



Universidad de Concepción

Dirección de Postgrado

Facultad de Ciencias Forestales - Programa de Magíster en Cs. Forestales

**Respuestas en parámetros de intercambio gaseoso para genotipos de
Eucalyptus globulus sometidos a déficit hídrico y su relación con su
crecimiento inicial en campo.**

Tesis para optar al grado de Magíster en Ciencias Forestales

MARIA CRISTINA SILVA FERNANDEZ

CONCEPCIÓN-CHILE

2017

Profesor Guía: Rafael Rubilar Pons

Dpto. de Silvicultura, Facultad de Ciencias Forestales

Universidad de Concepción

RESPUESTAS EN PARÁMETROS DE INTERCAMBIO GASEOSO PARA GENOTIPOS DE *Eucalyptus globulus* SOMETIDOS A DÉFICIT HÍDRICO Y SU RELACIÓN CON SU CRECIMIENTO INICIAL EN CAMPO.

Comisión Evaluadora:

Rafael Rubilar Pons (Profesor guía)

Ingeniero Forestal, PhD.

Eduardo Peña Fernández (Comisión evaluación)

Ingeniero Forestal, Dr.

Jorge Jara Ramírez (Comisión evaluación)

Ingeniero Agrónomo, PhD.

Director de Postgrado:

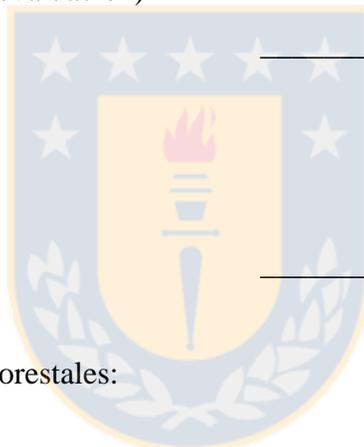
Regis Teixeira Mendoça

Ingeniero Químico, Dr.

Decano Facultad de Ciencias Forestales:

Jorge Cancino Cancino

Ingeniero Forestal, Dr.



AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue realizada en el marco de desarrollo del “Proyecto FONDEF D1111161 Eucahydro: Herramientas para evaluación temprana de genotipos de *Eucalyptus* de mayor eficiencia en el uso, consumo de agua y resistencia a la sequía” y el patrocinio y participación de Forestal Mininco S.A., Forestal Arauco S.A. (Forestal Celco S.A.), Bioforest S.A., Genómica S.A., el Laboratorio de Suelos, Nutrición y Productividad Forestal Sustentable de la Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad de Concepción y la Cooperativa de Productividad Forestal. El financiamiento y generoso apoyo de todas las instituciones para concretar la investigación desarrollada es enormemente agradecido.



TABLA DE CONTENIDOS

Índice de tablas	v
Índice de figuras	vi
Resumen General.....	vii
Abstract.....	viii
Introducción General	1
Capítulo I: Respuesta en parámetros de intercambio gaseoso y supervivencia en plantas jóvenes de genotipos comerciales de <i>Eucalyptus</i> spp sometidas a déficit hídrico.	3
Capítulo II: Uso de variables de intercambio gaseoso, medidas en plantas sometidas a déficit hídrico, como predictores del crecimiento inicial de genotipos de <i>Eucalyptus globulus</i>	25
Discusión General	49
Conclusión General	51
Referencias Generales	52

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Coeficientes de correlación ($N = 35$) para el porcentaje de supervivencia y las variables instantáneas de intercambio gaseoso y potencial hídrico foliar de prealba evaluadas en plantas de <i>Eucalyptus</i> spp medidas en instancias de muestreo equivalentes a $-0,03$ MPa (M0), $-1,5$ MPa (M1.5) y $-2,5$ MPa (M2.5) de potencial hídrico del sustrato.....	17
Tabla 2. Medias de la conductancia estomática (g_s), transpiración instantánea (E), fotosíntesis instantánea (A_N), eficiencia instantánea en el uso de agua (EUA_i) y eficiencia intrínseca en el uso de agua (A_N/g_s) evaluadas en plántulas de seis genotipos de <i>Eucalyptus globulus</i> sometidas a condiciones crecientes de déficit hídrico, correspondientes a contenido de humedad del sustrato equivalente potencial hídrico de $-0,03$ MPa (M0), $-1,5$ MPa (M1.5) y $-2,5$ MPa (M2.5), respectivamente.....	34
Tabla 3. Nivel de significancia (valor P) de las fuentes de variación del crecimiento en el experimento de campo a 1, 5 y 12 meses desde plantación. Fuente: Elaboración propia.	36
Tabla 4. Media de las variables de crecimiento de los seis genotipos de <i>Eucalyptus globulus</i> registradas después de 1, 5 y 12 meses de establecida la plantación en los tratamientos Riego (R) y Secano (S).....	39
Tabla 5. Coeficientes de correlación de Pearson ($n = 18$) para las variables de crecimiento medidas en campo a los 12 meses de establecimiento en los tratamientos Riego y Secano, y las variables de intercambio gaseoso de genotipos de <i>Eucalyptus globulus</i> evaluadas en plántulas sometidas a condiciones crecientes de déficit hídrico equivalentes a potencial hídrico matricial de $-0,03$ MPa (M0), $-1,5$ MPa (M1.5) y $-2,5$ MPa (M2.5) en vivero. Sólo se incluyen los coeficientes de correlación significativos ($P < 0,05$).....	41
Tabla 6. Parámetros de ajuste y estadísticos de los modelos de regresión lineal simple que relacionan el crecimiento acumulado después de 12 meses de establecida una plantación con la E medida en condiciones sin estrés hídrico en plántulas de <i>Eucalyptus globulus</i>	42

INDICE DE FIGURAS

<p>Figura 1. Media del potencial hídrico foliar de prealba medido a los 35 genotipos de <i>Eucalyptus</i> spp en los tratamientos control (A) y sequía (B) en las instancias de muestreo equivalentes a -0,03 MPa (M0), -1,5 MPa (M1.5) y -2,5 MPa (M2.5) de potencial hídrico del sustrato del tratamiento de sequía.....</p>	12
<p>Figura 2. Variación de la media de la conductancia estomática ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (A) y de la media de la transpiración instantánea ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (B) con respecto a la media del potencial hídrico foliar de prealba (MPa) observado en los 35 genotipos de <i>Eucalyptus</i> spp medidos en el tratamiento de sequía en las instancias de muestreo equivalentes a -0,03 MPa (M0), -1,5 MPa (M1.5) y -2,5 MPa (M2.5) de potencial hídrico del sustrato.....</p>	13
<p>Figura 3. Relación entre la media de la tasa instantánea de fotosíntesis (A_N, $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y la media de la conductancia estomática (g_s, $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) de los 35 genotipos de <i>Eucalyptus</i> spp medidos en el tratamiento de sequía en las instancias de muestreo equivalentes a A) -0,03 MPa, B) -1,5 MPa y C) -2,5 MPa de potencial hídrico del sustrato</p>	14
<p>Figura 4. Media de la fotosíntesis instantánea máxima (A_N, $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$) para grupos de genotipos de <i>Eucalyptus</i> spp que en el tratamiento de sequía presentaron valores constantes entre instancias de muestreo (A), presentaron disminuciones significativas entre la segunda (M1.5) y tercera (M2.5) instancia de muestreo (B) y presentaron disminuciones significativas entre la primera (M0) y la tercera instancia de muestreo (M2.5) (C).....</p>	14
<p>Figura 5. Media de la eficiencia instantánea en el uso de agua (EUA_i, $\mu\text{mol CO}_2 \text{mmol}^{-1} \text{H}_2\text{O}$) medida a los 35 genotipos de <i>Eucalyptus</i> spp del tratamiento de sequía en las instancias de muestreo equivalentes a -0,03 MPa (M0), -1,5 MPa (M1.5) y -2,5 MPa (M2.5) de potencial hídrico del sustrato</p>	16
<p>Figura 6. Altura total (Ht), diámetro a 10 cm desde el suelo (D), diámetro a 1,3 m de altura (DAP) y volumen acumulado por árbol (Vol) de los seis genotipos de <i>Eucalyptus globulus</i> medidos después de 12 meses de establecida la plantación en los tratamientos Secano y Riego. Los datos corresponden a media \pm error estándar ($n = 27$). Letras indican diferencias significativas entre genotipos de cada tratamiento de riego.....</p>	40

RESUMEN GENERAL

En Chile, las plantaciones forestales son de gran importancia económica, siendo *Eucalyptus globulus* la de mayor presencia en su género. El establecimiento de plantaciones es una de las etapas más críticas en el ciclo forestal y su éxito depende en gran medida de la resistencia al estrés hídrico que presenten las plantas establecidas. A partir de esta necesidad se han implementado mejoras en el proceso de producción de plantas junto con el desarrollo de programas de selección genética que permitan mejorar el desempeño de las plantas establecidas. El estudio de las respuestas fisiológicas en condiciones de baja disponibilidad de agua puede proporcionar una base sólida para la identificación de especies y genotipos capaces de tolerar largos periodos de sequía, pero no existe claridad acerca de qué variables fisiológicas pueden ser utilizadas para identificar tempranamente materiales genéticos más adaptables o resistentes para sitios con limitaciones hídricas. El objetivo de este estudio es establecer relaciones entre variables de intercambio gaseoso medidas en plantas bajo condiciones de estrés hídrico semi controladas y el crecimiento acumulado al primer año post-plantación, que permitan la identificación temprana de genotipos aptos para su establecimiento en sitios con limitaciones hídricas. Los resultados obtenidos muestran que existen correlaciones significativas entre algunos parámetros de intercambio gaseoso medidos en etapas tempranas de desarrollo (conductancia estomática (g_s), transpiración instantánea (E) y fotosíntesis instantánea (A_N)) y el crecimiento, que permiten la selección de genotipos de mayor crecimiento acumulado al primer año de crecimiento tanto en sitios con abundante riego, como en aquellos en que el riego se realiza sólo durante los primeros meses de establecimiento. Estos resultados permiten sentar las bases para futuros estudios que aborden, además, la identificación de las respuestas fisiológicas de los genotipos frente al déficit hídrico y que permitan estimar tanto el crecimiento como la supervivencia en sitios que no consideren riego durante la etapa de establecimiento. Asimismo, apoya la definición de una metodología operacionalmente eficiente para diferenciar genotipos o tipos de plantas más aptos para ser establecidos en sitios con características específicas en cuanto a la disponibilidad de agua en el suelo.

ABSTRACT

In Chile, forest plantations are of great economic importance, being *Eucalyptus globulus* the most important species in the genera. Establishment is one of the most critical stages in the forest cycle and its success highly depends on drought stress resistance of the planted seedlings. Improvements in seedlings production and intensive genetic selection have been emphasized to improve early performance of the planted seedlings. The study of physiological responses to drought may add new knowledge for the identification of species and genotypes which may be able to overcome long drought periods, but there is not enough understanding about the physiological traits that permit an early selection of genetic material for success under field conditions. The purpose of this study was to investigate the potential use of gas exchange parameters evaluated in nursery seedlings under semi controlled conditions and field cumulative growth one year after establishment. Significant correlations were observed between stomatal conductance (g_s), instantaneous transpiration (E) and instantaneous photosynthesis (A_N) with first year of plant development in the field. Our results suggest that physiological parameters may allow the selection of genotypes with higher growth rates, both in sites with abundant irrigation and sites with limiting water availability after planting. These results could be relevant for future studies that include strategies of genotypes responses to water deficit, including both growth and survival rates at the establishment phase. Likewise, these results support the definition of an operational methodology to select genotypes or seedlings suitable to be established in sites with specific characteristics regarding soil water availability.

INTRODUCCIÓN GENERAL

Las plantaciones forestales en Chile cubrían al año 2014 una superficie estimada de 2.426.722 de hectáreas, siendo *Eucalyptus globulus* Labill la segunda especie de mayor presencia con una superficie correspondiente al 23,6% del total de plantaciones (INFOR 2016). Cerca del 80% de la superficie plantada en el país se encuentra localizada entre las regiones del Maule y Araucanía (INFOR 2016), las cuales presentan predominantemente un clima mediterráneo, caracterizado por lluvias durante la estación fría, un periodo seco durante la estación cálida y un régimen térmico subtropical (INIA 1989).

La importancia comercial de *E. globulus*, es atribuida a su alta productividad y calidad pulpable (Guarnaschelli *et al.* 2006), siendo el establecimiento una de las etapas más críticas debido a que el déficit hídrico experimentado posterior al trasplante reduce el crecimiento y la supervivencia de las plantas establecidas (Burdett 1990, White *et al.* 1996, Guarnaschelli *et al.* 2006, White *et al.* 2009). El crecimiento experimentado por las empresas forestales chilenas en las últimas décadas ha permitido que los viveros forestales implementen mejores tecnologías y procedimientos para la propagación de plantas (Coopman *et al.* 2008), enfocándose en desarrollar aquellos atributos que mejoran la supervivencia durante el establecimiento. Una de las estrategias para mejorar el rendimiento de las plantas al ser establecidas en campo es inducir aquellos atributos que mejoran la resistencia al estrés hídrico, a través de regímenes de riego y fertilización específicos (Escobar 2007). Asimismo, se han incorporado programas de mejora genética y de selección clonal para asegurar el desarrollo de materiales genéticos de mayor productividad y calidad pulpable, así como aquellos genotipos más aptos para su establecimiento en sitios con limitaciones para el crecimiento. A pesar de estos significativos avances, poco se ha estudiado respecto a cuáles son los atributos fisiológicos que mejoran el rendimiento inicial o como estos puedan utilizarse para optimizar los métodos de selección de plantas o genotipos para sitios específicos (Navarrete-Campos *et al.* 2013). Pita *et al.* (2005) proponen que la incorporación de parámetros fisiológicos en los programas de mejora genética requiere que estos cumplan con las siguientes características: (1) deben ser fáciles de medir en gran cantidad de plantas, (2) la variación genotípica debe ser identificable, (3) deben mostrar una significativa heredabilidad y (4) deben permitir a los

programas de mejoramiento genético identificar los mejores y peores genotipos; asimismo, Pita y Pardos (2007) agregan que para el caso de especies forestales se debe considerar la correlación juvenil-adulto si se realiza una selección precoz de genotipos. A pesar de la dificultad de encontrar variables que cumplan con estas características y que además permitan seleccionar genotipos en distintas etapas de desarrollo (Pita y Pardos 2007, Granda *et al.* 2014), se ha propuesto que las variables de intercambio gaseoso puedan ser utilizadas con esta finalidad (Wang *et al.* 2003, Pita *et al.* 2005, Pardos 2007), junto con la eficiencia en el uso de agua (Medrano *et al.* 2007, Pita *et al.* 2005, Flexas *et al.* 2013, Navarrete-Campos *et al.* 2013). Sin embargo, las dificultades en la disponibilidad de técnicas de medición para establecer relaciones entre variables fisiológicas y el crecimiento, que permitan desarrollar metodologías para incorporar estas variables dentro de los métodos de selección de materiales genéticos específicos, han sido indicados como limitantes (Pita y Pardos 2007).

En este escenario, el presente estudio evalúa las respuestas en intercambio gaseoso de plántulas de *Eucalyptus* spp sometidas a condiciones crecientes de déficit hídrico para, posteriormente, establecer relaciones entre las variables de intercambio gaseoso evaluadas y el rendimiento inicial de una plantación de *E. globulus*. El objetivo es determinar la capacidad de las variables de intercambio gaseoso como predictores del desarrollo temprano de materiales genéticos de interés comercial que sean más adecuados para sitios que presenten limitaciones hídricas en su desarrollo.

