Respuesta al clima de distintas especies del género Quercus : Estructura y funcionamiento comparado.

Leyre Corcuera Vega Zaragoza 2002

UNIVERSIDAD DE LLEIDA

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA AGRARIA

Departamento de Producción Vegetal y Ciencia Forestal

RESPUESTA AL CLIMA DE DISTINTAS ESPECIES DEL GÉNERO *Quercus*: ESTRUCTURA Y FUNCIONAMIENTO COMPARADO

Memoria presentada por LEYRE CORCUERA VEGA para optar al grado de Doctora Ingeniera de Montes, realizada en la Unidad de Recursos Forestales del Servicio de Investigación Agroalimentaria de Zaragoza (D.G.A.) y dirigida por el Doctor D. Eustaquio Gil Pelegrín. Tutora: Dña. Rosario Fanlo

Zaragoza, diciembre de 2002

Dios perdona siempre,

el hombre, a veces,

y la naturaleza, nunca

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis doctoral no hubiera concluido de no haber sido por la ayuda prestada por numerosas personas.

Agradezco en primer lugar a mi director de tesis Eustaquio Gil Pelegrín, por su inmensa sabiduría en el campo de la ecofisiología vegetal; los numerosos interrogantes planteados (la mayoría surgieron cuando sacaba a pasear a su perro, así que, gracias también a Ness), las charlas y discusiones sobre ecofisiología, sus valiosas y acertadas directrices y sus constructivas críticas.

Especial mención se merece Jesús Julio Camarero, o más bien JJ Camarero o Chechu, ya que sin él probablemente hubiese tirado la toalla. He aprendido mucho sobre aspectos relacionados con la elaboración de artículos y ha supuesto una ayuda incalculable en el campo de la dendrocronología. Gracias también por el asesoramiento estadístico y general.

A todos mis coleguillas del laboratorio de ecofisiología: "Migui", Jordán, Paco, Edu, Sergio, Jota, Miguel, Eduardo, Josín, los *temporeros* Alberto y Norberto, etc., por su enorme ayuda siempre que la necesitaba, cuando algún programilla se volvía rebelde, la impresora estaba de huelga, los aparatos no funcionaban, etc, etc, además de todas las risas que hemos echado, que lo hicieron mucho más llevadero. Migui, gracias por tu ayuda en el análisis de "pimientos" y en el umbráculo, cuando todas esas plantitas se morían irremediablemente.

A todos los compañeros de la Unidad de Recursos Forestales del SIA: Leonardo Planas, Eduardo Notivol, Carmen Maestro, Jesús Burillo, Isabel Bernard, Conchita Molina, por su ayuda y por hacer mi estancia en el SIA tan agradable. A Manuel Altarriba y Kiko Gracia, gracias por aguantar aquellos madrugones de las cinco de la mañana, con no se cuantos grados bajo cero..., no se que hubiera hecho sin vosotros (a ti también Migui).

A Sebastiano Salleo y sus colaboradores de la universidad de Trieste: Andrea, Franco y Franco, por enseñarme las técnicas para medición de relaciones hídricas en las plantas, por lo agradable que hicieron mi estancia en Trieste, las excursiones y las cenas tan divertidas en casa de Marta. Al personal del Instituto Pirenaico de Ecología de Zaragoza (CSIC): Gabriel Monserrat, Carmen Pérez, Joaquín Guerrero, Melchor Maestro, que amablemente me permitieron emplear los equipos de su laboratorio, me asesoraron en su empleo e hicieron mi estancia tan amena.

Al Departamento de Fisiología Vegetal de las facultades de Ciencias y Farmacias de la Universidad de Navarra, a D. Manuel Sánchez Díaz y a todo el personal, gente encantadora que hicieron que me sintiese como en casa; gracias especialmente a Ricardo Aroca que me enseñó las técnicas analíticas de enzimas antioxidantes.

A Fermín Morales y Ashmi del Departamento de Nutrición Vegetal, Estación Experimental de Aula Dei de Zaragoza (CSIC), que me dejaron emplear su fluorímetro y me introdujeron en el mundo de la fluorescencia de clorofila.

A todo el personal de la biblioteca del SIA, especialmente a Marta Carracedo y Asunción Bolea que me facilitaron infinidad de artículos, sin su ayuda esta memoria no hubiera podido escribirse.

A mi *family*, por su apoyo, que me permitió no dar golpe en casa y dedicar todo mi tiempo libre a esta tesis; su paciencia, cuando invadí el salón con todos mis papeles y estuve pegada al ordenador sin disfrutar de su compañía en las sobremesas familiares.

A Alberto, que hizo que mi último año en Zaragoza, enclaustrada en casa para la escritura de esta tesis, fuese mucho más entretenido y llevadero. Gracias cielo mío.

RESUMEN

RESUMEN

En la presente tesis doctoral: "Respuesta al clima de distintas especies del género Q*uercus*: estructura y funcionamiento comparado" se ha estudiado como afectan los diferentes estreses medioambientales (estrés hídrico, lumínico y térmico) a la fisiología de distintos robles, principalmente mediterráneos y nemoro-mediterráneos.

Se establecieron grupos funcionales en especies del género Quercus a partir del análisis de los parámetros hídricos derivados de las curvas presión-volumen. Se compararon diecisiete especies (Q. agrifolia, Q. chrysolepis, Q. coccifera, Q. ilex ssp. ballota, Q. ilex ssp. ilex, Q. suber, Q. cerris, Q. faginea, Q. frainetto, Q. pyrenaica, Q. alba, Q. laurifolia, Q. nigra, Q. petraea, Q. robur, Q. rubra y Q. velutina) procedentes de distintos fitoclimas (mediterráneo, nemoro-mediterráneo de transición y nemoral), con distintas características foliares (grado de esclerofilia, fenología -perenne vs. caduca-, superficie). La agrupación obtenida, de acuerdo a la respuesta fisiológica de las especies al estrés hídrico, coincidió con la clasificación fitoclimática de dichas especies.

Con objeto de determinar si la especie o las características foliares influyen en los resultados obtenidos con las dos técnicas empleadas en la obtención de curvas presión-volumen, la técnica de expresión de savia y la técnica de transpiración libre, se analizaron ocho especies del género *Quercus*. En dichas especies, de variada morfología y hábito foliar, se compararon los parámetros hídricos obtenidos con las curvas presión-volumen empleando ambos métodos.

Se realizó un estudio detallado de la anatomía del xilema en *Q. ilex ballota*, especie de madera de poro difuso, y en las especies concurrentes *Quercus faginea* y *Quercus pyrenaica*, especies de madera de poro en anillo. Se analizó la respuesta del crecimiento secundario de estos robles, gestionados en monte bajo y que sobrepasaban ampliamente el turno de corta, a la intensa sequía de principios de los noventa que ocasionó un decaimiento generalizado en dichas especies. Las masas estudiadas se encuentran en el Sistema Ibérico central, sometidas a un clima mediterráneo con influencia continental. *Q. faginea* presentó una gran plasticidad en respuesta al clima, no formando madera de verano en años secos. *Q. ilex* respondió con una disminución del tamaño y número de vasos y mostró un carácter caducifolio facultativo. El efecto del reviejado en *Q. pyrenaica* fue tan intenso que no permitió el estudio de la relación entre el crecimiento radial y el clima.

Con el propósito de confirmar si el crecimiento de las esclerófilas perennifolias se encuentra afectado por los dos estreses ambientales del clima mediterráneo propuestos por Mitrakos (1980), el estrés hídrico estival y el estrés por frío invernal, se estudió la actividad fotosintética de *Q. ilex ballota* a lo largo del año. Para ello se midió la variación estacional de la asimilación neta de CO_2 , la eficiencia del fotosistema II, la composición de pigmentos fotosintéticos y la actividad enzimática antioxidante en hojas del año en curso, en una zona mediterránea de clima marcadamente continental. El descenso de la tasa fotosintética y de la eficiencia fotoquímica durante los meses desfavorables del invierno y verano estuvo acompañado de procesos de disipación del exceso de energía luminosa que evitaron daños permanentes en el fotosistema II y permitieron una capacidad fotosintética en hojas de un año tan alta como en las hojas jóvenes recién formadas. La asimilación neta de CO_2 y la eficiencia del fotosistema II mostraron un descenso más acusado en los meses fríos y una recuperación completa en primavera. También se analizó la respuesta de dicha especie al descenso y ascenso gradual de temperatura en cámara controlada. Esta respuesta fue inmediata y la recuperación del efecto del frío fue instantánea.

SUMMARY

In this thesis "Response of several *Quercus* species to climate: structure and compared functioning", the way in which different environmental stresses (hydric, thermal and light stress) affect the physiology of several oaks, specially Mediterranean and nemoro-Mediterranean oaks, has been studied.

Functional groups of *Quercus* species were established based on the parameters derived from pressure-volume curves. Seventeen species (*Q. agrifolia*, *Q. chrysolepis*, *Q. coccifera*, *Q. ilex* ssp. *ballota*, *Q. ilex* ssp. *ilex*, *Q. suber*, *Q. cerris*, *Q. faginea*, *Q. frainetto*, *Q. pyrenaica*, *Q. alba*, *Q. laurifolia*, *Q. nigra*, *Q. petraea*, *Q. robur*, *Q. rubra* y *Q. velutina*) from diverse phytoclimates (Mediterranean, transitional nemoro-Mediterranean and nemoral), with different leaf features (leaf mass area, –evergreen vs. deciduous-, area) were compared. The grouping of the species, according to their physiological response to hydric stress agreed with the phytoclimatic classification of the species.

With the aim of identify if the species or the leaf features affect the results obtained with the two techniques used to generate the pressure-volume curves, the sap expression and the free transpiration method, eight *Quercus* species were analysed. The species presented various foliar morphology and phenology. The parameters derived from the pressure-volume curves were compared using both techniques.

A detailed study of the xylem anatomy of *Q. ilex ballota*, a diffuse-porous wood species, and two coexisting ring-porous wood species (*Quercus faginea* and *Quercus pyrenaica*) was carried out. It was studied the response of the secondary growth of these overaged coppice stands to the severe drought experienced at the beginning of the nineties. It was observed a general decay of the species. The study site is located at the central Iberian System, characterized by a Mediterranean climate under continental influence. *Q. faginea* showed a great plasticity in response to climate. The studied individuals did not produce latewood in dry years. The response of *Q. ilex* to climate was a reduction in size and number of vessels and a facultative drought-deciduousness. The effect of age in *Q. pyrenaica* was too strong and did not allow the study of the relation between climate and radial growth.

To confirm if the evergreen sclerophyllous growth is affected by the two climatic stresses of the Mediterranean climate proposed by Mitrakos (1980), summer drought stress and winter cold stress, it was studied the photosynthetic activity of Q. *ilex ballota* throughout an entire year in a Mediterranean area under continental influence. For that reason, the seasonal variation of net CO₂ assimilation, photosystem II efficiency, photosynthetic pigment composition and antioxidant enzymatic activity were measured on current year leaves. The decrease in the photosynthetic rate and photochemical efficiency of Q. *ilex ballota* in the adverse winter and summer months was accompanied by dissipation processes of the excess light energy that prevented permanent damages in the photosystem II and allowed one-year-old leaves to have a photosynthetic capacity as high as that of the young fully developed leaves. The trees showed a greater sensitivity to cold compared to the high summer temperatures. The net CO₂ assimilation and the efficiency of the photosystem II showed a marked decrease during the cold months and a complete recovery in spring. The response of the species to a gradual descend and ascend of temperature was also measured in a controlled chamber. The response was immediate and the recovery from cold was instantaneous.

RESUM

A la tesi doctoral: "Respuesta al clima de distintas especies del género *Quercus*: estructura y funcionamiento comparado" s'ha estudiat com els diferents tipus d'estrès ambiental (estrès hídric, lumínic i tèrmic) afecten a la fisiologia de diferents roures, principalment mediterranis i nemoro-mediterranis.

Es van establir diferents grups funcionals a espècies del gènere Quercus a partir de l'anàlisi dels paràmetres hídrics derivats de les corbes de pressió-volum. Es van comparar disset espècies (Q. agrifolia, Q. chrysolepis, Q. coccifera, Q. ilex ssp. ballota, Q. ilex ssp. ilex, Q. suber, Q. cerris, Q. faginea, Q. frainetto, Q. pyrenaica, Q. alba, Q. laurifolia, Q. nigra, Q. petraea, Q. robur, Q. rubra y Q. velutina) procedents de diferents fitoclimes (mediterrani, nemoro-mediterrani de transició i nemoral), amb diferents característiques foliars (índex d'esclerofília, fenologia perenne enfront caducifòlia, i superfície). L'agrupació aconseguida, d'acord a la resposta fisiològica de les espècies a l'estrès hídric, va coincidir amb la classificació fitoclimàtica de les espècies estudiades.

Amb l'objecte de determinar si l'espècie o les característiques foliars influeixen en els resultats obtinguts amb les dos tècniques emprades en l'obtenció de les corbes de pressió-volum: la tècnica d'recogida de saba i la tècnica de transpiració lliure, es van analitzar vuit espècies del gènere *Quercus*. A les esmentades espècies, de variada morfologia i hàbit foliar, es van comparar els paràmetres hídrics obtinguts a partir de les corbes de pressió-volum emprant els dos mètodes esmentats.

A més a més, es va realitzar un estudi detallat de l'anatomia del xilema a l'alzina carrasca (*Quercus ilex ballota*), espècie de fusta amb porus difús, i a dos espècies més amb les que conviu, el roure valencià (*Quercus faginea*) i el roure pirinenc (*Quercus pyrenaica*), ambdues de fusta amb porus en anell. Es va analitzar la resposta del creixement secundari d'aquestes espècies, gestionades com a bosc en estadi immadur i que havien sobrepassat el torn d'estassada, amb la intensa sequera de principis dels noranta, i que va produir un decaïment generalitzat a les esmentades espècies. Els boscos estudiats es troben al Sistema Ibèric Central, sotmesos a un clima mediterrani amb influència continental. *Q. faginea* va presentar una gran plasticitat en relació al clima, sense produir fusta d'estiu els anys secs. *Q. ilex* va respondre amb una disminució de la grandària i número de vasos, i va mostrar un caràcter caducifoli facultatiu. L'efecte de l'envelliment de la soca a *Q. pyrenaica* va ser tant intens que no va permetre l'estudi de la relació entre el creixement radial i el clima.

Amb l'objecte de verificar si el creixement de les esclerófiles de fulla perenne està afectada pels dos tipus d'estrès ambiental que es donen al clima mediterrani i els quals van ser proposats per Mitrakos (1980), l'estrès hídric a l'estiu i l'estrès tèrmic a l'hivern, es va estudiar l'activitat fotosintètica a Q. *ilex ballota* al llarg d'un any. Es va mesurar la variació estacional de l'assimilació neta de CO₂, l'eficiència del fotositema II, la composició dels pigments fotosintètics i l'activitat enzimàtica antioxidant a les fulles de l'any en una zona mediterrània amb clima clarament continental. El descens de la taxa fotosintètica i de l'eficiència fotoquímica durant el mesos desfavorables de l'hivern i l'estiu va estar acompanyat per processos de dissipació de l'excés d'energia lumínica. Aquests processos van evitar danys permanents al fotosistema II i van permetre una capacitat fotosintètica tan alta a les fulles d'un any com a les fulles acabades de formar. L'assimilació neta de CO₂ i l'eficiència del fotosistema II van mostrar un descens més fort durant els mesos freds de l'hivern amb una recuperació completa a la primavera. També es va analitzar la resposta d'aquesta espècie al descens i ascens gradual de temperatura amb una cambra d'ambient controlat, La resposta fou immediata i la recuperació de l'efecte del fred va ser instantània.

INDICE

INDICE

INTRODUCCIÓN GENERAL	1-16
CAPITULO 1. Grupos funcionales en especies del género <i>Quercus</i> derivados del análisis de las curvas presión-volumen	17-38
CAPITULO 2. Comparación de dos métodos para generar curvas presión-volumen en especies del género <i>Quercus</i>	39-60
CAPITULO 3. Respuesta a un episodio climático severo en el crecimiento de un monte bajo reviejado de <i>Quercus faginea</i> : una aproximación dendroecológica y anatómica al decaimiento de los robles	61-96
CAPITULO 4. Efectos de una intensa sequía en el crecimiento radial de <i>Quercus</i> <i>Ilex</i> spp <i>ballota</i> : la respuesta de una especie arbórea pre-mediterránea a las Condiciones climáticas mediterráneas	97-130
CAPITULO 5. La respuesta de un monte bajo reviejado de <i>Quercus pyrenaica</i> a la intensa sequía de 1993-94	_131-152
CAPITULO 6. Efectos del estrés invernal en el aparato fotosintetico de <i>Quercus</i> <i>Ilex</i> ssp. <i>ballota</i> en condiciones de alta irradiación solar	_153-178
CAPITULO 7. Cambios estacionales en la asimilación de CO ₂ , fluorescencia de clorofilas, composición de pigmentos fotosintéticos y actividad enzimática de antioxidantes en <i>Quercus ilex</i> ssp. <i>ballota</i> en condiciones de alta irradiación solar_	_179-208
DISCUSIÓN GENERAL	209-216
CONCLUSIONES	_217-224
ANEXO I. Distribución geográfica de las especies del género Quercus estudiadas_	_225-236
ANEXO II. Medida del estado hídrico de la planta mediante la técnica de la Cámara de presión	_237-246
ANEXO III. Diagramas höfler de las especies de Quercus estudiadas	_247-251
ANEXO IV. La fluorescencia de clorofilas como herramienta en la fisiología vegetal	253-256

INTRODUCCION GENERAL

INTRODUCCIÓN GENERAL

La región mediterránea se encuentra en la zona de transición entre el clima suboceánico templado, con precipitaciones regulares procedentes de las borrascas del frente polar, y el clima árido del cinturón subtropical de altas presiones (Balairón 1997). Existen un conjunto de subtipos climáticos dentro del clima mediterráneo que difieren en sus respuestas y vulnerabilidad a las alteraciones de la circulación general de la atmósfera. Según la caracterización de Köppen (adaptada por Strahler y Strahler 1989), el clima mediterráneo es un clima templado y húmedo con veranos secos y calurosos (tipo genérico Cs). El tipo Csb correspondería, por ejemplo, a la costa oeste de la Península Ibérica, al mediterráneo californiano, chileno, australiano y sudafricano. El tipo Csa corresponde al mediterráneo estricto que abarca la mayor parte de la cuenca mediterránea y una franja interior de la costa californiana entre los 35° N y los 40° N. Según esta clasificación, el clima mediterráneo se extiende, por tanto, entre los 30 y 45° de latitud N y S, y se caracteriza por inviernos húmedos y veranos secos que reflejan parcialmente los comportamientos del clima subtropical seco característico de latitudes inferiores (30° N y S) y del clima húmedo de la costa occidental característico de latitudes superiores (45-50° N). Por tanto, en la Península Ibérica existen dos zonas claramente diferenciadas con influencia mediterránea: (i) una vertiente atlántica ligada a una dinámica más global de la circulación general atmosférica y (ii) otra mediterránea sometida a la influencia de la cuenca. Esta amplia caracterización implica que, en términos de precipitación total anual, el clima mediterráneo incluye desde zonas áridas y semiáridas (p.ej. pinares de pino carrasco en la costa levantina) hasta zonas subhúmedas y húmedas (p.ej. encinares de la costa vizcaína).

Considerando la variación térmica del clima mediterráneo, la variante fría o clima mediterráneo continental se caracteriza por un invierno frío de heladas frecuentes y un verano seco con altas temperaturas y una precipitación irregular con máximos en primavera y otoño y mínimos en verano. En consecuencia, la vegetación mediterránea del interior de la Península Ibérica experimenta los dos estreses climáticos separados en el tiempo propuestos por Mitrakos (1980): la sequía estival y el frío invernal. Su duración varía entre uno y seis meses, dependiendo del tipo climático y de las restricciones geopedológicas. Debido a estas características, el bosque mediterráneo constituye un ecosistema frágil. No obstante, las especies mediterráneas han desarrollado características estructurales y funcionales que les permiten superar los citados periodos de estrés y crecer durante las épocas favorables del año. Las plantas herbáceas escapan de las condiciones adversas ajustando la duración de su ciclo vital a los meses favorables. Sin embargo, las plantas perennes soportan los dos periodos de

estrés a lo largo del año y deben lograr que la ganancia neta de carbono supere las pérdidas que se producen en las épocas desfavorables al crecimiento. Para ello necesitan desarrollar estrategias que les permitan afrontar los periodos de estrés. Para evitar un balance de carbono negativo las plantas leñosas pueden mantener un cierto nivel de producción en verano e invierno y/o reducir la demanda de carbohidratos eliminando parte de su copa en los periodos desfavorables. Durante el invierno, las heladas afectan a las hojas y yemas, órganos muy vulnerables por su gran exposición al aire. El tronco se encuentra más protegido por la corteza, aunque también el sistema conductor resulta dañado cuando se congela el agua que circula en su interior, los gases disueltos son liberados tras la fusión del hielo y se bloquea el flujo de agua (embolia) (Sperry et al. 1994). En el verano la deshidratación de los tejidos es el principal problema de las plantas mediterráneas. Las hojas se encuentran expuestas a altas temperaturas que incrementan la transpiración y por tanto, la pérdida de agua. Para evitar la evaporación deben cerrar los estomas, lo que supone la reducción o incluso el cese de la captación de CO₂ necesario para la fotosíntesis. Por otra parte, los conductos del xilema pierden su funcionalidad cuando se interrumpe la continuidad de la columna de agua desde las raíces hasta las hojas (Sperry y Tyree 1988). Por estos motivos las leñosas mediterráneas han desarrollado estrategias para conseguir que el balance de carbono sea positivo. Características morfológicas como el grado de esclerofilia de las hojas, que influye en la transpiración, han sido relacionadas con la resistencia a la seguía (Mooney 1982), aunque se ha cuestionado el papel funcional de la esclerofilia en el ahorro de agua (Salleo y Lo Gullo 1990, 1994; Nardini et al. 1996). Posteriormente, Salleo et al. (1997) concluyeron que la rehidratación del simplasto a partir de agua cavitada procedente del apoplasto permite a las esclerófilas una mejor recuperación del estado hídrico en ambientes no demasiado áridos.

En los ambientes mediterráneos la intensidad solar (media anual próxima a 2000 μ mol fotones m² s⁻¹) también constituye un factor de estrés debido al exceso de luz absorbida que no es empleada en la fotosíntesis. Esto reduce la eficiencia fotosintética, es decir, la eficiencia de la conversión de luz en biomasa, y por tanto, el crecimiento de las plantas (Groom *et al.* 1991). Las plantas mediterráneas poseen mecanismos de tipo estructural para la fotoprotección (Valladares y Pearcy 2000) y características morfológicas foliares que reducen el daño por excesiva iluminación (Morales *et al.* 2002). También poseen mecanismos fotoprotectores de tipo fisiológico, aunque estos no necesariamente impiden que se produzca una disminución de la eficiencia fotoquímica del fotosistema II (PS II) debido a un exceso de radiación. Sin embargo, estos descensos en la eficiencia del PS II son completamente

reversibles y, por tanto, no deben ser achacados a un proceso de fotoinhibición, sino de regulación a la baja de la actividad fotoquímica (Epron et al. 1992). Entre los mecanismos fisiológicos para disipar el exceso de radiación y evitar el daño por fotooxidación se encuentran: (i) la reducción de la fotosíntesis mediante la canalización de la energía hacia rutas alternativas a la fotoquímica (Tenhunen et al. 1984) o la disminución de la captación de luz por reducción de la concentración de clorofilas (Gratani et al. 1998), (ii) cambios en la concentración de los carotenoides fotoprotectores del ciclo de las xantofilas (Faria et al. 1996; García-Plazaola et al 1997) y (iii) el aumento del nivel de antioxidantes (García-Plazaola et al. 1999a, 1999b). Estos mecanismos se encuentran en las especies mediterráneas del género Quercus, las cuales son capaces de mantener la integridad de su aparato fotosintético tras periodos de intenso estrés (Oliveira y Peñuelas 2000). Cuando las hojas expuestas a una alta irradiación solar experimentan otros estreses ambientales adicionales se incrementa la fracción de luz absorbida que resulta excesiva y que no es empleada en la fotosíntesis (Demmig-Adams y Adams 1992). Por tanto, en ambientes mediterráneos la limitación hídrica y térmica que sufren las plantas durante largos periodos dificulta el aprovechamiento fotosintético de la luz.

En los climas septentrionales de inviernos fríos pero sin aridez estival, predominan las especies caducifolias de invierno. De esta forma evaden el daño por frío y a su vez reducen la demanda de agua y carbono. En el clima mediterráneo de transición prevalecen los caducifolios de invierno como Quercus pyrenaica Willd. y Q. faginea Lam. (robles nemoromediterráneos). Por el contrario, en los climas tropicales secos y mediterráneos templados como los de California, dominan los caducifolios estivales que evaden la seguía. En el clima mediterráneo de veranos secos e inviernos suaves, predominan las perennifolias como Q. ilex L. ssp. *ilex*, que cierran estomas en verano pero sintetizan carbohidratos durante el invierno. Sin embargo, en el mediterráneo continental, de veranos secos e inviernos fríos, la pérdida de hojas dos veces al año (caducifolia estival e invernal) podría conducir a un balance anual de carbono negativo. Para mantener cierta producción durante el año y soportar las condiciones de aridez, uno de los mecanismos que presentan las perennifolias de zonas mediterráneas bajo influencia continental como Q. ilex ssp. ballota (Desf.) Samp. consiste en aumentar la proporción de raíz con respecto a la de superficie transpirante. Si a pesar de ello el agua del suelo se agota y las hojas pierden más agua de la que es captada por la raíz, se sacrifica parte del follaje para obtener un equilibrio entre la cantidad de agua disponible y la superficie transpirante (caducifolia facultativa inducida por seguía).

La estructura del xilema también varía en relación con la fenología foliar: *(i)* especies deciduas con madera de poro en anillo que proporciona suficiente agua para restablecer el follaje al comienzo de la estación de crecimiento y *(ii)* especies perennifolias con madera de poro difuso (Lechowicz 1984, Wang *et al.* 1992). Asimismo, la estructura de la madera cambia en respuesta a la disponibilidad de agua del lugar (Villar-Salvador *et al.* 1997). El diámetro de los vasos disminuye en relación a la cantidad de precipitación, y por tanto, el volumen de agua transportado, lo que permite un consumo más lento del agua disponible en el suelo y una mayor seguridad frente a la cavitación por sequía y/o congelación (Tyree y Cochard 1996).

Además del clima, la intensa intervención humana es otra característica propia de los ecosistemas mediterráneos. Estos ecosistemas han sido altamente perturbados por la acción humana desde comienzos del periodo Neolítico, lo que ha determinado la reducción de su área original (Pons y Suc 1980). En ausencia del hombre y al margen de cambios climáticos, los ecosistemas que deberían cubrir la Península Ibérica serían muy distintos a los actuales (Blondel y Aronson 1995). Uno de los procesos más significativos ocurridos en la cuenca mediterránea desde el Neolítico ha sido la sustitución de bosques de robles caducifolios y marcescentes por bosques de especies esclerófilas como la encina. Los resultados de simulaciones fitoclimáticas demuestran que este proceso puede haber sido causado tanto por un cambio climático natural, debido al incremento de la temperatura (González Rebollar et al. 1995), como por la erosión del suelo inducida por las actividades humanas (González Rebollar 1996). Probablemente, ambas causas hayan actuado sinérgicamente en el pasado. El proceso de esclerofilización de los bosques, iniciado hace miles de años, ha continuado sin interrupción hasta el presente. En los últimos siglos, los bosques caducifolios y marcescentes de media montaña han sido paulatinamente sustituidos por encinares supramediterráneos basales y por bosques de coníferas (Ibáñez et al. 1997).

Como consecuencia de esta influencia humana, una parte del bosque mediterráneo fue destruido para crear cultivos y pastos y el resto fue modificado para la producción intensiva de carbón y madera para combustible, debido a su gran aptitud para el rebrote de cepa y raíz. Por tanto, algunos de los bosques originales desaparecieron, mientras que otros fueron alterados en su estructura, composición específica, productividad y funcionalidad (régimen de tratamiento de monte bajo). A mediados del siglo XX, el empleo generalizado de combustibles fósiles y la despoblación de las áreas rurales condujo al abandono del manejo tradicional del monte bajo. En la actualidad, la mayoría de estas masas han sobrepasado su

turno de corta y se ha creado un nuevo paisaje forestal como consecuencia del envejecimiento del bosque (Barberó *et al.* 1990).

Las principales quercíneas tratadas en monte bajo (*Q.ilex* ssp *ballota*, *Q. pyrenaica* y *Q. faginea*) ocupan alrededor del 21 % de la superficie forestal española. La encina es la especie climácica en las formaciones boscosas del centro y oeste de la cuenca mediterránea (Barberó *et al.* 1992), creciendo en las variantes templadas, frías y extremadamente frías de bioclimas desde el semiárido al perhúmedo. Esta gran amplitud bioclimática está relacionada con su adaptabilidad ecofisiológica al estrés hídrico y térmico. Debido a ambos factores, su extensión y su importancia ecológica, esta especie es objeto de numerosos estudios. En España, *Q. ilex* ssp *ilex* se encuentra en climas templados, subhúmedos y húmedos de áreas litorales, sublitorales e interiores. Sin embargo, *Q. ilex* ssp. *ballota* se extiende en el bioclima semi-árido, caracterizado por un largo estrés hídrico y restricciones edáficas debido al sustrato superficial, en áreas de clima continental seco de heladas frecuentes (Rivas-Martínez 1975).

A pesar de su repercusión en el paisaje forestal ibérico y de su alto valor ecológico, todavía existen muchas lagunas en el conocimiento del funcionamiento y los modelos de gestión adecuados a las peculiaridades de las quercíneas mediterráneas. La falta de información sobre su grado de susceptibilidad a los estreses ambientales y sus mecanismos de resistencia se puso de manifiesto a principios de los años ochenta con el decaimiento de las masas forestales de robles, fenómeno denominado "la seca". Aunque algunos de estos episodios estaban claramente asociados a enfermedades epidémicas, el resto se encontraba relacionado con el clima, especialmente con sequías intensas. A pesar del distinto origen del fenómeno, gran parte de las masas poseían algo en común: su tradicional manejo en forma de monte bajo, pasado de turno, y por tanto, su mayor susceptibilidad ante daños medioambientales. Este hecho concordaba con los fenómenos generalizados de decaimiento de especies de robles en Europa (Luisi *et al.* 1993) y Norteamérica (Tainter *et al.* 1984), que afectaron en mayor medida a las poblaciones situadas en estaciones forestales fuera de su rango ecológico óptimo (Levy *et al.* 1992) y a las masas más envejecidas (Oak *et al.* 1988).

En la región mediterránea, el cambio climático global reciente se ha reflejado en el incremento de la temperatura y la evapotranspiración potencial y en el descenso de la precipitación y la humedad relativa (véase p. ej. Piñol *et al.* 1998). En el futuro se espera que el incremento de la aridez y calidez se acentúe y una mayor frecuencia de sequías intensas (Peñuelas 1996), lo que podría afectar el funcionamiento y la estructura de los ecosistemas mediterráneos. La menor disponibilidad de agua limitaría la producción primaria y el incremento de la temperatura favorecería la fotorespiración y la respiración reduciendo aún

más la productividad primaria neta (Peñuelas 2001). A largo plazo, estas sequías podrían afectar la estructura de la comunidad y la competencia entre especies. Como ejemplo, *Phillyrea latifolia* podría desplazar a *Quercus ilex* en un clima más seco y cálido al ser más eficiente en el uso del agua, en la eliminación del exceso de radiación y en la conductividad hidráulica (Peñuelas *et al.* 1998). Bajo la influencia del clima mediterráneo son comunes estos fenómenos de competencia entre especies esclerófilas perennifolias y especies caducifolias mesófilas, ya que estas últimas evaden el frío invernal pero presentan una mayor sensibilidad al estrés hídrico del verano.

Para conseguir un adecuado manejo del monte bajo de robles mediterráneos y predecir su respuesta a los cambios ambientales es necesario conocer de qué forma limitan el crecimiento dichos factores ambientales. El objetivo de esta tesis doctoral ha sido, por tanto, profundizar en la comprensión de cómo los componentes ambientales del clima mediterráneo (agua, temperatura y luz) afectan a la estructura y al funcionamiento de las quercíneas de la Península Ibérica.

ALTA IRRADIACION EFECTO EN LA FOTOSÍNTESIS DEFICIT HIDRICO ALTAS TEMPERATURAS BAJAS TEMPERATURAS EFECTO EN EL CRECIMIENTO PRIMARIO Y SECUNDARIO

El género *Quercus* comprende aproximadamente 500 especies de árboles y arbustos que se extienden por todo el hemisferio Norte (Nixon 1993). Estos forman bosques deciduos en los climas templados de Europa, Norteamérica y Asia y bosques de perennifolias y marcescentes en los climas mediterráneos y subtropicales (Manos *et al.* 1999). Efectivamente, es un género que incluye a una gran variedad de tipos de hoja y que ocupa una gran

diversidad de hábitats con diferente disponibilidad de agua (Abrams 1990). La gran variabilidad genotípica, fenotípica y ecológica de este género lo convierte en un grupo idóneo para el estudio de las estrategias de funcionamiento (relaciones hídricas al nivel de tejido, transporte de agua por el xilema, control estomático, fotosíntesis) que le confieren adaptabilidad a ambientes tan diversos.

Las cuestiones que se han planteado a lo largo de esta memoria de investigación han sido las siguientes:

1. ¿Existen grupos funcionales de robles según parámetros fisiológicos de las relaciones hídricas?. Si es así, ¿coincide esta agrupación con la agrupación fitoclimática de dichas especies?

2. Dada la existencia de varios métodos para la obtención de curvas presión-volumen, ¿existen diferencias significativas en los resultados según el método empleado?. En caso de obtener distintos resultados, ¿influyen las características foliares en los resultados obtenidos?

3. ¿Podría el decaimiento observado en los bosques de robles ibéricos a principios de los noventa estar relacionado con los episodios climáticos de intensas sequías experimentados en esa época?

4. ¿Hasta qué punto afecta el estrés por frío a la actividad fotosintética de *Q. ilex* ssp. *ballota* en un clima de frecuentes heladas invernales? ¿Cómo responde la especie al descenso gradual de la temperatura?

5. ¿Son capaces las hojas de un año de *Q. ilex ballota* de mantener una actividad fotosintética tan alta como al principio de su vida, después de haber experimentado los dos estreses climáticos anuales, el invernal y el estival? ¿Hasta qué grado afectan ambos estreses a la integridad de su aparato fotosintético?

Para responder a las preguntas planteadas, esta tesis se organizó en varios capítulos que tratan:

1. La caracterización de grupos funcionales en especies del género *Quercus* a partir del análisis de los parámetros hídricos derivados de las curvas P-V: potencial osmótico a plena turgencia, π_0 ; potencial hídrico en el punto de pérdida de turgencia, ψ_{tlp} ; modulo de elasticidad de pared máximo, ε_{max} ; contenido relativo de agua en el punto de pérdida de turgencia, RWC_{tlp}; pérdida relativa de agua simplástica en el punto de

pérdida de turgencia, S_{tlp}; y contenido relativo de agua simplástica, S. Se estudiaron diecisiete especies procedentes de distintos fitoclimas: mediterráneo (*Q. agrifolia*, *Q. chrysolepis*, *Q. coccifera*, *Q. ilex* ssp. *ballota*, *Q. ilex* ssp. *ilex*, y *Q. suber*), nemoromediterráneo de transición (*Q. cerris*, *Q. faginea*, *Q. frainetto*, y *Q. pyrenaica*) y nemoral (*Q. alba*, *Q. laurifolia*, *Q. nigra*, *Q. petraea*, *Q. robur*, *Q. rubra* y *Q. velutina*). Estas especies presentaban también diferentes características foliares (grado de esclerofilia, fenología -perenne vs. caduca-, superficie).

- 2. La comparación de los parámetros hídricos derivados de las curvas P-V (ε_{max} , ψ_{tlp} , π_o , RWC_{tlp}, S y S_{tlp}), obtenidos con la técnica de expresión de savia y la técnica de transpiración libre, en ocho especies del género *Quercus (Q. cerris, Q. coccifera, Q. faginea, Q. ilex* ssp. *ballota, Q. laurifolia, Q. pyrenaica, Q. rubra* y *Q. suber*). Las especies se eligieron con el propósito de representar una variada morfología y hábito foliar. El objetivo del estudio fue determinar si la especie o las características foliares influyen en los resultados obtenidos con ambos métodos y si el comportamiento de las especies en función de sus parámetros hídricos se mantiene independientemente del método empleado.
- 3. El análisis de la respuesta del crecimiento radial de *Q. ilex ballota*, *Q. pyrenaica* y *Q. faginea* a la intensa sequía de principios de los noventa (1994-95) experimentada en montes del Sistema Ibérico central, caracterizados por un clima mediterráneo con influencia continental. Esta sequía provocó un atabacamiento (amarilleo de las hojas), seguido de una intensa defoliación, en masas de monte bajo que sobrepasaban ampliamente el turno de corta. Con objeto de comprobar si el clima era el principal factor causante del decaimiento se realizó un estudio detallado de la anatomía del xilema (anchura de anillo, diámetro y número de vasos). En este estudio se partió de la hipótesis que consideraba que la respuesta de *Q. ilex*, especie de madera de poro difuso, sería diferente a la de *Quercus faginea* y *Quercus pyrenaica*, especies de madera de poro en anillo.
- 4. El estudio del efecto del estrés invernal en *Quercus ilex* ssp. *ballota*, especie perennifolia típica de la vegetación mediterránea, en una masa forestal localizada a gran altitud y sometida a una alta irradiación y frecuentes heladas invernales. El propósito de este trabajo fue determinar los mecanismos de fotoprotección que permiten a las hojas de esta especie adaptarse a las bajas temperaturas experimentadas en los meses más fríos del año. Para ello se midió la fluorescencia de clorofila,

asimilación neta de CO₂ y composición de pigmentos fotosintéticos en hojas del año en curso durante el otoño, invierno y la primavera. En condiciones naturales las temperaturas bajo cero se pueden mantener durante un número elevado de noches, lo que puede tener un efecto más negativo en el aparato fotosintético que una helada ocasional. Por tanto, como objetivo secundario del estudio se analizó la respuesta de *Q. ilex* ssp. *ballota* al descenso y ascenso gradual de temperaturas (con intervalos de 5 °C), desde 20 °C hasta –5 °C en un breve intervalo de tiempo.

5. La caracterización de la actividad fotosintética de *Q. ilex* ssp. *ballota* en las dos épocas climáticamente desfavorables (invierno y verano), y su posible repercusión en la recuperación de las hojas como órganos asimiladores al final de su primer año de vida. Para ello se midió la variación estacional de la asimilación neta de CO₂, la eficiencia del PS II, la composición de pigmentos fotosintéticos y la actividad enzimática antioxidante en hojas del año en curso. El estudio se llevó a cabo en una zona mediterránea de clima marcadamente continental con el propósito de confirmar si el crecimiento de las esclerófilas perennifolias se encuentra afectado por los dos estreses climáticos propuestos por Mitrakos (1980), el estrés hídrico estival y el estrés por frío invernal.

BIBLIOGRAFÍA

- Abrams MD. 1990. Adaptations and responses to drought in *Quercus* species of North America. Tree Physiol. 7: 227-238
- Balairón L. 1997. El clima mediterráneo y sus características en el contexto de la Circulación Atmosférica Global. En: El paisaje mediterráneo a través del espacio y del tiempo. Implicaciones en la desertificación. Ed. Geoforma. Pp: 131-160.
- Barberó M., Bonin G., Loisel R. y Quézel P. 1990. Changes and disturbances of forest ecosystems caused by human activities in the western part of the mediterranean basin. Vegetatio 87: 151–173.
- Barberó M, Loisel R y Quézel P. 1992. Biogeography, ecology and history of Mediterranean *Quercus ilex* ecosystems Vegetatio 99-100: 19-34.
- Blondel J y Aronson J. 1995. Biodiversity and ecosystems function in the Mediterranean basin: human and non-human determinants. En: Mediterranean Type Ecosystems. The function of Biodiversity. Ed. GW Davis y DM Richardson. Springer, Berlin. pp: 43-119.

- Demming-Adams, B. y Adams, W. W. 1992. Photoprotection and other responses of plants to high light stress. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 43: 599-626.
- Epron D, Dreyer E y Bréda N. 1992. Photosynthesis of oak trees (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) during drought under field conditions: diurnal evolution of net CO₂ assimilation and photochemical efficiency of photosystem II. Plant, Cell and Environment 15: 809-820.
- Faria T, García-Plazaola JI, Abadía A, Cerasoli S, Pereira JS y Chaves MM. 1996. Diurnal changes in photoprotective machanism in leaves of cork oak (*Quercus suber*) during summer. Tree Physiol. 16: 115- 123.
- Fritts HC 1976. Tree Rings and Climate. Academic Press, New York, London.
- García-Plazaola JI, Faria T, Abadía J, Abadía A, Chaves MM y Pereira J.S. 1997. Seasonal changes in xanthopyll composition and photosynthesis of cork oak (*Quercus suber* L.) leaves under Mediterranean climate. J. Exp. Bot. 48: 1667-1674.
- García-Plazaola JI, Artetxe U y Becerril JM. 1999a. Diurnal changes in antioxidant and carotenoid composition in the Mediterranean schlerophyll tree *Quercus ilex* (L) during winter. Plant Science 143: 125-133.
- García-Plazaola JI, Artetxe U, Duñabeitia MK y Becerril JM. 1999b. Role of photoprotective systems of holm-oak (*Quercus ilex*) in the adaptation to winter conditions. J. Plant Physiol. 155: 625-630.
- González Rebollar JL, García-Alvarez A e Ibáñez JJ. 1995. A mathematical model for predicting the impact of climate changes on mediterranean plant landscapes. En Climate Change Research: Evaluation and Policy Implications. Ed.: S Zewer, RSAR van Rompaey, MTJ Kok y MM Berk. Elsevier, Ámsterdam. Pp: 757-762.
- González Rebollar JL. 1996. Sistemas agrarios sostenibles en áreas marginales. En: Erosión y Recuperación de Tierras en Areas Marginales. Ed.: T Lasanta y García Ruíz JM. Pp: 173-182. Instituto de Estudios Riojanos y Soc. Esp. Geomorfología, Logroño.
- Gratani L, Pesoli P y Crescente MF. 1998. Relationship between photosynthetic activity and chlorophyll content in an isolated *Quercus ilex* L. tree during the year. Photosynthetica 35: 445-451.
- Groom QJ, Baker NR y Long SP. 1991. Photoinhibition of holly (*Ilex aquifolium*) in the field during the winter. Physiol. Plant. 83: 585-590.
- Ibáñez JJ, González Rebollar JL, García Alvarez A y Saldaña A. 1997. Los Geosistemas mediterráneos en el espacio y en el tiempo. En: El paisaje mediterráneo a través del espacio y del tiempo. Implicaciones en la desertificación. Ed. Geoforma. Pp: 27-130.

- Joffre R, Rambal S y Winkel T. 2001. Respuestas de las plantas mediterráneas a la limitación de agua: desde la hoja hasta el dosel. Ecosistemas Mediterráneos. Análisis funcional. CSIC-AEET. Pgs: 37-65.
- Lechowicz MJ. 1984. Why do temperate deciduous trees leaf out at different times? Am. Nat. 124: 821–842.
- Levy G, Becker M y Duhamel D. 1992. A comparison of the ecology of pedunculate and sessile oaks: radial growth in the center and North-West of France. For. Ecol. Manage. 55: 51-63.
- Luisi N, Lerario P y Vannini A. 1993. Recent advances in studies on oak decline. Universidad degli Studi, Bari, Italia, 541 pp.
- Manos PS, Doyle JJ y Nixon KC. 1999. Phylogeny, Biogeography, and processes of molecular differentiation in *Quercus* subgenus *Quercus* (*Fagaceae*). Mol. Phyl. Evol. 12: 333-349.
- Mitrakos K. 1980. A theory for Mediterranean plant life. Acta Oecol. / Oecol. Plant. 1 (15): 245-252.
- Mooney HA. 1982. Habitat, plant form and plant water relations in Mediterranean climate regions. Ecologia Mediterranea 8: 287-296.
- Morales F, Abadía A, Abadía J, Montserrat G y Gil-Pelegrín E. 2002. Trichomes and photosynthetic pigment composition changes: responses of *Quercus ilex* subsp. *ballota* (Desf.) Samp. and *Quercus coccifera* L. to Mediterranean stress conditions. Trees 16: 504-510.
- Nahal I. 1981. The Mediterranean climate from a biological view point. Ecosystems of the world, 11, Mediterranean-type shrublands, pp. 63-86. Elsevier.
- Nardini A, Lo Gullo MA, Tracanelli S. 1996. Water relations of six sclerophylls growing near Trieste (Northeastern Italy): has sclerophylly a univocal functional significance? Giornale Botanico Italiano 130: 811-828.
- Nixon KC. 1993. Infrageneric classification of *Quercus (Fagaceae)* and typification of sectional names. Ann. Sci. For. 50: 25-34.
- Oak SW, Starkey DA y Dabney JM. 1988. Oak decline alters habitat in Southern upland forests. Proc. Ann. Conf. SEAFWA 42: 491–501.
- Oliveira G y Peñuelas J. 2000. Comparative photochemical and phenomorphological responses to winter stress of an evergreen (*Quercus ilex* L.) and a semi-deciduous (*Cistus albidus* L.) Mediterranean woody species. Acta Oecol. 21: 97-107.

- Peñuelas J. 1996. Overview on current and past global changes in the Mediterranean ecosystems. Orsis 11: 165-176.
- Peñuelas J, Filella I, Llusià J, Siscart D y Piñol J. 1998. Comparative field study of spring and summer leaf gas exchange and photobiology of the Mediterranean trees *Quercus ilex* and *Phillyrea latifolia*. J. Exp. Bot. 49: 229-239.
- Peñuelas J. 2001. Cambios atmosféricos y climáticos y sus consecuencias sobre el funcionamiento y la estructura de los ecosistemas terrestres mediterráneos. Ecosistemas Mediterráneos. Análisis funcional. CSIC-AEET. Pgs: 423-455.
- Piñol J, Terradas y Lloret F. 1998. Climate warming, wildfire hazard, and wildfire ocurrence in coastal eastern Spain. Clim. Change 38: 345-357.
- Pons A y Suc JP. 1980. Lés témoignages de structures de végétation Méditerranéennes dan le passée antérieur à l'action de l'home. Natur. Monsp., HS: 69-78.
- Rivas-Martínez S. 1975. La vegetación de la clase *Quercetea icilis* en España y Portugal. Ann. Inst. Bot. Cavanilles 31: 205-259.
- Salleo S, Lo Gullo MA. 1990. Sclerophylly and plant water relations in three Mediterranean *Quercus* species. Ann. Bot. 65: 259-270.
- Salleo S y Lo Gullo MA. 1994. Sclerophylly: a new interpretation of its possible functional significance. Bollettino della Societá Adriatica si Science LVXXV, tomo II: 319-328.
- Salleo S, Nardini A y LoGullo MA. 1997. Is sclerophylly of Mediterranean evergreens an adaptation to drought?. New Phytol. 135: 603-612
- Sperry J y Tyree T. 1988. Mechanism of water stress-induced xylem embolism. Plant Physiol. 88: 581-587.
- Sperry J, Nichols KL, Sullivan JEM y Eastlack SE. 1994. Xylem embolism in ring-porous, diffuse porous, and coniferous trees of northern Utah and interior Alaska. Ecology 75: 1736-1752.
- Strahler AN y Strahler AH. 1989. Elements of Physical Geography. Ed. John Wiley & Sons.
- Tainter FH, Fraedrich SW y Benson JD. 1984. The effect of climate on growth, decline, and death of northern red oaks in the western North Carolina Nantahala Mountains. Castanea 49: 127–137.
- Tenhunen JA, Lange OL, Gebel J, Beyschlag W y Weber JA. 1984. Changes in photosynthetic capacity, carboxylation efficiency, and CO₂ compensation point associated with midday stomatal closure and midday depression of net CO₂ exchange of leaves of *Quercus suber*. Planta 162: 193-203.

- Tetriach M, Bolognii G y Rondi A. 1997. Photosynthetic activity of *Quercus ilex* at the extremes of a transect between mediterranean and submediterranean vegetation (Trieste, NE Italy). Flora 192: 369-378.
- Tyree MT y Cochard H. 1996. Summer and winter embolism in oak: impact on water relations. Ann. Sci. For. 53: 173-180.
- Valladares F y Pearcy RW. 2000. The role of crown architecture for light harvesting and carbon gain under extreme light conditions assessed with a realistic 3-D model. Anales del Jardín Botánico de Madrid 58: 3-16.
- Villar-Salvador P, Castro Díez P, Pérez Rontomé C y Montserrat Martí, G. 1997. Stem xylem features in three *Quercus (Fagaceae)* species along a climatic gradient in NE Spain. Trees 12: 90–96.
- Wang J, Ives NE y Lechowicz MJ. 1992. The relation of foliar phenology to xylem embolism in trees. Functional Ecology, 6: 469–475.

CAPITULO 1. Grupos funcionales en especies del género *Quercus* derivados del análisis de las curvas presión-volumen

CAPITULO 1

GRUPOS FUNCIONALES EN ESPECIES DEL GÉNERO *Quercus* DERIVADOS DEL ANÁLISIS DE LAS CURVAS PRESIÓN-VOLUMEN

RESUMEN

Los robles que ocupan fitoclimas mediterráneos comparten características foliares comunes (carácter perenne, alto peso seco por unidad de superficie -LMA-). Debido a esta convergencia fitoclimática, morfológica y fenológica, se ha sugerido que podrían constituir un grupo funcional coherente. Para confirmar esta hipótesis, se determinaron varios parámetros fisiológicos derivados de las curvas presión-volumen (curvas P-V) utilizando el método de transpiración libre. Se estudiaron diecisiete especies de Quercus procedentes de distintos fitoclimas: seis especies mediterráneas perennifolias (Q. agrifolia, Q. chrysolepis, Q. coccifera, Q. ilex ssp. ballota, Q. ilex ssp. ilex, y Q. suber); siete especies nemorales caducifolias (Q. alba, Q. laurifolia, Q. nigra, Q. petraea, Q. robur, Q. rubra y Q. velutina), y cuatro especies nemoro-mediterráneas caducifolias (Q. cerris, Q. faginea Q. frainetto y Q. pyrenaica). Se utilizaron plántulas de dos años cultivadas en condiciones ambientales homogéneas (sin restricciones de agua ni luz y con suministro de nutrientes uniforme). Los análisis estadísticos (correlaciones, comparaciones de medias, análisis de componentes principales) de las características de las hojas y de los parámetros derivados de las curvas P-V confirmaron la homogeneidad funcional de los tres grupos fitoclimáticos, que se caracterizaron por su diferente respuesta ecofisiológica al estrés hídrico. Los robles mediterráneos desarrollaron mecanismos para evitar una pérdida excesiva de agua celular (por ejemplo, alta rigidez de pared celular). Por el contrario, los robles nemorales mostraron un comportamiento opuesto. Los robles nemoro-mediterráneos se comportan mejor que los robles nemorales en condiciones de estrés hídrico, aunque no tan bien como los robles mediterráneos en suelos relativamente secos.
INTRODUCCIÓN

El género Quercus se compone de 531 especies de árboles y arbustos distribuidas en diferentes fitoclimas del hemisferio norte. desde los bosques templados v subtropicales caducifolios hasta los bosques v matorrales mediterráneos perennifolios (Nixon 1993; Govaerts y Frodin 1998; Manos et al. 1999). Por tanto, ocupan hábitats con una capacidad de suministro de agua muy variable (Kwon y Pallardy 1989; Abrams 1990). El clima mediterráneo se caracteriza por su seguía estival. En el interior, es decir, en las áreas más continentales, los veranos están sucedidos por inviernos fríos que limitan el crecimiento de las plantas (Mitrakos 1980). Este tipo de clima se ha asociado tradicionalmente a la vegetación esclerófila (Walter 1973), que incluiría a los robles mediterráneos de varios subgéneros (Krüssmann 1986). Debido a su similar tipo de hoja, distintos autores han sugerido que podrían componer un grupo fisiológico homogéneo (Kummerow 1973).

Las hojas esclerófilas pequeñas se han considerado como una adaptación morfológica de las plantas a la sequía al reducir la transpiración (Morrow y Mooney 1974; Poole y Miller 1975; Levitt 1980; Turner 1994). Groom y Lamont (1997) encontraron una relación entre los cambios en la estructura de las hojas (peso seco foliar por unidad de superficie, LMA –que se utiliza aquí como un indicador del grado de esclerofilia-) y la función del vegetal (relaciones hídricas) dentro de una única especie, lo que sugiere que la esclerofilia podría aumentar la tolerancia a la sequía. Richards Lamont Además, v (1996)también demostraron, en un estudio interespecífico, que la esclerofilia estaba positivamente asociada a una mayor tolerancia a la sequía mediante ajustes osmóticos y elásticos.

existen numerosos Sin embargo, estudios que no apoyan la idea de la esclerofilia como característica una funcional xeromórfica vinculada a una mayor resistencia al estrés hídrico (Seddon 1974; Mitrakos 1980; Ricklefs y Matthew 1982; Oertli et al. 1990). En primer lugar, las especies con hojas esclerófilas se extienden tanto en los ambientes áridos como en los húmedos (Turner 1994). En segundo lugar, desde un punto de vista evolutivo, esclerofilia la no puede considerarse como adaptación una convergente en respuesta a un único estrés medioambiental (sequía, herbívoría, deficiencia de nutrientes) en los ecosistemas mediterráneos (Nardini et al. 1996). Siguiendo este argumento, Lo Gullo y Salleo (1988) demostraron que varias especies con similar grado de esclerofilia adoptaban estrategias muy diferentes para la soportar la seguía. Por otro lado, especies de robles con niveles de esclerofilia muy

Corcuera L, Camarero JJ and Gil-Pelegrín E. 2002. Functional groups in *Quercus* species derived from the analysis of pressure-volume curves. Trees 16: 465-472 20

diferentes mostraban estrategias similares ante la sequía (Salleo y Lo Gullo 1990). En general, estos autores demostraron que no existía ninguna base que demostrara la existencia de una relación funcional entre la esclerofilia y la tolerancia a la sequía. Estos resultados precisan de otro tipo de estudios con el fin de determinar si los robles mediterráneos constituyen un grupo ecofisiológico coherente.

Otras características funcionales de las hojas pueden ofrecer una nueva base de comportamiento común en los robles mediterráneos. Las curvas presión-volumen (curvas P-V) y sus parámetros hídricos derivados (potencial hídrico de las hojas en el punto de pérdida de turgencia, Ψ_{tlp} ; módulo de elasticidad de pared máximo, ε_{max} ; potencial osmótico a plena turgencia, π_{o} ; contenido relativo de agua en el punto de pérdida de turgencia, RWC_{tlp}; pérdida relativa de agua simplástica en el punto de pérdida de turgencia, Stlp; y contenido relativo de agua simplástica, S) son una herramienta muy útil para el estudio de las relaciones hídricas en plantas leñosas (Cheung et al. 1975; Zine El Abidine 1994). De esta forma, la tolerancia al estrés hídrico está principalmente relacionada con los ajustes osmóticos y elásticos y definidos por el valor del potencial osmótico a plena turgencia y las propiedades elásticas de la pared celular (Dreyer *et al.* 1990). En estudios que consideran diferentes características foliares interespecíficas se han encontrado diferencias significativas en la elasticidad de los tejidos y RWC_{tlp} (Roberts et al. 1980; Sobrado 1986; Zobel 1996). Por tanto, una forma de caracterizar grupos funcionales de especies del género *Quercus* podría consistir en estudiar sus parámetros hídricos derivados de las curvas P-V.

Hasta conocimiento, nuestro no existen estudios que comparen los parámetros foliares derivados de las curvas P-V dentro de un género. Este enfoque alternativo consistiría en comparar estas características ecofisiológicas en varias cultivadas especies en las mismas condiciones medioambientales y sin Las restricciones de agua. especies seleccionadas para este estudio representan grupos fitoclimáticos diferentes (robles nemoro-mediterráneos mediterráneos. y nemorales) caracterizados en parte por sus distintas características foliares (fenología -perenne vs. caduca-, superficie, LMA). Nuestra hipótesis de trabajo fue que las especies de una distribución biogeográfica y fitoclimática tan diferente podrían presentar distintos parámetros de relaciones hídricas en los tejidos. El principal objetivo de este estudio fue determinar si existen características funcionales comunes en los robles según los parámetros fisiológicos derivados de las curvas P-V.

MATERIAL Y METODOS

Condiciones experimentales

Se han estudiado diecisiete especies del género Quercus, que cubren un amplio ecológico (Ver distribución rango geográfica en Anexo I). Pertenecen a dos subgéneros diferentes: Quercus (Q. alba L., Q. cerris L., Q. chrysolepis Liebm., O. coccifera L., Q. faginea Lam., Q. frainetto Ten., Q. ilex ssp. ballota L., Q. ilex ssp. ilex L., Q. petraea Liebl., Q. pyrenaica Willd., Q. robur L. y Q. suber L.), y Lobatae (Q. agrifolia Née., Q. laurifolia Michx., Q. nigra L., Q. rubra L. y Q. velutina Lam.). El origen de las semillas está descrito en Sisó et al. (2001).

Para reducir la variabilidad medioambiental, las plántulas se cultivaron contenedores cilíndricos con en un suministro de nutrientes y unas condiciones de luz uniformes y sin restricciones de agua. Los contenedores se llenaron con esterilizada. El suministro arena de nutrientes se garantizó utilizando un fertilizante de liberación lenta (Osmocote Plus, Sierra Chemical, Milpitas, California, EE.UU.) tal y como describen Naidu y DeLucia (1997). El fertilizante (substrato 3 g l⁻¹) se aplicó al comienzo del experimento en los 10 cm superiores de la capa de arena.

Los contenedores se colocaron en un umbráculo (Unidad de Recursos Forestles, S.I.A., Zaragoza, España) cubiertos con una pantalla de sombra para limitar la intensidad de la luz hasta un máximo del 40% de la radiación externa. Durante la estación de crecimiento las plantas se regaron dos veces al día, a primeras horas de la mañana y a última hora de la tarde, utilizando microaspersores. Las condiciones climáticas en el umbráculo se controlaron mediante un termohidrógrafo (JRI Minidisque 165-00, Jules Richard, Argenteuil, Francia). La temperatura media de las máximas y mínimas durante la estación de crecimiento (marzo-agosto) fue 24,9 °C y 10,4 °C, respectivamente. Durante el mismo período, la humedad relativa del aire osciló entre el 58 % y el 92 %, y el régimen de luz fue bastante regular (sólo cerca de un 5 % de los días estuvieron nublados). Al finalizar el segundo ciclo de crecimiento (julio), se seleccionaron al azar 5 plántulas de cada especie para la realización de las curvas P-V.

Los parámetros hídricos obtenidos a partir de las curvas P-V pueden variar condiciones según la edad V las medioambientales de la planta. Por ejemplo, los cambios en la madurez de los tejidos, el contenido de agua del suelo y el estado nutricional pueden alterar la elasticidad de los tejidos (Tyree y Jarvis 1982). Las hojas se procesaron tras su desarrollo completo. Se ha demostrado que la clasificación de las especies, en términos de tolerancia a la deshidratación, cuando la disponibilidad de agua es alta, coincide con la clasificación cuando la disponibilidad de agua es baja (Tschaplinski *et al.* 1998). Por tanto, las deducciones experimentales de este trabajo pueden ser extrapoladas en condiciones de restricción de agua.

Mediciones morfológicas

Se midió el área de 30 hojas por especie utilizando un medidor de área foliar (Area Measurement System, Delta-T Devices). Después se secaron en un horno a 70 °C durante días tres para la determinación del peso seco. LMA (mg cm ²) se calculó como la proporción de peso seco respecto al área foliar, y se empleó como un indicador del grado de esclerofilia (Witkoswski y Lamont 1991).

