecting ice nucleation in plant tissues. *Plant Physiology* 79: 1033-1037.
- Assmann E. (1968). *Waldertragskunde*. BLV Bayerischer Verlagsgesellschaft GmbH, München Basel Wien. Transl. Priroda P. L. Bratislava, 488 pp.
- Atger C. & Edelin C. (1994). Premières données sur l'architecture comparée des systèmes racinaires et caulinaires. *Canadian Journal of Botany* 72: 963-975.
- Ayers J.C. & Barden J.A. (1975). Net Photosynthesis and dark respiration of apple leaves as affected by pesticides. *Journal of the American Society of Horticultural Science* 100: 24-28.
- Baker N.R. & Bowyer J.R., eds. (1994). *Photoinhibition of photosynthesis. From molecular mechanisms to the field*. Bios Scientific Publishers, Oxford. 471 pp.
- Baker N.R., East T.M. & Long S.P. (1983). Chilling damage to photosynthesis in young *Zea mays*. II. Photochemical function of thylakoids *in vivo*. *Journal of Experimental Botany* 34: 189-197.
- Baldocchi D., Hutchison B., Matt D. & McMillen R. (1986). Seasonal variation in the statistics of photosynthetically active radiation penetration in an oak-hickory forest. *Agricultural and Forest Meteorology* 36: 343-361.
- Balek J., Cermák J., Kucera J., Prax A. & Palous M. (1985). Regional transpiration assessment by remote sensing. In: *Proc. Cocoa Beech Workshop, Hydrological application of space technology*. Florida Intern. Ass. Hydrol. Sci. 160: 141-148.
- Bañares A. & Barquín E. (1982). *Árboles y Arbustos de la Laurisilva Gomera. (Parque Nacional de Garajonay)*. Goya Ediciones, Santa Cruz de Tenerife, 59 pp.
- Barnes J.D. & Wilson J.M. (1984). Assessment of the frost sensitivity of *Trifolium* species by chlorophyll fluorescence analysis. *Annals of Applied Biology*. 105: 107-116.
- Bauer H., Martha P., Kirchner-Heiss B. & Mairhofer I. (1983). The CO₂ compensation point of C₃ plants- A re-examination. II. Intraspecific variability. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie Bd.* 109 S: 143-154.

- Beadle C.L., Talbot H., Neilson R.E. & Jarvis P.G. (1985). Stomatal conductance and photosynthesis in a mature Scots pine forest. III. Variation in canopy conductance and canopy photosynthesis. *Journal of Applied Ecology* 22: 587-595.
- Belehrádek J. (1957). Physiological aspects of heat and cold. *Annual Review of physiology* 19: 59-82.
- Berry J.A. & Björkman O. (1980). Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology* 31: 491-543.
- Berry J.A. & Raison J.K. (1981). Responses of macrophytes to temperature. In: *Encyclopedia of Plant Physiology*, Vol 12. Lange O., Osmond C.B. & Nobel P.S., eds., Springer-Verlag, Berlin pp. 277-338.
- Beyschlag W., Lange O.L. & Tenhunen J.D. (1990). Photosynthese und Wasserhaushalt der immergrünen mediterranen Hartlaubpflanze *Arbutus unedo* L. im Jahresverlauf am Freilandstandort in Portugal. III. Einzelfaktorenanalyse zur Licht-, Temperatur- und CO²-Abhängigkeit der Nettophotosynthese. *Flora* 184: 271-289.
- Biebl R. (1964). Temperaturreistenz tropischer Pflanzen auf Puerto Rico. *Protoplasma* 59: 133-156.
- Bilger W., Schreiber U. & Lange O.L. (1985). *Chlorophyll fluorescence as an indicator of heat induced limitation of photosynthesis in Arbutus unedo*. Nato Advanced Research Workshop Sesimbra, Portugal.
- Björkman O. & Demmig B. (1987). Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta* 170: 489-504.
- Björkman O., Badger M.R. & Armond P.A. (1980). Response and adaptation of photosynthesis to high temperatures. In: *Adaptation of plants to water and high temperature stress*. Turner N.C. & Kramer P.J., eds. Wiley, New York, pp. 233-249.
- Boardman N.K. (1977). Comparative photosynthesis of sun and shade plants. *Annual Review of Plant Physiology* 28: 355-377.
- Bolhàr-Nordenkamp H.R. & Lechner E. (1988). Winter stress and chlorophyll fluorescence in Norway spruce (*Picea abies* L. Karst.). In: *Applications of chlorophyll fluorescence*. Lichtenthaler H.K., ed. Dordrecht, pp. 173-180.
- Bolhàr-Nordenkamp H.R., Hofer M. & Lechner E.G. (1991). Analysis of light-induced reduction of the photochemical capacity in field-grown plants. Evidence for photoinhibition?. *Photosynthesis Research* 27: 31-39.

- Bolhàr-Nordenkamp H.R., Long S.P., Baker N.R., Öquist G., Schreiber U. & Lechner E.G. (1989). Chlorophyll fluorescence as a probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: a review of current instrumentation. *Functional Ecology* 3: 497-514.
- Boudet A.M., Canabé M., Leborgne N. & Teulières C. (1993). Aspects of the cellular and molecular basis of cold tolerance in plants. In: *Interacting stresses on plants in a changing climate*. Jackson M.B. & Black C.R., eds. NATO ASI series. Series I: Global environmental change, vol. 16. 15 pp.
- Bradbury M. & Baker N.R. (1981). Analysis of the slow phases of the *in vivo* chlorophyll fluorescence induction curve. Changes in the redox state of photosystem II electron acceptors and fluorescence emission from photosystems I and II. *Biochimica et Biophysica Acta* 635: 542-551.
- Bradbury M., Ireland C.R. & Baker N.R. (1985). An analysis of the chlorophyll fluorescence transients from pea leaves generated by changes in atmospheric concentrations of CO₂ and O₂. *Biochimica et Biophysica Acta* 806: 357-365.
- Bramwel D. & Bramwel Z. (1990). *Flores silvestres de las Islas Canarias*. Rueda Madrid, 3^a ed. 376 pp.
- Briantais J., Vernotte G., Krause G. & Weis E. (1986). Chlorophyll *a* fluorescence of higher plants: chloroplasts and leaves. In: *Light emission by plants and bacteria*. Govindjee, Ames J. & Fork D.C., eds. Academic Press, New York, pp. 539-583.
- Buck A.L. (1981). New equations for computing vapour pressure. *Journal of Applied Meteorology* 20: 1527-1532.
- Bukhov N.G., Sabat S. & Mohanty P. (1990). Analysis of chlorophyll *a* fluorescence changes in weak light in heat treated *Amaranthus* chloroplasts. *Photosynthesis Research* 23: 81-87.
- Burke M.J., Gusta L.V., Quamme H.A., Weiser C.J. & Li P.H. (1976). Freezing and injury in plants. *Annual Review of Plant Physiology* 27: 507-528.
- Butler W.L. & Kitajima M. (1975). A tripartite model for chloroplast fluorescence. In: *Proceedings of the 3rd International Congress on Photosynthesis*. Avron M., ed. Elsevier, Amsterdam, pp. 13-24.
- von Caemmerer S. & Farquhar G.D. (1981). Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta* 153: 376-397.

- Campbell G.S. & Norman J.M. (1989). The description and measurement of plant canopy structure. In: *Plant canopies: their growth, form and function*. Russell G., Marshall B. & Jarvis P.G., eds. Cambridge University Press. Cambridge, pp. 1-19.
- Carpenter S.B. & Smith N.D. (1981). A comparative study of leaf thickness among southern Appalachian hardwoods. *Canadian Journal of Botany* 59: 1393-1396.
- Castro Y., Fetcher N. & Fernández D.S. (1995). Chromic photoinhibition in seedlings of tropical trees. *Physiologia plantarum* 94: 560-565.
- Cavelier J. & Goldstein G. (1989). Leaf anatomy and water relations in tropical elfin cloud forest tree species. In: *Structural and functional responses to environmental stresses*. Kreeb H.K., Richter H. & Hinckley T.M., eds. SPB Academic Publishing bv, The Hague, The Netherlands, pp. 243-253.
- Ceballos L. & Ortuño F. (1976). *Vegetación y Flora Forestal de las Canarias Occidentales*. Exmo. Cabildo insular de Tenerife, 433 pp.
- Cermák J. (1989). Solar equivalent leaf area: an efficient biometrical parameter of individual leaves, trees and stands. *Tree Physiology* 5: 269-289.
- Cermák J. (1990). Field measurement of vertical and radial leaf distribution in large broadleaf trees by the "cloud technique". *Univ. Agr. Brno*, pp. 10.
- Cermák J., Matyssek R. & Kucera J. (1993). Rapid response of large, drought stressed beech trees to irrigation. *Tree Physiology* 12: 281-290.
- Ceulemans P.J. & Saugier B. (1991). Photosynthesis. In: *Physiology of trees*. Raghavendra A.S., ed. Wiley-Interscience, New York. pp. 21-50.
- Chason J.W., Baldocchi D.D. & Huston M.A. (1991). A comparison of direct and indirect methods for estimating forest canopy leaf area. *Agricultural and Forest Meteorology* 57: 107-128.
- Cheeseman J.M., Clough B.F., Carter D.R., Lovelock C.E., Eong O.J. & Sim R.G. (1991). The analysis of photosynthetic performance in leaves under field conditions: A case study using *Bruguiera* mangroves. *Photosynthesis Research* 29: 11-22.
- Ciferri R. (1962). La Laurisilva Canaria: una paleoflora viviente. *Ricerca Scientifica*. Ser. 2, 32(1): 111-134.
- Clark L.C., Jr. (1956). Monitor and control of blood and tissue oxygen tension. *Transaction of the American Society for Artificial Internal Organs* 2: 41.

