

LIMITACIONES ESTOMÁTICAS Y MESOFÍLICAS DE LA FOTOSÍNTESIS EN PLÁNTULAS Y ÁRBOLES MADUROS DE *QUERCUS FAGINEA* Y *Q. ILEX*

Sonia Mediavilla Gregorio y Alfonso Escudero Berian

Area de Ecología, Facultad de Biología, Universidad de Salamanca. Campus Unamuno s/n. 37007-SALAMANCA (España)

Resumen

Mediante el análisis de la relación entre fotosíntesis y concentración intercelular de dióxido de carbono, estimamos las limitaciones estomáticas y mesofílicas de la fotosíntesis en condiciones favorables de campo en plántulas y adultos de *Quercus ilex* L. y *Q. faginea* Lam. Observamos fuertes diferencias entre los dos estadios de crecimiento en los patrones de intercambio gaseoso, así como en los principales rasgos foliares. Las hojas de las plántulas de las dos especies mostraban menores valores de masa por unidad de área (LMA), espesor de la lámina foliar y concentraciones de nitrógeno. La menor disponibilidad de nitrógeno de las plántulas se traducía además en menores valores de actividad de Rubisco (V_{cmax}) y de la tasa de transporte de electrones (J_{max}). A pesar de ello, las tasas de asimilación de CO_2 de las plántulas resultaron similares a las de los adultos, gracias a una conductancia estomática mucho más elevada, que compensaba su menor eficiencia bioquímica. En consecuencia, las limitaciones estomáticas de la fotosíntesis tendían a aumentar fuertemente con la edad de los árboles. En ambos estadios de crecimiento *Q. ilex* mostraba menores tasas de asimilación de CO_2 , asociadas a menores conductancias estomáticas y menores V_{cmax} y J_{max} . Sin embargo, los cambios ontogenéticos, aunque eran similares en las dos especies desde el punto de vista cualitativo, mostraban diferentes intensidades, de tal forma que las características de las dos especies eran más similares en la fase de plántula que en los adultos. Las plántulas de ambas especies tendían a maximizar su productividad y su crecimiento, aumentando su conductancia estomática, aunque la limitación por la falta de nitrógeno contribuye a disminuir su eficiencia bioquímica y contrarresta en parte la tendencia a maximizar la productividad en las fases iniciales de su desarrollo. Las fuertes diferencias que observamos en la importancia relativa de las limitaciones estomáticas y mesofílicas entre plántulas y adultos significan que ambos estadios de crecimientos deben responder de maneras diferentes en un escenario de incremento de concentraciones atmosféricas de CO_2 y de cambio climático.

Palabras clave: Capacidad bioquímica, Conductancia estomática, Curvas de respuesta $A_{\text{area}}-c_i$, Estadios de crecimiento, Morfología foliar

INTRODUCCIÓN

La tasa de asimilación de CO_2 puede verse condicionada tanto por limitaciones estomáticas (WILSON et al., 2000), como por limitaciones

bioquímicas (SHARKEY, 1985). Caracterizar ambos tipos de limitaciones resulta obviamente indispensable para comprender las diferencias en productividad y estrategias en el empleo de los recursos de las distintas especies y para predecir

sus respuestas frente a un incremento en la concentración atmosférica de dióxido de carbono (KOSUGI et al., 2003). No obstante, del mismo modo que se ha mostrado con muchos otros aspectos de la morfología y fisiología foliar (DONOVAN & EHLERINGER, 1991; ENGLAND & ATTWILL, 2006), también la intensidad con que se manifiestan ambos tipos de limitaciones podría variar a lo largo de la ontogenia, lo que podría dar lugar a distintas respuestas a los cambios atmosféricos en distintos estadios de crecimiento. Por tanto, predecir las respuestas de las diversas las especies y ecosistemas de que forman parte frente al cambio climático requiere conocer las diferencias que en las limitaciones impuestas a la fotosíntesis pudieran acompañar a la ontogenia. Sin embargo, curiosamente, hasta la fecha, no se dispone de información sobre posibles diferencias en las limitaciones a la fotosíntesis asociadas a la edad del árbol.