CAPÍTULO I

Respuesta en parámetros de intercambio gaseoso y supervivencia en plantas jóvenes de genotipos comerciales de *Eucalyptus* spp sometidas a déficit hídrico

Autores: María Silva, Rafael Rubilar, Juan Espinoza, Marco Yáñez, Verónica Emhart, Juan José Quiroga

Artículo publicado en Bosque 38(1):79-87

RESUMEN

En los últimos años, la mejora genética de especies de *Eucalyptus* en Chile se ha enfocado en el aumento de la productividad y mejor adaptación a condiciones de sitio limitantes para el crecimiento. Sin embargo, se desconocen las respuestas fisiológicas que condicionan este comportamiento frente a eventos de sequía. Estimaciones fisiológicas a nivel de planta pueden ser de gran relevancia para predecir la supervivencia de genotipos de *Eucalyptus* ante eventos de estrés hídrico severo. En el presente estudio se evaluó la fotosíntesis neta (A_N), transpiración (E), conductancia estomática (g_s) y eficiencia instantánea en el uso de agua (EUA_i) en genotipos de *Eucalyptus globulus*, *E. nitens*, *E. badjensis*, *E. smithii* e híbridos *E. globulus* x *E. nitens* y *E. camaldulensis* x *E. globulus* creciendo en sustratos con potenciales hídricos de -0,03 MPa, -1,5 MPa y -2,5 MPa. La supervivencia de cada material genético se relacionó con las variables fisiológicas mencionadas. Los resultados obtenidos muestran que los genotipos con mayor supervivencia son aquellos que, en condiciones de déficit hídrico, controlan la pérdida de agua a través de ajuste estomático y son capaces de mantener altas tasas fotosintéticas al aumentar el déficit hídrico. La relación negativa observada entre la supervivencia y las variables de intercambio gaseoso, en particular la fotosíntesis, sugiere que la evaluación de estos parámetros bajo condiciones en el sustrato de alta disponibilidad de agua (-0,03 MPa) y estrés hídrico moderado (-1,5 MPa), puede ser de utilidad para la selección de genotipos con mayor éxito al establecimiento en sitios con limitantes hídricas.

Palabras clave: estrés hídrico, asimilación de carbono, uso de agua, clon, híbrido.

ABSTRACT

In the last decades, breeding programs for *Eucalyptus* species in Chile have mainly focused in increasing productivity and adaptation. However, little is known about how droughts and climate change may influence physiological responses that determine tree growth. Evaluating leaf-level physiology may be important to predict survival of eucalyptus genotypes under severe water stress. This study assessed net photosynthesis (A_N), stomatal conductance (g_s), transpiration (E) and instantaneous water use efficiency (WUE_i) in *Eucalyptus globulus*, *E. nitens*, *E. badjensis*, *E. smithii* and *E. globulus* x *E. nitens* and *E. camaldulensis* x *E. globulus* hybrids genotypes under increasing water stress conditions. Survival of each genotype was related to the observed physiological responses at -0.03 MPa, -1.5 MPa and -2.5 MPa soil water potentials. Higher plant survival was observed on genotypes with reduced water loss due to stomatal adjustment under water deficit, and on genotypes that could maintain initial photosynthetic rates under increased water deficit despite reductions in stomatal conductance. A negative relationship between plant survival and gas-exchange parameters suggest that photosynthesis rate, under high water availability (-0.03 MPa) and moderate water deficit (-1.5 MPa), may be a useful indicator for early selection of genotypes at sites under water limitations.

Keywords: Water stress, carbon assimilation, water use, clones, hybrids.

INTRODUCCIÓN

Las plantaciones del género *Eucalyptus* se han expandido mundialmente logrando cubrir una superficie aproximada de 20 millones de hectáreas (Hubbard *et al.* 2010). En Chile, las plantaciones de este género son de gran importancia económica alcanzando las 800 mil hectáreas plantadas al año 2013 (INFOR 2015). Las principales especies plantadas son *Eucalyptus globulus* Labill y *E. nitens* H. Deane *et* Maiden, siendo *E. globulus* seleccionado por su mejor rendimiento pulpable, mientras que *E. nitens* por su alta tasa de crecimiento en ambientes más fríos. Durante los últimos años se ha desarrollado un creciente interés por la selección de genotipos de mayor productividad y mejor calidad de madera, con la incorporación de la mejora genética enfocada al desarrollo de híbridos entre estas y otras especies. Sin embargo, no se ha tenido en consideración la evaluación de las características fisiológicas y genéticas que establecen las diferencias en el rendimiento de los distintos genotipos de interés productivo, y que regulan su crecimiento y productividad en distintas condiciones climáticas y edáficas (Navarrete-Campos *et al.* 2013).

En la actualidad, el déficit hídrico, acrecentado por las posibles consecuencias del cambio climático, es considerado el principal factor ambiental limitante del crecimiento y productividad de plantaciones con fines comerciales, especialmente en climas mediterráneos o en ambientes semiáridos (Chaves *et al.* 2003). Por ello, existe preocupación acerca del efecto que éste pueda causar sobre la productividad de las plantaciones en distintos ambientes de crecimiento (Chaves *et al.* 2009). Por otra parte, la necesidad de aumentar la superficie plantada en Chile, ha generado que el establecimiento de plantaciones en Chile se realice en sitios cada vez más restrictivos para el crecimiento, como lo son el secano costero y la Pre Cordillera de Los Andes (Coopman *et al.* 2008).

Las respuestas de las plantas a la escasez de agua son complejas, incluyendo cambios adaptativos y/o efectos deletéreos (Chaves *et al.* 2002). Las estrategias para hacer frente al estrés hídrico generalmente implican una serie de mecanismos cruzados entre estrategias para evitar y/o tolerar el estrés, las cuales interactúan sinérgica y antagónicamente con otros estreses, además de variar con el genotipo (Chaves *et al.* 2002). Estas respuestas pueden ser a nivel fisiológico y morfológico tales como cambios en la estructura de la planta, tasas de

crecimiento, eficiencia en el uso de agua, potencial tisular osmótico, la conductancia estomática (Li y Wang 2003), reducción del potencial hídrico de prealga, y aumento en la concentración de osmolitos, antioxidantes y pigmentos del ciclo de las xantófilas en hojas y tallos (Navarrete-Campos *et al.* 2013).

Estos mecanismos tienden a restringir la productividad potencial de plantaciones por inhibición de la expansión celular (Costa e Silva *et al.* 2004) y, principalmente, por la disminución del balance de carbono en la planta, el cual es altamente dependiente de la fotosíntesis (Flexas *et al.* 2009). Por ello, las respuestas fotosintéticas en condiciones de estrés hídrico han sido ampliamente estudiadas, teniendo especial énfasis en los factores tanto difusivos como bioquímicos, que la limitan (Chaves *et al.* 2002, Chaves *et al.* 2003, Galmés *et al.* 2007, Flexas *et al.* 2009). Bajo condiciones de estrés hídrico moderado, la conductancia estomática ha sido reportada como la principal causa de disminución de fotosíntesis (Medrano *et al.* 2002, Chaves *et al.* 2003). Sin embargo, la disminución de la tasa fotosintética no sólo es explicada por este factor, sino que también por otros como cambios en la de difusión del CO₂ y en la conductancia de éste a través del mesófilo (Flexas *et al.* 2009). Algunas investigaciones señalan que la buena correlación existente entre conductancia estomática y fotosíntesis permite usarla como referencia para evaluar estrés hídrico (Medrano *et al.* 2002, Pita *et al.* 2005, Eksteen *et al.* 2013) y, en consecuencia, evaluar los efectos de la mejora genética en la resistencia a la sequía sobre el crecimiento (Wikberg y Ögren 2004). El análisis de estos procesos fisiológicos que regulan los flujos de agua en las plantas (absorción y pérdida) permiten cuantificar la eficiencia con la que éstas usan el agua. De este modo, se define la eficiencia en el uso de agua (*EUA*) como el volumen de agua que las plantas necesitan consumir (evapotranspiración) para incorporar a su biomasa una determinada cantidad de carbono proveniente de la atmósfera (Medrano *et al.* 2007). Las medidas de intercambio de gases en hojas permiten determinar la fotosíntesis neta y la transpiración y, con ello, la eficiencia instantánea en el uso del agua (*EUA_i*) a escala foliar como el cociente de estos dos parámetros (Medrano *et al.* 2007). En estudios de la variación de la *EUA_i* en distintos genotipos y condiciones de disponibilidad de agua en el suelo, se ha reportado que las diferencias encontradas dependen de la estrategia de respuesta de los genotipos al déficit hídrico, atribuidas a variaciones en el intercambio gaseoso (Pita *et al.* 2005, Medrano *et al.*

2007, Navarrete-Campos *et al.* 2013) y ha sido considerado de interés para evaluar la adaptación de genotipos a condiciones de sequía (Li 2000, Dye 2000).

Los parámetros de intercambio gaseoso (fotosíntesis, conductancia estomática y transpiración) y su efecto sobre la eficiencia instantánea del uso de agua se han identificado como herramientas potenciales para seleccionar genotipos con mejor comportamiento frente al estrés hídrico, pero existe discusión acerca de cuáles son los más apropiados dado que el crecimiento y uso de agua dependen también de la especie, edad e interacciones con el medio ambiente (Pardos 2007). La identificación de los parámetros, que en etapas tempranas de desarrollo permitan mejorar los criterios de selección de genotipos productivos, resistentes a la sequía y más eficientes en el uso de agua, son relevantes dado las condiciones climáticas cambiantes que restringen el crecimiento y sobrevivencia de las plantas en el establecimiento. Para ello, es necesario generar información que permita comprender la relación entre la respuesta fisiológica de nuevos genotipos seleccionados en etapas tempranas de desarrollo, las condiciones del sitio para su establecimiento y la posibilidad de evaluar el riesgo de supervivencia y desarrollo temprano de cada material frente a condiciones de estrés hídrico.

La hipótesis propuesta en el presente estudio establece que las variables de intercambio gaseoso: conductancia estomática, fotosíntesis instantánea y transpiración, en plántulas sometidas a distintos niveles de estrés hídrico, permitirían identificar genotipos de *Eucalyptus* spp con mayor supervivencia en sitios de disponibilidad hídrica limitante en etapas tempranas de desarrollo. Para ello, se evalúa la respuesta en intercambio gaseoso y su efecto en la eficiencia instantánea en el uso de agua para 35 genotipos comerciales de *E. globulus*, *E. nitens*, *E. badjensis* Beuzev *et* M.B. Welch, *E. smithii* R.T. Baker e híbridos *E. globulus* x *E. nitens* y *E. camaldulensis* Dehnh x *E. globulus*, sometidos a condiciones crecientes de estrés hídrico y la relación de cada parámetro de intercambio gaseoso evaluado con la supervivencia de cada material genético.

METODOLOGÍA

Material vegetal.

El estudio consideró 35 genotipos de *Eucalyptus globulus* (Eg1-Eg24), *E. nitens* (En1, En2), *E. badjensis* (Eb), *E. smithii* (Es) e híbridos *E. globulus* x *E. nitens* (Egn1-Egn6) y *E. camaldulensis* x *E. globulus* (Ecg) desarrollados por Forestal Mininco S.A. y Arauco S.A con fines comerciales. Las plantas se produjeron en contenedores de 110 cm³ con sustrato de corteza de pino (*Pinus radiata* D. Don) compostada según los criterios establecidos por las empresas. Después de cuatro meses de desarrollo, 36 plantas por genotipo se seleccionaron para el ensayo. Para la selección de plantas se consideraron características morfológicas (altura y diámetro de cuello) y ausencia de daños o enfermedades. Estas plantas se establecieron en cajas de poliestireno expandido de 0,033 m³ con sustrato de compost de corteza de pino.

La aclimatación al medio de crecimiento tuvo una duración de tres semanas previas al inicio del ensayo. Para ello, las plantas se regaron cada dos días, manteniendo el sustrato entre un 75-100 % del contenido de humedad equivalente a capacidad de campo (-0,03 MPa). Cada siete días se realizó fertilización a nivel de sustrato con Phostrogen® (NPK 13-10-27, S, Mg, Ca, Fe, B, Mn, Cu y Mo, Bayer Garden, Cambridge, UK) a una concentración de 1 g por cada litro de agua. Posterior a este período se establecieron dos tratamientos diferenciados por gradiente de humedad.

El ensayo se llevó a cabo en el vivero experimental de la Universidad de Concepción entre el 13 de enero y el 7 de febrero de 2014, periodo de tiempo necesario para que las plantas alcanzaran las condiciones de estrés hídrico establecidas para la realización de las mediciones y muestreos correspondientes (ver detalle más adelante).

Establecimiento de tratamientos.

Se establecieron dos tratamientos con gradientes de humedad contrastantes: tratamiento control, consistente en mantener el riego en condiciones de capacidad de campo (-0,03 MPa), y tratamiento sequía, donde se eliminó por completo el riego para obtener la

disminución progresiva de la cantidad de agua disponible para las plantas en el medio de crecimiento. En ambos tratamientos las plantas se cubrieron para impedir la adición no controlada de agua por precipitación. Dos cajas por genotipo, cada una con 12 plantas, se establecieron para cada tratamiento. El monitoreo del contenido de humedad del sustrato se realizó cada dos días con un equipo TDR (*Time Domain Reflectometry*) previamente calibrado en base al contenido de humedad gravimétrico (CH_w , g de agua / g de sustrato) de muestras de sustrato a distintos niveles de humedad, los cuales fueron posteriormente asociados con la curva de retención de humedad del sustrato que estableció los potenciales hídricos del sustrato (Ψ_{sustrato}) críticos para el experimento.

Instancias de muestreo.

A partir de la disminución del contenido de humedad del tratamiento de sequía, se determinaron tres instancias de muestreo en las cuales se evaluó el comportamiento fisiológico de cada material genético considerado en el experimento. Cada instancia de muestreo se estableció como el contenido de humedad del sustrato, registrado en el tratamiento de sequía, equivalente a valores de potencial hídrico del sustrato de -0,03 MPa (M0), -1,5 MPa (M1.5) y -2,5 MPa (M2.5).

Potencial hídrico foliar de prealba.

El potencial hídrico foliar de prealba (Ψ_{prealba}) se midió con una cámara de presión Scholander (Soil Moisture Equipment Corp, CA, USA) en horarios de pre-alba (4:00 a 6:00 h). La medición se realizó a tres plantas por tratamiento seleccionando hojas del tercio superior de las mismas. Dado que todas las especies presentaban hojas sésiles, al extraer la hoja se cortó la base de la vena principal de forma de separarla del resto de la hoja para utilizarla como peciolo.

Variables instantáneas de intercambio gaseoso.

La medición de variables instantáneas de intercambio gaseoso correspondientes a

conductancia estomática (g_s), transpiración instantánea (E) y tasa neta de fotosíntesis (A_N) se realizó entre 9 a 13 h en una hoja totalmente expandida, seleccionada del tercio superior de tres plantas de cada genotipo para ambos tratamientos, utilizando un sistema analizador de intercambio gaseoso (Li-6400X Li-Cor Inc., Lincoln, NE, USA) equipado con una fuente de luz led. Durante las mediciones, se mantuvieron constantes los parámetros de saturación lumínica ($1.500 \mu\text{mol fotonos m}^{-2} \text{s}^{-1}$), temperatura ($25 \text{ }^\circ\text{C}$), flujo de aire ($500 \mu\text{mol s}^{-1}$) y concentración de CO_2 ($400 \mu\text{mol mol}^{-1} \text{CO}_2$). Cada medición tuvo un tiempo de duración entre 3 a 5 minutos, dependiendo de la estabilidad de las variables evaluadas. La eficiencia instantánea en el uso de agua (EUA_i) se calculó como el cociente entre la tasa neta de fotosíntesis y la transpiración instantánea (A_N/E).