Con el objetivo de obtener un amplio rango de fenología y morfología foliar en el género Quercus (Tutin et al. 1964; Krüssmann 1986; Castroviejo et al. 1990), se estudiaron especies perennifolias (Q. agrifolia, Q. chrysolepis, Q. coccifera, Q. ilex ssp. ballota, Q. ilex ssp. ilex, y Q. suber) y caducifolias (Q. alba, О. laurifolia, *O. cerris*, *O. faginea* О. frainetto, Q. nigra, Q. petraea, Q. pyrenaica, Q. robur, Q. rubra y Q. velutina).

Se establecieron tres grupos diferentes a priori en función de su (Walter fitoclima 1973): robles mediterráneos (Q. agrifolia, Q. chrysolepis, Q. coccifera, Q. ilex ssp. ballota, Q. ilex ssp. ilex, v O. suber; ver Pignatti 1982; Allué-Andrade 1990; Burns y Honkala 1990; Castroviejo et al. 1990; Rivas-Martínez y Sáenz-Lain 1991); robles nemoro-mediterráneos de transición (Q. cerris, Q. faginea, Q. frainetto, y Q. pyrenaica; Pignatti 1982; Allué-Andrade 1990; Castroviejo et al. 1990; García-López 2000); y robles nemorales (O. alba, O. laurifolia, Q. nigra, Q. petraea, Q. robur, Q. rubra y Q. velutina; ver Tutin et al. 1964; Burns y Honkala 1990).

Curvas de presión-volumen

Las curvas de presión-volumen se establecieron utilizando una cámara de presión tipo Scholander (Scholander et al. 1965), siguiendo el método de transpiración libre descrito en estudios anteriores (Talbot et al. 1975; Hinckley et al. 1980; Turner 1988; Dreyer et al. 1990). Los principios en los que se basa la técnica de la cámara de presión se encuentran en el Anexo II. El peso y el potencial hídrico de los brotes se midieron a intervalos regulares hasta que se alcanzaron valores cercanos a -6 MPa. Esta metodología permitió desarrollar simultáneamente cinco análisis por día (Tyree y Hammel 1972).

Los cortos peciolos de los robles mediterráneos no sobresalieron fuera del sello de goma de la cámara de presión. Por tanto, para estandarizar las mediciones, se utilizaron brotes con 5-6 hojas en todas las especies en lugar de hojas. El follaje de la muestra (% de peso seco foliar) varió ligeramente entre las especies, desde Q. suber con un 79 % de peso seco foliar hasta Q. alba con un 82 %. Mientras que las variaciones en el peso foliar se mantengan a un nivel moderado, parece estar justificado el empleo de brotes en lugar de hojas en las curvas P-V, ya que se ha encontrado una variación insignificante en los parámetros hídricos derivados (< 0.2 MPa en π_0 y Ψ_{tlp} , y 12-16 % en RWC_{tlp}) (Neufeld y Teskey 1986; Parker y Pallardy 1987; Zobel, 1996).

Se utilizaron cinco brotes terminales para cada especie. Su extremo se cortó con cuidado y se sumergió en agua destilada hasta su total rehidratación. Posteriormente, se envolvieron en una película plástica y se dejaron en un frigorífico hasta el día siguiente. Se tuvo especial cuidado en evitar la sobresaturación de los tejidos mediante la detección de la salida de agua de la muestra cuando el potencial hídrico (Ψ) era igual a cero (Kubiske y Abrams 1991). Para obtener las curvas P-V, se representó un diagrama de dispersión utilizando los valores de 1/ Ψ y del volumen de agua simplástica extraída (V_e). Tras las mediciones, los brotes se secaron en un horno a 70 °C durante 72 horas. Posteriormente se pesaron con una resolución de 1 mg para calcular los parámetros relacionados con el volumen de agua celular.

Análisis estadístico

Los datos transformaron se previamente (logaritmo, raíz cuadrada) para obtener una distribución normal. Esta se comprobó utilizando el test de Kolmogorov-Smirnov. Se empleó un ANOVA de un factor para comprobar y encontrar diferencias entre los valores medios de las distintas especies y de los grupos fitoclimáticos. Los valores de las especies, tanto los individuales (n = 92)como los medios (n = 17), fueron normales para todas las variables (P > 0.25), incluida LMA. Con el objetivo de encontrar grupos significativamente diferentes, se llevaron a cabo comparaciones a posteriori mediante el test de Tukey HSD (honest significant difference). Se trata de un test muy conservador que ofrece una protección mínima frente al incremento del error de tipo alfa debido a las comparaciones múltiples a posteriori. Se determinó la relación entre las variables utilizando el coeficiente de Pearson (r) (Sokal y Rohlf 1995), considerando los valores individuales de todas las plantas (n = 92).

Para presentar la variabilidad interespecífica de los parámetros hídricos y el de esclerofilia grado en pocas dimensiones, se llevó a cabo un análisis de componentes principales (PCA). Se asumió que la relación entre las variables era lineal (Ter Braak 1995) y se utilizaron los valores medios de los parámetros P-V y del grado de esclerofilia (n = 30 hojas por especie) de cada especie. La presentación gráfica del diagrama de ordenación se simplificó mostrando sólo los vectores (flechas) de los parámetros P-V (ε_{max} , π_o , ψ_{tlp} , S, S_{tlp}, RWC_{tln}) y el grado de esclerofilia (Legendre y Legendre 1998). Todos los análisis estadísticos realizaron se empleando el paquete estadístico SPSS (versión 6.1.2.), con excepción del PCA, que se realizó con Canoco 4.0 (ver Braak 1988; ver Braak y Šmilauer 1998).



Figura 1. Diagramas Höfler que relacionan la pérdida de agua simplástica (RWL %) con el potencial de turgencia (P_t), el potencial osmótico (π_o), y el potencial hídrico en el punto de pérdida de turgencia (ψ_{tb}) en brotes de dos especies de roble típicamente mediterráneas (Q. ilex ssp. ilex, Q. agrifolia) y dos especies típicamente nemorales (Q. velutina, Q. alba).

Corcuera L, Camarero JJ and Gil-Pelegrín E. 2002. Functional groups in Quercus species derived from the analysis of pressure-volume curves. Trees 16: 465-472

RESULTADOS

Para ilustrar los resultados obtenidos en los diagramas Höfler, la figura 1 muestra dos conjuntos diferentes de especies de roble, según su fitoclima (Ver diagramas Höfler de todas las especies en el Anexo III). Se seleccionaron dos especies estrictamente mediterráneas (Q. ilex ssp. ilex. agrifolia) dos especies *Q*. y típicamente nemorales (*Q*. alba, Q.

24 18 21 12 18 LMA (mg cm^{$^{-2}$}) VEI 6 \cap 15 RUB ALB 0 20 40 60 12 9 6 00 õ 0 0 3 0 10 20 30 40 50 60 70 superficie foliar (cm 2) 16 30 $\overline{\mathbf{A}}$ Ç а superficie foliar (cm -MA (mg cm-2) b 12 20 b 10 8 а С 0 4 Μ NM Ν Μ NM Ν R

velutina). Con una pequeña pérdida de agua simplástica (5 %), tanto la caída del potencial osmótico como del potencial de turgencia fue mayor en las especies mediterráneas que en las nemorales. Estas diferencias en los resultados podrían explicarse por las diferencias en ε_{max} , cuyo valor para las especies perennifolias fue, de media, casi el doble que el de las especies caducifolias.

> Figura 2. A. Relación entre los valores de la superficie foliar y peso seco foliar por unidad de superficie (LMA) en todos los individuos de Quercus estudiados, y valor medio por especie (gráfico insertado). El color de los puntos indica el fitoclima en el que suele encontrarse con frecuencia más cada especie: mediterránea (M, negro). nemoromediterránea (NM, gris) y nemoral (N, blanco). B. Comparación de los valores medios de estas variables el fitoclima según la especie. Las letras diferentes diferencias indican significativas entre grupos $(P \leq 0.05;$ test de Tukey HSD). Las líneas horizontales indican el valor medio de cada variable para todos los individuos estudiados. El color de las barras es igual que el de los puntos de la Fig. 2.A. Las abreviaturas de las especies son: O. agrifolia (AGR), O. alba (ALB), *Q*. cerris (CER), chrvsolepvs Q. (CHR), O. coccifera (COC), Q. faginea (FAG), Q. frainetto (FRA), Q. ilex ssp. ilex (ILI), Q. ilex ssp. ballota (ILB), Q. laurifolia (LAU), Q. nigra (NIG), Q. petraea (PET), Q. pyrenaica

(PYR), Q. robur (ROB), Q. rubra (RUB), Q. suber (SUB) y Q. velutina (VEL).

Corcuera L, Camarero JJ and Gil-Pelegrín E. 2002. Functional groups in Quercus species derived from the analysis of pressure-volume curves. Trees 16: 465-472 26

Las especies mediterráneas mostraron valores pequeños de superficie foliar y altos de LMA (Fig. 2A, B). También mostraron una baja dispersión en sus valores de superficie foliar, pero sus valores de LMA fueron mucho más dispersos. Por el contrario, los individuos pertenecientes a las especies nemorales mostraron un amplio rango de valores de superficie foliar pero un rango estrecho de valores de LMA. Las especies nemoro-mediterráneas mostraron unos valores intermedios para ambas



variables, pero estos siempre estuvieron más cerca de los obtenidos por los robles nemorales. Considerando los valores medios por especie, la relación entre la esclerofilia y el superficie foliar media fue significativamente negativa (r = -0,67; p = 0.003; Fig. 2A). Por tanto, las especies típicamente mediterráneas constituyen un grupo morfológicamente diferente de las especies nemorales y nemoro-mediterráneas en lo que respecta a sus características foliares (Fig. 2B).

Figura 3. Parámetros derivados de las curvas presión-volumen de las especies de *Quercus* estudiadas (valores medios y errores estándar). Las especies están clasificadas en orden decreciente según su valor medio para cada variable. Las líneas horizontales indican el valor medio de cada parámetro para todos los individuos estudiados. Las abreviaturas son las mismas que en la Tabla 1 y Fig. 2 y los colores coinciden con los de la Fig. 2.

Corcuera L, Camarero JJ and Gil-Pelegrín E. 2002. Functional groups in *Quercus* species derived from the analysis of pressure-volume curves. Trees 16: 465-472 27

Se encontraron diferencias significativas entre especies para LMA, superficie foliar y los parámetros derivados de las curvas P-V (ANOVA, F=3,03-24,14, $P \le 0,001$, n=92). Las especies nemorales mostraron los valores de ε_{max} más bajos, así como los valores de π_0 y ψ_{tlp} más altos (Figs. 3, 4). Las especies mediterráneas y nemoro-mediterráneas mostraron la tendencia contraria. Estas diferencias fueron significativas entre los grupos fitoclimáticos para ε_{max} y ψ_{tlp} (test de Tukey HSD, $P \le 0,05$; Fig. 4). A partir de sus valores de ε_{max} , las especies de roble estudiadas pudieron ordenarse desde mediterráneas a nemoro-mediterráneas y hasta nemorales. Los valores más bajos de ψ_{tlp} se encontraron en las especies nemoromediterráneas. El resto de los parámetros, en su mayor parte relacionados con el contenido relativo de agua simplástica (RWC_{tlp}, S_{tlp}, S), no mostraron ninguna tendencia relevante.



Figura 4. Parámetros derivados de las curvas de presión-volumen de las especies de *Quercus* estudiadas (valores medios errores V estándar) según el fitoclima de cada especie. líneas Las horizontales indican el valor medio de cada parámetro para todos los individuos estudiados. Las letras diferentes indican diferencias significativas entre grupos ($P \le 0.05$; test de HSD). Tukey Las abreviaturas son las mismas que en la Tabla 1 y los colores coinciden con los de la Fig. 2.

Corcuera L, Camarero JJ and Gil-Pelegrín E. 2002. Functional groups in *Quercus* species derived from the analysis of pressure-volume curves. Trees 16: 465-472 28

En las especies de roble estudiadas, la elevada rigidez de pared celular se asoció a un bajo π_o , ψ_{tlp} y a un alto S. Sin embargo, se asoció a un bajo S_{tlp} (Tabla 1). Considerando los valores medios de las especies para los parámetros derivados de las curvas P-V, el primer componente del PCA (eje I) explicó el 42,7 % de la variación total, mientras que el segundo componente (eje II) explicó el 29,1 % (Fig. 5). El eje I se relacionó negativamente con π_{o} , ψ_{tlp} , ε_{max} y LMA. El eje II también estaba negativamente relacionado con S_{tlp} pero positivamente con RWC_{tlp}. En el PCA hubo una separación clara entre las especies nemorales y el resto de las especies (mediterráneas y nemoro-mediterráneas; Fig. 5).

Tabla 1. Valores de correlación (*r* de Pearson) de distintos parámetros derivados de las curvas presión-volumen considerando todos los individuos estudiados (*n*= 92). Los valores de probabilidad se muestran entre paréntesis (valores en negrita: $P \le 0.05$). Abreviaturas de los parámetros de las curvas P-V: módulo de elasticidad de pared máximo (ε_{max}), potencial osmótico a pleno turgencia (π_o), potencial hídrico en el punto de pérdida de turgencia (ψ_{tlp}), contenido relativo de agua en el punto de pérdida relativa de agua simplástica en el punto de pérdida de turgencia (RWC_{tlp}), contenido relativo de agua simplástica (S), y pérdida relativa de agua simplástica en el punto de pérdida de turgencia (S_{tlp}).

	€ _{max}	$\pi_{ m o}$	ψ_{tlp}	RWC _{tlp}	S
πο	0.60				
	(0.001)				
ψ_{tlp}	0.37	0.84			
	(0.001)	(0.001)			
RWC _{tlp}	0.03	-0.28	-0.60		
	(0.78)	(0.009)	(0.001)		
S	0.48	0.34	0.16	-0.18	
	(0.001)	(0.002)	(0.131)	(0.098)	
S _{tlp}	-0.39	-0.15	0.32	-0.54	-0.39
	(0.001)	(0.162)	(0.003)	(0.001)	(0.001)

Corcuera L, Camarero JJ and Gil-Pelegrín E. 2002. Functional groups in *Quercus* species derived from the analysis of pressure-volume curves. Trees 16: 465-472 29

Figura 5. Análisis de Componentes Principales (PCA) de varias especies de Quercus según su peso seco foliar por unidad de superficie (LMA; valor medio por especie) y los parámetros derivados de las curvas P-V. Por motivos de claridad visual, sólo se muestran los vectores de LMA y de los parámetros de las curvas P-V. Se presentan los dos primeros ejes de la ordenación (I, horizontal; II, vertical). Las abreviaturas son las mismas que en la Tabla 1 y los colores coinciden con los de la Fig. 2.



DISCUSIÓN

En este trabajo se agruparon las especies de *Quercus* a priori, en función de su distribución fitoclimática (mediterránea, nemoro-mediterránea nemoral). V El propósito fue determinar si su distribución biogeográfica estaba relacionada con una agrupación funcional. En lo que respecta a las características foliares (superficie foliar y LMA), se identificaron dos grupos de especies muy diferenciados (Fig. 2A). Los robles mediterráneos podrían caracterizarse por sus pequeñas hojas y alto LMA. Por el contrario, los robles nemorales y nemoromediterráneos presentaban hojas más grandes y unos valores de LMA relativamente bajos.

Sin embargo, el análisis de algunos parámetros derivados de las curvas P-V sugirió que las especies de Quercus estudiadas constituían tres grupos funcionales distintos. Los robles mediterráneos se caracterizaron por unos valores mayores de ε_{max} y unos valores de ψ_{tlp} menores (Figs. 3-4). Las especies nemorales mostraron una tendencia inversa. relaciones sido Estas también han presentadas en trabajos anteriores (Sobrado 1986; Dreyer et al. 1990; Eamus y Narayan 1990; Wan et al. 1993; Richards y Lamont 1996; Zobel 1996; Groom y Lamont 1997; Hietz y Briones 1998; Zhang et al. 1998; Fernández et al. 1999). La ordenación

derivada del PCA coincidió con la clasificación fitoclimática de las especies de roble (Fig. 5). Además, cuando se consideró específicamente ε_{max} o ψ_{tlp} (Fig. 4), surgió un tercer grupo intermedio, compuesto por los robles nemoro-mediterráneos (O. cerris, *Q. faginea Q. frainetto*, y *Q. pyrenaica*). Sin embargo, los parámetros relacionados con el contenido de agua celular no distinguieron entre los grupos fitoclimáticos, lo que coincide con los resultados presentados por Sobrado (1986). Estas variables deben interpretarse con cuidado ya que el empleo de curvas P-V para estimarlos podría no resultar muy preciso. Por ejemplo, se han obtenido valores de estas variables superiores al 100 % en hojas (Richter et al. 1980) y brotes sin hojas (Neufeld y Teskey 1986).

En el caso de los robles mediterráneos, una baja elasticidad de la pared celular podría permitir una rápida recuperación de la planta tras una reducción del contenido de agua en el suelo, lo que podría considerarse como un mecanismo eficiente para superar el estrés hídrico. Esto implica una reducción en el potencial de turgencia y el potencial hídrico con una pequeña reducción en el contenido de agua en la planta (Patakas y Noitsakis 1997); lo que no supone una gran pérdida de energía (importante en las plantas que crecen en suelos con un contenido pobre de materia orgánica; Lo Gullo *et al.* 1986). Las dos condiciones medioambientales, suelos con un pobre contenido de materia orgánica y con pocos recursos de agua, se encuentran en los bosques de la región mediterránea. El gradiente de potencial hídrico creado en estos entornos permitiría cierta captación de agua en suelos secos y por tanto una menor reducción del contenido relativo de agua celular (Cheung *et al.* 1975; Salleo y Lo Gullo 1985; Lo Gullo *et al.* 1986; Lo Gullo y Salleo 1988; Abrams *et al.* 1990; Abrams y Menges 1992).

La relación causal entre un alto módulo de elasticidad y el LMA todavía no está clara (Lo Gullo y Salleo 1988; Salleo y Lo Gullo 1990; Nardini et al. 1996; Salleo et al. 1997). Concretamente, se ha apuntado a una correlación positiva entre ambos parámetros en varias especies de Quercus (Salleo y Lo Gullo 1990). Sin embargo, LMA y el módulo de elasticidad de pared no están relacionados con el mismo fenómeno medioambiental ni cuantitativa ni cualitativamente. Los valores de LMA dependen de la cantidad de tejido mecánico (básicamente lignina), mientras que el módulo de elasticidad está más estrechamente relacionado con el grosor de la pared celular y el contenido de celulosa. Por tanto, su relación no puede considerarse una relación funcional.

Las especies mediterráneas perennifolias mostraron un potencial

osmótico bajo. Calkin y Pearcy (1984) y Roberts et al. (1980) presentaron unos resultados similares. Un bajo potencial osmótico permite el desarrollo de una turgencia positiva a bajos potenciales hídricos, lo que posibilita el estiramiento celular en condiciones de estrés hídrico (Cheung et al. 1975; Tyree 1976; Morgan 1984). Esto permitirá a las plantas tolerar un mayor estrés hídrico, alcanzando potenciales hídricos más bajos (Ranney y Skroch 1991). En general, se ha encontrado un potencial osmótico más negativo en las especies de robles que crecen en regiones más áridas (Parker et al. 1982; Bahari et al. 1985; Abrams y Knapp 1986). Los resultados de este trabajo coinciden con estas conclusiones. Por tanto, la reducción del potencial osmótico en el punto de pérdida de turgencia podría ser un rasgo característico de las especies de Quercus adaptadas a climas con períodos de estrés hídrico.

En condiciones de estrés hídrico, las paredes celulares elásticas de los robles caducifolios experimentan una mayor pérdida de agua en comparación con las especies perennifolias. Si el cierre de los estomas se activa por la pérdida de turgencia celular, cuanto mayor sea el módulo de elasticidad de pared celular, más rápido se cerrarán los estomas y, por tanto, mayor será el contenido de agua simplástica en la celula. Esto se confirma con los resultados obtenidos que muestran que una mayor rigidez de la pared celular está asociada a un menor S_{tlp} y a un mayor S (Tabla 1, Fig. 5). Otros autores también han encontrado una relación positiva entre la rigidez de la pared celular y S (Cutler et al. 1977; Düring 1986; Rascio et al. 1988; Kubiske y Abrams 1991; Wan et al. 1993; Fan et al. 1994). La capacidad para mantener una cantidad adecuada de agua en la celula a bajos potenciales hídricos podría ser una característica adaptativa en especies que experimentan un estrés hídrico moderado (como por ejemplo los robles nemorales). Un alto grado de elasticidad de la pared celular podría, por tanto, permitir una turgencia positiva en las células.

El conjunto de rasgos encontrados en los robles mediterráneos perennifolios han sido considerados como característicos de las especies adaptadas a un alto nivel de estrés hídrico (Turner 1994). Estas especies, en comparación con las caducifolias, son capaces de desarrollar un mayor potencial de turgencia, a medida que el potencial hídrico desciende, y de perder turgencia a menores potenciales hídricos en las hojas. Esto podría estar relacionado con las especies que presentan una estrategia de ahorro de agua (sensu Levitt 1980). Las especies caducifolias nemorales tenderían a mantener turgencia a expensas de una mayor pérdida de agua en el punto de pérdida de turgencia (Jane y Green 1983; Wan et al. 1998). Los robles nemoromediterráneos presentaron unas paredes celulares más elásticas aue los mediterráneos, pero similares π_0 y más bajos ψ_{tlp} que los robles nemorales. Esto les permite resistir mejor que los robles nemorales en condiciones de estrés hídrico, como ocurre en los veranos mediterráneos. Sin embargo, los robles nemoromediterráneos no crecen tan bien como los mediterráneos en suelos relativamente secos ya que no son capaces de crear altos gradientes de potencial hídrico en el suelo-planta-atmósfera. continuum Por tanto, constituyen un grupo ecofisiológico coherente según ciertos parámetros derivados de las curvas de presión-volumen (por ejemplo, ε_{max}).

En resumen, se han establecido tres grupos funcionales coherentes de robles en función de sus características foliares y de algunos parámetros hídricos derivados de las curvas de presión-volumen. Esta agrupación coincide con la situación fitoclimática de dichas especies. El módulo de elasticidad de pared máximo y el potencial hídrico en el punto de pérdida de clasificar turgencia sirvieron para claramente а las especies de roble estudiadas de acuerdo con su fitoclima. Este trabajo confirma que los robles nemoromediterráneos ocupan un nicho intermedio entre los robles nemorales y los mediterráneos, en función de las relaciones hídricas en sus tejidos, tal y como ya había sido sugerido por algunos fitoclimatólogos (Allué-Andrade 1990).

REFERENCIAS

Abrams MD (1990) Adaptations and responses to drought in *Quercus* species of North America. Tree Physiol 7: 227-238

Abrams MD, Knapp AK (1986) Seasonal water relations of three gallery forest hardwood species in northeast Kansas. For Sci 32: 687-696

Abrams MD, Menges ES (1992) Leaf ageing and plateau effect on seasonal pressure-volume relationships in three sclerophyllous *Quercus* species in southeastern USA. Funct Ecol 6: 353-360

Abrams MD, Schult JC, Kleiner KW (1990) Ecophysiological responses in mesic versus xeric hardwood species to an early-season drought in central Pennsylvania. For Sci 36: 970-981

Allué-Andrade JL (1990) Atlas Fitoclimático de España: Taxonomías. MAPA-INIA, Madrid

Bahari ZA, Pallardy SG, Parker WC (1985) Photosynthesis, water relations and drought adaptations in six woody species of oak-hickory forest in central Missouri. For Sci 31: 557-569

Burns RM, Honkala BH (1990)

Silvics of North America, 2: Hardwoods. US Dept. Agriculture, Washington

Calkin HW, Pearcy RW (1984) Leaf conductance and transpiration, and water relations of evergreen and deciduous perennials co-ocurring in a moist chaparral site. Plant Cell Environ 7: 339-346

Castroviejo S, Laínz M, López González G, Monserrat P, Muñoz Garmendia F, Paiva J, Villar L (1990) Flora Ibérica, Vol II. Real Jardín Botánico-CSIC, Madrid

Cheung YNS, Tyree MT, Dainty J (1975) Water relation parameters on single leaves obtained in a pressure bomb and some ecological considerations. Can J Bot 53: 1342-1346

Cutler JM, Rains DW, Loomis RS (1977) The importance of cell size in the water relations of plants. Physiol Plant 40: 255-260

Dreyer E, Bousquet F, Ducrey M (1990) Use of pressure volume curves in water relation analysis on woody shoots: influence of rehydration and comparison of four European oak species. Ann Sci For 47: 285-297

Düring H (1986) Testing for drought tolerance in grapevine scions. Angew Bot 60: 103-111

Eamus D, Narayan A (1990) A pressure volume analysis of *Solanum melongena* leaves. J Exp Bot 41: 661-668

Fan S, Blake TJ, Blumwald E (1994) The relative contribution of elastic and osmotic adjustments to turgor maintenance of woody species. Physiol Plant 90: 408-413

Fernández M, Gil L, Pardos JA (1999) Response of *Pinus pinaster* Ait. provenances at early age to water supply. I. Water relation parameters. Ann For Sci 56: 179-187

García-López JM (2000) Homologación fitoclimática entre España y Turquía. Investigación Agraria: Sistemas y Recursos Forestales 9: 59-87

Govaerts R, Frodin D (1998) World checklist and bibliography of *Fagales* (*Betulaceae*, *Corylaceae*, *Fagaceae* and *Ticodendraceae*). The Royal Botanic Gardens, Kew, UK

Groom PK, Lamont BB (1997) Xerophytic implications of increased sclerophylly: interactions with water and light in *Hakea psilorrhyncha* seedlings. New Phytol 136: 231-237

Hietz P, Briones O (1998) Correlation between water relations and within-canopy distribution of epiphytic ferns in a Mexican cloud forest. Oecologia 114: 305-316

Hinckley TM, Duhme F, Hinckley AR, Richter H (1980) Water relations of drought hardy shrubs: osmotic potential and stomatal reactivity. Plant Cell Environ 3: 131-140 Jane GT, Green TGA (1983) Utilisation of pressure volume techniques and non linear least squares analysis to investigate site induced stress in evergreen trees. Oecologia 67: 380-390

Krüssmann G (1986) Manual of cultivated broad-leaved trees and shrubs. Vol. III. Timber Press, Portland, Oregon.

Kubiske ME, Abrams MD (1991) Seasonal, diurnal and rehydration-induced variations of pressure-volume relations in *Pseudotsuga menziesii*. Physiol Plant 83: 107-116

Kummerow J (1973) Comparative anatomy of sclerophylls of Mediterranean climatic areas. In: Di Castri F, Mooney HA (eds) Mediterranean-type Ecosystems: Origin and Structure, Springer, Berlin, pp 213-224

Kwon KW, Pallardy SG (1989) Temporal changes in tissue water relations of seedlings of *Q. acutissima*, *Q. alba* and *Q. stellata* subjected to chronic water stress. Can J For Res 19: 622-626

Legendre P, Legendre L (1998) Numerical ecology. Elsevier, Amsterdam

Levitt J (1980) Responses of Plants to Environmental stresses. Water, Radiation, Salt, and other Stresses, Vol. II. Academic Press, New York

Lo Gullo MA, Salleo S, Rosso R (1986) Drought avoidance strategy in *Ceratonia siliqua* L., a mesomorphicleaved tree in the xeric Mediterranean area. Ann Bot 58: 745-756

Lo Gullo MA, Salleo S (1988) Different strategies of drought resistance in three Mediterranean sclerophyllous trees growing in the same environmental conditions. New Phytol 108: 267-276

Manos PS, Doyle JJ, Nixon KC (1999) Phylogeny, Biogeography, and processes of molecular differentiation in *Quercus* subgenus *Quercus* (*Fagaceae*). Mol Phyl Evol 12: 333-349

Mitrakos K (1980) A theory for Mediterranean plant life. Acta Oecol/Oecol Plant 15: 245-252

Morgan JM (1984) Osmoregulation and water stress in higher plants. Rev Plant Physiol 35: 299-319

Morrow PA, Mooney HA (1974) Drought adaptations in two Californian evergreen sclerophylls. Oecologia 15: 205-222

Naidu SL, DeLucia EH (1997) Growth, allocation and water relations of shade-grown *Quercus rubra* L. saplings exposed to a late-season canopy gap. Ann Bot 80: 335-344

Nardini A, Lo Gullo MA, Tracanelli S (1996) Water relations of six sclerophylls growing near Trieste (Northeastern Italy): has sclerophylly a univocal functional significance? Giornale Botanico Italiano 130: 811-828 Neufeld HS, Teskey RO (1986) Variation in the amount of foliage on woody shoots and its effects on water relations parameters derived from pressurevolume curves. Can J For Res 16: 239-243

Nixon KC (1993) Infrageneric classification of *Quercus (Fagaceae)* and typification of sectional names. Ann Sci For 50: 25-34

Oertli JJ, Lips SH, Agami M (1990) The strength of sclerophyllous cells to resist collapse due to negative turgor pressure. Acta Oecol 11: 281-289

Parker WC, Pallardy SG (1987) The influence of resaturation method and tissue type on pressure-volume analysis of *Quercus alba* seedlings. J Exp Bot 38: 536-549

Parker WC, Pallardy SG, Hinckley TM, Teskey RO (1982) Seasonal changes in tissue water relations of three woody species of the *Quercus-Carya* forest type. Ecology 63: 1259-1267

Patakas A, Noitsakis B (1997) Cell wall elasticity as a mechanism to maintain favorable water relations during leaf ontogeny in grapevines. Am J Enol Viticulture 48: 352-356

Pignatti S (1982) Flora d'Italia. Edagricola, Bologna

Poole DK, Miller PC (1975) Water relations of selected species of chaparral and coastal communities. Ecology 56: 1118-1128 Ranney TG, Skroch WA (1991) Comparative drought resistance among six species of birch (*Betula*): influence of mild water stress on water relations and leaf gas exchange. Tree Physiol 8: 351-360

Rascio A, Cedola MC, Sorrentino G, Pastore D, Wittmer G (1988) Pressurevolume curves and drought resistance in two wheat genotypes. Physiol Plant 73: 122-127

Richards MB, Lamont BB (1996) Post-fire mortality and water relations of three congeneric shrub species under extreme water stress –a trade-off with fecundity? Oecologia 107: 53-60

Richter H, Duhme F, Glatzel G, Hinckley TM, Karlic H (1980) Some limitations and applications of the pressurevolume curve technique in ecophysiological research. In: Grace J, Ford ED, Jarvis PG (eds) Plants and their Atmospheric Environment. Blackwell, Oxford, pp 263-272

Ricklefs RE, Matthew KK (1982) Chemical characteristics of the foliage of some deciduous trees in southeastern Ontario. Can J Bot 60: 2037-2045

Rivas-Martínez S, Sáenz-Lain C (1991) Enumeración de los *Quercus* de la Península Ibérica. Rivasgodaya 6: 101-110

Roberts SW, Strain BR, Knoerr R (1980) Seasonal patterns of leaf water relations in four co-ocurring forest tree species: parameters from pressure-volume curves. Oecologia 46: 330-337

Salleo S, Lo Gullo MA (1985) Hydraulic architecture of plants in the Mediterranean environment. Annali di Botanica 93: 83-100

Salleo S, Lo Gullo MA (1990) Sclerophylly and plant water relations in three Mediterranean *Quercus* species. Ann Bot 65: 259-270

Salleo S, Nardini A, LoGullo MA (1997) Is sclerophylly of Mediterranean evergreens an adaptation to drought? New Phytol 135: 603-612

Scholander PF, Hammel HT, Bradstreet ED, Hemmingsen EA (1965) Sap pressures in vascular plants. Science 148: 339-346

Seddon G (1974) Xerophytes, xeromorphs and sclerophylls: the history of some concepts in ecology. Biol J Linnean Soc 6: 65-87

Sisó S, Camarero JJ, Gil-Pelegrín E (2001) Relationship between hydraulic resistance and leaf morphology in broadleaf *Quercus* species: a new interpretation of leaf lobation. Trees: Structure and Function 15: 341-345

Sobrado MA (1986) Aspects of tissue water relations and seasonal changes of leaf water potential components of evergreen and decidious species coexisting in tropical dry forest. Oecologia 68: 413-416 Sokal RR, Rohlf FJ (1995) Biometry: the principles and practice of statistics in biological research. Freeman, New York

Talbot AJB, Tyree MT, Dainty J (1975) Some notes concerning the measurement of water potentials of leaf tissue with specific reference to *Tsuga canadensis* and *Picea abies*. Can J Bot 53: 784-788

ter Braak CJF (1988) CANOCO -a Fortran program for canonical community ordination by [partial] [detrended] [canonical] correspondence analysis, principal component analysis and redundancy analysis (version 2.1). Agricultural Mathematics Group, Wageningen, The Netherlands

ter Braak CJF (1995) Ordination. In: Jongman RHG, ter Braak CJF, van Tongeren OFR (eds) Data analysis in community and landscape ecology. Cambridge University Press, Cambridge, pp 91-174

ter Braak CJF, Šmilauer P (1998) CANOCO release 4 reference manual and user's guide to Canoco for Windows – Software for canonical community ordination. Microcomputer Power, Ithaca, New York

Tschaplinski TJ, Gebre GM, Shirshac TL (1998) Osmotic potential of several harwood species as affected by manipulation of throughfall precipitation in an upland oak forest during a dry year. Tree Physiol 18: 291-298

Turner NC (1988) Measurement of plant water status by the pressure chamber technique. Irrigation Sci 9: 289-308

Turner IM (1994) Sclerophylly: primarily protective? Funct Ecol 8: 669-675

Tutin TG, Heywood VH, Burges NA, Valentine DH, Walters SM, Webb DA (1964) Flora Europaea. Cambridge University Press, Cambridge

Tyree MT, Hammel HT (1972) The measurement of the turgor pressure and the water relations of plants by the pressurebomb technique. J Exp Bot 23: 267-282

Tyree, MT (1976) Physical parameters of the soil-plant-atmosphere system: Breeding for drought resistance characteristics that might improve wood yield. In: Cannell MGR, Last FT (eds) Tree physiology and yield improvement. Academic Press, New York, pp 329-348

Tyree MT, Jarvis PG (1982) Water in tissues and cells. In: Lange OL, Nobel PL, Osmond CB, Ziegler H (eds) Encyclopedia of plant physiology, Physiological Plant Ecology II. Springer, Berlin, pp 35-77

Walter H (1973) Vegetation of the Earth. Springer, New York

Wan C, Sosebee RE, McMichael BL (1993) Drought induced changes in water relations in broom snakeweed (*Gutierrezia*

sarothrae) under greenhouse and fieldgrown conditions. Environ Exp Bot 33: 323-330

Wan C, Sosebee RE, McMichael BL (1998) Water relations and root growth of two populations of *Gutierrezia sarothrae*. Environ Exp Bot 39: 11-20

Witkwoski ETF, Lamont BB (1991) Leaf specific mass confounds leaf density and thickness. Oecologia 84: 362-370

Zhang WH, Prado C, Zhang WH (1998) Water relations balance parameters of 30 woody species from Cerrado vegetation. J For Res 9: 233-239

Zine El Abidine A (1994) Water relations parameters of lowland and upland black spruce: seasonal variations and ecotypic differences. Can J For Res 24: 587-593

Zobel DB (1996) Variation of water relations parameters with extended rehydration time, leaf form, season, and proportion of leaf. Can J For Res 26: 175-185

CAPITULO 2. Comparación de dos métodos para generar curvas presión-volumen en especies del género *Quercus*

CAPITULO 2

COMPARACION DE DOS METODOS PARA GENERAR CURVAS PRESION-VOLUMEN EN ESPECIES DEL GENERO *Quercus*

RESUMEN

Se compararon los parámetros hídricos derivados de las curvas presión-volumen en ocho especies del género Quercus pertenecientes a distintos fitoclimas: mediterráneo (Q. coccifera L., Q. ilex ssp. ballota L. y Q. suber L.), nemoral (Q. laurifolia Michx. y Q. rubra L.) y nemoro-mediterráneo (Q. cerris L., Q. faginea Lam. y Q. pyrenaica Willd.), empleando las técnicas de expresión de savia (ES) y de transpiración libre (TL). Los métodos proporcionaron diferentes resultados en el contenido relativo de agua simplástica (S) en todas las especies, y los mismos resultados en el contenido relativo de agua simplástica extraído en el punto de pérdida de turgencia (S_{ppt}) y en el módulo de elasticidad de pared máximo (ε_{max}) en todas las especies excepto en Q. pyrenaica. En las especies nemorales se obtuvieron los mismos resultados con ambos métodos en todos los parámetros hídricos, excepto en S. La mayoría de las especies mediterráneas (Q. coccifera y Q. ilex) presentaron diferencias en todos los parámetros estudiados, excepto en ε_{max} y S_{ppt}. Las especies nemoro-mediterráneas se comportaron de forma diferente, O. cerris se comportó igual que las especies mediterráneas y Q. faginea como las especies nemorales, en todos los parámetros hídricos. Los valores más negativos de potencial osmótico a plena turgencia (π_0) y potencial hídrico en el punto de pérdida de turgencia (ψ_{ppt}), y los valores más altos de S en las especies más esclerófilas, indicaron una tendencia a la obtención de una menor pendiente en la región lineal con el método de TL en dichas especies. Estas diferencias impidieron que la agrupación de las especies en función de los parámetros hídricos derivados de las curvas P-V fuese la misma con ambos métodos.

Corcuera L. Comparación de dos métodos para generar curvas presión-volumen en especies del género *Quercus*. 2003. Investigación Agraria, Serie: Sistemas y Recursos Forestales (aceptado)

INTRODUCCIÓN

Los parámetros hídricos derivados de presión-volumen las curvas han complementado los estudios de morfología, anatomía y fisiología en diferentes especies de robles (Abrams, 1990; Dreyer et al., 1990; Salleo et al., 1990; Momen et al., 1992), permitiendo caracterizar la estrategia adoptada por estos frente al estrés hídrico (Levitt, 1980). Los robles de las zonas más áridas presentan potenciales osmóticos a plena turgencia más negativos y mayores ajustes osmóticos (Parker et al., 1982; Parker, 1988; Abrams, 1988, 1990; Dreyer et al., 1990). Esto les permite tomar agua del suelo en condiciones de seguía (Tyree, 1976) y el mantenimiento de un potencial de turgencia positivo a valores más bajos de hídrico, favoreciendo potencial el crecimiento celular (Green et al., 1971). Por otra parte, las paredes celulares poco elásticas crean un gradiente de potencial que permite a la planta absorber agua en suelos secos con pequeñas pérdidas en el contenido relativo de agua simplástica (Lo Gullo et al., 1986). El módulo de elasticidad de pared máximo (ε_{max}) y el potencial hídrico en el punto de pérdida de turgencia (ψ_{ppt}) han caracterizado grupos funcionales en especies del género Quercus pertenecientes fitoclimas, а distintos los robles nemoroconfirmando que mediterráneos ocupan un nicho ecológico

intermedio entre los robles nemorales y los mediterráneos (Corcuera *et al.* 2002). Los robles nemoro-mediterráneos presentan unas características fisiológicas que les permiten resistir mejor las condiciones de estrés hídrico que los nemorales, aunque no tan bien como los mediterráneos.

La técnica de transpiración libre para la obtención de curvas presiónvolumen (curvas P-V) (Tyree y Hammel, 1972), constituye un método fiable para la cuantificación de parámetros hídricos y es, por tanto, una herramienta muy empleada en la investigación de las relaciones hídricas en las plantas. Existe un método alternativo propuesto por Talbot et al. (1975), Richter (1978) y descrito para la cámara de presión por Hinckley et al. Los procedimientos (1980). dos se diferencian en la forma en que se determina el cambio en el contenido de agua simplástica entre dos mediciones sucesivas del potencial hídrico **(Ψ)**. Con el procedimiento de transpiración libre (TL), se permite que el órgano se seque bajo las condiciones ambientales del laboratorio (Hinckley et al., 1980; Kikuta et al., 1985). El contenido hídrico del tejido se determina midiendo los cambios de peso fresco que ocurren durante el periodo de desecación. Con el procedimiento de expresión de la savia (ES), el órgano pierde agua mediante su sobrepresurización dentro de la cámara

Corcuera L. Comparación de dos métodos para generar curvas presión-volumen en especies del género *Quercus*. 2003. Investigación Agraria, Serie: Sistemas y Recursos Forestales (aceptado)

de presión (Cheung *et al.*, 1975). La savia del xilema que libera la muestra mientras está dentro de la cámara de presión se recoge y se pesa. En el método de libre transpiración, la muestra se deshidrata por transpiración fuera de la cámara de presión. Este método simula mejor la deshidratación natural de las plantas (transpiración estomática y cuticular) que el empuje artificial de savia a través del tallo hacia la superficie cortada por el método de expresión de savia. Además, un único operario puede realizar varias curvas P-V a la vez, empleando una sola cámara.

En este trabajo se obtuvieron los parámetros hídricos derivados de las curvas P-V: ε_{max} , ψ_{ppt} , potencial osmótico a plena turgencia (π_0), contenido hídrico relativo en el punto de pérdida de turgencia (CHR_{ppt}), contenido relativo de agua simplástica (S) y contenido relativo de agua simplástica liberada en el punto de pérdida de turgencia (S_{ppt}) , en varias especies de robles. Hasta la fecha se han realizado estudios que comparaban ambos procedimientos en hojas de frondosas y brotes de coníferas con diferente estado hídrico (Parker y Pallardy, 1987), en varios tejidos de distinto estado de desarrollo (Ritchie y Roden, 1985), pero en una sola especie (Parker y Colombo 1995). En el presente estudio se compararon las dos metodologías en brotes de ocho especies del género Quercus: Q.

cerris, Q. coccifera, Q. faginea, Q. ilex ssp. ballota, Q. laurifolia, Q. pyrenaica, Q. rubra y Q. suber, con el mismo estado de desarrollo, que crecieron en las mismas condiciones ambientales y sin limitación de agua. Las especies se eligieron con el propósito de representar una variada morfología y hábito foliar, desde especies típicamente mediterráneas como *O*. coccifera, de hoja pequeña, esclerófila y hasta especies de climas perenne eurosiberianos como Q. petraea, de hoja grande, poco esclerófila y decidua. El propósito del estudio fue determinar si la especie o las características foliares influyen en los resultados obtenidos con ambos métodos y si el comportamiento de las especies de los distintos fitoclimas, en función de sus parámetros hídricos, se mantiene, independientemente del método empleado.

MATERIAL Y METODOS Material vegetal

Se escogieron ocho especies del género *Quercus* que presentan dos tipos de hoja: perenne (*Q. coccifera* L., *Q. ilex* ssp. *ballota* L. y *Q. suber* L.) y decidua (*Q. cerris* L., *Q. faginea* Lam., *Q. laurifolia* Michx., *Q. pyrenaica* Willd. y *Q. rubra* L.) y que pertenecen a distintos fitoclimas: mediterráneo (*Q. coccifera, Q. ilex* ssp. *ballota* y *Q. suber*), nemoral (*Q. laurifolia*

Corcuera L. Comparación de dos métodos para generar curvas presión-volumen en especies del género *Quercus*. 2003. Investigación Agraria, Serie: Sistemas y Recursos Forestales (aceptado)

y *Q. rubra*) y nemoro-mediterráneo (*Q. cerris*, *Q. faginea* y *Q. pyrenaica*) (Tutin *et al.*, 1964; Walter, 1973; Krüsmann, 1986; Allué-Andrade, 1990; Castroviejo *et al.*, 1990).

Se emplearon plántulas de dos savias que fueron cultivadas en el interior de un umbráculo situado en los campos experimentales del Servicio de Investigación Agroalimentaria de Zaragoza. El techo del umbráculo se cubrió con una pantalla que reducía la intensidad de luz un 40 % de la radiación total. Según los datos meteorológicos, sólo el 5% de los días estuvieron nublados durante el verano, por tanto, el régimen de luz fue bastante regular durante la estación de crecimiento. La temperatura media de las máximas y mínimas durante la estación de crecimiento (marzo-julio) en el lugar de estudio fue de 24,9 °C y 10,4 °C, respectivamente (datos de la estación meteorológica de Aula Dei 1986-1999). Las condiciones climáticas en el interior del umbráculo fueron registradas por un termohidrógrafo (JRI MINIDISQUE 165-00, Jules Richard Instrument, Argenteuil, France). La temperatura media durante las estaciones de crecimiento de los 1997, 1998 años v 1999 no fue significativamente diferente (P>0,001) de las citadas anteriormente.

Las semillas de las especies de la Península Ibérica (Q. suber, Q. coccifera, Q. ilex ssp. ballota, Q. pyrenaica, Q. faginea y Q. robur) se obtuvieron del Centro Nacional de Mejora Genética Forestal "El Serranillo" (Guadalajara, Ministerio de Medio Ambiente). Las semillas de Q. cerris y Q. laurifolia fueron proporcionadas por Sandeman Seeds Co. La planta se cultivó en contenedores cilíndricos de dos litros de capacidad que se llenaron con sustrato de arena. El aporte nutritivo se realizó con abono de liberación lenta (Osmocote Plus, cinco a seis meses de liberación a 21 °C, Sierra Chemical Co., Milpitas, California) tal y como describen Naidu y DeLucia (1997). El abono (tres gramos por litro de sustrato) fue añadido al comienzo del experimento en los 10 cm superiores de la arena. Las plantas se regaron durante el transcurso de todo el experimento con una frecuencia de dos veces al día (mañana y tarde). Las curvas P-V se realizaron en brotes del año con hojas completamente desarrolladas, en cinco plantas por especie. El corto peciolo de las hojas de las especies mediterráneas no sobresalía por encima de la goma de sellado de la cámara de presión. Por este motivo, y con objeto de obtener resultados comparables, se emplearon brotes con 5-6 hojas en todas las especies. El porcentaje de peso seco del tallo con respecto al peso seco total del brote fue máximo en Q.suber (29,5 \pm 1,8) y mínimo en *Q. laurifolia* (12,4 \pm 0,8); en el resto de las especies fue similar,

Corcuera L. Comparación de dos métodos para generar curvas presión-volumen en especies del género *Quercus*. 2003. Investigación Agraria, Serie: Sistemas y Recursos Forestales (aceptado)

oscilando entre un 22,5 \pm 1,8 en Q. faginea y un 17,0 \pm 1,4 en *Q. cerris*. Debido a esta moderada variación en el peso foliar, se consideró justificado el empleo de brotes en lugar de hojas. Variaciones de hasta un 40 % en el peso seco foliar no causaron diferencias en las estimaciones de los parámetros hídricos (Neufeld y Teskey, 1986). En julio de 1998 se empleó el método de ES y en julio de 1999 el método de TL. Las plantas se encontraban en el mismo estado fenológico, eliminando así posibles fuentes de variación debidas a este factor (Kwon y Pallardy 1989). Todas crecieron en el mismo lugar, bajo condiciones ambientales de temperatura e irradiación iguales (P>0,001), y en el mismo sustrato regado hasta capacidad de campo todos los días. Por tanto, se descarta la variación en los parámetros hídricos debida а cambios medioambientales (Abrams 1988).

Curvas de presión-volumen

En ambos métodos se cortó el brote terminal, se envolvió en plástico y se recortó el tallo bajo agua para eliminar el aire del xilema. Para su rehidratación se introdujo en una cámara frigorífica oscura, con el extremo sumergido en agua destilada durante la noche. A la mañana siguiente se cortó la base del tallo con una cuchilla. Una vez hidratado, se obtuvo el peso con una balanza de 1 mg de precisión y el potencial hídrico (Ψ) inicial con la cámara de presión. Las curvas se analizaron para evitar la existencia de posibles mesetas debidas a una excesiva absorción de agua apoplástica en los espacios intercelulares. Este fenómeno tiene lugar en la región de altos potenciales de presión, cuando el potencial hídrico permanece estable o disminuye solo ligeramente con la deshidratación del tejido (Dreyer et al., 1990; Kubiske y Abrams, 1991; Abrams y Menges, 1992). Se descartaron las muestras con un valor inicial de Ψ no comprendido entre 0,05 y 0,10 MPa (Salleo, 1983). Se empleó una mezcla de aire comprimido (25 %) y nitrógeno (75 %) ya que la exposición de los tejidos vegetales al nitrógeno puro durante un periodo prolongado puede dañar las células (Cheung et al., 1975).

Con el método de TL el brote se secó bajo las condiciones ambientales del laboratorio y se midió su peso fresco y potencial hídrico a intervalos regulares. Para poder apreciar con precisión la emergencia de la savia se empleó una lupa binocular. En cada medición de Ψ , se obtuvieron dos mediciones de peso fresco. inmediatamente la una antes de determinación de Ψ y otra inmediatamente después. La media de estas dos medidas de peso fresco se empleó para el cálculo del contenido hídrico relativo del tejido (CHR).

Corcuera L. Comparación de dos métodos para generar curvas presión-volumen en especies del género *Quercus*. 2003. Investigación Agraria, Serie: Sistemas y Recursos Forestales (aceptado)

El procedimiento se repitió hasta alcanzar presiones de alrededor de 5 MPa.

Con el método de ES el brote perdió agua mediante una sobre-presurización dentro de la cámara de presión. En primer lugar se obtuvo el peso saturado del brote, se envolvió en film plástico y se midió el valor inicial de Ψ . Posteriormente se sometió a una presión de 0,2 MPa más alta que la presión inicial durante seis minutos y se esperó durante cuatro minutos. Se disminuyó la presión en la cámara 0,2 MPa durante seis minutos y se esperó durante otros cuatro minutos. Durante este tiempo, el agua liberada se recogió en un tubo de plástico relleno de bayeta absorbente encajado firmemente al final del tallo para evitar la pérdida de agua por evaporación. El peso del agua liberada se restó del peso saturado del brote para obtener el peso fresco. Después se obtuvo un nuevo valor de Ψ , que dependió de la cantidad de agua perdida durante el previo periodo de sobrepresurización. El brote se expuso a otro periodo de sobrepresurización y se repitió el ciclo.

Tras la realización de las medidas, los brotes se secaron en estufa a 70° C durante 72 horas y se pesaron con precisión del miligramo para el cálculo de los parámetros relativos al volumen de agua. Los datos obtenidos permitieron construir la curva de P-V, es decir, la representación gráfica de la inversa del potencial hídrico de la muestra frente al volumen de agua simplástica expresada (Ve) (Fig. 1). Se asumió que la fracción de agua apoplástica permaneció constante en el rango de potenciales hídricos alcanzados (Tyree y Richter, 1981). A partir de las isotermas de Ψ se estimaron los parámetros hídricos (Tyree *et al.*, 1978). Ψ_{ppt} se obtuvo mediante la extrapolación del punto de la curva en que ésta comienza a ser lineal hasta $V_e = 0$ mediante una recta paralela al eje de las X. π_o se estimó extrapolando la parte de la curva que es lineal hasta el eje de las Y (Fig. 1). El módulo de elasticidad de un tejido, ε , se define como el cambio en la presión de turgencia para un cambio determinado en el peso de agua simplástica (Tyree y Hammel, 1972; Cheung et al., 1975). ɛ aumenta de forma no lineal con la presión de turgencia hasta un máximo a partir del cual se hace aproximadamente constante (Cheung et al., 1976). Se calculó el módulo de elasticidad de pared a plena turgencia (ε_{max}) determinando la pendiente de esta línea а plena turgencia $\varepsilon_{max} = \Delta P / \Delta W * W_o$, siendo P el potencial de turgencia, Wo el peso total de agua simplástica y W el peso de agua simplástica en un momento dado (Salleo, 1983). Wo se mediante obtuvo la intercepción

Corcuera L. Comparación de dos métodos para generar curvas presión-volumen en especies del género *Quercus*. 2003. Investigación Agraria, Serie: Sistemas y Recursos Forestales (aceptado)

de la parte recta de la curva P-V con la abcisa (Tyree y Hammel, 1972). CHR_{ppt} se calculó a partir de los valores de peso fresco (PF) o peso del brote en el punto de pérdida de turgencia, peso en turgencia (PT) o peso del brote completamente hidratado antes de la realización de la curva P-V y peso seco

(PS) o peso del brote una vez secado en estufa (Turner, 1988); CHR_{ppt} (%)= [(PF-PS) / (PT-PS)] * 100. S se calculó como S (%)= W_o / (PT-PS) * 100 (Pavlik, 1984). S_{ppt} se obtuvo a partir de S_{ppt} (%) = (PT-PF) / W_o * 100.



Figura 1. Detalle de la parte de las curvas P-V de *Q. ilex* ssp *ballota* donde se aprecian las diferencias obtenidas en el potencial hídrico en el punto de pérdida de turgencia (Ψ_{ppt}) y el potencial osmótico a plena turgencia (π_o) según el método empleado, TL (líneas discontínuas) y ES (líneas contínuas).

Análisis estadístico

La normalidad de los datos se contrastó mediante el test de Kolmogorov-Smirnov. La correlación entre los parámetros obtenidos con ambos métodos se obtuvo con el test de Pearson. Para determinar la existencia de diferencias significativas entre medias de los parámetros hídricos (p > 0,05), en función de los dos métodos empleados, para cada

Corcuera L. Comparación de dos métodos para generar curvas presión-volumen en especies del género *Quercus*. 2003. Investigación Agraria, Serie: Sistemas y Recursos Forestales (aceptado)

una de las especies, se realizó el test t de Student (Sokal y Rohlf, 1995). El test de Levene detectó heterogeneidad significativa en las varianzas de π_0 y S_{ppt} (p > 0.05), que se eliminó mediante una transformación $x^{1/2}$. La variabilidad interespecífica de los parámetros de las curvas P-V se obtuvo mediante un Análisis de Componentes Principales (ACP). Se asumió que la relación entre las variables era lineal (ter Braak, 1995). Se emplearon los valores medios de los parámetros hídricos para cada especie. La representación gráfica del diagrama de ordenación se simplificó mostrando solamente los vectores (flechas) de los parámetros hídricos: ε_{max} , π_0 , ψ_{ppt} , S, S_{ppt} y CHR_{ppt} (Legendre y Legendre, 1998). Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa estadístico SPSS (ver. 6.1.2.) excepto el ACP, para el que se utilizó Canoco 4.0 (ter Braak, 1988; ter Braak y Šmilauer, 1998).

RESULTADOS

 ψ_{ppt} fue el único parámetro que mostró una correlación significativa entre ambos métodos para todas las especies (Fig. 2). El método de TL produjo valores más altos de ε_{max} , π_o , ψ_{ppt} y S y valores más bajos de S_{ppt} y CHR_{ppt}. *Q. laurifolia* y *Q. faginea* se encontraron en la diagonal (es decir, produjeron idénticos resultados) en la mayoría de los parámetros.

Todos los parámetros hídricos siguieron una distribución normal (p >10 permitió 0.05). que realizar la comparación de medias con el test t de Student. Las especies nemorales y Q. faginea mostraron los mismos resultados ambos métodos, excepto en con el porcentaje de agua simplástica (Tabla 1). Este parámetro presentó diferencias significativas entre los dos métodos en todas las especies. Las especies mediterráneas, Q. coccifera y Q. ilex, y Q. cerris mostraron diferencias significativas en todos los parámetros hídricos excepto en ε_{max} y S_{ppt}. Estos parámetros dieron los mismos resultados con ambos métodos en todas las especies excepto en Q. pyrenaica.

Corcuera L. Comparación de dos métodos para generar curvas presión-volumen en especies del género *Quercus*. 2003. Investigación Agraria, Serie: Sistemas y Recursos Forestales (aceptado)



Figura 2. Representación gráfica de los valores medios por especie de cada uno de los parámetros hídricos por el método de ES y de TL. R= índice de correlación según Pearson y p = probabilidad. Las abreviaturas de las especies son: *Q. cerris* (CE), *Q. coccifera* (CO), *Q. faginea* (FA), *Q. ilex* ssp. *ballota* (IL), *Q. laurifolia* (LA), *Q. pyrenaica* (PY), *Q. rubra* (RU) y *Q. suber* (SU).

Corcuera L. Comparación de dos métodos para generar curvas presión-volumen en especies del género *Quercus*. 2003. Investigación Agraria, Serie: Sistemas y Recursos Forestales (aceptado)

Tabla 1. Valores medios y errores estándar de los parámetros ψ_{ppt} , π_o , ε_{max} , S, RWC_{ppt} y S_{ppt} en las ocho especies del género *Quercus* para los métodos de expresión de savia (ES) y de transpiración libre (TL). \blacklozenge (especies mediterráneas), \diamondsuit (especies nemorales), \diamondsuit (especies nemoro-mediterráneas). Las comparaciones entre medias se hicieron con el test *t* de Student. Niveles de significación: ns = no significativo (P > 0,05); * = P $\le 0,05$; ** = P $\le 0,01$.

Especie	método	$\psi_{ppt}(-MPa)$	$\pi_{o}(-MPa)$	ϵ_{max} (MPa)	S (%)	RWC _{ppt} (%)	S_{ppt} (%)
Q. coccifera	ES	$2,65 \pm 0,06$	$2,07 \pm 0,06$	$19,38 \pm 1,79$	$43,79 \pm 1,72$	$90,10 \pm 0,67$	$22,61 \pm 1,12$
•	TL	$3,09 \pm 0,06$	$2,55 \pm 0,07$	$20,27 \pm 1,83$	$75,73 \pm 6,22$	$85,19 \pm 1,10$	$19,93 \pm 1,85$
		**	**	ns	**	**	ns
Q. ilex	ES	$2,\!54\pm0,\!06$	$2,\!02\pm0,\!03$	$18,08 \pm 2,00$	57,50 ± 2,93	87,75 ± 1,26	$20,\!20 \pm 2,\!35$
♦	TL	$3,03 \pm 0,06$	$2{,}58 \pm 0{,}05$	$19,55 \pm 1,34$	$77,81 \pm 3,18$	$82,93 \pm 1,21$	$21,71 \pm 1,89$
		**	**	ns	**	*	ns
Q. cerris	ES	$3,\!05\pm0,\!08$	$2{,}22\pm0{,}06$	$12,55 \pm 2,09$	$47,36 \pm 7,43$	$87{,}28\pm0{,}58$	$28,10 \pm 3,40$
	TL	$3,59 \pm 0,07$	$2,66 \pm 0,07$	$16,51 \pm 1,39$	$90,25 \pm 3,27$	$75,62 \pm 1,49$	$28,30 \pm 1,18$
		**	**	ns	**	**	ns
Q. rubra	ES	$2,\!49\pm0,\!03$	$1,\!97\pm0,\!07$	$14,66 \pm 1,32$	$52,02 \pm 3,17$	$88,77 \pm 1,81$	$21,83 \pm 3,44$
\diamond	TL	$2,\!53\pm0,\!04$	$2{,}13\pm0{,}05$	$17,57 \pm 1,43$	$90,\!77\pm3,\!07$	$85{,}29\pm1{,}13$	$16,\!34\pm1,\!53$
		ns	ns	ns	**	ns	ns
Q. laurifolia	ES	$2,\!48\pm0,\!06$	$2{,}00\pm0{,}09$	$15,\!77\pm1,\!00$	$52,\!93 \pm 4,\!59$	$89,34\pm0,93$	$24,15 \pm 4,42$
\diamond	TL	$2,\!46\pm0,\!08$	$1,\!97\pm0,\!06$	$15,\!22 \pm 0,\!84$	$83,\!10\pm2.74$	$86{,}57\pm0{,}89$	$19,74\pm0,56$
		ns	ns	ns	**	ns	ns
Q. faginea	ES	$2,\!95\pm0,\!09$	$2,\!32\pm0,\!06$	$16,86 \pm 1,66$	$57{,}68 \pm 6{,}01$	$87,91 \pm 1,79$	$21,32 \pm 2,86$
	TL	$2,\!97\pm0,\!07$	$2,\!39\pm0,\!07$	$16,42 \pm 1,76$	$80,\!18\pm1,\!51$	$83,\!54\pm0,\!95$	$20,52 \pm 1,10$
		ns	ns	ns	**	ns	ns
Q. suber	ES	$2,71\pm0,04$	$2{,}24\pm0{,}09$	$17{,}90\pm0{,}86$	$56{,}60\pm7{,}38$	$88,\!07\pm2,\!82$	$18,\!50\pm1,\!96$
♦	TL	$3,\!09\pm0,\!11$	$2,\!46\pm0,\!06$	$17,\!99\pm0,\!98$	$78,\!70\pm4,\!71$	$83,\!05 \pm 1,\!60$	$21,\!93\pm2,\!74$
		*	ns	ns	*	ns	ns
Q. pyrenaica	ES	$3,10 \pm 0,06$	$1,98 \pm 0,07$	$11,45 \pm 0,87$	$48,50 \pm 9,00$	82,86 ± 1,38	$37,75 \pm 3,18$
	TL	$3,17\pm0,10$	$2{,}59\pm0{,}12$	$18,\!68\pm1,\!15$	$88,\!49 \pm 3,\!93$	$83,\!55\pm1,\!79$	$18,\!97 \pm 2,\!86$
		ns	**	**	**	ns	**

En el método de ES el primer componente del ACP (eje I) explicó el 92.1 % de la variación total, mientras que el segundo componente (eje II) explicó el 5,6 % (Fig. 3A). En el método de TL el eje I explicó el 74,9 % de la variación total y el eje II explicó el 21,6 % (Fig. 3B). En ambos métodos el eje I se relacionó positivamente con S_{ppt} y negativamente con ε_{max} , y la relación de S_{ppt} con ε_{max} , π_0 y S fue negativa. El eje I del método de TL separó a las especies mediterráneas (valores positivos del eje II) de las nemorales y nemoromediterráneas (valores negativos del eje II). La agrupación de las especies según los parámetros hídricos fue diferente con el método de TL y de ES, aunque en ambos las especies mediterráneas (más esclerófilas) presentaron valores más altos de ε_{max} (Sobrado, 1986; Salleo et *al.*, 1997) y CHR_{ppt} (Zobel, 1996). Con el método de TL las especies mediterráneas mostraron características propias de plantas adaptadas al estrés hídrico (Turner, 1994), valores altos de ε_{max} , π_o , ψ_{ppt} , y CHR_{ppt} y bajos S y

Corcuera L. Comparación de dos métodos para generar curvas presión-volumen en especies del género *Quercus*. 2003. Investigación Agraria, Serie: Sistemas y Recursos Forestales (aceptado)

S_{ppt}; lo contrario se observó en las especies

nemorales y nemoro-mediterráneas.