- Clement J.M.A.M. & van Hasselt P.R. (1996). Chlorophyll fluorescence as a parameter for frost hardiness in winter wheat. A comparison with other hardiness parameters. *Phyton (Horn, Austria)*. Vol. 36, Fasc.1: 29-41.
- Clough B.F. & Sim R.G. (1989). Changes in gas exchange characteristics and water use efficiency of mangroves in response to salinity and vapour pressure deficit. *Oecologia* 79: 38-44.
- Cowan I.R. (1977). Stomatal behaviour and environment. In: *Advances in Botanical Research*. Preston R.D., Woolhouse H.W., eds. Academic Press, London, 4: 117-228.
- Coyne P.I. & Van Cleve K. (1977). Fertilizer induced morphological and chemical responses of a quaking aspen stand in interior Alaska. *Forest Science* 23: 92-102.
- Dansereau P. (1968). Macaronesian studies II. Structure and function of the laurel forest in the Canaries. *Collectanea Botanica* 7(1): 227-280.
- Davies W.J. & Kozlowski T.T. (1974). Stomatal responses of five woody angiosperm species to light intensity and humidity. *Canadian Journal of Botany* 52: 1525-1534.
- Delieu T.J. & Walker D.A. (1983). Simultaneous measurement of oxygen evolution and chlorophyll fluorescence from leaf pieces. *Plant Physiology* 73: 534-541.
- Demmig-Adams B. (1990). Carotenoids and photoprotection in plants. A role for the xanthophyll zeaxanthin. *Biochimica et Biophysica Acta* 1020: 1-24.
- Demmig-Adams B. & Adams III W.W. (1992). Photoprotection and other responses of plants to high light stress. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 43: 599-626.
- Demmig-Adams B. & Adams III W.W. (1994). Light stress and photoprotection related to the xanthophyll cycle. In: *Causes of Photooxidative Stress and Amelioration of Defense Systems on Plants*. Foyer H. and Mullineaux P.M., eds. CRP Press, Boca Raton, FL, pp.43-76.
- Demmig-Adams B. & Adams III W.W. (1996). The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis. *Trends in Plant Science* 1 (1): 21-26.
- Demmig-Adams B., Adams III W.W., Winter K., Meyer A., Schreiber U., Pereira J.S., Krüger A., Czygan F.-C. & Lange O.L. (1989). Photochemical efficiency of photosystem II, photon yield of O₂ evolution, photosynthetic capacity, and carotenoid composition during the midday depression of net CO₂ uptake in *Arbutus unedo* growing in Portugal. *Planta* 177: 377-387.

- Dexter S.T., Tottingham W.E. & Graber L.F. (1932). Investigations of the hardiness of plants by measurement of electrical conductivity. *Plant Physiology* 7: 63-78.
- Dickmann D.I., Gjerstad D.H. & Gordon J.C. (1975). Developmental patterns of CO₂ exchange, diffusion resistance and protein synthesis in leaves of *Populus euramericana*. In : *Environmental and Biological Control of Photosynthesis*. Marcelle R., ed. Junk, The Hague, pp. 171-181.
- Dougherty W.J.S. & Hinckley T.M. (1981). The influence of a severe drought on net photosynthesis of white oak (*Quercus alba*). *Canadian Journal of Botany* 59: 335-341.
- Ducruet J.M. & Lemoine J. (1985). Increased heat sensitivity of the photosynthetic apparatus in triazine resistant biotypes from different plant species. *Plant, Cell and Physiology* 26: 419-429.
- Ebel F. & Kümmel F. (1985). Beobachtungen über die Frostempfindlichkeit einiger makaronesischer und mediterraner Pflanzensippen im Botanischen Garten Halle (Saale). *Flora* 176: 411-429.
- Eckardt F.E., Heim G., Methy M. & Sauvezon R. (1975). Interception de l'énergie rayonnante, échanges gazeux et croissance dans une forêt méditerranéenne à feuillage persistant (*Quercetum ilicis*). *Photosynthetica* 9: 145-156.
- Edwards G.E. & Walker D.A. (1983). *C₃, C₄: Mechanisms, and cellular and environmental regulation, of photosynthesis*. Blackwell Sc. Pub. Oxford, 542 pp.
- Ehleringer J., Björkman O. & Mooney H.A. (1976). Leaf pubescence: effects on absorptance and photosynthesis in a desert shrub. *Science* 192: 376-377.
- Ehrendorfer F. (1994). Historia de las floras y de la vegetación. In: *Strasburger. Tratado de Botánica*. Capítulo IV. 8ª Ed. Sitte P., Ziegler H., Ehrendorfer F. & Bresinsky A., eds. Editorial Marin S.A., Barcelona, pp. 943-958.
- Elias P. & Masarovicova E. (1985). Vertical distribution of leaf-blade chlorophylls in a deciduous hardwood forest. *Photosynthetica* 19: 43-48.
- Enami Y., Briantais J-M., Tomo T., Isokawa Y., Ohta H. & Katoh S. (1994). Is the primary cause of thermal inactivation of oxygen evolution in spinach PSII membranes release of the extrinsic 33 kDa protein or of Mn?. *Biochimica et Biophysica Acta* 1186: 52-58.

- Fernández-Palacios J.M., García Esteban J.J., López R.J. & Luzardo M.C. (1991). Aproximación a la estima de la biomasa y producción primaria neta aérea en una estación de la laurisilva tinerfeña. *Vieraea* 20: 11-20.
- Flint H.L., Boyce B.R. & Beattie D.U. (1967). Index of injury- a useful expression of freezing injury to plant tissues as determined by electrolyte method. *Canadian Journal of Plant Science* 47: 229-230.
- Ford E.D. & Newbould P.J. (1971). The leaf canopy of a coppiced deciduous woodland. I. Development and structure. *Journal of Ecology* 59: 843-862.
- Foyer C.H. & Mullineaux P. M. (1994). *Causes of photooxidative stress and amelioration of defense systems in plants*. CRC Press, Boca Raton.
- García Gallo A. & Wildpret de la Torre W. (1990). Estudio florístico y fitosociológico del bosque de Madre del Agua en Agua García (Tenerife). In: *Homenaje al Profesor Doctor Telesforo Bravo. Tomo I*. Universidad de la Laguna, Secretariado de Publicaciones, ISBN Tomo I 84.7756-244-X, pp: 307-347.
- Georgieva K. & Yordanov Y. (1994). Temperature dependence of photochemical and non-photochemical fluorescence quenching in intact pea leaves. *Journal of Plant Physiology* 144: 754-759.
- Gilmore A.M. (1997). Mechanistic aspects of xanthophyll cycle-dependent photoprotection in higher plant chloroplasts and leaves. *Physiologia Plantarum* 99: 197-209.
- Givnish T.J. (1987). Comparative studies of leaf form: assessing the relative roles of selective pressures and phylogenetic constraints. *New Phytologist* 106 (Supl.): 131-60.
- Givnish T.J. (1988). Adaptation to sun and shade: a whole-plant perspective. *Australian Journal of Plant Physiology* 15: 63-92.
- Goldstein G., Rada F. & Azocar A. (1985). Cold hardiness and supercooling along an altitudinal gradient in Andean giant rosette species. *Oecologia* 68: 147-152.
- González Henríquez M.N., Rodrigo Pérez J.D. & Suárez Rodríguez C. (1986). *Flora y vegetación del archipiélago canario*. Edirca, Las Palmas de Gran Canaria, 335 pp.
- Le Gouallec J.L., Cornic G. & Blanc P. (1990). Relations between sunfleck sequences and photoinhibition of photosynthesis in a tropical rain forest understory herb. *American Journal of Botany* 77: 999-1006.