En el presente trabajo pretendemos, aplicando el modelo de FARQUHAR et al. (1980), obtener una determinación cuantitativa de las limitaciones fotosintéticas en árboles adultos y plántulas de dos especies (la perennifolia *Quercus ilex* L. subsp *ballota* (Desf.) Samp. y la caducifolia *Q. faginea* Lam.) ampliamente distribuidas en áreas del interior de la Península, donde se encuentran además entre las más frecuentemente empleadas en los planes de reforestación. Ambas especies, a pesar de coexistir en amplias zonas, presentan rasgos foliares y patrones de intercambio gaseoso claramente diferenciados (MEDIAVILLA & ESCUDERO, 2003a). Puesto que tanto la conductancia estomática, como la capacidad bioquímica se ven fuertemente influidas por diversas características foliares (RIPULLONE et al., 2003), cabe esperar que se manifiesten diferencias entre estas dos especies también en el modo en que operan las distintas fuentes potenciales de limitación de la fotosíntesis. El primer objetivo de este estudio es investigar las diferencias y sus causas en las limitaciones estomáticas y bioquímicas a las máximas tasas de asimilación obtenidas en condiciones favorables, que nos ayuden a comprender mejor cómo estas dos especies difieren en su capacidad para asimilar carbono. Como segundo objetivo pretendemos comprobar qué limitación prevalece en diferentes fases de la ontogenia, si la impor-

tancia relativa de las limitaciones estomáticas y no estomáticas cambia con la edad del árbol y si, en este caso, el cambio es de similar magnitud en especies que difieren en longevidad foliar.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las dos especies seleccionadas fueron estudiadas en dos parcelas próximas localizadas en la provincia de Salamanca. Ambas especies estaban representadas en cada una de dichas parcelas. Los ejemplares adultos, de edad superior a los 100 años, fueron muestreados en una parcela adehesada. Las plántulas fueron estudiadas en otra parcela plantada en 1995 y replantada para los propósitos del presente experimento en octubre de 2003. Antes de la plantación, las plántulas habían crecido en vivero a lo largo de su primera estación de crecimiento. Las características climáticas y edáficas son bastante homogéneas para todo el área de estudio. El clima es Mediterráneo frío, con la mayor parte de las precipitaciones correspondiendo al invierno y primavera, y un periodo de sequía estival siempre presente. Los suelos, cambisoles dístricos, son pobres en material orgánica y contenido de nutrientes, mostrando un bajo pH y una capacidad de retención de agua media/baja (DORRONSORO, 1992).

Las mediciones de intercambio gaseoso se realizaron en hojas plenamente expandidas y expuestas al sol, mediante un equipo LI-6200 (Li-Cor Inc, Lincoln, NE, USA). Todas las mediciones tuvieron lugar durante la mañana y a lo largo de final de primavera y comienzos del verano (desde mediados de Mayo hasta mediados de Junio de 2006), evitando así el estrés hídrico estival y las horas del día de mayor estrés térmico. Para cada especie y estadio de crecimiento, estimamos en primer lugar la tasa de asimilación (Aarea) y conductancia estomática (g) obtenidas a concentración ambiente de CO₂ (360 µL.L⁻¹) y condiciones saturantes de luz. Posteriormente, procedimos a obtener las curvas de respuesta de la asimilación a la concentración interna de CO₂ (c_i), manipulando la concentración de dióxido de carbono en el aire de la cámara, en al menos 12 pasos, entre 50 y 800 µL.L⁻¹. Una vez obtenidas, analizamos las curvas de acuerdo al modelo de FARQUHAR et al.

(1980) y aplicamos métodos de regresión no lineal para estimar la máxima tasa de carboxilación de Rubisco (V_{cmax}) y la tasa de transporte de electrones bajo condiciones saturantes de luz (J_{max}). La limitación estomática de la fotosíntesis (L_s) era también calculada, a partir de las curvas $A_{area}-c_i$, aplicando el modelo de FARQUHAR & SHARKEY (1982).