Figura 3. Análisis de Componentes Principales (ACP) de ocho especies del género *Quercus* según los parámetros hídricos derivados de las curvas P-V. A: Método de ES. B: Método de TL. Para una mejor claridad sólo se han representado los vectores de dichos parámetros. Se presentan los dos principales ejes de la ordenación (I, horizontal; II, vertical). Los colores de los puntos indican el fitoclima donde la especie se encuentra principalmente: mediterráneo (negro), nemoro-mediterráneo (gris) y nemoral (blanco). Las abreviaturas de las especies como en la figura 2.

DISCUSION

En las especies nemorales se obtuvieron los mismos resultados con ambos métodos en todos los parámetros excepto hídricos estudiados. en el porcentaje de agua simplástica (Tabla 1). Este parámetro resultó notablemente superior en todas las especies con el método de TL (Hardegree, 1989). La savia tiende a moverse en primer lugar desde los tejidos más próximos a la superficie cortada del tallo debido a las menores resistencias encontradas por el flujo (Zimmerman, 1983). Por tanto, si la savia del extremo más alejado del corte no sale al exterior, podría haber una sobreestimación de la fracción de agua apoplástica con el método de ES (Turner *et al.*, 1984). Por otra parte, si durante la deshidratación del brote con el método de TL no se alcanza el equilibrio entre los tejidos del tallo y las hojas, se obtendrán valores de potencial hídrico erróneamente más altos (Neufeld y Teskey, 1986). El desequilibrio interno de ψ es especialmente problemático en brotes y el efecto será mayor a menores potenciales hídricos por la necesidad de mayores tiempos de equilibrio (Tyree y Hammel,

Corcuera L. Comparación de dos métodos para generar curvas presión-volumen en especies del género *Quercus*. 2003. Investigación Agraria, Serie: Sistemas y Recursos Forestales (aceptado)

1972). El resultado sería una menor pendiente en la región lineal de la curva P-V y una sobreestimación de la fracción de agua simplástica. La cavitación de los vasos del xilema durante la rápida presurización y depresurización con el método de TL podría ser otra causa de la menor fracción de agua apoplástica encontrada (Tyree y Richter, 1981). Tyree et al. (1984) sugirieron que el método de TL puede ser más susceptible a este fenómeno. En estudios previos también han detectado deficiencias se en la estimación de la fracción de agua simplástica con el método de TL (valores superiores a uno; Neufeld y Teskey, 1986) y con otros procedimientos de obtención de curvas P-V (Parker y Colombo, 1995). Por tanto, el empleo de las curvas P-V para la estimación del contenido relativo de agua simplástica puede no ser muy prudente (Richter, 1980. 1997). Las largas extrapolaciones de las curvas P-V hasta el eje de abcisas pueden magnificar pequeñas desviaciones de los datos obtenidos, dando lugar a estimaciones inexactas de S (Tyree y Richter, 1982). La porción lineal de la curva suele encontrarse entre valores de CHR del 80 % al 60 % y tiene que extenderse una gran distancia hasta alcanzar W_o, que se encuentra normalmente entre valores de CHR entre 0 y 20 %. Además, el valor de la intercepción de la región lineal con el eje x puede ser erróneo debido a la no idealidad de la solución celular (Tyree y Richter 1982).

La mayoría de las especies mediterráneas (Q. coccifera y Q. ilex) diferencias en todos los presentaron parámetros estudiados, excepto en ε_{max} y S_{ppt} (Tabla 1). Estos dos parámetros dieron los mismos resultados con ambos métodos en todas las especies excepto en Q. pyrenaica. Con el método de TL se alcanzaron valores de π_o y ψ_{ppt} más negativos (Parker y Pallardy, 1988), al contrario de los resultados obtenidos por Ritchie y Roden (1985) que encontraron valores de ambos parámetros significativamente más negativos con el método de ES en brotes de coníferas. En la representación gráfica de la inversa del potencial con respecto al volumen expresado, se observa que aunque la pendiente de la región lineal es parecida en ambos casos, su intercepción en el eje de las Y es diferente (Fig. 1), obteniéndose π_0 y ψ_{ppt} más bajos con el método de TL. Estas discrepancias se han atribuído al agua liberada durante la realización de la curva P-V pero no recolectada con el método de ES (Parker y Pallardy, 1988). En este trabajo esto es poco probable ya que los tubos rellenos de material absorbente encajaban perfectamente en la base del tallo, eran reemplazados en cada una de las mediciones de potencial hídrico y nunca

Corcuera L. Comparación de dos métodos para generar curvas presión-volumen en especies del género *Quercus*. 2003. Investigación Agraria, Serie: Sistemas y Recursos Forestales (aceptado)

llegaban a empaparse completamente de savia. Por otra parte, para evitar pérdidas por transpiración del brote en el interior de la cámara de presión, este se envolvió en y se introdujo film plástico papel absorbente húmedo en el fondo de la cámara. Con el método de ES si no se equilibra el tejido después de cada subida de presión, se subestiman los valores de π_0 y ψ_{ppt} entre 0,20-0,34 MPa (Tyree *et al.*, 1978; Jones y Higgs, 1979). Este único explicaría las motivo no diferencias encontradas en el presente trabajo, que se encuentran alredor de 0,50 MPa. En la realización de las curvas P-V por el método de ES cada incremento de presión de 0,2 MPa se realizó durante 20 minutos, tiempo aparentemente suficiente para alcanzar el estado de equilibrio (Salleo, 1983), como lo demuestra la ausencia de diferencias entre los dos métodos para π_o y ψ_{ppt} en la mitad de las especies estudiadas. La muestra se introduce y saca de la cámara un mínimo de diez veces durante el análisis en el método de TL, por tanto, también puede producirse un desequilibrio cada vez que se determina el potencial. Con el método de TL existen grandes fluctuaciones de temperatura en el interior de la cámara Durante la. depresurización, la disminución de la temperatura puede dañar los tejidos y causar pérdida de iones (Saltveit, 1993). Esto causaría una pendiente de la región lineal de la curva de P-V menos acusada. Entre las fuentes de error del método de TL se cita la posible cavitación de los vasos del presurización xilema durante la v depresurización en cada medida del potencial hídrico (Tyree et al. 1984). Las diferencias entre los métodos consecuencia de la cavitación serían mayores en brotes con una mayor fracción de tejido leñoso. Si nos fijamos en las especies que presentaban el mayor y el menor porcentaje de tallo, Q. suber (29,5 %) y Q. laurifolia (12,4 %), se observa que en ambas especies no hubo diferencias en los parámetros hídricos derivados de las curvas P-V, excepto la ya comentada diferencia en el porcentaje de agua simplástica, y en Q. suber en ψ_{ppt} . Neufeld y Teskey (1986) no encontraron diferencias en ε_{max} , π_0 ni ψ_{ppt} en brotes que diferían hasta un 40 % en el peso seco foliar. Tampoco Cheung et al. (1975) encontraron diferencias en π_0 , ψ_{ppt} o S_{ppt} entre hojas y brotes. El agua apoplástica se compone del agua en el lumen de los vasos del xilema y de las fibras y la de las paredes celulares unida por fuerzas matriciales. Está demostrado que el contenido de agua apoplástica puede disminuir durante la presurización de la muestra (Hardegree, 1989), sobre todo en brotes, o en especies con vasos grandes o con mayor contenido de agua apoplástica. Cuanto mayor sea el volumen apoplástico en un órgano, mayor

Corcuera L. Comparación de dos métodos para generar curvas presión-volumen en especies del género *Quercus*. 2003. Investigación Agraria, Serie: Sistemas y Recursos Forestales (aceptado)

será su contribución al agua extraída durante la presurización. En las hojas, la fracción de agua apoplástica se encuentra en los tejidos mecánicos como las fibras y esclereidas del mesófilo. El umbral de cavitación en la mayoría de las especies se encuentra entre -1,0 y -1,5 MPa (Tyree et al., 1994), es decir, en el rango de presiones aplicadas durante la realización de las curvas P-V. Las presiones positivas aplicadas a las hojas inducen la cavitación (xilema y en el apoplasto tejidos mecánicos) y la liberación de este agua al simplasto, siendo mayor en hojas esclerófilas (Chiudina Piaceri et al., 1994; Nardini et al., 1996; Salleo et al., 1997). El agua liberada permite la rehidratación de la hoja y la recuperación del potencial hídrico. La mayoría de las hojas esclerófilas tienen vasos pequeños en el xilema, por tanto, es la mayor cantidad de tejido mecánico lo que contribuye a este mayor contenido de agua apoplástica. Esto podría explicar, al menos en parte, las diferencias encontradas en las hojas mediterráneas, más esclerófilas. Otra cuestión importante es la representación gráfica de las curvas P-V. La deshidratación puede causar la muerte de los tejidos, generando puntos desviados en la región lineal y cambiando, por tanto, la pendiente (Turner, 1976, Wilson et al. 1979). En este trabajo se empleó la transformación de tipo II (representación gráfica de $1/\psi$ frente a V_e). Con este tipo de transformación es más difícil reconocer los puntos desviados que con la transformación de tipo I (ψ frente a $1/V_e$) (Kyriakopoulos y Richter, 1981).

Las especies nemoro-mediterráneas difírieron en su comportamiento. *Q. cerris* se comportó igual que las especies mediterráneas y *Q. faginea* como las especies nemorales en todos los parámetros hídricos. *Q. pyrenaica* se comportó de forma diferente al resto de las especies, siendo la única que presentó diferencias entre los dos métodos en ε_{max} y S_{ppt}.

mediterráneas Las especies presentaron características propias de plantas adaptadas al estrés hídrico (Fig 3B). Estas pierden turgencia rápidamente, lo que les permite conservar mayor cantidad de agua simplástica y crear un gradiente de potencial hídrico que les permite tomar agua y crecer en suelos secos hasta alcanzar potenciales hídricos muy bajos. Las especies nemorales y nemoro-mediterráneas presentaron un comportamiento contrario, con una tendencia a mantener turgencia a expensas de una mayor cantidad de agua perdida en el punto de pérdida de turgencia (Corcuera et al. 2002).

Ninguno de los dos métodos se puede considerar libre de error (Tyree *et al.*, 1978, 1984; Turner *et al.*, 1984; Parker y Pallardy, 1987). Todavía queda por determinar si los resultados obtenidos con

Corcuera L. Comparación de dos métodos para generar curvas presión-volumen en especies del género *Quercus*. 2003. Investigación Agraria, Serie: Sistemas y Recursos Forestales (aceptado)

brotes de distintas especies de robles pueden extrapolarse a especies de otros géneros. Los datos sugieren que el método de expresión de savia y el método de libre. transpiración en general, proporcionan los mismos resultados en el contenido relativo de agua simplástica extraído en el punto de pérdida de turgencia (Parker y Pallardy, 1988) y en el módulo de elasticidad de pared máximo (con alguna excepción, como en *Q. pyrenaica*) y diferentes resultados en el contenido relativo de agua simplástica. La obtención, en general, de iguales módulos de elasticidad de pared máximos y porcentajes de agua simplástica extraídos en el punto de pérdida de turgencia sugieren que la primera parte de la curva P-V (la región curva) y la determinación del punto de pérdida de turgencia es la misma con los dos métodos. Sin embargo, los valores más negativos de potencial osmótico a plena turgencia y potencial hídrico en el punto de pérdida de turgencia, y los valores más altos del porcentaje de agua simplástica en las especies más esclerófilas, indican una tendencia a que la segunda parte de la curva (la región lineal) tenga una pendiente acusada menos con el método de transpiración libre en dichas especies. Estas diferencias impidieron que la agrupación de las especies en función de los parámetros hídricos derivados de las curvas P-V fuese la misma con ambos métodos.

BIBLIOGRAFIA

Abrams M.D., 1988. Sources of variation in osmotic potentials with special reference to north american tree species. Forest Science 34, 1030-1046.

Abrams M.D., 1990. Adaptations and responses to drought in *Quercus* species of North America. Tree Physiology 7, 227-238.

Abrams M.D., Menges E.S., 1992. Leaf ageing and plateau effect on seasonal pressure-volume relationships in three sclerophyllous *Quercus* species in southeastern USA. Functional Ecology 6, 353-360.

Allué-Andrade J.L., 1990. Atlas Fitoclimático de España: Taxonomías. MAPA-INIA, Madrid.

Burns R.M., Honkala B.H., 1990. Silvics of North America, 2: Hardwoods. US Dept. Agriculture, Washington

Castroviejo S., Laínz M., López González G., Monserrat P., Muñoz Garmendia F., Paiva J., Villar L., 1990. Flora Ibérica, Vol II. Real Jardín Botánico-CSIC, Madrid.

Cheung Y.N.S., Tyree M.T., Dainty J., 1975. Water relation parameters on single leaves obtained in a pressure bomb

Corcuera L. Comparación de dos métodos para generar curvas presión-volumen en especies del género *Quercus*. 2003. Investigación Agraria, Serie: Sistemas y Recursos Forestales (aceptado)
and some ecological considerations. Canadian Journal of Botany 53, 1342-1346.

Cheung Y.N.S., Tyree M.T., Dainty J., 1976. Some possible sources of error in determining bulk elastic moduli and other parameters from pressure-volume curves of shoots and leaves. Canadian Journal of Botany 54, 758-765.

Chiudina Piaceri E., Salleo S., Lo Gulllo M.A., 1994. Sclerophylly: a new interpretation of its possible functional significance. Bolletino della Società Adriatica di Scienze LXXV, tomo II, 319-328.

Corcuera L., Camarero J.J., Gil-Pelegrin E., 2002. Functional groups in *Quercus* species derived from the analysis of pressure-volume curves. Trees, Structure and Function 16, 465-472.

Dreyer E., Bousquet F., Ducrey M., 1990. Use of pressure volume curves in water relation analysis on woody shoots: influence of rehydration and comparison of four European oak species. Ann Sci For 47, 285-297.

Green P.B., Erickson R.O., Buggy J., 1971. Metabolic and Physical control of cell elongation rate –in vivo studies of *Nitella*. Plant Physiology, 47: 423-430.

Hardegree S.P., 1989. Discrepancies between water potential isotherm measurements on *Pinus ponderosa* seedling shoots: xylem hysteresis and apoplastic osmotic potentials. Plant, Cell and Environment 12, 57-62.

Hinckley T.M., Duhme F., Hinckley A.R., Richter H., 1980. Water relations of drought hardy shrubs: osmotic potential and stomatal reactivity. Plant, Cell and Enviroment 3, 131-140.

Jones H.G., Higgs K.H., 1979. Water potential-water content relationships in apple leaves. Journal of Experimental Botany 30, 965-970.

KIkuta S.B, Kyriakopoulous E., Richter H., 1985. Leaf hygrometer versus pressure chamber: a comparison of pressure-volume data obtained on single leaves by alternating measurements. Plant, Cell and Environment 8, 363-367.

Kiriakopoulos E., Richter H., 1981. Pressure-volume curves and drought injury. Physiologia Plantarum 52, 124-128.

Kubiske M.E., Abrams MD, 1991. Seasonal, diurnal and rehydration-induced variations of pressure-volume relations in *Pseudotsuga menziesii*. Physiologia Plantarum 83, 107-116.

Krüsmann G., 1986. Manual of cultivated broad-leaved trees and shrubs. Vol. III. Timber Press, Portland, Oregon.

Kwon K.W., Pallardy S.G., 1989. Temporal changes in tissue water relations of seedlings of *Q. acutissima*, *Q. alba* and *Q. stellata* subjected to chronic water stress. Canadian Journal of Forest Research 19, 622-626.

Corcuera L. Comparación de dos métodos para generar curvas presión-volumen en especies del género *Quercus*. 2003. Investigación Agraria, Serie: Sistemas y Recursos Forestales (aceptado)

Legendre P., Legendre L., 1998. Numerical ecology. Elsevier, Amsterdam.

Levitt J., 1980. Responses of Plants to Environmental stresses. Water, Radiation, Salt, and other Stresses, Vol. II. Academic Press, New York.

Lo Gullo M.A., Salleo S., Rosso R., 1986. Drought avoidance strategy in *Ceratonia siliqua* L., a mesomorphicleaved tree in the xeric Mediterranean area. Annals of Botany 58, 745-756.

Momen B., Menke J.W., Welker J.M. 1992. Tissue water relations *Quercus wislizenii* seedlings: drought resistance in a California evergreen oak. Acta Oecologica 13, 127-136.

Naidu S. L., DeLucia E. H., 1997. Growth, allocation and water relations of shade-grown *Quercus rubra* L. saplings exposed to a late-season canopy gap. Annals of Botany 80, 335–344.

Nardini A., Lo Gullo M.A., Tracanelli S., 1996. Water relations of six sclerophylls growing near Trieste (Northeastern Italy): has sclerophylly a univocal functional significance? Giornale Botanico Italiano 130, 811-828.

Neufeld H.S., Teskey R.O., 1986. Variation in the amount of foliage on woody shoots and its effects on water relations parameters derived from pressurevolume curves. Canadian Journal of Forest Research 16, 239-243. Parker W.C., Pallardy S.G., Hinckley T.M., Teskey R.O., 1982. Seasonal changes in tissue water relations of three woody species of the *Quercus-Carya* forest type. Ecology 63, 1259-1267.

Parker W.C., Pallardy S.G., 1987. The influence of resaturation method and tissue type on pressure-volume analysis of *Quercus alba* seedlings. Journal of Experimental Botany 38, 536-549.

Parker W.C., 1988. Leaf and root osmotic adjustment in drought-stressed *Quercus alba*, *Q. macrocarpa*, and *Q. stellata* seedlings. Canadian Journal of Forest Research 18, 1-5.

Parker W.C., Pallardy S.G., 1988. Pressure-volume analysis of leaves of *Robinia pseudoacacia* L. with the sap expression and free transpiration methods. Canadian Journal of Forest Research 18, 1211-1213.

Parker W.C., Colombo S.J., 1995. A critical re-examination of pressure-volume analysis of conifer shoots: comparison of three procedures for generating PV curves on shoots of of *Pinus resinosa* Ait. seedlings. Journal of Experimental Botany 46, 1701-1709.

Pavlik B.M., 1984. Seasonal changes of osmotic pressure, symplasmic water content and tissue elasticity in the blade of dune grasses growing *in situ* along the coast of Oregon. Plan, cell and Environment 7, 531-539.

Corcuera L. Comparación de dos métodos para generar curvas presión-volumen en especies del género *Quercus*. 2003. Investigación Agraria, Serie: Sistemas y Recursos Forestales (aceptado)

Richter H., 1978. Water relations of single drying leaves: evaluation with a dewpoint hygrometer. Journal of Experimental Botany 29, 277-280.

Richter H., Duhme F., Glatzel G., Hinckley T.M., Karlic H., 1980. Some limitations and applications of the pressurevolume curve technique in ecophysiological research. En: Grace J, Ford ED, Jarvis PG (eds) Plants and their Atmospheric Environment. Blackwell, Oxford, pp 263-272.

Richter H., 1997. Water relations of plants in the field: some comments on the measurement of selected parameters. Journal of Experimental Botany 48, 1-7.

Ritchie G.A., Roden J.R., 1985. Comparison between two methods of generating pressure-volume curves. Plant, Cell and Environment 8, 49-53.

Salleo S., 1983. Water relations parameters of two sicilian species of *senecio* (groundsel) measured by the pressure bomb technique. New Phytologist 95, 179-188.

Salleo S., Lo Gullo M.A., 1990. Sclerophylly and plant water relations in three Mediterranean *Quercus* species. Annals of Botany 65, 259-270.

Salleo S., Nardini A., Lo Gullo M.A., 1997. Is sclerophylly of Mediterranean evergreens an adaptation to drought? New Phytologist 135, 603-612.

Saltveit M.E., 1993. Effect of highpressure gas atmospheres and anaesthetics on chilling injury of plants. Journal of Experimental Botany 44, 1361-1368.

Sobrado M.A., 1986. Aspects of tissue water relations and seasonal changes of leaf water potential components of evergreen and decidious species coexisting in tropical dry forest. Oecologia 68, 413-416.

Sokal R.R., Rohlf F.J., 1995. Biometry: the principles and practice of statistics in biological research. Freeman, New York.

Talbot A.J.B., Tyree M.T., Dainty J., 1975. Some notes concerning the measurement of water potentials of leaf tissue with specific reference to *Tsuga canadensis* and *Picea abies*. Canadian Journal of Botany 53, 784-788.

Ter Braak C.J.F., 1988. CANOCO a Fortran program for canonical community ordination by [partial] [detrended] [canonical] correspondence analysis, principal component analysis and redundancy analysis (version 2.1). Agricultural Mathematics Group, Wageningen, The Netherlands.

Ter Braak C.J.F., 1995. Ordination. In: Jongman RHG, ter Braak CJF, van Tongeren OFR (eds) Data analysis in community and landscape ecology. Cambridge University Press, Cambridge, pp 91-174.

Corcuera L. Comparación de dos métodos para generar curvas presión-volumen en especies del género *Quercus*. 2003. Investigación Agraria, Serie: Sistemas y Recursos Forestales (aceptado)

Ter Braak C.J.F., Šmilauer P., 1998. CANOCO release 4 reference manual and user's guide to Canoco for Windows – Software for canonical community ordination. Microcomputer Power, Ithaca, New York.

Turner N.C., 1976. Use of the pressure chamber in membrane damage studies. Journal of Experimental Botany 27, 1085-1092.

Turner N.C., Spurway R.A., Schulze E.D., 1984. Comparison of water potentials measured by in situ psychrometry and pressure chamber in morphologically different species. Plant Physiology 74, 316-319.

Turner N.C., 1988. Measurement of plant water status by the pressure chamber technique. Irrigation Science 9, 289-308.

Tutin T.G., Heywood V.H., Burges N.A., Valentine D.H., Walters S.M., Webb D.A., 1964. Flora Europaea. Cambridge University Press, Cambridge.

Tyree M.T., Hammel H.T., 1972. The measurement of the turgor pressure and the water relations of plants by the pressure-bomb technique. Journal of Experimental Botany 23, 267-282.

Tyree M.T., 1976. Physical parameters of the soil-plant-atmosphere system: breeding for drought characteristics that might improve wood yield. In: Cannell, M.G.R. and Last, F.T.; eds. Tree Physiology and Yield Improvement. New York: Academic Press, 329-348.

Tyree M.T., Macgregor M.E., Petrov A., Upenieks M.I., 1978. A comparison of systematic errors between the Richards and Hammel methods of measuring tissue-water relations parameters. Canadian Journal of botany 56, 2153-2161.

Tyree M.T., Richter H., 1981. Alternative methods of analysing water potential isotherms: some precautions and clarifications. I. The impact of non-ideality and some experimental errors. Journal of Experimental Botany 32, 643-653.

Tyree M.T., Richter H., 1982. Alternate methods of analysis of water potential isotherms: some cautions and clarifications. II. Curvilinearity in water potential isotherms. Canadian Journal of Botany 60, 911-916.

Tyree M.T., Dixon M.A., Thompson R.G., 1984. Ultrasonic acoustic emissions from the sapwood of *Thuja occidentalis* measured inside a pressure bomb. Plant Physiology 74, 1046-1049.

Tyree M.T., Davis S.D., Cochard H., 1994. Biophysical perspectives of xylem evolution: is there a tradeoff of hydraulic efficiency for vulnerability to disfunction?. IAWA Journal 15, 335-360.

Walter H., 1973. Vegetation of the Earth. Springer, New York.

Corcuera L. Comparación de dos métodos para generar curvas presión-volumen en especies del género *Quercus*. 2003. Investigación Agraria, Serie: Sistemas y Recursos Forestales (aceptado)

Wilson J.R., Fisher M.J., Schulze E.D., Dolby G.R., Ludlow M.M., 1979. Comparison between pressure-volume and dewpoint hygrometry techniques for determining the water relations characteristics of grass and legume leaves. Oecologia 41, 77-88.

Zimmerman M.H., 1983. Xylem structure and the ascent of sap. Springer-Verlag, Berlin.

Corcuera L. Comparación de dos métodos para generar curvas presión-volumen en especies del género *Quercus*. 2003. Investigación Agraria, Serie: Sistemas y Recursos Forestales (aceptado)

CAPITULO 3. Respuesta a un episodio climático severo en el crecimiento de un monte bajo reviejado de *Quercus faginea*: una aproximación dendroecológica y anatómica al decaimiento de los robles

CAPITULO 3

RESPUESTA A UN EPISODIO CLIMÁTICO SEVERO EN EL CRECIMIENTO DE UN MONTE BAJO REVIEJADO DE *Quercus faginea*: UNA APROXIMACIÓN AL DECAIMIENTO DE LOS ROBLES A PARTIR DEL ESTUDIO ANATÓMICO Y DENDROECOLÓGICO DE LA MADERA

RESUMEN

El reciente decaimiento de los robles en la península ibérica ha aumentado la preocupación del impacto de las fluctuaciones climáticas en el crecimiento del arbolado. Esto es especialmente importante en aquellas zonas con clima mediterráneo, caracterizado por veranos secos y una alta variabilidad interanual de la precipitación. En este trabajo se analizó si el clima era el principal factor causante del decaimiento de un monte bajo de Quercus faginea-Q. ilex subsp. ballota en el Sistema Ibérico. Este monte experimentó un decaimiento en 1993-94 que afectó a ambas especies. El periodo 1992-1995, y especialmente 1993, se caracterizó por una precipitación muy baja desde el mes de noviembre anterior al año de crecimiento hasta febrero del año de crecimiento, es decir, los meses consecutivos en los que la precipitación mensual total fue mayor que la evapotranspiración (precipitación de recarga, RP). De hecho, la década de los noventa fue la década con el mayor número de años secos consecutivos registrados desde 1910 según la RP. Se partió de la hipótesis de que el decaimiento era debido a una RP muy baja durante ese periodo, que afectó principalmente a Quercus faginea, un árbol deciduo con madera de poro en anillo. Para comprobarlo se estudió el efecto del clima (precipitación y temperatura media máxima y mínima) sobre el crecimiento longitudinal (longitud de entrenudo), crecimiento radial (anchura y superficie de anillo de la madera de primavera y verano) y anatomía de la madera (ausencia de madera de verano, distribución del diámetro de los vasos, conductividad hidráulica) durante el periodo 1980-97. Se muestrearon ramas de diez árboles. O. faginea mostró una reducción en el crecimiento en los años de baja RP. El crecimiento longitudinal y radial alcanzó valores mínimos en 1993. La mayoría de los árboles no produjeron madera de verano en 1993-1994. Sin embargo, mostraron unos vasos de madera de primavera más grandes (diámetro > 80 µm) que la distribución media de vasos de 1981-97. El efecto contrario se observó en los años con alta RP (por ej. 1997). El crecimiento radial estuvo favorecido por una mayor precipitación durante enero del año de crecimiento y por una mayor temperatura media durante octubre del año anterior al de crecimiento. Los individuos de Q. faginea respondieron a la sequía de 1993 reduciendo su crecimiento radial en 1993-94, lo que ocasionó una disminución en la conductividad hidráulica teórica (Kh) desde 1992 a 1995. Esto contrasta con la respuesta de O. ilex ssp ballota (especie perennifolia de madera de poro difuso), que mostró una fuerte defoliación para aguantar la seguía. Se confirmó la hipótesis inicial de la importancia de la RP para el crecimiento radial de Q. faginea. También se observó que los episodios previos de "El Niño" estuvieron relacionados con una RP muy baja que produjo una reducción en el crecimiento radial de Q. faginea con un retraso de alrededor de 5 meses. Por último, se discuten los resultados desde un punto de vista práctico, para el manejo adecuado del monte bajo de robles en la región mediterránea.

Corcuera L, Camarero JJ and Gil-Pelegrín E. Growth response of an over-aged *Quercus faginea* coppice woodland to a severe climatic episode: a wood-anatomical and dendroecological approach to oak decline. Can. J. For. Res. (submitted)

INTRODUCCION

El decaimiento de los robles ha sido descrito frecuentemente en los bosques templados mediterráneos de Europa y Norteamérica (Delatour 1983, Tainter et al 1983). Las principales causas apuntan hacia patógenos, excesiva competencia entre árboles vecinos, vejez e incremento de la susceptibilidad, polución del aire y estrés climático (Manion 1981). Las sequías agudas durante cortos periodos de tiempo parecen ser uno de los factores climáticos más importantes para comprender la respuesta de los robles al estrés climático (Tainter et al. 1990, Dwyer et al. 1995). El clima puede actuar como un factor de predisposición para el ataque de los patógenos o como causa directa del decaimiento (Hepting 1963, Tuset et al. 1996). De hecho, las sequías se han asociado con el comienzo del decaimiento de los robles (Tryon y True 1958, Becker y Lévy 1982). Esto es evidente en los lugares xéricos, por ejemplo, cerca del límite sur de la distribución de muchas especies arbóreas (Lévy et al. 1992). También se ha probado que el estrés hídrico es un factor de predisposición al ataque de patógenos en robles mediterráneos (Vannini los y Scarascia 1991).

El clima modula los aspectos morfológicos y funcionales de la vegetación terrestre (Floret *et al.* 1990). En la región

mediterránea, las seguías en verano y el frío en invierno son los principales factores que limitan el crecimiento de las plantas (Mitrakos 1980). Ambos factores afectan también a la estructura del xilema (Fritts 1976). Por ejemplo, se ha asociado el descenso en el diámetro medio de los conductos (traqueidas, vasos) con una reducción del agua disponible en el suelo (Baas et al 1983, Baas y Schweingruber 1987, von Wilpert 1991). Esto justifica el enfoque dendroecológico y anatómico en el estudio del decaimiento de los robles en la región mediterránea. Según la fenología foliar y el tipo de madera (Lechowicz 1984, Wang et al. 1992), los robles se clasifican en: (i) especies deciduas con madera de poro en anillo, que puede proporcionar agua suficiente para reconstruir su follaje al comienzo de la estación de crecimiento; y (ii) especies perennifolias con madera de poro difuso.

La vulnerabilidad del xilema a la cavitación y embolia es uno de los principales factores que explica la tolerancia a la seguía de las plantas (Tyree y Sperry 1989, Cochard y Tyree 1990, Tyree y Ewers 1991, Tognetti et al. 1998). La conductividad hidráulica teórica a través del xilema depende de la cantidad de conductos y de su diámetro transversal. Según la ley de Hagen-Poiseuille, la conductividad hidráulica es proporcional al radio de los

vasos elevado a la cuarta potencia (Tyree et al. 1994). Esto explica el compromiso del diámetro de los vasos, ya que los vasos más grandes son conductos hidráulicos más eficaces pero a expensas de un mayor riesgo de embolia causada por sequía o heladas (Zimmermann 1983, Sperry y Sullivan 1992, Sperry et al. 1994). Por tanto, el clima, y particularmente las sequías del verano, afectan de forma negativa el diámetro máximo alcanzado por los vasos (Zhang et al. 1992).

La respuesta plástica de las plantas al clima mediterráneo no sólo depende de la anatomía de su madera, sino también de su fenología (Castro-Díez y Montserrat-Martí 1998) y hábito foliar (Castro-Díez et al. 1998). Castro-Díez y Montserrat-Martí (1998) encontraron que el patrón fenológico de Quercus coccifera L. sigue el patrón típico de una especie con raíces profundas capaces de emplear el aporte de agua, como es el derivado de la precipitación de final de invierno-principios de primavera en el NE de España. Este es el caso también de Quercus faginea Lam. Las reconstrucciones dendroclimáticas en la península ibérica han revelado un incremento en la frecuencia de sucesos muy cálidos y de intensas sequías durante la segunda mitad del siglo XX (Font Tullot 1983, Manrique y Fernández-Cancio 2000). Esta mayor impredecibilidad proporciona nuevos escenarios para analizar la plasticidad del crecimiento de *Q. faginea* en respuesta al clima.

Según el Panel Intergovernamental sobre Cambio Climático, se espera un descenso en la precipitación, un aumento de temperatura media (2-4°C) y la un incremento de la frecuencia e intensidad de las sequías agudas en la región mediterránea (IPCC 2001). Además, se ha observado una disminución del 20 % de la precipitación total y un incremento en la frecuencia de anticiclones en la región mediterránea central-occidental entre 1951 y 1995 (Piervitali et al. 1997). En el este de la península ibérica esta tendencia estuvo más marcada en 1980-95, periodo caracterizado por intensas sequías y una variabilidad interanual gran en la precipitación (Font Tullot 1983). En el de estudio, lugar se observó un atabacamiento (amarilleo de las hojas), seguido de una defoliación intensa, en 1993-94 que afectó a Q. ilex ssp ballota (Desf.) Samp. y Q. faginea (Aït-Bachir 1998). Este intenso decaimiento se observó también en otras áreas del NE de España (Lloret y Siscart 1995). Este fenómeno efectos reflejar regional podría los climáticos de la seguía en la embolia del xilema (Tyree y Sperry 1989). Por tanto, nuestro objetivo principal fue determinar como respondió el crecimiento de Q.

faginea a la intensa seguía de principios de los noventa. Se plantea la hipótesis de que el decaimiento de los robles observado bajísima estuvo causado por la precipitación de recarga (de ahora en adelante RP) registrada durante ese periodo, RP la precipitación siendo mensual acumulada desde noviembre del año anterior al crecimiento hasta febrero del año de crecimiento. Se eligió este periodo porque: (i) hay un gran incremento de la madera en los robles mediterráneos durante principios de primavera (Zahner 1968), y (ii) durante los meses de RP la precipitación mensual total es mayor que la evapotranspiración mensual (Faci González y Martínez Cob 1991).

El estudio se centró en el crecimiento (radial y longitudinal) y en la estructura del xilema a través de un estudio detallado de la anatomía (diámetro y número de vasos, densidad de vasos), ya que estos caracteres son sensibles a las variaciones anuales de la precipitación (Woodcock 1989a). Los montes bajos de robles puros o mezclados (especialmente Q. ilex subsp. ballota, Q. pyrenaica Willd. y *Q. faginea*), caracterizados por una larga historia de intensa influencia antrópica para la producción de madera y carbón para combustible, son muy comunes en la península ibérica (Serrada et al. 1992). Debido al abandono de su manejo tradicional. la frecuencia de corte. normalmente cada 10 años descendió a partir de 1940 (Cañellas et al. 1996). Hoy en día, la mayoría de las cepas se encuentran pasadas de turno (30-50 años), lo que podría hacer más sensibles a estos frente ecosistemas а perturbaciones climáticas tales como seguías intensas (Amorini et al. 1996). Como Enjalbal et al. (1996) vislumbraron, los montes bajos pasados de turno están todavía poco estudiados desde un punto de vista ecológico.

Como objetivo secundario, se extendió el análisis de relaciones crecimiento-clima a la búsqueda de monitores paleoclimáticos en el área de estudio. Esta perspectiva a largo plazo es esencial para conocer el efecto de la variabilidad de la precipitación en el crecimiento del árbol. En estudios recientes se ha evidenciado la dependencia de los procesos locales ecológicos, como son la dinámica de los bosques, en la variabilidad climática global a través de los efectos de las teleconexiones (Rodó et al. 1997). Para comprobarlo, se analizó la influencia de los episodios de "El Niño" en el crecimiento radial de Q. faginea, ya que las sequías primaverales en el E-SE de España se relacionan significativamente con la aparición de episodios previos de "El Niño" en el océano Pacífico (Rodó et al. 1997).

Corcuera L, Camarero JJ and Gil-Pelegrín E. Growth response of an over-aged *Quercus faginea* coppice woodland to a severe climatic episode: a wood-anatomical and dendroecological approach to oak decline. Can. J. For. Res. (submitted)

MATERIAL Y METODOS

Lugar de estudio

Se eligió un monte bajo dominado por *O. faginea* y *O. ilex* ssp. ballota en la sierra de Santa Cruz, Cubel, Zaragoza, (1º 39' W, 41° 07' N, 1177 m s.n.m.). Los datos de precipitación y temperatura se obtuvieron de la estación meteorológica Cubel-Casas Altas situada aproximadamente a 2 Km del lugar (1° 38' W, 41° 06' N, 1108 m s.n.m.). También se emplearon los datos de precipitación de la estación cercana de Daroca (1º 25' W, 41º 07' N, 779 m) para describir la evolución temporal de la precipitación en la zona durante el siglo XX (1910-99). La temperatura media anual es de 11,3 °C. La precipitación media anual es de 449 mm, con máximos en primavera y otoño. En la zona de estudio el periodo de seguía en verano dura aldedor de 2 meses, desde final de junio a principios de septiembre. Desde 1960, los siguientes periodos mostraron registros muy bajos de RP: 1973-75, 1981-84, 1989 y 1992-95 (Figs. 1-2). De hecho, los dos valores más bajos de precipitación total en enero en los últimos 50 años en el área de estudio se obtuvieron en 1983 y 1993.

El fitoclima del área estudiada corresponde al de bosque transicional entre nemoro-mediterráneo nemoral а con tendencia a la esclerofilia y una clara continental (Allué-Andrade influencia 1990). El paisaje estuvo dominado anteriormente por un monte bajo de Q. faginea pero Q. ilex ssp. ballota es actualmente la especie más abundante debido a cortas selectivas. Hasta hace 40-50 años se realizaba un tratamiento intensivo en forma de monte bajo para obtención de madera para combustible. El lugar de estudio se encuentra sobre suelos muy pobres desarrollados sobre afloraciones de caliza Terciaria. Se supuso que el escaso suelo y la elevada altitud de la zona hizo a los árboles de ambas especies muy susceptibles al estrés climático (alta sensibilidad). Sass y Eckstein (1995) mostraron que la baja capacidad de suelo tiene un efecto retención del inmediato sobre el crecimiento radial cuando existe un déficit en la precipitación.



Figura 1. Descripción climática del área de estudio. (A) Ombro-termo diagrama (Walter 1990) de la estación meteorológica de Cubel-Casas Altas (área de puntos: precipitación < 2 temperatura – estación seca o periodo seco; área con líneas horizontales: precipitación > 2 temperatura – estación húmeda; bloque inferior negro: meses con heladas o el mes más frío con la temperatura media mínima ≤ 0 °C; bloque inferior rayado: periodo de heladas probables o temperatura mínima mensual absoluta ≤ 0 °C y temperatura media mínima del mes más frío > 0 °C; bloque inferior blanco: meses libres de heladas). (B) Evolución temporal de la precipitación anual –líneas- y de la precipitación de recarga –barras- (RP, precipitación acumulada desde noviembre del año *t-1* hasta febrero del año siguiente *t* en dos estaciones cercanas (Cubel, Daroca) durante el periodo 1970-98. Los colores corresponden a las diferentes estaciones.



Figura 2. Variabilidad entre décadas en el área estudiada según los datos de la precipitación de recarga de la estación meteorológica de Daroca (periodo 1910-99). Se han expresado dos componentes diferentes del régimen de 1a precipitación: **(A)**, frecuencia de años secos por década; y (B) longitud periodos con años de secos consecutivos. Los años secos (barras negras) húmedos (barras y blancas) se definen como aquellos años cuva precipitación de recarga es menor o mayor que la de 1910-99, media respectivamente.

Muestreo y preparación de las muestras

El muestreo se realizó en el invierno de 1998. Se cortaron diez ramas de diez árboles dominantes a una altura media de la copa con orientación S-SO (una rama por árbol). Las ramas tenían un diámetro similar y una edad media (\pm SE) de 27 \pm 2 años. El tamaño de la muestra (n = 10) es el mínimo requerido en estudios dendrocronológicos basados exclusivamente en la anchura del anillo (Fritts 1976). Sin embargo, la descriptiva tan exhaustiva de las variables anatómicas hizo que este fuera el tamaño de muestra máximo que se pudo analizar a efectos prácticos. En cada rama se cortó transversalmente el entrenudo de mayor edad por su parte media con un microtomo

de congelación (Anglia Scientific AS200, UK). Las secciones de 15-30 µm de espesor se tiñeron con safranina y verde rápido, se deshidrataron con etanol al 96 % y se montaron en preparaciones permanentes con bálsamo de Canadá. Posteriormente se analizaron con un microscopio (Olympus BH-2) equipado con un adaptador de cámara (Olympus OM-Mount) y una cámara fotográfica (Olympus OM101). Las fotos obtenidas se montaron para medir las variables del xilema (Fig. 3). Todas las muestras se sincronizaron visualmente (Stokes y Smiley 1968). No se detectó la ausencia de anillos o la presencia de anillos falsos.

Variables anatómicas de la madera

Se empleó una secuencia de 18 valores anuales (1980-97) ya que este era el periodo común que incluía el máximo tamaño de muestra en todas las ramas (n=10). Además, el incremento del diámetro medio de los vasos de primavera con la edad se estabilizó aproximadamente en 1980 en todas las ramas (Huber 1993). Para describir la respuesta del crecimiento a la variabilidad climática, se estudiaron las siguientes variables: anchura de anillo (media de los dos radios por anillo), superfície de anillo, diámetro medio de vasos, densidad de vasos (número de vasos



Figura 3. Corte transversal de la madera de *Q. faginea*.

por sección transversal de xilema). superficie conductora (sección tranversal de xilema ocupada por vasos en un anillo). Todas las variables se midieron de forma separada para la madera de primavera y la de verano. El cambio abrupto en el tamaño de los vasos a través del anillo y la diferente densidad de las células del xilema permitieron la identificación de estos dos tipos de madera (de primavera y de verano). Primero se obtuvieron los valores medios anuales las variables para todas promediando los valores individuales de todas las ramas. Posteriormente, dado que la anchura del anillo seguía una tendencia de crecimiento debido al efecto de la edad y al incremento del perímetro de la circunferencia del brote, se convirtieron los datos medios brutos de anchura de anillo en índices para cada muestra, con el objetivo de maximizar su señal climática (Fritts 1976). Esto se realizó ajustando funciones lineales simples, conservando los residuos de estos ajustes como índices V promediándolos para obtener una serie media de índices (cronología). Se asumió que las series estandarizadas de índices eran constantes con respecto a la media y a la varianza. Generalmente, la autocorrelación temporal de la anchura del anillo es baja en zonas xéricas (Fritts 1976) y es difícil estimarla con series cortas como estas. Por lo tanto, no se llevó a cabo ninguna modelización autoregresiva.

La principal variable de la anatomía de madera relacionada la. con la conductividad hidráulica es el diámetro de los vasos (Carlquist 1975, 1977). En este calculó la conductividad estudio, se hidráulica teórica (*Kh*; mm⁴) según la ley de Hagen-Poiseuille, es decir, la suma de los radios de todos los vasos de cada seción elevados a la cuarta potencia. En trabajos consideraron los 10-25 previos se conductos más anchos por sección como una buena aproximación para estimar Kh (Woodcock 1989a, Villar-Salvador et al. 1997). En este trabajo, se midieron todos los vasos cuyo diámetro tangencial era superior a 10 µm dentro de un área de aproximadamente 5 mm de ancho para cada anillo. Se consideró que era necesaria esta descripción anatómica para estimar correctamente la conductividad hidráulica. En los vasos no circulares se promediaron dos diámetros (el más ancho y el más estrecho).

Relaciones clima-crecimiento

Se analizó la influencia del clima (precipitación mensual y temperatura media) en el crecimiento (longitud de entrenudo, anchura de anillo y diámetro de vasos) mediante el coeficiente de correlación de Spearman (r_s ; Sokal and Rohlf 1995). En la correlación múltiple se llevaron a cabo análisis de correlación entre los datos climáticos y los índices de las variables. Se aplicó una corrección de Bonferroni para obtener un nivel de probabilidad modificado $\alpha' = \alpha/n$, donde α = 0.05 y *n* es el número de comparaciones pareadas (Legendre y Legendre 1998). También se comparó el crecimiento anual del anillo con los datos medios de precipitación decenales de la estació Cubel-Casas Altas. Se analizaron las tendencias temporales de las variables mediante el coeficiente de Kendall (τ). Para describir la variabilidad interanual de los caracteres medidos se utilizó parámetro un dendrocronológico clásico, la sensibilidad media, que oscila entre 0 y 2 (Douglass 1936). Se calcula como la sensibilidad media de una serie (ms_x) :

 $ms_x = (1 / (n-1)) \sum |2 (x_{t+1} - x_t) / (x_{t+1} + x_t)|$

donde: *n* es el número de datos, y x_{t+1} y x_t son los valores anuales consecutivos de la variable medida. Todos los análisis estadísticos se realizaron empleando SPSS versión 6.1.2.

Se ha encontrado una teleconexión con un retraso de alrededor de 3-7 meses entre la precipitación de primavera en el E-SE de España y los episodios previos de El Niño en el océano Pacífico (Rodó *et al.* 1997, Rodríguez Puebla et al. 1998, Rocha 1999). Para comprobar la influencia de El Niño en el crecimiento radial. se compararon las características del xilema más sensibles (por ej. presencia de madera de verano) con los valores mensuales del indice Southern Oscillation Index (SOI, diferencia normalizada de presión entre Tahiti y Darwin) para el periodo 1980-97 (datos de Ropelewski y Jones 1987). Los valores bajos de SOI están ligados a los episodios de El Niño (Allan et al. 1991, Können et al. 1998). También se estudiaron los efectos del índice North Atlantic Oscillation (NAO, diferencia de presión normalizada entre las islas Azores y el Polo Norte, ver Hurrell 1995, Jones et al. 1997) sobre la RP durante el periodo 1980-95, ya que la evolución de la precipitación en el N-NO de la península ibérica también se ve afectada por el índice NAO (Rodríguez Puebla et al. 1998).



Figura 4. Cambio en el vigor y cobertura de los montes bajos de *Q. ilex* ssp. *ballota* (A) y *Q. faginea* (B) en la Sierra de Cubel, Sistema Ibérico, NE de España. Los valores en ascenso de las clases de cobertura corresponden a un mayor vigor de las masas, basado en la Diferencia Normalizada del Indice de Vegetación extraído de imágenes Landsat-TM del área. Se comparan dos años diferentes: durante el episodio de decaimiento (1993) y después del decaimiento (1996) cuando la mayoría de las masas estaban sanas (recuperadas). La defoliación fue más intensa para *Q. ilex* ssp. *ballota* que para *Q. faginea*. Modificado de Aït-Bachir (1998).



Figura 5. Componentes del crecimiento anual, longitudinal y radial, de *Q. faginea* durante el periodo 1980-97. (A) Longitud de entrenudo y anchura de anillo. (B) Superficie de la madera de primavera (triángulos grises) y de la madera de verano (triángulos negros). (C) Frecuencia anual de árboles sin madera de verano comparado con los valores medios del índice SOI mensuales –barras- y anuales – puntos- (datos de Ropelewski y Jones 1987). Esta última figura muestra una relación entre los años de El Niño (bajo índice SOI) y la disminución de la producción de madera de verano. Las barras de error son los errores estándar. La línea vertical representa la sequía de 1993.

RESULTADOS

En el siglo XX, el periodo más largo (4 consecutivos) años con baja precipitación de recarga se registró en los años noventa (Fig. 2B). En los cincuenta hubo un número similar de años secos en cuanto a RP, pero sólo dos de ellos ocurrieron de forma consecutiva (Fig. 2A). Según los datos obtenidos de las imágenes Landsat-TM del área de estudio tomadas antes (1993) y después (1996) del decaimiento de los robles, los bosques de Q. faginea más afectados mostraron de nuevo buen vigor en 1996 (Fig. 4). La longitud del entrenudo de las ramas de Q. faginea descendió desde 1992 a 1994, mientras que la anchura de anillo, y la anchura y superficie de la madera de verano alcanzaron valores mínimos en 1993-94 (Tabla 1, Figs. 5A, 5B). La superficie de la madera de primavera también mostró una reducción durante este periodo. La precipitación anual y la precipitación de recarga también fueron muy bajas entre 1992 y 1995 (Fig. 1B). La variabilidad interanual de la superficie de la madera de verano fue mucho más sensible a los cambios en la precipitación que la superficie de madera de primavera. Durante el periodo 1992-94 los valores de la superficie de madera de verano se encontraron por debajo de la media de 1980-97 (Fig. 5B). De hecho, la mayoría de las ramas no produjeron madera de verano en 1993-94, especialmente en 1993, después de un episodio de El Niño (Fig. 5C). Un fenómeno similar se observó en 1983 y 1987.

RP ($r_s = -0.60$) y la precipitación de enero ($r_s = -0.57$) se correlacionaron negativa y significativamente ($P \le 0.05$) con los índices NAO del mismo año. Considerando los datos 1980-97, las relaciones más significativas entre los datos mensuales de SOI y los datos de precipitación mensual del año de crecimiento (t) se encontraron entre la precipitación de mayo y el índice SOI de febrero ($r_s = 0.85, P \le 0.001$) y de marzo (r_s = 0.63, $P \leq 0.01$). Se encontró la correlación más alta entre el índice de anchura de anillo y el SOI de enero (t) ($r_s =$ 0.69, $P \le 0.01$). El índice de anchura de anillo de la madera de verano y el SOI de marzo (t) también se correlacionaron positivamente ($r_s = 0.63-0.67, P \le 0.01$). La frecuencia anual relativa (%) de árboles sin madera de verano se correlacionó negativa y significativamente ($r_s = -0.58, P \le 0.05$) con el índice medio anual SOI del año anterior al de crecimiento (t-1). Por el contrario, el índice SOI anual se correlacionó positivamente con el índice de anchura de anillo ($r_s = 0.63$, $P \le 0.01$) y el diámetro medio de los vasos de la madera de verano ($r_s = 0.58, P \le 0.05$). La anchura

de la madera de verano o el índice de anchura de anillo mostraron correlaciones positivas con el índice SOI de noviembre (*t*-1) ($r_s = 0.60-0.64$, $P \le 0.01$) y el de agosto (*t*-1) ($r_s = 0.57-0.63$, $P \le 0.05$). Apareció una correlación positiva más fuerte entre la anchura de madera de primavera y el índice SOI de junio/julio (*t*-1) ($r_s = 0.70$, $P \le 0.01$). Finalmente, el índice SOI de noviembre (*t*-1) se correlacionó positivamente con RP ($r_s = 0.58$, $P \le 0.05$).

Tabla 1. Estadísticos descriptivos de las variables de crecimiento y de la anatomía de la madera para las series medias de 1980-97 (n=10 árboles). Abreviaciones de los estadísticos: SD, desviación estándar; τ (%), frecuencia relativa (en porcentaje) de las series individuales que muestran una tendencia en el tiempo significativa ($P \le 0.05$) basada en el coeficiente de Kendall (τ); AR1, autocorrelación de primer orden; ms_x , sensibilidad media. Abreviaturas de las variables: INT1, longitud de entrenudo; TRw, anchura de anillo; EWw, anchura de la madera de primavera; LWw, anchura de la madera de verano; Ewv_D, diámetro medio de vasos de la madera de verano; Ewv_d, densidad de vasos de la madera de primavera; LWv_d, densidad de vasos de la madera de verano; Ewc, conductividad total de la madera de primavera; LWc, conductividad total de la madera de verano.

Variables	Media ± SD	Mín. (año)	Máx. (año)	τ(%)	AR1	Ms_x
INTI (mm)	30.79 ± 12.17	12.01 (92)	55.33 (80)	50	0.52	0.28
Rw (mm)	0.21 ± 0.05	0.11 (93, 94)	0.30 (80)	50	0.42	0.21
EWw (mm)	0.14 ± 0.02	0.10 (94)	0.16 (80, 96)	25	0.45	0.10
LWw (mm)	0.07 ± 0.04	0.00 (93)	0.15 (82)	50	0.31	0.77
EWv_D (µm)	68.68 ± 3.49	61.85 (86)	73.67 (94)	67	0.51	0.04
LWv_D (µm)	13.48 ± 6.81	0.00 (93)	23.52 (82)	67	0.45	0.54
EWv_d (mm ⁻²)	90 ± 14	64 (92)	109 (81)	50	0.56	0.11
LWv_d (mm ⁻²)	84 ± 48	0 (93)	172 (89)	44	0.72	0.49
EWc (mm ²) ¹	18.93 ± 4.80	12.08 (83)	29.74 (97)	67	0.72	0.10
LWc (mm ²) ¹	0.16 ± 0.10	0 (93)	0.53 (81)	22	-0.01	0.63
EWca (%)	46.03 ± 3.66	39.32 (80)	51.78 (88)	11	-0.05	0.09
LWca (%)	7.52 ± 4.21	0.00 (93)	16.64 (92)	33	-0.14	0.44

 1 mm⁴ × mm⁻². Los valores medios, mínimos y máximos deben multiplicarse por 10⁻⁴.



Figura 6. Cambios en el diámetro medio de los vasos según la edad de las ramas de *Q. faginea* en la madera de primavera (A) y en la madera de verano (B). Las cajas indican para cada edad: la mediana (línea central horizontal), la media (línea central horizontal gruesa), los percentiles del 25 % y del 75 % (límites de las cajas), los percentiles del 5 % y del 95 % (barras de error) y los valores extremos (puntos negros). Las líneas representan el tamaño de la muestra (número de vasos medidos).

Las variables de la madera de verano (anchura, diámetro y densidad de vasos, conductividad) mostraron los valores medios de sensibilidad más altos (Tabla 1). Más de la mitad de las series de diámetros de los vasos mostraron tendencias temporales significativas ($P \le 0.05$) en la primavera y verano. madera de Se obtuvieron los coeficientes de autocorrelación de primer orden más altos en la conductividad de la madera de primavera y en la densidad de vasos de la madera de verano. El diámetro medio de los vasos de la madera de primavera y verano se estabilizó cuando las ramas alcanzaron alrededor de 15 y 5 años de edad, respectivamente (Fig. 6). Esta tendencia con la edad fue más pronunciada en el diámetro de los vasos de primavera que en los de verano. La densidad de vasos en la madera de primavera se incrementó ligeramente en 1993 (Fig. 7A), pero la superficie total de la madera de primavera y el área conductora disminuyeron en el periodo 1993-95 (Figs. 5B y 7C). La superficie conductora de la madera de verano alcanzó valores mínimos en 1993-94 porque ambos, densidad de vasos de la madera de verano y el diámetro medio de los vasos fueron muy bajos en estos dos años (Fig. 7). Por el contrario, el diámetro

medio de los vasos de la madera de primavera fue alto en el periodo 1991-94. En 1983 se observó una relación inversa similar entre el diámetro de los vasos de la madera de verano y de primavera (Fig. 7B), cuando los valores de RP bajaron de nuevo (Fig. 1).



Figura 7. Variables anatómicas de *Q. faginea* durante el periodo 1980-97: (**A**) densidad de vasos; (**B**) diámetro de vasos y (**C**) área conductora (superficie total transversal ocupada por vasos en un anillo). Nótese la tendencia de crecimiento del área conductora en la madera de primavera. Los datos se presentan separadamente para la madera de primavera (triángulos grises) y la madera de verano (triángulos negros). Las líneas horizontales son los valores medios del periodo 1980-97 (madera de primavera, gris; madera de verano, negro). Las barras de error son los errores estándar. La línea vertical representa la sequía de 1993.

Tabla 2. Valores de correlación (r_s , coeficiente de Spearman) entre las variables de crecimiento y anatomía de la madera de *Q. faginea* en el periodo 1980-1997. La diagonal superior corresponde a la relación entre los valores individuales y la inferior es la correlación entre los valores medios. Las abreviaturas son las mismas que en la Tabla 1. Niveles de significación: *: $0,01 < P \le 0,05$; **: $\alpha' < P \le 0,01$; ***: $\alpha' \le P$, donde α' es la probabilidad corregida de Bonferroni. Esta se obtuvo aplicando la fórmula $\alpha' = \alpha / n = 0,00038$, donde $\alpha = 0,05$ y n = 132 (número de comparaciones pareadas). Los valores encima y debajo de la diagonal corresponden a los datos individuales (n=180) y a la media de las series (n=10), respectivamente.

Variables	INTI	TRw	EWw	LWw	EWv_D	LWv_D	EWv_d	LWv_d	EWc	LWc	EWca	LWca
INTI		0.33***	0.23**	0.31***	-0.19*	0.16*	0.19*	0.15	-0.11	0.13	0.07	0.14
TRw	0.47*		0.65***	0.88***	-0.19*	0.69***	-0.05	0.55***	0.02	0.62***	0.17*	0.59***
Eww	0.38	0.63**		0.25**	-0.05	0.29***	-0.26**	0.24**	0.01	0.30***	-0.06	0.28***
LWw	0.48*	0.98***	0.54*		-0.20*	0.74***	0.05	0.60***	0.05	0.66***	0.26**	0.63***
EWv_D	- 0.54*	-0.66**	-0.51*	-0.65**		0.06	- 0.47***	-0.01	0.31***	0.06	-0.01	0.06
LWv_D	0.12	0.74***	0.41	0.75***	-0.56*		-0.23**	0.77***	0.10	0.94***	0.22**	0.89***
EWv_d	0.50*	0.36	0.01	0.41	-0.27	0.01		- 0.28***	-0.14	- 0.29***	0.34***	- 0.29***
LWv_d	-0.09	0.13	0.08	0.13	-0.26	0.57*	-0.38		0.13	0.90***	0.18*	0.95***
Ewc	- 0.57*	-0.25	-0.02	-0.29	0.12	-0.04	-0.47*	0.15		0.19*	0.70***	0.18*
LWc	-0.09	0.31	0.12	0.34	-0.38	0.71**	-0.27	0.89***	0.19		0.27**	0.98***
Ewca	-0.24	-0.17	-0.42	-0.11	-0.17	0.06	0.01	0.19	0.61**	0.28		0.25**
Lwca	-0.23	-0.06	0.05	-0.04	-0.10	0.39	-0.48*	0.88***	0.35	0.83***	0.25	

La correlación entre la anchura total de anillo y la anchura y el diámetro medio de los vasos de la madera de verano fue alta y positiva (Tabla 2). También se encontro una correlación positiva y significativa ($P \le$ 0.05), aunque menor, entre la anchura de anillo y la anchura de la madera de primavera y la longitud de entrenudo. El diámetro y la densidad de vasos de primavera se correlacionaron inversamente, siendo esta relación directa en la madera de verano. El área conductora de la madera de primavera y verano estuvo positiva y principalmente influída por la densidad de vasos en cada tipo de madera. En conjunto, se identificaron tres grupos de variables de anatomía de la madera y de crecimiento en el PCA: (*i*) variables relacionadas con el diámetro de los vasos de la madera de verano (eje I); (*ii*) diámetro y densidad de vasos de primavera (eje II); y (*iii*) conductividad de la madera de primavera (eje III) (Tabla 3). La anchura de anillo y de la madera de verano también fueron importantes en los dos primeros ejes. Los tres primeros ejes aportaron el 68,9 % de la varianza total.