- Gounaris K., Brain A.R.R., Quinn P.J. & Williams W.P. (1984). Structural reorganization of chloroplasts thylakoid membranes in response to heat-stress. *Biochimica et Biophysica Acta* 766: 198-208.
- Govindjee, Ames J. & Fork D.C. (1987). *Light Emission by Plants and Bacteria*. Academic Press, New York, 638 pp.
- Gower S.T. & Norman J.M. (1991). Rapid estimation of leaf area index in conifer and broad-leaf plantations. *Ecology* 72: 1896-1900.
- Grace J., Malcolm D.C. & Bradbury I.K. (1975). The effect of wind and humidity on leaf diffusive resistance in Sitka spruce seedlings. *Journal of Applied Ecology* 12: 931-940.
- Grill D. & Pfeifhofer H.W. (1985). Carotinoide in Fichtennadeln. II. Quantitative Untersuchungen. *Phyton* 25:1-15.
- Gutschick V.P. & Wiegel F.W. (1988). Optimizing the canopy photosynthetic rate by patterns of investment in specific leaf mass. *American Naturalist* 132: 67-86.
- Hader D.P. & Tevini M. (1987). *General Photobiology*. Pergamon Press. Oxford, 323 pp.
- Hallé F., Oldeman R.A.A. & Tomlinson P.B. (1978). *Tropical trees and forests -An architectural analysis*. Springer Verlag, Berlin Heidelberg, New York, 442 pp.
- Hatch M.D. (1992). C₄ Photosynthesis: An unlikely process full of surprises. *Plant Cell Physiology* 33(4): 333-342.
- Havaux M. (1987). Effects of chilling on the redox state of the primary electron acceptor Q_A of photosystem II in chilling-sensitive and resistant plant species. *Plant Physiology and Biochemistry* 25: 735-743.
- Havaux M., Erne M. & Lannoye R. (1988). Correlation between heat tolerance and drought tolerance in cereals demonstrated by rapid chlorophyll fluorescence test. *Journal of Plant Physiology* 133: 555-560.
- Havaux M., Greppin H. & Strasser R.J. (1991). Functioning of photosystems I and II in pea leaves exposed to heat stress in the presence or absence of light. Analysis using *in vivo* fluorescence, absorbance, oxygen and photoacoustic measurements. *Planta* 186: 88-98.
- Heber U., Bligny R., Streb P. & Douce R. (1996). Photorespiration is essential for the protection of the photosynthetic apparatus of C₃ Plants against photoinactivation under sunlight. *Botanica Acta* 109: 307-315.

- Hellergren J.E. & Öquist G. (1990). Stress response in plants: Adaptation and acclimation mechanisms. In: Alscher R.G. & Cummings J.R. eds., Wiley-Liss, New York. pp 265-293.
- Hernández-Abreu J.M. (1977). Estudio agroclimático de la isla de Tenerife. *Anales del Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias (Spain). Serie General* 5: 113-181.
- Hetherington S.E. & Öquist G. (1988). Monitoring chilling injury: A comparison of chlorophyll fluorescence measurements, post chilling growth and visible symptoms of injury in *Zea mays*. *Physiologia Plantarum* 72: 762-766.
- Hodges J.D. (1967). Patterns of photosynthesis under natural environmental conditions. *Ecology* 48: 234-242.
- Hogan K.P., Smith A.P. & Samaniego M. (1995). Gas Exchange in six tropical semi-deciduous forest canopy tree species during the wet and dry seasons. *Biotropica* 27(3): 324-333.
- Hollermann P. (1981). Microenvironmental studies in the laurel forest of the Canary Islands. *Mountain Research and Development* 1: 193-207.
- Hollinger D.Y. (1987). Gas exchange and dry matter allocation responses to elevation of atmospheric CO₂ concentration in seedlings of three tree species. *Tree Physiology* 3: 193-202.
- Hollinger D.Y. (1989). Canopy organization and foliage photosynthetic capacity in a broad-leaved evergreen nontane forest. *Functional Ecology* 3: 53-62.
- Höllwarth M. & Kull U. (1979). Einige ökophysiologische Untersuchungen auf tenerife (Kanarische Inseln). *Botanisches Jahrbuch für Systematic* 100(4): 518-535.
- Hong S.G. & Sucoff E. (1980). Units of freezing of deep supercooled water in woody xylem. *Plant Physiology* 66: 40-45.
- Hozumi K., Yoda K. & Kira T. (1969). Production ecology of tropical rain forest of southwestern Cambodia. II. Photosynthetic production in an evergreen seasonal forest. In: *Nature and Life in Southeast Asia*. Vol. 6. Kira T. & Iwata K., eds. Japan Soc. Promot. Science, Tokyo, pp. 57-81.
- Huetz de Lempis A. (1969). *Le climat des Iles Canaries*. CNRS, SEDES, Paris.
- Hutchinson B.A., Matt D.R., Mcmillen R.T., Gross L.J., Tajchman S.J. & Norman J.M. (1986). The architecture of a deciduous forest canopy in eastern Tennessee, USA. *Journal of Ecology* 74: 635-646.

- Ida K. (1981). Eco-physiological studies on the response of taxodiaceous conifer to shading with special reference to the behavior of leaf pigments II. Chlorophyll and carotenoid contents in green leaves grown under different grades of shading. *Botanical Magazine (Tokyo)* 94: 181-196.
- Ishikawa M. (1984). Deep supercooling in most tissues of wintering *Sasa senanensis* and its mechanism in leaf blade tissues. *Plant Physiology* 75: 196-202.
- Jarvis P.G. (1971). The estimation of resistances to carbon dioxide transference. In: *Plant Photosynthetic Production. Manual of Methods*. Sestak Z., Catsky J. & Jarvis P.G., eds. Dr W. Junk Publishers, The Hague, pp. 566-631.
- Jarvis P.G. (1986). Coupling of carbon and water interactions in forest stands. *Tree Physiology* 2: 347-368.
- Jarvis P.G. & Sandford A.P. (1986). Temperate forests. In: *Photosynthesis in Contrasting Environments*. Baker N.R. & Long S.P., eds. Elsevier Science Publishers B.V., The Netherlands, pp. 199-236.
- Jiménez M.S. (1996). Fotosíntesis en árboles. In: *Tendencias en ecofisiología vegetal*. Morales Méndez D., ed. Universidad de La Laguna, Vicerrectorado de Investigación. pp 31-51.
- Jiménez M.S., Cermák J., Kucera J. & Morales D. (1996). Laurel forests in Tenerife, Canary Islands: the annual course of sap flow in *Laurus* trees and stand. *Journal of Hydrology* 183: 307-321.
- Jones H.G. (1992). *Plants and microclimate*. Cambridge University Press, Cambridge, 428 pp.
- Jurik T.W. (1986). Temporal and spatial patterns of specific leaf weight in successional northern hardwood tree species. *American Journal of Botany* 73: 1083-1092.
- Kaku S. (1964). Undercooling points and frost resistance in mature and immature leaf tissues of some evergreen plants. *Botanical Magazine. (Tokyo)* 77: 283-289.
- Kämmer F. (1974). Klima und Vegetation auf Tenerife, besonders im Hinblick auf den Nebelniederschlag. *Scripta Geobotanica* 7: 1-78.
- Kappen L. (1964). Untersuchungen über den Jahreslauf der Frost-, Hitze- und Austrocknungsresistenz von Sporophyten einheimischer Polypodiaceen (Filicinae). *Flora* 155: 123-166.

- Kato R., Tadaki Y. & Ogawa H. (1974). Plant biomass and growth increment studies in Pasohforest. *Malayan Nature Journal* 30: 211-224.
- Kaufmann M.R. & Troendle C.A. (1981). The relationship of leaf area and foliage biomass to sapwood conducting area in four subalpine tree species. *Forest Science* 27: 477-482.
- Kautsky H. & Hirsch A. (1931). Neue versuche zur kohlenstoffassimilation. *Naturwissenschaften* 19: 964.
- Kawanabe S. (1977). A subtropical broad-leaved forest at Yona, Okinawa. In: *Primary Productivity of Japanese Forest, Productivity of Terrestrial Communities*. Shidei T. & Kira T., eds. JIBP Synt, vol 16, Tokyo, pp. 268-279.
- Kennedy R.A. & Johnson D. (1981). Changes in photosynthetic characteristics during leaf development in apple. *Photosynthesis Research* 2: 213-223.
- Kestemont P. (1971). Productivite primaire des taillis concept de necromasse. In: *Productivity of forest ecosystems*. Duvigneaud P., ed. Proc. Symp. 1969, Paris, France, pp. 271-279.
- Kira T. & Shidei T. (1967). Primary production and turnover of organic matter in different forest ecosystems of the Western Pacific. *Japanese Journal of Ecology* 17: 70-87.
- Kira T., Shinozaki K. & Hozumi K. (1969). Structure of forest canopies as related to their primary productivity. *Plant and Cell Physiology* 10: 129-142.
- Kitajima M. & Butler W.L. (1975). Quenching of chlorophyll fluorescence and primary photochemistry in chloroplasts by dibromothymoquinine. *Biochimica et Biophysica Acta*. 376: 105-115.
- Klinkovsky T. & Naus J. (1994). Sensitivity of the relative F_{p1} level of chlorophyll fluorescence induction in leaves to the heat stress. *Photosynthesis Research* 39: 201-204.
- Klosson R.J. & Krause G.H. (1981). Freezing injury in cold-acclimated and unhardened spinach leaves. II. Effects of freezing on chlorophyll fluorescence and light scattering reactions. *Planta* 151: 347-352.
- Köhl K., Lösch R., González-Rodríguez A.M., Jiménez M.S. & Morales D. (1996). Foliar cation contents of laurel forest trees on the Canary Islands. *Flora* 191: 303-311.
- Königer M., Harris G.C., Virgo A. & Winter K. (1995). Xanthophyll-cycle pigments and photosynthetic capacity in tropical forest species: a comparative field study on canopy, gap and understory plants. *Oecologia* 104: 280-290.