Tras recoger todas las hojas empleadas en las mediciones de intercambios gaseosos, en el laboratorio estimamos su área (con un Delta-T Image Analysis System, Delta-T Devices Ltd., Cambridge, UK), espesor (con un micrómetro digital, Digimatic micrometer, Mitutoyo, Japan), peso seco (tras ser secadas a 70°C hasta peso constante) y peso por unidad de superficie (LMA). Finalmente, el contenido de N, que expresamos por unidad de área foliar (N_{area}) fue determinado a través de un autoanalizador (ThermoQuest, Milan, Italy).

Para establecer diferencias entre medias, recurrimos a un análisis de la varianza de dos vías (usando especies y estadios de crecimiento como fuente de variación) y al test de Fisher, empleando el programa estadístico SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

RESULTADOS

Las hojas de los ejemplares adultos mostraban mayor espesor, peso por unidad de superficie (LMA) y contenido de nitrógeno (N_{area}) que las de las plántulas de su misma especie (Figura 1). Dentro de cada estadio de crecimiento, la especie perennifolia exhibía las hojas más gruesas, con mayor LMA y más alto contenido de nitrógeno (Figura 1).

Por lo que se refiere a los parámetros de intercambio gaseoso obtenidos a concentración ambiente de CO_2 , las plántulas alcanzaban mayores conductancias estomáticas que los adultos, especialmente en el caso de *Q. ilex*. Sin embargo, mantenían una tasa de asimilación sólo similar o incluso inferior a la de los árboles maduros de su misma especie (Figura 1). Entre estos últimos, a *Q. ilex* le correspondían las menores tasas de asimilación y conductancias estomáticas. Entre las plántulas, sin embargo, aunque también *Q. faginea* exhibía mayores

tasas de asimilación, no detectamos diferencias interespecíficas significativas en conductancia estomática (Figura 1).

Analizando las curvas $A_{area}-c_i$ comprobamos que, para cualquier concentración interna de CO_2 , los adultos mostraban tasas de asimilación y una pendiente inicial de la curva siempre superior a la de las plántulas de su misma especie (datos no mostrados). En ambos estadios, *Q. ilex* exhibía menor tasa de asimilación y pendiente inicial de la curva de respuesta de A_{area} a c_i , si bien estas diferencias interespecíficas resultaban menos marcadas entre las plántulas.

Aunque la limitación estomática a la fotosíntesis (L_s), calculada a partir de las curvas $A_{area}-c_i$, era significativamente mayor en adultos que en plántulas para las dos especies, las diferencias entre estadios resultaban más acusadas para *Q. ilex* (Figura 1). Efectivamente, mientras que las hojas de los ejemplares adultos mostraban una L_s en torno a un 42% mayor que las de las plántulas en *Q. ilex*, la diferencia se reducía a un valor de L_s de en torno a un 25% mayor en adultos que en plántulas para *Q. faginea*. Esto se traduce en diferencias interespecíficas significativas en los dos estadios, pero, de nuevo, más acusadas entre los adultos que entre las plántulas de las dos especies.

V_{cmax} y J_{max} aparecían positivamente relacionadas con edad del árbol, alcanzando valores más altos entre los ejemplares adultos en ambas especies (Figura 1). En este caso, sin embargo, las diferencias entre estadios de crecimiento resultaban mucho más acentuadas para *Q. faginea*, cuyas plántulas mostraban valores de V_{cmax} and J_{max} en torno a un 50 y 30% respectivamente menores que los árboles adultos, mientras que en las plántulas de *Q. ilex* V_{cmax} y J_{max} se reducían a tan solo un 17 y 19% respecto a los adultos de la misma especie. En consecuencia, también la capacidad bioquímica resultaba más próxima entre las plántulas de las dos especies que entre los adultos, aunque en ambos casos los valores medios de ambos parámetros (V_{cmax} y J_{max}) eran mayores en la especie caducifolia que en *Q. ilex* (Figura 1).