Porcentaje de supervivencia.

El porcentaje de supervivencia se cuantificó dos semanas después de alcanzar potencial hídrico del sustrato de $-2,5 \text{ MPa}$. Se consideró como planta viva aquella que presentara al menos el par de hojas apicales visiblemente turgentes.

Análisis estadístico.

El experimento se analizó como un diseño completamente aleatorizado con tres réplicas, considerando la instancia de muestreo y el genotipo como factores. Los análisis de varianza (ANDEVA) para los parámetros de intercambio gaseoso y potencial hídrico foliar se realizaron con el procedimiento Proc GLM del software SAS versión 9.0 (SAS Institute 2002). La normalidad de los residuos se probó a través de histogramas y gráficos Q-Q normal, y la homogeneidad de varianza se evaluó a través del test de Levene. Dado que los resultados de supervivencia se estimaron en forma porcentual, se usaron transformaciones de raíz cuadrada del arco-seno para su análisis. La separación de medias para las variables de intercambio gaseoso y potencial hídrico foliar se realizó mediante la prueba de Tukey ($P < 0,05$). Análisis de correlación entre las variables estudiadas se realizaron mediante el coeficiente de correlación de Pearson ($N = 35$).

RESULTADOS

Potencial hídrico foliar en prealba.

La respuesta en el potencial hídrico foliar para los genotipos en el tratamiento control no presentó diferencias significativas en las distintas instancias de muestreo ($P = 0,9701$), observándose potenciales cercanos a 0 MPa durante todo el estudio (Figura 1A). El tratamiento de sequía, acorde a lo esperado, registró una disminución progresiva del potencial de prealba debido al aumento del déficit hídrico del sustrato y estableciendo diferencias significativas entre las medias alcanzadas ($P < 0,05$) para las distintas instancias de muestreo (Figura 1). El valor medio observado en cada instancia de muestreo fue de $-0,19 \pm 0,01$ MPa, $-0,59 \pm 0,02$ MPa y de $-2,10 \pm 0,06$ MPa, para los muestreo en $-0,03$ MPa, $-1,5$ MPa y $-2,5$ MPa de potencial hídrico del sustrato, respectivamente. Entre las primeras instancias de muestreo ($-0,03$ MPa y $-1,5$ MPa de potencial hídrico del sustrato) sólo seis genotipos (Eng6, Eg2, Eg3, Eg4, Eg15 y Eg22) disminuyeron significativamente su potencial de prealba ($P < 0,05$). En etapas de menor disponibilidad hídrica del sustrato ($-1,5$ MPa a $-2,5$ MPa), se observó una caída general del potencial hídrico foliar desde la segunda instancia de muestreo para todos los genotipos ($P < 0,05$). La magnitud de esta caída fue variable entre genotipos, por lo que en la instancia de muestreo a $-2,5$ MPa se observaron cinco grupos de genotipos que alcanzaron distintos potenciales medios de prealba ($P < 0,05$) correspondientes a $-1,48 \pm 0,02$ (Eg6, Eg7, Eg10, Eg11, Eg17, Eg18, Eg20, Eg23, Eng5); $-1,84 \pm 0,03$ (Eg14, Eg21, Eng1, Eng2); $-2,24 \pm 0,03$ (Eg1, Eg5, Eg8, Eg9, Eg12, Eg16, Eg19, Eg24, En1, En2, Eb, Ecg); $-2,78 \pm 0,03$ (Eg2, Eg4, Eg22, Eng4, Eng6) y $-3,07 \pm 0,06$ MPa (Eg3, Eg13, Eg15, Es, Eng3).

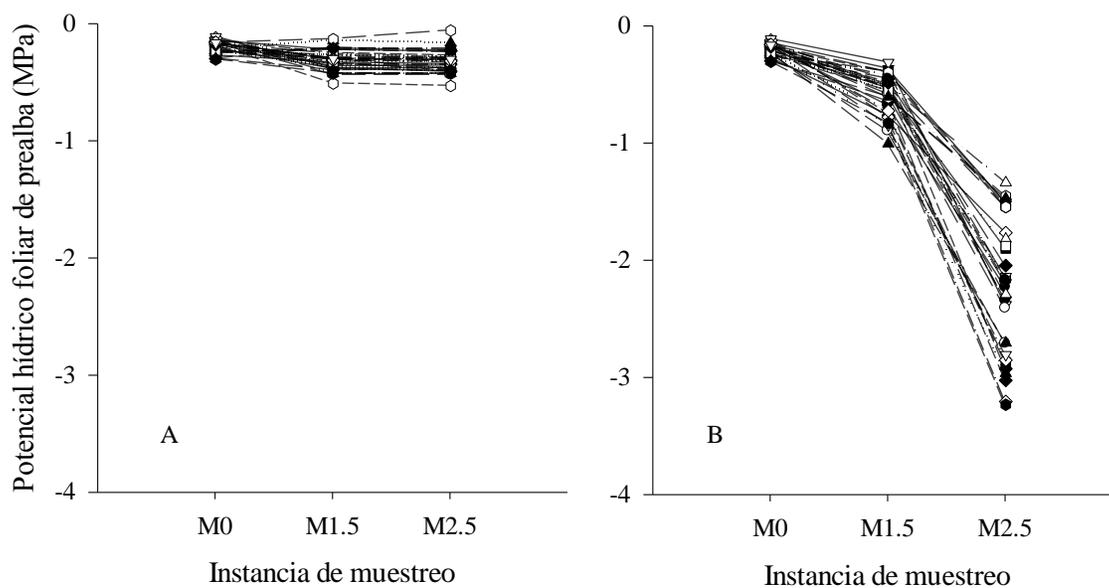


Figura 1. Media del potencial hídrico foliar de prealba medido a los 35 genotipos de *Eucalyptus* spp en los tratamientos control (A) y sequía (B) en las instancias de muestreo equivalentes a -0,03 MPa (M0), -1,5 MPa (M1.5) y -2,5 MPa (M2.5) de potencial hídrico del sustrato del tratamiento de sequía. Fuente: Elaboración propia.

Conductancia estomática y transpiración instantánea.

Se observó una correlación positiva ($r = 0,89$, $P < 0,05$) entre la conductancia estomática y la transpiración instantánea. Una disminución generalizada de la conductancia estomática se produjo una vez iniciado el estrés hídrico, obteniéndose valores bajo $0,12$ moles de $\text{H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en las instancias de muestreo finales (Figura 2A). Si bien la mayoría de los genotipos disminuyó su conductancia estomática entre cada instancia de muestreo ($P < 0,05$), cinco genotipos (Eb, En1, Eg10, Eg14 y Eg24) no presentaron esta respuesta y mantuvieron valores menores a $0,21$ moles de $\text{H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ a lo largo del ensayo. La respuesta en la transpiración instantánea fue similar (Figura 2B), observándose que los genotipos Eb, En1, Eg6, Eg10 y Eg14 mantuvieron medias similares entre instancias de muestreo, sin superar los $4,3$ mmoles de $\text{H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ durante el ensayo.

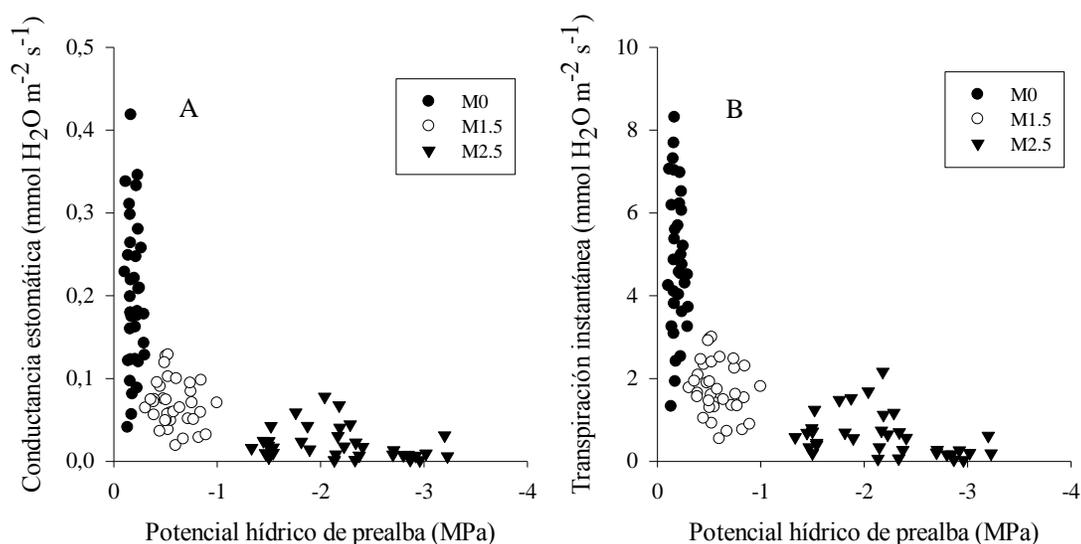


Figura 2. Variación de la media de la conductancia estomática ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (A) y de la media de la transpiración instantánea ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (B) con respecto a la media del potencial hídrico foliar de prealba (MPa) observado en los 35 genotipos de *Eucalyptus* spp medidos en el tratamiento de sequía en las instancias de muestreo equivalentes a -0,03 MPa (M0), -1,5 MPa (M1.5) y -2,5 MPa (M2.5) de potencial hídrico del sustrato. Fuente: Elaboración propia.

Tasa instantánea de fotosíntesis.

Se observó una correlación positiva entre la fotosíntesis instantánea y la conductancia estomática ($P < 0,05$) en cada instancia de muestreo (Figura 3), además de diferencias significativas ($P < 0,05$) en las tasas fotosintéticas de los genotipos en cada instancia de muestreo. Si bien la mayoría de los genotipos no presentó diferencias significativas en sus tasas de fotosíntesis entre instancias de muestreo (Figura 4), dos grupos presentaron disminuciones significativas a lo largo del ensayo ($P < 0,05$). Un grupo de genotipos (Eng3, Eng4, Eng6, Eg1, Eg4, Eg13, Eg15, Eg16, Eg18, Eg19, Eg21, Eg22) disminuyó su fotosíntesis entre las instancias de muestreo finales (M1.5 y M2.5) (Figura 4B) y otro grupo (Ecg, Es, Eg2 y Eg3) lo hizo solamente entre el muestreo inicial (M0) y el final (M2.5) (Figura 4).

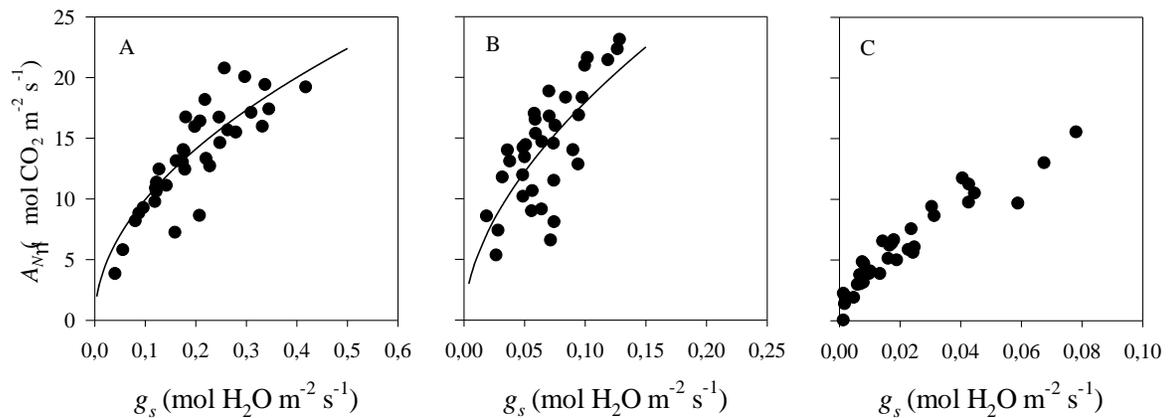


Figura 3. Relación entre la media de la tasa instantánea de fotosíntesis (A_N , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) y la media de la conductancia estomática (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) de los 35 genotipos de *Eucalyptus* spp medidos en el tratamiento de sequía en las instancias de muestreo equivalentes a A) $-0,03 \text{ MPa}$, B) $-1,5 \text{ MPa}$ y C) $-2,5 \text{ MPa}$ de potencial hídrico del sustrato. Fuente: Elaboración propia.

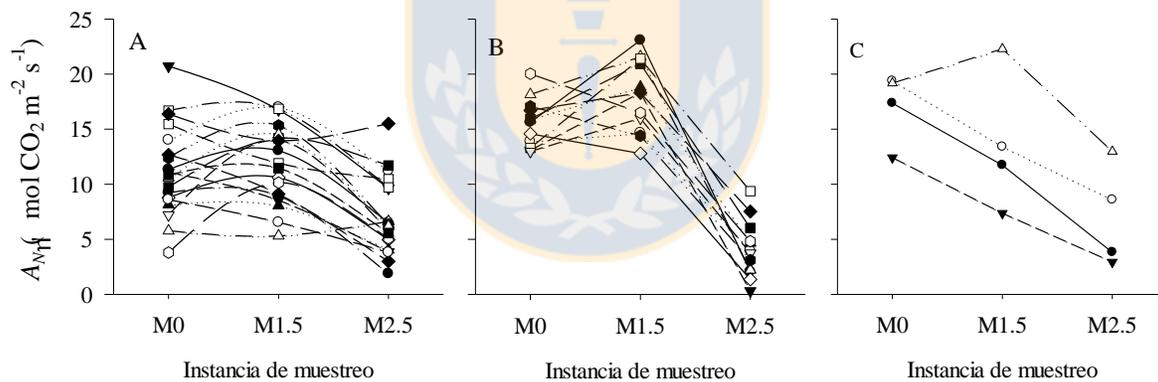


Figura 4. Media de la fotosíntesis instantánea máxima (A_N , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) para grupos de genotipos de *Eucalyptus* spp que en el tratamiento de sequía presentaron valores constantes entre instancias de muestreo (A), presentaron disminuciones significativas entre la segunda (M1.5) y tercera (M2.5) instancia de muestreo (B) y presentaron disminuciones significativas entre la primera (M0) y la tercera instancia de muestreo (M2.5) (C). Fuente: Elaboración propia.

Eficiencia instantánea en el uso de agua (EUA_i).

Diferencias significativas en eficiencia instantánea en el uso de agua se observaron entre los tratamientos ($P < 0,05$) en cada instancia de medición. Se observó un incremento progresivo en los valores promedio de EUA_i desde $2,98 \pm 0,10 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$ en la instancia de muestreo inicial (M0) hasta $13,62 \pm 0,71 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$ al final del ensayo (M2.5) (Figura 5). Al contrario del comportamiento observado en la mayoría de los genotipos, al llegar a la segunda instancia de muestreo (M1.5) los genotipos Eg5, Eg6, Eg8, Eg11, Eg14, Eg20, Eg22, Eb no mostraron un aumento significativo en eficiencia instantánea en el uso de agua respecto a la primera medición. Hacia el final del ensayo los genotipos Eg6 y Eg14 mantuvieron el mismo comportamiento mencionado anteriormente, manteniendo valores promedio de EUA_i similares durante todo el ensayo ($P > 0,05$). A diferencia de la primera instancia de muestreo (M0), en los muestreos consecuentes se observaron diferencias significativas entre los genotipos, siendo en el muestreo final (M2.5) donde se observó mayor dispersión de los datos (Figura 5). No se observó una tendencia clara hacia cuál de las variables instantáneas de intercambio gaseoso fue causal de los cambios observados en EUA_i , obteniéndose una correlación negativa con todas ellas ($P < 0,05$). Los valores más altos observados en M2.5 se observaron en los genotipos Eg1, Eg16, Eg22 y Eng6, los cuales presentaron los valores más bajos de fotosíntesis, conductancia estomática y transpiración instantánea hacia el final del ensayo.