- Körner C., Neumayer M., Peláez Menéndez Riedl S. & Smeets Scheel A. (1989). Functional Morphology of Mountain Plants. *Flora* 182: 353-383.
- Kozłowski T.T. (1986). The impact of environmental pollution on shade trees. *Journal of Arboriculture* 12: 29-37.
- Kozłowski T.T. & Constantinidou H.A. (1986). Responses of woody plants to environmental pollution. Part I. Sources, types of pollutants, and plant responses. *Forest Abstracts* 47: 5-51.
- Kozłowski T.T. & Pallardy S.G. (1997). *Physiology of Woody Plants*. Academic Press, San Diego. 411 pp.
- Kozłowski T.T., Kramer P.J. & Pallardy S.G. (1991). *The Physiological Ecology of Woody Plants*. Academic Press, San Diego.
- Kramer P.J. (1981). Carbon dioxide concentration, photosynthesis, and dry matter production. *BioScience* 31:29-33.
- Kramer P.J. & Kozłowski T.T. (1979). *Physiology of Woody Plants*. Academic Press, New York.
- Kranner I. & Grill D. (1996). Determination of glutathione disulfide in lichens: A comparison of frequently used methods. *Phytochemical Analysis* 7: 24-28.
- Krause G.H. (1988). Photoinhibition of photosynthesis. An evaluation of damaging and protective mechanisms. *Physiologia Plantarum* 74: 566-574.
- Krause G.H. (1994). Photoinhibition induced by low temperatures. In: *Photoinhibition of photosynthesis. From molecular mechanisms to the field*. Baker N.R. & Bowyer J.R., eds. Bios Scientific Publishers, Oxford, pp. 331-348.
- Krause G.H. & Klosson R.J. (1983). Effects of freezing stress on photosynthetic reactions in cold acclimated and unhardened plant leaves. In: *Effects of stress on photosynthesis*. Marcelle R. et al., eds. Junk, The Hague, pp. 245-256.
- Krause G.H. & Santarius K.A. (1975). Relative thermostability of the chloroplast envelope. *Planta* 127: 285-299.
- Krause G.H. & Weis E. (1991). Chlorophyll fluorescence and photosynthesis. The basics. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 42: 313-349.
- Krause G.H., Virgo A. & Winter K. (1995). High susceptibility to photoinhibition of young leaves of tropical forest trees. *Planta* 197: 583-591.

- Krause G.H., Grafflage S., Rumich-Bayer S. & Somersalo S. (1988). Effects of freezing on plant mesophyll cells. In: *Plants and Temperature*. Long S.F. & Woodward F.I, eds. Comp. Biol. Ltd., Cambridge, pp. 311-327.
- Kunkel G. (1974). *Flora de Gran Canaria. Tomo I. Árboles y Arbustos Arbóreos*. Excmo. Cabildo Insular de Gran Canaria.
- Kunkel G. (1991). *Flora y Vegetación del Archipiélago Canario. Tratado Florístico. 2. Dicotiledóneas*. Edirca, Las Palmas de Gran Canaria. 312 pp.
- Kunst L., Browse J. & Somerville C. (1989). Enhanced thermal tolerance in a mutant of *Arabidopsis* deficient in palmitic acid unsaturation. *Plant Physiology* 91: 401-408.
- Künstle E. & Mitscherlich. (1977). Photosynthese, Transpiration und Atmung in einem Mischbestand im Schwarzwald. IV. Bilanz. *Allgemeine Forst und Jagdzeitung* 148: 227-238.
- Küppers M. (1984). Carbon relations and competition between woody species in a Central European hedgerow. III. Carbon and water balance on the leaf level. *Oecologia* 65: 94-100.
- Küppers M., Swan A.G., Tompkins D., Gabriel W.C.L., Küppers B.I.L. & Linder S. (1987). A field portable system for the measurement of gas exchange of leaves under natural and controlled conditions: Examples with field-grown *Eucalyptus pauciflora* Sieb. ex Spreng. Ssp. *pauciflora*, *E. behriana* F. Muell. and *Pinus radiata* R. Don. *Plant, Cell and Environment* 10: 425-435.
- Kyle D.J., Osmond C.B. & Arntzen C.J., eds. (1987). *Photoinhibition*. Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam. 315 pp.
- Kyparissis A., Petropoulou Y. & Manetas Y. (1995). Summer survival of leaves in a soft-leaved shrub (*Phlomis fruticosa* L., *Labiatae*) under Mediterranean field conditions: avoidance of photoinhibitory damage through decreased chlorophyll contents. *Journal of Experimental Botany* 46: 1825-1831.
- Lambers H. (1987). Does variation in photosynthetic rate explain variation in growth rate and yield? *Neth. J. Agric. sci.* 35: 505-519.
- Larcher W. (1961). Jahresgang des assimilations- und respirationsvermögens von *Olea europaea* L. ssp. *sativa* Hoff. et Link., *Quercus ilex* L. und *Quercus pubescens* Willd. aus dem Nördlichen Gardaseegebiet. *Planta* 56: 575-606.
- Larcher W. (1963). Zur Frage des Zusammenhanges zwischen Austrocknungsresistenz und Frosthärte bei Immergrünen. *Protoplasma* 57: 569-587.

- Larcher W. (1969). The effect of environmental and physiological variables on the carbon dioxide gas exchange of trees. *Photosynthetica* 3: 167-198.
- Larcher W. (1970). Kälteresistenz und Überwinterungsvermögen mediterraner Holzpflanzen. *Oecol. Plant* 5: 267-286.
- Larcher W. (1975). Pflanzenökologische Beobachtungen in der Paramostufe der venezolanischen Anden. *Anz Math.-Naturwiss Kl Österr Akad Wiss* 11: 1-20.
- Larcher W. (1980a). *Physiological Plant Ecology*. 2nd Ed., Springer-Verlag, Berlin.
- Larcher W. (1980b). La posizione delle piante sempreverdi mediterranee nella evoluzione della resistenza al freddo. *Atti dell'Istituto Veneto di Scienze, Lettere ed Arti* 138: 103-111.
- Larcher W. (1982). Typology of freezing phenomena among vascular plants and evolutionary trends in frost acclimation. In: *Plant cold hardiness and freezing stresses*. Sakai A. & Li P.H., eds. Academic Press, New York, pp. 417-426.
- Larcher W. (1983). *Physiological Plant Ecology*. 2nd Ed. Springer-Verlag, Berlin.
- Larcher W. (1987). Vitalitätsbestimmung. In: *Methoden der Pflanzenökologie*, 2ª Edición. Kreeb K.H. (ed.). Fischer, Jena.
- Larcher W. (1990). Vitalitätsbestimmung. In: *Methoden zur Pflanzenökologie und Bioindikation*. 2. Aufl. Kreeb K.H. Hrsg. & Fischer G., eds. Jena, pp. 251-265.
- Larcher W. (1992). Basi ecofisiologiche della produttività dei boschi. *Italia forestale e montana* 4: 173-190.
- Larcher W. (1994). Photosynthesis as a tool for indicating temperature stress events. In: *Ecophysiology of Photosynthesis. Ecological Studies 100*. Schulze E.-D. & Caldwell M.M., eds., Springer, Berlin, pp. 261-277.
- Larcher W. (1995). *Physiological Plant Ecology*. Springer-Verlag. Berlin-Heidelberg-New York, 5rd ed. 506 pp.
- Larcher W. & Bauer H. (1981). Ecological significance of resistance to low temperature. *Encyclopaedia of Plant Physiology. New Series*. 12A: 404-437.
- Larcher W. & Nagele M. (1985). Induktionskinetik der Chlophyllfluoreszenz unterkühlter und gefrorener Blätter von *Rhododendron ferrugineum* beim Übergang vom gefrierempfindlichen zum gefriertoleranten Zustand. *Sitzungsber. Österr. Akad. Wiss. Math.-naturw. Kl., Abt. I*. 194: 187-195.