DISCUSIÓN

En las dos especies estudiadas se observaban cambios cualitativamente similares durante la

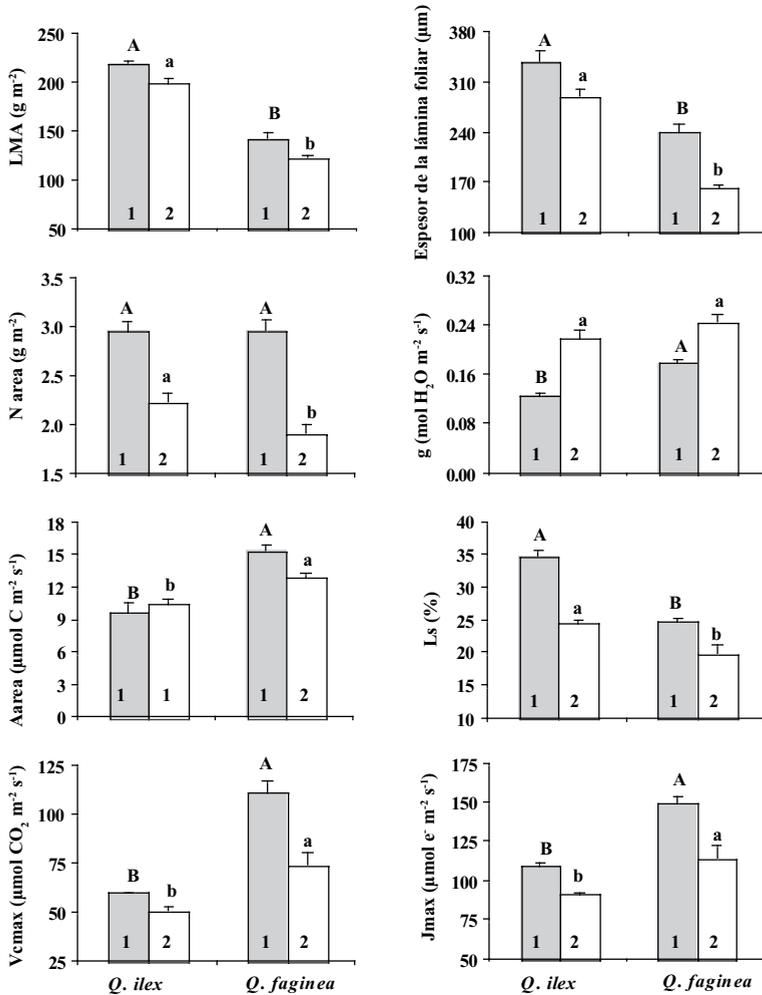


Figura 1. Valor medio (S.E.) del peso por unidad de superficie (LMA, n = 30), espesor de la lámina foliar (n = 30), contenido de N por unidad de superficie foliar (N_{area}, n = 30), conductancia estomática (g, n = 30), tasa de asimilación por unidad de área foliar (A_{area}, n = 30), limitación estomática (L_s, n = 15), máxima tasa de carboxilación de Rubisco (V_{cmax}, n = 15) y la tasa de transporte de electrones bajo condiciones saturantes de luz (J_{max}, n = 15), en árboles adultos (barras punteadas) y plántulas (barras blancas). Para cada especie, los números dentro de las barras indican diferencias significativas (P<0,05) entre adultos y plántulas. Diferentes letras mayúsculas sobre las barras punteadas indican diferencias significativas (P<0,05) entre especies en árboles adultos. Diferentes letras minúsculas sobre las barras blancas indican diferencias significativas (P<0,05) entre especies en plántulas

ontogenia, tanto en morfología, como en fisiología foliar. Al igual que han comprobado otros autores en otras diversas especies (DONOVAN & PAPPERT, 1998; ENGLAND & ATTWILL, 2006), los individuos adultos mostraban mayor LMA, espesor y contenido de nitrógeno foliar, probablemente reflejando un distinto acceso a los

recursos del suelo, como consecuencia del distinto tamaño y distribución de su sistema radical. Por su parte, las plántulas de ambas especies mostraban mucha mayor conductancia estomática que los adultos, aunque, debido a su menor capacidad bioquímica (menor V_{cmax} y J_{max}), alcanzaban tasas de asimilación similares o

incluso inferiores a las de los árboles maduros. La combinación de una menor conductancia y mayor capacidad bioquímica en los adultos daba como resultado una limitación estomática de la fotosíntesis mayor que en las plántulas.