Variables	Eje I (33.3 %)	Eje II (20.4 %)	Eje III (15.2 %)
INTI	0.35	0.33	-0.05
TRw	0.69	0.64	-0.10
EWw	0.43	0.34	-0.42
LWw	0.65	0.62	0.08
EWv_D	0.02	-0.69	-0.13
LWv_D	0.86	-0.01	-0.17
EWv_d	-0.07	0.58	0.48
LWv_d	0.73	-0.36	-0.07
EWc	0.29	-0.32	0.75
LWc	0.76	-0.43	-0.06
EWca	0.40	-0.05	0.87
LWca	0.82	-0.43	-0.09

Tabla 3. Análisis de componentes Principales (PCA) de las variables de crecimiento y anatomía de la madera de *Q. faginea* en el periodo 1980-1997. Las abreviaturas son las mismas que en la Tabla 1. Se muestra la varianza explicada por cada eje. La PCA estuvo basada en la matriz de correlaciones empleando todos los datos individuales (n=180). Las tres variables con los valores absolutos más altos de cada eje se encuentran en negrita.

La distribución media de todos los vasos según su diámetro en *Q. faginea* fue bimodal, típica de una madera de poro en anillo (Fig. 8). En años secos como 1993, hubo un mayor número de vasos de primavera grandes (diámetro 80-160 μ m) y una menor cantidad relativa de vasos pequeños en la madera de verano (diámetro 10-40 μ m; Fig. 8). Se observó el efecto contrario en los años húmedos como 1997. La conductividad hidráulica teórica (*Kh*) de la madera de verano fue casi cero en 1983 y

1993-94 (Fig. 9), cuando la RP era muy baja (Fig. 1). La conductividad hidráulica de la madera de primavera mostró una tendencia a aumentar con el tiempo hasta 1991, pero después descendió sustancialmente desde 1992 a 1995, cuando la RP fue baja de nuevo (Fig. 1 y 9). La tendencia a incrementar de esta variable se recuperó en 1996. La contribución de la madera de primavera a la *Kh* es de 10^{1} - 10^{2} órdenes superior que la de la madera de verano.

Frecuencia

de

la

barras

Las



Se encontró una relación positiva (r_s = 0.68) y significativa (P = 0.002) entre RP y el índice de anchura de anillo. Resultados similares se obtuvieron con la anchura de la madera de verano. El índice de anchura de anillo se correlacionó positivamente con la precipitación de enero, mayo y de invierno del año de crecimiento (t). También se encontraron relaciones positivas con la precipitación diciembre de (t-1),la temperatura media mínima de abril (t-1) y la temperatura media de octubre (t-1) (Fig. 10). Solamente los meses de octubre (t-1) y julio (t) mostraron una relación inversa clara entre la precipitación y la temperatura media, sugiriendo un efecto negativo del incremento de la evapotranspiración sobre el crecimiento radial durante estos meses. La temperatura media mínima en invierno y primavera (t) también mostró relaciones positivas y significativas ($P \leq 0.05$). Cuando se emplearon los datos de precipitación de 10 días, se encontraron relaciones positivas y significativas ($P \leq$ (0.05) entre el índice de anchura de anillo y la precipitación de dos periodos de 10 días correspondientes al final de diciembre (t-1) $(r_s = 0.63)$ y final de mayo (t) $(r_s = 0.48)$ y una relación negativa con el final de septiembre-principios de octubre (t-1) $(r_s =$ -0.53; ver también Fig. 10). La anchura de la madera de verano estuvo influída por factores climáticos similares (resultados no presentados), con la excepción de que la precipitación en mayo (t) y en verano fueron más importantes y que estos fueron factores significativos. El diámetro medio de los vasos de la madera de primavera se correlacionó negativamente con la precipitación de noviembre (t-1), enero (t) y abril (t). El diámetro medio de los vasos de la madera de verano estuvo positiva y significativamente correlacionado ($P \leq$ 0.05) con la precipitación de primavera y positivamente aunque no significativamente correlacionado con la temperatura media septiembre-octubre previa en (t-1)(resultados no presentados).



Figura 10. Función respuesta de *Q. faginea* obtenida correlacionando los índices de crecimiento radial anual con los datos meteorológicos mensuales (gráfico superior: precipitación total –barras negras-, temperatura media –barras grises; gráfico inferior: temperatura media mensual máxima –barras rayadas-, temperatura media mensual mínima –barras blancas). Los datos meteorológicos se obtuvieron de la estación de Cubel. Se comparó el crecimiento y el clima desde abril del año previo hasta octubre del año de crecimiento. Las últimas 4 barras de la derecha representan los valores climáticos estacionales (invierno – JFM; primavera –AMJ; verano –JAS; y otoño –OND). Las líneas horizontales de puntos son los umbrales de significación para $P \le 0.05$.

DISCUSION

precipitation de La recarga, particularmente la registrada en enero y febrero del año de crecimiento (t), afectó grandemente el crecimiento radial de Q. (Fig. 10). La precipitation faginea registrada Mayo (*t*) influyó en positivamente en la anchura de la madera de verano de Q. faginea. La temperatura media máxima en octubre del año previo al crecimiento (t-1) estuvo positivamente correlacionada con la anchura del anillo.

Ambos, el crecimiento longitudinal y radial estuvieron correlacionados con la precipitación de recarga. Durante los años de baja precipitación de recarga, O. faginea experimentó una reducción de la longitud de entrenudo, anchura de anillo y superficie de la madera de primavera y madera de verano (Figs. 1 y 5). Esto confirma la hipótesis inicial y los resultados de estudios previos. Los datos presentados por Tessier et al. (1994) mostraron una respuesta directa del crecimiento radial de Q. pubescens a la precipitación de recarga en el sur de Francia, en suelos calcáreos bien drenados con déficit de agua. La mayor cantidad de precipitación en los meses de enero y febrero se correlacionó con anillos más anchos en Q. faginea (Fig. 10), hecho observado en estudios realizados con robles de clima templado (Eckstein and Frisse 1982). Costa et al. (2001) identificaron una influencia positiva y significativa de la precipitación acumulada en el otoño previo (octubre-noviembre) en el crecimiento radial de O. suber. En otros estudios con robles mediterráneos deciduos se ha encontrado una respuesta directa predominante del crecimiento radial a la precipitación de primavera (Amorini et al. 1996) y de verano (Tessier et al. 1994). Varios estudios también han mostrado una influencia positiva de las primaveras cálidas y los veranos húmedos del año de crecimiento en la anchura del anillo de Q. robur y O. petraea en bosques nemorales de Alemania (Eckstein y Frisse 1982), Italia (Nola 1991), y NO de España (Pérez Antelo 1993, Rozas Ortiz 1999). En el presente trabajo soló se encontró un efecto positivo de las temperaturas del mes de octubre previo en la anchura del anillo (Fig. 10). Esto podría implicar una elongación de la estación de crecimiento en otoño. Una estrategia similar en el retraso de la caída de la hoja ha sido sugerida en otros robles mediterráneos deciduos (Abadía et al. 1996), lo que debería ser confirmado en estudios fenológicos a largo plazo (ej. Castro-Díez y Montserrat-Martí 1998).

Eckstein y Frisse (1982) encontraron una influencia positiva y significativa de la precipitación de recarga y una influencia negativa de la temperatura de primavera del año de crecimiento sobre el

área de los vasos en O. robur en centroeuropa. Sin embargo, Huber (1993) solo detectó un efecto positivo de la temperatura media máxima del otoño (septiembre-diciembre) previo en la superficie ocupada por los vasos de primavera de Q. robur y Q. petraea. También se encontró una influencia positiva de la temperatura media del otoño previo al crecimiento del anillo (septiembre-octubre). La influencia de la precipitación en la variación interanual de la superficie ocupada por vasos es mayor que sobre la anchura del anillo (Woodcock 1989a). Sin embargo, Villar-Salvador et al. (1997) no encontraron ninguna relación significativa entre los caracteres del xilema de Q. faginea (diámetro medio máximo de los vasos, densidad de vasos, longitud de los vasos) y la variabilidad anual de la precipitación a lo largo de un gradiente espacial de aridez. Aparecieron respuestas significativas cuando las especies analizadas fueron robles perennifolios con madera de poro difuso como Q. ilex y Q. coccifera (Villar-Salvador et al. 1997). Según estos autores, esto podría explicarse por la localización de los bosques de Q. faginea estudiados, que se encontraban en el fondo de valles con abundantes reservas de agua, lo que podría haber enmascarado su sensibilidad a las variaciones de la precipitación. Por el contrario, el lugar de estudio del presente trabajo es propenso al estrés hídrico por falta de agua en el suelo y está considerado como de baja calidad para el desarrollo de *Q. faginea*. Esto podría explicar las relaciones citadas anteriormente entre la anatomía de la madera y el clima. Por ejemplo, una mayor precipitación en primavera se encuentra asociada a vasos de madera de verano más grandes.

En la madera de poro en anillo, ambas, anchura de anillo y anchura de la madera de verano, se encuentran altamente correlacionadas (Tablas 2 y 3; Woodcock 1989b, 1989c). Por tanto, la variación en la anchura del anillo depende principalmente de la cantidad de madera de verano producida. La gran variabilidad interanual de los caracteres de la madera de verano diámetro de los (anchura, vasos, conductividad) refleja el impacto climático particularmente dominante. de la precipitación, en el desarrollo de la madera de verano. Los caracteres de la madera de primavera (anchura y tamaño de vasos) fueron mucho menos variables (Tabla 1; Woodcock 1989a). El diámetro y la densidad de los vasos estuvieron inversamente correlacionados en la madera de primavera, positivamente pero correlacionados en la madera de verano (Tabla 2). Esto es, de alguna forma, predecible, ya que los vasos grandes y poco espaciados se encuentran normalmente en

Corcuera L, Camarero JJ and Gil-Pelegrín E. Growth response of an over-aged *Quercus faginea* coppice woodland to a severe climatic episode: a wood-anatomical and dendroecological approach to oak decline. Can. J. For. Res. (submitted)

el primer tipo de madera (Woodcock 1989c).

Puesto que los vasos grandes de la madera de primavera en maderas de poro en anillo proceden de células invernantes formadas en el otoño anterior, la mayoría de la sensibilidad a la precipitación en las variables anatómicas del xilema aparece en el invierno y principios de primavera (Fig. 10). La influencia de la precipitación en la formación de la madera de verano puede explicarse por su mayor coste metabólico debido a un alto contenido de tejido no conductor (Zimmermann 1983). De forma análoga, la madera de poro en anillo es menos costosa que la de poro difuso porque esta última está constituída por elementos conductivos y estructurales (Hacke et al. 2001). Por ejemplo, en píceas, la reducción del diámetro de las traqueidas es una respuesta rápida a una reducción del aporte de agua a corto plazo, a través de cambios en la turgencia celular durante el periodo de diferenciación (von Wilpert 1991). En resumen, las variables de la madera de verano, particularmente la anchura y el diámetro de los vasos, son variables más sensibles a la variabilidad anual de la precipitación, una característica del clima mediterráneo, que las variables de la madera de primavera.

Como árbol típicamente deciduo de madera de poro en anillo, el último anillo

de crecimiento de Q. faginea aporta la mayor parte del transporte del xilema al principio de la estación de crecimiento para la formación del nuevo follaje (Ellmore y Ewers 1986). En las especies de poro en anillo, la distribución de los vasos a lo largo de la estación de crecimiento se compone de vasos grandes y pequeños en la madera de primavera y esencialmente de vasos pequeños en la madera de verano (Woodcock 1989b). Además, el transporte por el xilema depende principalmente de los vasos grandes de la madera de primavera, función está mayoritariamente cuya restringida a una estación de crecimiento (Ellmore y Ewers 1986). Por tanto, la ventaja hidráulica de los vasos de primavera contrasta con su corto tiempo de vida como elementos conductores a consecuencia de su mayor riesgo de cavitación debido a ambos, la seguía estival y las heladas rigurosas (Tyree y Sperry 1989, Sperry et al. 1994). Por el contrario, la madera de verano puede permanecer funcional durante varios años pero aporta menos del 5 % del flujo total a través del xilema (Ellmore y Ewers 1986).

La conductividad hidráulica teórica descendió sustancialmente en respuesta a los periodos de baja precipitación de recarga. La reducción en la conductividad hidráulica de la madera de primavera tuvo peores efectos en el crecimiento del árbol que el descenso de la conductividad hidráulica de la madera de verano debido a la mayor contribución a la conductividad hidráulica total del primer tipo de madera. A pesar del gran diámetro medio y densidad de vasos de la madera de primavera (Figs. 7A-B) durante el periodo seco (1992-95; Fig. 1), el descenso en la superficie de la madera de primavera (Fig. 5) condujo a una irremediable reducción de la superficie conductora (Fig. 7C) y de la conductividad hidráulica teórica total (Fig. 9). Durante los años secos, la mayoría de los árboles no produjeron madera de verano y estos anillos estrechos estuvieron constituidos casi exclusivamente de vasos de madera de primavera (Woodcock 1989a). El predominio de los vasos grandes de la madera de primavera sobre los vasos pequeños de la madera de verano podría haber causado la cavitación de la mayoría de los vasos de primavera, una reducción en el flujo de agua a través de los vasos del xilema más exteriores, y un menor crecimiento de entrenudos v menor desarrollo foliar tras periodos de seguía intensa. Ponton et al. (2001) sugirieron un vínculo causal entre la eficiencia en el uso del agua, estimada mediante técnicas de discriminación de isótopos de carbono, y el área de los vasos de primavera. Esta relación podría ser más fuerte en los años de fuerte sequía ya que las propiedades hidráulicas del xilema podrían afectar al intercambio gaseoso de la hoja. Por tanto, los árboles con menor superficie de vasos de madera de primavera mostrarían una mayor eficiencia en el uso del agua.

Amorini et al. (1996) encontraron una mayor sensibilidad al clima en árboles que habían experimentado decaimiento que en individuos sanos. Otros estudios han sugerido que los episodios de decaimiento surgen después de periodos inusuales de alto crecimiento (Tainter et al. 1990, Jenkins and Pallardy 1995). Como de condiciones consecuencia las climatológicas óptimas, los árboles fijarían carbono para constituir nuevo follaje e incrementarían la relación parte aérea / parte subterránea. Una sucesión de sequías intensas, unido a unas pobres condiciones edáficas, podrían conducir a una baja disponibilidad de agua en el suelo, reducción de la biomasa radicular, disminución del crecimiento y defoliación (Manion 1981). Esto podría predisponer a la vegetación a daños posteriores e incrementar su susceptibilidad а los patógenos y a los hongos de raíz (Wargo 1977, Vannini and Scarascia 1991). Los individuos que experimentaron decaimiento a principios de los noventa debido a una consecución de seguías intensas no tuvieron un crecimiento vigoroso previo. Los robles más afectados se recuperaron rápidamente y

Corcuera L, Camarero JJ and Gil-Pelegrín E. Growth response of an over-aged *Quercus faginea* coppice woodland to a severe climatic episode: a wood-anatomical and dendroecological approach to oak decline. Can. J. For. Res. (submitted)

anillos formaron anchos V largos entrenudos con abundante follaje en 1996. Por otra parte, no se observó un periodo previo de crecimiento inusual en los cortes de la madera, exceptuando los efectos pequeños de una seguía previa en 1983. Por tanto, nuestros datos no apoyan la idea de un gran crecimiento previo como la causa de una mayor predisposición al decaimiento. Esto podría ser debido al medioambiente del lugar de estudio, hostil el crecimiento de О. para faginea. Teóricamente, si las seguías intensas llegaran a ser más frecuentes y causaran un decaimiento y muerte generalizados en estas poblaciones marginales de Q. faginea, esta especie podría ser reemplazada por árboles más resistente a la seguía como Q. ilex (Allué Andrade 1990).

Suzuki et al. (1998) sugirieron que la formación fenológica de los vasos pequeños de la madera de verano en maderas de poro en anillo es equivalente a la de los vasos en maderas de poro difuso. Ellos demostraron que la madera de poro difuso no tiene ningún elemento conductor equivalente a los vasos grandes formados en primavera en maderas de poro en anillo. Los estudios paleoecológicos han concluido que la mayoría de las primeras dicotiledóneas hemisferio del norte formaron madera de poro difuso y que la madera de poro en anillo llegó a ser común después, a finales del Terciario, cuando el clima se hizo más frío y estacional (Wheeler y Bass 1991). La condición de poro en anillo derivó de la de poro difuso cuando el clima se volvió mas estacional y variable. La formación de vasos grandes en la madera de primavera está relacionada con la fenología foliar a través de gradientes basipétalos de auxinas (Aloni 1987). El desarrollo de grandes vasos en la madera de primavera en las especies de madera de poro en anillo les permite el transporte de mayor cantidad de agua para un rápido desarrollo foliar al principio de la estación de crecimiento después de la dormancia del invierno (Lechowicz 1984), aunque a expensas de un aumento del riesgo de embolia por congelación (Tyree et al. 1994). En este trabajo se ha mostrado como O. faginea respondió a la intensa seguía de 1993 mediante la reducción de la anillo, la conductividad anchura del hidráulica total y la longitud de entrenudo. Esta reducción de la longitud de entrenudo conllevó una menor superficie foliar (Corcuera, datos no publicados), lo que podría considerarse como un mecanismo de compensación para minimizar el daño por sequía (Adams 1994). Estas respuestas a corto plazo pueden ser consideradas como componentes de la plasticidad fenotípica de las plantas (Sultan 1995). De hecho, la plasticidad de las variables anatómicas de la

madera puede ser un factor previamente infravalorado que explicaría la rápida evolución de los robles (Axelrod 1983).

Los episodios de El Niño estuvieron asociados a periodos secos al comienzo de estación de la crecimiento (baja precipitación de recarga). Esto causó la aparición de anillos más estrechos con vasos más pequeños en la madera de verano. Se ha mostrado que la mayoría de los individuos de Q. faginea no formaron madera de verano después de los inviernos secos precedidos por episodios de El Niño en el Océano Pacífico (Fig. 5). Esta respuesta ocurrió aproximadamente 5 meses después de un fuerte episodio de El Niño, lo que coincide con previos estudios (Rodó et al. 1997. Rocha 1999). La laguna endorreica de Gallocanta, ubicada en las cercanías del monte objeto de estudio (40° 50' N, 2° 11' W), se secó en 1994 y 1983, después de seguías intensas y de fases cálidas fuertes o muy fuertes de la Oscilación del Sur en 1982-83 y 1992-93 (Rodó et al. 1997). Esto enfatiza los sobrecogedores efectos de la variabilidad climática sobre los ecosistemas, incluyendo a comunidades como lagos salinos y de robles. bosques Los datos meteorológicos de la estación de Daroca sugieren que ocurrieron otras sequías intensas en la primavera (marzo-mayo) de 1911-13, 1923-25 y 1965-66. Estas seguías también coincidieron con fuertes episodios cálidos de El Niño. Un muestreo más amplio en individuos viejos de Q. faginea proporcionar monitor podría un paleoclimático fiable para la reconstrucción dendroclimática de eventos similares, a través del estudio de los caracteres de la anatomía de la madera. Si tal y como Rodó et al. (1997) sugirieron, se ha incrementado la frecuencia de los episodios fuertes de El Niño en los últimos 25 años, es esperable que el crecimiento radial de O. faginea se vea afectado por años frecuentes con baja precipitación de recarga. Este carácter imprevisible de la precipitación debería ser considerado cuidadosamente para un manejo adecuado de estos montes bajos mediante la reducción de la competencia intraespecífica entre los rebrotes. Esto podría prevenir los efectos adversos del reciente aumento de la variabilidad climática.

BIBLIOGRAFIA

Abadía A., Gil-Pelegrín, E., Morales, F., Montañés, L., Montserrat, G. y Abadía, J. 1996. Marcescence and sennescence in a sub-mediterranean oak (*Quercus subpyrenaica* E.H. del Villar): photosynthetic charactheristics and nutrient composition. Plant, Cell and Environment 19: 685–694.

Adams, M.D. 1994. Genotypic and phenotypic variation as stress adaptations in temperate tree species: a review of several case studies. Tree Physiology 14: 833–842.

Aït-Bachir, S. 1998. Utilisation des images-satéllite Landsat-TM pour l'étude du diachronique syndrome de déperissement des chênaies de la région de Cubel (Aragón). Master Thesis. International Centre for Advanced Mediterranean Agronomic Studies, Zaragoza, Spain.

Allan, R.J., Nicholls, N., Jones, P.D. y Butterworth, I.J. 1991. A further extension of the Tahiti-Darwin SOI, early SOI results and Darwin pressure. J. Climate 4: 743–749.

Allué Andrade, J.L. 1990. Atlas Fitoclimático de España: Taxonomías. MAPA-INIA, Madrid

Aloni, R. 1987. Differentiation of vascular tissues. Ann. Rev. Plant Physiol. 38: 179–204.

Amorini, E., Biocca, M., Manetti, M.C. y Motta, E. 1996. A dendroecological study in a declining oak coppice stand. Ann. Sci. For. 53: 731–742.

Axelrod, D.I. 1983. Biogeography of oaks in the Arcto-Tertiary province. Ann. Missouri Bot. Gard. 70: 629–657.

Baas, P., Werker, E. y Fahn, A. 1983. Some ecological trends in vessel characters. IAWA Bull. 4: 141–159. Baas, P. y Schweingruber, F.H. 1987. Ecological trends in the wood anatomy of trees, shrubs and climbers from Europe. IAWA Bull. 8: 245–274.

Becker, M. y Lévy, G. 1982. Le dépérissement du chêne en forêt de Tronçais. Les causes écologiques. Annales des Sciences Forestieres 39: 439–444.

Cañellas, I., Montero, G. y Jiménez, M.D. 1996. Litterfall in a rebollo oak (*Quercus pyrenaica* Willd.) coppice thinned with various intensities. Ann. Ist. Sper. Selv. 27: 25–29.

Carlquist, S. 1975. Ecological strategies of xylem evolution. University of California Press, Los Angeles.

Carlquist, S. 1977. Ecological factors in wood evolution: a floristic approach. Am. J. Bot. 64: 887–896.

Castro-Díez, P. y Montserrat-Martí, G. 1998. Phenological pattern of fifteen Mediterranean phanaerophytes from *Quercus ilex* communities of NE-Spain. Plant Ecology 139: 103–112.

Castro-Díez, P., Puyravaud, J.P., Cornelissen, J.H.C. y Villar-Salvador, P. 1998. Stem anatomy and relative growth rate in seedlings of a wide range of woody plant species and types. Oecologia 116: 57– 66.

Cochard, H. y Tyree, M.T. 1990. Xylem dysfunction in *Quercus*: vessel sizes, tyloses, cavitation and seasonal

changes in embolism. Tree Physiology, 6: 393–407.

Costa, A., Pereira, H. y Oliveira, A. 2001. A dendroclimatological approach to diameter growth in adult cork-oak trees under production. Trees 15: 438–443.

Delatour, C. 1983. Le dépérissement des chênes en Europe. Rev. For. Fr. 35: 265–282.

Douglass, A.E. 1936. Climatic cycles and tree growth, Vol. III. A study of cycles. *Carnegie Inst. Wash. Publ.* 289.

Eckstein, D. y Frisse, E. 1982. The influence of temperature and precipitation on vessel area and ring width of oak and beech. In Climate from tree rings, p. 12. Eds. Hughes MK, Kelly PM, Pilcher JR and LaMarche, VC Jr. Cambridge Univ. Press.Cambridge, UK

Ellmore, G.S. y Ewers, F.W. 1986. Fluid flow in the outermost xylem increment of a ring-porous tree, *Ulmus americana*. Am. J. Bot. 73: 1771–1774.

Enjalbal, I., Grandjanny, M., Maistre, M., Perret, P., Romane, F. y Shater, Z. 1996. The holm oak (*Quercus ilex* L.) radial growth facing the rainfall unpredictability. An example in Southern France. Ann. Ist. Sper. Selv. 27: 31–37.

Faci González, J.M. y Martínez Cob, A. 1991. Cálculo de la evapotranspiración de referencia en Aragón. Diputación General de Aragón, Zaragoza, Spain.

Floret, C.; Galán, M.J.; Lefloc'h, E.; Orshan, E. y Romane, F. 1990. Growth forms and phenomorphology traits along an environmental gradient: tools for studying vegetation? J. Veg. Sci. 1:71–80.

Font Tullot, I. 1983. Historia del clima de España. Cambios climáticos y sus causas. I.N.M. Madrid

Fritts, H.C. 1976. Tree Rings and Climate. Academic Press, New York. 567 pp.

Hacke, U.G., Sperry, J.S., Pockman, W.T., Davis, S.D. y McCulloh, K.A. 2001. Trends in wood density and structure are linked to prevention of xylem implosion by negative pressure. Oecologia 126: 457–461.

Hepting, G.H. 1963. Climate and forest diseases. Ann. Rev. Phytopathology 1: 31–47.

Huber, F. 1993. Déterminisme de la surface des vaisseaux du bois des chênes indigènes (*Quercus robur* L., *Quercus petraea* Liebl.). Effet individuel, effet de l'appareil foliaire, des conditions climatiques et de l'âge de l'arbre. Ann.Sci. For. 50: 509–524.

Hurrell, J.W. 1995. Decadal trends in the North Atlantic Oscillation and relationships to regional temperature and precipitation. Science 269: 676–679.

Corcuera L, Camarero JJ and Gil-Pelegrín E. Growth response of an over-aged *Quercus faginea* coppice woodland to a severe climatic episode: a wood-anatomical and dendroecological approach to oak decline. Can. J. For. Res. (submitted)
IPCC. 2001. Climate Change 2001: The Scientific Basis. Third Assessment Report of Working Group I (Eds. Houghton, J.T. and Yihui, D.). Cambridge University Press.

Jenkins, M.A. y Pallardy, S.G. 1995. The influence of drought on red oak group species growth and mortality in the Missouri Ozarks. Can. J. For. Res. 25: 1119–1127.

Jones, P.D., Jónsson, T. y Wheeler, D. 1997. Extension to the North Atlantic Oscillation using early instrumental pressure observations from Gibraltar and South-West Iceland. Int. J. Climatol. 17: 1433–1450.

Können, G.P., Jones, P.D., Kaltofen, M.H. y Allan, R.J. 1998. Pre-1866 extensions of the Southern Oscillation Index using early Indonesian and Tahitian meteorological readings. J. Climate 11: 2325–2339.

Lechowicz, M.J. 1984. Why do temperate deciduous trees leaf out at different times? Am. Nat. 124: 821–842.

Legendre, P. y Legendre, L. 1998. Numerical ecology. Elsevier, Amsterdam.

Lévy, G., Becker, M. y Duhamel, D. 1992. A comparison of the ecology of pedunculate and sessile oaks: radial growth in the centre and North-West of France. Forest Ecology and Management 55: 51– 63. Lloret, F. y Siscart, D. 1995. Los efectos demográficos de la sequía en poblaciones de encina. Cuadernos de la Sociedad Española de Ciencias Forestales 2: 77–81.

Manion, P.D. 1981. Tree Disease Concepts. Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ.

Manrique, E. and Fernández-Cancio, A. 2000. Extreme climatic events in dendroclimatic reconstructions from Spain. Climatic Change 44: 123–138.

Mitrakos, K.A. 1980. A theory for Mediterranean plant life. Acta Oecol. 1: 245–252.

Nabais, C.; Freitas, H. y Hagemeyer, J.; 1998-1999. Tree-rings to climate relationships of *Quercus ilex* L. in NE-Portugal. Dendrochronologia, 16-17: 37–44.

Nola, P. 1991. Primo approcio alla dendroclimatologia della quercia (*Quercus robur* L.) e *Quercus petraea* ((Mattuschka) Liebl.) in pianura padana (Italia settentrionale). Dendrochronologia 9: 71– 94.

Pérez Antelo, A. 1993. Dendrocronología de *Quercus petraea* (Mattuschka) Liebl., *Q. pyrenaica* Willd., *Q. robur* L., sus nothotaxones y *Castanea sativa* Miller en Galicia (España). PhD Thesis. Universidad Autónoma de Madrid, Madrid.

Corcuera L, Camarero JJ and Gil-Pelegrín E. Growth response of an over-aged *Quercus faginea* coppice woodland to a severe climatic episode: a wood-anatomical and dendroecological approach to oak decline. Can. J. For. Res. (submitted)

Piervitali, E., Colacino, M. y Conte, M. 1997. Signals of climatic change in the Central-Western Mediterranean Basin. Theor. Appl. Climatol. 58: 211–219.

Ponton, S., Dupouey, J.-L., Bréda, N., Feuillat, F., Bodénès, C. y Dreyer, E. 2001. Carbon isotope discrimination and wood anatomy variations in mixed stands of *Quercus robur* and *Quercus petraea*. Plant, Cell and Environment 24: 861–868.

Rocha, A. 1999. Low-frequency variability of seasonal rainfall over the Iberian Peninsula and ENSO. Int. J. Climatol. 19: 889–901.

Rodó, X.; Baert, E. y Comín, F. A. 1997. Variations in seasonal rainfall in Southern Europe during the present century: relationships with the North Atlantic Oscillation and the El Niño-Southern Oscillation. Climate Dynamics 13: 275–284.

Rodríguez Puebla, C., Encinas, A.H., Nieto, S. y Garmendia, J. 1998. Spatial and temporal patterns of annual precipitation variability over the Iberian Peninsula. Int. J. Climatol. 18: 299–316.

Ropelewski, C.F. y Jones, P.D. 1987. An extension of the Tahiti-Darwin Southern Oscillation Index. Monthly Weather Review 115: 2161–2165.

Rozas Ortiz, V. 1999. Estructura, dinámica y tendencias sucesionales en un bosque de roble y haya de la Cornisa Cantábrica. PhD Thesis. Universidad de Oviedo, Oviedo.

Sass, U. y Eckstein, D. 1995. The variability of vessel size in beech (*Fagus sylvatica* L.) and its ecophysiological interpretation. Trees 9: 247–252.

Serrada, R., Allué, M. y San Miguel, A. 1992. The coppice system in Spain. Current situation, state of art and major areas to be investigated. Ann. Ist. Sper. Selv. 23: 266–275.

Sokal, R.R. y Rohlf, F.J. 1995. Biometry: the principles and practice of statistics in biological research. Freeman, New York

Sperry, J.S. y Sullivan, J.E. 1992. Xylem embolism in response to freeze-thaw cicles and water stress in ring porous, diffuse porous and conifer species. Plant Physiology, 100: 605–613.

Sperry, J.S., Nichols, K.L., Sullivan, J.E. y Eastlack, S.E. 1994. Xylem embolism in ring-porous, diffuse-porous and coniferous trees in northern Utah and interior Alaska. Ecology 75: 1736–1752.

Stokes M.A. y Smiley, T.L. 1968. An introduction to tree-ring dating. Univ. of Chicago Press, Chicago.

Sultan, S.E. 1995. Phenotypic plasticity and plant adaptation. Acta Bot. Neerl. 44: 363-383.

Suzuki, M., Hirano, R. y Yoda, K. 1998. Phenological analysis of wood formation in temperate deciduous ring and diffuse-porous wood. IAWA J. 19: 480–481.

Tainter, F.H., Williams, T.M. y Cody, J.B. 1983. Drought as a cause of oak decline and death on the South Carolina coast. Plant Disease 67: 195–197.

Tainter, F.H., Retzlaff, W.A., Starkey, D.A. y Oak, S.W. 1990. Decline of radial growth in red oaks is associated with short-term changes in climate. Eur. J. For. Pathol., 20: 95–105.

Tessier, L., Nola, P. y Serre-Bachet, F. 1994. Deciduous *Quercus* in the Mediterranean region: tree-ring / climate relationships. New Phytol. 126: 355–367.

Tognetti, R.; Longobucco, A. y Raschi, A. 1998. Vulnerability of xylem to embolism in relation to plant hydraulic resistance in *Quercus pubescens* and *Quercus ilex* co-ocurring in a Mediterranean coppice stand in central Italy. New Phytol. 139: 437–447.

Tryon, E.H. y True, R.P. 1958. Recent reductions in annual radial increments in dying scarlet oaks related to rainfall deficiences. Forest Science 4: 219– 230.

Tuset, J.J., Hinarejos, C., Mira, J.L. y Cobos, J.M. 1996. Implicación de *Phytophthora cinnamomi* Rands en la enfermedad de la "seca" de encinas y alcornoques. Boletín de Sanidad Vegetal y Plagas 22: 491–499.

Tyree, M.T. y Ewers, F.W. 1991. The hydraulic architecture of trees and other woody plants. New Phytologist, 119: 345–360.

Tyree, M.T. y Sperry, J.S. 1989. Vulnerability of xylem to cavitation and embolism. Annu. Rev. Plant Physiol. 40: 19–38.

Tyree, M.T., Davis, S.D. y Cochard, H. 1994. Biophysical perspectives of xylem evolution: is there a tradeoff of hydraulic efficiency for vulnerability to dysfunction? IAWA J. 15: 335–360.

Vannini, A. y Scarascia, G. 1991. Water stress: a predisposing factor in the pathogenesis of *Hypoxylon mediterraneum* on *Quercus cerris*. Eur. J. For. Pathol. 21: 193–201.

Villar-Salvador P., Castro Díez P., Pérez Rontomé C. y Montserrat Martí, G. 1997. Stem xylem features in three *Quercus* (*Fagaceae*) species along a climatic gradient in NE Spain. Trees 12: 90–96.

von Wilpert, K. 1991. Intraanuual variation of radial tracheid diameters as monitor of site specific water stress. Dendrochronologia 9: 95–113.

Walter, H. 1990. Vegetation und Klimazonen: Grundriss der globalen Ökologie. 6th ed. Ulmer, Stuttgart.

Corcuera L, Camarero JJ and Gil-Pelegrín E. Growth response of an over-aged *Quercus faginea* coppice woodland to a severe climatic episode: a wood-anatomical and dendroecological approach to oak decline. Can. J. For. Res. (submitted)

Wang, J.; Ives, N.E. y Lechowicz M.J. 1992. The relation of foliar phenology to xylem embolism in trees. Functional Ecology, 6: 469–475.

Wargo, P.M. 1977. *Armillaria mellea* and *Agrilus bilineatus* and mortality of defoliated oak trees. Forest Science 23: 485–492.

Wheeler, E.A. y Baas, P. 1991. A survey of the fossil record for dycotiledonous wood and its significance for evolutionary and ecological wood anatomy. IAWA Bull. 12: 275–332.

Woodcock, D. 1989a. Climate sensitivity of wood-anatomical features in a ring-porous oak (*Quercus macrocarpa*). Can. J. For. Res. 19: 639-644.

Woodcock, D. 1989b. Distribution of vessel diameter in ring-porous trees. Aliso 112: 287-293.

Woodcock, D. 1989c. Relationships among wood variables in two species of ring-porous trees. Aliso 112: 543-554.

Zahner, R. 1968. Water deficits and growth of trees. In: Water Deficits and Plant Growth, Ed. T.T. Kozlowski, Academic Press, London, vol. II, pp. 191– 254.

Zhang, S.Y.; Baas, P. y Zandee, M, habit and phenology. IAWA J. 13: 307– 349. Zimmermann, M.H. 1983. Xylem structure and the ascent of sap. Sringer-Verlag, Berlin.

CAPITULO 4. Efectos de una intensa sequía en el crecimiento radial de *Quercus ilex* ssp. *ballota*: la respuesta de una especie arbórea pre-mediterránea a las condiciones climáticas mediterráneas

CAPITULO 4

EFECTOS DE UNA SEQUÍA INTENSA EN EL CRECIMIENTO RADIAL DE *Quercus ilex* ssp. *ballota*: LA RESPUESTA DE UNA ESPECIE ARBÓREA PRE-MEDITERRÁNEA A LAS CONDICIONES CLIMÁTICAS MEDITERRÁNEAS

RESUMEN

Se evaluó la respuesta del crecimiento de Quercus ilex ssp. ballota (en adelante, Q. ilex) a la intensa seguía que se produjo en 1994 en el NE de España. Se seleccionó una masa tratada en monte bajo situada en el Sistema Ibérico (1º 39' W, 41º 07' N, 1177 m), caracterizado por un clima mediterráneo con influencia continental. Se muestrearon diez árboles con signos de defoliación en el pasado. Estos árboles conservaban principalmente hojas jóvenes (0-2 años). Se cuantificaron diversas variables de crecimiento y de anatomía de la madera para el intervalo común 1981-97: longitud de entrenudo, anchura de anillo, diámetro de vasos medio y máximo, densidad de vasos y superficie conductora. La conductividad hidráulica anual teórica (Kh) se calculó según la ley de Hagen-Poiseuille. Se comparó la anchura de anillo, el diámetro de los vasos y Kh de Q. ilex en un año de verano seco (1994) y un año de verano húmedo (1997) con los valores correspondientes de los robles concurrentes Q. faginea y Q. pyrenaica, caducifolios, de madera de poro en anillo. Para comprobar que la resistencia del xilema al estrés hídrico era mayor en O. ilex ssp. ballota que en Q. ilex ssp. ilex (dominante en lugares menos xéricos) se obtuvieron las curvas de vulnerabilidad a la cavitación en plántulas de ambas subespecies. Con objeto de estudiar la respuesta del crecimiento al clima (valores mensuales de la precipitación total y temperatura media), se calcularon los índices adimensionales de las variables de crecimiento seleccionadas (longitud de entrenudo, anchura de anillo y densidad de vasos). Se compararon estos índices con los datos climáticos utilizando análisis de correlación (funciones de respuesta) y análisis multivariantes (análisis de redundancia, RDA). El periodo 1992-94 registró valores de precipitación anual por debajo de la media de 1981-97. Durante este periodo, 1994 registró el segundo verano más seco después de 1984. La longitud de entrenudo, la anchura de anillo (datos brutos e índices), la conductividad hidráulica teórica total y el diámetro medio y máximo de los vasos disminuyeron en 1994, coincidiendo con un acusado descenso de la precipitación anual y estival. Los ejemplares de *Q. ilex* estudiados presentaban anillos anuales datables constituídos por madera de poro difuso (distribución unimodal del diámetro de los vasos). El diámetro medio de los vasos se estabilizó a la edad cambial de 10 años. El diámetro medio de los vasos durante el período 1981-97 fue de 51 um. En 1994, los anillos de O. ilex contenían una mayor proporción de vasos pequeños (30-70 µm) y una menor proporción de vasos grandes (100-140 µm). Esto explica que la mayor parte de la conductividad hidráulica teórica total en 1994 tuviera lugar a través de vasos intermedios (80-100 µm) en Q. ilex (madera de poro difuso) y a través de vasos grandes (100-120 µm) en la especie concurrente Q. faginea (madera de poro en anillo). Las curvas de vulnerabilidad a la cavitación sugieren una mayor resistencia a la seguía de Q. ilex ssp. ballota (dominante en lugares xéricos con influencia continental) en comparación con Q. ilex ssp. ilex (dominante en lugares mésicos con influencia mediterránea), lo que coincide con su distribución fitogeográfica.

Durante el año de crecimiento (*t*), tanto las funciones respuesta como el RDA mostraron una influencia positiva de la precipitación invernal (enero) y estival (julio-agosto) en la longitud de entrenudo, la anchura de anillo y densidad de vasos. De hecho, el crecimiento radial y la evapotranspiración de junio-julio estaban inversamente relacionados. Esto puede corresponder a las dos estaciones que imponen limitaciones climáticas en las regiones mediterráneas con influencia continental. En primer lugar, las bajas temperaturas del invierno pueden limitar la fotosíntesis y reducir la acumulación de fotosintatos para el crecimiento debido a un estado hídrico inadecuado. La reducción de la anchura del anillo, el diámetro de los vasos y la conductividad hidráulica teórica total de la madera de *Q. ilex* en respuesta a la sequía de verano sólo puede compararse a la respuesta de la madera de verano de *Q. faginea*. En general, *Q. ilex* mostró una plasticidad inesperada en respuesta a la sequía del verano solo puede compararse a.

INTRODUCCIÓN

El clima afecta tanto а las características morfológicas como funcionales de la vegetación (Orshan 1989, Floret et al. 1990). Por ejemplo, la aridez estival influye en varias características de crecimiento de las especies vegetales como la anatomía del xilema y el crecimiento radial (Carlquist 1975, Fritts 1976). Varios estudios han identificado cambios en el diámetro medio de los vasos, especialmente en las especies con madera de poro difuso, a lo largo de gradientes climáticos de disponibilidad de agua (Baas et al. 1983, Baas y Schweingruber 1987, Zhang et al. 1992, Woodcock e Ignas 1994, Sass y Eckstein 1995). Las condiciones de aridez aumentan la susceptibilidad de los vasos grandes a la cavitación inducida por estrés hídrico (Cochard y Tyree 1990, Tognetti et al. 1998). Dichas relaciones reflejan los efectos directos provocados por la seguía en la embolia del xilema y en el crecimiento del vegetal (Zimmermann 1983). Esto se explica por el conflicto entre el aumento en la eficiencia conductora, proporcionada por los vasos más anchos, y el aumento del riesgo de cavitación inducida por las sequías o las heladas (Tyree y Sperry 1989, Tyree y Ewers 1991). De acuerdo con la ley de Hagen-Poisseuille, la conductividad hidráulica de los capilares es proporcional al radio de los mismos elevado a la cuarta potencia (Tyree et al. 1994). Tanto el estrés hídrico en el verano como las bajas temperaturas en el invierno limitan el diámetro máximo de los vasos en las angiospermas (Sperry y Sullivan 1992, Sperry et al. 1994, Hacke y Sperry 2001). Además, el hábito foliar es otro factor plástico clave para estas plantas, ya que las caducifolias especies necesitan vasos anchos (madera de poro en anillo) para restaurar su copa cada año, y las especies perennifolias suelen presentar madera de poro difuso (Lechowicz 1984, Wang et al. 1992, Castro-Díez et al. 1998).

La productividad forestal en los ecosistemas mediterráneos se encuentra limitada principalmente por el estrés hídrico (Di Castri 1981). Los veranos secos y la alta variabilidad interanual de la caracterizan al clima precipitación mediterráneo (Font Tullot 1988), siendo ambos factores desfavorables para el crecimiento (Mitrakos 1980). En los últimos 50 años, el área de la Península Ibérica sometida a influencia mediterránea ha experimentado un aumento de la temperatura del aire la V evapotranspiración, una mayor frecuencia de veranos con seguías rigurosas y una reducción de la humedad relativa (Font Tullot 1988, Piñol et al. 1998, IPCC 2001). Un año fuera de lo común, y un claro ejemplo de la fluctuación interanual de la precipitación en el área mediterránea, fue 1994, año en el que una severa seguía estival afectó a la mayor parte de los bosques mediterráneos de la mitad este de la Península Ibérica (Lloret y Siscart 1995, Montoya Moreno 1995, Peñuelas et al. 2001). El amarilleamiento de las hojas que tuvo lugar en numerosas especies de plantas leñosas estuvo seguido de una intensa defoliación. En el monte bajo estudiado, este decaimiento también se observó en 1994, afectando tanto a especies de Quercus caducifolias como perennifolias (Aït-Bachir 1998). Esto sugiere que la seguía estival de 1994 y la seguía invernal previa de 1993 fueron las causas detonantes del decaimiento observado (Tryon y True 1958, Becker y Lévy 1982, DeLatour 1983, Cramer 1984, Tainter et al. 1990). La sequía estival de 1994 también provocó una intensa defoliación en los individuos de O. ilex del monte estudiado. Se observó este comportamiento a pesar del papel "evasor de la sequía" que desempeñan dos de las principales características autoecológicas de esta especie: (i) su madera de poro difuso formada por vasos pequeños con un menor riesgo de cavitación que los grandes vasos de la madera de primavera de las especies con madera de poro en anillo; y (ii), su carácter perennifolio.

Según su distribución geográfica y su dominancia en el paisaje, la encina (Quercus ilex L) es la principal especie de Quercus en la zona mediterránea oriental. Aproximadamente, el 60 % de todos los bosques de *Q. ilex* se encuentran en España (unas 2.972.000 ha), y casi el 44 % de ellos son tratados en monte bajo (Ceballos y Ruiz de la Torre 1979, Rivas-Martínez y Sáenz 1991, Serrada et al. 1992). Esto se debe en parte a la amplitud ecológica de Q. ilex, que puede encontrarse a lo largo de un extenso rango altitudinal en España (0-2000 m; el 67 % de los bosques están situados a entre 400 y 1200 m), sobre roca madre tanto silícea como calcárea, y respondiendo bien a la sequía estival e invernal mediterránea, con unas precipitaciones veraniegas

mínimas de 100 mm (Blanco et al. 1997, Rodà et al. 1999, Zavala et al. 2000).

Q. ilex incluye dos subespecies, Q. ilex L. ssp. ilex -más mesófila- y Q. ilex L. ssp. ballota (Desf.) Samp. -dominante en las zonas áridas y continentales- (Blanco et al. 1997). Un estudio previo sugirió que las curvas de vulnerabilidad a la cavitación establecidas *O*. ilex podrían para corresponder a diferentes subespecies (Tyree y Cochard 1996). Esto concuerda con su contrastada distribución geográfica (O. ilex ssp. ilex -dominante en regiones costeras- y Q. ilex ssp. ballota -dominante en zonas continentales como el lugar de estudio-. Para comprobar si existen diferencias intraespecíficas en la resistencia al estrés hídrico entre estas dos subespecies se estudió la vulnerabilidad del xilema a la embolia en ambas.

El principal objetivo de este trabajo fue estudiar la respuesta de crecimiento de *Q. ilex* a la intensa sequía registrada en 1994. Es presumible que la respuesta a una fuerte sequía de una especie con madera de poro difuso como *Q. ilex* difiera de la de los robles concurrentes *Quercus faginea* Lam. o *Quercus pyrenaica* Willd, con madera de poro en anillo. Por lo tanto, como objetivo secundario se compararon varios caracteres de crecimiento y de anatomía de la madera (anchura de anillo, diámetro de vasos y conductividad hidráulica teórica) de *Q. ilex* faginea y Quercus pyrenaica, que también experimentaron una intensa defoliación en 1994. Un estudio anterior en la misma zona reveló que Q. faginea respondió a los inviernos secos (como el de 1993-94) con una reducción de la longitud de entrenudo, anillo anchura de v conductividad hidráulica teórica. Las variables de la madera de verano fueron mucho más sensibles a las fluctuaciones de la precipitación que las variables de la madera de primavera. De hecho, durante los períodos más secos, la mayor parte de las ramas no produjeron madera de verano (Corcuera *et al.* en curso).

MATERIAL Y MÉTODOS Ubicación del estudio

Se seleccionó un monte bajo dominado por Q. ilex y Q. faginea en la Sierra de Santa Cruz-Cubel, Zaragoza, en el NE de España (1° 39' W, 41° 07' N, 1177 m s.n.m.). Los datos relativos a la precipitación y temperatura se obtuvieron de la estación de Cubel situada a 2 km del bosque (Fig. 1). Para describir la evolución temporal de la precipitación en la zona durante el siglo XX (datos 1910-99), también se utilizaron los datos de precipitación de la cercana estación de Daroca (Fig. 1). En la zona estudiada, el período de sequía estival dura alrededor de 2 meses, desde finales de junio hasta

principios de septiembre. También se comparó la evapotranspiración mensual estimada en la estación de Daroca durante el período 1978-89 (mm) (Faci González y Martínez Cob 1991) con el índice de anchura de anillo. La evapotranspiración estacional máxima estimada corresponde al verano (141,2 mm). Desde 1980, los años que registraron niveles muy bajos de precipitación anual (por debajo de la media de 1 SD del período 1981-97) en la estación de Cubel fueron: 1981, 1983, 1985 y 1994. De hecho, el registro más bajo de la precipitación total anual en los últimos 50 años en el área de estudio se produjo en 1994. Además, ese año estuvo precedido de un corto periodo seco (1992-93).



Figura 1. Climatología de la zona estudiada según los ombro-termo diagramas de dos estaciones meteorológicas cercanas (Cubel y Daroca).

El fitoclima de la zona estudiada corresponde al de transición de bosque nemoro-mediterráneo nemoral а con tendencia a la esclerofilia y una clara influencia continental (Allué Andrade 1990). Este fitoclima sugiere que el paisaje anteriormente estuvo dominado por bosques de Q. faginea, pero Q. ilex es, hoy en día, la especie más abundante como consecuencia de la corta selectiva. En la actualidad, existen rodales de Q. faginea en un bosque dominado por Q. ilex. Este monte bajo se explotaba de forma intensiva hace 40-50 años para la producción de madera para combustible. El bosque estudiado se encuentra sobre un suelo muy pobre desarrollado sobre afloramientos de caliza terciaria. Es de suponer que el escaso suelo y la alta elevación del lugar harán que los árboles de las dos especies se muestren más susceptibles al estrés climático (alta sensibilidad; ver Fritts 1976). Sass y Eckstein (1995) demostraron que debido a la baja capacidad de retención de agua del suelo, el déficit en la precipitación tiene un efecto inmediato sobre el crecimiento radial.

Procedimiento de muestreo y preparación de las muestras

Para medir el crecimiento radial y las variables del xilema se tomaron diez ramas (n = 10) a media altura de la copa con orientación S-SO, de diez árboles dominantes (una rama por árbol) en enero de 1998. Aunque este tamaño de muestra está muy cercano al mínimo necesario para realizar estudios dendroecológicos estándar (Fritts 1976), la descripción intensiva de los caracteres de la anatomía de la madera hizo que éste fuera el mayor tamaño de muestra que podía estudiarse por motivos prácticos. Se muestrearon quince ramas adicionales en enero de 1997 con objeto de estimar el crecimiento longitudinal medio (longitud anual de entrenudo). Para estudiar la relación entre la producción anual de hojas de las ramas muestreadas y la longitud del entrenudo se contó el número de hojas y cicatrices a lo largo del eje principal de cada rama en el periodo 1994-99.

Las ramas tenían un diámetro y una edad similar. La edad media (± SD) era de 19 ± 1 años. Se realizó un corte transversal en la mitad del entrenudo más viejo de con un micrótomo de cada rama congelación (Anglia Scientific AS200, UK). Las secciones de 15-30 µm de espesor se tiñeron con safranina y verde rápido, se deshidrataron con etanol al 96% y se montaron permanentemente sobre placas con bálsamo Canadá. Las secciones transversales estudiaron se con un microscopio (Olympus BH-2) equipado con un adaptador de cámara (Olympus OM-Mount) y una cámara fotográfica (Olympus OM101) (Fig. 2).



Se ajustó la escala de las fotografías, que se montaron correctamente para medir los parámetros del xilema. Todas las muestras se dataron visualmente (Stokes y Smiley 1968). No se detectaron falsos anillos o anillos ausentes.

Variables anatómicas de la madera

Se estudió una secuencia de 17 valores anuales (1981-97) puesto que éste era el período común que incluía el tamaño máximo de muestra de árboles (n = 10). Se consideró el intervalo 1982-96 para la longitud de entrenudo ya que el entrenudo de 1997 no se había formado todavía en enero de 1997. Además, la variabilidad dependiente de la edad del diámetro de los vasos, identificada en otras especies de robles, se estabilizó aproximadamente a una edad cambial de diez años (Huber 1993). Los valores anuales medios basados en un tamaño de muestra inferior a diez ramas no se tuvieron en cuenta. Para describir la respuesta del crecimiento a la variabilidad climática, se consideraron las siguientes variables: longitud de entrenudo, anchura de anillo (media de dos radios por anillo), diámetro medio y máximo de vasos, densidad de vasos (número de vasos por superficie transversal del xilema) y superficie conductora (porcentaje absoluto -mm²- o relativo de la sección transversal ocupada por vasos en un anillo). Los cambios abruptos del tamaño de los vasos a través del anillo permitieron diferenciar los anillos anuales consecutivos. En primer lugar, se obtuvieron los valores anuales medios de la anchura de anillo calculando la media de los valores individuales de las distintas ramas. En segundo lugar, puesto que los anillos seguían una tendencia de crecimiento como consecuencia del envejecimiento y el aumento del perímetro de las ramas, se convirtieron los datos brutos medios de anchura

Figura 2. Corte transversal de la madera de Q. ilex.

de anillo en índices para cada muestra con el fin de maximizar su señal climática (Fritts 1976). Esto se hizo ajustando funciones lineales simples, conservando los valores residuales de estos ajustes como valores índice y promediándolos para obtener una serie promedio de índices. Para ello se empleó ARSTAN (Cook y Holmes 1992). Se asumió que las series estandarizadas de índices eran constantes con respecto a la media y la varianza. En general, la autocorrelación temporal de la anchura del anillo es baja en lugares xéricos y resulta difícil de estimar con series cortas como las de este trabajo (Fritts 1976). Por motivo no se realizó ninguna este modelización autorregresiva.

La principal variable anatómica de la madera relacionada con la conductividad hidráulica es el diámetro de los vasos (Carlquist 1975). En este estudio, se calculó la conductividad hidráulica teórica (Kh; mm⁴), según la ley de Hagen-Poiseuille, como la suma de los radios de todos los vasos elevados a la cuarta potencia en cada anillo. En trabajos anteriores se consideraron solamente los 10-25 vasos más grandes por anillo como una buena aproximación para estimar la conductividad hidráulica teórica (Woodcock 1989, Villar-Salvador et al. 1997). En este estudio se midió en cada anillo todos los vasos cuyo diámetro tangencial era superior a 10 µm dentro de un área de anchura aproximada de 5 mm. Se consideró necesaria esta intensiva descripción anatómica para calcular correctamente la conductividad hidráulica teórica. Se promedió el diámetro más pequeño y más grande de los vasos no circulares. Se comparó la anchura del anillo, el diámetro de los vasos y Kh de Q. ilex con las medidas correspondientes en ramas de tamaño y edad similares en las especies concurrentes Q. faginea y Q. pyrenaica. En el caso de los robles con madera de poro en anillo, se consideró por separado la madera de primavera y la madera de verano.

Para describir la variabilidad interanual de las variables medidas, se empleó un parámetro dendrocronológico clásico, la sensibilidad media, que oscila entre 0 y 2 (Douglass 1936). Éste parámetro se calcula como la sensibilidad media de una serie (ms_x):

 $ms_{x} = (1 / (n-1)) \sum |2 (x_{t+1} - x_{t}) / (x_{t+1} + x_{t})|$ (1)

donde: *n* es el número de datos, y x_{t+1} y x_t son los valores anuales consecutivos de la variable medida.

Vulnerabilidad del xilema a la cavitación

Para cuantificar la vulnerabilidad del xilema a la embolia, se construyeron las curvas de vulnerabilidad para cada subespecie de *Q. ilex.* Se consideró por

separado cada subespecie, ya que un estudio anterior sugería que las curvas establecidas ilex para О. podrían corresponder a distintas subespecies (Tyree y Cochard 1996). Esto coincidiría con su distinta distribución geográfica (Q. ilex ssp. *ilex* –dominante en las regiones costeras – y Q. ilex ssp. ballota -dominante en las zonas continentales). Se recogieron semillas de lugares de procedencia característicos de cada subespecie. Las plántulas crecieron en condiciones ambientales controladas de acuerdo con la descripción de Corcuera et al. (2002). Se emplearon brotes de plántulas de una savia ya que varios autores afirmaron que las curvas de vulnerabilidad realizadas con plántulas de roble pueden extrapolarse a las curvas realizadas con ramas de edad y tamaño similares (Tyree et al. 1992, Simonin et al. 1994). Se utilizó una modificación del método de invección de aire (Cochard et al. 1992) propuesta por Jarbeau et al. (1995) para establecer las curvas de vulnerabilidad.

De acuerdo con Pammenter y Vander Willigen (1998), la curva de vulnerabilidad se ajustó utilizando la siguiente función sigmoidal:

PLC = $100 / (1 + e^{a (\Psi - b)})$ (2)

donde PLC es la pérdida porcentual de conductividad, a es una constante que describe el rango de potenciales entre los que desciende la conductividad, Ψ es el potencial hídrico (MPa), y *b* es el potencial hídrico correspondiente a una pérdida del 50 % de la conductividad. La curva se ajustó por regresión de mínimos cuadrados.

Relaciones entre el clima y el crecimiento

influencia La del clima (precipitación mensual y temperatura media) sobre el crecimiento (longitud de entrenudo, anchura de anillo y diámetro de vasos) se analizó mediante el coeficiente de correlación de Spearman (r_s ; Sokal y Rohlf 1995). Los datos brutos de longitud de entrenudo, diámetro de vasos y densidad de vasos se convirtieron en índices estandarizados utilizando un procedimiento similar al anteriormente descrito para la anchura de anillo. Se evaluaron también las tendencias temporales de las variables utilizando el coeficiente de Kendall (τ). Se realizó un análisis de correlación entre las variables de crecimiento estandarizadas y los datos climáticos mensuales desde abril del año anterior al crecimiento (t-1) hasta octubre del año de crecimiento (t). También se utilizaron datos climáticos estacionales. Se correlacionaron los índices de anchura de anillo y los datos de precipitación de 10 días y de temperatura media durante el año de crecimiento (estación de Cubel, periodo 1981-96). realizaron Puesto que se múltiples comparaciones, lo que aumenta la probabilidad de que se encuentren falsas

sólo correlaciones significativas, se consideraron las correlaciones con P <0,01. Por último, para obtener una visión global de la relación entre el clima y el crecimiento, se realizó un análisis de redundancia (RDA) para relacionar el clima (precipitación mensual total y temperatura mensual media) y los valores anuales medios de las variables de crecimiento (anchura de anillo, longitud de entrenudo, diámetro de vasos y densidad de vasos) durante el periodo 1983-96 (periodo para el que se contaba con los máximos datos disponibles para todas las variables de crecimiento). El RDA es un análisis de gradiente directo que asume que la relación entre las variables dependientes e independientes es básicamente lineal (Ter Braak 1995). Se empleó el test de Monte Carlo (999 permutaciones) para determinar qué variables climáticas eran significativas $(P \le 0.05)$, y si el primer eje de ordenación y la relación entre las variables de crecimiento y las siguientes variables climáticas seleccionadas resultaban también estadísticamente significativas. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando SPSS ver. 6.1.2, excepto el RDA, que se realizó empleando CANOCO ver. 4.0 (Ter Braak y Šmilauer 1998).



Figura 3. Crecimiento de *Q. ilex* y variabilidad de la precipitación durante el periodo 1981-97. **A.** Comparación de la precipitación anual total (barras negras) y estival (barras blancas) en la estación de Cubel (las líneas gruesas y punteadas corresponden a los valores medios $y \pm 1$ SD, respectivamente) con el crecimiento radial (anchura de anillo) y longitudinal (longitud de entrenudo). **B.** Conductividad hidráulica teórica total (*Kh*) e índice de anchura de anillo comparados con la evapotranspiración de junio-julio en la estación de Daroca (ETP). Nótese la similitud entre la conductividad y el índice de anchura de anillo. La línea punteada de la ETP para el período 1990-97 indica que estos valores se estimaron utilizando los datos de precipitación de junio-julio de la estación de Daroca. En todos los casos, las líneas horizontales son la media de los datos que se muestran y la línea vertical marca el inicio del año 1994. Las barras de error corresponden a los errores estándar.