- Larcher W. & Neuner G. (1989). Cold-induced sudden reversible lowering of *in vivo* chlorophyll fluorescence after saturating light pulses. *Plant Physiology* 89: 740-742.
- Larcher W. & Winter A. (1981). Frost susceptibility of palms: Experimental data and their interpretation. *Principes* 25: 143-152.
- Larcher W. & Wagner A. (1976). Temperaturgrenzen der CO₂ -Aufnahme und Temperaturresistenz der Blätter von Gebirgspflanzen im vegetationsaktiven Zustand. *Oecol Plant* 11: 361-374.
- Larcher W., Wagner J. & Thammathaworn A. (1990). Effects of superimposed temperature stress on *in vivo* chlorophyll fluorescence of *Vigna unguiculata* under saline stress. *Journal of Plant Physiology* 136: 92-102.
- Larcher W., Meindl U., Ralser E. & Ishikawa M. (1991). Persistent supercooling and silica deposition in cell walls of palm leaves. *Journal of Plant Physiology* 139: 146-154.
- Larcher W., Wagner J., Neuner G., Mendez M., Jiménez M.S. & Morales D. (1991). Thermal limits of photosynthetic function and viability of leaves of *Persea indica* and *Persea americana*. *Acta Oecologica* 12: 529-541.
- Lavorel J. & Etienne A.L. (1977). *In vivo* chlorophyll fluorescence. In: *Primary Processes in Photosynthesis*. Barber J., ed. Elsevier, North Holland Biomedical Press, Amsterdam, pp. 203-268.
- Leitsch J., Schnettger B., Critchley C. & Krause G.H. (1994). Two mechanisms of recovery from photoinhibition *in vivo*: Reactivation of photosystem II related and unrelated to D1 -protein turnover. *Planta* 194: 15-21.
- de León Llamazares A., Arriba Valenciaga A. & De La Plaza M.C. (1991). *Caracterización agroclimática de la provincia de Santa Cruz de Tenerife*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid. 161 pp.
- Levitt J. (1980). *Responses of plants to environmental stresses. Vol. 1. Chilling, freezing, and high temperature stresses*. 2nd. edn. Academic Press, New York.
- Lichtenthaler H.K. (1981). Adaptation of leaves and chloroplast to high quanta fluence rates. In: *Photosynthesis VI. Photosynthesis and Productivity, Photosynthesis and Environment*. Akonyunoglou G., ed. Balaban International Science Service, Philadelphia, pp. 273-287.
- Lichtenthaler H.K. (1983). Differences in chlorophyll levels, fluorescence and photosynthetic activity of leaves from high-light and low-light seedlings. In:

Photosynthesis and Plant Productivity, Metzner H., ed. Wissenschaft, Verlagsgesellschaft. Stuttgart, pp. 194-198.

- Lichtenthaler H.K. (1988). In vivo chlorophyll fluorescence as a tool for stress detection in plants. In: *Applications of chlorophyll fluorescence*. Lichtenthaler H.K. (ed.). Kluwer, Dordrecht. pp 129-142.
- Lichtenthaler H.K., Buschmann C., Doll M., Fietz H.J., Bach T., Kozel U., Meier D. & Rahmsdorf U. (1981). Photosynthetic activity, chloroplast ultrastructure and leaf characteristics of high-light and low-light plants and of sun and shade leaves. *Photosynthesis Research* 2: 115-141.
- Lindgren K. & Hällgren J.E. (1993). Cold acclimation of *Pinus contorta* and *Pinus sylvestris* assessed by chlorophyll fluorescence. *Tree Physiology* 13: 97-106.
- Long S.P. & Baker N.R. (1986). Saline terrestrial environments. In: *Photosynthesis in Contrasting Environments*. Baker N.R. & Long S.P., eds. Elsevier, New York, pp. 63-102.
- Long S.P., Humphries S. & Falkowski P.G. (1994). Photoinhibition of photosynthesis in Nature. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 45: 633-662.
- Lösch R. (1980). The heat resistance of the Canarian laurel forest plants. *Flora* 170: 456-465.
- Lösch R. (1993). Water relations of Canarian laurel forest trees. In: *Water Transport in Plants under Climatic Stress*. Borghetti M., Grace J. & Raschi A., eds. Cambridge University Press, pp. 243-246.
- Lovelock C.E. & Winter K. (1996). Oxygen-dependent electron transport and protection from photoinhibition in leaves of tropical tree species. *Planta* 198: 580-587.
- Lüttge U. (1985). Epiphyten: Evolution und Ökophysiologie. *Naturwissenschaften* 72: 557-566.
- Lutzow-Felling C.J., Gardner D.E., Markin G.P. & Smith C.W. (1995). *Myrica faya: Review of the Biology, Ecology, Distribution, and control, Including an Annotated Bibliography*. Technical Report 94. Cooperative National Park Resources Studies Unit, Hawaii, University of Hawaii at Manoa, National Park Service.
- Marchand P.J. (1983). Sapwood area as an estimator of foliage biomass and projected leaf area for *Abies balsamea* and *Picea rubens*. *Canadian Journal of Forest Research* 14: 85-87.

- Masarovicova E. & Stefancik L. (1990). Some ecophysiological features in sun and shade leaves of Tall Beech trees. *Biologia Plantarum* 32(5): 374-387.
- Matyssek R., Reich P., Oren R. & Winner W.E. (1995). Response mechanisms of conifers to air pollutants. In: *Ecophysiology of Coniferous Forests*. Smith W.I. & Hinckley T.M., eds. Academic Press, San Diego, pp. 255-308.
- Medina E. & Klinge H. (1983). Productivity of tropical forests and tropical woodlands. In: *Physiological Plant Ecology IV. Ecosystem Processes: Mineral Cycling, Productivity and Man's Influence*. Lange O.L., Nobel P.S., Osmond C.B. & Ziegler H., eds. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, pp 281-303.
- Meinzer F.C., Goldstein G. & Jaimes M. (1984). The effect of atmospheric humidity on stomatal control of gas exchange in two tropical coniferous species. *Canadian Journal of Botany* 62: 591-595.
- Melcarek P.K. & Brown G.N. (1979). Chlorophyll fluorescence monitoring of freezing point exotherms in leaves. *Cryobiology* 16: 69-73.
- Meusel H. (1965). Die Reliktvegetation der Kanarischen Inseln in ihren Beziehungen zur süd- und mitteleuropäischen Flora. In: *Gesammelte Vorträge über moderne Probleme der Abstammungslehre*, 1. Gersch M. ed., Jena, pp. 117-136.
- Michaelis A. (1973). Fog condensation, dew and evaporation reduction in the Canary Islands. In: *"Scientific Studies of the Water Resources of the Canary Islands"*. MOP/UNESCO Project SPA 15.
- Miller D.R. & Lin J.D. (1985). Canopy architecture of a red maple edge stand measured by a point drop method. In: *The Forest-Atmosphere Interaction*. Hutchison B.A & Hicks B.B., eds. Reidel Publish Co., Dordrecht, pp. 59-70.
- Miller P.C. (1967). Leaf temperatures, leaf orientation and energy exchange in quaking aspen (*Populus tremuloides*) and Gambell's oak (*Quercus gambelli*) in central Colorado. *Oecologia Plantarum* 2: 241-270.
- Miller R. & Rüh J. (1960). Zur Frage der Kohlensäureversorgung des Walder. *Forstwiss. Centralbl.* 79: 42-62.
- Monk C.D. & Day F.P. Jr. (1988). Biomass, primary production, and selected nutrient budgets for an undisturbed watershed. In: *The Coweeta watershed*. Swank W.T. & Crossley D.A., ed. pp. 151-160.
- Morales D., González-Rodríguez A.M., Cermák J. & Jiménez M.S. (1996a). Laurel forests in Tenerife, Canary Islands: The vertical profiles of leaf characteristics. *Phyton (Austria)* 36: 251-263.

- Morales D., Jiménez M.S., González-Rodríguez A.M. & Cermák J. (1996b). Laurel forest in Tenerife, Canary Island. I. The site, stand structure and stand leaf distribution. *Trees* 11: 34-40.
- Morales D., Jiménez M.S., González-Rodríguez A.M. & Cermák J. (1996c). Laurel forests in Tenerife, Canary Islands: II. Leaf distribution in individual trees. *Trees* 11: 41-46.
- Morales D., Jiménez M.S., Wagner J. & Larcher W. (1992). Caracterización morfológica e histológica de las hojas de sol y sombra de *Persea indica* y *Persea americana*. *Vieraea* 21: 61-76.
- Morales, D., González-Rodríguez, A.M., Tausz, M., Grill, D & Jiménez M.S. (1997). Oxigen stress and pigment composition in canarian laurel forest trees. *Phyton* (Austria). 37: 181-186.
- Nash D., Miyao M. & Murata N. (1985). Heat inactivation of oxygen evolution in photosystem II particles and its acceleration by chloride depletion and exogenous manganese. *Biochimica et Biophysica Acta* 807: 127-133.
- Nunes M.A., Cochicho-Ramalho J.D. & da Silva Rijo P. (1992). Seasonal changes in some photosynthetic properties of *Ceratonia siliqua* (carob tree) leaves under natural conditions. *Physiologia Plantarum* 86: 381-387.
- Oberdorfer E. (1965). Pflanzensoziologische Studien auf Teneriffa und Gomera (Kanarische Inseln). *Beitr. Naturk. Forsch. SW-Deutschl* 24: 47-104.
- Ögren E. (1988). Photoinhibition of photosynthesis in willow leaves under field conditions. *Planta* 175: 229-236.
- Ögren E. & Evans J.R. (1992). Photoinhibition of photosynthesis *in situ* in six species of *Eucalyptus*. *Australian Journal of Plant Physiology* 19: 223-232.
- Ögren E. & Rosenqvist E. (1992). On the significance of photoinhibition of photosynthesis in the field and its generality among species. *Photosynthesis Research* 33: 63-71.
- Ögren E. & Sjöström M. (1990). Estimation of the effect of photoinhibition on the carbon gain in leaves of a willow canopy. *Planta* 181: 560-567.
- Ögren E. & Sundin U. (1996). Photosynthetic to variable light: a comparison of species from contrasting habitats. *Oecologia* 106: 18-27.
- Olofinboba M.O., Kozlowski T.T. & Marshall P.E. (1974). Effects of antitranspirants on distribution and utilization of photosynthesis in *Pinus resinosa* seedlings. *Plant Soil* 40: 619-635.