Sin embargo, cuantitativamente, se apreciaban algunas diferencias notables en las tendencias observadas durante la ontogenia, que parecen revelar un cambio entre las hojas de nuestros dos *Quercus* en la prioridad en el uso de los recursos durante la transición del estadio de plántula al estadio adulto. En *Q. ilex* las diferencias entre etapas del crecimiento eran mucho más pronunciadas para la conductancia estomática que para la capacidad bioquímica. En esta especie, el incremento en capacidad bioquímica desde plántulas a adultos era menor que el esperado en función de las diferencias en N_{area} entre ambos estadios, teniendo en cuenta la relación constatada entre V_{cmax} y J_{max} con el contenido de nitrógeno foliar (RIPULLONE et al., 2003). Este resultado parece sugerir una mayor inversión de nitrógeno foliar en funciones de defensa y estructurales en las hojas con mayor LMA de los individuos adultos. Una mayor resistencia mesofílica en las hojas de los ejemplares adultos, debido a su mayor LMA y espesor que en plántulas, podría, no obstante, haber llevado también a una mayor subestimación de V_{cmax} en los árboles adultos.

En *Q. faginea*, el incremento en la edad del árbol era acompañado por un incremento mucho menos estricto en el control estomático que en *Q. ilex*. Sin embargo, la capacidad bioquímica de los adultos era mucho mayor que la de las plántulas, lo que sugiere que las plántulas de *Q. faginea* exhiben una limitación de nitrógeno más severa en comparación con *Q. ilex*, probablemente como consecuencia de un sistema radical en el que la mayor parte de su biomasa es destinada a la raíz principal, que facilita el acceso a las reservas de agua del suelo localizadas a mayor profundidad (observación personal).

En los dos estadios de crecimiento, las hojas de *Q. ilex* y *Q. faginea* mostraban características morfológicas y fisiológicas típicas de especies perennifolias y caducifolias respectivamente. Como ya se ha constatado repetidamente (REICH et al., 1999; MEDIAVILLA & ESCUDERO, 2003a), *Q. ilex* mostraba mayor LMA y espesor foliar y menor capacidad bioquímica y conductancia

estomática que *Q. faginea*. Pero, aunque las diferencias interespecíficas que observábamos eran similares en ambos estadios, las dos especies se asemejan más en fisiología y morfología foliar en la fase de plántula, manteniendo en estas etapas iniciales una estrategia más próxima que la de los adultos. Las plántulas de nuestros dos *Quercus* aparentemente tienden a maximizar su producción, manteniendo una alta conductancia estomática en condiciones favorables, tal y como otros autores han observado en otras especies (DONOVAN & EHLERINGER, 1991; CAVENDER-BARES & BAZZAZ, 2000).

Estos resultados constituyen una manifestación más de los compromisos en el ciclo de vida entre supervivencia y productividad. Las plántulas de *Q. ilex* mantienen un alto grado de apertura estomática para maximizar su productividad, a pesar del riesgo de mortalidad durante periodos de sequía, debido al descenso de las reservas de agua del suelo. Las propiedades de las hojas de los adultos revelan un cambio en la prioridad en el uso de los recursos desde un incremento en la actividad fotosintética en plántulas hacia un incremento en la persistencia en adultos, haciéndose en esta fase las hojas más xeromórficas. Los rasgos de las hojas de los individuos adultos de *Q. ilex* (menor g y mayor L_s , sumado a su mayor LMA, y espesor y densidad foliar) cabe esperar que mejoren su resistencia tanto frente a la sequía como al herbivorismo y a los daños mecánicos. En efecto, en trabajos previos hemos comprobado que la longevidad foliar media se incrementa en más de un año entre plántulas y árboles adultos de *Q. ilex* (MEDIAVILLA & ESCUDERO, 2003b). *Q. faginea*, sin embargo, es una especie caducifolia, cuya duración máxima de las hojas se limita a una estación de crecimiento. En este caso, la longevidad foliar media resultaba similar en ambos estadios, lo cual probablemente explica por qué el control estomático en los ejemplares adultos de esta especie es menos estricto que en los de *Q. ilex*.