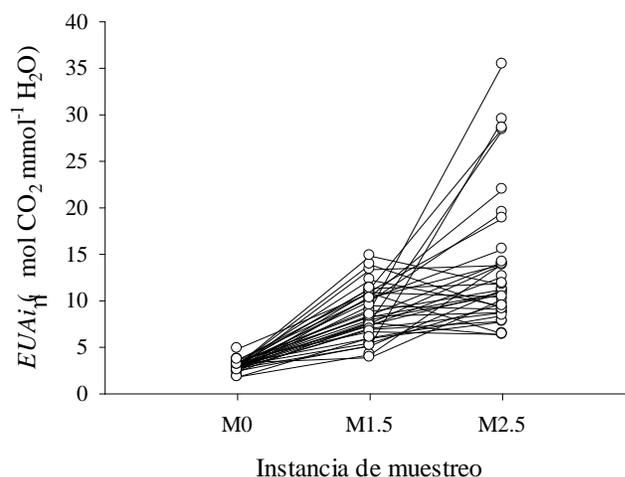


Figura 5. Media de la eficiencia instantánea en el uso de agua (EUA_i , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$) medida a los 35 genotipos de *Eucalyptus* spp del tratamiento de sequía en las instancias de muestreo equivalentes a -0,03 MPa (M0), -1,5 MPa (M1.5) y -2,5 MPa (M2.5) de potencial hídrico del sustrato. Fuente: Elaboración propia.

Supervivencia y relación con variables de intercambio gaseoso.

El rango de supervivencia varió entre 0 y 70%, siendo los genotipos Eg1, Eg2, Eg3, Eg4, Eg14 y Eg22 los que presentaron tasa de supervivencia de 0% y los genotipos Eg5, Eg7, Eg12 y Eg20 los que presentaron los valores más altos (60-70%). Se observó una correlación negativa entre el porcentaje de supervivencia y las variables instantáneas de intercambio gaseoso medidas en la primera instancia de muestreo ($P < 0,05$), excepto para eficiencia instantánea en el uso de agua ($P = 0,23$) (Tabla 1). Además, en la segunda instancia de muestreo, la fotosíntesis instantánea y la eficiencia instantánea en el uso de agua mostraron correlación negativa con la supervivencia ($P < 0,05$) (Tabla 1). Una correlación positiva fue observada con el potencial hídrico foliar en las instancias de muestreo de estrés hídrico ($P < 0,05$) (Tabla 1). Los genotipos con las más altas tasas de supervivencia presentaron un comportamiento similar entre instancias de muestreo en sus tasas fotosintéticas, disminución de su conductancia estomática y transpiración instantánea, y un aumento significativo de la eficiencia instantánea en el uso de agua hacia el final del ensayo. Además, aquellos genotipos que mantuvieron su conductancia estomática y transpiración bajas durante todo el ensayo

presentaron tasas de supervivencia menores al 30%. Por otra parte, todos los genotipos que disminuyeron significativamente la tasa de fotosíntesis entre instancias de muestreo presentaron supervivencias menores al 20%, excepto el genotipo Eng6 que registró una supervivencia de 45%. Del mismo modo, aquellos genotipos que sufrieron la disminución más drástica de potencial hídrico foliar, hacia el final del ensayo, mostraron las más bajas tasas de supervivencia.

Tabla 1. Coeficientes de correlación (N = 35) para el porcentaje de supervivencia y las variables instantáneas de intercambio gaseoso y potencial hídrico foliar de prealba evaluadas en plantas de *Eucalyptus* spp medidas en instancias de muestreo equivalentes a -0,03 MPa (M0), -1,5 MPa (M1.5) y -2,5 MPa (M2.5) de potencial hídrico del sustrato. Fuente: Elaboración propia.

Variable	M0	M1.5	M2.5
Conductancia estomática (g_s)	-0,40 *	-0,13 ns	-0,06 ns
Transpiración instantánea (E)	-0,47 *	-0,09 ns	-0,03 ns
Fotosíntesis instantánea (A_N)	-0,56 *	-0,53 *	-0,06 ns
Eficiencia instantánea en el uso de agua (EUA_i)	-0,21 ns	-0,41 *	-0,28 ns
Potencial hídrico foliar de prealba ($\psi_{prealba}$)	0,17 ns	0,58 *	0,41 *

* $P < 0,05$; ns: $P > 0,05$.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Las respuestas en los parámetros de intercambio gaseoso de los genotipos bajo condiciones de déficit hídrico moderado (mayor a $-1,5$ MPa) fueron más variables que para condiciones de mayor déficit hídrico ($-2,5$ MPa). Aquellos genotipos que no disminuyeron significativamente su potencial hídrico foliar en la primera etapa del ensayo, serían capaces de prolongar el estrés moderado o posponer el estrés severo para mantener mejores tasas de fotosíntesis y así reducir los efectos negativos causados por el déficit hídrico. Esta estrategia les permitiría resistir mejor las condiciones de déficit hídrico una vez establecidos en condiciones de campo, lo que coincide con lo observado en la relación entre el potencial hídrico foliar y la supervivencia en este estudio (Tabla 1).

En la mayoría de los genotipos, las variables de intercambio gaseoso (conductancia estomática, transpiración instantánea y tasa neta de fotosíntesis) presentaron reducciones significativas al aumentar el déficit hídrico, siendo la respuesta en conductancia estomática y transpiración más rápida que en fotosíntesis. Esto se ve reflejado en que las primeras sólo alcanzan sus valores máximos cuando hay máxima disponibilidad de agua en el sustrato (Figura 2), en cambio la fotosíntesis se mantuvo constante entre las primeras instancias de muestreo en gran parte de los genotipos, disminuyendo significativamente sólo al alcanzar el déficit hídrico más severo (Figura 4). La relación observada entre conductancia estomática y fotosíntesis instantánea (Figura 3) ha sido ampliamente reportada (Medrano *et al.* 2002, Flexas *et al.* 2010, Flexas *et al.* 2013), estableciéndose que los máximos valores en las tasas fotosintéticas se alcanzan cuando la conductancia estomática es al menos la mitad que su máximo valor, es decir, existe un rango de conductancia estomática sobre el cual la fotosíntesis no aumenta significativamente. Flexas *et al.* (2013) señalan que cuando las tasas fotosintéticas son más dependientes de la conductancia del mesófilo su variación debido a cambios en la conductancia estomática es despreciable, como podría ser el caso de los genotipos encontrados en este estudio (Figura 4).

Aquellos genotipos con valores bajos de conductancia estomática en un rango más amplio de potencial hídrico foliar, impiden el colapso del sistema hidráulico de la planta y su consecuente mortalidad (McDowell *et al.* 2008) al evitar la pérdida excesiva de agua hacia el

ambiente y la cavitación del xilema. Esta estrategia explicaría los altos porcentajes de supervivencia medidos en genotipos cuya conductancia estomática disminuyó durante el experimento y se mantuvo en valores cercanos a cero durante el déficit hídrico, siendo los genotipos que presentaron bajas tasas de conductancia estomática y transpiración -aún en condiciones no limitantes de disponibilidad hídrica (Eb, En1, Eg10, Eg14 y Eg24)- más sensibles al estrés hídrico. Según lo observado en plantas de *E. globulus* sometidas a estrés por competencia con malezas por Garau *et al.* (2008), la disminución de la conductancia estomática en estrés hídrico moderado, como medio que permite posponer el estrés hídrico, sería una estrategia potencial para aumentar la supervivencia. Sin embargo, Eksteen *et al.* (2013) reportaron para la misma especie que la rápida disminución de esta variable ante el estrés hídrico también se relaciona con bajas tasas de crecimiento, lo que podría generar que en la primera etapa del establecimiento de plantaciones aumente la competencia con malezas por luz, agua y nutrientes incrementando el estrés hídrico y disminuyendo la disponibilidad de otros recursos.

La disminución de la conductancia estomática ha sido reportada como una de las principales limitantes de la fotosíntesis (Pita *et al.* 2005), lo que consecuentemente disminuiría las tasas de crecimiento. La disminución de las tasas de fotosíntesis se generó cuando la conductancia estomática alcanzó valores menores de $0,10 \text{ moles de H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, lo cual concuerda con los datos recopilados por Flexas *et al.* (2006), quienes señalan que bajo este rango de conductancia estomática el estrés hídrico aumenta las limitaciones bioquímicas, además de disminuir la concentración de CO_2 interno (C_i) y por ende se produce la inhibición de la fotosíntesis. Los genotipos que no presentaron disminuciones en las tasas fotosintéticas (Figura 4) fueron aquellos que al menos en una instancia de muestreo no disminuyeron su conductancia estomática con respecto a la medición anterior, lo cual sugiere una estrategia de tipo menos conservadora del agua comparada a otros genotipos frente a señales de estrés hídrico temprano. Según lo observado por Flexas *et al.* (2006), al posponer el cierre estomático se retrasa la acumulación de antioxidantes, generándose estrés oxidativo que sería la causa principal de las respuestas metabólicas asociadas al estrés hídrico y que generan la inhibición de las tasas fotosintéticas y la consecuente disminución del crecimiento.

Las diferencias observadas en la eficiencia instantánea en el uso de agua están asociadas a variaciones en fotosíntesis instantánea, conductancia estomática y transpiración instantánea. De acuerdo a Flexas *et al.* (2013), el aumento en la eficiencia en el uso de agua está dado tanto por disminuciones en la conductancia estomática como por reducciones en las tasas de fotosíntesis. Acorde a lo esperado, en esta investigación la mayor parte de los genotipos aumentaron la eficiencia instantánea en el uso de agua en las distintas condiciones de sequía con respecto al valor medido sin déficit hídrico (Figura 5). Se encontró que los aumentos en la tasa fotosintética registrados en la segunda instancia de muestreo (M1.5) no generaron los valores más altos de eficiencia instantánea en el uso de agua, sino que estos se registraron en la instancia de estrés hídrico más severo (M2.5) donde la disminución en conductancia estomática y transpiración fue mucho mayor que la disminución en la fotosíntesis instantánea. Los resultados de este estudio muestran que la tasa fotosintética no disminuyó significativamente en la mayoría de los genotipos (Figura 4), concordando con lo observado por Navarrete-Campos *et al.* (2013), quienes en genotipos de *E. globulus* e híbridos *E. globulus x E. nitens* reportaron que la mantención de altas tasas de fotosíntesis bajo condiciones de déficit hídrico, junto con un alto control estomático de la pérdida de agua generó el aumento de la eficiencia instantánea del uso de agua.

La relación negativa observada entre el porcentaje de supervivencia y las variables de intercambio gaseoso (Tabla 1), permitiría inferir que aquellos genotipos que mantienen tasas bajas de intercambio gaseoso durante el estrés hídrico moderado, o que presentan la disminución paulatina de variables como la conductancia estomática, serían capaces de disminuir la pérdida de agua y lograr mayor éxito en el establecimiento (Garau *et al.* 2008). Además, la relación negativa observada entre la fotosíntesis instantánea y la supervivencia en condiciones de alta disponibilidad de agua y estrés hídrico moderado (potencial hídrico de sustrato de -1,5 MPa), sugiere que la evaluación de esta variable permitiría la selección de genotipos con mayor posibilidad de éxito en el establecimiento en sitios con disponibilidad hídrica restringida. Sin embargo, los genotipos con las mayores tasas de supervivencia fueron aquellos que disminuyeron significativamente su conductancia estomática y mantuvieron su fotosíntesis instantánea constante a lo largo del ensayo. Además, todos los genotipos que disminuyeron su fotosíntesis instantánea como respuesta al estrés hídrico, mostraron tasas de

supervivencia menores al 20%, exceptuando el genotipo Eng6 que mostró altos valores en las variables de intercambio gaseoso y eficiencia instantánea en el uso de agua en las primeras dos instancias de muestreo. Dado el comportamiento fisiológico de este genotipo, se sugiere que éste podría presentar mejor crecimiento en condiciones de estrés hídrico moderado pero con baja probabilidad de supervivencia frente a condiciones de estrés severo o prolongado.

Los resultados de este estudio permiten aceptar la hipótesis respecto a que la evaluación de la tasa de fotosíntesis, en condiciones de estrés hídrico moderado a nulo, permitiría identificar materiales genéticos que potencialmente presentarían mayor supervivencia en sitios con disponibilidad hídrica limitante en etapas tempranas de desarrollo. Esta variable podría ser considerada para la selección de genotipos que presenten mayores tasas de supervivencia en sitios con baja disponibilidad hídrica al establecimiento.



REFERENCIAS

- Chaves MM, J Flexas, C Pinheiro. 2009. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of Botany* 103:551-560.
- Chaves MM, J Maroco, JS Pereira. 2003. Understanding plant responses to drought: from genes to the whole plant. *Functional Plant Biology* 30:239-264.
- Chaves MM, JS Pereira, J Maroco, ML Rodrigues, CPP Ricardo, ML Osorio, I Carvalho, T Faria, C Pinheiro. 2002. How plants cope with water stress in the field. Photosynthesis and growth. *Annals of Botany* 89:907-916.
- Coopman R, J Jara, L Bravo, K Sáez, G Mella, R Escobar. 2008. Changes in morpho-physiological attributes of *Eucalyptus globulus* plants in response to different drought hardening treatments. *Electronic Journal of Biotechnology* [online]. 15 April 2008, vol. 11, no. 2.
- Costa e Silva F, A Shvaleva, JP Maroco, MH Almeida, MM Chaves, JS Pereira. 2004. Responses to water stress in two *Eucalyptus globulus* clones differing in drought tolerance. *Tree Physiology* 24:1165-1172.
- Dye PJ. 2000. Water use efficiency in South African *Eucalyptus* plantations: A review. *The Southern African Forestry Journal* 189:17-26.
- Eksteen AB, V Grzeskowiak, NB Jones, NW Pammenter. 2013. Stomatal characteristics of *Eucalyptus grandis* clonal hybrids in response to water stress. *Southern Forests: a Journal of Forest Science* 75:105-111.
- Flexas J, J Bota, J Galmés, H Medrano, M Ribas-Carbó. 2006. Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: responses of photosynthesis and respiration to water stress. *Physiologia Plantarum* 127:343-352.
- Flexas J, M Barón, J Bota, JM Ducruet, A Gallé, J Galmés, M Jiménez, A Pou, M Ribas-Carbó, C Sajnani, M Tomàs, H Medrano. 2009. Photosynthesis limitations during water stress acclimation and recovery in the drought-adapted *Vitis* hybrid Richter-110 (*V. berlandieri* × *V. rupestris*). *Journal of Experimental Botany* 60:2361-2377.