RESULTADOS

La intensa seguía del verano de 1994 afectó a las hojas y al crecimiento de los brotes de *Q. ilex* hasta 1995 (Fig. 3.A). Además, según las imágenes del Landsat-TM de la zona estudiada tomadas antes (1993) y después (1996) del decaimiento de los robles, la mayoría de los bosques de Q. ilex afectados se habían recuperado en 1996 (Aït-Bachir 1998). El número de hojas anuales a lo largo del eje principal de las ramas muestreadas se relacionó con la longitud de entrenudo. Se encontró una relación significativa (r = 0.79, P < 0.0001, n= 346, datos del periodo 1994-99) empleando un ajuste exponencial (nº hojas = 2,11 · longitud de entrenudo^{0,47}).

La longitud de entrenudo y la anchura de anillo en las ramas de *Q. ilex* descendieron de 1993 a 1994, siguiendo la

disminución de la precipitación anual y estival (Fig. 3.A.). La anchura de anillo alcanzada en 1994 mostró el valor más bajo desde 1983, momento en el que la precipitación anual también fue muy baja (Tabla 1, Fig. 3.A.). La conductividad hidráulica teórica total y el índice de anchura de anillo también registraron valores mínimos en 1994 (Fig. 3.B.). El índice de anchura de anillo y la evapotranspiración de junio-julio estuvieron inversamente relacionadas (r = -0.50, P =0,03) durante el período 1982-97 (Fig. 3.B.). Esto explica por qué los periodos caracterizados por una precipitación anual baja y/o veranos secos (1983-84, 1993-94) mostraron anillos estrechos y una baja conductividad hidráulica teórica total (Fig. 3).

Tabla 1. Estadísticos descriptivos del crecimiento y las variables anatómicas de la madera para la serie media de 1981-97 (n = 10 árboles). Abreviaturas de los estadísticos: SD, desviación estándar; τ (%), frecuencia relativa (%) de series individuales con una tendencia temporal significativa ($P \le 0,05$) basada en el coeficiente de Kendall (τ); AR, autocorrelación temporal media; ms_x , sensibilidad media. Abreviaturas de las variables: INTl, longitud de entrenudo; TRw, anchura de anillo; V_D, diámetro de vasos; V_d, densidad de vasos; C, conductividad total por unidad de superficie; CA, superficie conductora relativa.

Variables	Mean ± SD	Min. (year)	Max. (year)	τ(%)	AR1	ms_x
INTI (mm)	42.81 ± 11.20	23.26 (94)	55.13 (86)	29	0.21	0.14
TRw (mm)	0.33 ± 0.13	0.12 (94)	0.43 (97)	30	0.41	0.31
V_D (μm)	53.39 ± 5.95	42.96 (81)	62.97 (97)	80	0.56	0.06
V_d (mm ⁻²)	39 ± 15	25 (97)	77 (81)	70	0.22	0.11
C (mm ²) ¹	2.44 ± 0.67	1.31 (83)	3.81 (96)	60	0.23	0.22
CA (%)	8.48 ± 0.87	6.93 (92)	10.02 (81)	10	0.03	0.09

 1 mm⁴ × mm⁻². Mean, minimum and maximum values must be multiplied by 10⁻⁵.

Entre las variables de crecimiento estudiadas, la mayor sensibilidad media correspondió a la anchura de anillo, mientras que la mayoría de las series del diámetro de vasos mostraron tendencias temporales significativas (Tabla 1). La conductividad total por unidad de superficie estaba relacionada positiva y significativamente con la anchura de anillo y el diámetro de los vasos (Tabla 2).

También hubo correlaciones positivas entre la longitud de entrenudo y la conductividad total y anchura de anillo, pero estas no fueron significativas. Por el contrario, superficie conductora relativa mostró solo una relación directa con el diámetro de los vasos. El diámetro de los vasos y la densidad de vasos estuvieron significativa e inversamente relacionados.

Tabla 2. Valores de correlación (r_s , coeficiente de Spearman) entre las variables de crecimiento y de anatomía de la madera de *Q. ilex* durante el período 1980-1997 considerando la serie media (n = 10 árboles). Las abreviaturas son las mismas que en la Tabla 1.

Variables	INTI	TRw	V_D	V_d	С	СА
INTI						
TRw	0.26					
V_D	-0.37	0.39				
V_d	0.24	-0.47	-0.66*			
С	0.31	0.87**	0.52*	-0.30		
CA	0.13	0.03	0.42	0.23	0.44	

El diámetro medio de los vasos se estabilizó cuando las ramas alcanzaron una edad aproximada de 10 años, mostrando una clara tendencia relacionada con la edad (Fig. 4.A.). Tras eliminar esta tendencia, tanto el diámetro medio como el diámetro máximo de los vasos se redujo en gran medida en 1994 (Fig. 4.B.). El diámetro de los vasos mostró una distribución unimodal (Fig. 5). Los vasos formados entre 1981 y 1997 (n = 7193) presentaban un diámetro medio (± 1SD) de 51 ± 19 µm (moda = 40 μm). Hubo más vasos pequeños (30-70 μm de diámetro) y menos vasos grandes (diámetro >100 μm) en los años de verano seco (1994) que en los años de verano húmedo (1997) (Fig. 5). Esto explica porqué la mayor parte de la conductividad hidráulica teórica total de 1994 procediera de vasos intermedios (80-100 μm) en Q. *ilex* (madera de poro difusa) y de conductos más grandes (100-120 μm) en la especie concurrente Q. faginea (madera de poro en anillo; Fig. 6). Por el contrario, durante un

año húmedo (1997), los vasos grandes contribuyeron casi en su totalidad a la conductividad hidráulica teórica total en ambas especies. Durante un año climático de precipitación media, la importancia de los vasos pequeños fue comparativamente superior en el caso de la especie de madera de poro difuso que en el de la especie de madera de poro en anillo.



Figura 4. Cambios en el diámetro medio de los vasos de *Q. ilex* según la edad cambial del anillo del árbol (**A**) y durante el período 1981-97 (**B**). En el gráfico superior, las cajas indican cada edad: la mediana (línea horizontal central), la media (línea horizontal central gruesa), los percentiles del 25% y 75% (límites de las cajas), los percentiles del 5% y 95% (barras de error), y los valores extremos (puntos negros). La línea representa el tamaño de la muestra (número de vasos). En el gráfico inferior, se representan el diámetro medio (círculo lleno) y máximo (cuadrado vacío). La curva muestra el mejor ajuste del diámetro medio de los vasos (*diámetro medio de los vasos* = $6,22\cdot10^{59} \cdot e^{(-0.07 \cdot tiempo)}$; $r^2 = 0,53$, P < 0,001, n = 17). Las barras de error corresponden a los errores estándar. La línea vertical representa el inicio del año 1994.



Figura 5. Frecuencia relativa (%) de los vasos según su diámetro (clases de 10 µm) en Q. ilex. Se compara la distribución media de la frecuencia para el período 1981-97 con la de dos años opuestos en base a la precipitación anual total (véase la Fig. 3): 1994 (año seco) y 1997 (año húmedo). Las barras de error corresponden a los errores estándar.



diámetro de vasos (clases de 10- µm)

Figura 6. Contribución relativa (%) a la conductividad hidráulica teórica total (*Kh*) según el diámetro de los vasos (clases de 10 μ m) de *Q. ilex* (**A**, madera de poro difuso) y *Q. faginea* (**B**, madera de poro en anillo). Los datos corresponden a los vasos medidos en anillos del período 1981-97. El resto de los símbolos son los mismos que los de la Fig. 4

Corcuera L, Camarero JJ and Gil-Pelegrín E. Effects of a severe drought on *Quercus ilex* radial growth: the response of a pre-Mediterranean tree species to Mediterranean climatic conditions. 2003. Trees (submitted).

Las subespecies de Q. *ilex* mostraron diferente vulnerabilidad frente a la cavitación. El 50% de pérdida de la conductividad hidráulica (*b*) se alcanzó a un potencial hídrico medio de -3.0 MPa y -5.6 MPa en Q. *ilex* ssp. *ilex* y Q. *ilex* ssp. *ballota*, respectivamente (Fig. 7). Esto indica una mayor resistencia a la sequía de Q. *ilex* ssp. *ballota* en comparación con Q. *ilex* ssp. *ilex*, lo que coincide con el dominio de la primera subespecie en los lugares áridos del interior sometidos a influencia continental, como es el lugar de estudio.



Figura 7. Curvas de vulnerabilidad de Q. ilex ssp. ilex y Q. ilex ballota. ssp. Cada punto corresponde a un individuo. Nótense los valores contrastados de potencial hídrico correspondientes a una pérdida de conductividad del 50% (línea punteada) para cada subespecie. Ambos ajustes (Q. ilex ssp. *ilex*, PLC = 100 / $(1+e^{0,80})(\Psi+3,00)$, R² = 0,55; Q. ilex ssp. ballota, PLC = 100^{-1} $(1+e^{0.59})^{(\Psi+5,63)}, R^2 =$ 0,69) fueron altamente significativos (P< 0,001).

La longitud de entrenudo estuvo positivamente relacionada con la precipitación de enero (t) y agosto (t) y la temperatura media de octubre (t-1, t), y negativamente relacionada con la temperatura media de agosto (t) (Fig. 8). La única relación significativa entre el clima y el crecimiento radial se obtuvo para la precipitación de julio (t) y la temperatura de junio-julio (t) (Fig. 8). Sólo en los meses de junio y julio (t) y en el verano la precipitación y la temperatura media influencias mostraron claras inversas. indicando el efecto negativo sobre el crecimiento radial de la mayor evapotranspiración que se produjo durante esos meses (Fig. 3). Las precipitaciones de enero (t) y abril (t) también estuvieron positivamente relacionadas con la anchura del anillo (Fig. 8), y esta relación fue

significativa con la densidad de vasos (Fig. 8). En general, la precipitación y la temperatura mostraron influencias inversas sobre el crecimiento durante los meses de verano (t), especialmente en agosto (t) en el caso de la longitud de entrenudo, y durante junio y julio (t) en cuanto a la anchura de anillo y densidad de vasos.

Cuando se compararon los datos climáticos de 10 días con los índices de anchura de anillo, se encontró un efecto negativo de la precipitación (r = -0,60) y un

efecto positivo de la temperatura media (r =(0,60) de principios de noviembre (t) sobre el crecimiento radial. La precipitación a mediados de enero (t)se relacionó positivamente con el índice de anchura de 0,60), anillo (r= mientras que la temperatura a mediados de abril (t) también mostró una relación directa (r = 0,51). La precipitación y la temperatura de comienzos de julio (t) mostraron relaciones positivas y negativas, respectivamente, pero ninguna fue significativa.



Figura 8. Función respuesta de O. ilex basada en la correlación entre los datos meteorológicos mensuales (precipitación total: barras negras; temperatura media: barras grises) y los índices estandarizados de: longitud de entrenudo (A), anchura de anillo (B) y densidad de vasos (C). Se compararon el crecimiento y el clima desde abril del año anterior de crecimiento (t-1)hasta octubre del año de crecimiento (t). Las últimas 4 barras a la derecha representan los valores climáticos estacionales (invierno: JFM; primavera: AMJ; verano: JAS; y otoño: OND). Las líneas horizontales punteadas son los umbrales de significación para $P \le 0.05$.

Corcuera L, Camarero JJ and Gil-Pelegrín E. Effects of a severe drought on *Quercus ilex* radial growth: the response of a pre-Mediterranean tree species to Mediterranean climatic conditions. 2003. Trees (submitted).

Los dos primeros ejes del RDA explicaron el 68,2 % de la variación total del crecimiento de *Q. ilex*, mientras que el eje I representó el 51,8 % de esta variación. Según el test de Monte Carlo, tanto el primer eje canónico como la ordenación fueron altamente significativos ($P \le 0,01$). El RDA reveló la importancia de la temperatura y la precipitación de junio (*t*) y agosto (*t*) en el crecimiento radial de *Q. ilex* ($P \le 0,05$), es decir, sobre la anchura de anillo y la densidad y el diámetro de los vasos (Fig. 9). Los años con baja precipitación durante el verano estuvieron asociados principalmente a bajos valores de anchura de anillo y diámetro de vasos. La otra variable significativa seleccionada fue la temperatura de octubre (t-1) debido a su relación positiva con el crecimiento longitudinal (Fig. 8). En el diagrama de apareció 1994 ordenación, el año claramente separado debido a sus bajos valores de anchura de anillo, longitud de entrenudo y precipitación de agosto (t)(Figs. 3 y 9).



Figura 9. Análisis de ordenación basado en un RDA que compara las variables climáticas mensuales (precipitación temperatura total V líneas media: discontinuas) las y variables de crecimiento (líneas continuas) (anchura de anillo: RW. longitud de entrenudo: IL; radio de los vasos: RV; densidad de vasos: DV) de Q. ilex durante el período 1983-96. Se han representado las localizaciones de los años según las puntuaciones derivadas de los datos relativos al crecimiento de *Q. ilex* y se ha hecho especial hincapié en el año 1994 (en negrita). Las abreviaturas de las variables de crecimiento son las mismas que las de la Tabla 1. El análisis se realizó con las mismas variables climáticas

utilizadas en la Fig. 8 pero sólo se han representado las variables climáticas significativas ($P \le 0,05$). Las variables climáticas (en negrita) se han abreviado a 2-3 caracteres: la primera letra corresponde a la temperatura media (T_) o a la precipitación total (P_) seguida del número del mes cuando corresponde al año de crecimiento (*t*) o del número precedido de una "p" si corresponde al año anterior al crecimiento (*t*-1).

Corcuera L, Camarero JJ and Gil-Pelegrín E. Effects of a severe drought on *Quercus ilex* radial growth: the response of a pre-Mediterranean tree species to Mediterranean climatic conditions. 2003. Trees (submitted).

Otros años secos (como 1985, 1993; Fig. 3) mostraron posiciones cercanas en el diagrama de ordenación, aunque no tan extremas. Por el contrario, los años húmedos se situaron en posiciones diferentes pero no tan claramente agrupadas (Fig. 9). La relación entre las variables de crecimiento en el diagrama de ordenación fue coherente con los análisis de correlación (Tabla 2).



En general, Q. *ilex* mostró unos valores intermedios de diámetro de vasos y conductividad hidráulica teórica total entre los valores de los grandes vasos de la madera de primavera y los de los vasos pequeños de la madera de verano de los robles nemoro-mediterráneos concurrentes Q. faginea y Q. pyrenaica, caducifolios, de madera de poro en anillo (Fig. 10). Sólo se encontraron diferencias significativas ($P \leq$

0,05) en la anchura de anillo, diámetro de vasos y conductividad hidráulica teórica de la madera de *Q*. *ilex* y de la madera de verano de *Q*. *faginea* al comparar los datos de un año seco (1994) con los de uno húmedo (1997).

Figura 10. Comparación de datos medios de anchura de anillo (A), **(B)** diámetro de vasos y conductividad hidráulica teórica (Kh) (C) de las especies de Quercus (Q. pyrenaica -Pyr-, Q. faginea -Fag-, Q. ilex -Ilex) que crecen en la zona estudiada, en dos años opuestos según la precipitación anual total (1994: año seco y 1997: año húmedo; Fig. 3), v valor medio del período 1981-97. Los datos de los robles con madera de poro en anillo se representan por separado en el caso de la madera de primavera (EW) y de la madera de verano (LW). Las letras diferentes encima de las barras corresponden а diferencias significativas ($P \le 0.05$) entre las medias de 1994 y 1997 de acuerdo con el test de Mann-Whitney. Las barras de error corresponden a los errores estándar.

DISCUSIÓN

La buena sincronización entre los cores de los distintos individuos y la coincidencia de anillos estrechos con años de veranos secos confirmaron que las muestras datadas de Q. ilex formaron anillos anuales en la zona estudiada. Esto es consecuencia de la marcada estacionalidad del lugar estudiado debido a su alta elevación y a la influencia continental (Fig. 1). La distribución unimodal de los vasos de Q. ilex (Fig. 5) corresponde a la de una madera de poro difuso típica (Carlquist 1975). Esto implica que la conductividad hidráulica y la resistencia a la cavitación no están espacialmente segregadas en distintos tipos de vasos como en las especies de madera de poro en anillo. Por tanto, los vasos en maderas de poro difuso se encuentran afectados de forma similar a lo largo de la estación de crecimiento por el compromiso entre 1a conductividad hidráulica y la vulnerabilidad del xilema a la cavitación. Por esto motivo, el diámetro de los vasos de Q. ilex cambia como respuesta a la estacionalidad y a las seguías estivales. Las bajas temperaturas mínimas, como las que se registraron en el bosque estudiado sometido a influencia continental, pueden provocar embolia en los vasos de Q. ilex (Lo Gullo y Salleo 1993). Según los datos sobre el diámetro de los vasos y de acuerdo con Davis et al. (1999), Q. ilex podría ser una especie cuyos vasos muestran una cavitación parcial inducida por congelación, en condiciones de estrés hídrico moderado, debido a su diámetro intermedio. De 1981 a 1997, la mayoría de los vasos de Q. ilex (62 %) poseían un diámetro del rango de 30-60 µm (Fig. 5), que incluye las tasas máximas de pérdida de conductividad en tallos congelados de plantas leñosas (Davis et al. 1999). Para concluir, Q. ilex debe afrontar la pérdida de conductividad en primavera debida a la cavitación inducida por congelación en invierno a través de mecanismos alternativos (sustitución de los vasos cavitados, presión positiva en la raíz en primavera y relleno de los conductos del xilema).

El diámetro medio de los vasos se redujo en 1994 puesto que la mayoría de los vasos mostraban diámetros de pequeños a intermedios (Figs. 4 y 5). Por tanto, la mayoría de la conductividad hidráulica teórica total de *Q. ilex* en 1994 dependía de conductos relativamente pequeños (Fig. 6). Estos vasos ofrecían una conductividad hidráulica baja, pero una alta seguridad contra la cavitación inducida por la sequía (Zimmermann 1983, Cochard y Tyree 1990). A pesar de la probada plasticidad del diámetro de los vasos en respuesta al aumento de la aridez (Figs. 4 y 5), la mayoría de los árboles de *Q. ilex* mostraron

un carácter caducifolio facultativo ante la sequía del verano de 1994. Durante ese año, la gran reducción de la anchura del anillo y de la conductividad hidráulica y el adelanto fenológico de la caída de las hojas como al de respuesta aumento la evapotranspiración causaron, probablemente, una reducción de la relación superficie foliar/superficie conductora (Mencuccini y Grace 1995). La sequía del invierno de 1993 y del verano de 1994 fueron las causas climáticas más probables de esta respuesta dado que especies de robles concurrentes como O. faginea mostraron una reducción similar en el crecimiento (Corcuera et al. en proceso). Sin embargo, la sequía no fue tan severa y larga como para provocar las altas tasas de mortalidad de árboles que se registraron para Pinus spp. en el NE de España (Martínez-Vilalta y Piñol 2002). Durante el año de crecimiento, la precipitación de agosto influvó en el crecimiento longitudinal de Q. ilex (Fig. 8). Esto supone una influencia directa de la precipitación de verano en el crecimiento longitudinal y en la producción de hojas, dado que la longitud de entrenudo y el número de hojas estaban directamente relacionados. A pesar de la reducción de la longitud de entrenudo y de la producción de hojas en respuesta a la seguía de 1994, lo que podría considerarse como un primer ajuste (Poole Miller 1975), hubo una intensa v

defoliación (segundo ajuste). El descenso en la producción de hojas y la consiguiente reducción de transpiración la probablemente condujeron al mantenimiento de un adecuado equilibrio hídrico (Tyree y Sperry 1989). Estos ajustes permitieron a Q. ilex soportar los efectos negativos de la variabilidad interanual de la precipitación, típica de la región mediterránea (Di Castri 1981). Además, el descenso en la longitud de entrenudo produjo ramas cortas, más vulnerables a la embolia del xilema (Cochard et al. 1992).

Estudios previos sobre anatomía de la madera han evidenciado la sensibilidad del crecimiento radial de Q. ilex a la variación en la precipitación en el NE de España (Villar-Salvador et al. 1997). En el lugar estudiado, la función respuesta de Q. *ilex* puso de relieve la gran sensibilidad del crecimiento radial a la precipitación registrada durante el invierno (enero) y final de la primavera-verano (abril-julio) durante el año de crecimiento (Figs. 3 y 8). El principal factor climático que limita el crecimiento radial de Q. ilex es la disponibilidad de agua durante el verano (Zhang y Romane 1991, Cartan-Son et al. 1992, Mayor et al. 1994, Enjalbal et al.1996, Nabais et al. 1998-1999), la cual se encuentra relacionada con el aumento de la evapotranspiración en el verano en la región mediterránea, tal y como se ha demostrado (Fig. 3). Los estudios selvícolas han

confirmado este hecho, ya que las claras realizadas en bosques de encinas provocaron un efecto positivo en el aumento del perímetro del tronco de los árboles, lo que se considera como un efecto de la reducción de la competencia y de la mayor disponibilidad de agua y nutrientes en el suelo (Ducrey y Toth 1992, Mayor y Rodà 1993).

Se ha identificado una influencia climática positiva de la precipitación sobre el crecimiento radial durante el invierno (enero) y el verano (julio). Por tanto, Q. ilex responde a los distintos factores climáticos limitantes, característicos de la zona mediterránea con influencia continental (Mitrakos 1980). La sequía invernal coincide con bajas temperaturas que limitan la fotosíntesis y reducen la acumulación de fotosintatos para el crecimiento primaveral (Corcuera et al. en proceso). Sin embargo, la seguía estival influye negativamente en el crecimiento radial de la encina a través de un efecto directo ya que no se mantienen condiciones hídricas adecuadas unas (Cutini v Mascia 1996). Las altas precipitaciones en el mes de enero antes de que comience el crecimiento radial también pueden reducir el efecto de la seguía estival mediante un mayor almacenamiento de agua en el suelo (Nabais et al. 1998-1999). Las correlaciones entre el crecimiento radial y los datos climáticos de 10 días revelaron la importancia de las temperaturas más cálidas en primavera (mediados de abril) y otoño (principios de noviembre) en la formación de anillos más La primera relación anchos. puede explicarse por el comienzo del crecimiento durante la primavera (Zhang y Romane 1991), que podría adelantarse en los años de primaveras cálidas. El segundo efecto puede estar relacionado con temperaturas mínimas más altas (Nabais et al. 1998-1999), que podrían reducir los daños provocados por la cavitación inducida por congelación (Cochard y Tyree 1990, Sperry v Sullivan 1992) y prolongar la estación de crecimiento con un segundo periodo de altas tasas de crecimiento radial en otoño (Abril y Gracia 1989, Camarero et al. 1998). Esto se encuentra reforzado por estudios ecofisiológicos que concluyeron que O. ilex es sensible a la cavitación inducida por congelación y por sequía (Nardini et al. 2000). Nabais et al. (1998-1999) también identificaron que altas temperaturas máximas en el invierno anterior habían tenido un efecto negativo en el crecimiento radial, lo que podría haber sido provocado por unas mayores pérdidas de respiración durante un período de baja fotosíntesis, dando lugar a un balance de asimilación neta negativo.

La tasa de asimilación neta de Q. *ilex* durante el verano desciende considerablemente debido a su sensibilidad al déficit de agua y a las altas tasas de respiración de la parte aérea (Eckard et al. 1975, Tretiach 1993). La madera de poro difuso de Q. ilex corresponde a la de una especie tolerante a la seguía (Figs. 5 y 7). Sin embargo, Q. ilex también presenta características que suelen encontrarse en las especies que evaden la sequía, como raíces profundas (Oppenheimer 1957), una gran plasticidad fenotípica de sus hojas (Gratani 1996, Castro-Díez et al. 1997), una rápida respuesta estomatal al desecamiento del suelo (Tretiach 1993, Gulías et al. 2002), células parenquimáticas del mesófilo con unas paredes relativamente rígidas que permiten un gran descenso del potencial hídrico en respuesta a pérdidas mínimas de agua (Salleo y Lo Gullo 1990, Corcuera et al. 2002) y un carácter caducifolio facultativo en respuesta a la seguía. Esto coincide con el patrón fenológico de Q. ilex, caracterizado por la concentración del crecimiento y la floración en primavera, cuando los recursos son abundantes (Eckard et al. 1975, Gratani 1996, Castro-Díez y Montserrat-Martí 1998), evitando, por tanto, las bajas temperaturas del invierno y la sequía estival que son ambas causas potenciales de la cavitación del xilema. Todos estos rasgos sugieren que Q. ilex se encuentra "desfasada" con respecto al clima mediterráneo.

Varios estudios sobre la embolia del xilema inducida por congelación y por sequía sugirieron que la encina era una especie tolerante a la seguía (Lo Gullo y Salleo 1993; Tognetti et al. 1998). Sin embargo, Tyree y Cochard (1996)encontraron curvas de vulnerabilidad a la cavitación diferentes para esta especie indicando una menor tolerancia a la seguía. Esto motivó la descripción detallada de las curvas de vulnerabilidad para ambas subespecies ya que se sospechó que en los estudios previos se habían considerado diferentes subespecies. En este trabajo se ha confirmado la mayor resistencia a la seguía de Q. ilex ssp. ballota en comparación con *O. ilex* ssp. *ilex*, lo que concuerda con su distribución fitogeográfica. De hecho, los resultados confirman la utilidad de las medidas fisiológicas para distinguir subespecies.

No se pueden descartar los efectos negativos de los inviernos fríos en el área de estudio que tiene una influencia marcadamente continental (Fig. 1). En la estación de Cubel, 1992 fue el año con el mes de enero más frío (temperatura media mínima más baja) desde 1969. Esto podría haber predispuesto a Q. ilex a los efectos negativos del seco verano de 1994. Varios autores han demostrado que Q. ilex es sensible al estrés por frío y por sequía (Terradas y Savé 1992, Lo Gullo y Salleo 1993, Nardini et al. 2000). Si las temperaturas alcanzan valores muy bajos, desde -5 °C a -11 °C (frecuentes en el lugar de estudio), la embolia inducida por

congelación es irreversible (Lo Gullo y Salleo 1993). Además, se han observado potenciales hídricos muy bajos en Q. ilex durante el invierno, lo que podría ser debido a una disminución de la absorción de agua (Terradas y Savé 1992). Esto podría promover el estrés hídrico invernal si aumenta la transpiración por una mayor radiación en los días soleados o si se reduce el desarrollo cuticular (Terradas y Savé 1992). Trabajos futuros deberían evaluar el efecto acumulativo de las baias temperaturas y la seguía inviernal sobre la embolia del xilema de Q. ilex en áreas continentales bajo influencia mediterránea.

Peñuelas et al. (2001) indicaron que los géneros pre-mediterráneos (preplioceno) experimentaron una defoliación menos marcada tras la seguía de 1994 que mediterráneos los géneros que evolucionaron posteriormente (postplioceno), pero los últimos fueron más resilientes y se recuperaron mejor debido a su carácter caducifolio facultativo. No obstante. comparación esta también implicaba otros factores, ya que las especies pre-mediterráneas son en su mayoría árboles (Quercus, Pinus. Juniperus) mientras que las especies mediterráneas son principalmente matorrales (Cistus, Erica, Genista). Estos autores sugirieron que los géneros mediterráneos podrían estar mejor adaptados a la variabilidad interanual y al carácter impredecible del régimen de precipitación mediterránea (Di Castri 1981). Sin embargo, los individuos de Q. ilex estudiados mostraron una respuesta plástica a la seguía estival de 1994 a través de: (*i*) una gran sensibilidad de las variables de crecimiento y de anatomía de la madera (por ej. anchura de anillo), (ii) carácter caducifolio facultativo ante la sequía, (iii) y una rápida recuperación del crecimiento (Fig. 3). Los mayores cambios en la anchura del anillo y en el diámetro de los vasos observados en O. ilex en años climáticos contrapuestos fueron sólo comparables con los identificados en la madera de verano de Q. faginea (Fig. 10). Esta sensibilidad similar a la variabilidad climática coincide con los estudios fenológicos que sugieren que los vasos de la madera de verano en especies con madera de poro en anillo son equivalentes a los vasos de la madera de poro difuso (Suzuki et al. 1998). La plasticidad y sensibilidad al clima desarrollada por Q. ilex podría estar relacionada con su origen, flora arcto-terciaria subtropical (Pignatti 1978). Varias características de esta especie confirman este hecho: una gran sensibilidad a las seguías (como se puede apreciar en este estudio), una marcada actividad fenológica y cambial durante la primavera y el verano, pero no durante el invierno como ocurre en el caso de las especies mediterráneas (Liphschitz y Lev-Yadun 1986. Gratani 1996. Castro-Díez y

Montserrat-Martí 1998) y una ecología reproductiva evolucionada bajo la influencia de un clima pre-mediterráneo (Herrera 1992). Por tanto, esto sugiere que mediterráneos los géneros no están necesariamente mejor adaptados al clima mediterráneo contemporáneo que los géneros pre-mediterráneos como Quercus (relictos terciarios), que evolucionaron bajo condiciones subtropicales con una seguía estacional menos marcada (Axelrod 1983). *O.* praeilex, Curiosamente, el taxón ancestral de Q. ilex, tiene un origen oligoceno, geográficamente alejado, con dos centros de dispersión probables, Europa y Kazakhstan (Palamarev 1989). Esto podría explicar la plasticidad de la especie y las diferencias autoecológicas entre las subespecies.

Se ha demostrado que el bosque de Q. *ilex* estudiado respondió a la sequía estival de 1994 con una reducción del crecimiento radial y longitudinal (Fig. 3). En 1994, Q. *ilex* se comportó como un árbol con carácter caducifolio facultativo ante la sequía, probablemente debido a una embolia generalizada del xilema. A pesar de las profundas raíces que generalmente desarrolla Q. *ilex*, esta especie no fue capaz de utilizar las capas profundas de agua y redujo la evapotranspiración a través de una intensa defoliación y una menor producción de hojas (Villar-Salvador et al. 1997). La caída de hojas en Q. *ilex* (especie

perennifolia) V Q. faginea (especie caducifolia) suele producirse en mayo-julio y noviembre-diciembre, respectivamente (Castro-Díez y Montserrat-Martí 1998). En el lugar estudiado, Q. ilex respondió a la sequía estival de 1994 con un amarilleo y secado de sus hojas, que fue sucedido de una abundante defoliación. Esta importante pérdida de hojas en el otoño de 1994 es especialmente importante para una especie perennifolia como Q. ilex, que puede alcanzar su máxima tasa de asimilación en septiembre (Eckard et al. 1975; Tretiach y Rondi 1994). Esto también podría explicar el escaso crecimiento longitudinal en 1995, a pesar del húmedo otoño de 1994, lo que indicaría cierta inercia tras la seguía estival de 1994.

Los individuos de Q. ilex estudiados sobrevivieron a la intensa seguía de 1994 porque no se superó cierto umbral de resistencia ecofisiológica. Si la frecuencia y la duración de las intensas seguías estivales aumenta, tal y como han sugerido algunas estimaciones y modelos (Piervitali et al. 1997, Osborne et al. 2000, IPCC 2001), podría ocurrir una sustitución progresiva de Q. ilex por especies con una mayor resistencia a las sequía estival. Si el clima se vuelve más continental, la especie favorecida sería probablemente la especie concurrente Juniperus thurifera L. Este proceso podría ocurrir si se superaran varios umbrales ecofisiológicos de resistencia de

Q. ilex y si su tasa de mortalidad aumentara en gran medida. Sin embargo, dicho proceso es un proceso muy diferente al de la sustitución de especies caducifolias de *Quercus* por la perennifolia *Q. ilex* que se produjo durante el holoceno, ya que tendría lugar en un paisaje intensamente modificado por el hombre desde hace 8.000 años (Pignatti 1978, Reille y Pons 1992).

BIBLIOGRAFÍA

- Abril, M. and Gracia, C.A. 1989.
 Crecimiento de los rebrotes de *Pistacia lentiscus* y *Quercus coccifera* después de un incendio. Options Méditerranéennes 3: 101–106.
- Aït-Bachir, S. 1998. Utilisation des imagessatéllite Landsat-TM pour l'étude diachronique du syndrome de déperissement des chênaies de la région de Cubel (Aragón). Master Thesis. International Centre for Advanced Mediterranean Agronomic Studies, Zaragoza, Spain.
- Allué Andrade, J.L. 1990. Atlas Fitoclimático de España: Taxonomías. MAPA-INIA, Madrid.
- Axelrod, D.I. 1983. Biogeography of oaks in the Arcto-Tertiary province. Ann. Missouri Bot. Gard. 70: 629–657.
- Baas, P., Werker, E. and Fahn, A. 1983.Some ecological trends in vessel characters. IAWA Bull. 4: 141–159.

- Baas, P. and Schweingruber, F.H. 1987. Ecological trends in the wood anatomy of trees, shrubs and climbers from Europe. IAWA Bull. 8: 245–274.
- Becker, M. and Lévy, G. 1982. Le dépérissement du chêne en forêt de Tronçais. Les causes écologiques. Annales des Sciences Forestieres 39: 439–444.
- Blanco E., Casado MA, Costa M, Escribano
 R, García M, Génova M, Gómez A,
 Gómez F, Moreno JC, Morla C, Regato
 P, Sáinz H. 1997. Los Bosques Ibéricos:
 Una interpretación geobotánica. Ed.
 Planeta. Madrid.
- Camarero J. J., Guerrero-Campo J. and Gutiérrez, E. 1998. Tree-ring structure and growth of *Pinus uncinata* Ram. and *Pinus sylvestris* L. in the Central Spanish Pyrenees. Arctic and Alpine Research 30: 1–10.
- Carlquist, S. 1975. Ecological strategies of xylem evolution. University of California Press, Los Angeles.
- Cartan-Son, M., Floret, C., Galan, M.J., Grandjanny, M., Le Floc'h, E., Maistre, M., Perret, P. and Romane, F. 1992.
 Factors affecting radial growth of *Quercus ilex* L. in a coppice stand in southern France. Vegetatio 99–100: 61– 68.
- Castro-Díez, P. and Montserrat-Martí, G. 1998. Phenological pattern of fifteen Mediterranean phanaerophytes from

Quercus ilex communities of NE-Spain. Plant Ecol. 139: 103–112.

- Castro-Díez, P., Villar-Salvador, P., Pérez-Rontomé, C., Maestro-Martínez, M. and Montserrat-Martí, G 1997. Leaf leaf chemical morphology and composition in three *Ouercus* (Fagaceae) species along a rainfall gradient in NE Spain. Trees 11: 127-134.
- Castro-Díez, P., Puyravaud, J.P.,
 Cornelissen, J.H.C. and Villar-Salvador,
 P. 1998. Stem anatomy and relative growth rate in seedlings of a wide range of woody plant species and types.
 Oecologia 116: 57–66.
- Ceballos, L. and Ruiz de la Torre, J. 1979. Árboles y arbustos. E.T.S.I.M., Madrid.
- Cochard, H. and Tyree, M.T. 1990. Xylem dysfunction in *Quercus*: vessel sizes, tyloses, cavitation and seasonal changes in embolism. Tree Physiol. 6: 393–407.
- Cochard, H., Cruiziat, P. and Tyree, M.T. 1992. Use of positive pressures to establish vulnerability curves. Plant Physiol. 100: 205–209.
- Cook, E.R. and Holmes, R.L. 1992. Guide for computer program ARSTAN.
 Dendrochronology Program Library, version 1992-1. Laboratory of Tree-Ring Research, Univ. of Arizona, Tucson.
- Corcuera, L., Camarero, J. J. and Gil-Pelegrín, E. 2002. Functional groups in

Quercus species derived from the analysis of pressure-volume curves. Trees 16: 465–472.

- Cramer, H.H. 1984. On the predisposition to disorders of Middle European forests. Planzenschutz-Nachrichten Bayer 2: 97–207.
- Cutini, A. and Mascia, V. 1996. Silvicultural treatment of holm oak (*Quercus ilex* L.) coppices in Southern Sardinia: effects of thinnig on water potential, transpiration and stomatal conductance. Ann. Ist. Sper. Selv. 27: 47–53.
- Davis S. D., Sperry, J. S. and Hacke, U. G. 1999. The relationship between xylem conduit diameter and cavitation caused by freezing. Am. J. Bot. 86: 1367–1372.
- Delatour, C. 1983. Le dépérissement des chênes en Europe. Rev. For. Fr. 35: 265–282.
- Di Castri, F. 1981. Mediterranean-type shrublands of the world. In: Mediterranean-type shrublands, Di Castri, F. et al. (Eds.), pp. 1–52. Elsevier, Amsterdam
- Douglass, A.E. 1936. Climatic cycles and tree growth, Vol. III. A study of cycles. *Carnegie Inst. Wash. Publ.* 289.
- Ducrey, M. and Toth, J. 1992. Effect of cleaning and thinning on height growth and girth increment in holm oak coppices (*Quercus ilex* L.). Vegetatio 99–100: 365–376.

- Eckardt, F.E., Heim, G., Methy, M. and Sauvezon R. 1975. Interception de l'énergie rayonnante, échanges gazeux et croissance dans un forêt méditerranéenne à feuillage persistant (*Quercetum ilicis*). Photosynthetica 9: 145–156.
- Enjalbal, I., Grandjanny, M., Maistre, M., Perret, P., Romane, F. and Shater, Z. 1996. The holm oak (*Quercus ilex* L.) radial growth facing the rainfall unpredictability. An example in Southern France. Ann. Ist. Sper. Selv. 27: 31–37.
- Faci González, J.M. and Martínez Cob, A.1991. Cálculo de la evapotranspiración de referencia en Aragón. Diputación General de Aragón, Zaragoza, Spain.
- Floret, C., Galán, M.J., Lefloc'h, E., Orshan, E. and Romane, F. 1990.
 Growth forms and phenomorphology traits along an environmental gradient: tools for studying vegetation? J. Veg. Sci. 1:71–80.
- Font Tullot, I. 1988. Historia del clima de España. Cambios climáticos y sus causas. I.N.M. Madrid.
- Fritts, H.C. 1976. Tree Rings and Climate. Academic Press, New York, London.
- Gratani, L. 1996. Leaf and shoot growth dynamics of *Quercus ilex* L. Acta Oecol. 17: 17–27.
- Gulías, J., Flexas, J., Abadía, A., and Medrano, H. 2002. Photosynthetic

response to water deficit in six Mediterranean sclerophyll species: possible factors explaining the declining distribution of *Rhamnus ludovicisalvatoris*, an endemic Balearic species. Tree Physiol. 22: 687–697.

- Hacke, U.G. and Sperry, J.S. 2001. Functional and ecological xylem anatomy. Persp. Plant Ecol., Evol. and Syst. 4: 97–115.
- Herrera, C. M. 1992. Historical effects and sorting processes as explanations for contemporary ecological patterns: Character syndromes in Mediterranean woody plants. The American Naturalist 140: 421–446.
- Huber, F. 1993. Déterminisme de la surface des vaisseaux du bois des chênes indigènes (*Quercus robur* L., *Quercus petraea* Liebl.). Effet individuel, effet de l'appareil foliaire, des conditions climatiques et de l'âge de l'arbre. Ann.Sci. For. 50: 509–524.
- IPCC 2001. Climate Change 2001: The Scientific Basis. Third Assessment Report of Working Group I (Eds. Houghton, J.T. and Yihui, D.). Cambridge University Press.
- Jarbeau, J.A., Ewers, F.W. and Davis, S.D. 1995. The mechanism of water-stressinduced embolism in two species of chaparral shrubs. Plant, Cell and Environm. 18: 189–196.

- Lechowicz, M.J. 1984. Why do temperate deciduous trees leaf out at different times? Am. Nat. 124: 821–842.
- Liphschitz, N. and Lev-Yadun, S. 1986. Cambial activity of evergreen and seasonal dimorphics around the Mediterranean. IAWA Bull. 7: 145-153.
- Lloret, F. and Siscart, D. 1995. Los efectos demográficos de la sequía en poblaciones de encina. Cuadernos de la Sociedad Española de Ciencias Forestales 2: 77–81.
- Lo Gullo M.A. and Salleo, S. 1993. Different vulnerabilities of *Quercus ilex* to freeze- and summer drought-induced xylem embolism: an ecological interpretation. Plant Cell Envion. 16: 511–519.
- Martínez-Vilalta, J. and Piñol, J. 2002. Drought-induced mortality and hydraulic architecture in pine populations of the NE Iberian Peninsula. For. Ecol. Manage. 161: 247–256.
- Mayor, X. and Rodà, F. 1993. Growth response of holm oak (*Quercus ilex* L.) to commercial thinning in the Montseny mountains (NE Spain). Ann. Sci. For. 50: 247–256.
- Mayor, X., Belmonte, R., Rodrigo, A., Rodà, F. and Piñol, J. 1994. Crecimiento diametral de la encina (*Quercus ilex* L.) en un año de abundante precipitación estival: efecto

de la irrigación previa y de la fertilización. Orsis 9: 13-23.

- Mencuccini, M. and Grace, J. 1995. Climate influences the leaf area/sapwood area ratio in Scots pine. Tree Physiol. 15: 1–10.
- Mitrakos, K.A. 1980. A theory for Mediterranean plant life. Acta Oecol. 1: 245–252.
- Montoya Moreno, R. 1995. Red de seguimiento de daños en los montes.Daños originados por la sequía en 1994.Cuadernos de la S.E.C.F. 2: 83–97.
- Nabais, C., Freitas, H. and Hagemeyer, J. 1998-1999. Tree-rings to climate relationships of *Quercus ilex* L. in NE-Portugal. Dendrochronologia, 16-17: 37–44.
- Nardini, A., Salleo, S., Lo Gullo, M.A. and Pitt, F. 2000. Different responses to drought and freeze stress of *Quercus ilex* L. growing along a latitudinal gradient. Plant Ecol. 148: 139–147.
- Oppenheimer, H. R. 1957. Further observations on roots penetrating into rocks and their structure. Bull. Res. Council Israel 6D: 18–31.
- Orshan, G. (Ed.) 1989. Plant Phenomorphological Studies in Mediterranean Type Ecosystems. Kluwer, Dordrecht.
- Osborne, C.P., Mitchell, P.L., Sheehy, J.E. and Woodward, F.I. 2000. Modelling the recent historical impacts of atmospheric CO₂ and climate change on
Mediterranean vegetation. Global Change Biology 6: 445–458.

- Palamarev, E. 1989. Paleobotanical evidences of the Tertiary history and origin of the Mediterranean sclerophyll dendroflora. Plant. Syst. Evol. 162: 93– 107.
- Pammenter, N.W. and Vander Willigen, C. 1998. A mathematical and statistical analysis of the curves illustrating vulnerability of xylem to cavitation. Tree Physiol. 18: 589–593.
- Peñuelas, J., Lloret, F. and Montoya, R.
 2001. Severe drought effects on Mediterranean woody flora. For. Sci.
 47: 214–218.
- Piervitali, E., Colacino, M. and Conte, M. 1997. Signals of climatic change in the Central-Western Mediterranean Basin. Theor. Appl. Climatol. 58: 211–219.
- Pignatti, S. 1978. Evolutionary trends in Mediterranean flora and vegetation. Vegetatio 37: 175-185.
- Piñol, J., Terradas and Lloret, F. 1998. Climate warming, wildfire hazard, and wildfire ocurrence in coastal eastern Spain. Clim. Change 38: 345-357.
- Poole, D. K. and P. C. Miller. 1975. Water relations of selected species of chaparral and coastal sage communities. Ecology 56: 1118–1128.
- Reille, M. and Pons, A. 1992. The ecological significance of sclerophyllous oak forest in the western

part of the Mediterranean basin: A note on pollen analytical data. Vegetatio 99-100: 13–17.

- Rivas-Martínez, S. and Sáenz, C. 1991. Enumeración de los *Quercus* de la Península Ibérica. Rivasgodaya 6: 101– 110.
- Rodà, F., Retana, J., Gracia, C.A., and Bellot, J. (Eds.). 1999. Ecology of Mediterranean Evergreen Oak Forests. Ecological Studies 137 ,Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, Germany.
- Salleo, S. and Lo Gullo M.A. 1990. Sclerophylly and plant water relations in three Mediterranean *Quercus* species. Ann Bot 65: 259-270
- Sass, U. and Eckstein, D. 1995. The variability of vessel size in beech (*Fagus sylvatica* L.) and its ecophysiological interpretation. Trees 9: 247–252.
- Serrada, R., Allué, M. and San Miguel, A. 1992. The coppice system in Spain. Current situation, state of art and major areas to be investigated. Ann. Ist. Sper. Selv. 23: 266–275.
- Simonin, G., Cochard, H., Delatour, C., Granier, A. and Dreyer, E. 1994.
 Vulnerability of young oak seedlings (*Quercus robur* L.) to embolism: responses to drought and to an inoculation with *Ophiostoma querci* (Georgevitch) Nannf. Ann. Sci. For. 51: 493–504.

Corcuera L, Camarero JJ and Gil-Pelegrín E. Effects of a severe drought on *Quercus ilex* radial growth: the response of a pre-Mediterranean tree species to Mediterranean climatic conditions. 2003. Trees (submitted).

- Sokal, R.R. and Rohlf, F.J. 1995. Biometry: the principles and practice of statistics in biological research. Freeman, New York
- Sperry, J.S. and Sullivan, J.E. 1992. Xylem embolism in response to freeze-thaw cicles and water stress in ring porous, diffuse porous and conifer species. Plant Physiology 100: 605–613.
- Sperry, J.S., Nichols, K.L., Sullivan, J.E. and Eastlack, S.E. 1994. Xylem embolism in ring-porous, diffuseporous and coniferous trees in northern Utah and interior Alaska. Ecology 75: 1736–1752.
- Stokes M.A. and Smiley, T.L. 1968. An introduction to tree-ring dating. Univ. of Chicago Press, Chicago.
- Suzuki, M., Hirano, R. and Yoda, K. 1998. Phenological analysis of wood formation in temperate deciduous ring and diffuse-porous wood. IAWA J. 19: 480–481.
- Tainter, F.H., Retzlaff, W.A., Starkey, D.A. and Oak, S.W. 1990. Decline of radial growth in red oaks is associated with short-term changes in climate. Eur. J. For. Pathol. 20: 95–105.
- Ter Braak C.J.F. 1995. Ordination. In: Jongman, R.H.G., Ter Braak, C.J.F. and Van Tongeren, O.F.R. (Eds.) Data Analysis in Community and Landscape Ecology. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 91–174.

- Ter Braak, C.J.F. and Šmilauer, P. 1998. CANOCO release 4 reference manual and user's guide to Canoco for Windows –Software for canonical community ordination. Microcomputer Power, Ithaca, New York.
- Terradas, J. and Savé, R. 1992. The influence of summer and winter stress and water relationships on the distribution of *Quercus ilex* L. Vegetatio 99-100: 137–145.
- Tognetti, R., Longobucco, A. and Raschi,
 A. 1998. Vulnerability of xylem to embolism in relation to plant hydraulic resistance in *Quercus pubescens* and *Quercus ilex* co-ocurring in a Mediterranean coppice stand in central Italy. New Phytol. 139: 437–447.
- Tretiach, M. 1993. Photosynthesis and transpiration of evergreen Mediterranean and deciduous trees in an ecotone during a growing season. Acta Oecol. 14: 341–360.
- Tretiach, M. and Rondi, A. 1994.
 Variazione stagionales dell'attività fotosintetica e maturazione fogliare in sei arboree nella costiera Triestina (NE Italia). Stud. Trent. Sci. Nat. 69: 1–16.
- Tryon, E.H. and True, R.P. 1958. Recent reductions in annual radial increments in dying scarlet oaks related to rainfall deficiences. Forest Science 4: 219–230.
- Tyree, M. T. and Cochard, H. 1996. Summer and winter embolism in oak:

Corcuera L, Camarero JJ and Gil-Pelegrín E. Effects of a severe drought on *Quercus ilex* radial growth: the response of a pre-Mediterranean tree species to Mediterranean climatic conditions. 2003. Trees (submitted).

impact on water relations. Ann. Sci. For. 53: 173–180.

- Tyree, M.T. and Ewers, F.W. 1991. The hydraulic architecture of trees and other woody plants. New Phytologist, 119: 345–360.
- Tyree, M.T. and Sperry, J.S. 1989. Vulnerability of xylem to cavitation and embolism. Ann. Rev. Plant Physiol. 40: 19–38.
- Tyree, M.T., Alexander, J.L. and Machado, J.L. 1992. Loss of hydraulic conductivity due to water stress in intact juveniles of *Quercus rubra* and *Populus deltoides*. Tree Physiol. 10: 411–415.
- Tyree, M.T., Davis, S.D. and Cochard, H. 1994. Biophysical perspectives of xylem evolution: is there a tradeoff of hydraulic efficiency for vulnerability to dysfunction? IAWA J. 15: 335–360.
- Villar-Salvador P., Castro Díez P., Pérez Rontomé C. and Montserrat Martí, G.
 1997. Stem xylem features in three *Quercus (Fagaceae)* species along a climatic gradient in NE Spain. Trees 12: 90–96.
- Wang, J., Ives, N.E. and Lechowicz M.J. 1992. The relation of foliar phenology to xylem embolism in trees. Functional Ecology, 6: 469–475.
- Woodcock, D.W. 1989. Climate sensitivity of wood-anatomical features in a ring-

porous oak (*Quercus macrocarpa*). Can. J. For. Res. 19: 639-644.

- Woodcock, D.W. and Ignas, C.M. 1994.
 Prevalence of wood characters in Eastern North America: what characters are most promising for interpreting climates from fossil wood? Am. J. Bot. 81: 1243–1251.
- Zavala, M.A., Espelta, J.M. and Lloret, F. 2000. Constraints and trade-offs in Mediterranean plant communities: The case of holm oak-Aleppo pine forests. Bot. Rev. 66: 119–149.
- Zhang, S.Y., Baas, P. and Zandee, M. 1992.Wood structure of the *Rosaceae* in relation to ecology, habit and phenology. IAWA J. 13: 307–349.
- Zhang, S.H. and Romane, F. 1991. Variations de la croissance radiale de *Quercus ilex* L. en fonction du climat. Annales des Sciences Forestieres 48: 225–234.
- Zimmermann, M.H. 1983. Xylem structure and the ascent of sap. Sringer-Verlag, Berlin.

Corcuera L, Camarero JJ and Gil-Pelegrín E. Effects of a severe drought on *Quercus ilex* radial growth: the response of a pre-Mediterranean tree species to Mediterranean climatic conditions. 2003. Trees (submitted).

CAPITULO 5. La respuesta de un monte bajo reviejado de *Quercus pyrenaica* a la intensa sequía de 1993-94

CAPITULO 5

RESPUESTA DE UN MONTE BAJO REVIEJADO DE *Quercus pyrenaica* A LA INTENSA SEQUÍA DE 1993-94

RESUMEN

En los ecosistemas mediterráneos ha surgido un nuevo paisaje, el monte bajo de quercíneas envejecido debido a la dilatación del turno de corta. En 1994 se observó el puntisecado de los individuos de una masa de Quercus pyrenaica, tratada en monte bajo y pasada de turno. Se estudió el efecto del reviejado (superación del turno de corta) en el crecimiento secundario de esta especie caducifolia, de madera de poro en anillo. Para ello se analizaron variables anatómicas de la madera de primavera y verano como anchura y superficie de anillo, y diámetro y densidad de vasos. El efecto del reviejado sobre el crecimiento secundario fue mayor que el efecto del clima. La anchura de la madera de verano aumentó hasta un máximo, alcanzado en torno a los 8 años de edad, y descendió de forma muy acentuada a partir de los 14 años, es decir, alrededor del turno de corta de la especie. La producción de madera de verano desapareció en el 50 % de las ramas a los 14 años de edad, con porcentajes del 100 % a los 22 años. La ausencia de madera de verano tiene dos implicaciones funcionales: el estancamiento del crecimiento debido al reducido incremento del perímetro del anillo anterior y la mayor vulnerabilidad ante situaciones de estrés medioambiental, al no contar con elementos de seguridad frente a la cavitación. El estancamiento en el crecimiento radial conduce a una disminución en la producción de biomasa (reducción de la superficie fotosintética). El puntisecado de las ramas podría considerarse como un fenómeno que tiende a mantener un equilibrio entre la superficie foliar transpirante de la copa y la conductividad hidráulica del tronco. En periodos de escasa precipitación este proceso de clareo de la copa en individuos reviejados podría ser una adaptación temporal a un insuficiente aporte de agua y debería diferenciarse del "decaimiento" en su sentido estricto.

INTRODUCCIÓN

Una parte importante de los recursos forestales de la región mediterránea ha sido aprovechada en forma de monte bajo de quercíneas y empleada tradicionalmente para la obtención de leña y carbón para combustible (Barbero y Quezel 1989). Sin embargo, a partir de los años sesenta, el cambio en las actividades socioeconómicas afectó profundamente a estos ecosistemas forestales. La infrautilización del monte bajo debido al abandono de las áreas rurales y al uso de combustibles fósiles ha conducido al establecimiento de una nueva estructura forestal como consecuencia del envejecimiento del bosque (Huc y Ducrey 1996; Barbero et al. 1990). La mayoría de las masas han sobrepasado con creces su turno de corta y se ha creado un nuevo paisaje con cepas multicórmicas cuyos pies superan los 40-50 años (Floret et al. 1989) y que presentan, entre otros problemas, una ralentización del crecimiento y riesgo de decaimiento de cepas y rebrotes (Cañellas et al. 1994, 1996). Estos ecosistemas se caracterizan por su baja productividad (Hétier y Lilin 1989, Bonin y Romane 1996, Cutini y Mascia 1996, Enjalbal et al. 1996), que está relacionada, entre otros factores, con el estrés hídrico estival propio del clima mediterráneo (Cartan Son et al. 1992; Rambal 1992). En la región mediterránea, el verano, caracterizado por altas temperaturas e irradiación, alto déficit de presión de vapor y baja e irregular precipitación, constituye un periodo crítico para la actividad fisiológica y el crecimiento (Di Castri 1981).

El decaimiento y muerte de grandes de masas forestales extensiones de quercíneas en el hemisferio norte, data de principios del siglo XX, aunque fue especialmente severo en la década de los ochenta (Tainter et al. 1984). De todos los episodios, sólo algunos estaban asociados claramente a enfermedades epidémicas debido a la presencia de hongos como Phytophthora cinammomi (Tuset et al. 1996). La mayoría de ellos coincidieron con un periodo de precipitación muy escasa que provocó una baja disponibilidad de agua en el suelo (Thomas y Hartmann 1996, Corcuera et al. en preparación). Como posible explicación del fenómeno, Tainter et al. (1990) sugirieron que una sequía prolongada y severa a mediados del siglo XX podría haber actuado como un factor de predisposición al decaimiento de poblaciones de robles viejos, que tuvo lugar cuando se sucedieron varios periodos de sequía cortos pero agudos a mediados de los ochenta. El decaimiento fue más acusado en los montes de baja calidad de estación (debido al clima, suelo, exposición, etc.) y en las masas más viejas (Oak et al. 1988). Por alguna razón estas masas forestales fueron especialmente sensibles a la sequía estival propia del clima mediterráneo.

Paralelamente al fenómeno de decaimiento, el reciente cambio climático global se ha manifestado en la zona occidental de la región Mediterránea con un de aumento la temperatura V la evapotranspiración potencial y una disminución de la humedad relativa (Piñol et al. 1998; Piervitali et al. 1997). Además de la influencia de un clima más cálido y seco, con periodos de seguía más extremos y abundantes, los modelos sugieren que esta tendencia se mantendrá en los próximos años (Osborne et al. 2000). Como ejemplo, el periodo 1992-1994 fue muy seco en el área objeto de estudio, especialmente 1994. Ese año la seguía afectó a gran superficie del bosque mediterráneo español (Peñuelas et al. 2001). En 1994 se observó el puntisecado de los individuos de una masa de Quercus pyrenaica, tratada en monte bajo y pasada de turno, en el Sistema Ibérico central español. Debido a las deficientes cualidades tecnológicas de la madera y a su gran aptitud para el rebrote de cepa y de raíz, esta especie ha sido tradicionalmente empleada para la obtención de leña y carbón (Ceballos y Ruiz de la Torre 1979). Su turno de corta, que era de 8 a13 años hasta bien entrado el siglo XX, es ahora de al menos 20 años debido a los cambios de uso del monte (Allué y San Miguel 1991, Cañellas et al.

1994). *Q. pyrenaica* es una especie caducifolia que posee una madera de poro en anillo, con vasos grandes y baja densidad de madera de primavera, y vasos pequeños en una madera de verano densa, debido a una gran cantidad de elementos estructurales (Schweingwber 1990). Según la ley de Hagen-Poiseuille, la conductividad hidráulica teórica (Kh) es proporcional al radio del conducto elevado a la cuarta potencia. Los vasos de verano contribuyen una parte muy pequeña de la conductividad hidráulica teórica del árbol, alrededor del 4 % (Ellmore y Ewers 1986). Por otro lado, al ser más estrechos son menos vulnerables a la cavitación por frío invernal (Sperry et al. 1994) y sequía estival (Sperry y Tyree 1990), garantizando el aporte de agua a la copa cuando los vasos de primavera han perdido su funcionalidad por estar cavitados.

Debido a la importancia económica del monte bajo de quercíneas en los ecosistemas mediterráneos, se han realizado muchos estudios sobre el estado fisiológico estas masas en respuesta a la de disponibilidad hídrica (Gallardo et al. 1996) y a las claras (Huc y Ducrey 1996). Se ha estudiado el efecto de la cantidad de precipitación en el incremento diametral del monte bajo reviejado (Enjalbal et al. 1996), pero todavía se desconoce su efecto en la anatomía de la madera v en la conductividad de árboles reviejados. En un estudio dendrocronológico realizado en Q. faginea, especie de madera de poro en anillo, se observó que la madera de verano era mucho más sensible a los cambios de precipitación que la madera de primavera. En los años secos la mayoría de las ramas no produjeron madera de verano (Corcuera et al., enviado). El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto del reviejado en el crecimiento secundario de Q. pyrenaica. Para ello se realizó una descriptiva detallada de variables anatómicas como anchura y superficie de anillo, y diámetro y densidad de vasos de la madera de primavera verano. Un mayor v conocimiento de la anatomía y fisiología de este roble permitirá una mejor comprensión de los efectos del cambio del manejo del bosque (dilatación del turno de corta) en su estructura, productividad y funcionamiento.

MATERIAL Y MÉTODOS

Zona de estudio

Se eligió un monte bajo de *Q*. *pyrenaica* en la sierra de Santa Cruz, Cubel, Zaragoza (1° 39' W, 41° 07' N, 1177 m s.n.m.). Los datos de precipitación y temperatura se obtuvieron de la estación meteorológica Cubel-Casas Altas situada aproximadamente a 2 Km del área de estudio (1° 38' W, 41° 06' N, 1108 m s.n.m.). La temperatura media anual es de 11,3 °C. La precipitación media anual es de 449 mm, con máximos en primavera y otoño. En la zona de estudio el periodo de sequía estival dura alrededor de 2 meses, desde junio a septiembre. El fitoclima del área estudiada corresponde al de bosque transicional entre nemoral y nemoromediterráneo con tendencia a la esclerofilia y una clara influencia continental (Allué Andrade 1990).

Especie

El monte bajo de Q. pyrenaica, junto con Quercus ilex ssp ballota L. y Quercus faginea Lam., ocupa el 22 % del área forestal española. La superficie cubierta especie por esta es aproximadamente de 650.000 ha, lo que supone un 5,8 % de la superficie forestal española. Q. pyrenaica es un roble marcescente de localizaciones submediterráneas que aparece en laderas y emplazamientos basales de los sistemas montañosos de la mitad norte de la Península Ibérica (Ceballos y Ruiz de la Torre 1979). Su área de extensión se reduce al suroeste de Europa (Francia, España y Portugal) y a pequeños enclaves en el norte de Marruecos (Blanco et al. 1997).

Muestreo y preparación de las muestras

El muestreo se realizó en el invierno de 1998. Se cortaron diez ramas, una por árbol, de diez árboles dominantes a una



altura media de la copa y siempre con orientación S-SO. Las ramas tenían un diámetro similar y una edad media (\pm SE) de 27 \pm 2 años. El tamaño de la muestra (n = 10) es el mínimo requerido en estudios dendrocronológicos (Fritts 1976). Sin embargo, la descriptiva tan exhaustiva de las variables anatómicas hizo que este fuera el tamaño de muestra máximo que se pudo analizar para abordar el estudio dendrocronológico y anatómico.