Diferentes especies parecen, por tanto, favorecer distintas características ecofisiológicas en cada fase de su vida, dependiendo de las presiones selectivas que operan en cada caso. Es evidente, entonces, que las predicciones relativas a los árboles adultos basadas en los datos obtenidos con plántulas deben hacerse con precaución.

Agradecimientos

Este trabajo ha recibido financiación del Ministerio de Educación (proyecto n° BOS2002-02165) y de la Universidad de Salamanca (Proyecto n° USAL2005-18).

BIBLIOGRAFÍA

- CAVENDER-BARES, J. & BAZZAZ, F.A.; 2000. Changes in drought response strategies with ontogeny in *Quercus rubra*: implications for scaling from seedlings to mature trees. *Oecologia* 124: 8-18.
- DONOVAN, L.A. & EHLERINGER, J.R.; 1991. Ecophysiological differences among juvenile and reproductive plants of several woody species. *Oecologia* 86: 594-597.
- DONOVAN, L.A. & PAPPERT, R.A.; 1998. Ecophysiological differences among growth stages of *Quercus laevis* in a sandhill oak community. *J. Torrey Bot. Soc.* 125: 3-10.
- DORRONSORO, F.; 1992. El medio físico-químico: suelos. En: Junta de Castilla y León (eds.), *El Libro de las Dehesas Salmantinas*: 71-124. Salamanca, Spain.
- ENGLAND, J.R. & ATTIWILL, P.M.; 2006. Changes in leaf morphology and anatomy with tree age and height in the broadleaved evergreen species, *Eucalyptus regnans* F. Muell. *Trees* 20: 79-90.
- FARQUHAR, G.D.; VON CAEMMERER, S. & BERRY, J.A.; 1980. A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C3 species. *Planta* 149: 78-90.
- FARQUHAR, G.D. & SHARKEY, T.D.; 1982. Stomatal conductance and photosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 33: 317-345.
- KOSUGI, Y.; SHIBATA, S. & KOBASHI, S.; 2003. Parameterization of the CO₂ and H₂O gas exchange of several temperate deciduous broad-leaved trees at the leaf scale considering seasonal changes. *Plant Cell Environ.* 26: 285-301.
- MEDIAVILLA, S. & ESCUDERO, A.; 2003a. Mature trees versus seedlings: differences in leaf traits and gas exchange patterns in three co-occurring Mediterranean oaks. *Ann. For. Sci.* 60: 455-460.
- MEDIAVILLA, S. & ESCUDERO, A.; 2003b. Photosynthetic capacity integrated over the lifetime of a leaf is predicted to be independent of leaf longevity in some tree species. *New Phytol.* 159:203-211.
- REICH, P.B.; ELLSWORTH, D.S.; WALTERS, M.B.; VOSE, J.M.; GRESHAM, C.; VOLIN, J.C. & BOWMAN, W.D.; 1999. Generality of leaf trait relationships: A test across six biomes. *Ecology* 80 1955-1969.
- RIPULLONE, F.; GRAS, G.; LAUTERI, M. & BORGHETTI, M.; 2003. Photosynthesis-nitrogen relationships: interpretation of different patterns between *Pseudotsuga menziesii* and *Populus x euroamericana* in a mini-stand experiment. *Tree Physiol.* 23: 137-144.
- SHARKEY, T.D.; 1985. Photosynthesis in intact leaves of C3 plants: physics, physiology and rate limitations. *Bot. Rev.* 51:53-105.
- WILSON, K.B.; BALDOCCHI, D.D. & HANSON, P.J.; 2000. Quantifying stomatal and non-stomatal limitations to carbon assimilation resulting from leaf aging and drought in mature deciduous tree species. *Tree Physiol.* 20:787-797.