- Flexas J, J Galmés, A Gallé, J Gulías, A Pou, M Ribas-Carbó, M Tomàs M, H Medrano. 2010. Improving water use efficiency in grapevines: potential physiological targets for biotechnological improvement. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 16:106–121
- Flexas J, Ü Niinemets, A Gallé, MM Barbour, M Centritto, A Diaz-Espejo, C Douthe, J Galmés, M Ribas-Carbo, PL Rodriguez, F Rosselló, R Soolanayakanahally, M Tomas, IJ Wright, GD Farquhar, H Medrano. 2013. Diffusional conductances to CO₂ as a target for increasing photosynthesis and photosynthetic water-use efficiency. *Photosynthesis Research* 117:45–59.
- Galmés J, H Medrano, J Flexas. 2007. Photosynthetic limitations in response to water stress and recovery in Mediterranean plants with different growth forms. *New Phytologist* 175:81-93.
- Garau AM, JH Lemcoff, CM Ghersa, CL Beadle. 2008. Water stress tolerance in *Eucalyptus globulus* Labill. subsp. maidenii (F. Muell.) saplings induced by water restrictions imposed by weeds. *Forest Ecology and Management* 255:2811-2819.
- Hubbard RM, J Stape, MG Ryan, AC Almeida, J Rojas. 2010. Effects of irrigation on water use and water use efficiency in two fast growing *Eucalyptus* plantations. *Forest Ecology and Management* 259:1714-1721.
- INFOR (Instituto Forestal, CL). 2015. Anuario Forestal 2015. Santiago, Chile. INFOR. 174 p. (Boletín Estadístico N° 150).
- Li C. 2000. Population differences in water-use efficiency of *Eucalyptus microtheca* seedlings under different watering regimes. *Physiologia Plantarum* 108:134-139.
- Li C, K Wang. 2003. Differences in drought responses of three contrasting *Eucalyptus microtheca* F. Muell. populations. *Forest Ecology and Management* 179:377-385.
- McDowell N, WT Pockman, CD Allen, DD Breshears, N Cobb, T Kolb, J PLaut, J Sperry, A West, DG Williams, EA Yezpez. 2008. Mechanisms of plant survival and mortality during drought: why do some plants survive while others succumb to drought? *New Phytologist* 178:719-739.

- Medrano H, J Bota, A Abadía, B Sampol, JM Escalona, J Flexas. 2002. Effects of drought on light-energy dissipation mechanisms in high-light-acclimated, field-grown grapevines. *Functional Plant Biology* 29:1197-1207.
- Medrano H, J Bota, J Cifre, J Flexas, M Ribas-Carbó, J Gulías. 2007. Eficiencia en el uso de agua por las plantas. *Investigaciones Geográficas* 43:63-84.
- Navarrete-Campos D, LA Bravo, RA Rubilar, V Emhart, R Sanhueza. 2013. Drought effects on water use efficiency, freezing tolerance and survival of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus globulus* × *nitens* cuttings. *New Forests* 44:119-134.
- Pardos JA. 2007. Perspectiva fisiológica en la producción y mejora del eucalipto (con énfasis en *Eucalyptus globulus* Labill). *Boletín del CIDEU* 3:7-55.
- Pita P, I Cañas, F Soria, F Ruiz, G Toval. 2005. Use of physiological traits in tree breeding for improved yield in drought-prone environments. The case of *Eucalyptus globulus*. *Investigación Agraria: Sistemas y Recursos Forestales* 14(3):383-393.
- Wikberg J, E Ögren. 2004. Interrelationships between water use and growth traits in biomass-producing willows. *Trees* 18:70-76.

CAPÍTULO II

Uso de variables de intercambio gaseoso, medidas en plantas sometidas a déficit hídrico, como predictores del crecimiento inicial de genotipos de *Eucalyptus globulus*

Autores: María Silva, Rafael Rubilar, Jorge Jara, Eduardo Peña.

Artículo en preparación

RESUMEN

El establecimiento es una de las etapas más críticas para el desarrollo de una plantación, siendo el estrés hídrico uno de los principales factores limitantes del crecimiento inicial y la supervivencia de las plantas. Mejoras en los programas de selección genética y el desarrollo de plántulas pre-acondicionadas al estrés hídrico se han implementado para disminuir los efectos del déficit hídrico experimentado en las primeras etapas del establecimiento. Sin embargo, aún existe desconocimiento de las características fisiológicas que mejoran el crecimiento temprano y la supervivencia de las plantas, y de cómo estas puedan utilizarse para mejorar la selección de genotipos. Este estudio analiza la relación entre una serie de variables de intercambio de gases evaluadas en etapa de vivero como valores predictivos vs el crecimiento acumulado al primer año de establecimiento de seis genotipos de *Eucalyptus globulus*. Los genotipos fueron evaluados en campo en condiciones con y sin riego durante el período estival. Las variables de intercambio gaseoso (conductancia estomática (g_s), transpiración instantánea (E), fotosíntesis instantánea (A_N), eficiencia instantánea en el uso de agua ($EUA_i = A_N/E$), y la eficiencia intrínseca en el uso de agua (A_N/g_s) fueron observadas previamente en plántulas desarrolladas en vivero, y evaluadas en tres condiciones de contenido de humedad de sustrato decreciente equivalentes a potenciales matriciales de -0,03, -1,5 y -2,5 MPa. Relaciones positivas se encontraron entre las variables de intercambio gaseoso medidas previamente en vivero y el crecimiento de campo (altura (Ht), diámetro de cuello (D), diámetro a la altura del pecho (DAP) y volumen total (Vol)) después de 12 meses de establecimiento; las correlaciones más fuertes ($r > 0,70$) fueron con la g_s y E de las plantas evaluadas a capacidad de campo (-0,03 MPa). La E medida en plantas sin ser sometidas a

déficit hídrico en vivero correspondió a la variable fisiológica de mayor poder predictivo del crecimiento acumulado en campo después de 12 meses de establecimiento tanto para tratamientos con o sin riego estival.



ABSTRACT

Establishment is one of the most critical stages in plantations development and water stress is one of the main factors limiting initial growth and survival of seedlings. Genetic selection for water limited sites and nursery production of water stress acclimated seedlings has been implemented to avoid the effects of water deficit at establishment. However, the value of physiological traits that may allow prediction of initial growth and survival to support genotypic selections are still unknown. This study analyzes the potential use of gas exchange parameters measured on seedlings as predictors of first year field development of six *Eucalyptus globulus* genotypes established under irrigated and non-irrigated treatments during the summer season. Gas exchange parameters, considering stomatal conductance (g_s), instantaneous transpiration (E), instantaneous photosynthesis (A_N), instantaneous water use efficiency ($EUA_i = A_N/E$), and intrinsic water use efficiency (A_N/g_s), were previously measured under limited water availability conditions considering soil water potentials of -0.03, -1.5 and -2.5 MPa. Positive relations were found between gas exchange parameters measured at the nursery stage and field growth (height (Ht), diameter at collar height (D), diameter at breast height (DBH) and total volume (Vol)) after 12 months of establishment. The strongest correlations ($r > 0.70$) were found between growth and g_s and E in the plants evaluated at field capacity (-0.03 MPa). The E measured in seedlings evaluated at field capacity was the physiological trait with higher predictive power of the cumulative growth after 12 months of establishment, both to irrigated and non-irrigated treatments.

INTRODUCCIÓN

El crecimiento de una plantación es principalmente una función de factores genéticos, interacciones de las plantas y condiciones de sitio (Burdett 1990). La fase de establecimiento es una de las más críticas para el desarrollo de la plantación debido al impacto que se genera cuando las plantas son transferidas desde el vivero a un nuevo ambiente, siendo el estrés hídrico el principal factor limitante del crecimiento y supervivencia de las plantas, ya que éstas no poseen un sistema radical capaz de acceder a las fuentes de agua disponibles (Burdett 1990, Close *et al.* 2005, Grossnickle 2005). Por ello, las principales estrategias que se han implementado para disminuir los efectos del estrés posterior al trasplante se enfocan en el uso de material genético seleccionado y el desarrollo de plántulas pre-aclimatadas al déficit hídrico (Burdett 1990, Tausz *et al.* 2008, White *et al.* 2009, Grossnickle 2012). Sin embargo, existe poco conocimiento acerca de los atributos fisiológicos que le otorgan mayor resistencia al déficit hídrico a las plantas desarrolladas y cómo estos podrían emplearse para mejorar las metodologías empleadas en los viveros, de manera de enfocar la producción de plantas para sitios con condiciones ambientales específicas (Close *et al.* 2005, Navarrete-Campos *et al.* 2013). Es por ello que se propone incorporar el estudio de la fisiología de las plantas en los nuevos programas de selección genética, con el objetivo de mejorar el proceso de producción de plantas y disminuir los riesgos de pérdida de productividad en sitios específicos (Mataruga *et al.* 2012).

Algunos autores han planteado que existen dificultades en el uso de parámetros fisiológicos en programas de mejora genética debido a la variedad de respuestas asociadas a la tolerancia al déficit hídrico, las variaciones observadas entre genotipos y en distintas etapas de desarrollo de una misma especie, y la falta de técnicas de medición y de análisis adecuados para evaluar estas variables (Pita *et al.* 2005, Pita y Pardos 2007, Granda *et al.* 2014). A pesar de esto, variables instantáneas de intercambio gaseoso tales como la conductancia estomática, transpiración, fotosíntesis instantánea, así como las eficiencias instantánea e intrínseca del uso de agua se han propuesto como variables fisiológicas que podrían utilizarse con potencial predictor para la selección de materiales genéticos de mayor crecimiento en sitios con limitaciones hídricas (Lu *et al.* 1998, Wang *et al.* 2003, Pita *et al.* 2005, Monclus *et al.* 2006,

Pardos 2007). Estudios realizados en series genéticas de algodón Pima (*Gossypium barbadense* L.) han sugerido que las diferencias en la conductancia estomática están dadas por factores genéticos y que existe una correlación positiva con la productividad de esta especie en ambientes cálidos, lo que permitiría utilizarla como un criterio de selección para obtener mayor productividad en cultivos desarrollados en sitios con temperaturas que superen el óptimo para el desarrollo (Lu *et al.* 1998). Asimismo, Wang *et al.* (2003), al evaluar el impacto de la selección por crecimiento y densidad de madera en la resistencia a la sequía de subpoblaciones de *Pinus contorta* Douglas ex Loudon, encontraron que las subpoblaciones de más rápido crecimiento presentaban mayores valores de conductancia estomática que las subpoblaciones de lento crecimiento, aún al ser sometidas a condiciones de déficit hídrico. Similares resultados se han encontrado para *Eucalyptus globulus* Labill, obteniéndose que las plantas de clones y procedencias de mayor crecimiento en condiciones de déficit hídrico presentan más altas tasas de conductancia estomática en estrés moderado que aquellas plantas no tolerantes a la sequía (Costa e Silva *et al.* 2004, Garau *et al.* 2008). La eficiencia instantánea en el uso de agua, medida a nivel de hoja como la tasa de fotosíntesis en relación al agua transpirada, también se ha reportado como una variable de interés para la selección genética dado que incorpora la productividad potencial, el consumo de agua, y podría asociarse al crecimiento en condiciones de sequía (Pita *et al.* 2005, Monclus *et al.* 2006, Granda *et al.* 2014). Sin embargo, existe discusión acerca de la utilidad de esta variable debido a que su valor en condiciones de déficit hídrico depende en gran medida de la intensidad de los cambios observados en conductancia estomática y cómo estos afectan las tasas de fotosíntesis (Condon *et al.* 2002). Es así como se ha observado un amplio rango de respuestas y valores asociados al grado de estrés al cual han sido sometidas las plantas evaluadas (Navarrete-Campos *et al.* 2013).

Además de los métodos de análisis empleados en los casos expuestos anteriormente, que han evaluado relaciones entre variables individuales y el crecimiento, análisis multivariados han sido empleados para procesar una mayor cantidad de parámetros fisiológicos y asociarlos a estrategias de tolerancia a la sequía (Monclus *et al.* 2006, Correira *et al.* 2014, Granda *et al.* 2014). Estos análisis, realizados en genotipos de *Populus deltoides* x *Populus nigra* (Monclus *et al.* 2006) y *E. globulus* (Correira *et al.* 2014, Granda *et al.* 2014),

han mostrado relaciones significativas entre algunas variables de intercambio gaseoso como la conductancia estomática, la fotosíntesis y la eficiencia instantánea en el uso de agua, y la productividad de los genotipos. A través de estos análisis, Granda *et al.* (2014) identificaron diferentes estrategias de respuesta al déficit hídrico entre los genotipos de *E. globulus* evaluados, ya sea como “gastadores” o “ahorradores” de agua según lo descrito por Ludlow (1989). Además, este y otros estudios señalan que la intensidad de la respuesta fisiológica de cada genotipo varía según la intensidad del estrés experimentado (Close *et al.* 2005, Garau *et al.* 2008) y el historial de estrés de la planta (Pardos 2007), por lo que la evaluación de las plantas pre-aclimatadas al déficit hídrico puede ser una herramienta a incorporar para seleccionar los genotipos y/o grupos de plantas mejor desarrollados para ser establecidos en sitios específicos.

A pesar de que son varios los estudios que han relacionado las variables de intercambio gaseoso con el crecimiento de las plantas, éstos no se han enfocado en establecer relaciones entre las variables medidas en ambientes controlados y el crecimiento de campo, por lo que existe carencia en la definición de variables con carácter predictivo que permitan optimizar las decisiones forestales. Por ello, este estudio evalúa la capacidad de las variables de intercambio gaseoso, evaluadas en plántulas sometidas a un gradiente de déficit hídrico, para ser utilizadas como predictores del crecimiento al primer año de establecimiento en genotipos de *Eucalyptus globulus*.

METODOLOGÍA

Con el fin de establecer relaciones que permitan predecir a través de variables de intercambio gaseoso el crecimiento al primer año de establecimiento en campo, se realizaron dos experimentos, separados en tiempo y espacio, los cuales utilizaron plantas provenientes del mismo año de producción en vivero. El primer experimento fue desarrollado en vivero bajo condiciones semi-controladas, mientras que el segundo correspondió al establecimiento de una plantación experimental en campo.

Material vegetal

Seis genotipos comerciales de *E. globulus* se seleccionaron en primera instancia de un experimento realizado en vivero en condiciones de crecimiento semi-controladas, cuyo desarrollo y resultados son reportados por Silva *et al.* (2017) (Capítulo I). En dicho experimento se evaluaron la conductancia estomática (g_s), fotosíntesis instantánea (A_N), transpiración instantánea (E), además de la eficiencia instantánea en el uso de agua (EUA_i) - que se calculó como el cociente entre la A_N y la E - y la eficiencia intrínseca en el uso de agua (A_N/g_s) - calculada como el cociente entre la A_N y la g_s - en plántulas desarrolladas en condiciones crecientes de déficit hídrico, correspondientes a contenido de humedad de sustrato equivalentes a potencial hídrico matricial de -0,03 MPa (muestreo M0), -1,5 MPa (muestreo M1.5) y -2,5 MPa (muestreo M2.5). Los genotipos seleccionados se clasificaron según su comportamiento en la evaluación inicial de este experimento (muestreo M0) como genotipos con alta g_s y A_N (EgA1, EgA2, EgA3) y genotipos con baja g_s y A_N (EgB1, EgB2, EgB3) (Tabla 2). Estos datos fueron utilizados posteriormente para determinar relaciones con el crecimiento de campo de los genotipos durante el primer año de establecimiento.

Sitio de plantación

Datos de crecimiento, para el primer año de desarrollo en campo de los seis genotipos de *E. globulus* seleccionados, fueron obtenidos desde su establecimiento en un experimento de campo establecido en inmediaciones del Vivero Quivolgo, provincia de Constitución, región del Maule (latitud 35° 18' 49,14'' S, longitud 72° 23' 23,66'' O, elevación 20 msnm). El sitio corresponde a suelos de origen granítico, densidad aparente promedio de 1,47 Mg m⁻³ hasta 0,6 m de profundidad y 1,50 Mg m⁻³ hasta 1,4 m de profundidad. La capacidad de retención de humedad promedio del suelo hasta los 0,6 m de profundidad es de 0,31 g g⁻¹ a capacidad de campo y 0,14 g g⁻¹ a punto de marchitez permanente, mientras que a mayor profundidad (hasta 1,2 m) se alcanzan valores de 0,35 g g⁻¹ a capacidad de campo y 0,17 g g⁻¹ en punto de marchitez permanente.