En cada rama se cortó transversalmente el entrenudo de mayor edad por su parte media usando un microtomo de congelación (Anglia Scientific AS200, UK). Las secciones de 15-30 µm de espesor se tiñeron con safranina y verde rápido, se deshidrataron con etanol al 96 % y se montaron en preparaciones permanentes con bálsamo de Canadá. Posteriormente se analizaron con un microscopio (Olympus BH-2) equipado con un adaptador de cámara (Olympus OM-Mount) y una cámara fotográfica (Olympus OM101). Las fotos obtenidas se montaron para medir las variables del xilema (Fig. 1. A.). Todas las muestras se sincronizaron visualmente sin detectarse anillos ausentes (Stokes y Smiley 1968).

Variables anatómicas de la madera

Se empleó una secuencia de 22 valores anuales (1976-97) ya que este era el periodo común que incluía el máximo tamaño de muestra en todas las ramas (n= 10). Además, el incremento del diámetro medio de los vasos de primavera con la edad se estabilizó aproximadamente en 1976 en todas las ramas (Huber 1993). Para describir la respuesta del crecimiento al reviejado, se estudiaron las siguientes variables: anchura de anillo (media de dos radios opuestos por anillo), superficie de anillo, diámetro medio de vasos, densidad de vasos (número de vasos por sección transversal de xilema), superficie conductora

Figura 1A. Corte transversal de la madera de *Q. pyrenaica*.

(sección transversal de xilema ocupada por los vasos en un anillo). Todas las variables se midieron de forma separada para la madera de primavera y la de verano. El cambio abrupto en el tamaño de los vasos a través del anillo permitió la identificación de las maderas de primavera y de verano. Se obtuvieron los valores medios anuales para todas las variables promediando los valores individuales de todas las ramas.

La principal variable anatómica relacionada con la conductividad hidráulica es el diámetro de los vasos (Carlquist 1975). Según la ley de Hagen-Poiseuille, la conductividad de un conducto es proporcional a su radio elevado a la cuarta potencia (r^4) . Se calculó así la conductividad hidráulica teórica (Kh) de cada anillo anual de crecimiento como la suma de los diámetros de todos los vasos elevados a la cuarta potencia. Por tanto, la conductividad hidráulica teórica será función del número (N) y del radio elevado a la cuarta potencia (r^4) de estos vasos:

$$Kh = f(N, r^4) \tag{1}$$

Dada la relación potencial entre el radio del vaso y su conductividad, en trabajos previos se consideraron los 10-25 conductos más anchos por sección como una buena aproximación para estimar *Kh* (Woodcock 1989, Villar-Salvador *et al.* 1997). En este trabajo, se midieron todos los vasos cuyo diámetro era superior a 10 um dentro de un área de aproximadamente 5 mm de ancho para cada anillo. Se consideró que era necesaria esta descripción anatómica detallada para estimar correctamente la conductividad hidráulica teórica. En los vasos claramente no circulares se promediaron dos diámetros.

Para estudiar más exhaustivamente la anatomía del xilema de los últimos años (próximos a la corteza) se cortaron diez troncos en el mismo monte de al menos 50 años. Se analizaron los últimos 15 años de crecimiento del mismo modo al descrito anteriormente pero en una sección tangencial (arco) de 40 mm de ancho en cada anillo (Fig. 1. B.). El año en que ocurrió el puntisecado de los brotes de *Q. pyrenaica* (1994) aparece reflejado en la figura 1. C.

El estudio de la relación entre crecimiento radial (anchura del anillo) y clima no pudo realizarse debido al fuerte efecto del reviejado (reducción muy acentuada y prolongada del crecimiento radial). Debido a esta intensa supresión del crecimiento, no pudo llevarse a cabo el ajuste de funciones descendentes (lineal, exponencial negativa) a los datos brutos de anchura de anillo para obtener índices adimensionales crecimiento. de Esta estandarización es el paso previo necesario para comparar el crecimiento con datos climáticos mensuales (función respuesta; Fritts 1976).

Figura 1B. Corte transversal del tronco de *Q. pyrenaica* en el que se aprecian los anillos de los últimos años con mayor detalle.



Figura 1C. Corte transversal de la madera de *Q. pyrenaica* donde se aprecia la cicatriz del año en que los brotes se secaron (1994) y los crecimientos de años posteriores.



RESULTADOS

Durante los años 1992-94 se alcanzaron valores de precipitación anual inferiores a la media en el área de estudio (Fig. 2. A.). En estos años, e incluso en un periodo más amplio (1993-96), se detectó precisamente la ausencia de madera de verano en los individuos muestreados (Fig. 2. B.). La reducción de crecimiento radial, ya sea madera de primavera o de verano, se observó a partir de 1982 (Fig.

2. B.). La anchura de la

madera de primavera mostró una tendencia exponencial negativa (Fig. 2. C.). La anchura de la madera de verano aumentó hasta un máximo alcanzado en torno a los 8 años de edad cambial, a partir de los cuales comenzó a descender (Fig. 2. C.). El descenso de la anchura de la madera de verano fue muy acentuado, con valores muy bajos a partir de los 14 años.



Figura 2. Precipitación anual (barras negras) y de verano (barras blancas) en el área de estudio (datos de la estación Cubel-Casas Altas) (A) comparada con el crecimiento radial (anchura de anillo) a lo largo del tiempo (B), y crecimiento radial (superficie de anillo) en función de la edad del cambium (C). En A la línea gruesa y las líneas de puntos son la media $y \pm DS$, respectivamente. El gráfico insertado en B representa la anchura del anillo en las muestras tangenciales de troncos. En B y C los triángulos grises y negros corresponden a la maderas de primavera у de verano, respectivamente. Las barras de error son errores estándar, representados en una dirección para una mayor claridad visual.

Durante el periodo 1993-96, se alcanzaron las frecuencias más elevadas (90-100 %) de individuos sin madera de verano, especialmente los individuos muy reviejados (100 %) (Fig. 2. B y 3. A.). La ausencia de madera de verano comenzó a reflejarse a partir de los 8 años de edad, aumentando progresivamente a partir de los 14 años (Fig. 3. B.). De hecho, a los 22 años ya aparecían porcentajes del 100 % de los individuos sin madera de verano. A partir de 1978 se observa una progresiva disminución de la presencia de madera de verano, la cual no apareció en ningún individuo en 1995, año posterior al puntisecado de las ramas (Fig. 3. A.).



Figura 3. Tendencias temporales de la ausencia de la madera de verano (%) en las ramas de Q. pyrenaica en función del tiempo (A) у considerando la edad del cambium de cada anillo (B). El gráfico insertado en А corresponde las а muestras tangenciales de las ramas viejas. La línea gris en el gráfico inferior corresponde a una función logística (la línea vertical es la edad a la que el 50% de las ramas no produjeron madera de verano).

El diámetro de los vasos de primavera se estabilizó en torno a los 12 años, alcanzando 120 µm de media (Fig. 4. A.). Los vasos de verano no mostraron una dependencia de la edad tan clara oscilando la mayoría de sus diámetros entre los 35 y 40 µm de media (Fig. 4. B.).



Figura 4. Variación temporal del diámetro de la madera de primavera (**A**) y de la madera de verano (**B**) en función de la edad del cambium en *Q. pyrenaica*. Las cajas indican para cada edad: la mediana (línea horizontal), la media (línea horizontal gruesa gris), los percentiles del 25% y 75% (límites de las cajas), los percentiles del 5% y 95% (barras de error), y los valores extremos (puntos negros). La línea inferior representa el tamaño de la muestra (número de vasos).

La distribución diamétrica de los vasos fue claramente bimodal, correspondiendo a una típica madera de poro en anillo, con un 85 % de vasos pequeños (hasta 50 μ m), que sólo aportaron el 3 % de la conductividad hidráulica total predicha (Fig. 5. A.). Por el contrario, los vasos de primavera con diámetro > 120 μ m, que sólo suponían el 7 % del total de vasos,

aportaban más del 90 % de la conductividad total. Este patrón se modificaba en años de climatología contrastada, ya que los vasos estrechos de verano predominaban en años húmedos (p.ej. 1997) mientras que la proporción de vasos grandes aumentaba en años secos (p.ej. 1994), lo cual hacía aumentar el promedio del diámetro de todos los vasos en este último caso (Fig. 5. B.).



Figura 5. A. Frecuencia (%) de vasos de Q. pyrenaica (periodo 1976-97) según su diámetro (D, clases de 10-µm), y su contribución relativa a la conductividad hidráulica teórica total (*Kh*). B. Comparación de la distribución relativa de vasos según su diámetro entre dos años opuestos según la precipitación, un año húmedo (1997) y un año seco (1994). La línea vertical en la el gráfico corresponde inferior al diámetro medio de los vasos de cada año.

La densidad de vasos de primavera osciló menos que la de los vasos de verano (Fig. 6. A.). El diámetro de los vasos de primavera, su superficie conductora total y su conductividad hidráulica sufrieron un ligero descenso en los años 1992 y 1995, coincidiendo con descensos acusados de las mismas variables también para los vasos de verano (Figs. 6. B. y 6. C.). La contribución de la madera de primavera a la conductividad hidráulica fue al menos dos órdenes de magnitud superior a la de la madera de verano (Fig. 7). La tendencia ascendente de la conductividad hidráulica se interrumpió entre 1979 y 1981 en ambos tipos de madera, con un descenso y posterior estabilización (Fig. 7). Ambos tipos de madera mostraron descensos de la conductividad hidráulica en 1987 y 1995.



Figura 6. Variabilidad temporal de las variables anatómicas de la madera en *Q. pyrenaica* (periodo 1976-97): densidad de vasos (**A**), diámetro de vasos (**B**), y área conductiva (**C**). Símbolos como en la Fig. 2. No se produjo madera de verano en 1995.



Figura 7. Variabilidad temporal de la conductividad hidráulica teórica total (*Kh*) en *Q. pyrenaica* para el periodo 1976-97. Símbolos como en la Fig. 1.

Discusión

dendrocronología está bien En establecida la tendencia a la producción de anillos más estrechos a medida que el árbol envejece y aumenta su diámetro (Fritts 1976). A partir del estudio de la madera de pyrenaica se observa *O*. que la probabilidad de que los anillos estén formados exclusivamente por madera de primavera se incrementa de forma exponencial con la edad cambial de los brotes. La ausencia de madera de verano es habitual a partir de los catorce años, es decir, alrededor del turno de corta de la estudios especie. En anatómicos V dendroecológicos previos realizados en robles de madera de poro en anillo, se ha puesto de manifiesto que en años secos sólo se produjo madera de primavera (Woodcock 1989, Corcuera et al. en proceso). La anchura de la madera de verano es por tanto más sensible a los factores climáticos, especialmente a la variabilidad de la precipitación (Woodcock 1989). En O. pyrenaica el efecto de la edad en el crecimiento secundario se superpuso y fue más intenso que el efecto del clima.

El gran diámetro de los vasos de primavera garantiza el aporte de agua a la copa al comienzo del periodo vegetativo, cuando las lluvias son más abundantes, pero los hace más vulnerables a la cavitación por frío invernal o sequía estival (Lo Gullo y Salleo 1993). Por el contrario los vasos de verano de pequeño diámetro, menos vulnerables a la cavitación, garantizan un flujo mínimo de agua a la copa cuando los vasos de primavera dejan de ser funcionales (Carlquist 1975). En las especies de madera de poro en anillo, la conducción y la protección frente a la cavitación están segregadas espacial y temporalmente en las maderas de primavera y de verano. Los vasos grandes de primavera permanecen funcionales sólo durante una estación de crecimiento y los vasos de la madera de verano durante varios años (Ellmore y Ewers 1986). Esto explica que el anillo del último año aporte más del 90 % del flujo total a través del tronco (Ellmore y Ewers 1986). Aunque los vasos de verano son los únicos que permanecen funcionales después de la abscisión de las hojas, el agua que aportan en primavera es suficiente para las hojas en desarrollo.

En los individuos reviejados, la anchura de la madera de primavera variaba poco y se mantuvo próxima a 0.15-0.20 mm (Fig. 2. B.), es decir, ligeramente superior al diámetro medio de los vasos de primavera (0.11-0.14 mm; Fig. 6. B.). Esto indica que, en general, se produjo una sola serie de vasos de primavera en los individuos reviejados. La conductividad aportada por los vasos de primavera en las maderas de tipo poro en anillo es muy importante, ya que en *Q. pyrenaica* supone alrededor del 97 % de la conductividad total (Fig. 5. A.). Por tanto, se puede considerar que la conductividad hidráulica teórica será función del número (*Np*) y del radio elevado a la cuarta potencia (r_p^{-4}) de los vasos de primavera:

$$Kh = f(Np, r_p^{4})$$
⁽²⁾

Por otro lado, el número de vasos de primavera (Np) del año en curso (t) es función del perímetro (p_{t-1}) y de la anchura del anillo (RW_{t-1}) del año anterior (t-1):

$$Np_t = f(p_{t-1}) \approx 2 \pi R W_{t-1} \tag{3}$$

En general, la anchura total del anillo en una madera de poro en anillo (RW) depende sobre todo de la anchura de la madera de verano (RW_{LW}). El aumento de perímetro depende así del incremento de anchura de la madera de verano:

$$p \approx 2 \pi R W_{LW} \tag{4}$$

Resumiendo todas las fórmulas, podemos concluir que la conductividad del año en curso (Kh_t) depende en definitiva del crecimiento radial de la madera de verano (RW_{LW}) del año previo (t-1):

$$Kh_t = f(RW_{LW t-1}) \tag{5}$$

Por tanto, si no se produce madera de verano (reviejado), el incremento del perímetro de la madera será muy pequeño y también el aumento del área conductora de los vasos de primavera, lo que repercutirá en la producción de nueva biomasa. Si el área foliar de la copa no se tampoco aumentará incrementa. la asimilación neta de CO₂, por lo que el balance neto del árbol será nulo o negativo. El puntisecado de las ramas podría considerarse así un fenómeno que tienda a mantener o reestablecer un equilibrio entre la superficie foliar transpirante de la copa y la conductividad hidráulica del tronco leaf area / sapwood area- a través de la reducción drástica de área transpirante (Mencuccini y Grace 1995). Si la reducción de la copa constituye una respuesta a periodos de escasez de aporte de agua por individuos reviejados, este proceso de clareo de la copa podría ser una adaptación temporal a un insuficiente aporte de agua y debería diferenciarse del "decaimiento" en su sentido estricto, el cual conlleva la muerte del árbol (Tainter et al. 1990, Manion y Lachance 1992, Thomas y Hartmann 1996).

En la madera de primavera los vasos son anchos y se disponen en torno al perímetro del anillo anterior, suponiendo un bajo coste de producción debido a la escasa presencia de elementos estructurales. Lo contrario ocurre en la madera de verano, con una gran cantidad de elementos estructurales formando una madera más densa, y por tanto, de alto coste de producción (Castro-Díez et al. 1998). La ausencia de madera de verano tiene dos implicaciones funcionales: (*i*) el estancamiento del crecimiento debido al reducido incremento del perímetro del anillo anterior. V (ii) la mayor vulnerabilidad ante situaciones de estrés medioambiental al no contar con elementos de seguridad frente a la El estancamiento cavitación. en la producción de biomasa con la edad de Q. pyrenaica ha sido observado previamente por Allué y San Miguel (1991). La disminución del vigor del árbol debido a la edad podría ser un factor de predisposición al decaimiento en años secos. El consumo de agua por Q. pyrenaica se ve más afectado por la distribución anual de la precipitación que por la precipitación anual total (Gallardo et al. 1996). En el área mediterránea, las lluvias tienen lugar cuando la temperatura y evapotranspiración son bajas, y los robles deciduos están normalmente inactivos (Di Castri 1981). Por ejemplo, en el área de estudio la precipitación alcanza dos máximos uno en octubre-noviembre y otro en primavera antes de que aparecen las hojas del roble. La mayor abundancia de precipitación en la estación invernal no incrementa sustancialmente el consumo de agua en Q. pyrenaica y el exceso de agua se pierde (Gallardo et al. 1996). Por tanto, la seguía estival acentuada podría ser una causa adicional de la ausencia de madera de verano en individuos reviejados de Q. pyrenaica. El manejo adecuado del monte bajo mediante medidas selvícolas como las claras, que reducen la competencia intraespecífica, y la disminución del turno de corta, que permite una mayor y más rápida recuperación en robles más jóvenes y vigorosos, lograría amortiguar la susceptibilidad al decaimiento de estas masas (Starkey y Oak 1988).

BIBLIOGRAFIA

- Allué Andrade, J.L. 1990. Atlas Fitoclimático de España: Taxonomías. MAPA-INIA, Madrid.
- Allué, M. y San Miguel, A. 1991. Estructura, evolución y producción de tallares de *Quercus pyrenaica* Willd. en el centro de España. Inv. Agr.-Sist. Recur. For. 0: 35–48.
- Barbero M. y Quézel P. 1989. Structures, architectures forestières à sclérophylles et prévention des incendies. Bulletin d'Ecologie 2: 7–14.
- Barbero M., Bonin G., Loisel R. y Quézel
 P. 1990. Changes and disturbances of forest ecosystems caused by human activities in the western part of the mediterranean basin. Vegetatio 87: 151– 173.
- Blanco, E., Casado, M. A., Costa, M.,Escribano, R., García, M., Génova, M.,Gómez, A., Gómez, F., Moreno, J.C.,Morla, C., Regato, P. y Sáinz, H. 1997.

Los Bosques Ibéricos: Una interpretación geobotánica. Ed. Planeta. Madrid.

- Bonin G. y Romane F. 1996. Chêne vert et chêne pubescent. Historie, principaux groupments, situation actuelle. Forêt Méditerranéene XVII: 119–128.
- Bréda N., Granier A. And Aussenac G.
 1995. Effects of thinning on soil and tree water relations, transpiration and growth in an oak forest (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.). Tree Physiology 15: 295–306.
- Cañellas I., Montero G., San Miguel A., Montoto J.L. y Bachiller A. 1994. Transformation of rebollo oak coppice (*Quercus pyrenaica* Willd.) into open woodlands by thinning at different intensities. Inv. Agr.-Sist. Rec. For. 3: 71–78.
- Cañellas I., Montero G. y Bachiller A. 1996. Transformation of quejigo oak (*Quercus pyrenaica* Lam.) coppice forest into high forest by thinning. Ann. Inst Sperim. Selvic. Arezzo 27: 143–147.
- Carlquist, S. 1975. Ecological strategies of xylem evolution. University of California Press, Los Angeles.
- Cartan-Son, M., Floret, C., Galan, M.J.,
 Grandjanny, M., Le Floc'h, E., Maistre,
 M., Perret, P. and Romane, F. 1992.
 Factors affecting radial growth of *Quercus ilex* L. in a coppice stand in
 southern France. Vegetatio 99–100: 61–68.

- Carvalho J. y Loureiro A. 1996. Stool and root resprouting according to different cutting seasons in a *Quercus pyrenaica* Willd. coppice. Annali Instituto sperimentale Selvicoltura. Arezzo 27: 83–88.
- Castro-Díez, P., Puyravaud, J.P., Cornelissen, J.H.C. y Villar-Salvador, P. 1998. Stem anatomy and relative growth rate in seedlings of a wide range of woody plant species and types. Oecologia 116: 57–66
- Ceballos, L. y Ruiz de la Torre, J. 1979. Árboles y arbustos de la España peninsular. ETSIM, Madrid.
- Cutini, A. and Mascia, V. 1996. Silvicultural treatment of holm oak (*Quercus ilex* L.) coppices in Southern Sardinia: effects of thinnig on water potential, transpiration and stomatal conductance. Ann. Ist. Sper. Selv. 27: 47–53.
- Di Castri, F. 1981. Mediterranean-type shrublands of the world. In: Mediterranean-type shrublands, Di Castri, F. et al. (Eds.), pp. 1–52. Elsevier, Amsterdam
- Ellmore G.S. y Ewers F.W. 1986. Fluid flow in the outermost xylem increment of a ring-porous tree, *Ulmus americana*. Am. J. Bot. 73: 1771–1774.
- Enjalbal M., Grandjanny M., Maistre M., Perret P., Romane, F. y Shater, Z. 1996. The holm oak (*Quercus ilex* L.) radial

growth facing the rainfall unpredictability. An example in Southern France. Ann. Inst. Sperim. Selv. Arezzo 27: 31–37.

- Floret C., Galan M.J., Le Floc'h E., Rapp
 M., y Romane, F. 1989. Organisation de la structure, de la minéralomasse dún taillis ouvert de chêne vert (*Quercus ilex*L.). Acta Oecologica, Ecol. Plant. 10: 245–262.
- Fritts, H.C. 1976. Tree Rings and Climate. Academic Press, New York, London.
- Gallardo, J.F., Rico, M., Gonzales, M.I., Egido, J.A., Moreno, G., Martín, A., Turrión, B., Quilchano, C. y Vicente, M.A. 1996. Nutrients cycles and water balance in deciduous oak (*Quercus pyrenaica* Willd.) coppices following a rainfall gradient at the Central System Range (province of Salamanca, Western Spain). Ann. Inst. Sperim. Selvic. Arezzo 27: 13–24.
- Hétier, J.P. y Linin, C. 1989. Les spaces boisés méditerranéens et leur ressource. Forêt Méditerranéen XI: 226–237.
- Huc, R. y Ducrey, M. 1996.
 Ecophysiological response to thinning in a *Quercus ilex* L. coppice stand. 1996.
 Ann. Inst. Sperim. Selvic. Arezzo 27: 39–45.
- La Marca, O., Marziliano, P.A. y Scotti, R. 1996. Effects of standards density on coppice structure development: evaluation 14 year after coppicing in a

Turkey oak experimental trial. Ann. Inst. Sperim. Selvic. Arezzo 27: 113–120.

- Lo Gullo, M.A. y Salleo, S. 1991. Three different methods for measuring xylem cavitation and embolism: a comparison. Ann. Bot. 67: 417–424.
- Lo Gullo, M.A. y Salleo, S. 1993.
 Different vulnerabilities of *Quercus ilex*L. to freeze- and summer drought induced xylem embolism: an ecological interpretation. Plant, Cell and Environm. 16: 511–519.
- Manion, P.D. y Lachance, D. 1992. Forest Decline Concepts. APS Press. St. Paul, MN. 249 pp.
- Mayor, X. y Rodá, F. 1993. Growth response of holm oak (*Quercus ilex* L.) to commercial thinning in the Montseny mountains (NE Spain). Ann. Sci. For. 50: 247–256.
- Mencuccini, M. and Grace, J. 1995. Climate influences the leaf area/sapwood area ratio in Scots pine. Tree Physiol. 15: 1–10.
- Oak S.W., Starkey D.A. y Dabney J.M. 1988. Oak decline alters habitat in Southern upland forests. Proc. Ann. Conf. SEAFWA 42: 491–501.
- Peñuelas, J., Lloret, F. y Montoya, R.
 2001. Severe drought effects on Mediterranean woody flora. For. Sci. 47: 214–218.
- Piervitali, E., Colacino, M. and Conte, M. 1997. Signals of climatic change in the

Central-Western Mediterranean Basin. Theor. Appl. Climatol. 58: 211–219.

- Piñol, J., Terradas and Lloret, F. 1998.Climate warming, wildfire hazard, and wildfire ocurrence in coastal easternSpain. Clim. Change 38: 345-357.
- Rambal, S. 1992. *Quercus ilex* facing water stress: a functional equilibrium hypothesis. Vegetatio 99–100: 147–153.
- Sperry J.S. y Tyree M.T. 1990. Water stress induced xylem embolism in three species of conifers. Plant, Cell and Environme. 13: 427–436.
- Sperry J.S., Nichols K.L., Sullivan J.E.M. y Eastlack S.E. 1994. Xylem embolism in ring-porous, diffuse-porous, and coniferous trees of northern Utah and interior Alaska. Ecology 75: 1736–1752.
- Starkey D.A. y Oak S.W. 1988.
 Silvicultural implications of factors associated with oak decline in southern upland harwoods. 5th Biennial Southern Silvicultural Research Conference, Memphis, TN, November 1-3.
- Stokes M.A. y Smiley, T.L. 1968. An introduction to tree-ring dating. Univ. of Chicago Press, Chicago.
- Tainter F.H., Fraedrich S.W. y Benson J.D.1984. the effect of climate on growth, decline, and death of northern red oaks in the western North Carolina Nantahala Mountains. Castanea 49: 127–137.
- Tainter F.H., Retzlaff W.A., Starkey D.A. y Oak S.W. 1990. Decline of radial

growth in red oaks is associated with short-term changes in climate. Eur J. For. Path 20: 95–102.

- Tessier, L., Nola, P. y Serre-Bachet, F. 1994. Deciduous *Quercus* in the Mediterranean region: tree-ring / climate relationships. New Phytol. 126: 355–367.
- Thomas F.M. y Hartmann G. 1996. Soil and tree water relations in mature oak stands of northern Germany differing in the degree of decline. Ann. Sci. For. 53: 697–720.
- Tuset, J.J., Hinarejos, C., Mira, J.L., Cobos, J.M., 1996. Implicación de *Phytophthora cinnamomi* Rands en la enfermedad de la "seca" de encinas y alcornoques. Bol. San. Veg. Plagas 22: 491–499.
- Villar-Salvador P., Castro Díez P., Pérez
 Rontomé C. and Montserrat Martí, G.
 1997. Stem xylem features in three *Quercus* (*Fagaceae*) species along a
 climatic gradient in NE Spain. Trees 12:
 90–96.
- Woodcock, D. 1989. Climate sensitivity of wood-anatomical features in a ringporous oak (*Quercus macrocarpa*). Can.
 J. For. Res. 19: 639–644.

CAPITULO 6. Efectos del estrés invernal en el aparato fotosintetico de *Quercus ilex* ssp *ballota* en condiciones de alta irradiación solar

CAPITULO 6

EFECTOS DEL ESTRES INVERNAL EN EL APARATO FOTOSINTETICO DE Quercus ilex ssp ballota EN CONDICIONES DE ALTA IRRADIACION SOLAR

RESUMEN

Se estudió el efecto del estrés invernal en una especie perennifolia típica de la vegetación mediterránea, Quercus ilex ssp ballota, en una masa forestal localizada a gran altitud y sometida a una alta irradiación y frecuentes heladas invernales. Durante el invierno la asimilación neta de CO₂ fue negativa y se produjo un descenso acusado de la eficencia del fotosistema II. Este proceso estuvo asociado con un aumento de los mecanismos de disipación del exceso de energía, es decir, del "quenching" no fotoquímico y de los carotenoides deepoxidados del ciclo de las xantofilas. Estos carotenoides se mantuvieron retenidos a altos niveles durante la noche. La concentración de luteína y β -caroteno fue 6 y 4 veces superior que la de neoxantina. Por tanto, Q. ilex se vió afectada por el frío inviernal, pero tuvo lugar un proceso de fotoprotección o regulación a la baja del fotosistema II que evitó daños permanentes en el aparato fotosintético, como se refleja en la recuperación de la fotosíntesis y de la eficiencia del fotosistema II en primavera. Paralelamente se analizó la respuesta de la especie a los cambios rápidos de temperatura hasta alcanzar -5° C. La eficiencia potencial máxima del fotosistema II se mantuvo estable, entre 0,70 y 0,75. El resto de los parámetros (eficiencia actual e intrínseca del fotosistema II, "quenching" fotoquímico y no fotoquímico) respondieron al descenso e incremento de temperatura de forma inmediata, además, la recuperación del efecto del frío fue prácticamente instantánea.

INTRODUCCION

La vegetación mediterránea se encuentra expuesta a duras condiciones ambientales, periodos de seguía en verano, las zonas más continentales. V en temperaturas extremas durante el invierno y el verano (Mitrakos 1980). Quercus ilex ssp ballota (Desf.) Samp. es una especie esclerófila perennifolia representativa de la mediterránea vegetación (Krüssmann 1986), cuyo aparato fotosintético debe tolerar temperaturas extremas en invierno y verano en combinación con una alta irradiación solar en las zonas más continentales y montañosas de la península. Por tanto, su expansión en el área mediterránea depende, no sólo de su tolerancia al estrés hídrico y al calor del también verano, sino а las bajas invernales, temperaturas ya que se encuentra expuesta a heladas frecuentes durante el otoño e invierno en las zonas mediterráneas montañosas españolas. Todos los estreses medioambientales que reducen la tasa fotosintética de la planta incrementan el umbral para el cual la luz absorbida es excesiva, y por tanto, la necesidad de la disipación de esta energía (Demmig-Adams y Adams 1992). Las bajas temperaturas del invierno reducen la actividad fotosintética de Q. ilex (Gratani 1996) e incluso la anulan en las localidades más frías (Tretiach et al. 1997), siendo más dañinas que las altas temperaturas para un mismo nivel de luz, ya que se emplea mucha menos energía luminosa en la fotosíntesis (Huner et al. 1993; Öquist y Huner 1993). La combinación de estas temperaturas bajo cero con la alta irradiación solar pueden producir daños en el aparato fotosintético (Groom et al. 1991). En el área mediterránea las hojas se encuentran expuestas en días claros a una alta irradiación solar (más de 2000 µmol m 2 s⁻¹, PAR). Cuando la absorción de la energía luminosa es superior a la necesitada para la fijación de carbono disminuye la fotosistema eficiencia del II (PSII) (Demming-Adams y Adams 1992). La fluorescencia de clorofila emitida por hojas adaptadas a la oscuridad (30 min) permite obtener la eficiencia potencial máxima del fotosistema II (PS II), es decir, permite conocer el estado del PS II y el posible daño o la aparición de mecanismos de protección frente al exceso de energía luminosa (Demmig y Björkman 1987). El descenso en la eficiencia potencial máxima del PS II o descenso en la relación entre la fluorescencia variable de clorofila y la fluorescencia máxima (F_v/F_m) aparece en condiciones de estrés luminoso. Cuando la iluminación vuelve a niveles no saturantes y los valores de la eficiencia potencial máxima del PS II no se recuperan, el aparato fotosintético puede haber sido dañado. Si el descenso es reversible, los

mecanismos de fotoprotección han actuado (Butler 1978). La eficiencia actual del PS II del "quenching" depende (Φ_{PSII}) fotoquímico (q_P), o proporción de centros oxidados abiertos, y de la eficiencia intrínseca del PS II ($\Phi_{exc.}$), o eficiencia en la captura de fotones por el PS II (Genty et al. 1989). Los descensos en Φ_{PSII} pueden estar causados por descensos en q_P y/o en Φ_{exc} . estos parámetros permiten Todos la caracterización del estado del PS II. El principal mecanismo que permite la disipación del exceso de energía dentro del aparato fotosintético es la conversión de la energía luminosa en calor en la antena de los fotosistemas (disipación no radiativa); proceso que está relacionado con el ciclo de las xantofilas y que responde rápidamente a los cambios de luz absorbida diariamente (Demmig-Adams et al. 1989). En el ciclo de las xantofilas, los pigmentos zeaxantina (Z) y anteraxantina (A) se forman a partir de violaxantina (V) bajo condiciones de exceso de luz, y se piensa que ambos están envueltos en los procesos fotoprotectores de disipación de energía (Demmig-Adams y Adams 1996).

Las hojas de las especies perennifolias necesitan poseer medios para disipar el exceso de energía en los días fríos cuando la fotosíntesis es mínima y retomar la actividad fotosintética en días más cálidos. La regulación a la baja de la fotosíntesis, y el exceso de energía de excitación que produce una reducción en la eficiencia de la conversión de la energía fotosintética, son dos fenómenos comunes que ocurren en el campo bajo condiciones naturales. Las hojas de sol que experimentan un estrés adicional, como son las bajas temperaturas, a menudo muestran regulación a la baja de la fotosíntesis. Existen muchos estudios sobre los efectos de la seguía y las altas temperaturas del verano sobre el aparato fotosintético de Q. ilex (Faria et al. 1998; Llorens et al. 2002), no tantos sobre los efectos de las bajas temperaturas (García-Plazaola et al. 1999a, 1999b) y en menor medida en clima mediterráneo con inviernos fríos (Tetriach 1997). En el monte objeto de estudio las temperaturas bajo cero en otoño e invierno son frecuentes. El propósito de este trabajo determinar mecanismos fue los de fotoprotección que permiten a las hojas de Q. ilex ballota adaptarse a las bajas temperaturas experimentadas en los meses más fríos del año. ¿Son capaces las hojas de Q. ilex ballota de mantener su actividad fotosintética después de un periodo de estrés térmico bajo una alta irradiación solar?. En caso de que ocurriera un descenso en la capacidad fotosintética, ¿es éste crónico o finaliza cuando las condiciones vuelven a ser favorables?. Para evaluar la eficiencia y resistencia del

aparato fotosintético sometido a una alta irradiación luminosa y bajas temperaturas en otoño e invierno, y su posible recuperación en primavera, se midió la variación estacional de la fluorescencia de clorofila, asimilación neta de CO2 y composición de pigmentos fotosintéticos en hojas del año en curso, en la especie perennifolia Q. ilex ballota durante el otoño-invierno 1999-2000 y la primavera del 2000. Para determinar la importancia de las condiciones ecológicas en el comportamiento de la especie, se realizaron las mismas medidas en pleno invierno en otro lugar de temperaturas más suaves. En condiciones naturales las temperaturas bajo cero se pueden mantener durante un número elevado de noches, lo que puede tener un peor efecto en el aparato fotosintético que una helada ocasional. Por tanto, como objetivo secundario del estudio se analizó la respuesta de Q. ilex ballota al descenso gradual de temperatura (con intervalos de 5 °C), desde 20 °C hasta -5 °C, en un intervalo corto de tiempo, y su recuperación posterior.

MATERIAL Y METODOS

Lugar de estudio, clima y material vegetal.

La topografía -depresión del río Ebro y elevaciones del sistema Ibéricodeterminan una amplia variedad de

regímenes térmicos en la provincia de Zaragoza. En el centro, a 200 metros sobre el nivel del mar, la media térmica anual se sitúa en los 14-15 °C (clima subcálido), por encima de los 1000 m la isoterma no pasa de los 10 °C (clima templado continental). Se eligió un monte bajo dominado por árboles maduros (de alrededor de 50 años) de Q. ilex ssp. ballota en la Sierra de Santa Cruz-Cubel, Zaragoza, NE de España (1º 39' W, 41° 07' N, 1177 m s.n.m.; lugar A de ahora en adelante). Los datos de temperatura (Fig. 1A, B) se obtuvieron de la estación meteorológica Cubel-Casas Altas situada aproximadamente a 2 Km del lugar (1° 38' W, 41° 06' N, 1108 m s.n.m.). La temperatura media anual es 11,3 °C. La precipitación media anual es 474 mm, con máximos en primavera y otoño. En la zona de estudio el periodo de seguía en verano dura alrededor de 2 meses, desde final de junio a principios de septiembre. El fitoclima del área estudiada corresponde al de bosque transicional entre nemoral a nemoro-mediterráneo con tendencia a la esclerofilia influencia y una clara continental (Allué Andrade 1990). El monte estudiado se sitúa sobre suelos muy pobres desarrollados sobre afloraciones de caliza Terciaria. Para comparar los efectos del invierno en dos zonas con diferentes temperaturas, se obtuvieron semillas de la misma procedencia, es decir, del monte de estudio, que crecieron en maceta, en los campos experimentales del Servicio de Investigación Agroalimentaria (Zaragoza, España, 0° 46' W, 41° 44' N; lugar B de ahora en adelante). En dicho lugar no existen poblaciones naturales de Q. ilex ballota debido a las actividades agrícolas. Los árboles crecieron en la misma provincia pero a 225 m s.n.m., en un clima continental no tan extremo, donde las temperaturas mínimas no alcanzan valores tan bajos (Fig. 1 B; datos de la estación meteorológica de Aula Dei, localizada en el mismo lugar del experimento). Las macetas fueron regadas regularmente (potencial hídrico antes del amanecer alrededor de -0,3 MPa; Fig. 2E) y fertilizadas con un abono de liberación lenta (Osmocote Plus, Sierra Chemical, Milpitas, Calif., USA). Se escogieron árboles de 6 años de Q. ilex ballota. En dichas plantas (que se llamarán "plantas control" de aquí en adelante) se realizaron las mismas medidas de gaseoso, fluorescencia intercambio de clorofila y composición de pigmentos fotosintéticos el 3 de febrero, después del mes más frío del año. En la Fig. 1C se observa la diferencia de temperatura entre ambos lugares, la frecuencia relativa de heladas en el mes de enero es de 70 % en el lugar A y de 30 % en el lugar B - elaborada a partir de datos diarios registrados en la red de estaciones meteorológicas del Instituto Nacional de Meteorología en Aragón, en el período 1960-2000 (URL: web.eead.csic.es/ oficinaregante/mapas/mapas36.htm).

Con objeto de estudiar la respuesta del aparato fotosintético de *Q. ilex ballota* a cambios rápidos de temperatura se midió la fluorescencia de clorofila en plantas de dos años, a partir de semillas de la misma procedencia (lugar A). Las plantas crecieron en maceta en el lugar B y en las mismas condiciones de agua y nutrición descritas anteriormente.

Lugar A. En los meses de noviembre y diciembre 17 días de cada mes tuvieron temperaturas bajo cero. El mes más extremo en cuanto a temperaturas fue mínimas alcanzadas enero, la temperatura mínima más baja fue de -9 °C. Durante este mes todos los días se alcanzaron temperaturas mínimas bajo cero excepto un día en que la temperatura fue de 0 °C. En el día en que se realizó la primera medida (25 de noviembre), la vegetación ya había sufrido 7 días consecutivos de (Fig. 1A). La heladas. radiación fotosintéticamente activa (PAR) a nivel de la hoja osciló entre 1500 y 1800 µmol fotones m⁻² s⁻¹ en invierno y primavera, respectivamente (Fig. 2D).

Lugar B. En los meses de noviembre y diciembre 4 y 15 días tuvieron

temperaturas bajo cero, respectivamente. El mes más extremo en cuanto a temperaturas mínimas alcanzadas fue enero, la temperatura mínima más baja fue de -5.7 °C. Durante este mes 19 días alcanzaron temperaturas mínimas bajo cero (Fig. 1B).



Medidas de intercambio gaseoso, potencial hídrico y fluorescencia de clorofila.

Para comprobar el efecto de las bajas temperaturas en el aparato fotosintético y su posible recuperación, se tomaron medidas desde final de noviembre de 1999 hasta mayo del 2000 (25 de



Figura 1. Evolución temporal de las temperaturas mínimas desde el 1 de noviembre de 1999 al 31 de mayo de 2000 en el monte de estudio (lugar A) (A) y en los campos experimentales de la estación de investigación (lugar B) (B). Las flechas indican las fechas de muestreo. C. Frecuencia mensual relativa de heladas en el mes de enero en la Comunidad Aragonesa en el lugar A (A) y en el lugar B (B).

noviembre -después de las primeras heladas-, 1 de febrero –después del mes más frío-, y 31 de mayo –después de un mes entero sin heladas). Se empleó un analizador de intercambio gaseoso (CIRAS-1, PP-Systems, Herts, Reino Unido) para medir la fotosíntesis neta (A, μ mol CO₂ m⁻² s⁻¹), conductancia estomática (g_s, mmol H₂O m⁻² s⁻¹), radiación fotosintéticamente activa (PAR, μ mol fotones m⁻² s⁻¹) y temperatura de la hoja (T, °C). Las mediciones se realizaron *in situ*, en condiciones naturales, a las 8, 10 y 12 h solares. Todas se realizaron sobre hojas de la parte más externa de la copa, en exposición Sur. En cada ocasión se escogieron 5 hojas por arbol, completamente expuestas al sol, y 3 árboles.

Se midió el potencial hídrico antes del amanecer como indicador del estado hídrico del suelo mediante una cámara de presión tipo Scholander. Se seleccionaron 5 brotes de la zona más exterior de la copa de 5 árboles, se envolvieron en membranas de plástico, se cortaron con tijeras de podar y se midieron inmediatamente después.

La fluorescencia de clorofila se midió *in situ* a diferentes horas: antes del amanecer, 8 y 12 horas solares, con un fluorímetro modulado portátil PAM 2000 (Heinz Walz, Effeltrich, Alemania). Los datos se tomaron en el campo sobre hojas del año en curso unidas a la planta e iluminadas por el sol. El protocolo experimental fue prácticamente el mismo descrito por Genty *et al.* (1989). Se envolvieron con papel de aluminio cinco hojas, se cubrieron con un trapo negro y se mantuvieron en la oscuridad durante 30 min antes de la estimación de la fluorescencia máxima en la oscuridad (F_m). Se emplearon las mismas hojas en las siguientes medidas de fluorescencia. Fo se midió encendiendo la luz modulada a 0.6 kHz. F_m y F_m' se midieron a 20 kHz con un pulso de 6000 umol fotones $m^{-2} s^{-1}$ de luz blanca durante 1 s. F_o y F_o' se midieron en presencia de luz rojo lejano (7 µmol fotones m⁻² s⁻¹) para oxidar completamente el lado aceptor del PS II. Se empleó luz solar como fuente de luz actínica. La eficiencia actual del PS II (Φ_{PSII}) y la eficiencia intrínseca del PS II ($\Phi_{exc.})$ se calcularon como ($F_m^{'}\text{-}~F_s)\!/F_m^{'}$ y (F_v'/F_m') , respectivamente (Harbison *et al.* 1989). El "quenching" fotoquímico (q_P) se estimó como (Fm'- Fs)/Fv' (van Kooten y Snel, 1990). El "quenching" no fotoquímico (NPQ) se calculó como (F_m- F_m')-1, según Bilger y Björkman (1990).

Composición de pigmentos fotosintéticos.

Se comprobó el efecto de las bajas temperaturas en la composición de los pigmentos fotosintéticos, clorofilas y carotenoides: luteína, neoxantina, βcaroteno, violaxantina (V), anteraxantina (A), zeaxantina (Z), clorofila a (Chl a) y clorofila b (Chl b). Las medidas se obtuvieron a final de noviembre de 1999 (día 25), después de las primeras heladas, y a principios de febrero del 2000 (día 1), después del mes más frío del año, enero. El material para el análisis se obtuvo a partir de hojas del año en curso, iluminadas completamente por el sol, en el monte. Los discos de hojas se tomaron de 9 hojas a diferentes horas: antes del amanecer, 10 y 12 horas solares. Los pigmentos de las 12 horas solares se tomaron de las mismas hojas en las que se midió fluorescencia modulada de clorofila. Los discos se cortaron con un sacabocados calibrado, se envolvieron en papel de aluminio, se introdujeron en nitrógeno líquido y se almacenaron a -80 °C. Se pusieron unos pocos cm³ de acetona en un mortero y se añadió una pizca de ascorbato sódico. El disco de hoja congelado se introdujo en el mortero y se molió. Posteriormente se filtró a través de un filtro de 5 µm para eliminar los restos vegetales y el exceso de ascorbato. La mezcla se vertió en un erlenmeyer y se añadió acetona hasta que se obtuvo el volumen deseado. Se empleó una relación de aproximadamente 1-2 cm² de tejido para 5 cm³ de acetona (Abadía y Abadía 1993). Los extractos del pigmento se almacenaron a -80 °C hasta el análisis. Se descongelaron sobre hielo, filtraron a través de un filtro de 0,45 µm y se analizaron por el método de HPLC descrito en trabajos anteriores (De las Rivas et al. 1989).

Tratamiento térmico

Se estudió la respuesta del aparato fotosintético de *Q. ilex ballota* a cambios

rápidos de temperatura. Para la generación de las rampas de temperatura se empleó un arcón congelador comercial modificado. La regulación de la temperatura se obtuvo con un controlador industrial diferencial por pasos (PMA Mod KS90, Germany). Este actúa sobre una resistencia de 600W mediante un sistema de convección forzada mientras que el motor del congelador funciona en continuo. La colocación de dos microventiladores tropicalizados en el interior de la cámara permitió asegurar la homogeneización de la temperatura. Se midió la fluorescencia de clorofila en plantas de la misma procedencia (lugar A) de 2 años, crecidas en maceta en el lugar B y sometidas a distintas temperaturas en descenso (20 °C, 15 °C, 10 °C, 5 °C, 0 °C y -5 °C) y ascenso (-5 °C, 0 °C, 5 °C, 10 °C, 15 °C y 20 °C). Se escogió una hoja por planta en un total de 5 plantas, que se mantuvieron en oscuridad y а la temperatura correspondiente durante 30 min previo a la realización cada una de las mediciones. Una vez realizadas las medidas de las temperaturas en descenso, se mantuvieron las plantas a 0 °C durante la noche y a la mañana siguiente comenzaron las medidas de ascenso de temperaturas. La fluorescencia modulada de clorofila se midió como se ha descrito anteriormente. Se empleó la lámpara halógena del fluorímetro como fuente de luz actínica. Esta proporcionó 1600 μ mol fotones m⁻² s⁻¹ a nivel de la hoja con el objeto de equiparar la radiación obtenida a la existente en el monte objeto de estudio.

RESULTADOS

Estado hídrico

El potencial hídrico antes del amanecer en el lugar A alcanzó un valor mínimo de –0,8 MPa durante el periodo estudiado (Fig. 2E), por tanto, se considera que los árboles del monte estudiado no experimentaron estrés hídrico.



Intercambio gaseoso

La tasa de asimilación neta de CO₂ (A), la conductancia estomática foliar al vapor de agua (g_s) y la temperatura de la hoja siguieron la misma tendencia (Fig. 2A, 2B, 2C). A y g_s alcanzaron valores mínimos en noviembre, alrededor de $-2 \mu mol CO_2$ $m^{-2} s^{-1} y$ alrededor de 30 mmol H₂O $m^{-2} s^{-1}$, respectivamente; hubo una recuperación en Mayo, con valores de A entre 6 y 9 µmol $CO_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ y de } \text{g}_{\text{s}} \text{ entre } 125 \text{ y } 225 \text{ mmol}$ H₂O m⁻² s⁻¹, observándose una disminución de la conductancia estomática a lo largo de la mañana. Las plantas control alcanzaron una temperatura en la hoja similar a las 8 h pero bastante más elevada a las 10 y 12 h (Fig. 2C); también mostraron valores más altos de g_s, aunque inferiores a 100 mmol $H_2O \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Fig. 2B); los valores de A a las 8 h fueron similares, pero superiores los realizados a las 10 y 12 horas, 2 y 4 µmol $CO_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Fig. 2A).

Figura 2. Evolución temporal de la fotosíntesis neta (A) (A), conductancia estomática al vapor de agua (g_s) (B), temperatura foliar (T) (C), radiación fotosintéticamente activa (PAR) (D) y potencial hídrico antes del amanecer (Ψ_{pd}) (E), registrados el 25 de noviembre de 1999, 1 de febrero de 2000 y 31 de mayo 2000 –en el monte de estudio- y el 4 de febrero de 2000 –sobre las plantas control - (puntos aislados). Las medidas se tomaron a las 8 horas solares (triángulos negros), 10 horas solares (círculos negros) y 12 horas solares (círculos blancos), en tres árboles y cinco hojas por árbol, unidas a éste y expuestas al sol. Las barras verticales indican los errores estandar.




Figura 3. Evolución temporal de la eficiencia potencial máxima del PS II (F_v/F_m) (A), eficiencia actual del PSII (Φ_{PSII}) (B), eficiencia intrínseca del PSII ($\Phi_{exc.}$) (C), "quenching" fotoquímico $(\mathbf{q}_{\mathbf{P}})$ (D) y "quenching" no fotoquímico (NPQ) (E), registrados el 25 de noviembre de 1999, 1 de febrero de 2000 y 31 de mayo 2000 - en el monte de estudio- y el 4 de febrero de 2000 -sobre las plantas control- (puntos aislados). Las medidas se tomaron antes del amanecer (triángulos negros), a las 8 horas solares (círculos negros) y 12 horas solares (círculos blancos), en cinco hojas por árbol, unidas a éste y expuestas al sol. Las barras verticales indican los errores estandar. La línea de puntos de la figura A representa una $F_v/F_m = 0,75$ (propia de hojas en buen estado).

Fluorescencia de clorofila.

Se obtuvo una eficiencia potencial máxima del PS II, o relación entre la fluorescencia variable y la fluorescencia máxima (F_v/F_m) , mínima en febrero, entre 0,25 y 0,40; en primavera los valores se recuperaron (0,7-0,8). Las plantas control mostraron valores entre 0,65 y 0,75 (Fig.

3A). Se puede emplear el valor más bajo del rango de F_v/F_m de plantas sanas adaptadas a la oscuridad, como el umbral de recuperación de las bajas temperaturas $F_v/F_m = 0,75-0,85$ (Björkman y Demmig, 1987) (línea de puntos, Fig. 3A). La eficiencia actual del PS II (transporte de electrones del PS II, Φ_{PSII}) y la eficiencia intrínseca del PSII (eficiencia de captura de fotones del PS II, $\Phi_{exc.}$), siguieron la misma tendencia, con valores más altos en febrero que en noviembre (alrededor de 0,13 y 0,20-0,26, respectivamente); en mayo los valores fueron máximos, 0,17 y 0,4, respectivamente. En ambos casos los valores de las plantas control fueron superiores (Fig. 3B, 3C). La proporción de centros de reacción abiertos del PS II o la cantidad de luz absorbida por la antena del PSII que es utilizada en fotoquímica del PS II, estimada por el "quenching" fotoquímico (q_P) , fue mínima en febrero, entre 0,25 y 0,35; en mayo los valores disminuyeron hasta niveles parecidos a los de noviembre (alrededor de 0.4). Las plantas control mostraron valores superiores (0.4-0.6; Fig. 3D). El nivel de la actividad en la disipación térmica de la energía 0 fotoquímico "quenching" no (NPQ), aumentó en febrero hasta 3-3,5, disminuyendo en mayo ligeramente hasta 2-2,5. Se obtuvieron valores más bajos en las plantas control (Fig. 3E).



Figura 4. Evolución temporal de los carotenoides luteína (A), neoxantina (B) y β -caroteno (C), medida el 25 de noviembre de 1999 y 1 de febrero de 2000 -en el monte de estudio- y el 4 de febrero de 2000 -sobre las plantas control- (puntos aislados). Todos los pigmentos están expresados en mmol de pigmento por mol de clorofila total. Las medidas se tomaron antes del amanecer (triángulos negros), a las 8 horas solares (círculos negros) y 12 horas solares (círculos blancos), en cinco hojas por árbol, unidas a éste y expuestas al sol. Las barras indican los errores verticales estandar.

Composición de pigmentos fotosintéticos.

Las concentraciones de los pigmentos en base a la concentración de clorofila siguieron la misma tendencia que en base al área foliar (datos no mostrados). Los niveles de luteína aumentaron en febrero (Fig. 4A). Los niveles de neoxantina y β-caroteno se mantuvieron similares (Fig. 4B, 4C). En todos los casos plantas control las mostraron una concentración inferior. El nivel de luteína y β -caroteno fue 6 y 4 veces superior que el de neoxantina, respectivamente. La proporción de xantofilas deepoxidadas del





Figura 5. Evolución temporal de los carotenoides del ciclo de las xantofilas, violaxantina (V) (A), antheraxantina (A) (B) y zeaxantina (Z) (C) y de la relación AZ/VAZ (D), medidas el 25 de noviembre de 1999 y 1 de febrero de 2000 -en el monte de estudio- y el 4 de febrero de 2000 -sobre las plantas control- (puntos aislados). Todos los pigmentos están expresados en mmol de pigmento por mol de clorofila total. Las medidas se tomaron antes del amanecer (triángulos negros), a las 8 horas solares (círculos negros) y 12 horas solares (círculos blancos), en cinco hojas por árbol, unidas a éste y expuestas al sol. Las barras verticales indican los errores estandar.

Las concentraciones de violaxantina y anteraxantina aumentaron en febrero y los niveles de zeaxantina fueron 3 y 4 veces superiores que los de violaxantina y anteraxantina, respectivamente. En general, los valores de las plantas control fueron más bajos. Las figuras 6A y 6B muestran la



evolución de la clorofila a y b (Chl a y Chl b), respectivamente. La concentración de Chl a y Chl b disminuyó después del mes consecutivo de heladas y fue superior en el lugar A. La relación Chl a / Chl b también disminuyó en febrero pero fue superior en las plantas control del lugar B (Fig. 6 C).

Figura 6. Evolución temporal de la clorofila a (Chl a) (A), clorofila b (Chl b) (B), relación Chl a/Chl b (C), medidas el 25 de noviembre de 1999 y 1 de febrero de 2000 -en el monte de estudio- y el 4 de febrero de 2000 sobre las plantas control- (puntos Los pigmentos aislados). están expresados en µmol m⁻². Las medidas tomaron antes del amanecer se (triángulos negros), a las 8 horas solares (círculos negros) y 12 horas solares (círculos blancos), en cinco hojas por árbol, unidas a éste y expuestas al sol. Las barras verticales indican los errores estandar.

Tratamiento térmico.

La eficiencia potencial máxima del PS II (F_v/F_m) no se vió afectada por el tratamiento térmico, se mantuvo entre 0,7 y 0,75 durante todo el experimento (Fig 7A). Sin embargo, el resto de los parámetros sí que mostraron el efecto de la temperatura. El transporte de electrones y la proporción de centros de reacción del PS II abiertos siguieron exactamente la misma tendencia (Fig. 7B,7D); el descenso de Φ_{PSII} y q_P comenzó a partir de 5 °C (0,1 y 0,2, respectivamente) y fue muy acusado a 0 y – 5 °C (alrededor de 0,02 y 0,03, respectivamente). Después de pasar la noche a 0 °C, los valores obtenidos a 5, 10 y 15 °C fueron similares pero bastante inferiores a los obtenidos en el descenso, y sin embargo a 20 °C se obtuvo un valor superior al alcanzado en el inicio (0,16 y 0,43, respectivamente). La eficiencia en la captura de electrones del PS II, se mantuvo hasta los 10 °C y aumentó a partir de 5 °C, hasta obtener un máximo a -5 °C ($\Phi_{exc.}=0,7$); en el ascenso de temperaturas, los valores disminuyeron gradualmente (Fig. 7C). La gráfica de "quenching" no fotoquímico (NPQ) siguió la misma evolución pero de forma inversa; a partir de 5 °C los valores comienzan a disminuir,

en la recuperación el aumento más acusado ocurre entre -5 °C y 0 °C, aumentando gradualmente hasta 20 °C aunque no alcanza el valor inicial (Fig. 7E). Se produce una respuesta inmediata al incremento de temperatura pero en la recuperación no se alcanzan los valores obtenidos antes del estrés térmico, hasta pasados los 15 °C.

siendo el descenso más acusado a 0 °C y

alcanzando el mínimo a -5 °C (cerca de 0);



Figura 7. Efecto de la temperatura sobre la eficiencia potencial máxima del PS II (F_v/F_m) (A), eficiencia actual del PSII (Φ_{PSII}) (B), eficiencia intrínseca del PSII $(\Phi_{exc.})$ (C), "quenching" fotoquímico (q_P) (D) y "quenching" no fotoquímico (NPQ) (E), en *Q. ilex ballota.* Las barras verticales indican los errores estandar. La línea de la figura A indica el valor promedio.

168

La cinética de la fluorescencia de clorofila se muestra en la figura 8. De 20 a 0 °C las curvas se caracterizan por unos niveles altos de fluorescencia variable F_v y de "quenching" de la fluorescencia después de la iluminación. La amplitud de la señal de F_v depende de la capacidad del PS II de reducir Q_A, la quinona aceptora primaria de electrones del PS II, y por tanto, es máxima cuando esta se encuentra completamente reducida (Krause y Weiss 1991). El "quenching" de la fluorescencia es debido fundamentalmente a la re-oxidación de Q_A y al aumento de la disipación de energía. En el ascenso de temperaturas se observa la reversibilidad de los cambios.



Figura 8. Evolución temporal de los cambios en la cinética de la fluorescencia modulada de clorofila registrados a la luz en *Q. ilex ballota*, a varias temperaturas en descenso y en ascenso.

DISCUSION

Durante el periodo más frío del año el balance de CO₂ fue negativo. Dichos valores de fotosíntesis neta (A) son similares a los obtenidos por la misma especie después de un periodo de estrés inducido por las bajas temperaturas en otros climas fríos mediterráneos como los de norte de Italia (Tretiach et al. 1997) o en coníferas después de una descongelación simulada (Scharberg et al. 1996). En climas más cálidos y menos luminosos, la fotosíntesis neta de Q. ilex se acerca a 6-7 umol m⁻² s⁻¹ en los meses de noviembreenero (Gratani 1993, 1996) e incluso 11 umol m⁻² s⁻¹ (García-Plazaola *et al.* 1999a, 1999b), aunque también suponen un descenso con respecto a los valores alcanzados en primavera y otoño, cuando la temperatura y la humedad son óptimos. Se observó una relación alta entre A y gs y, al igual que en estudios previos (Gratani 1993, 1996), ambos disminuyeron con las bajas La conductancia temperaturas. baja obtenida indica un cierre parcial de estomas, lo que restringe la difusión de CO₂ necesaria para la fotosíntesis.

La eficiencia potencial máxima del PS II es similar a la obtenida en experimentos realizados en invierno con hojas de *Q. ilex* (García-Plazaola *et al.* 1999a, 1999b), de otras especies de *Quercus* perennifolias (García-Plazaola

1997) y de otras especies perennifolias de hoja ancha (Groom et al. 1991). El descenso de F_v/F_m durante el invierno podría indicar una regulación a la baja de la fotosíntesis. es decir, una respuesta fotoprotectora mediada por disipación térmica de la energía, en lugar de un daño en el aparato fotosintético (Somersalo y Krause 1990; Huner et al. 1993). A lo largo de la mañana la eficiencia de PS II disminuyó sobre todo en días fríos. Esto también fue observado por Oliveira y Peñuelas (2000). El nivel de energía de excitación puede ser regulado mediante cambios en la fotosíntesis neta y por disipación del exceso de energía a través de varias vías dentro del cloroplasto (Demming-Adams y Adams 1992). Los cambios en la fracción de luz absorbida por la antena del PS II empleados en reacciones fotoquímicas (Φ_{PSII}) pueden estar causados por los cambios en la proporción de los centros de reacción abiertos y oxidados del PS II, estimada por q_P , o por cambios en la eficiencia intrínseca del PS II (Φ_{exc}) (Genty et al. 1989). El descenso en Φ_{PSII} fue resultado de la disminución de ambos parámetros, q_P y $\Phi_{exc.}$, y similar al encontrado por Oliveira y Peñuelas (2000). Los valores bajos de F_v/F_m , Φ_{PSII} , $\Phi_{exc.}$ y q_P y altos de NPQ en el invierno reflejan que las hojas de Q. *ilex* se protegen de las bajas temperaturas mediante mecanismos de regulación a la baja que favorecen la disipación térmica de la energía luminosa absorbida por el PS II. La mayor actividad fotoquímica en primavera se refleja en el aumento de F_v/F_m , Φ_{PSII} , Φ_{exc} , y q_P y en la disminución de NPQ. Aunque en el produjo una invierno se drástica disminución de la fotosíntesis y de la eficiencia del PSII, reflejada en los valores de A y F_v/F_m, estuvo acompañada de un aumento de los mecanismos de disipación térmica del exceso de energía, lo que permitió la fotoprotección del PSII y evitó daños permanentes en el aparato fotosintético, como se refleja en la recuperación de A y F_v/F_m en primavera. Por tanto, O. ilex se ve afectada por el frío invernal, pero no supone un daño permanente.