- Öquist G., Hurry V.M. & Huner N.P.A. (1993). Low-temperature effect on photosynthesis and correlation with freezing tolerance in spring and winter cultivars of wheat and rye. *Plant Physiology* 101: 245-250.
- Osmond C.B. (1981). Photorespiration and photoinhibition -some implications for the energetics of photosynthesis. *Biochimica et Biophysica Acta* 639: 77-98.
- Osmond C.B. (1994). What is photoinhibition? Some insights from comparison of shade and sun plants. In: *Photoinhibition: molecular mechanisms to the field*. Baker N.R. & Boyer J.R., eds. Bios Scientific Publications, Oxford. pp 1-24.
- Osmond C.B. & Grace S.C. (1995). Perspectives on photoinhibition and photorespiration in the field: quintessential inefficiencies of the light and dark reactions of photosynthesis?. *Journal of Experimental Botany* 46: 1351-1362.
- Ovington J.D. & Pryor L.D. (1983). Temperate broad-leaved evergreen forests of Australia. In: *Ecosystems of the World 10. Temperate Broad-Leaves Evergreen Forests*. Ovington J.D., ed. Elsevier, Amsterdam, pp. 73-101.
- Palat M. (1991). Model of the organic matter flow in a representative ecosystem of the floodplain forest. In: *Floodplain forest ecosystem*. Penka M., Vyskot M., Klimo E. & Vasicek F., eds. Academia Praha, Vol. 2, pp. 265-277.
- Papageorgiou G. (1975). Chlorophyll fluorescence: an intrinsic probe of photosynthesis. In: *Bioenergetics of Photosynthesis*. Govindjee, ed. Academic Press, New York, pp. 319-371.
- Parkinson, K.J. (1984). A simple method for determining the boundary layer resistance in leaf cuvettes. *Plant, Cell and Environment* 8: 223-226.
- Pastor J., Aber J.D. & Mellilo J.M. (1984). Biomass prediction using generalized allometric regressions for some northeast tree species. *Forest Ecology and Management* 7: 265-274.
- Pearcy R.W. (1990). Sunflecks and photosynthesis in plant canopies. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 41: 421-453.
- Pearcy R.W. (1994). Photosynthetic response to sunflecks and light gaps: mechanisms and constraints. In: *Photoinhibition of Photosynthesis from molecular mechanisms to the field*. Baker N.R. & Boyer J.R., eds. Environmental Plant Biology Series, Bios Scientific Publishers, Oxford, pp. 255-271.

- Pearcy R.W. & Pfitsch W.A. (1991). Influence of sunflecks on the $\delta^{13}\text{C}$ of *Adenocaulon bicolor* plants occurring in contrasting forest understory microsites. *Oecologia* 86: 457-462.
- Pearcy R.W., Chazdon R.L., Gross L.J. & Mott K.A. (1994). Photosynthetic utilization of sunflecks, a temporally patchy resource on a time scale of seconds to minutes. In: *Exploitation of Environmental Heterogeneity by Plants: Ecophysiological Processes Above and Below Ground*. Caldwell M.M. & Pearcy R.W., eds. Academic Press, San Diego, pp. 175-208.
- 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.
- Pérez de Paz P.L. (1990). *Parque Nacional de Garajonay. Patrimonio Mundial*. Colección Técnica. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Icona, 351 pp.
- Pezeshki S.R. & Chambers J.L. (1986). Effect of soil salinity on stomatal conductance and photosynthesis of green ash (*Fraxinus pennsylvanica*). *Canadian Journal of Forest Research* 16: 569-573.
- Pezeshki S.R., De Laune R.D. & Patrick W.H. (1987). Effect of salinity on leaf ion content and photosynthesis of *Taxodium distichum* L. *American Midland Naturalist* 119: 185-192.
- Pfeifhofer H. (1989). Evidence of chlorophyll b and lack of lutein in *Neottia nidus-avis* plastids. *Biochem. Physiol. Pflanzen* 184: 55-61.
- Pfündel E. & Bilger W. (1994). Regulation and possible function of the violaxanthin cycle. *Photosynthesis Research* 42: 89-109.
- Powles S.B. (1984). Photoinhibition of photosynthesis induced by visible light. *Annual Review of Plant Physiology* 35: 15-44.
- Powles S.B. & Osmond C.B. (1978). Inhibition of the capacity and efficiency of photosynthesis in bean leaflets illuminated in a CO_2 free atmosphere at low oxygen: a possible role for photorespiration. *Australian Journal of Plant Physiology* 5: 619-629.
- Rada F., Goldstein G., Azocar A. & Meinzer F. (1985b). Freezing avoidance in Andean giant rosette plants. *Plant, Cell and Environment* 8: 501-507.
- Read J. & Hill R.S. (1988). Comparative responses to temperature of the major canopy species of Tasmanian cool temperate rainforest and their ecological significance. I. Foliar frost resistance. *Australian Journal of Botany* 36: 131-143.

- Renger G. & Schreiber U. (1986). Practical applications of fluorometric methods to algae and higher plants research. In: *Light Emission by Plants and Bacteria*. Govindjee, Amesz J. & Fork D.C. (ed.) pp. 587-619. Academic Press, Orlando-San Diego- New York-Austin- Boston-London-Sydney-Tokyo-Toronto.
- Ritchie G.A. (1991). Measuring cold hardiness. In: *Techniques and approaches in forest tree ecophysiology*. Lassoie J.P. & Hinckley T.M., eds. CRC Press, Boca Raton, Fla., pp. 557-582.
- Rivas Martínez S. (1996). Geobotánica y Bioclimatología. "Discursos". *Acto de investidura Doctor Honoris Causa*. Servicio de Publicaciones de la Universidad de León.
- Rübel E. (1930). *Pflanzengesellschaften der Erde*. Verlag Hans Huber. Bern, Berlin.
- Sakai A. (1978). Freezing tolerance of evergreen and broadleaved trees in Japan with reference to tree regions. *Low Temperature Science Serie B* 36: 1-19.
- Sakai A. & Larcher W. (1987). *Frost survival of plants. Responses and Adaptation to freezing stress*. Springer, 304 pp.
- Santarius K.A. & Weis E. (1988). Heat stress and membranes. In: *Plant membranes - Structure, Assembly and Function*. Harwood J.L. & Walton T.J., eds. Biochem. Soc., London, pp. 97-112.
- Santos A. (1990). *Bosques de Laurisilva en la Región Macaronésica*. CDPE. Consejo de Europa. Servicio de Edición y Documentación. Estrasburgo. 80 pp.
- Satoo T. (1983). Temperate broad-leaved evergreen forests of Japan. In: *Ecosystems of the World 10. Temperate Broad-Leaved Evergreen Forests*. Ovington J.D., ed. Elsevier, Amsterdam, pp. 169-189.
- Saugier B. (1986). Productivité des écosystèmes naturels. *Biomasse Actualités* 9: 42-49.
- Saxe H. (1989). Diagnostics parameters for selecting against novel spruce (*Picea abies*) decline: IV. Response of photosynthesis and transpiration to SO₃ + NO₂ exposures. *Physiologia plantarum* 76: 362-367.
- Saxe H. & Murali N.S. (1989). Diagnostics parameters for selecting against novel spruce (*Picea abies*) decline: III. Response of photosynthesis and transpiration to O₃ exposures. *Physiologia plantarum* 76: 356-361.
- Schapendonk A.H.C.M., Dolstra O. & Van Kooten O. (1989). The use of chlorophyll fluorescence as a screening method for cold tolerance in maize. *Photosynthesis Research* 20: 235-247.