Previo al establecimiento de la plantación experimental, el sitio fue utilizado para la propagación de plántulas y otras actividades asociadas al Vivero Quivolgo. La preparación de suelo incluyó discado y subsolado hasta 0,3 m de profundidad. El control químico de vegetación competidora, previo al establecimiento, fue realizado mediante la aplicación de 1,1 kg ha⁻¹ de glifosato + 150 g ha⁻¹ de flumioxazina a superficie completa; la misma cantidad de glifosato se aplicó un mes después para un control de malezas post plantación en bandas. Riego por aspersion a todo el sitio se aplicó previo al establecimiento a través de líneas de aspersores K1 (3,8 mm hr⁻¹), simulando una precipitación de 20 mm. Realizada la plantación, se repitió la cantidad de riego por aspersion tanto en el día del establecimiento como 20 días más tarde. A partir del tercer mes de establecimiento se inició el riego por goteo con un equivalente de 8 L diarios de agua por planta, al cuarto mes se diferenció el riego según los tratamientos establecidos en el diseño experimental definitivo indicado más adelante. Tres meses después del establecimiento se realizó una fertilización por árbol consistente en 100 g de fosfato diamónico + 50 g de sulpomag® + 20 g de boronatrocalcita.

Diseño experimental

La plantación se estableció en octubre de 2013 en un diseño de bloques completamente aleatorios para un experimento de tipo factorial, con dos tratamientos de riego y seis

genotipos, con tres réplicas. Cada unidad experimental consideró un total de 25 árboles por genotipo (5 x 5 árboles) establecidos con un espaciamiento de 3 x 2 m, equivalentes a 1.666 árboles por hectárea. Las parcelas fueron replicadas aleatoriamente en cada uno de los tres bloques para los dos tratamientos de riego, ocupando una superficie total de 0,54 ha.

Los tratamientos fueron diferenciados según el régimen de riego aplicado desde el inicio del riego por goteo (tercer mes de establecimiento) hasta el inicio de las lluvias estacionales (octavo mes desde el establecimiento): el tratamiento “Riego” consideró la aplicación de 8 L diarios de agua por planta, equivalentes a una adición estimada de 168 mm en el período mencionado; el tratamiento “Secano” consideró la adición estimada de 67 mm distribuidos en un régimen de riego de 8 L diarios de agua por planta entre el tercer y cuarto mes de establecimiento, y 2 L de agua por planta cada 3 días entre el quinto y séptimo mes.

Mediciones de crecimiento

Mediciones de crecimiento se realizaron en los 9 árboles ubicados al interior de las parcelas de cada genotipo después de 1, 5 y 12 meses de establecida la plantación. Las variables registradas fueron la altura total (Ht), diámetro a 10 cm desde el suelo (D), y diámetro a 1,3 m de altura (DAP) cuando los árboles superaron los 1,3 m de altura. La Ht fue la única variable en registrarse en las tres mediciones, el D se midió a los 5 y 12 meses y el DAP sólo en la última medición, cuando todos los individuos superaron los 1,3 m de altura. El volumen acumulado por árbol (Vol) se estimó para las mediciones correspondientes a los 5 y 12 meses post establecimiento a partir de la ecuación 1:

$$Vol = 0,33 \pi \left(\frac{D}{2} \right)^2 Ht \quad (1)$$

Tabla 2. Medias de la conductancia estomática (g_s), transpiración instantánea (E), fotosíntesis instantánea (A_N), eficiencia instantánea en el uso de agua (EUA_i) y eficiencia intrínseca en el uso de agua (A_N/g_s) evaluadas en plántulas de seis genotipos de *Eucalyptus globulus* sometidas a condiciones crecientes de déficit hídrico, correspondientes a contenido de humedad del sustrato equivalente potencial hídrico de -0,03 MPa (M0), -1,5 MPa (M1.5) y -2,5 MPa (M2.5), respectivamente. Fuente: Elaboración propia.

Variable	Muestreo	EgA1	EgA2	EgA3	EgB1	EgB2	EgB3
g_s (mol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹)	M0	0,35	0,34	0,26	0,09	0,08	0,04
	M1.5	0,03	0,05	0,07	0,06	0,07	0,05
	M2.5	0,01	0,03	0,06	0,02	0,01	0,02
E (mmol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹)	M0	6,51	7,05	4,30	2,53	2,41	1,33
	M1.5	0,89	1,34	1,62	1,60	2,08	1,46
	M2.5	0,28	0,62	1,48	0,80	0,40	0,59
A_N (μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)	M0	17,36	19,38	20,73	8,78	8,14	3,79
	M1.5	11,73	13,41	16,76	10,61	8,05	10,14
	M2.5	3,82	8,60	9,63	4,96	4,05	5,08
EUA_i (μmol CO ₂ mmol ⁻¹ H ₂ O)	M0	2,78	2,86	4,82	3,70	3,34	2,65
	M1.5	13,34	10,32	10,81	6,67	3,88	7,02
	M2.5	13,79	13,89	6,45	6,37	10,13	8,71
A_N/g_s (μmol CO ₂ mol ⁻¹ H ₂ O)	M0	66,12	59,83	80,51	125,25	108,90	87,10
	M1.5	375,33	278,33	254,98	189,62	108,13	209,22
	M2.5	283,35	274,34	162,18	269,04	398,00	313,89

Análisis Estadístico

Para determinar las diferencias en el crecimiento de los genotipos establecidos en la plantación experimental, las variables de crecimiento (Ht , D , DAP y Vol) de cada medición se analizaron por medio de un análisis de varianza (ANDEVA). La normalidad de los residuos se probó a través de histogramas y gráficos Q-Q normal, y la homogeneidad de varianza se evaluó a través del test de Levene. La separación de medias para las medidas de crecimiento se realizó mediante la prueba de Tukey ($P < 0,05$). Estos análisis se realizaron con el software SAS versión 9.0 (SAS Institute 2002).

Para establecer relaciones entre las variables de intercambio gaseoso (g_s , E , A_N , $EUAI$ y A_N/g_s) - evaluadas en las plántulas de vivero en tres condiciones de disponibilidad hídrica - y las variables de crecimiento, medidas y estimadas después de 12 meses de establecimiento en el experimento de campo (Ht , D , DAP y Vol), se realizó un análisis de correlación entre ambos grupos de variables considerando la media de las variables de intercambio gaseoso por instancia de muestreo y la media de crecimiento por bloque de cada genotipo ($n = 18$). La calidad de las relaciones obtenidas se evaluó mediante el coeficiente de correlación de Pearson. El carácter predictivo del crecimiento al primer año de establecimiento de una o más variables de intercambio gaseoso evaluadas en plántulas con distintas condiciones de disponibilidad de agua, se evaluó a través de un análisis de regresión múltiple empleando el método de selección “paso a paso”. Para establecer la inclusión de predictores dentro del modelo de regresión, los niveles de significancia de entrada (α_E) y de salida (α_S) se establecieron en 0,25 y 0,15, respectivamente. El modelo general de regresión múltiple fue expresado como:

$$Y = a_0 + \sum_{j=1}^m a_j X_j \quad (2)$$

donde Y corresponde a la variable de crecimiento de campo medida o estimada (D , DAP , Ht , Vol) en la medición realizada después de 12 meses de establecimiento en cada tratamiento, X_j corresponde a variables de intercambio gaseoso (g_s , E , A_N , $EUAI$ y A_N/g_s) medidas en cada instancia de muestreo, y a_0 , a_1 , a_2, \dots , a_m , son los coeficientes de regresión asociados a cada variable X . El ajuste de los modelos se evaluó mediante la raíz cuadrada media del error (RCME) y el coeficiente de determinación (R^2).

RESULTADOS

Crecimiento de campo

Los resultados del ANDEVA mostraron diferencias significativas en al menos uno de los factores evaluados para cada una de las variables de crecimiento medidas (Tabla 3). La *Ht* presentó respuesta significativa a la interacción del genotipo y tratamiento de riego en la medición al primer mes, lo cual no se mantuvo en las mediciones siguientes. A los 5 meses hubo una respuesta significativa a esta interacción sólo para el *Vol*, mientras que para *D* sólo se presentaron diferencias entre tratamientos y para *Ht* sólo hubo diferencias entre genotipos. A los 12 meses desde establecimiento, todas las variables medidas, excepto *Ht*, presentaron interacción significativa entre genotipo y tratamiento (Tabla 3).

Tabla 3. Nivel de significancia (valor *P*) de las fuentes de variación del crecimiento en el experimento de campo a 1, 5 y 12 meses desde plantación. Fuente: Elaboración propia.

Fuente de variación	1 mes	5 meses			12 meses			
	<i>Ht</i>	<i>Ht</i>	<i>D</i>	<i>Vol</i>	<i>Ht</i>	<i>D</i>	<i>DAP</i>	<i>Vol</i>
Bloque	0,07	*	*	*	*	*	*	*
Genotipo	*	*	*	*	*	*	*	*
Tratamiento de riego	*	0,95	*	*	*	*	*	*
Genotipo*Tratamiento	*	0,59	0,07	*	0,68	*	*	*

Ht: altura total, *D*: diámetro de la planta a 10 cm desde el suelo, *DAP*: diámetro a la altura del pecho, *Vol*: volumen acumulado por árbol. Asteriscos (*) corresponden a $P < 0,05$.

La primera medición de crecimiento muestra diferencias atribuidas al origen de las plantas. En esta medición, los genotipos EgA1 y EgA2 presentaron mayor *Ht* en ambos tratamientos de riego, mientras que el genotipo EgA3 fue el de menor *Ht*; en cambio, los tres genotipos de baja g_s y A_N al inicio del experimento de vivero (EgB1, EgB2 y EgB3) presentaron similar *Ht* en esta medición (Tabla 4). Hacia los 5 meses de establecimiento, los genotipos EgA3 y EgB1 presentaron un alto incremento en *Ht* (correspondiente en promedio a

88% y 83% en los tratamientos Riego y Secano, respectivamente), por lo que obtuvieron mayor *Ht* que los genotipos EgB2 y EgB3 en ambos tratamientos de riego (Tabla 4). Esta diferencia en el crecimiento de los genotipos se mantuvo hasta los 12 meses para todas las variables medidas, siendo los genotipos EgA1 y EgA2 los de mayor crecimiento a lo largo del ensayo (Tabla 4).

La menor disponibilidad de agua en el tratamiento Secano causó reducciones en el crecimiento en gran parte de los genotipos; sin embargo, estas menores tasas de crecimiento no siempre resultaron significativas ($P > 0,05$). Estas diferencias fueron más evidentes hacia los 12 meses desde establecimiento (Figura 6), cuando la diferenciación de los tratamientos de riego ya se había extendido por un periodo mayor de tiempo en comparación con la medición anterior (5 meses desde establecimiento), que abarcó sólo un mes de diferenciación entre tratamientos de riego. Los genotipos EgA1 y EgA2, a pesar de mostrar las más altas tasas de crecimiento en ambos tratamientos, presentaron mayores diferencias entre tratamientos de riego ($P < 0,05$), registrando hasta un 23% menos de volumen por árbol hacia la última medición en el tratamiento Secano (Figura 6). Similares resultados se obtuvieron para los genotipos EgB1 y EgB3, que presentaron reducciones en el volumen acumulado a los 12 meses de 31 y 27%, respectivamente, al comparar ambos tratamientos. (Figura 6). Al contrario, los genotipos EgA3 y EgB2 no presentaron diferencias significativas en el crecimiento registrado en ambos tratamientos de riego.

El *DAP*, que sólo fue medido a los 12 meses desde el establecimiento, presentó similares patrones a los ya mencionados, siendo los genotipos EgA1 y EgA2 los de mayor *DAP* en ambos tratamientos de riego, seguidos por EgA3 y EgB1, y finalmente los genotipos EgB2 y EgB3 (Figura 6). Si bien tanto EgA1 como EgA2 presentaron reducciones significativas en el *DAP* medido en el tratamiento Secano ($P < 0,05$), el primero fue más sensible a la menor disponibilidad de agua existente en este tratamiento, observándose una reducción equivalente al 16% (Figura 6).

Relación entre variables de intercambio gaseoso y crecimiento de campo

Todas las variables de crecimiento, medidas a los 12 meses de establecimiento en ambos tratamientos de riego, presentaron correlaciones significativas ($P < 0,05$) con algunas de las variables de intercambio gaseoso medidas en plántulas en vivero, en los muestreos M0 y M1.5; además, con excepción de la Ht medida en ambos tratamientos de riego, todas las variables presentaron correlación positiva ($P < 0,05$) con la $EUAi$ del muestreo M2.5 (Tabla 5). Correlaciones positivas ($P < 0,05$) se encontraron entre las variables de crecimiento medidas en ambos tratamientos de riego y la g_s , E y A_N medidas en el muestreo de vivero M0, junto con la $EUAi$ y la A_N/g_s medidas en el muestreo M1.5; al contrario, correlaciones negativas ($P < 0,05$) se encontraron entre las variables de crecimiento de ambos tratamientos de riego y la A_N/g_s medida en M0, junto con la g_s y E de M1.5 (Tabla 5). Los coeficientes de correlación más altos ($r > 0,70$) se encontraron entre D , DAP y Vol de ambos tratamientos de riego y la g_s y E medidas en M0; en el caso de la Ht , si bien los coeficientes de correlación más altos son menores a los mencionados para las otras variables de crecimiento ($r < 0,67$), estos también se observan en la correlación con la g_s y E medidas en M0 (Tabla 5).

Con excepción del DAP medido en el tratamiento Riego, las pruebas para determinar el mejor modelo de regresión múltiple determinaron para todas las variables de crecimiento que el mejor modelo corresponde a un modelo lineal simple que considera la E medida en condiciones sin estrés hídrico en vivero (M0) como única variable predictora (Tabla 6). En el caso del DAP , medido en el tratamiento Riego (DAP_R), se generó un modelo lineal múltiple que incluye la E evaluada en condiciones sin déficit hídrico (E_{M0}) junto con la $EUAi$ medida en condiciones de mayor déficit hídrico ($EUAi_{M2.5}$) como variables predictoras (Ecuación 3); este modelo presenta $R^2 = 0,68$, y $RCME = 0,57$ cm.

$$DAP_R = 1,64 + 0,32E_{M0} + 0,02EUAi_{M2.5} \quad (3)$$

Tabla 4. Media de las variables de crecimiento de los seis genotipos de *Eucalyptus globulus* registradas después de 1, 5 y 12 meses de establecida la plantación en los tratamientos Riego (R) y Secano (S). Fuente: Elaboración propia.