La capacidad de Q. ilex para tolerar la combinación de bajas temperaturas y alta iluminación durante el invierno depende en parte de su capacidad para realizar cambios metabólicos en la concentración de carotenoides (García Plazaola et al. 1999a, 1999b). El nivel de carotenoides totales por unidad de clorofila y los pigmentos que forman parte del ciclo de las xantofilas aumentaron a bajas temperaturas (Fig. 4A-C, 5A-D; Schöner y Krause 1990). Las concentraciones de luteína, _{B-caroteno}, anteraxantina. zeaxantina el ratio v AZ/VAZ fueron un 40%, 100%, 20%, 75%

y un 60% superiores, respectivamente, los niveles de neoxantina y Chl total fueron similares y los de violaxantina, Chl a y Chl b un 60%, 22% v 8% inferiores, respectivamente, a los obtenidos por García-Plazaola (1999a, 1999b). Estas diferencias podrían ser debidas al clima, más extremo y continental, en el monte objeto de estudio. El contenido en Chl a y Chl b disminuyó en pleno invierno y, sin embargo, fue superior en el lugar más frío (Fig. 6A, B). La relación Chl a/Chl b fue similar a la obtenida por Gratani et al. (1998) aunque ligeramente inferior en el monte estudiado. El descenso en la tasa de asimilación de CO₂ durante el invierno, unido a la disminución del contenido de clorofila, podría reducir la posible aparición de daño por fotoinhibición en el aparato fotosintético (Gratani et al. 1998). Después del mes más frío del año, la concentración de carotenoides con un papel fotoprotector de disipación del exceso de energía no utilizada en fotosíntesis fue muy alta, y al igual que en García-Plazaola et al. (1999a), estuvo asociada a una disminución de la clorofila a. La alta concentración de asociada a mecanismos clorofila de indica que protección el aparato fotosintético permanece intacto (Demmig-Adams y Adams 1992). La reducción de la F_v/F_m en invierno -un 50 % inferior a la alcanzada en primavera- se acompañó de una concentración muy elevada de

171

zeaxantina (Fig. 5C; García Plazaola 1999a, 199b) y de una retención de anteraxantina y zeaxantina durante la noche (Adams y Demmig-Adams 1994). Del 70 al 80 % del ciclo de las xantofilas se encontraba en forma de anteraxantina y zeaxantina antes del amanecer con un incremento del 10 % al mediodía (Fig. 5D). Este porcentaje cambió según la temperatura, produciéndose una mayor retención de anteraxantina y zeaxantina en los días y noches más fríos. Esta dependencia de la temperatura para la conversión de zeaxantina y anteraxantina en violaxantina ha sido observada en coníferas y se encuentra asociada a un alto nivel de disipación de energía (Adams y Demmig-Adams 1994). La depresión sostenida de la eficiencia del PS II durante el invierno estuvo relacionada con la retención de anteraxantina y zeaxantina y su empleo en la disipación de energía. Este hecho ha sido observado previamente en varias especies de coníferas expuestas a una combinación de excesiva luz y bajas temperaturas (Adams Demmig-Adams y 1995: Verhoeven et al. 1996). Por tanto, tuvo lugar un proceso de fotoprotección o regulación a la baja del PS II en hojas expuestas a temperaturas bajo cero.

Al analizar la respuesta de *Q. ilex* a los cambios de temperatura a corto plazo, la eficiencia potencial máxima del PS II apenas disminuyó, e incluso la eficiencia intrínseca del PSII se vió favorecida y la actividad de disipación de energía térmica disminuyó, contrariamente a los resultados obtenidos en un tratamiento térmico similar en musgos (Deltoro et al. 1999). Es decir, se produjo daño en el aparato no fotosintético, sin embargo, a partir de 5 °C se observó un cambio abrupto, una gran disminución en el transporte de electrones paralela al cierre de los centros de reacción del PS II, lo que permitió aumentar la eficiencia de la captura de fotones por el PS II. El frío disminuye la movilidad de la plastoquinona en las membranas del tilacoide, lo que podría ser responsable de la disminución del transporte de electrones en el invierno (Öquist y Ögren 1985). La recuperación fue rápida, siguiendo el aumento de la temperatura. Estudios previos demostraron una recuperación rápida y completa de la eficiencia del PS II a baja irradiación y temperaturas de -10 °C en musgos (Deltoro et al. 1999) y una recuperación parcial, aunque completa tras una noche, a baja irradiación y temperaturas de -4 °C en herbáceas (Somersalo y Krause 1990). Sin embargo, no hubo una recuperación completa en los 15 días siguientes al tratamiento de -4 °C en plántulas de Picea mariana (Lamontagne et al. 2000). Se ha demostrado que el aparato fotosintético de Q. ilex ballota responde rápidamente a la disminución de la temperatura y que se recupera muy

172

rápidamente del efecto del frío. Esto se confirma por el aumento de Φ_{PSII} , Φ_{exc} , y NPQ en febrero (en el que la temperatura alcanzó 10-13 °C), en comparación con los valores de estos parámetros en noviembre (en el que la temperatura diurna sólo fue 7-8 °C). Sin embargo, la no recuperación de los valores de F_v/F_m en el monte a lo largo de la mañana con el incremento de la temperatura, indica que esta rápida recuperación y respuesta al incremento de temperatura no se produce cuando existe un episodio de frío severo y prolongado (un mes consecutivo de heladas). En estudios previos ya se observó que la exposición a bajas temperaturas durante unos pocos minutos no suele causar daño y que éste es el resultado de los efectos acumulativos de las bajas temperaturas en el tiempo (Berry y Björkman 1980). La recuperación de la eficiencia fotoquímica durante la noche en el mes de heladas (enero) es improbable y las hojas fueron expuestas de nuevo a condiciones fotoinhibitorias por la mañana, por tanto, probablemente se produjo una disminución de la eficiciencia fotoquímica crónica en ese periodo.

De los resultados obtenidos se puede concluir que las hojas de *Q. ilex* sufrieron los efectos del frío y la alta luminosidad, que se reflejaron en la disminución de la actividad fotosintética y eficiencia fotoquímica. Sin embargo, la aparición de procesos de regulación a la baja permitieron la intensificación de la disipación térmica de la energía luminosa absorbida en exceso por el PS II, más que la aparición de una prolongada fotoinhibición. Los descensos en la eficiencia actual e intrínseca del PSII y en el "quenching" fotoquímico se acompañaron de la de-epoxidación de los carotenoides del ciclo de las xantofilas, es decir, la intensidad luminosa que reciben las hojas de Q. ilex ballota en invierno es defienden excesiva pero éstas se presentando una alta eficiencia en los procesos de fotoprotección. Además, la eficiencia fotosintética se recupera una vez pasado el periodo de estrés, por tanto, las hojas son resistentes al frío invernal. En general, las especies perennifolias muestran una gran tolerancia a las bajas temperaturas, protegen el aparato fotosintético durante el invierno para asegurar una capacidad fotosintética adecuada en la primavera, pero al mismo tiempo presentan una gran susceptibilidad que se refleja en el descenso de la capacidad y de la eficiencia fotosintética, es decir, presentan una estrategia a largo plazo de regulación a la baja del PS II (Huner et al. 1993, Westin et al. 1995). Q. ilex en esa estación tiene una asimilación de carbono anual más baja y por otra parte, el coste de construcción de la hoja, en términos de energía, es superior en las especies perennifolias (Merino et al. 1982), luego el periodo de retorno, o periodo en el que la inversión energética es amortizada, se acorta. Esto repercutirá en la biomasa producida y por tanto, en la competencia con otras especies y en su distribución (Tetriach 1997, Groom et al. 1991). En los climas fríos y más húmedos de la región mediterránea, en altas montañas de suelos pobres y superficiales, Q. ilex compite fuertemente con los robles deciduos de las zonas más septentrionales mediterráneas (Barberó et al. 1992). Aunque en la estación de estudio Q. ilex es la especie dominante debido a la influencia humana, es desplazada por Q. faginea, un árbol de mayor crecimiento, deciduo y tolerante al invierno, cuando esta influencia cesa y aumenta la profundidad del suelo (Allué-Andrade 1990).

BIBLIOGRAFIA

Abadía J. y Abadía A. 1993. Iron and plant pigments. In iron chelation in plants and soil microorganisms (eds L. Barton and B. Hemming), pp. 327-344. Academic Press, San Diego, CA.

Adams W.W. y 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 W.W. y Demmig-Adams B. 1995. The xanthophyll cycle and sustained thermal energy dissipation activity in *Vinca* *minor* and *Euonymus kiautschovicus* in winter. Plant, Cell and Environment 18: 117-127.

Allué Andrade J.L. 1990. Atlas Fitoclimático de España: Taxonomías. MAPA-INIA, Madrid

Barbero M., Loisel R. y Quèzel P. 1992. Biogeography, ecology and history of Mediterranean *Quercus ilex* ecosystems. Vegetatio 99-100: 19-34.

Berry J.A. y Björkman, O. 1980. Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. Annual Review of Plant Physiology 31: 491-543.

Bilger W. y Björkman O. 1990. Role of the xanthophyll cycle in photoprotection elucidated by measurements of light-induced absorbance changes, fluorescence and photosynthesis in of Hedera leaves canariensis. Photosynthesis Research 25: 173-185.

Björkman O. y 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.

Butler W.L. 1978. Energy distribution in the photochemical apparatus of photosynthesis. Annual Review of Plant Physiology 29: 345-378.

De las Rivas, J., Abadía A. y Abadía, J. 1989. A new reversed phase HPLC method resolving all major higher plant photosynthetic pigments. Plant Physiology 91: 190-192.

Deltoro VI, Calatayud A, Morales F, Abadía A. y Barreno E. 1999. Changes in net photosynthesis, chlorophyll fluorescence and xanthophyll cycle interconversions during freeze-thaw cycles in the Mediterranean moss *Leucodon sciuroides*. Oecologia 120: 499-505.

Demmig B. y Björkman O. 1987. Comparison of the effect of excessive light on chlorophyll fluorescence (77 K) and photon yield of O_2 evolution in leaves of higher plants. Planta 171: 171-184.

Demming-Adams B., Winter K., Krüger A. y Czygan F.C. 1989. Zeaxanthin and the induction and relaxation kinetics of the dissipation of excess excitation energy in leaves in 2 % O₂, 0 % CO₂. Plant Physiology 90: 887-893.

Demming-Adams B. y Adams W. W. 1992. Photoprotection and other responses of plants to high light stress. Annual Review of Plant Physiology, Plant Molecular Biology 43: 599-626.

Demming-Adams B. y Adams W. W. 1996. Xanthophyll cycle and ligt stress in nature: Uniform response to excess direct sunlight among higher plant species. Planta 198: 460-470.

Eckardt F.E., Heim G., Méthy M. y Sauvezon R. 1975. Interception de l'énergie rayonnante, échanges gazeux et croissance dans une forêt méditerranéenne à feuillage persistant (*Quercetum icilis*). Photosynthetica 9: 145-156.

Faria T., Silvério E., Breia E., Cabral R., Abadía A., Abadía J., Pereira J.S. y Chaves M.M. 1998. Physiologia Plantarum 102: 419-428.

Foyer C.H., Lelandais M. y Kunert K.J. 1994. Photooxidative stress in plants. Plant Physiology 92: 696-717.

García-Plazaola J.I., Faria T., Abadía J., Abadía A., Chaves M.M. y Pereira J.S. 1997. Seasonal changes in xanthopyll composition and photosynthesis of cork oak (Quercus suber L.) leaves under Mediterranean climate. Journal of Experimental Botany 48: 1667-1674.

García-Plazaola J.I., Artetxe U. y Becerril J.M. 1999a. Diurnal changes in antioxidant and carotenoid composition in the Mediterranean schlerophyll tree *Quercus ilex* (L) during winter. Plant Science 143: 125-133.

García-Plazaola J.I., Artetxe U., Duñabeitia M.K. y Becerril J.M. 1999b. Role of photoprotective systems of holmoak (*Quercus ilex*) in the adaptation to winter conditions. J. Plant Physiology 155: 625-630.

Genty B., Briantais JM y Baker NR. 1989. The relationship between quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. Biochimica et Biophysica Acta 990: 87-92. Gracia C.A. 1984. Response of the evergreen oak to the incident radiation at the Montseny (Barcelona, Spain). Bull. Soc. Bot. Fr., Actual. Bot. 131: 595-597.

Gratani L. 1993. Response to microclimate of morphological leaf attributes, photosynthetic and water realtions of evergreen sclerophyllous species. Photosynthetica 29: 573-582.

Gratani L. 1996. Leaf and shoot growth dynamics of *Quercus ilex* L. Acta Oecologica 17: 17-27.

Gratani L., Pesoli P. y Crescente M.F. 1998. Relationship between photosynthetic activity and chlorophyll content in an isolated *Quercus ilex* L. tree during the year. Photosynthetica 35: 445-451.

Groom Q.J., Baker N.R. y Long S.P. 1991. Photoinhibition of holly (*Ilex aquifolium*) in the field during the winter. Physiologia Plantarum 83: 585-590.

Harbison J., Genty B. y Baker N.R. 1989. Relationship between the quantum efficiencies of photosystems I and II in pea leaves. Plant Physiology 90: 1029-1034.

Huner NPA, Öquist G, Hurry VM, Krol M., Falk S. y Griffith M. 1993. Photosynthesis, photoinhibition and low temperature acclimation in cold tolerant plants. Photosynthesis Research 37: 19-39.

Krause G.H. y Weiss E. 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. Annual Review of Plant Physiology, Plant Molecular Biology 42: 313-349.

Krause G.H. 1988. Photoinhibition of photosynthesis. An evaluation of damaging and protective mechanisms. Physiologia Plantarum 74: 566-574.

Krüsmann G. 1986. Manual of cultivated broad-leaved trees and shrubs. Vol. III. Timber Press, Portland, Oregon.

Lamontagne M, Bigras FJ y Margolis HA. 2000. Chlorophyll fluorescence and CO₂ assimilation of black spruce seedlings following frost in different temperature and light conditions. Tree Physiology 20: 249-255.

Llorens L, Aranda X, Abadía A y Fleck I. 2002. Variations in Q. ilex chloroplast pigment content during summer stress: involment in photoprotection according to principal component analysis. Functional Plant Biology 29: 81-88.

Merino J., Field C. y Mooney HA. 1982. Construction and maintenance costs of mediterranean-climate evergreen and deciduous leaves. I. Growth and CO₂ exchange analysis. Oecologia 53: 208-213.

Mitrakos K. 1980. A theory for Mediterranean plant life. Acta Oecologica/Oecologia Plantarum 15: 245-252.

Oliveira G. y Peñuelas J. 2000. Comparative photochemical and phenomorphological responses to winter stress of an evergreen (*Quercus ilex* L.) and a semi-deciduous (*Cistus albidus* L.) Mediterranean woody species. Acta-Oecologica 21: 97-107

Öquist G. y Ögren E. 1985. Effects of winter stress on photosythetic electron transport and energy distribution between the two photosystems of pine as assayed by chlorophyll fluorescence kinetics. Photosynthesis Research 7: 19-30.

Öquist G., Huner N.P.A. 1993. Frost-hardening induced resistance to photoinhibition of photosynthesis in winter rye depends on an increased capacity of photosynthesis. Planta 189: 150-156.

Powles S.B. 1984. Photoinhibition of photosynthesis induced by visible light. Annual Review of Plant Physiology 35: 15-44.

Scharberg P.G., Shane J.B., Hawley G.J., Strimbeck G.R., DeHayes D.H., Cali P.F. and Donnelly J.R. 1996. Physiological changes in red spruce seedlings during a simulated winter thaw. Tree Physiology 16: 567-574.

Schöner S. y Krause H. 1990. Protective systems against active oxygen species in spinach: response to cold acclimation in excess light. Planta 180: 383-389.

Somersalo S. y Krause G.H. 1990. Photoinhibition at chilling temperatures and effects of freezing stress on cold acclimated spinach leaves in the field. A fluorescence study. Physiologia Plantarum 79: 617-622. Tretiach M., Bolognii G. y Rondi A. 1997. Photosynthetic activity of *Quercus ilex* at the extremes of a transect between mediterranean and submediterranean vegetation (Trieste, NE Italy). Flora 192: 369-378.

van Kooten O. y Snel J.F.H. 1990. The use of chlorophyll fluoreescence in plant stress physiology. Photosynthesis Research 25: 147-150.

Verhoeven A.S., Adams W.W. y Demmig-Adams B. 1996. Close relationship between the state of xanthophyll cycle pigments and photosystem II efficiency during recovery from winter stress. Phisiologia Plantarum 96: 567-576.

Westin J, Sundblad LG y Hällgren JE. 1995. Seasonal variation in photochemical activity and hardiness in clones of Norway spruce (Picea abies). Tree Physiology 15: 685-689.

Wong S.C., Cowan I..R y Farquhar G.D. 1979. Stomatal conductance correlates with photosynthetic capacity. Nature 282: 424-426.

Young A.J. Phillip D. y Savill J. 1997. Carotenoids in higher plant photosynthesis. In: Pessaraki M (ed): Handbook of Photosynthesis, pp.: 575-596. Marcel Dekker Inc., New York.

CAPITULO 7. Cambios estacionales en la asimilación de CO₂, fluorescencia de clorofila, composición de pigmentos fotosintéticos y actividad enzimática de antioxidantes en *Quercus ilex* ssp. *ballota* en condiciones de alta irradiación solar

CAPITULO 7

CAMBIOS ESTACIONALES EN LA ASIMILACION DE CO₂, FLUORESCENCIA DE CLOROFILA, COMPOSICION DE PIGMENTOS FOTOSINTETICOS Y ACTIVIDAD ENZIMATICA DE ANTIOXIDANTES DE *Quercus ilex* ssp. *ballota* EN CONDICIONES DE ALTA IRRADIACION SOLAR

RESUMEN

Se estudió el efecto del estrés invernal y estival en el aparato fotosintético de la especie perennifolia mediterránea, Quercus ilex ssp ballota, en un monte de clima mediterráneo continental. Durante el año de estudio los árboles no experimentaron estrés hídrico y mostraron una mayor sensibilidad al frío que a las altas temperaturas del verano. La asimilación neta de CO₂ y la eficiencia del fotosistema II mostraron un descenso más acusado en los meses fríos y una recuperación completa en primavera. La disipación de energía en forma de calor o "quenching" no fotoquímico estuvo asociada a las formas deepoxidadas del ciclo de las xantofilas en los meses cálidos. La deepoxidación de violaxantina hacia zeaxantina y anteraxantina con el transcurso del día, tuvo lugar durante todo el año indicando la existencia de un proceso de regulación a la baja de la fotosíntesis. Los pigmentos luteína, neoxantina y β -caroteno siguieron la misma evolución a lo largo del año, con una tendencia a aumentar en los meses fríos. La actividad de la glutatión reductasa aumentó en los meses desfavorables y fue de 30 a 90 veces superior a la de la guayacol peroxidasa y la ascorbato peroxidasa, respectivamente, indicando su papel principal en la fotoprotección ante los procesos de fotooxidación. La relación carotenoides / clorofila total aumentó en invierno, y con ella la capacidad de las hojas para evitar los procesos de fotooxidación. La cantidad de clorofila total por área foliar se mantuvo estable, siendo incluso superior al final del primer año de vida de las hojas. El descenso de la tasa fotosintética y de la eficiencia fotoquímica de Q. ilex ballota durante los meses desfavorables del invierno y verano estuvo acompañado de procesos de disipación del exceso de energía luminosa que evitaron daños permanentes en el fotosistema II y permitieron una capacidad fotosintética en hojas de un año tan alta como en las hojas jóvenes recién formadas.

INTRODUCCION

Las especies de hoja perenne se encuentran expuestas a bajas temperaturas en invierno y a altas temperaturas en verano. Las temperaturas extremas en combinación intensidades con altas luminosas pueden causar estrés en el aparato fotosintético (Adams et al. 1994). En condiciones ambientales estresantes la absorción de energía luminosa puede ser superior a la necesitada para la fijación de carbono. Cuando la fotosíntesis disminuye, la luz absorbida que no es empleada en este proceso debe ser disipada para evitar daño en los cloroplastos debido a la producción de especies activas de oxígeno (Huner et al. 1993). Existen varios procesos que permiten la protección del aparato fotosintético. La disminución de la eficiencia fotoquímica en la conversión de luminosa disminuye la energía la producción de formas de oxígeno activo (Demmig-Adams y Adams 1992). Este proceso se encuentra relacionado con la acumulación de las formas de-epoxidadas del ciclo de las xantofilas, anteraxantina y zeaxantina, que intervienen en la disipación térmica de la energía no empleada en la fotosíntesis - "quenching" no fotoquímico-(Adams et al. 1994). Por otra parte, se produce una detoxificación directa de las formas de oxígeno activo mediante enzimas antioxidantes como superoxido dismutasa (SOD), ascorbato peroxidasa (APX),

glutatión reductasa (GR) y guayacol peroxidasa (GPX). SOD, APX y GR catalizan la descomposición de O_2^- y H_2O_2 (McCord y Fridovich 1969; Groden y Beck 1979; Foyer *et al.* 1994). Una de las respuestas de las plantas al estrés es el incremento en la actividad de enzimas antioxidantes en la planta (Tausz *et al.* 2001).

Quercus ilex ssp ballota (Desf.) Samp. es una especie esclerófila dominante vegetación mediterránea. en la Su expansión se encuentra limitada por el estrés hídrico estival y por las temperaturas mínimas del mes más frío (Mitrakos 1980). En el Mediterráneo, la alta irradiación y las temperaturas alcanzadas en verano pueden producir fotoinhibición en la vegetación (Demmig-Adams y Adams 1992). Al mediodía, el cierre de estomas reduce la conductancia estomática y la fijación de CO₂ y se absorbe más luz de la que puede empleada en las reacciones ser fotoquímicas (Tenhunen et al. 1981). En invierno, las bajas temperaturas disminuyen la actividad enzimática y la capacidad fotosintética, y la cantidad de luz necesaria para saturar esta capacidad es menor (Berry y Björkman 1980). Ambas circunstancias pueden dañar la hoja, reduciendo su vida útil.

En este trabajo se caracterizó la variación estacional de la asimilación neta de CO₂, eficiencia del fotosistema II (PS

II), composición de pigmentos fotosintéticos V actividad enzimática antioxidante en hojas de Q. ilex, sometidas a estrés lumínico y térmico, durante el primer año de vida (2000-2001). Dado que la hoja envejece desde que alcanza el desarrollo completo hasta tres años, es interesante conocer hasta qué punto se mantiene la actividad fotosintética en las épocas desfavorables (invierno y verano) y si al final del primer año ésta se encuentra al mismo nivel que al comienzo, en hojas completamente desarrolladas. En trabajos previos se ha estudiado el efecto del invierno v del verano en el aparato fotosintético de Q. ilex climas en mediterráneos suaves (Gratani 1993; 1996; 1998; Faria et al. 1998; García-Plazaola et al. 1999a, 1999b; Oliveira 2000). Este trabajo se llevó a cabo en una zona mediterránea muy continental, que permitió confirmar si el crecimiento de las esclerófilas perennifolias se encuentra afectado por los dos estreses climáticos propuestos por Mitrakos (1980), el estrés hídrico estival y el estrés por frío invernal.

MATERIAL Y METODOS

Lugar de estudio

El trabajo se llevó a cabo en un monte bajo dominado por *Q. ilex* ssp. *ballota* en la Sierra de Santa Cruz-Cubel, Zaragoza, NE de España (1º 39' W, 41º 07' N, 1177 m s.n.m.). Los datos de temperatura se obtuvieron de la estación meteorológica Cubel-Casas Altas situada aproximadamente a 2 Km del lugar (1° 38' W, 41° 06' N, 1108 m s.n.m.). La temperatura media anual es 11,3 °C. La precipitación media anual es 474 mm, con máximos en primavera y otoño. En la zona de estudio el periodo de seguía en verano dura alrededor de 2 meses, desde final de junio a principios de septiembre. E1 fitoclima del área estudiada corresponde al de bosque transicional entre nemoral a nemoro-mediterráneo con tendencia a la esclerofilia, con una clara influencia continental (Allué Andrade 1990). El monte estudiado se sitúa sobre suelos muy pobres desarrollados sobre afloraciones de caliza Terciaria.

Fluorescencia de clorofila, medidas de intercambio gaseoso y potencial hídrico.

Las medidas se tomaron durante el periodo vegetativo sobre hojas nuevas, completamente desarrolladas. Se abarcaron los meses más cálidos y los más fríos del año para comprobar el efecto de la temperatura en el aparato fotosintético y su posible recuperación, desde Julio del 2000 hasta Mayo del 2001: 13 de julio, 19 de octubre, 24 de noviembre, 9 de enero, 1 de febrero, 20 de marzo y 24 de mayo. La diferentes horas: antes del amanecer, 8 y 12 horas solares, con un fluorímetro modulado portátil PAM 2000 (Heinz Walz, Effeltrich, Alemania). Los datos se tomaron en el campo sobre hojas del año en curso unidas a la planta e iluminadas por el sol. El protocolo experimental fue prácticamente el mismo descrito por Genty et al. (1989). Se envolvieron con papel de aluminio cinco hojas, se cubrieron con un trapo negro y se mantuvieron en la oscuridad durante 30 min antes de la estimación de la fluorescencia máxima en la oscuridad (F_m). Se emplearon las mismas hojas en las siguientes medidas de fluorescencia. Fo se midió encendiendo la luz modulada a 0.6 kHz. F_m y F_m' se midieron a 20 kHz con un pulso de 6000 μ mol fotones m⁻² s⁻¹ de luz blanca durante 1 s. F_o y F_o' se midieron en presencia de luz rojo lejano (7 µmol fotones m⁻² s⁻¹) para oxidar completamente el lado aceptor del PS II. La eficiencia actual del PS II (Φ_{PSII}) y la eficiencia intrínseca del PS II ($\Phi_{exc.}$) se calcularon como (Fm' - Fs)/Fm' y (Fv'/Fm'), respectivamente (Harbison et al. 1989). El "quenching" fotoquímico (q_P) se estimó como $(F_m' - F_s)/F_v'$ (van Kooten y Snel, 1990). El "quenching" no fotoquímico (NPQ) se calculó como (F_m- F_m')-1, según Bilger y Björkman (1990). Ver Anexo IV para la descripción de los parámetros indicadores intensidad de la de la

fluorescencia y los parámetros "quenching" de la fluorescencia.

empleó Se un analizador de intercambio (CIRAS-1, PPgaseoso Systems, Herts, Reino Unido) para medir la fotosíntesis neta (A, μ mol CO₂ m⁻² s⁻¹), conductancia estomática al vapor de agua m^{-2} s^{-1}), mmol radiación $(g_s,$ fotosintéticamente activa (PAR, µmol H2O m^{-2} s⁻¹), y temperatura de la hoja (T, °C). Las mediciones se realizaron in situ, en condiciones naturales, a las 8, 10 y 12 h solares. Todas se realizaron sobre hojas de la parte más externa de la copa, en exposición Sur. En cada ocasión se 5 escogieron hojas por arbol, completamente expuestas al sol, y 3 árboles.

Se midió el potencial hídrico antes del amanecer como indicador del estado hídrico del suelo mediante una cámara de presión tipo Scholander. Se seleccionaron 5 brotes de la zona más exterior de la copa de 5 árboles que se envolvieron en una película plástica, se cortaron con tijeras de podar y se midieron inmediatamente después.

Análisis de pigmentos fotosintéticos y enzimas antioxidantes.

Para comprobar el efecto de las bajas temperaturas en la composición de pigmentos fotosintéticos, clorofilas y carotenoides, y en la actividad de los enzimas antioxidantes, se tomaron medidas (sobre hojas completamente desarrolladas) desde julio de 2000 hasta mayo de 2001 (13 de julio, 20 de septiembre, 19 de octubre, 24 de noviembre, 9 de enero, 1 de febrero, 20 de marzo y 24 de mayo). El material para el análisis se obtuvo a partir de hojas del año en curso, iluminadas completamente por el sol, en el monte. Los discos de hojas se tomaron de 9 hojas a diferentes horas: antes del amanecer, 10 y 12 horas solares. Los pigmentos de las 12 horas solares se tomaron de las mismas hojas en las que se midió la fluorescencia modulada de clorofila. Los discos se cortaron con un sacabocados calibrado, se envolvieron en papel de aluminio, se introdujeron en nitrógeno líquido y se almacenaron a -80 °C. Se pusieron unos pocos cm³ de acetona en un mortero y se añadió una pizca de ascorbato sódico. El disco de hoja congelado se introdujo en el mortero y se molió. Posteriormente se filtró a través de un filtro de 5 µm para eliminar los restos vegetales y el exceso de ascorbato. La mezcla se vertió en un erlenmeyer y se añadió acetona hasta que se obtuvo el volumen deseado. Se emplearon ratios de aproximadamente 1-2 cm² de tejido para 5 cm³ de acetona (Abadía y Abadía 1993). Los extractos del pigmento se almacenaron a -80 °C hasta el análisis. Se descongelaron sobre hielo, filtraron a través de un filtro de $0,45 \ \mu m$ y se analizaron por el método de HPLC descrito en trabajos anteriores (De las Rivas *et al.* 1989).

Para la determinación de la actividad de los enzimas antioxidantes se tomaron tres muestras de hojas de tres encinas, que se envolvieron en papel de aluminio y se congelaron en nitrógeno líquido y almacenaron a -80 °C. La extracción de enzimas antioxidantes se realizó en 10 ml de un tampón fosfato 100 mM (pH 7,0), 0,1 mM EDTA y 100 mg de PVPP en porciones foliares de 500 mg de peso fresco (sin nervio central). Las extracciones se realizaron a 5 °C. El homogeneizado se filtró a través de cuatro capas de gasa y se centrifugó a 38.000 g durante 10 min. Seguidamente se separó el sobrenadante y se usó para medir las enzimas antioxidantes. La actividad superóxido dismutasa (SOD; EC1.15.1.1) se midió según se describe en Becana et al. (1986), donde la unidad de SOD se define como la cantidad de enzima que produce una inhibición del 50 % en la reducción del NBT (Nitro Blue Tetrazolium) (Beauchamp y Fridovich 1971). La Mn SOD es resistente al KCN y al H₂O₂, la Fe SOD es resistente al KCN y sensible al H₂O₂ y la CuZn SOD es sensible a ambos compuestos (Asada et al. 1975). Para diferenciar los tres tipos de SOD las medidas se realizaron en presencia de 5 mM de KCN y H₂O₂ en extractos incubados en presencia de 5 mM de KCN y 5 mM H₂O₂ durante 30 min a 4 °C, midiéndose la actividad de estos extractos en presencia de las mismas concentraciones de KCN y H2O2. La actividad de la ascorbato peroxidasa (APX, EC 1.11.1.11) se cuantificó según el método de Nakano y Asada (1981) con algunas modificaciones. El medio de reacción se compuso de 2 ml de tampón fosfato 80 mM (pH 7,0), que contenía 1,0 mM de ascorbato y 0,5 mM de H₂O₂. La oxidación del ascorbato se midió mediante el descenso de la absorbancia a 290 nm durante 3 min y medio después de añadir 200 µl de extracto. La actividad glutatión reductasa (GR; EC 1.6.4.2) se midió según el método de Schaedle y Bassham (1977) con algunas modificaciones. El medio de reacción consistió en 2 ml de tampón Tris-HCl (pH 7,5), que contenía 0,15 mM de NADPH, 0,5 mM de glutatión oxidado (GSSG) y 3 mM de MgCl₂. La oxidación del NADPH se midió a 340 nm durante 4 min después de añadir 400 µl de extracto. La actividad guayacol peroxidasa (GPX; EC 1.11.1.7) se midió según el método de Pütter (1974) con algunas modificaciones. El medio de reacción consistió en 2 ml de un tampón fosfato 100 mM (pH 7,0), 0,1 mM EDTA que contenía 20 mM de guayacol y 10 mM de H_2O_2 . La oxidación del guayacol se midió a 436 nm durante 3 min y 15 s después de añadir 400 µl de extracto. La proteína soluble total se estimó mediante el método de Bradford (1976).

RESULTADOS Climatología

El año de crecimiento estudiado (2000/2001) fue más seco y presentó una temperatura media mínima V una temperatura media máxima superiores a las de un año medio (P<0,001, test de Student, n=20 años). Los meses más extremos en cuanto a temperaturas mínimas y máximas alcanzadas fueron febrero y agosto, respectivamente. En el periodo estudiado la temperatura mínima osciló entre -5,6 °C en febrero de 2000 y 18 °C en agosto de 2000 (Fig. 1A) y la máxima entre 4,5 °C en febrero de 2000 y 36,5 °C en agosto de 2000 (Fig. 1B). Febrero fue el mes más frío, con 13 días de helada. La radiación fotosintéticamente activa (PAR) a nivel de la superficie foliar osciló entre 1400 y 2000 μ mol m⁻² s⁻¹ en invierno y verano, respectivamente (Fig. 2D). El potencial hídrico antes del amanecer fue superior a – 1,0 MPa durante todo el periodo estudiado (Fig. 2E), por tanto, se considera que los árboles estudiado del monte no experimentaron estrés hídrico.





Cambios estacionales de intercambio gaseoso.

El intercambio gaseoso, la asimilación neta de CO_2 (A) y la conductancia estomática (g_s) (Fig. 2A y 2B), siguieron la misma tendencia. A y g_s alcanzaron valores máximos en primavera y otoño (9-12 µmol m⁻² s⁻¹ y cerca de 250 mmol m⁻² s⁻¹, respectivamente) y valores mínimos durante el invierno (por debajo de

0 μ mol m⁻² s⁻¹ y 0-30 mmol m⁻² s⁻¹, respectivamente). La temperatura foliar (T) (Fig. 2C) se correlacionó con los valores de A y g_s excepto en el mes de noviembre de 2000 y en mayo de 2001. En noviembre la temperatura se mantuvo tan baja como en invierno y sin embargo los valores de A y g_s fueron bastante más altos. En mayo de 2001 g_s fue inferior a marzo, mostrando un descenso acusado con el transcurso del día. A aumentó con respecto a marzo a primeras horas de la mañana pero disminuyó a media mañana y a mediodía, probablemente debido a las altas temperaturas y al alto déficit de presión de vapor entre las hojas y el aire.



Figura 2. Evolución temporal de la fotosíntesis neta (A) (A), conductancia estomática al vapor de agua (g_s) (B), temperatura foliar (T) (C), radiación fotosintéticamente activa (PAR) (D) y potencial hídrico antes del amanecer (Ψ_{pd}) (E), registrados el 13 de julio, 19 de octubre, 24 de noviembre, 9 de enero, 1 de febrero, 20 de marzo y 24 de mayo. Las medidas se tomaron a las 8 horas solares (triángulos negros), 10 horas solares (círculos negros) y 12 horas solares (círculos blancos), en tres árboles y cinco hojas por árbol, unidas a éste y expuestas al sol. Las barras verticales indican los errores estandar.

Cambios estacionales en la fluorescencia de clorofila.

La eficiencia potencial máxima del PS II o relación entre la fluorescencia variable y la fluorescencia máxima (F_v/F_m) , eficiencia actual del PS II (transporte de electrones del PS II, Φ_{PSII}), eficiencia intrínseca del PS II (eficiencia de captura de fotones del PS II, Φ_{exc}) y la proporción de centros de reacción abiertos del PS II, estimados por el "quenching" fotoquímico (q_P), siguieron la misma tendencia (Fig. 3A-D). Todos ellos alcanzaron valores mínimos en los meses de temperaturas extremas, meses fríos de otoño (noviembre), invierno y verano, y máximos en los meses de temperaturas óptimas, meses suaves de otoño (octubre) y primavera. Se puede emplear el valor más bajo del rango de $F_{\nu}\!/F_{m}$ de plantas sanas adaptadas a la oscuridad como el umbral de recuperación de las bajas temperaturas, $F_v/F_m = 0,75-0,85$ (Björkman y Demmig, 1987) (línea de puntos, Fig. 3A). La F_v/F_m disminuyó en los meses más fríos del año (valores alrededor de 0,55), en julio alcanza se alcanzaron valores cercanos a 0,8 por la mañana temprano, a media mañana y al mediodía se observó un descenso muy acusado (0,65), probablemente debido las altas a temperaturas; en primavera se recuperó, sobre todo al mediodía que supera 0,75 (Fig. 3A). Φ_{PSII} fue mínima en los meses de

fríos y al mediodía en el verano (valores alrededor de 0,1) y se recupera en la primavera y octubre (valores entre 0,2 y 0,35; Fig. 3B). Φ_{exc} es máxima en primavera y octubre (0,4-0,5) y mínima en verano e invierno, con diferencias más acusadas al mediodía (0,24-0,29; Fig. 3C). q_P fue máximo en octubre y primavera (entre 0,6 y 0,7) y mínima en los meses fríos (entre 0,2 y 0,3) (Fig. 3D). El nivel de actividad de disipación térmica de energía o "quenching" no fotoquímico (NPQ) alcanzado al mediodía permaneció estable (1,6-1,8) excepto en julio y mayo, que aumentó (valores superiores a 3 y 4 respectivamente; Fig. 3E); a primera hora de la mañana no se obtuvieron grandes diferencias.

Actividades de enzimas antioxidantes y composición de pigmentos fotosintéticos.

Se siguió la evolución de los cambios estacionales en la composición de los pigmentos fotosintéticos de hojas expuestas al sol, durante un año completo. Se comenzó con las hojas nuevas pero completamente desarrolladas en julio, finalizando con las hojas de 12 meses de edad en mayo. Las concentraciones de los pigmentos en base a la concentración de clorofila siguieron la misma tendencia que en base al área foliar (datos no mostrados).



Figura 3. Evolución temporal de la eficiencia potencial máxima del PS II (F_v/F_m) (**A**), eficiencia actual del PSII (Φ_{PSII}) (**B**), eficiencia intrínseca del PSII ($\Phi_{exc.}$) (**C**), "quenching" fotoquímico (q_P) (**D**) y "quenching" no fotoquímico (NPQ) (**E**), registrados el 13 de julio, 19 de octubre, 24 de noviembre, 9 de enero, 1 de febrero, 20 de marzo y 24 de mayo. Las medidas se tomaron antes del amanecer (triángulos negros), a las 8 horas solares (círculos negros) y 12 horas solares (círculos blancos), en cinco hojas por árbol, unidas a éste y expuestas al sol. La línea de puntos de la figura A representa el valor de $F_v/F_m = 0.75$ (hojas sanas). Las barras verticales indican los errores estandar.



Figura 4 Evolución temporal de los carotenoides luteína (A), neoxantina **(B)** y βcaroteno (C), medidos el de julio, 20 13 de septiembre, 19 de octubre, 24 de noviembre, 9 de enero, 1 de febrero, 20 de marzo y 24 de mayo. Todos los pigmentos están expresados en mmol de pigmento por mol de clorofila total. Las medidas se tomaron antes del amanecer (triángulos negros), a las 8 horas solares (círculos negros) y 12 horas solares (círculos blancos), en cinco hojas por árbol, unidas a éste y expuestas al sol. Las barras verticales indican los errores estandar.

Las concentraciones de luteína, neoxantina y β -caroteno siguieron la misma evolución, aumentaron gradualmente desde septiembre hasta marzo y disminuyeron en mayo; en general su concentración aumentó a lo largo de la mañana (Fig. 4A, 4B, 4C). Durante todo el año, la proporción de las xantofilas de-epoxidadas del ciclo VAZ (AZ/VAZ), así como la concentración de anteraxantina y zeaxantina fueron inferiores y la concentración de violaxantina fue superior antes del amanecer que a primeras horas de la mañana y al mediodía, excepto en enero que fue similar a lo largo de la mañana (Fig. 5A-D). Esto implica que la conversión de violaxantina hacia anteraxantina y zeaxantina tuvo lugar a lo largo de la mañana. Violaxantina y anteraxantina evolucionaron de forma aunque parecida en el tiempo, las concentraciones de violaxantina fueron superiores a las de anteraxantina. En ambos casos hubo una tendencia a aumentar a lo largo del año, disminuyendo en mayo. Hubo una gran diferencia entre la concentración de zeaxantina obtenida antes del amanecer y la obtenida al mediodía. Las figuras 6A y 6B muestran la evolución de la clorofila a y b (Chl a y Chl b),

respectivamente. La Chl a aumentó y alcanzó un máximo en mayo y la Chl b se mantuvo a lo largo del año. La relación Chl a/Chl b aumentó progresivamente y fue máxima en mayo (Fig. 6C).



Figura 5.

Evolución temporal de los carotenoides del ciclo de las xantofilas, violaxantina (V) (A), antheraxantina (A) **(B)** V zeaxantina (Z) (C), y el ratio AZ/VAZ (D), medidos el 13 de julio, 20 de septiembre, 19 de octubre, 24 de 9 noviembre, de enero, 1 de febrero, 20 de marzo y 24 de mayo. Todos los pigmentos están expresados en

mmol de pigmento por mol de clorofila total. Las medidas se tomaron antes del amanecer (triángulos negros), a las 8 horas solares (círculos negros) y 12 horas solares (círculos blancos), en cinco hojas por árbol, unidas a éste y expuestas al sol. Las barras verticales indican los errores estandar. La actividad de la glutatión reductasa (GR) aumentó en los meses de verano e invierno y final de mayo, y sin embargo, las actividades de la guayacol peroxidasa (GPX) y ascorbato peroxidasa (APX) no respondieron a los estreses del invierno y verano, y la superoxido dismutasa (SOD) solo respondió al estrés invernal. La actividad de la glutatión reductasa (GR) fue 30 y 90 veces superior que la guayacol peroxidasa (GPX) y la ascorbato peroxidasa (APX), respectivamente (Fig. 7A-D). SOD y GPX mostraron una tendencia a incrementar su actividad a lo largo del año y una relación positiva ($R^2 = 0.74$, p < 0.05). APX y SOD mostraron una relación inversa aunque no significativa ($R^2 = 0.64$, p = 0.08).



Figura 6. Evolución temporal de la clorofila a (Chl a) (A), clorofila b (Chl b) (B) y relación Chl a/Chl b (C), medidas el 13 de julio, 20 de septiembre, 19 de octubre, 24 de noviembre, 9 de enero, 1 de febrero, 20 de marzo y 24 de mayo. Todos los pigmentos están expresados en µmol m^{-2} . Las medidas se tomaron antes del amanecer (triángulos negros), a las 8 horas solares (círculos negros) y 12 horas solares (círculos blancos), en cinco hojas por árbol, unidas a éste y expuestas al sol. Las barras verticales indican los errores estandar.



Figura 7. Evolución temporal de la actividad de los enzimas antioxidantes, superóxido dismutasa (SOD) (A), glutatión reductasa (GR) (B), ascorbato peroxidasa (APX) (C) y guayacol peroxidasa (GPX) (D). Las medidas se tomaron el 13 de julio, 20 de septiembre, 19 de octubre, 24 de noviembre, 9 de enero, 1 de febrero, 20 de marzo y 24 de mayo y están expresadas en base al peso fresco de la muestra. Las barras verticales indican los errores estándar.

DISCUSION

Los valores obtenidos de fotosíntesis neta y conductancia estomática en el invierno y en la primavera fueron similares a los observados el año anterior (Corcuera *et al.* en proceso). En mayo, en ambos estudios se observó un gran descenso de la conductancia estomática a media mañana, que se mantuvo a mediodía. Tanto la capacidad de asimilación de CO_2 como la eficiencia del PS II mostraron un descenso acusado en los meses fríos y una recuperación completa en primavera. No existieron diferencias en ambos parámetros entre hojas nuevas completamente desarrolladas y de un año de edad. Fleck *et al.* (1998) tampoco encontraron diferencias en dichos parámetros en las plantas control. Por tanto, las hojas de Q. ilex ballota conservan su aparato fotosintético en buen estado al final del primer año de vida. La conductancia estomática en verano fue similar a la observada por Acherar y Rambal (1992), Fleck et al. (1998, 2000) y bastante superior a la de Faria et al. (1998). En el verano, la reducción de la fotosíntesis neta a lo largo de la mañana en Q. ilex fue previamente constada por Tetriach (1993) y Fleck et al. (1998). Esta reducción fue debida posiblemente a la disminución de la conductancia estomática y de la eficiencia del PS II causadas por la combinación de altas temperaturas e irradiación (Ishida et al. 1999). La asimilación neta de CO₂ en verano es similar a la observada por Faria et al. (1998), Fleck et al. (1998, 2000). En invierno, se alcanzaron valores mínimos de fotosíntesis neta y conductancia estomática, como en trabajos precedentes (Tretiach et al. 1997; Corcuera et al., en proceso). A y g_s presentaron la misma tendencia a lo largo del año. La alta relación entre ambos parámetros ha sido demostrada previamente en Q. ilex por (Gratani 1996) y en otras especies por Field y Mooney (1983). Al final del año, las dos variables se recuperaron y alcanzaron valores similares a los obtenidos en hojas recién formadas, por tanto, en este monte la fijación de CO₂ se encuentra más limitada por factores externos que por la edad de la hoja. La recuperación de la asimilación neta de CO₂ tras el invierno en Q. ilex fue observada por Tetriach (1993). La capacidad fotosintética disminuye con la edad foliar de forma paralela al descenso en el contenido de nitrógeno y conductancia estomática y, en general, este descenso es más lento en las hojas de vida más larga (Field y Mooney 1983). Aunque, por otra parte, las especies hoja perenne presentan de tasas fotosintéticas más bajas que las de hoja caduca (Larcher 1969). En climas de inviernos severos el balance de carbón es negativo y en verano las altas temperaturas y la seguía también limitan la fotosíntesis. Sin embargo, este tipo de hojas fotosintetizan durante un periodo más largo que puede compensar las bajas tasas de fotosíntesis y que les permite comenzar a fotosintetizar a principios de la primavera antes de que las condiciones sean adecuadas para el crecimiento de las hojas, o en las estaciones desfavorables cuando el tiempo es benigno. La gran plasticidad de Q. ilex en respuesta al clima (Gratani 1996) le permite reducir los efectos del invierno, verano y de la gran variabilidad en la precipitación del clima mediterráneo sobre la producción de biomasa. Desde el punto de vista evolutivo, el carácter perennifolio compensa las menores tasas fotosintéticas en medioambientes limitantes como el Los medioambientes mediterráneo. estresantes podrían haber limitado la evolución de altas capacidades fotosintéticas, ya que estas no serían eficientemente empleadas y sería una inversión malgastada (Chabot y Hicks 1982). Por otra parte, los suelos pobres en nutrientes de la cuenca mediterránea pueden también restringir la fotosíntesis de una forma directa. La recuperación de la asimilación de CO₂ tras episodios de frío se ha observado en otros estudios con Q. ilex (Gratani 1996, Gratani et al. 1998; Corcuera et al. en proceso), coníferas (Lamontagne et al. 2000; Westin et al. 1995) y herbáceas (Huner et al. 1993). Esta especie presenta la mayor tolerancia a la congelación entre las especies mediterráneas (Sakai y Larcher 1987); su fotosíntesis neta y conductancia estomática aumentan hasta un óptimo que se alcanza a los 25 °C y disminuyen por encima de los 30 °C y por debajo de los 17 °C (Gratani 1996).

Los cambios en la relación F_v/F_m reflejan cambios en la eficiencia potencial máxima con la que los fotones absorbidos son transferidos a los centros abiertos del PS II. En el mes más cálido la eficiencia potencial máxima del PS II antes del amanecer mostraba valores propios de plantas sanas no estresadas, pero sufrió un gran descenso a lo largo de la mañana debido a la combinación de alta temperatura e irradiación solar. Faria *et al.* (1998) también observaron este descenso y lo atribuyeron al exceso de luz interceptada cuando la asimilación de carbono se encuentra limitada por el cierre de estomas. Por el contrario, Fleck et al. (1998) encontraron solamente un ligero descenso de F_v/F_m al mediodía. La recuperación nocturna de la relación F_v/F_m en el verano indica que el descenso en la eficiencia potencial máxima del PS II durante el día actúa regulando a la baja el transporte de electrones y manteniendo un balance entre el flujo de fotones absorbido y el empleado para la fotosíntesis (Epron et al. 1992). Sin embargo, en los meses de temperaturas templadas como marzo y mayo, la F_v/F_m aumentó con la temperatura diurna. En invierno la F_v/F_m alcanzó valores mínimos, inferiores a los de Oliveira y Peñuelas (2000), también encontrados en otras perennifolias de hoja ancha y estrecha (Groom et al. 1991; Huner et al. 1993). El descenso en la fluorescencia estudiado por Methy y Trabaud (1993) también fue máximo en invierno. Estos valores mínimos de F_v/F_m no se recuperaron en el transcurso del día pero sí con el aumento de la temperatura en primavera, también observado el año anterior (Corcuera et al. en proceso) y en estudios realizados con coníferas (Westin et al. 1995). La eficiencia potencial máxima del PS II en invierno antes del amanecer fue incluso más baja que la obtenida al mediodía en verano a plena luz solar, indicando una mayor sensibilidad al estrés por frío que al causado por las altas temperaturas en esta especie mediterránea. Además, la asimilación neta de CO₂ y conductancia estomática también sufrieron un descenso mayor en invierno, igualmente observado por Gratani (1996). Los efectos más suaves del verano en el aparato fotosintético de la encina podrían atribuirse a la falta de contribución del estrés hídrico durante el año estudiado. El descenso en la eficiencia potencial máxima fue reversible, como se puede observar en la recuperación de mayo, indicando la existencia de una regulación a la baja de la fotosíntesis más que un proceso de fotoinhibición (Huner et al. 1993). La eficiencia actual del PS II en verano fue similar a la observada por Fleck et al. (1998) e inferior a la de Fleck et al. (2000). El descenso de este parámetro al mediodía en el mes de julio, acompañado del descenso en la eficiencia intrínseca del PS II y del "quenching" fotoquímico y del aumento en el "quenching" no fotoquímico indica un descenso en la fracción de energía luminosa absorbida que es empleada en las reacciones fotoquímicas y la aparición de mecanismos de fotoprotección frente al exceso de energía luminosa (Genty et al. 1989). La regulación a la baja del transporte de electrones en combinación con el aumento del "quenching" no fotoquímico en Q. ilex fue previamente observado por Fleck et al. (1998). A lo largo del año los

cambios en la fluorescencia máxima y actual del PS II fueron paralelos a los del "quenching" fotoquímico, contribuyendo a la regulación a la baja de la eficiencia del PS II. Cuando los centros del PS II se cierran, el primer aceptor de electrones, la quinona -Q_A-, permanece en estado reducido bloqueando el transporte de electrones hacia el PS I. La disipación de la energía en forma de calor (NPQ) permite mantener un mayor número de centros abiertos pero cuando los estomas se cierran, los procesos alternativos de transporte de electrones no pueden sustituir por completo la falta de CO₂ aumentando el estado reducido del PS II (Niinemets y Kull 2001). Las hojas expuestas a una intensidad de luz superior a la que es empleada en el transporte de electrones fotosintético, disipan el exceso de energía a través del "quenching" no fotoquímico (Demmig-Adams et al. 1989). El aumento de este parámetro implica un incremento en la desexcitación térmica del PS I, relacionado con la disminución de la asimilación de CO₂ (Epron y Dreyer 1992). La relación entre NPQ y las formas de-epoxidadas del ciclo de las xantofilas que intervienen en la disipación del exceso de energía en forma de calor ha sido observado por muchos autores (Adams et al. 1994; Demmig-Adams y Adams 1996; García Plazaola et al. 1997; Verhoeven et al. 1997; Fleck et al. 1998, 2000). En nuestro estudio no hubo

correlación entre NPQ y el ratio AZ/VAZ a lo largo del año ($R^2 = 0.08$, p = 0.33), sin embargo, cuando consideramos los valores de los meses más cálidos (julio y mayo) la correlación es muy alta ($R^2 = 0.96$, p < 0.05). Esto se observa en las gráficas de NPO v AZ/VAZ (Fig. 3E y 4D). El ratio AZ/VAZ se incrementa a lo largo de la mañana y se mantiene alto durante todo el año y sin embargo con NPQ sólo ocurre en los meses más cálidos. Tampoco se observó una correlación entre el NPQ y el contenido de A y Z en el mes de enero en *Quercus suber* (García Plazaola et al. 1997). Los valores de NPQ en verano fueron similares a los observados por Fleck et al. (1998) en hojas recién formadas pero 4 veces superiores en hojas de un año. En invierno, la tasa de asimilación neta de CO2 alcanzó valores mínimos, incluso negativos, y estuvo acompañada de una disminución del "quenching" fotoquímico y de la eficiencia máxima, actual e intrínseca del PS II pero no con un aumento de disipación térmica de energía. En tales condiciones el transporte de electrones debe seguir rutas alternativas a la fijación de CO₂.

El proceso de disipación térmica de la energía antes de que llegue a los centros de reacción va asociado a la presencia de las formas de-epoxidadas, zeaxantina y anteraxantina, del ciclo de las xantofilas, las cuales se acumulan en los complejos de antena del PS I y PS II en condiciones de estrés lumínico (Demmig-Adams et al. 1996). A lo largo del año, la relación AZ/VAZ antes del amanecer se mantuvo pero la de-epoxidación baja hasta anteraxantina y zeaxantina ocurrió a lo largo de la mañana indicando la existencia de un proceso de regulación a la baja de la fotosíntesis (Adams y Demmig-Adams 1995). Este hecho fue observado también en Q. suber por García-Plazaola et al. hubo (1997). No diferencias entre estaciones favorables y desfavorables para la fotosíntesis en la relación AZ/VAZ. En hojas que experimentan alta iluminación y bajas temperaturas, la eficiencia del PS II es regulada a la baja mediante la disipación de energía mediada por el ciclo de las xantofilas (Adams et al. 1994). Estos mecanismos fotoprotectores de Q. ilex también actúan en verano (Fleck et al. 2000). En julio los cambios en el ratio AZ/VAZ se correlacionaron inversamente con los cambios en la eficiencia del PS II, dicha correlación aunque no fue significativa ($R^2 = 0.88$; p = 0.32). Por tanto, la disminución en la eficiencia del PS II puede estar asociada a la disipación de energía procedente del ciclo de las xantofilas más que a un daño del aparato fotosintético (Verhoeven et al. 1996; Adams y Demmig-Adams 1994). En especies perennes de hoja ancha se han observado mayores incrementos de los carotenoides del ciclo de las xantofilas en el

invierno que en el verano (Oberhuber y Bauer 1991). A bajas temperaturas los enzimas antioxidantes actúan muy despacio, por tanto, estos carotenoides constituirán los principales agentes fotoprotectores. Esta protección del aparato fotosintético frente a la fotooxidación durante el invierno es necesaria en las especies perennifolias para permitir una capacidad fotosintética aceptable cuando las condiciones estresantes hayan desaparecido en la primavera. La regulación a la baja de la fotosíntesis permite la regulación a la baja del PS II a largo plazo permitiendo la disipación del exceso de energía a través del "quenching" no fotoquímico (Huner et al. 1993).

Los niveles de luteína, neoxantina y β-caroteno fueron similares los а encontrados el año previo durante el otoño e invierno (Corcuera et al. en proceso) e inferiores a los observados por Morales et al. (2002) en el verano. La luteína fue el principal carotenoide en las hojas, suponiendo el 35-44 % del total de carotenoides, seguido por el β-caroteno (31-34 %) y la neoxantina (6-11 %). La concentración de estos carotenoides por unidad de superficie foliar fue semejante a la encontrada en hojas de Q. ilex por Llorens et al. (2002), Fleck et al. (2000) y en Q. subpyrenaica por Abadía et al. (1996) e inferior a la de Faria et al. (1998). Los tres

carotenoides implicados en el ciclo de las xantofilas aportaron un 10-27 % del total de carotenoides y su concentración fue semejante a la de Fleck et al. (2000), aunque la concentración de zeaxantina fue bastante superior a la obtenida por Llorens et al. (2002). Los carotenoides actúan sobre la fotoxidación del aparato fotosintético disminuyendo el estado triplete de las clorofilas, evitando la formación del $(^{1}O_{2})$ oxígeno singlete 0 actuando directamente en la eliminación del oxígeno singlete (Young 1991). En el invierno la carotenoides/clorofila relación total aumentó, por tanto, las hojas presentaron una mayor capacidad para evitar los procesos de fotooxidación. El ratio AZ/VAZ fue similar al obtenido por Fleck et al. (1998) en hojas recién formadas en julio y bastante superior al de hojas de un año. La relación AZ/VAZ sufrió pocas variaciones a lo largo del año, los cambios en su concentración fueron debidos a interconversiones a lo largo del día. En el invierno esta relación fue bastante inferior a la encontrada el año previo, que fue especialmente frío (Corcuera et al. en proceso). Los valores AZ/VAZ fueron superiores en hojas nuevas y similares en hojas de un año a los obtenidos por Fleck et al. (2000). La concentración VAZ en Julio y Septiembre fue similar a la de Faria et al. (1998). La cantidad de clorofila total por unidad de superficie se mantuvo estable a
pesar de las diferencias estacionales en la temperatura y cantidad de luz y es incluso superior al final del primer año de vida, es decir, el balance entre la síntesis y la degradación fue positivo. La concentración de clorofilas y el ratio Chl a/Chl b fue superior al obtenido por Llorens et al. (2002), Gratani et al. (1998) y similar al de Faria et al. (1998) y Fleck et al. (2000). En el verano la relación Chl a/Chl b fue similar al encontrado por Morales et al. (2002). Se produjo un descenso en la concentración total de clorofila de julio a septiembre, lo que fue observado previamente por Faria et al. (1998). El descenso en el contenido de clorofila se ha considerado como una estrategia fotoprotectora al reducir la captura excesiva de luz por la hoja en lugares fríos y luminosos (Oliveira y Peñuelas 2000). El alto ratio Chl a/b al final del primer año de vida de la hoja podría indicar una reducción en el tamaño de antena del PS II y podría considerarse como una adaptación que permite la captación de menos energía luminosa en ese periodo.

La tolerancia al estrés por un exceso de energía luminosa puede estar relacionada con la capacidad de detoxificar especies activas de oxígeno (Foyer et al. 1994). Las actividades de los enzimas antioxidantes estuvieron sujetas a grandes fluctuaciones en cada estación causadas presumiblemente las diferencias en condiciones por climatológicas. А pesar de estas

fluctuaciones, la actividad media de los enzimas fue del mismo orden de magnitud que en otros estudios (García-Plazaola et al. 1999b). La SOD reduce el radical superóxido (O_2^{-}) . Se ha observado actividad SOD incluso a bajas temperaturas. El incremento de la actividad de la SOD a bajas temperaturas (Fig. 7A) ha sido observado previamente por Polle V Rennenberg (1991) y Schöner y Krause (1990). También aumentó la actividad de la GR en los meses fríos (Fig. 7B; Schöner y Krause 1990). Sin embargo la APX no aumentó en invierno (Fig. 7C; Schöner y Krause 1990; Hakam y Simon 1996; Polle et al. 1996) aunque sí a principios de verano (Fig. 7C). Las plantas con altas actividades enzimáticas de SOD soportan mejor el estrés oxidativo por bajas temperaturas con el aumento simultáneo de GR y APX (Kingston–Smith y Foyer 2000). La APX reduce el H₂O₂ formado por la SOD a H₂O y la GR reduce el glutatión que se emplea en la regeneración del ascorbato (Alscher et al. 1997). Sin embargo, al producirse una correlación alta y positiva entre SOD y GPX, la cantidad de H₂O₂ no reducida por la APX sí que pudo haber sido reducida por la GPX y, por tanto, no se observó estrés fotooxidativo en las hojas, tal y como se refleja en el mantenimiento de la concentración de clorofila.