- Schreiber U. & Armond P.A. (1978). Heat-induced changes of chlorophyll fluorescence in isolated chloroplasts and related heat-damage at the pigment level. *Biochimica et Biophysica Acta* 502: 138-151.
- Schreiber U. & Berry J.A. (1977). Heat-induced of chlorophyll fluorescence in intact leaves correlated with damage of the photosynthetic apparatus. *Planta* 136: 233-238.
- Schreiber U. & Bilger W. (1987). Rapid assessment of stress effects on plant leaves by chlorophyll fluorescence measurements. In: *Plant Response to stress*. Tenhunen J.D. & Catarino E.M., eds. Springer Verlag, Berlin, pp. 27-53.
- Schreiber U., Fink R. & Vidaver W. (1977). Fluorescence induction in whole leaves: differentiation between the two leaf sides and adaptation to different light regimes. *Planta* 133: 121-129.
- Schulze E.D. (1970). Der CO₂-Gaswechsel der Buche (*Fagus sylvatica* L.) in Abhängigkeit von den Klimafaktoren im Freiland. *Flora* 159: 177-232.
- Schulze E.D. (1982). Plant life forms and their carbon, water and nutrient relations. In: *Physiological Plant Ecology. Encyclopedia of Plant Physiology*. Lange O.L., Nobel P.S., Osmond C.B. & Ziegler H., eds. New Series, vol 12/B, 2nd ed., Springer-Verlag, Berlin-New York, pp. 615-676.
- Schulze E.D., Fuchs M. & Fuchs M.I. (1977). Spatial distribution of photosynthetic capacity and performance in a mountain spruce forest of northern Germany. III. The significance of the evergreen habit. *Oecologia* 30: 239-248.
- Schweingruber F.H. (1990). *Anatomie europäischer Hölzer*, Verlag Paul Haupt, Bern.
- Sena Gomes A.R., Kozłowski T.T. & Reich P.B. (1987). Some physiological responses of *Theobroma cacao* var. *catongo* seedlings to air humidity. *New Phytology* 107: 591-602.
- Senser M. & Beck E. (1979). Frost hardiness in spruce. II. Influence of photoperiod and temperature on the structure and the photochemical reactions of spruce chloroplasts. *Bericht der Deutschen Botanischen Gesellschaft* 92: 243-259.
- Serrada J., Pascual L., Diaz G., Marrero A. & Suarez C. (1990). Los bosques de niebla: Supervivientes del terciario. In: *Enciclopedia de la Naturaleza de España: Canarias*. Editorial Debate, pp. 87-99.
- Sharkey T.D. (1984). Transpiration-induced changes in the photosynthetic capacity of leaves. *Planta* 160: 143-150.

- Sharp R.E. & Boyer J.S. (1986). Photosynthesis at low water potentials in sunflower: lack of photoinhibitory effects. *Plant Physiology* 82: 90-95.
- Sims J.A. & Pearcy R.W. (1993). Sunfleck frequency and duration affects growth rate of the understory plant, *Alocasia macrorrhiza* (L.) G. Don. *Functional Ecology* 7: 683-689.
- Singh S.P., Adhikari B.S. & Zobel D.B. (1994). Biomass, productivity, leaf longevity, and forest structure in the central Himalaya. *Ecological Monographs* 64(4): 401-421.
- Sivak M.N. (1987). The effect of oxygen on photosynthetic carbon assimilation and hypotheses concerning the mechanisms involved. *Photobiochemical Photobiophysical Supplement* 141-156.
- Sivak M.N. & Walker D.A. (1985). Chlorophyll *a* fluorescence: can it shed light on fundamental questions in photosynthetic carbon assimilation?. *Plant, Cell and Environment* 8: 439-448.
- Sivak M.N. & Walker D.A. (1986). Photosynthesis *in vivo* can be limited by phosphate supply. *The New Phytologist* 102: 499-512.
- Sivak M.N. & Walker D.A. (1987). Oscillations and other symptoms of limitation of *in vivo* photosynthesis by inadequate phosphate supply. *Plant Physiology and Biochemistry* 25: 635-648.
- Smillie R.M. & Hetherington S.E. (1983). Stress tolerance and stress-induced injury in crop plants measured by chlorophyll fluorescence *in vivo*. Chilling, freezing, ice cover, heat and high light. *Plant Physiology* 58: 62-68.
- Smillie R.M. & Nott R. (1979). Heat injury in leaves of alpine, temperate and tropical plants. *Australian Journal of Plant Physiology* 6: 135-141.
- Sobrado M.A. & Medina E. (1980). General morphology, anatomical structure and nutrient content of sclerophyllous leaves of the "Bana" vegetation of Amazonas. *Oecologia* 45: 341-345.
- Somersalo S. & Krause G.H. (1990). Effects of freezing and subsequent light stress on photosynthesis of spinach leaves. *Plant Physiology and Biochemistry*. 28: 467-475.
- Sprugel D.G. (1989). The relation of evergreenness, crown architecture, and leaf size. *American Naturalist* 133: 465-479.

- Steffen K.L., Arora R. & Palta J.P. (1989). Relative sensitivity of photosynthesis and respiration to freeze-thaw stress in herbaceous species. *Plant Physiology* 89: 1372-1379.
- Stenberg P., DeLucia E.H., Schoettle A.W. & Smolander H. (1995). Photosynthetic light capture and processing from cell to canopy. In: *Resource Physiology of Conifers*. Smith W.K. & Hinckley T.M., eds. Academic Press, San Diego, pp. 3-38.
- Strand M. & Öquist G. (1985). Inhibition of photosynthesis by freezing temperature and high light levels in cold-acclimated seedlings of Scots pine (*Pinus sylvestris*). II. Effects on chlorophyll fluorescence at room temperature and 77K. *Physiologia Plantarum* 65: 117-123.
- Strand M. & Öquist G. (1988). Effects of frost hardening, dehardening and freezing stress on *in vivo* chlorophyll fluorescence of seedlings of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). *Plant, Cell and Environment* 11: 231-238.
- Sundbom E., Strand M. & Hällgren J.-E. (1982). Temperature-induced fluorescence changes - a screening method for frost tolerance of potato (*Solanum* sp.). *Plant Physiology* 70: 1299-1302.
- Sundby C., Melis A., Mäenpää P. & Andersson B. (1986). Temperature-dependent changes in the antenna size of photosystem II. *Biochimica et Biophysica Acta* 851: 475-483.
- Sutcliffe J. (1979). *Las plantas y el agua*. Ed. Omega, Barcelona.
- Tadaki Y. (1977). Forest Biomass. Leaf Biomass. In: *Primary Productivity of Japanese Forest, Productivity of terrestrial communities*. Shidei T. & Kira T., eds. JIBP Synt, vol 16, Tokyo, pp. 39-44.
- Tadaki Y. & Shidei T. (1963). The ecological studies on the quantitative thinning. *Bulletin Kyoto University of Forest* 34: 1-31.
- Tagawa H. (1997). World-wide distribution of evergreen lucidophyll oak-laurel forests. *Tropics* 6(4): 295-316.
- Tanner E.V.J. & Kapos V. (1982). Leaf structure of Jamaican upper montane rain forest trees. *Biotropica* 14: 16-24.
- Tausz M., Kranner I. & Grill D. (1996). Simultaneous determination of ascorbic acid and dehydroascorbic acid in plant materials by high-performance liquid chromatography. *Phytochemical Analysis* 7: 69-72.
- Tenhunen J.D., Lange O.L. & Braun M. (1981). Midday stomatal closure in Mediterranean type sclerophylls under simulated habitat conditions in an environmental chamber. II.

- Effect on the complex of leaf temperature and air humidity on gas exchange of *Arbutus unedo* and *Quercus ilex*. *Oecologia* 50: 5-11.
- Tenhunen J.D., Beyschlag W., Lange O.L. & Harley P.C. (1987). Changes during summer drought in leaf CO₂ uptake rates of macchia shrubs growing in Portugal: Limitations due to the photosynthetic capacity, carboxylation efficiency, and stomatal conductance. In: *Plant response to stress: Functional Analysis in Mediterranean Ecosystems*. Tenhunen J.D., Catarino F.M., Lange O.L. & Oechel W.C., eds. Springer-Verlag, Berlin, New York, PP. 305-327.
- Terzaghi W.B., Fork D.C., Berry J.A. & Field C.B. (1989). Low and high temperature limits to PSII. A survey using trans-parinaric acid, delayed light emission, and F_o chlorophyll fluorescence. *Plant Physiology* 91: 1494-1500.
- Thiele A., Schirwitz K., Winter K. & Krause G.H. (1996). Increased xanthophyll cycle activity and reduced D1 protein inactivation related to photoinhibition in two plant systems acclimated to excess light. *Plant Science* 115: 237-250.
- Thomas P.G., Dominy P.J., Vigh L., Mansourian A.R., Quinn P.J. & Williams W.P. (1986). Increased thermal stability of pigment-protein complexes of pea thylakoids following catalytic hydrogenation of membrane lipids. *Biochimica et Biophysica Acta* 849: 131-140.
- Turner N.C., Schulze E.-D. & Gollan T. (1984). The responses 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.
- Vyskot M. (1976). *Tree story biomass in lowland forests in South Moravia*. Rospravy CSAV 86 (10), Academy Praha, 186 pp.
- Wagner J., Peláez Menéndez S. & Larcher W. (1993). Bioclimate e potenziale di produttività di *Quercus ilex* al limite settentrionale del suo areale di distribuzione. III. Adattamento morfologico e funzionale delle foglie alle radiazioni. *Studi Trentini di Scienze Naturali. Acta Biologica*. Vol.68 (1991): 37-51.
- Walker D.A. (1988). *The Use of The Oxygen Electrode and Fluorescence Probes in Simple Measurements of Photosynthesis*. Oxygraphics. Sheffield, 145 pp.
- Walter H. (1968). Die gemässigten und arktischen Zonen. Kanarische Inseln. In: *Die Vegetation der Erde in öko-physiologischer Betrachtung. II*. Fischer G. ed., Jena, pp. 123-129.
- Walter H. & Lieth H. (1960). *Klimadiagramm Weltatlas*. Fischer Verlag, Jena.