Genotipo	1 mes		----- 5 meses -----						----- 12 meses -----							
	<i>Ht</i> (m)		<i>Ht</i> (m)		<i>D</i> (cm)		<i>Vol</i> (m ³ x 1000)		<i>Ht</i> (m)		<i>D</i> (cm)		<i>DAP</i> (cm)		<i>Vol</i> (m ³ x 1000)	
	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S
EgA1	0,33	0,34	1,66	1,43	2,64	2,40	<u>0,37</u>	<u>0,29</u>	3,86	3,52	<u>7,03</u>	<u>6,36</u>	<u>4,22</u>	<u>3,54</u>	<u>5,14</u>	<u>3,94</u>
EgA2	0,38	0,38	1,65	1,55	2,96	2,66	<u>0,41</u>	<u>0,33</u>	3,96	3,68	<u>7,18</u>	<u>6,38</u>	4,43	3,92	<u>5,36</u>	<u>4,09</u>
EgA3	0,19	0,14	1,22	1,26	1,98	2,10	0,14	0,16	3,23	3,15	5,59	5,48	2,74	2,85	2,82	2,63
EgB1	0,25	0,21	1,42	1,71	2,03	1,51	<u>0,16</u>	<u>0,10</u>	3,64	3,40	<u>5,94</u>	<u>4,80</u>	3,29	2,90	<u>3,42</u>	<u>2,36</u>
EgB2	0,23	0,20	1,04	1,03	1,52	1,52	0,08	0,07	2,88	2,80	5,01	4,76	2,38	2,32	2,00	1,83
EgB3	0,23	0,22	0,97	0,95	1,32	1,07	0,06	0,05	2,85	2,66	4,83	4,19	2,29	2,09	<u>1,83</u>	<u>1,34</u>

Ht: altura total, *D*: diámetro de la planta a 10 cm desde el suelo, *DAP*: diámetro a la altura del pecho, *Vol*: volumen acumulado por árbol. Datos subrayados indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre tratamientos de riego.

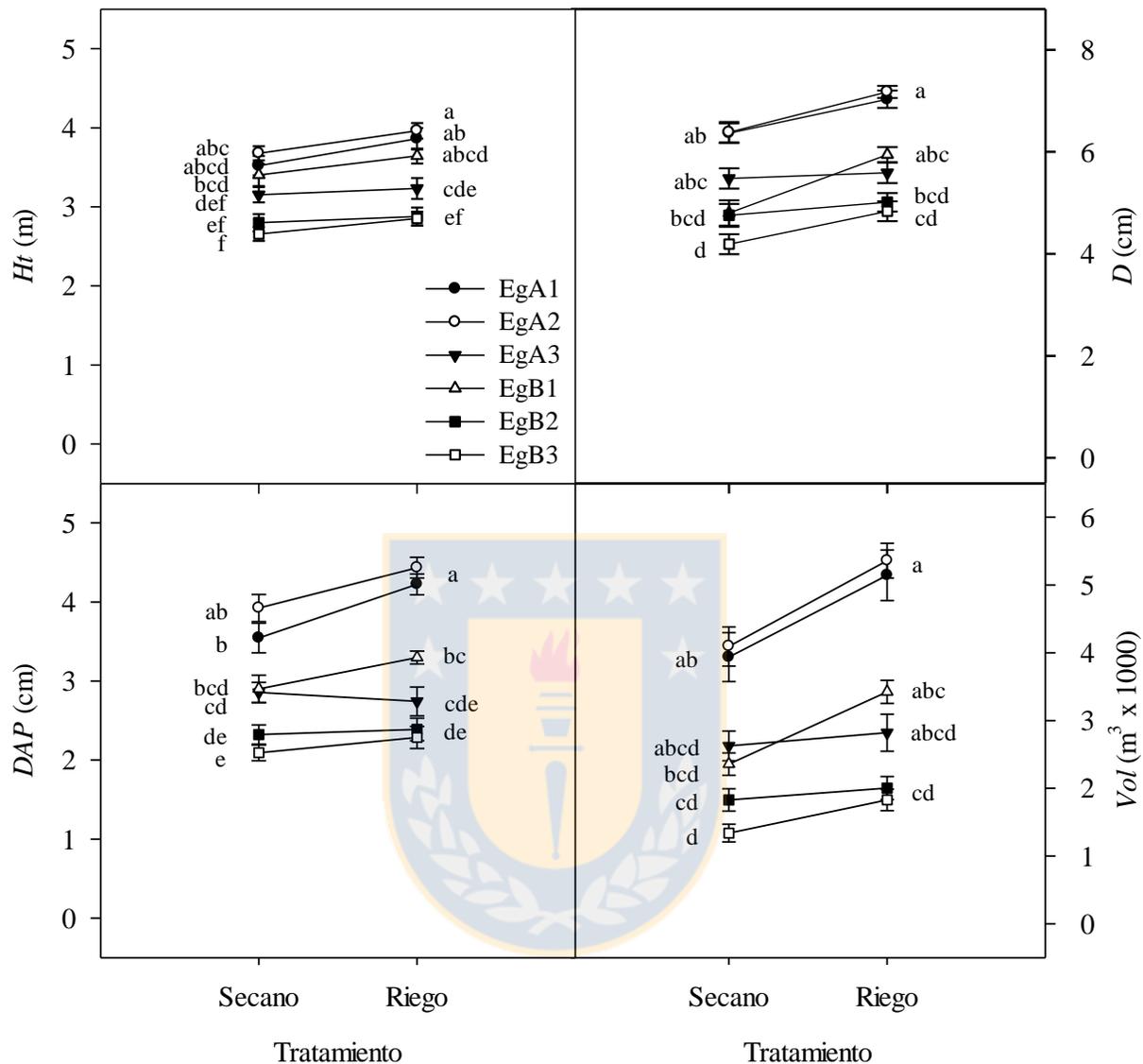


Figura 6. Altura total (Ht), diámetro a 10 cm desde el suelo (D), diámetro a 1,3 m de altura (DAP) y volumen acumulado por árbol (Vol) de los seis genotipos de *Eucalyptus globulus* medidos después de 12 meses de establecida la plantación en los tratamientos Secano y Riego. Los datos corresponden a media \pm error estándar ($n = 27$). Letras indican diferencias significativas entre genotipos de cada tratamiento de riego. Fuente: Elaboración propia.

Tabla 5. Coeficientes de correlación de Pearson (n = 18) para las variables de crecimiento medidas en campo a los 12 meses de establecimiento en los tratamientos Riego y Secano, y las variables de intercambio gaseoso de genotipos de *Eucalyptus globulus* evaluadas en plántulas sometidas a condiciones crecientes de déficit hídrico equivalentes a potencial hídrico matricial de -0,03 MPa (M0), -1,5 MPa (M1.5) y -2,5 MPa (M2.5) en vivero. Sólo se incluyen los coeficientes de correlación significativos ($P < 0,05$). Fuente: Elaboración propia.

Variable	Tratamiento	M0					M1.5					M2.5				
		g_s	E	A_N	$EUAI$	A_N/g_s	g_s	E	A_N	$EUAI$	A_N/g_s	g_s	E	A_N	$EUAI$	A_N/g_s
<i>Ht</i>	Riego	0,61	0,67	0,51	-	-	-0,47	-0,54	-	0,54	0,56	-	-	-	-	-
	Secano	0,61	0,66	0,56	-	-	-	-	-	0,51	0,51	-	-	-	-	-
<i>D</i>	Riego	0,74	0,79	0,60	-	-0,50	-0,52	-0,61	-	0,63	0,65	-	-	-	0,58	-
	Secano	0,77	0,78	0,69	-	-0,58	-	-0,50	-	0,63	0,61	-	-	-	0,55	-
<i>DAP</i>	Riego	0,75	0,82	0,58	-	-0,52	-0,59	-0,65	-	0,63	0,67	-	-	-	0,64	-
	Secano	0,75	0,80	0,66	-	-0,52	-	-0,53	-	0,61	0,60	-	-	-	0,54	-
<i>Vol</i>	Riego	0,73	0,79	0,59	-	-0,51	-0,55	-0,63	-	0,63	0,66	-	-	-	0,60	-
	Secano	0,72	0,75	0,63	-	-0,52	-	-0,52	-	0,60	0,60	-	-	-	0,54	-

Ht: altura total, *D*: diámetro medido a 10 cm sobre el suelo, *DAP*: diámetro a 1,3 m de altura, *Vol*: volumen acumulado por árbol, g_s : conductancia estomática, A_N : fotosíntesis instantánea, E : transpiración instantánea, $EUAI$: eficiencia instantánea en el uso de agua y A_N/g_s : eficiencia intrínseca en el uso de agua.

Tabla 6. Parámetros de ajuste y estadísticos de los modelos de regresión lineal simple que relacionan el crecimiento acumulado después de 12 meses de establecida una plantación con la E medida en condiciones sin estrés hídrico en plántulas de *Eucalyptus globulus*. Fuente: Elaboración propia.

Variable dependiente	Tratamiento	a_0	a_1	R^2	RCME	P
Ht (m)	Riego	2,71	0,17	0,45	0,43	< 0,01
	Secano	2,61	0,19	0,44	0,38	< 0,01
D (cm)	Riego	4,35	0,39	0,63	0,68	< 0,01
	Secano	3,78	0,39	0,61	0,69	< 0,01
DAP (cm)	Secano	1,79	0,28	0,63	0,48	< 0,01
Vol ($m^3 \times 1000$)	Riego	1,01	0,60	0,63	1,04	< 0,01
	Secano	0,82	0,47	0,57	0,91	< 0,01

Ht : altura total, D : diámetro medido a 10 cm sobre el suelo, DAP : diámetro a 1,3 m de altura, Vol : volumen por árbol, a_0 y a_1 : coeficientes de regresión, R^2 : coeficiente de determinación, RCME: raíz cuadrada media del error, P : nivel de significancia del modelo.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La menor disponibilidad de agua en el tratamiento Secano afectó en distinta medida el crecimiento de las plantas, por lo que se observaron diferencias significativas entre tratamientos de riego sólo en algunos genotipos, los que fueron más evidentes hacia la última medición de este estudio (Figura 6), cuando el periodo de diferenciación de tratamientos se había extendido por aproximadamente 8 meses. El mayor crecimiento registrado en los genotipos EgA1 y EgA2 en el tratamiento Riego, podría explicarse por una mayor capacidad fotosintética y de transpiración, atributos que han sido asociados a un mayor crecimiento aéreo y radical de las plantas (Armson y Sandreika 1979, Cleary *et al.* 1978, y Mexal y Landis 1990, citados por Grossnickle 2012). Sin embargo, estos genotipos experimentaron altas reducciones del crecimiento en el tratamiento Secano, lo que indicaría que poseen una estrategia más conservadora del agua que les permite limitar la pérdida de agua ante el déficit hídrico y así aumentar el crecimiento radical para mejorar la absorción de agua (Burdett 1990, Jacobs *et al.* 2008), con la consecuente disminución de las tasas de crecimiento que ha sido reportada en otros casos de estudio de genotipos de *Eucalyptus* spp (Garau *et al.* 2008, Eksteen *et al.* 2013). El genotipo EgB1 presentó similar sensibilidad en el tratamiento Secano, aunque con menores tasas de crecimiento; en el experimento de vivero este genotipo tuvo una drástica disminución de la g_s frente al déficit hídrico (Tabla 2) y, además, destacó por mantener altas tasas de supervivencia (superiores al 50%) después de alcanzar potenciales hídricos de -1,5 MPa (Silva *et al.* 2017). Por otro lado, el genotipo EgA3 presentó altas tasas de crecimiento en campo en ambos tratamientos de riego, por lo que no se observaron reducciones en el crecimiento a los 12 meses de establecimiento en el tratamiento Secano (Figura 6). Si bien este genotipo presentó alta g_s y A_N al inicio del experimento de vivero, la disminución registrada en estas variables al aumentar el déficit hídrico fue menor a la observada en los genotipos EgA1 y EgA2 (Tabla 2), lo que se asocia a la capacidad de este genotipo de posponer el estrés moderado para mantener un balance hídrico favorable que le permita evitar el daño por sequía, junto con retrasar la acumulación de antioxidantes que generan las respuestas metabólicas que inhiben la fotosíntesis, y así mantener el crecimiento en condiciones de menor disponibilidad de agua (Costa e Silva *et al.* 2004, Flexas *et al.* 2006, Garau *et al.* 2008). Como era esperado

en el caso de los genotipos de baja g_s y A_N al inicio del experimento de vivero, éstos presentaron menor crecimiento, con excepción del genotipo EgB1 que en el tratamiento de Riego mantuvo mayor crecimiento que el genotipo EgA3 en todas las mediciones (Tabla 4). En las condiciones presentes en el tratamiento Riego, es posible que el genotipo EgB1 mantenga mayor área foliar que el genotipo EgA3 desde el inicio del experimento y, por ello, se observe mayor crecimiento; sin embargo, esta misma característica le sería desfavorable para mantener el mismo crecimiento en el tratamiento Secano y, a su vez, favorecería la tolerancia a la sequía del genotipo EgA3, el cual sería capaz de invertir en un sistema radical más desarrollado para así mantener un desarrollo similar entre ambos tratamientos (Figura 6).

A pesar de que en este estudio no se relacionan las variables de crecimiento y de intercambio gaseoso medidas en las mismas plantas y condiciones, destaca el alto valor de las correlaciones encontradas (Tabla 5). Cabe destacar que estas correlaciones están dadas al evaluar el crecimiento acumulado y no el incremento en el periodo de estudio, que al contrario de lo aquí observado, ha presentado una débil relación con variables de intercambio gaseoso como la fotosíntesis neta en especies leñosas y herbáceas (Pereira 1995). Los resultados obtenidos mantienen las tendencias observadas en otros estudios en genotipos de *E. globulus*, evaluados en condiciones de crecimiento semi controladas, que destacan el valor de la g_s como una variable de importancia para identificar mayores tasas de crecimiento en condiciones de déficit hídrico (Costa e Silva *et al.* 2004, Garau *et al.* 2008, Granda *et al.* 2014). Además, en este estudio se observaron altos valores de correlación con otras de las variables fisiológicas medidas y en distintas instancias de muestreo, destacando que las relaciones entre la E medida en M0 y las variables de crecimiento son las que presentan los mayores valores de correlación (Tabla 5). Lo anterior conlleva a que, posteriormente, la mayoría de los modelos de regresión sólo incluyan la E medida en condiciones sin déficit hídrico como predictora del crecimiento acumulado en campo al año de desarrollo (Tabla 6). De los modelos y relaciones estudiadas, se obtiene que los genotipos con mayor proyección de crecimiento durante el primer año de establecimiento sean aquellos cuyas plantas, al finalizar el proceso de desarrollo en vivero, presentan mayor E al ser evaluadas en condiciones de alta disponibilidad de agua en el sustrato. Estos resultados podrían también extrapolarse a la g_s y A_N medidas en las mismas condiciones, ya que si bien no formaron parte de los modelos mantienen una alta correlación

positiva con las variables de crecimiento estudiadas, además de mantener la misma tendencia que la E en la primera instancia de muestreo (Tabla 2). Sin embargo, al observar las diferencias en crecimiento entre tratamientos (Figura 6), se deduce que la estrategia de respuesta al déficit hídrico es también un factor determinante a la hora de seleccionar genotipos operativos para sitios de poca disponibilidad de agua, tal como ha sido expuesto en otros estudios asociados a la especie (Pita y Pardos 2001, Garau *et al.* 2008, Correira *et al.* 2014, Granda *et al.* 2014).

Ante la carencia en la definición de variables fisiológicas con carácter predictivo que permitan optimizar las decisiones forestales, este estudio se ha enfocado en evaluar la capacidad de las variables de intercambio gaseoso, evaluadas en plántulas sometidas a un gradiente de déficit hídrico, para ser utilizadas como predictores del crecimiento al primer año de establecimiento en genotipos de *E. globulus*. Los resultados son significativos, ya que las relaciones encontradas permiten apuntar hacia una selección de plantas de mayor crecimiento inicial a partir de las variables de intercambio gaseoso, evaluadas en condiciones de alta disponibilidad de agua. Sin embargo, dado que los genotipos de mayor crecimiento también mostraron una alta sensibilidad a la menor disponibilidad de agua, mientras que genotipos de crecimiento intermedio y menor fueron menos sensibles, sería recomendable complementar esta información con la identificación de la estrategia de respuesta al déficit hídrico de los genotipos, de manera de operacionalmente prescindir y disminuir la necesidad del establecimiento de riego durante los primeros meses de establecimiento. Además, dado a que las plantaciones de *E. globulus* en Chile son de corta rotación (entre 8-12 años), es de interés realizar una evaluación en edades más avanzadas que permita reconocer el valor de la evaluación inicial de variables de intercambio gaseoso con el rendimiento futuro, y complementar con información del comportamiento de las plantas durante el establecimiento que pudieran permitir elaborar un modelo más completo de las variables responsables del desempeño en campo.