El descenso en la tasa fotosintética y en la eficiencia fotoquímica en las hojas de

Q. ilex durante los meses desfavorables del invierno y verano estuvo acompañado de procesos de disipación del exceso de energía luminosa que evitaron daños permanentes en el PS II y permitieron una capacidad fotosintética en hojas de un año tan alta como en las hojas jóvenes recién formadas. Su eficiencia fotosintética a lo largo del año no es alta pero sí estable ante los diversos estreses que sufre (inviernos fríos y veranos cálidos y secos, ambos con alta intensidad luminosa), probablemente a expensas de una mayor inversión en procesos fotodisipativos, es decir, es una especie que muestra una estrategia de tolerancia a la limitación en la asimilación de carbono (Oliveira y Peñuelas 2000). El alto contenido en clorofila durante casi todo el año indica que su aparato fotosintético permanece intacto incluso durante los periodos de estrés con alta irradiación, hecho que fue observado previamente por Gratani et al. (1998). La disminución de la fijación de carbono en las estaciones desfavorables reduce la producción de biomasa y puede afectar su capacidad de competir con otras especies y su distribución. Q. ilex es una especie de la flora Arcto-Terciaria que sobrevivió a las glaciaciones (Pignatti 1978), siendo una especie resistente a las bajas temperaturas (Larcher 1992). Esto explicaría su presencia en zonas frías montañosas mediterráneas y de transición entre el clima mediterráneo y

el submediterráneo (Terradas y Savé 1992). Es especie con una una amplitud bioclimática muy grande ya que aparece en bioclimas semiáridos, subhúmedos, los húmedos y perhúmedos (sensu Ememberg) de la Península Ibérica (Barbero et al. 1992). En el bioclima semiárido crece en condiciones marcadamente continentales (inviernos fríos o muy fríos) sobre suelos pobres y poco desarrollados; el bioclima subhúmedo presenta la variación térmica más adecuada para la especie y es allí donde se extiende desde las regiones frías a las templadas; en las variantes frías del bioclima húmedo compite fuertemente con los robles deciduos y en el bioclima perhúmedo la competencia favorece a los deciduos (Quercus faginea robles y Quercus pyrenaica) pero Q. ilex ocupa las de las montañas donde crestas las condiciones geopedológicas no son adecuadas para el establecimiento de los robles deciduos. En el monte objeto de estudio el frío invernal debería favorecer la dominancia de estos robles deciduos que evaden las condiciones desfavorables del invierno. Sin embargo no ocurre así por el tipo de suelo, muy superficial, sobre afloraciones de caliza y por tanto, con poca capacidad de retención de agua, lo que favorece a especies más tolerantes a la sequía como Q. ilex. Esta especie soporta variedad de temperaturas, una gran demostrando una gran adaptabilidad al estrés térmico. En general, las plantas se adaptan a los regímenes de temperaturas de su medio. Las adaptaciones para conseguir mejor capacidad fotosintética y una tolerancia a las temperaturas elevadas producen una peor respuesta a las bajas temperaturas y viceversa. Las plantas de habitats caracterizados por grandes variaciones de temperatura durante la estación de crecimiento no necesariamente poseen un amplio rango de temperaturas con buenas tasas fotosintéticas o a las que son tolerantes, sin embargo, poseen un potencial, genéticamente mayor determinado, para la aclimatación fotosintética a las temperaturas (Berry y Björkman 1980).

BIBLIOGRAFIA

Abadía, J. y Abadía, A. 1993. Iron and plant pigments. In iron chelation in plants and soil microorganisms (eds L. Barton and B. Hemming), pp. 327-344. Academic Press, San Diego, CA.

Abadía A, Gil E, Morales F, Montañés L, Monserrat G y Abadía J. 1996. Marcescence and senescence in а submediterranean oak (Quercus E.H. del subpyrenaica Villar): Photosynthetic characteristics and nutrient composition. Plan, Cell and Environment 19:685-694.

Acherar M y Rambal S. 1992. Comparative water relations of four mediterranean oak species. Vegetatio 99-100: 177-184.

Adams WW III, Demmig-Adams B, Verhoeven AS y Baker DH. 1994. "Photoinhibition" during winter stress: involment of sustained xantophyll cycledependent energy dissipation. Australian Journal of Plant Physiology 22: 261-276

Alscher R.G., Donahue J.L. y Cramer C.L. 1997. Reactive oxygen species and antioxidants: relationships in green cells. Physiologia Plantarum 100: 224-233

Asada K., Yoshikawa K., Takahashi M.A., Maeda Y. y Enmanji K. 1975. Superoxide dismutases from a blue-green alga, *Plectonema boryanum*. Journal of Biological Chemistry 250: 2801-2807.

Barbero, M., Loisel, R. y Quèzel, P. 1992. Biogeography, ecology and history of Mediterranean *Quercus ilex* ecosystems. Vegetatio 99-100: 19-34.

Beauchamp C.O. y Fridovich I. 1971. Superoxide dismutase: improved assays and assay applicable to acrylamide gels. Analytical Biochemistry 44: 276-287.

Becana M., Aparicio-Tejo P, Irigoyen JJ y Sánchez Díaz M. 1986. Some enzimes of hydrogen peroxide metabolism in leaves and root nodules of *Medicago sativa*. Plant Physiology 82: 1169-1171.

Berry J.A. y Björkman, O. 1980. Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. Annual Review of Plant Physiology 31: 491-543.

Bilger, W. y Björkman O. 1990. Role of the xanthophyll cycle in photoprotection elucidated by measurements of light-induced absorbance changes, fluorescence and photosynthesis in of leaves Hedera canariensis. Photosynthesis Research 25: 173-185.

Björkman O. y 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.

Bradford MM. 1976. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.

Chabot, B.F. y Hicks, D.J. 1982. The ecology of leaf life spans. Annual Review of Ecology and Systematics 13: 229-259.

De las Rivas, J., Abadía A. y Abadía, J. 1989. A new reversed phase HPLC method resolving all major higher plant photosynthetic pigments. Plant Physiology 91: 190-192. Demming-Adams, B., Winter, K., Krüger, A. y Czygan, F.C. 1989. Zeaxanthin and the induction and relaxation kinetics of the dissipation of excess excitation energy in leaves in 2 % O_2 , 0 % CO_2 . Plant Physiology 90: 887-893.

Demming-Adams, B. y Adams, W. W. 1992. Photoprotection and other responses of plants to high light stress. Annu Rev. Plant Physiol. Plant Molecular Biology 43: 599-626.

Demming-Adams, B. y Adams, W. W. 1996. Xanthophyll cycle and light stress in nature: Uniform response to excess direct sunlight among higher plant species. Planta 198: 460-470.

Epron D, Dreyer E y Bréda N. 1992. Photosynthesis of oak trees (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) during drought under field conditions: diurnal course of net CO_2 assimilation and photochemical efficiency of photosystem II. Plant, Cell and Environment 15: 809-820.

Epron D y Dreyer E. 1992. Effects of severe dehydration leaf on photosynthesis in Quercus petraea (Matt.) photosystem Π Liebl.: efficiency photochemical and no photochemical fluorescence quenchings and electrolyte leakage. Tree Physiology 10: 273-284.

Faria T, Silvério D, Breia E, Cabral R, Abadía A., Abadía J, Pereira JS y Chaves M.M. 1998. Differences in the response of carbon assimilation to summer stress (water deficits, high light and temperature) in four Mediterranean tree species. Physiologia Plantarum 102: 419-428.

Field C y Mooney HA. 1983. Leaf age and seasonal effects on light, water and nitrogen use efficiency in a California shrub. Oecologia 56: 348-355.

Fleck I, Hogan KP, Llorens L, Abadía A y Aranda X. 1998. Photosynthesis and photoprotection in *Quercus ilex* resprouts after fire. Tree Physiology 18: 607-614.

Fleck I., Aranda X., El Omari B., Permanyer J., Abadía A. y Hogan K.P. 2000. Australian Journal of Plant Physiology 27: 129-137.

Foyer, C.H., Lelandais M. y Kunert K.J. 1994. Photooxidative stress in plants. Plant Physiology 92: 696-717.

García-Plazaola J.I., Faria T., Abadía J., Abadía A., Chaves M.M. y Pereira J.S. 1997. Seasonal changes in xanthopyll composition and photosynthesis of cork oak (*Quercus suber* L.) leaves under Mediterranean climate. Journal Experimental of Botany 48: 1667-1674.

García-Plazaola, J.I., Artetxe, U., Duñabeitia, M.K. y Becerril, J.M. 1999. Role of photoprotective systems of holmoak (*Quercus ilex*) in the adaptation to winter conditions. J. Plant Physiology 155: 625-630. Genty B, Briantais JM y Baker NR. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. Biochimica et Biophysica Acta 990: 87-92.

Gratani L. 1993. Response to microclimate of morphological leaf attributes, photosynthetic and water relations of evergreen sclerophyllous shrub species. Photosynthetica 29: 573-582.

Gratani L. 1996. Leaf and shoot growth dynamics of *Quercus ilex* L. Acta Oecologica 17: 17-27.

Gratani L., Pesoli P. y Crescente M.F. 1998. Relationship between photosynthetic activity and chlorophyll content in an isolated *Quercus ilex* L. tree during the year. Photosynthetica 35: 445-451.

Groden D y Beck E. 1979. H_2O_2 destruction by ascorbate dependent systems from chloroplasts. Biochimica et Biophysica Acta 546: 426-435.

Groom, Q.J., Baker, N.R. y Long S.P. 1991. Photoinhibition of holly (*Ilex aquifolium*) in the field during the winter. Physiologia Plantarum 83: 585-590.

Hakam N y Simon JP. 1996. Effect of low temperatures on the activity of oxygen-scavening enzymes in two populations of the C₄ grass *Echinochloa crus-galli*. Physiologia Plantarum 97: 209-216. Harbison, J., Genty, B. y Baker, N.R. 1989. Relationship between the quantum efficiencies of photosystems I and II in pea leaves. Plant Physiology 90: 1029-1034.

Huner NPA, Öquist G, Hurry VM, Krol M., Falk S. y Griffith M. 1993. Photosynthesis, photoinhibition and low temperature acclimation in cold tolerant plants. Photosynthesis Research 37: 19-39.

Ishida A, Toma T y Marjenah. 1999. Limitation of leaf carbon gain by stomatal and photochemical processes in the top canopy of Macaranga conifera, a tropical pioneer tree. Tree Physiology 19: 467-473.

Kingston-Smith AH y Foyer CH. 2000. Overexpression of Mn-superoxide dismutase in maize leaves leads to increased monodehydroascorbate reductase, dehydroascorbate reductase and glutathione reductase activities. Journal of Experimental Botany 51: 1867-1877

Lamontagne M, Bigras FJ y Margolis HA. 2000. Chlorophyll fluorescence and CO₂ assimilation of black spruce seedlings following frost in different temperature and light conditions. Tree Physiology 20: 249-255.

Larcher W. 1969. The effect of environmental and physiological variables on the carbon dioxide gas exchange of trees. Photosynthetica 3: 167-198.

Larcher W. 1992. Effetti delle basse temperature invernali sulle piante sempreverdi mediterranee. Ital. Forest. Mont. 46: 1-14.

Llorens L, Aranda X, Abadía A. y Fleck I. 2002. Variations in Quercus ilex chloroplasts pigment content during summer stress: involvement in photoprotection according to principal component analysis. Functional Plant Biology 29: 81-88.

Méthy M y Trabaud L. 1993. Seasonal courses of photosynthetic activity and sublethal temperature tolerance of *Quercus ilex* leaves. Forest Ecology and Management 61: 339-348.

McCord JM y Fridovich I. 1969. Superoxide dismutase: an enzimatic function for erythrocuprein (hemocuprein). Journal of Biological Chemistry 244: 6049-6055.

Miyazawa S y Terashima I. 2001. Slow leaf development of leaf photosynthesis in an evergreen broadleaved tree, *Castanopsis sieboldii*: relationships between leaf anatomical characteristics and photosynthesis rate. Plant, Cell and Environment 24: 279-291.

Mitrakos K. 1980. A theory for Mediterranean plant life. Acta Oecologica/Oecologia Plantarum 15: 245-252.

Morales F., Abadía A., Abadía J. Montserrat G. y Gil-Pelegrín E. 2002. Trichomes and photosynthetic pigment composition changes: responses of *Quercus* *ilex* subsp. *ballota* (Desf.) Samp. and *Quercus coccifera* L. to Mediterranean stress conditions. Trees 16: 504-510.

Nakano Y. y Asada K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific preoxidase in spinach chloroplasts. Plant and Cell Physiology 22:867-880.

Niinemets Ü y Kull O. 2001. Sensitivity of photosynthetic electron transport to photoinhibition in a temperate deciduous forest canopy: Photosystem II center openness, non-radiative energy dissipation and excess irradiance under field conditions. Tree Physiology 21: 889-914.

Oberhuber W y y Bauer H. 1991. Photoinhibition of photosynthesis under natural conditions in ivy (*Hedera helix* L.) growing in an understory of deciduous trees. Planta 185: 545-553.

Oliveira G y Peñuelas J. 2000. Comparative photochemical and phenomorphological responses to winter stress of an evergreen (*Quercus ilex* L.) and a semi-deciduous (*Cistus albidus* L.) Mediterranean woody species. Acta Oecologica 21: 97-107.

Parker, J. 1963. Causes of the winter decline in transpiration and photosynthesis in some evergreens. Forest Science 9: 158-166. Pignatti S. 1978. Evolutionary trends in Mediterranean flora and vegetation. Vegetatio 37: 175-185.

Peñuelas J., Filella I, Llusià J, Siscart D y Piñol J. 1998. Comparative field study of spring and summer leaf gas exchange and photobiology of the Mediterranean trees *Quercus ilex* and *Phillyrea latifolia*. Journal of Experimental Botany 49: 229-239.

Polle A. y Rennenberg H. 1991. Field studies on Norway spruce trees at high altitudes: II. Defence systems against oxidative stress in needles. New Phytologist 121: 635-642.

Polle A., Kronigerand W. y Rennenberg H. 1996. Seasonal fluctuations of ascorbate-related enzymes: acute and delayed effects of late frost in spring on antioxidative systems in needles of norway spruce (*Picea abies* L.). Plant and Cell Physiology 37: 717-725.

Pütter. 1974. Peroxidases. Methods Enzymatic Anal. 2: 685-690.

Sakai A y Larcher W. 1987. Frost survival of plants. Responses and adaptations to freezing stress. Ecol. Studies 62, Springer-Verlag, Berlin.

Schaedle M y Bassham J.A. 1977. Chloroplast glutatione reductase (in spinach). Plant Physiology 59:1011-1012

Schöner S. y Krause GH. 1990. Protective systems against active oxygen species in spinach: response to cold acclimation in excess light. Planta 180: 383-389.

Somersalo S y Krause GH. 1990. Photoinhibition at chilling temperatures and effects of freezing stress on cold acclimated spinach leaves in the field. A fluorescence study. Physiologia Plantarum 79: 617-622.

Tausz M, Bytnerowicz A, Arbaugh MJ, Wonisch A y Grill D. 2001. Multivariate patterns of biochemical responses of Pinus ponderosa trees at field plots in the San Bernardino Mountains, southern California. Tree Physiology 21: 329-336.

Tenhunen JD, Lange OL y Braun M. 1981. Midday stomatal closure in mediterranean type sclerophylls under simulated habitat conditions in an environmental chamber. II Effects of the complex leaf temperature and air humidity on gas exchange of *Arbutus unedo* and *Quercus ilex*. Oecologia 50: 5-11.

Terradas, J. y Savé R. 1992. The influence of summer and winter stress and water relationships on the distribution of *Quercus ilex* L. Vegetatio 99-100: 137-145.

Tetriach M. 1993. Photosynthesis and transpiration of evergreen Mediterranean and deciduous trees in an ecotone during a growing season. Acta Oecologica 14: 341-360.

Van Kooten O y Snel JFH. 1990. The use of chlorophyll fluorescence in plant stress physiology. Photosynthesis Research 25: 147-150.

Verhoeven AS, Demmig-Adams B y Adams WW. 1997. Enhanced employement of the xanthophyll cycle and thermal energy dissipation in spinach exposed to high light and N stress. Plant Physiology 113: 817-824.

Westin J, Sundblad LG y Hällgren JE. 1995. Seasonal variation in photochemical activity and hardiness in clones of Norway spruce (*Picea abies*). Tree Physiology 15: 685-689.

DISCUSIÓN GENERAL

DISCUSIÓN GENERAL

El descenso en la tasa fotosintética y en la eficiencia fotoquímica de las hojas de Q. *ilex ballota* durante las estaciones desfavorables al crecimiento, invierno y verano, estuvieron acompañados de procesos de disipación del exceso de energía luminosa que evitaron daños permanentes en el fotosistema II. Esto permitió que las hojas de un año mantuvieran una capacidad fotosintética tan alta como las hojas recién formadas. La eficiencia potencial máxima del fotosistema II antes del amanecer en invierno fue incluso más baja que la obtenida al mediodía en verano, indicando una mayor sensibilidad fotosintética al estrés por frío que al causado por las altas temperaturas. Además, la asimilación neta de CO_2 y conductancia estomática también sufrieron un descenso mayor en invierno, igualmente observado por Gratani (1996). En general, las especies perennifolias muestran una gran tolerancia a las bajas temperaturas protegiendo el aparato fotosintético durante el invierno, probablemente para asegurar una capacidad fotosintética adecuada en la primavera, pero al mismo tiempo presentan una gran susceptibilidad que se refleja en el descenso de la capacidad y de la eficiencia fotosintética. Por tanto, presentan una estrategia a largo plazo de regulación a la baja del fotosistema II (Westin *et al.* 1995).

La eficiencia fotosintética de *Q. ilex ballota* a lo largo del año no es alta pero sí estable frente a los diversos estreses climáticos que experimenta (inviernos fríos y veranos cálidos y secos, ambos con alta intensidad luminosa), probablemente a expensas de una mayor inversión en procesos fotodisipativos. Es, por todo ello, una especie que muestra una estrategia de tolerancia a la limitación en la asimilación de carbono (Oliveira y Peñuelas 2000). La disminución de la fijación de carbono en las estaciones desfavorables reduce la producción de biomasa y puede afectar su capacidad de competir con otras especies y limitar su distribución (Tretiach *et al.* 1997).

Q. ilex ballota es una especie de la flora Arcto-Terciaria que sobrevivió a las glaciaciones refugiada en áreas meridionales de carácter subtropical (Pignatti 1978). Su relativa resistencia a las bajas temperaturas explicaría su presencia actual en zonas frías montañosas mediterráneas y de transición entre los climas mediterráneo y submediterráneo (Larcher 1992, Terradas y Savé 1992). Es una especie con una gran amplitud bioclimática ya que aparece en bioclimas semiáridos, subhúmedos, húmedos y perhúmedos de la Península Ibérica (Barberó *et al.* 1992). En las variantes frías del bioclima húmedo compite fuertemente con los robles deciduos (p.ej. *Q. faginea y Q. pyrenaica*) y en el bioclima perhúmedo la competencia favorece a estos últimos. Sin embargo, si las condiciones edáficas no son

adecuadas para la retención hídrica, *Q. ilex* es la especie predominante ocupando así mesetas y crestas de montañas. Este es el caso del monte objeto de estudio en la Sierra de Cubel donde el tipo de suelo, muy superficial y sobre afloraciones de caliza y, por tanto, con poca capacidad de retención de agua, favorece a especies más tolerantes a la sequía como *Q. ilex ballota*.

Esta tolerancia al estrés hídrico que presentan Q. ilex ballota y otros robles mediterráneos ha sido confirmada con el estudio de las relaciones hídricas de sus tejidos. Las especies mediterráneas perennifolias como Q. ilex ballota presentaron características propias de especies adaptadas a un alto nivel de estrés hídrico: altos módulos de elasticidad de pared máxima y bajos potenciales osmóticos a plena turgencia y potenciales hídricos en el punto de pérdida de turgencia (Turner 1994). El bajo potencial osmótico permitirá a la planta tolerar un mayor estrés hídrico, alcanzando potenciales hídricos más bajos (Ranney y Skroch 1991) y el desarrollo de cierta turgencia positiva, y por tanto, mayor elongación celular en condiciones de estrés hídrico (Cheung et al. 1975). Por otra parte, la alta rigidez de pared celular permite una rápida disminución del potencial de turgencia y del potencial hídrico con una pequeña reducción en el contenido de agua celular (Patakas y Noitsakis 1997). Además, el gradiente de potencial hídrico creado permite la captación de agua en suelos muy secos (Lo Gullo y Salleo 1988). Por el contrario, las especies caducifolias nemorales como Q. robur mostraron paredes celulares más elásticas, así como potenciales osmóticos a plena turgencia y potenciales hídricos en el punto de pérdida de turgencia más altos. Por tanto, estas especies tienden a mantener turgencia a expensas de una mayor pérdida de agua en el punto de pérdida de turgencia (Wan et al. 1998).

Los robles nemoro-mediterráneos como *Q. faginea* y *Q. pyrenaica* presentaron una pared celular más elástica que los mediterráneos, pero similares potenciales osmóticos a plena turgencia y más bajos potenciales hídricos en el punto de pérdida de turgencia que los robles nemorales. Esto les confiere una mayor resistencia al estrés hídrico que los robles nemorales. Sin embargo, los robles nemoro-mediterráneos no crecen tan bien como los mediterráneos en suelos relativamente secos ya que no son capaces de crear gradientes de potencial hídrico en el *continuum* suelo-planta-atmósfera tan altos. Por tanto, constituyen un grupo funcional ecofisiológico coherente según estos parámetros hídricos.

A pesar de la mayor resistencia a la sequía de las especies mediterráneas (*Q. ilex ballota*) respecto a las especies nemoromediterráneas (*Q. faginea*, *Q. pyrenaica*), en el monte objeto de estudio se observó un atabacamiento (amarilleamiento de las hojas), seguido de una

defoliación intensa, que afectó a dichas especies (Aït-Bachir 1998). Este fenómeno podría reflejar los efectos climáticos de la sequía de 1993-1994 a través de la cavitación del xilema (Tyree y Sperry 1989). Dicha sequía encaja con observaciones derivadas de recientes reconstrucciones dendroclimáticas en la Península Ibérica, las cuales revelan un incremento en la frecuencia de episodios muy cálidos y de sequías intensas durante la segunda mitad del siglo XX (Manrique y Fernández-Cancio 2000). Durante los años de baja precipitación *Q. faginea* y *Q. ilex ballota* experimentaron una reducción en el crecimiento radial y longitudinal y una menor producción de hojas. Sin embargo, fueron la precipitación de recarga y la de primavera las que más influyeron en el crecimiento de *Q. faginea* y la precipitación de verano en *Q. ilex ballota*.

En respuesta a la intensa sequía de 1993-94, la mayoría de los árboles muestreados de Q. faginea no produjeron madera de verano lo que causó la formación de anillos estrechos constituidos casi exclusivamente por vasos de primavera (Woodcock 1989). El predominio de los vasos grandes de primavera podría haber propiciado la cavitación de la mayoría de estos vasos, lo que causó una reducción de la conductividad hidraúlica, y un menor crecimiento longitudinal acompañado por un menor desarrollo foliar. Por el contrario, Q. ilex ballota redujo el diámetro medio de los vasos en años secos. Estos vasos ofrecían una conductividad hidráulica baja, pero a cambio una alta seguridad frente a la cavitación inducida por la sequía y/o congelación (Cochard and Tyree 1990)

A pesar de la gran plasticidad de las variables del xilema en ambas especies, se produjo la desecación del follaje ("seca") como respuesta a la sequía. Esto causó, probablemente, una reducción de la relación superficie foliar/superficie conductora y de la transpiración. Esta caducifolia facultativa en respuesta a la sequía podría haber conducido al mantenimiento de un adecuado equilibrio hídrico (Tyree y Sperry 1989), permitiendo a *Q. ilex ballota* y *Q. faginea* soportar los efectos negativos de la extrema variabilidad interanual de la precipitación, típica de la región mediterránea (Di Castri 1981). La gran variabilidad en la anchura del anillo y en el diámetro de los vasos observados en *Q. ilex ballota* en años climáticos contrapuestos (secos/húmedos) fueron sólo comparables con los identificados en la madera de verano de *Q. faginea*. Si las sequías intensas llegaran a ser más frecuentes y causaran un decaimiento y muerte generalizados en poblaciones marginales de *Q. faginea*, esta especie podría ser reemplazada por árboles más resistentes a la sequía como *Q. ilex ballota* (Allué Andrade 1990).

Los efectos adversos del reciente aumento de la variabilidad climática y los cambios en el uso del terreno, que han conducido al abandono y consiguiente reviejado del monte bajo, deberían ser considerados en el tratamiento y gestión de estos montes. Tal y como se observó en la madera de individuos de *Q. pyrenaica* pasados de turno, la probabilidad de que los anillos estén formados exclusivamente por madera de primavera se incrementa de forma exponencial con la edad de los brotes. La ausencia de madera de verano es habitual a partir de los catorce años, es decir, alrededor del turno de corta de la especie. Este hecho tiene dos implicaciones funcionales: (*i*) el estancamiento del crecimiento debido al reducido incremento del perímetro del anillo anterior, y (*ii*) la mayor vulnerabilidad ante situaciones de estrés hídrico al no contar con elementos de seguridad frente a la cavitación. El estancamiento en la producción de biomasa con la edad de *Q. pyrenaica* ha sido observado previamente por Allué y San Miguel (1991). Esta disminución del vigor del árbol debido a la edad podría ser un factor de predisposición al decaimiento en años secos. El manejo adecuado del monte bajo mediante medidas selvícolas como las claras, que reducen la competencia intraespecífica, y la disminución del turno de corta, que permite una mayor y más rápida recuperación en robles más jóvenes y vigorosos, lograría amortiguar la susceptibilidad al decaimiento de estas masas, muchas veces inducido por estreses climáticos (Starkey y Oak 1988).

BIBLIOGRAFÍA

Aït-Bachir, S. 1998. Utilisation des images-satéllite Landsat-TM pour l'étude diachronique du syndrome de déperissement des chênaies de la région de Cubel (Aragón). Master International Centre for Advanced Mediterranean Agronomic Studies, Zaragoza, Spain.

Allué Andrade, J.L. 1990. Atlas Fitoclimático de España: Taxonomías. MAPA-INIA, Madrid

- Allué, M. y San Miguel, A. 1991. Estructura, evolución y producción de tallares de *Quercus pyrenaica* Willd. en el centro de España. Inv. Agr.-Sist. Rec. For. 0: 35–48.
- Barberó, M., Loisel, R. and Quèzel, P. 1992. Biogeography, ecology and history of Mediterranean *Quercus ilex* ecosystems. Vegetatio 99-100: 19-34.
- Cochard, H. and Tyree, M.T. 1990. Xylem dysfunction in *Quercus*: vessel sizes, tyloses, cavitation and seasonal changes in embolism. Tree Physiol. 6: 393–407.
- Cheung, Y.N.S., Tyree M.T. and Dainty, J. 1975. Water relation parameters on single leaves obtained in a pressure bomb and some ecological considerations. Can. J. Bot. 53: 1342-1346.
- Di Castri, F. 1981. Mediterranean-type shrublands of the world. In: Mediterranean-type shrublands, Di Castri, F. *et al* (Eds.), pp. 1–52. Elsevier, Amsterdam
- Gratani, L. 1996. Leaf and shoot growth dynamics of Quercus ilex L. Acta Oecol. 17: 17-27.

- Larcher, W. 1992. Effetti delle basse temperature invernali sulle piante sempreverdi mediterranee. Ital. Forest. Mont. 46: 1-14.
- Lo Gullo, M.A. and Salleo, S. 1988. Different strategies of drought resistance in three Mediterranean sclerophyllous trees growing in the same environmental conditions. New Phytol. 108: 267-276.
- Manrique, E. and Fernández-Cancio, A. 2000. Extreme climatic events in dendroclimatic reconstructions from Spain. Clim. Change 44: 123–138.
- Oliveira, G. and Peñuelas, J. 2000. Comparative photochemical and phenomorphological responses to winter stress of an evergreen (*Quercus ilex* L.) and a semi-deciduous (*Cistus albidus* L.) Mediterranean woody species. Acta Oecol. 21: 97-107.
- Patakas, A. and Noitsakis, B. 1997. Cell wall elasticity as a mechanism to maintain favorable water relations during leaf ontogeny in grapevines. Am J Enol Vitic. 48: 352-356.
- Pignatti, S. 1978. Evolutionary trends in Mediterranean flora and vegetation. Vegetatio 37: 175-185.
- Ranney T.G. and Skroch W.A. 1991. Comparative drought resistance among six species of birch (*Betula*): influence of mild water stress on water relations and leaf gas exchange. Tree Physiol 8: 351-360.
- Starkey D.A. and Oak S.W. 1988. Silvicultural implications of factors associated with oak decline in Southern upland hardwoods. 5th Biennial Southern Silvicultural Research Conference, Memphis, TN, November 1-3.
- Suzuki, M., Hirano, R. and Yoda, K. 1998. Phenological analysis of wood formation in temperate deciduous ring and diffuse-porous wood. IAWA J. 19: 480–481.
- Terradas, J. and Savé R. 1992. The influence of summer and winter stress and water relationships on the distribution of *Quercus ilex* L. Vegetatio 99-100: 137-145.
- Tretiach M., Bolognii G. and Rondi A. 1997. Photosynthetic activity of *Quercus ilex* at the extremes of a transect between mediterranean and submediterranean vegetation (Trieste, NE Italy). Flora 192: 369-378.
- Turner I.M. 1994. Sclerophylly: primarily protective? Funct. Ecol. 8: 669-675.
- Tyree, M.T. and Sperry, J.S. 1989. Vulnerability of xylem to cavitation and embolism. Ann. Rev. Plant Physiol. 40: 19–38.
- Wan, C., Sosebee R.E., and McMichael B.L. 1998. Water relations and root growth of two populations of *Gutierrezia sarothrae*. Env. Exp. Bot. 39: 11-20.

- Westin J., Sundblad L.G. and Hällgren J.E. 1995. Seasonal variation in photochemical activity and hardiness in clones of Norway spruce (*Picea abies*). Tree Physiology 15: 685-689.
- Woodcock, D. 1989. Climate sensitivity of wood-anatomical features in a ring-porous oak (*Quercus macrocarpa*). Can. J. For. Res. 19: 639-644.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

- 1. Los parámetros hídricos derivados de las curvas P-V permitieron el establecimiento de tres grupos funcionales en las especies del género Quercus estudiadas. Esta agrupación coincidió con la clasificación fitoclimática de las especies. Los principales parámetros hídricos que agruparon a las especies de acuerdo a su fitoclima fueron el módulo de elasticidad de pared máximo (ε_{max}) y el potencial hídrico en el punto de pérdida de turgencia (ψ_{tlp}). Los robles mediterráneos presentaron una alta rigidez de pared celular, bajos potenciales hídricos en el punto de pérdida de turgencia y bajos potenciales osmóticos a plena turgencia (π_0) (características propias de especies adaptadas al estrés hídrico). Lo contrario ocurrió con los robles nemorales que presentaron potenciales hídricos en el punto de pérdida de turgencia y potenciales osmóticos a plena turgencia menos negativos y una alta elasticidad de pared celular. Estos mantuvieron la turgencia celular a cambio de una mayor pérdida de agua simplástica. Los robles nemoro-mediterráneos presentaron características intermedias entre los robles mediterráneos y los nemorales, es decir, paredes celulares más elásticas que los mediterráneos, similares potenciales osmóticos a plena turgencia y potenciales hídricos en el punto de pérdida de turgencia más bajos. Esto les permite soportar mejor las condiciones de estrés hídrico que los robles nemorales, aunque no tan bien como los robles mediterráneos. Los parámetros relacionados con el contenido de agua celular no mostraron ninguna tendencia. Estas variables obtenidas mediante el análisis de las curvas P-V han demostrado ser poco precisas y por tanto deberían interpretarse con precaución.
- 2. Los dos métodos para la obtención de curvas P-V, el método de transpiración libre y el método de expresión de savia, proporcionaron los mismos resultados en ε_{max} y S_{tlp} (excepto en una especie). El porcentaje de agua simplástica fue superior con el método de transpiración libre en todas las especies. Así, las especies nemorales presentaron los mismos resultados con ambos métodos en todos los parámetros hídricos estudiados, con dicha excepción. Por el contrario, en las especies mediterráneas se obtuvieron diferencias en todos los parámetros hídricos excepto en ε_{max} y S_{tlp}. Las especies nemoro-mediterráneas no presentaron un comportamiento homogéneo. *Q. cerris* se

comportó igual que las especies mediterráneas, *Q. faginea* como las especies nemorales y *Q. pyrenaica* diferente al resto de las especies. Los resultados sugieren que la primera parte de la curva y la determinación del punto de pérdida de turgencia se obtienen de la misma forma con ambos métodos. Sin embargo, existe una tendencia a que la segunda parte de la curva (la región lineal) tenga una pendiente menos acusada con el método de libre transpiración en las especies mediterráneas.

- 3. El crecimiento longitudinal y radial de Q. faginea estuvo fuertemente afectado por la precipitación de recarga (precipitación de noviembre a febrero, o meses consecutivos en los que la precipitación mensual es mayor que la evapotranspiración). Las características de la madera de verano, en especial la anchura de anillo y el diámetro de los vasos, fueron más sensibles a las variaciones en la precipitación que las de la madera de primavera. En los años secos la mayoría de los árboles no formaron madera de verano y además, se produjo una gran disminución de la superficie de la madera, área conductora y conductividad hidráulica de la madera de primavera. Ambos hechos, unidos al mayor riesgo de cavitación de los vasos de primavera, podrían haber causado una gran reducción del flujo de agua hacia la copa y ser los responsables del menor crecimiento de los brotes y la menor producción de hojas. Esta reducción de la superficie transpirante podría considerarse una respuesta para minimizar el estrés hídrico. Los episodios de seguía en el monte objeto de estudio se relacionaron con episodios de El Niño. Dado que estos episodios han incrementado su frecuencia en las últimas décadas, es esperable que el crecimiento de Q. faginea se vea afectado con mayor frecuencia por episodios de seguía. Por tanto, los episodios de decaimiento en poblaciones marginales de Q. faginea podrían reiterarse y la especie podría ser reemplazada por otras especies más resistentes a la seguía como *Q. ilex*.
- 4. En respuesta a la gran sequía de 1994, *Q. ilex ballota* redujo la longitud de sus brotes, producción de hojas, anchura de anillo, diámetro medio de sus vasos y, por tanto, la conductividad hidráulica. Las bajas temperaturas invernales experimentadas ese año podrían haber actuado como un factor de predisposición a la sequía del verano. A pesar de la menor vulnerabilidad a la cavitación que confieren los vasos más pequeños y la menor producción de hojas se produjo una intensa defoliación. Esto probablemente permitió un mejor equilibrio de agua en el resto de hojas vivas. La plasticidad del xilema en respuesta a los cambios en la precipitación de esta especie es

comparable a la encontrada en la madera de verano de *Q. faginea*. La plasticidad y sensibilidad al clima de *Q. ilex* podría estar relacionada con su origen subtropical. La curva de cavitación de *Q. ilex* es típica de una especie tolerante a la sequía, sin embargo, esta especie posee muchas características propias de especies que evaden la sequía. Si aumenta la frecuencia y duración de las sequía intensas, como se ha pronosticado, *Q. ilex* podría ser reemplazada por otras especies más resistente a las sequías estivales como *Juniperus thurifera*.

- 5. Las masas de *Q. pyrenaica* se hallaban sometidas a un intenso reviejado, lo que impidió el estudio de la relación entre el crecimiento radial y el clima. El crecimiento radial disminuyó de forma acusada a partir de los catorce años (turno de corta de la especie) debido a la ausencia de madera de verano. Este hecho tiene dos implicaciones funcionales: el estancamiento en el crecimiento secundario y, por tanto, en la producción de biomasa, y la mayor vulnerabilidad frente a la cavitación por carencia de vasos de pequeño diámetro. La reducción de la superficie foliar debido al puntisecado de las ramas en individuos reviejados podría ser una adaptación temporal a la escasez de agua y, por tanto, debería diferenciarse del decaimiento en sentido estricto. Un manejo adecuado del monte bajo, reducción del turno de corta y eliminación de pies para reducir la competencia, permitiría un crecimiento más vigoroso de los árboles jóvenes que queden en pie.
- 6. En clima mediterráneo continental la fotosíntesis neta de *Q. ilex ballota* durante el invierno es negativa. El gran descenso de la eficiencia del fotosistema II estuvo asociado con un incremento de los mecanismos de disipación del exceso de energía (de-epoxidación de los carotenoides del ciclo de las xantofilas). Esta regulación a la baja de la fotosíntesis evitó daños permanentes en el aparato fotosintético y permitió la completa recuperación del aparato fotosintético en primavera. La respuesta a los cambios rápidos de temperatura, tanto en descenso como en ascenso, fue inmediata, con una completa recuperación del aparato fotosintético tras el ascenso de la temperatura. El balance negativo en la fijación de CO₂ repercute en la productividad primaria y por tanto, en la competencia con otras especies. *Q. faginea*, especie decidua, que evade el frío invernal y de mayor crecimiento, podría desplazar a *Q. ilex* en estaciones de clima continental con inviernos fríos si la influencia antrópica, favorable a *Q. ilex*, cesara.

7. A lo largo del primer año de vida, las hojas de Q. ilex experimentaron los dos estreses ambientales citados por Mitrakos propios del clima mediterráneo continental. Se produjo un descenso considerable en la asimilación neta de CO₂ y en la eficiencia del fotosistema II durante el invierno y el verano, acompañado de procesos de disipación de la energía luminosa. La sensibilidad del aparato fotosintético a las bajas temperaturas del invierno fue mayor que a las altas temperaturas del verano. Sin embargo, se produjo una recuperación completa en la primavera. Los mecanismos fotoprotectores (de-epoxidación de violaxantina hasta anteraxantina y zeaxantina, aumento de la concentración de pigmentos fotosintéticos, actividad de enzimas antioxidantes y concentración de clorofilas) evitaron daños permanentes en el fotosistema II y permitieron una capacidad fotosintética en las hojas de un año de vida tan alta como en hojas jóvenes completamente desarrolladas. La limitación de la producción primaria debida a los dos estreses experimentados a lo largo del año debería favorecer el establecimiento de especies de robles deciduos como Q. faginea. Sin embargo, la poca capacidad de retención de agua del suelo, de escaso desarrollo, sobre afloraciones de caliza, favorece a Q. ilex, especie mejor adaptada al estrés hídrico.

CONCLUSIONES FINALES

Los parámetros hídricos derivados de las curvas P-V (ε_{max}, ψ_{tlp} y π_o) permitieron el establecimiento de tres grupos funcionales de robles. Tal y como había sido sugerido por fitoclimatólogos, los robles nemoro-mediterráneos ocupan un nicho funcional intermedio entre los robles nemorales y los mediterráneos.
El método do transpiración libro y el método do expresión do servio para la obtanción do

El método de transpiración libre y el método de expresión de savia para la obtención de curvas P-V proporcionaron los mismos resultados de ε_{max} y S_{tlp} y sin embargo S fue diferente según la técnica utilizada. El resto de los parámetros (ψ_{tlp} , π_o y RWC_{tlp}) varió según el tipo de especie, siendo similar con ambos métodos en las especies nemorales e inferior con el método de transpiración libre en las especies mediterráneas.

- 2. El crecimiento longitudinal y radial de *Q. faginea* y *Q. ilex ballota*, así como la producción de hojas, estuvieron fuertemente afectados por la precipitación, especialmente por la de otoño-invierno en la primera especie y la de verano en la segunda. Ambas especies mostraron una gran plasticidad del xilema en respuesta a la sequía de 1993-94. A pesar de la reducción de la superficie transpirante se produjo un desecamiento de la copa y defoliación. En *Q. pyrenaica* el efecto del reviejado del monte bajo causó una reducción del crecimiento radial, debido a la ausencia de madera de verano, lo que condujo a una mayor vulnerabilidad del xilema frente a la cavitación y supuso una mayor susceptibilidad al estrés climático.
- 3. El marcado descenso en la asimilación neta de CO_2 y en la eficiencia del fotosistema II experimentado por *Q. ilex ballota* en el otoño-invierno de 1999-2000 y durante las dos estaciones desfavorables, el invierno y el verano del año 2000-2001, estuvo asociado a un incremento de los mecanismos de disipación del exceso de energía. La sensibilidad del aparato fotosintético a las bajas temperaturas invernales fue mayor que a las elevadas temperaturas estivales. Esta regulación a la baja de la fotosíntesis evitó daños permanentes en el aparato fotosintético y permitió la completa recuperación del aparato fotosintético en primavera.

ANEXO I. Distribución geográfica de las especies del género *Quercus* estudiadas

ANEXO I

DISTRIBUCIÓN GEOGRAFICA DE LAS ESPECIES DE Quercus ESTUDIADAS

Nota: Círculos negros (especie nativa); círculos huecos (especie introducida).



Figura 1. Distribución geográfica de Quercus cerris.



Figura 2. Distribución geográfica de Quercus coccifera.



Figura 3. Distribución geográfica de Quercus faginea.



Figura 4. Distribución geográfica de Quercus frainetto.



Figura 5. Distribución geográfica de *Quercus ilex* ssp *ilex*



Figura 6. Distribución geográfica de *Quercus petraea*.



Figura 7. Distribución geográfica de Quercus pyrenaica.



Figura 8. Distribución geográfica de Quercus robur.



Figura 9. Distribución geográfica de Quercus ilex ssp ballota.



Figura 10. Distribución geográfica de Quercus suber.



Figura 11. Distribución geográfica de Quercus agrifolia.



Figura 12. Distribución geográfica de Quercus chrysolepis.



Figura 13. Distribución geográfica de Quercus laurifolia.



Figura 14. Distribución geográfica de Quercus alba.



Figura 15. Distribución geográfica de Quercus nigra.



Figura 16. Distribución geográfica de Quercus rubra.



Figura 17. Distribución geográfica de Quercus velutina.
ANEXO II. Medida del estado hídrico de la planta mediante la técnica de la cámara de presión

ANEXO II

MEDIDA DEL ESTADO HÍDRICO DE LA PLANTA MEDIANTE LA TÉCNICA DE LA CÁMARA DE PRESIÓN

Los principios de la técnica de la cámara de presión fueron descritos por Scholander et al. (1965), desarrollados por Tyree y Hammel (1972) y elaborados en trabajos posteriores (Tyree et al. 1973; Tyree y Jarvis 1982). Estos demostraron que la evaporación del agua de las células causada por la transpiración de la hoja, unida a las resistencias al flujo de agua desde el suelo hasta la hoja, producen una presión hidrostática negativa en el xilema. Cuando se corta una hoja transpirante, la savia del xilema retrocede hasta que se encuentra una pared celular. Presurizando la hoja hasta que el agua vuelve justo a la superficie cortada del tejido del xilema, se obtiene la medida de la presión hidrostática en el xilema (Scholander et al. 1965).

La cámara de presión mide el potencial matricial en el apoplasto, τ , que es similar al potencial hídrico total del simplasto adyacente, Ψ , siempre que la resistencia al flujo entre el simplasto y apoplasto no sea grande y que el potencial osmótico del agua apoplástica, π_a , sea cercano a cero (Passioura 1980). $\Psi = \tau - \pi_a =$ P_B - π_a , siendo P_B la presión aplicada en la cámara. En la práctica π_a es inferior a 0,05 MPa (Boyer 1969), entonces: $\Psi \cong \tau \cong P_B$. Una vez que las células de un tejido alcanzan turgencia cero, P_B se refiere al agua celular: 1/ P_B= $1/\pi_s$ = (V_s-V)/RT*n*, siendo V_s el volumen de agua simplásmica, π_s el potencial osmótico del simplasto, V el volumen de agua perdido por la hoja, R la constante universal de los gases y *n* el número de moles de soluto en el simplasto (Scholander 1965). Esto presupone que las células actúan como osmómetros perfectos y que el volumen de agua del apoplasto no cambia durante la desecación de la hoja.

Cuando las hojas pierden agua más rápidamente que la toman por las raíces, el potencial hídrico del xilema (Ψ_x) y de las células (Ψ_c) disminuye. La mayor parte de la disminución de Ψ_x es debida a una disminución de la presión de turgencia del xilema P_{tx} y cuando este se hace muy negativo se produce la cavitación de los vasos del xilema. A nivel celular, el potencial hídrico, Ψ_c , se expresa como la suma de dos componentes, Ψ_c = P_t + π_c , siendo P_t la presión de turgencia y π_c el potencial osmótico. En equilibrio, Ψ_c es el mismo a través de las fases heterogéneas de la célula (vacuola, citoplasma y pared celular) (Tyree and Jarvis 1982). A nivel celular ocurre lo mismo, cuando la célula pierde agua la mayor parte de la disminución de Ψ_c es debido a una disminución de P_t y cuando Ψ_c se hace muy negativo la célula deja de crecer. A medida que la célula pierde agua, P_t y P_{tx} disminuyen para que la planta pueda extraer del suelo a una velocidad agua aproximadamente igual a la velocidad de pérdida de agua y a medida que el suelo se seca estos potenciales disminuyen cada vez más. En condiciones de seguía las plantas controlan el Pt a través de ajustes osmóticos con $\pi_c; \ P_t = \Psi_c$ - $\pi_c.$ Algunas especies han evolucionado y tienen valores de π_c más bajos que otras y otras especies hacen que su π_c se vuelva más negativo mediante un aumento en la concentración de solutos en la célula ya que π_c = -RTC siendo C la concentración molar de la solución, R la constante de los gases y T la temperatura en grados Kelvin.

Metodología de las curvas presiónvolumen.

El potencial hídrico de la hoja (Ψ_{hoja}) se mide mediante una cámara de presión de tipo Scholander-Hammel (Scholander et al.

1965; Tyree y Hammel 1972; Turner 1981) comercializada, entre otros, por Soil Moisture Equipment Corp. Esta se compone de una cámara de acero que soporta presiones de hasta 10 MPa, unida a una fuente de gas inerte a presión (normalmente nitrógeno o aire comprimido) a través de una válvula reductora de presión y una válvula de medición, y conectada a dos manómetros.

Para obtener el Ψ_{hoja} , se corta una hoja o brote con una cuchilla afilada y se introduce en la cámara con la superficie cortada sobresaliendo ligeramente por encima de la goma de sellado. La presión de la cámara se incrementa gradualmente mediante nitrógeno o aire comprimido. La presión del gas hace que la presión del fluído celular se incremente en una misma cantidad, de forma que el Ψ_{hoja} sea igual al Ψ_c : $\Psi_{hoja} = \Psi_c = \pi_c + P_t + P_{gas}$. Cuando el Ψ_{hoja} y el Ψ_c se equilibran ($\pi_x + P_{tx} = \pi_c + P_t + P_{gas}$), el potencial de turgencia del xilema, P_{tx}, se hace cero y la savia aparece justo en el extremo de la hoja o brote, es decir, ni sale ni entra (Fig. 1). Para la determinación exacta de este punto se utiliza un microscopio binocular, que además protege los ojos del operario si el peciolo o tallo de la planta es expulsado accidentalmente a través de la goma. PB es igual a - Yhoja ya que $P_{tx}=0$ y π_x es despreciable.

Hay una serie de precauciones a tener en cuenta en la medida de Ψ con la técnica de la cámara de presión (Turner 1981, 1987): 1. Antes de que la hoja sea separada de la planta debe envolverse con un plástico para prevenir la pérdida de agua durante la medición. 2. El peciolo no se debe volver a cortar una vez la hoja ha sido separada de la planta. Cuando se corta el peciolo, el agua del xilema que se encuentra bajo tensión retrocede un poco de la superficie (Scholander 1965). Si se corta más de una vez, hay un movimiento de agua hacia el simplasto y entonces se obtiene una medida errónea de un Ψ más alto. 3. La longitud del peciolo que sobresale de la cámara debe ser mínima para prevenir la evaporación de la parte expuesta y evitar errores de exclusión (Millar and Hansen 1975). 4. La goma que sella la cámara debe ajustarse alrededor del peciolo de forma que no permita escape de gas de la cámara. 5. La presurización en la cámara debe ser muy lenta para evitar el desequilibrio de Ψ en el simplasto. Se recomienda 0,003-0,005 MPa s⁻¹. Si se hace rápidamente la temperatura de la hoja disminuye rápidamente, lo que puede ocasionar condensación sobre su superficie o daño en las membranas celulares. El desequilibrio interno de Ψ es especialmente problemático en ramas y hojas compuestas donde las resistencias al transporte de agua varían de un punto a otro (Turner et al. 1984). 6. La identificación del punto final es crítico para obtener una estimación exacta de Ψ . El punto final correcto se obtiene cuando la savia del xilema llega justo a la superficie cortada. Los vasos del xilema cortados se oscurecen justo antes del punto final.

Para preparar la muestra a medir, se corta una hoja (o brote) envuelta en plástico y se recorta el peciolo o tallo bajo agua para eliminar el aire del xilema. Para su rehidratación se le introduce en una cámara frigorífica oscura con el extremo del peciolo sumergido en agua destilada durante la noche. A la mañana siguiente se corta la base de cada muestra con una cuchilla. El periodo de rehidratación no debe extenderse mucho mas allá del punto en el que Ψ se hace cero. Una vez que la hoja está completamente rehidratada, se mide su peso saturado con una balanza de 1 mg de precisión y su Y inicial con la cámara de presión. Este valor inicial de Ψ debe encontrarse entre 0,05 y 0,1 MPa para evitar problemas de sobresaturación de agua en los tejidos.

La técnica de Scholander se basa en cuatro grandes suposiciones: 1. El valor simplásmico de Ψ es medido adecuadamente con la cámara de presión. 2. No existen valores negativos de P_t en el simplasto. 3. La pérdida de agua del tejido proviene en su totalidad del simplasto. 4. A medida que el agua del simplasto se pierde, la concentración de solutos aumenta de manera ideal.

Siendo W_o el peso inicial de la hoja, la pérdida de peso acumulada es $\Delta W = W_o -$ W. La curva de presión volumen se obtiene representando gráficamente los pares de valores de ΔW y la inversa del potencial de la hoja que es igual a la presión de la cámara, P_B (Fig. 1). Para valores de la curva en los que la turgencia celular es positiva (P_t >0) se obtiene una región curva, ya que $\Psi = P_t + \pi$, que se convierte en linear cuando la turgencia se hace cero ($P_t = 0$), siendo $\Psi = \pi$. La regresión linear de los últimos puntos mediante el método de mínimos cuadrados permite obtener la ecuación de la recta. La extrapolación del comienzo de la región linear con el eje de las Y ($\Delta W=0$) (punto marcado como A en la figura 1) permite obtener $-1/\pi_0$, siendo π_0 el potencial osmótico a plena turgencia celular, cuando Ψ = 0. El punto en el cual la curva de P-V se hace linear, marcado como B en la figura 1, determina el potencial hídrico de la hoja en el punto de pérdida de turgencia, Ψ_{tlp} . La intercepción de la línea con el eje de las X $(1/P_B=0)$ (punto C), es el volumen de agua simplásmica celular, W_s (agua en el protoplasto y vacuolas de las células vivas), y la diferencia entre los puntos C y D es la cantidad de agua apoplástica celular, W_a (agua en el xilema y paredes celulares), siendo D el peso de la muestra.



Fig. 1. Relación entre la inversa del potencial hídrico $(1/\Psi)$ y el volumen de agua expresada (Ve). La parte lineal de la curva se ha extrapolado a dos puntos, **A**= Y-intercepto= $-1/\pi_0$, siendo π_0 el potencial osmótico a plena turgencia (Ψ =0) y **B**= X-intercepto= volumen de agua en el simplasto cuando Ψ =0; **C**= contenido total de agua del brote; **D**= pérdida total de agua después de secar la muestra en el horno.

relación entre Ψ La y sus componentes P_t y π en hojas o brotes se describe mediante los diagramas Höfler (ver Anexo III). Muchos estudios muestran una fisiología comparada de las plantas a través de las relaciones hídricas de los tejidos. Las diferencias en la relación de estos parámetros permiten explicar adaptaciones ecológicas de las plantas (Abrams 1990). Se han examinado distintas plantas que crecen en diferentes hábitats, como los mediterráneos (Hinckley et al. 1980, Calkin y Pearcy 1984; Davis y Mooney 1986) y templados (Roberts et al. 1980,1981; Parker et al. 1982), y se ha encontrado una variación significativa entre especies en cuanto a estos parámetros, particularmente en relación la a disponibilidad de agua de su hábitat. También se ha encontrado que estos parámetros varían en un mismo individuo en respuesta a factores ontogenéticos (Tyree et al. 1978), diurnos (Nilsen et al. 1983) y estacionales (Abrams y Menges 1992).

En el diagrama Höfler se representan los valores de Ψ , P_t y π frente al contenido relativo de agua en la hoja o brote. El contenido relativo de agua simplásmica, RWC, es el contenido de agua del momento en relación al contenido de agua a plena turgencia, RWC= (W_o - Δ W) – (W_o – W_d), siendo W_d el peso seco. Los valores de π a diferentes RWC se calculan a partir de $\pi_0 W_s/(W_0 - \Delta W)$, los valores de Ψ son los mismos que los de $-P_B$ y los valores de P_t se obtienen a partir de P_B – π_o /RWC (Tyree y Hammel 1972). Las especies difieren en su capacidad de mantener altos valores de P_t a medida que RWC y Ψ disminuyen. Esta diferencia en la capacidad de mantener turgencia puede producir dos fenómenos diferentes (Robichaux 1984): i) el valor máximo de Pt puede aumentar reflejando una disminución en el valor de de π a plena turgencia y *ii*) el ratio al que P_t disminuye con la disminución de RWC o Ψ puede disminuir, lo que refleja un incremento en la elasticidad del tejido.

BIBLIOGRAFIA

Abrams MD. 1990. Adaptations and responses to drought in *Quercus* species of North America. Tree Physiology 7: 227-238.

Abrams MD, Menges ES. 1992. Leaf ageing and plateau effect on seasonal pressure-volume relationships in three sclerophyllous *Quercus* species in southeastern USA. Functional Ecology 6: 353-360.

Boyer JS. 1969. Measurement of water status of plants. Annual Review Plant Physiology 20: 351-364.

Calkin HW y Pearcy RW. 1984. Leaf conductance and transpiration, and water relations of evergreen and decidious perennials co-ocurring in a moist chaparral site. Plant, Cell and Environment 7: 339-346.

Davis SD y Mooney HA. 1986. Tissue water relations of four co-ocurring chaparral shrubs. Oecologia 70: 527-535.

Hinckley TM, Duhme F, Hinckley AR y Richter H. 1980. Water relations of drought hardy shrubs: osmotic potential and stomatal reactivity. Plant, Cell and Environment 3: 131-140.

Millar BD y Hansen GK. 1975. Exclusion erros in pressure chamber estimates of leaf water potential. Annals of Botany 39: 915-920.

Nilsen ET, Sharifi MR, Rundel PW, Jarrell WM y Virginia RA. 1983. Diurnal and seasonal water relations of the desert phreatophyte Prosopis glandulosa (honey mesquite) in the Sonoran Desert of California. Ecology 64: 1381-1393.

Parker WC, Pallardy SG, Hinckley TM y Teskey RO. 1982. Seasonal changes in tissue water relations of three woody species of the *Quercus-Carya* forest type. Ecology 63: 1259-1267.

Passioura JB. The meaning of matric potential. Journal of Experimental Botany 31: 1161.

Roberts SW, Strain BR y Knoerr KR. 1980. Seasonal patterns of leaf water relations in four co-ocurring forest tree species:parameters from pressure-volume curves. Oecologia 46: 330-337.

Roberts SW, Strain BR y Knoerr KR. 1981. Seasonal variation in leaf tissue elasticity in four forest tree species. Physiology Plantarum 52: 245-250.

Robichaux RH. 1984. Variation in the tissue water relations of two sympatric Hawaiian *Dubautia* species and their natural hybrid. Oecologia 65: 75-81.

Scholander PF, Hammel HT, Bradstreet ED y Hemmingsen EA. 1965. Sap pressures in vascular plants. Science 148: 339-346.

Turner NC. 1981. Techniques and experimental approaches for the measurement of plant water status. Plant Soil 58: 339-366.

Turner NC, Spurway RA y Schulze ED. 1984. Comparison of water potentials measured by in situ psychrometry and pressure chamber in morphologically different species. Plant Physiology 74: 316-319.

Turner NC. 1987. The use of the pressure chamber in studies of plant water status. Proc. Int. Conf. Measurement Soil Plant Water Status 2: 13-24.

Tyree M.T. y Hammel HT. 1972. The measurement of the turgor pressure and the water relations of plants by the pressure-bomb technique. Journal of Experimental Botany 23: 267-282. Tyree MT, Dainty J y Benis M. 1973. The water relations of hemlock (*Tsuga canadiensis*). I. Some equilibrium water relations as measured by the pressure bomb tecnique. Canadian Journal of Botany 51: 1471-1480.

Tyree MT, Cheung YNS, MacGregor ME y Talbot AJB. 1978. The characteristics of seasonal and ontogenic changes in the tissue – water relations of *Acer, Populus, Tsuga* and *Picea*. Canadian Journal of Botany 56: 635-647.

Tyree MT y Jarvis PG. 1982. Water in tissues and cells. In: Lange, O.L.; Nobel, C.B.; Osmond, C.B. and Ziegler, H.; eds. Physiological Plant Ecology II. Water Relations and Carbon Assimilation. Berlin: Springer-Verlag, pp 35-77.

ANEXO III. Diagramas höfler de las especies de *Quercus* estudiadas



Variación de Ψ (potencial hídrico), P_t (potencial de turgencia) y π (potencial osmótico) con la pérdida de agua celular (**RWL**)







ANEXO IV. La fluorescencia de clorofila como herramienta en la fisiología vegetal

ANEXO IV

LA FLUORESCENCIA DE CLOROFILA COMO HERRAMIENTA EN LA FISIOLOGÍA VEGETAL

La inducción de la fluorescencia de clorofila es una herramienta muy empleada en fisiología vegetal para el estudio de los distintos estreses medioambientales (altas y bajas temperaturas, falta de agua, exceso de luz, etc.) que afectan a la fotosíntesis. Al ser una técnica que detecta los cambios en el estado fisiológico de las plantas, la convierte en una herramienta útil en el manejo de las masas forestales en el área mediterránea (Méthy et al. 1994). Los fluorímetros portátiles permiten estudiar la eficiencia del fotosistema II (PS II) y el transporte de electrones en el metabolismo del carbono en hojas expuestas а condiciones naturales (Schreiber et al. 1986).

Indicadores de intensidad de fluorescencia (Van Kooten y Snel 1990):

F (intensidad de fluorescencia): intensidad de fluorescencia en un momento dado.

 F_o (fluorescencia mínima): fluorescencia constante, intensidad de fluorescencia cuando todos los centros de reacción del PS II están abiertos mientras la membrana fotosintética se encuentra en estado no excitado, como por ej. en la oscuridad ($q_P = 1 y q_N = 0$).

 F_m (fluorescencia máxima): intensidad de fluorescencia cuando todos los centros de reacción del PS II se encuentran cerrados ($q_P = 0$) y todos los procesos de quenching no fotoquímico se encuentran al mínimo ($q_N = 0$), como por ej. en la oscuridad.

 F_m' (fluorescencia máxima): intensidad de fluorescencia cuando todos los centros de reacción del PS II se encuentran cerrados en cualquier estado de adaptación a la luz, (q_P = 0 y q_N ≥ 0).

 F_0 ' (fluorescencia mínima): intensidad de fluorescencia cuando todos los centros de reacción del PS II se encuentran abiertos en cualquier estado de adaptación a la luz, (q_P = 1 y q_N ≥ 0).

 F_v (fluorescencia variable): máxima fluorescencia variable cuando todos los procesos no fotoquímicos se encuentran al mínimo (F_m - F_o) (en oscuridad). F_v ' (fluorescencia variable): máxima fluorescencia variable en cualquier estado de adaptación a la luz (F_m ' - F_o ').

Parámetros de "quenching" de fluorescencia:

Se puede definir "quenching" como una disminución de la emisión de la fluorescencia de clorofila medida a intensidad de luz constante.

 ${\bf q}_{I\!\!P}$ (quenching fotoquímico): (Fm'- F)/ Fv'

 ${\bf NPQ}$ (quenching no fotoquímico): $(F_m \mbox{-} F_m') - 1. \label{eq:rescaled}$

BIBLIOGRAFÍA

Méthy M, Olioso A y Trabaud L. 1994. Chlorophyll fluorescence as a tool for management of plant resources. Remote Sens. Environm. 47: 2-9.

Schreiber U, Schliwa U y Bilger W. 1986. Continuous recording of photochemical chlorophyll fluorescenci quenching with a new type of modulation fluorometer. Photosynth. Res. 10: 51-62.

van Kooten O y Snel JFH. 1990. The use of chlorophyll fluoreescence in plant stress physiology. Photosynthesis Research 25: 147-150.