- Wardle P., Bulfin M.J.A. & Dugdale J. (1983). Temperate broad-leaved evergreen forests of New Zealand. In: *Ecosystems of the World 10. Temperate Broad-Leaves Evergreen Forests*. Ovington J.D., ed. Elsevier, Amsterdam, pp. 33-71.
- Waring R.H. (1983). Estimating forest growth and efficiency in relation to canopy leaf area. *Advances in Ecological Research* 13: 327-354.
- Webb M.S. & Green B.R. (1991). Biochemical and biophysical properties of thylakoid acyl lipids. *Biochimica et Biophysica Acta* 1060: 133-138.
- Webb P.B. & Berthelot S. (1836-1842). Histoire Naturelle des Iles Canaries. III. *Botanique. 1. Geographie Botanique* (Paris), 181 pp.
- Welander N.T., Gemmel P., Hellgren O. & Ottosson B. (1994). The consequences of freezing temperatures followed by high irradiance on *in vivo* chlorophyll fluorescence and growth in *Picea abies*. *Physiologia Plantarum* 91: 121-127.
- Whitehead D.W., Edwards R.N. & Jarvis P.B. (1984). Conducting sapwood area, foliage area, and permeability in mature trees of *Picea sitchensis* and *Pinus contorta*. *Canadian Journal of Forest Research* 14: 940-947.
- Wildi B. & Lütz C. (1996). Antioxidant composition of selected high alpine plant species from different altitudes. *Plant, Cell and Environment* 19: 138-146.
- Wildpret de la Torre W. & Martín Osorio V.E. (1997). Laurel forest in the Canary Island: Biodiversity, Historical Use and Conservation. *Tropics* 6(4): 371-381.
- Wilner J. (1960). Relative and absolute electrolytic conductance tests for frost hardiness of apple varieties. *Canadian Journal of Plant Science* 40: 630-637.
- Wilson C.C. (1948). Fog and atmospheric carbon dioxide as related to apparent photosynthetic rate of some broadleaf evergreens. *Ecology* 29: 507-508.
- Wu J., Neimanis S. & Heber U. (1991). Photorespiration is more effective than the Mehler reaction in protecting the photosynthetic apparatus against photoinhibition. *Botanica Acta* 104: 283-291.
- Yamashita T. & Butler W.L. (1968). Inhibition of chloroplasts by UV irradiation and heat treatment. *Plant Physiology* 43: 2037-2040.
- Yoda K. (1974). Three-dimensional distribution of light intensity in a tropical forest in West Malaysia. *Japanese Journal of Ecology* 24: 247-254.

-
- Yordanov I.T. & Weis E. (1984). The influence of leaf-aging on the heat-sensitivity and heat-hardening of the photosynthetic apparatus in *Phaseolus vulgaris*. *Z. Pflanzenphysiol.* 113: 383-393.
- Ziska L.H., Seemann L.H. & Dejong T.M. (1990). Salinity induced limitations of photosynthesis in *Prunus salicina*, a deciduous tree species. *Plant Physiology* 93:864-870.
- Zöhlen A., González-Rodríguez A.M., Jiménez M.S., Löscher & Morales D. (1995). Transpiración y regulación estomática en árboles de la laurisilva canaria medidos en primavera. *Vieraea* 24: 91-104.
- Zotz G. & Winter K. (1994). Photosynthesis of a tropical canopy tree, *Ceiba pentandra*, in a lowland forest in Panama. *Tree Physiology* 14: 1291-1301.

AGRADECIMIENTOS

En muchas ocasiones, a lo largo de la redacción de esta tesis, me he encontrado en la comprometida situación de comenzar a escribir una página en blanco. Ahora, sin embargo, se agolpan en mi memoria los nombres de todas aquellas personas y organismos que a lo largo de estos años me han apoyado y me han mostrado su cariño. Hoy, por fin, me dispongo a escribir el pasaje más agradable de toda la tesis, esperando no olvidarme de ninguna persona y si así fuera, pido mis más sinceras disculpas.

En primer lugar, voy a agradecer a aquellas instituciones y organismos que económicamente han hecho posible la realización de esta tesis y la ampliación en mis conocimientos científicos:

- A la Consejería de Educación, Cultura y Deporte del Gobierno de Canarias por la concesión de una beca de postgrado desde 1992 hasta 1996, y a los diversos proyectos concedidos durante los años 1992, 1993 y 1995.

- Al Programa de Cooperación Bilateral de Ciencia y Tecnología entre España y Alemania (Acciones integradas 59B-1993 y 174B-1995) que hicieron posible mi estancia en Düsseldorf durante un mes en dos ocasiones en los laboratorios dirigidos por el profesor Rainier Lösch.

- Al Programa de Cooperación Bilateral de Ciencia y Tecnología entre España y Austria (Acciones integradas 32B-1995 y 34B-1996), que posibilitó mi estancia en Graz en 1996 durante un mes bajo la dirección del profesor Dieter Grill.

- A la Dirección General de Investigación Científica y Técnica, por la subvención del proyecto PB94-0580 "Ecofisiología de la laurisilva canaria".

- Al Vicerrectorado de Investigación de la Universidad de La Laguna por la concesión de varias bolsas de viaje que hicieron posible mi asistencia y participación en tres congresos nacionales (1993, 1995 y 1997) y un congreso internacional (Brno, 1994).

Una vez agradecido a estas organizaciones, me gustaría agradecer a todas las personas que han colaborado en mi formación y me han apoyado durante estos años:

A mis directores, M^a Soledad Jiménez Parrondo y Domingo Morales Méndez, ellos me han enseñado todo lo que sé y con ellos he compartido momentos inolvidables.

A Juliane Peters, por su constante apoyo y entusiasmo que han hecho posible que estos dos últimos años hayan sido inmejorables, no sólo desde el punto de vista científico, sino sobre todo en lo personal, despertando en mí esa faceta humana excepcional que en ella siempre es tan natural.

A Gilberto, por ser ese perfecto oyente con el que poder desahogar mis preocupaciones, por animarme y darme alegría.

A mi madre y a mis hermanos, por darme siempre todo el cariño y el estímulo necesario para seguir adelante en los momentos más difíciles. Y a mi tía Chona, y a toda mi familia, por estar siempre ahí cuando ha hecho falta una mano para ayudar.

A Javier Peña Romero con el que he compartido muchos momentos de calor y frío en plena naturaleza.

A M^a Concepción Díaz Glez, Conchi, porque siempre me ha ayudado, con la mejor de sus sonrisas, desde el primer día que entré en este departamento.

A M^a del Carmen Glez Silgo, Maica, por ayudarme especialmente en la fase de montaje en la que es una especialista.

A Jesús Aboal, por tener esa iniciativa y entusiasmo en la investigación que siempre admiraré.

A Enrique Glez Dávila, por su ayuda en el procesamiento estadístico.

Al profesor Jan Cermák de la Universidad de Brno (República Checa) con el que he tenido el placer de trabajar en la caracterización del sitio de estudio y en el análisis de los patrones de distribución foliar de las especies.

A todas las personas con las que conviví en los laboratorios del Prof. Lösch en Alemania y del Prof. Grill en Austria, y en especial al profesor Rainer Lösch por su inagotable afán de enseñar y su gran calidad humana.

A Yoyi, por apoyarme y animarme a pesar de la distancia y el tiempo, y a todos mis amigos, por su amistad.

A todos los alumnos de la asignatura de fisiología vegetal que a lo largo de estos años me han ayudado en las tareas de campo.

Al Departamento de Ingeniería Química y Tecnología Farmacéutica (Facultad de Farmacia) por la liofilización de las muestras para el análisis de pigmentos y antioxidantes.

A la Viceconsejería de Medio Ambiente del Gobierno de Canarias por la instalación de la torre de madera en la parcela de estudio, que fue imprescindible para realizar las medidas de fotosíntesis en condiciones naturales.

Al Excmo. Ayuntamiento de Tacoronte por las facilidades prestadas y a la Asociación de Vecinos Madre del Agua (Agua García) por las continuas muestras de apoyo e interés en la investigación.

A todos, GRACIAS.