REFERENCIAS

- Burdett AN. 1990. Physiological processes in plantation establishment and the development of specifications for forest planting stock. *Canadian Journal of Forest Research* 20:415-427.
- Close DC, CL Beadle & PH Brown. 2005. The physiological basis of containerised tree seedling 'transplant shock': a review. *Australian Forestry* 68(2):112-120.
- Condon AG, RA Richards, GJ Rebetzke, GD Farquhar. 2002. Improving intrinsic water-use efficiency and crop yield. *Crop Science* 42:122-131.
- Correia B, M Pintó-Marijuan, L Neves, R Brossa, MC Dias, A Costa, BB Castro, C Araújo, C Santos, MM Chaves, G Pinto. 2014. Water stress and recovery in the performance of two *Eucalyptus globulus* clones: physiological and biochemical profiles. *Physiologia Plantarum* 150:580-592.
- Costa e Silva F, A Shvaleva, JP Maroco, MH Almeida, MM Chaves, JS Pereira. 2004. Responses to water stress in two *Eucalyptus globulus* clones differing in drought tolerance. *Tree Physiology* 24:1165-1172.
- Eksteen AB, V Grzeskowiak, NB Jones, NW Pammenter. 2013. Stomatal characteristics of *Eucalyptus grandis* clonal hybrids in response to water stress. *Southern Forests: a Journal of Forest Science* 75:105-111.
- Flexas J, J Bota, J Galmés, H Medrano, M Ribas-Carbó. 2006. Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: responses of photosynthesis and respiration to water stress. *Physiologia Plantarum* 127:343-352.
- Garau AM, JH Lemcoff, CM Ghera, CL Beadle. 2008. Water stress tolerance in *Eucalyptus globulus* Labill. subsp. maidenii (F. Muell.) saplings induced by water restrictions imposed by weeds. *Forest Ecology and Management* 255:2811-2819.
- Granda V, C Delatorre, C Cuesta, ML Centeno, B Fernández, A Rodríguez, I Feito. 2014. Physiological and biochemical responses to severe drought stress of nine *Eucalyptus globulus* clones: a multivariate approach. *Tree Physiology* 34:778-786.

- Grossnickle SC. 2005. Importance of root growth in overcoming planting stress. *New Forests* 30:273-294.
- Grossnickle SC. 2012. Why seedling survive: importance of plant attributes. *New Forests* 43:711-738.
- Jacobs DF, AD Davis, BC Wilson, RK Dumroese, RC Goodman, KF Salifu. 2008. Short-day treatment alters Douglas-fir seedling dehardening and transplant root proliferation at varying rhizosphere temperatures. *Canadian Journal of Forest Research* 38:1526–1535.
- Lu Z, RG Percy, CO Qualset, E Zeiger. 1998. Stomatal conductance predicts yields in irrigates Pima cotton and bread wheat grown at high temperatures. *Journal of Experimental Botany* 49:453-460.
- Ludlow MM. 1989. Structural and functional responses to environmental stresses. En: Kreeb KH, Richter H, Hinckley TM (eds). Strategies of response to water stress. SPB Academic, The Hague pp 269–281.
- Mataruga M, D Haase, V Isaiev, S Orlovic. 2012. Growth, survival, and genetic variability of Austrian pine (*Pinus nigra* Arnold) seedlings in response to water deficit. *New Forests* 43:791-804.
- Monclus R, E Dreyer, M Villar, FM Delmotte, D Delay, JM Petit, C Barbadoux, D Le Thiec, C Bréchet, F Brignolas. 2006. Impact of drought on productivity and water use efficiency in 29 genotypes of *Populus deltoids* x *Populus nigra*. *New Phytologist* 169:765-777.
- Navarrete-Campos D, LA Bravo, RA Rubilar, V Emhart, R Sanhueza. 2013. Drought effects on water use efficiency, freezing tolerance and survival of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus globulus* × *nitens* cuttings. *New Forests* 44:119-134.
- Pardos JA. 2007. Perspectiva fisiológica en la producción y mejora del eucalipto (con énfasis en *Eucalyptus globulus* Labill). *Boletín del CIDEU* 3:7-55.
- Pereira JS. 1995. Gas Exchange and Growth. En: ED Schulze, M Caldwell, (eds). *Ecophysiology of Photosynthesis*. Springer Verlag. pp 147-181.

- Pita P, JA Pardos. 2001. Growth, leaf morphology, water use and tissue water relations of *Eucalyptus globulus* clones in response to water deficit. *Tree Physiology* 21:599-607.
- Pita P, JA Pardos. 2007. Evaluación de las respuestas fisiológicas al estrés a edad temprana en *Eucalyptus globulus* Labill.: Tolerancia al déficit hídrico y tolerancia al exceso de agua en el suelo. *Boletín del CIDEU* 3:161-169.
- Pita P, I Cañas, F Soria, F Ruiz, G Toval. 2005. Use of physiological traits in tree breeding for improved yield in drought-prone environments. The case of *Eucalyptus globulus*. *Investigación Agraria - Sistemas y Recursos Forestales* 14:383-393.
- Silva M, R Rubilar, J Espinoza, M Yáñez, V Emhart, JJ Quiroga. 2017. Respuesta en parámetros de intercambio gaseoso y supervivencia en plantas jóvenes de genotipos comerciales de *Eucalyptus* spp sometidas a déficit hídrico. *Bosque* 38(1):79-87.
- Tausz M, A Merchant, J Kruse, G Samsa, MA Adams. 2008. Estimation of drought-related limitations to mid-rotation aged plantation grown *Eucalyptus globulus* by Phloem sap analysis. *Forest Ecology and Management* 256:844-848.
- Wang T, SN Aitken, KL Kavanagh. 2003. Selection for improved growth and wood quality in lodgepole pine: effects on phenology, hydraulic architecture and growth of seedlings. *Trees* 17:269-277.
- White DA, DS Crombie, J Kinal, M Battaglia, JF McGrath, DS Mendham, SN Walker. 2009. Managing productivity and drought risk in *Eucalyptus globulus* plantations in south-western Australia. *Forest Ecology and Management* 259:33-44.

DISCUSIÓN GENERAL

Aumentos en las tasas de productividad y mejoras en la calidad de la madera de las plantaciones han sido posibles a través de selección genética y el desarrollo de híbridos que cumplen con los caracteres deseados (Resende *et al.* 2012). Asimismo, la selección por resistencia a la sequía ha sido de gran significancia, lo que sumado a las mejoras desarrolladas en el proceso de producción de plantas han permitido mejorar los atributos de las plantas para responder al estrés hídrico experimentado en las primeras fases de establecimiento (Burdett 1990, Tausz *et al.* 2008, White *et al.* 2009). La caracterización de los atributos fisiológicos de plantas y genotipos que favorecen el crecimiento inicial de las plantaciones podría permitir optimizar la selección de materiales genéticos o grupos de plantas más aptos para ser establecidos en sitios específicos. Los parámetros de intercambio gaseoso han sido ampliamente estudiados en condiciones de déficit hídrico, y ofrecen una alternativa rápida y eficiente para caracterizar las respuestas de genotipos frente al déficit hídrico; es por ello que han sido propuestas para la selección de genotipos según su comportamiento ante eventos de sequía, a pesar de las dificultades observadas para su uso en programas de mejora genética (Pita *et al.* 2005, Pita y Pardos 2007, Granda *et al.* 2014).

En este estudio fue posible establecer relaciones significativas entre los parámetros de intercambio gaseoso medidos en vivero bajo condiciones semi controladas, y el crecimiento después de 12 meses de establecimiento de una plantación experimental. Las relaciones más fuertes se obtuvieron entre los parámetros de intercambio gaseoso medidas en condiciones sin déficit hídrico y las variables de crecimiento. Es así como los genotipos caracterizados por presentar alta g_s , E y A_N al inicio del experimento de vivero fueron los que más crecimiento acumulado presentaron en el experimento de campo. Sin embargo, todos los genotipos evaluados en el experimento de vivero mostraron distintos patrones de cambio de estas variables a medida que aumentaba el déficit hídrico, lo cual es un indicador de las diferentes estrategias de respuesta ya observadas en genotipos de *Eucalyptus* spp (Pita y Pardos 2001, Pita *et al.* 2005, Correira *et al.* 2014, Granda *et al.* 2014). Este estudio consideró la diferenciación de genotipos según los valores iniciales de intercambio gaseoso observados en el experimento de vivero, sin considerar una diferenciación según el tipo de respuesta

observada durante el mismo, por lo que sería de utilidad centrar esfuerzos futuros en la descripción de estas respuestas y así complementar la selección de genotipos en base a estos criterios. Esto permitiría incorporar a la selección clonal métodos más completos que permitan identificar los mejores o peores genotipos para ser establecidos en condiciones específicas, tal como ha sido estudiado en otros casos (Correira *et al.* 2014, Granda *et al.* 2014).



CONCLUSIONES GENERALES

Los resultados de este estudio permiten establecer bases fisiológicas orientativas para seleccionar genotipos de mayor crecimiento al primer año de establecimiento, ya que estos presentarían más altos valores de g_s , E y A_N al terminar su desarrollo en vivero al ser evaluados en condiciones de alta disponibilidad de agua. Futuros estudios deben considerar la definición de las estrategias de respuesta de los genotipos frente al déficit hídrico para incorporarlos a los procedimientos de selección de genotipos sitio-específicos. Asimismo, podría ser de interés la evaluación más tardía del crecimiento en plantación de los genotipos para incorporar información más avanzada dentro de la rotación en los procedimientos operacionales en condiciones de campo.



REFERENCIAS GENERALES

- Burdett AN. 1990. Physiological processes in plantation establishment and the development of specifications for forest planting stock. *Canadian Journal of Forest Research* 20:415-427.
- Coopman R, J Jara, L Bravo, K Sáez, G Mella, R Escobar. 2008. Changes in morpho-physiological attributes of *Eucalyptus globulus* plants in response to different drought hardening treatments. *Electronic Journal of Biotechnology* 11:30-39.
- Correia B, M Pintó-Marijuan, L Neves, R Brossa, MC Dias, A Costa, BB Castro, C Araújo, C Santos, MM Chaves, G Pinto. 2014. Water stress and recovery in the performance of two *Eucalyptus globulus* clones: physiological and biochemical profiles. *Physiologia Plantarum* 150:580–592.
- Costa e Silva F, A Shvaleva, JP Maroco, MH Almeida, MM Chaves, JS Pereira. 2004. Responses to water stress in two *Eucalyptus globulus* clones differing in drought tolerance. *Tree Physiology* 24:1165-1172.
- Dye P. 1996. Response of *Eucalyptus grandis* trees to soil water deficits. *Tree Physiology* 16:233-238.
- Escobar R. 2007. Manual de viverización *Eucalyptus globulus* a raíz cubierta. INFOR (Instituto Forestal). Chile.
- Flexas J, Ü Niinemets, A Gallé, MM Barbour, M Centritto, A Diaz-Espejo, C Douthe, J Galmés, M Ribas-Carbo, PL Rodriguez, F Rosselló, R Soolanayakanahally, M Tomas, IJ Wright, GD Farquhar, H Medrano. 2013. Diffusional conductances to CO₂ as a target for increasing photosynthesis and photosynthetic water-use efficiency. *Photosynthesis Research* 117:45–59.
- Garau AM, JH Lemcoff, CM Ghera, CL Beadle. 2008. Water stress tolerance in *Eucalyptus globulus* Labill. subsp. maidenii (F. Muell.) saplings induced by water restrictions imposed by weeds. *Forest Ecology and Management* 255:2811-2819.

- Granda V, C Delatorre, C Cuesta, ML Centeno, B Fernández, A Rodríguez, I Feito. 2014. Physiological and biochemical responses to severe drought stress of nine *Eucalyptus globulus* clones: a multivariate approach. *Tree Physiology* 34:778-786.
- Guarnaschelli AB, P Prystupa, JH Lemcoff. 2006. Drought conditioning improves water status, stomatal conductance and survival of *Eucalyptus globulus* subsp. *Bicostata* seedlings. *Annals of Forest Science* 63:941-950.
- INFOR (Instituto Forestal, CL). 2016. Anuario Forestal 2016. Santiago, Chile. INFOR. 184 p. (Boletín Estadístico N° 154).
- INIA (Instituto de Investigaciones Agropecuarias, CL). 1989. Mapa Agroecológico de Chile.
- Medrano H, J Bota, J Cifre, J Flexas, M Ribas-Carbó, J Gulías. 2007. Eficiencia en el uso de agua por las plantas. *Investigaciones Geográficas* 43: 63-84.
- Monclus R, E Dreyer, M Villar, FM Delmotte, D Delay, JM Petit, C Barbadoux, D Le Thiec, C Bréchet, F Brignolas. 2006. Impact of drought on productivity and water use efficiency in 29 genotypes of *Populus deltoids* x *Populus nigra*. *New Phytologist* 169:765-777.
- Navarrete-Campos D, LA Bravo, RA Rubilar, V Emhart, R Sanhueza. 2013. Drought effects on water use efficiency, freezing tolerance and survival of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus globulus* x *nitens* cuttings. *New Forests* 44:119-134.
- Pita P, I Cañas, F Soria, F Ruiz, G Toval. 2005. Use of physiological traits in tree breeding for improved yield in drought-prone environments. The case of *Eucalyptus globulus*. *Investigación Agraria - Sistemas y Recursos Forestales* 14:383-393.
- Pita P, JA Pardos. 2001. Growth, leaf morphology, water use and tissue water relations of *Eucalyptus globulus* clones in response to water deficit. *Tree Physiology* 21:599-607.
- Pita P, JA Pardos. 2007. Evaluación de las respuestas fisiológicas al estrés a edad temprana en *Eucalyptus globulus* Labill.: Tolerancia al déficit hídrico y tolerancia al exceso de agua en el suelo. *Boletín del CIDEU* 3:161-169.
- Resende MD, MF Resende Jr, CP Sansaloni, CD Petroli, AA Missiaggia, AM Aguiar, JM Abad, EK Takahashi, AM Rosado, DA Faria, GJ Pappas Jr, A Kilian, D Grattapaglia.

2012. Genomic selection for growth and wood quality in *Eucalyptus*: capturing the missing heritability and accelerating breeding for complex traits in forest trees. *New Phytologist*, 194: 116–128.
- Tausz M, A Merchant, J Kruse, G Samsa, MA Adams. 2008. Estimation of drought-related limitations to mid-rotation aged plantation grown *Eucalyptus globulus* by Phloem sap analysis. *Forest Ecology and Management* 256:844-848.
- Wang T, SN Aitken, KL Kavanagh. 2003. Selection for improved growth and wood quality in lodgepole pine: effects on phenology, hydraulic architecture and growth of seedlings. *Trees* 17:269-277.
- White DA, CL Beadle, D Worledge. 1996. Leaf water relations of *Eucalyptus globulus* ssp. *globulus* and *E. nitens*: seasonal, drought and species effects. *Tree Physiology* 16:469-476.
- White DA, DS Crombie, J Kinal, M Battaglia, JF McGrath, DS Mendham, SN Walker. 2009. Managing productivity and drought risk in *Eucalyptus globulus* plantations in southwestern Australia. *Forest Ecology and Management* 259:33-44.